

UNIVERSITE DE YAOUNDE 1  
*THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I*



FACULTE DES SCIENCES  
*FACULTY OF SCIENCE*

**CENTRE DE RECHERCHE ET DE FORMATION DOCTORALE  
EN SCIENCES DE LA VIE, SANTÉ ET ENVIRONNEMENT**  
*CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING IN GRADUATE STUDIES IN LIFE SCIENCE, HEALTH &  
ENVIRONMENTAL SCIENCES*

**UNITÉ DE RECHERCHE ET DE FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE**  
*DOCTORAL RESEARCH UNIR FOR LIFE SCIENCES*

**DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES**  
*DEPARTMENT OF PLANT BIOLOGY*

**Analyse de l'effet des bioformulations à base des  
microorganismes bénéfiques sur l'amendement des sols et sur  
les performances agronomiques et nutritionnels de *Abelmoschus  
esculentus* L. dans trois zones agroécologiques du Cameroun**

Thèse présentée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat/Ph. D en Biologie des  
Organismes Végétaux

**Option : Biotechnologies Végétales**

Par :

**ZOA Parfait Alexis**

**Matricule : 18B4001**

*Master ès Sciences*

Sous la Co-direction de :

**FOTSO**

*Professeur,*

*Université de Bamenda*



**DJOCGOUE Pierre**

*Professeur,*

*Université de Yaoundé I*

**Année 2023**



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES

DEPARTMENT OF PLANT BIOLOGY

Yaoundé, le 07 Juillet 2023

ATTESTATION DE CORRECTION DE THÈSE DE  
DOCTORAT/Ph.D

Nous soussignés, Membres du Jury de la thèse de Doctorat/Ph.D en Biologie des Organismes Végétaux option Biotechnologies végétales de Monsieur **ZOA Parfait Alexis**, Matricule **18B4001**, soutenue publiquement le 19 juin 2023, sur le thème «**Analyse de l'effet des bioformulations à base des microorganismes bénéfiques sur l'amendement des sols et sur les performances agronomiques et nutritionnelles de *Abelmoschus esculentus* L. dans trois zones agroécologiques du Cameroun**» attestons que les corrections conformément aux remarques et recommandations du jury ont été effectuées par le candidat.

En foi de quoi, nous lui délivrons cette attestation de correction pour servir et valoir ce que de droit. /-

Rapporteur

**DJOCGOUE Pierre-François**

*Professeur*

Examineur

**AMBANG Zachée**

*Professeur*

Examineur


**EFFA ONOMO Pierre**

*Maître de Conférences*

Président

**OMOKOLO NDOUMOU Denis**

*Professeur*

<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

**ANNÉE ACADEMIQUE 2022/2023**  
 (Par Département et par Grade)  
**DATE D'ACTUALISATION 31 MAI 2023**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN** : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*  
**VICE-DOYEN / DPSAA** : ATCHADE Alex de Théodore, *Professeur*  
**VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*  
**VICE-DOYEN / DRC** : ABOSSOLO ANGUE Monique, *Maître de Conférences*  
**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*  
**Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS** : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

<b>1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)</b>			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOUGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
14.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En poste
15.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
16.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
18.	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En poste
19.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En poste
20.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / Uds</i>
21.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
22.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
23.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
24.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
25.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
26.	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
27.	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
28.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste

30.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En poste
31.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
32.	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
34.	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
36.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En poste

37.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
38.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
39.	EYENGA Eliane Flore	Assistant	En Poste
40.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Assistant	En Poste
41.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistant	En Poste
42.	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistant	En poste
43.	WOGUIA Alice Louise	Assistant	En Poste

## 2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (52)

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2.	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5.	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7.	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8.	KEKEUNOU Sévior	Professeur	En poste
9.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
10.	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
12.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
13.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i>
14.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

15.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
16.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En poste
19.	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
20.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
21.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En poste
22.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
23.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
24.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En poste
25.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En poste
26.	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
27.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
28.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En poste

30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
31.	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
32.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
33.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
34.	FEUGANG YOUNSSI François	Chargé de Cours	En poste
35.	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
36.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
37.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
38.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
39.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
40.	MAPON NSANGO Indou	Chargé de Cours	En poste
41.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
42.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
43.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
44.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
45.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
46.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
47.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
48.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

49.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Assistante	En poste
50.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste
51.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En poste
52.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En poste

### 3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (34)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	YOUNBI Emmanuel	Professeur	En poste
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
10.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
12.	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	En poste
13.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
14.	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
16.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
18.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

19.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
-----	------------------------	-----------------	----------

20.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargée de Cours	En poste
21.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
22.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
25.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
26.	KABELONG BANAHO Louis-Paul- Roger	Chargé de Cours	En poste
27.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
28.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
29.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
30.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
31.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
32.	MANGA NDJAGA JUDE	Assistant	En poste
33.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En poste
34.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste

#### 4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (28)

1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4.	NENWA Justin	Professeur	En poste
5.	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen FS Univ.Ngaoundere</i>
6.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancelor/UB</i>
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste

8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
11.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
13.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
14.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15.	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16.	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
18.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
19.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
20.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
21.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
22.	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste

23.	MAKON Thomas Beaugard	Chargé de Cours	En poste
24.	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
25.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
26.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
27.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste

28.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste
-----	--------------------------	-----------	----------

**5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (37)**

1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UYI</i>
3.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5.	WANDJI Jean	Professeur	En poste
6.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste

7.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
8.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
9.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
11.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
12.	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13.	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14.	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
15.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
16.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
17.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
18.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uté Bertoua</i>
19.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
20.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
21.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23.	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
24.	ZONDEGOUNBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

25.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
26.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
27.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
28.	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
29.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
31.	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
33.	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
34.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
35.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

36.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
37.	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste

**6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)**

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général/ MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste

5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6.	AMINO HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
15.	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
16.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste
17.	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Sous-Directeur ENSET Ebolowa</i>
18.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

19.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21.	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
22.	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

**7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)**

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département / Directeur Ecole Nationale Supérieure de Polytechnique Yaoundé</i>
----	-----------------------	------------	--

2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes &amp; Diplômes/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

10.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste



15	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
16	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
20	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
21	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
22	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
23	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
24	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
25	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
26	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste

27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
29	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
30	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
31	MEFENZA NOUNTU Thierry	Assistant	En poste
32	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste
33	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

### 8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>

3.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
4.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
5.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
7.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
9.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

10	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
11	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
12	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
13	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
14	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
15	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
16	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>

17	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste
----	------------------	-----------------	----------

18	NKOUÉ TONG Abraham	Assistant	En poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistant	En poste
20	EZO'O MENGO Fabrice Téléfor	Assistant	En poste
21	EHETH Jean Samuel	Assistant	En poste
22	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste
23	NGOUE NAM Romial Joël	Assistant	En poste
24	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En poste

### 9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (43)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
4.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5.	HONA Jacques	Professeur	En poste
6.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
9.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
13.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
16.	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17.	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18.	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19.	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
22.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
23.	MEL'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
24.	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste
25.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
26.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27.	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>
30.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférence	<i>En stage depuis février 2023</i>
31.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
32.	AYISSI EYEBE Guy François	Chargé de Cours	En poste

	Valérie		
33.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
34.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
35.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
36.	FOUEJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
37.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
38.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	Directeur Unité de production des réactifs/IMPM
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste
42.	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
43.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En poste

### 10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /UDs</i>
2.	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
3.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
4.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
5.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
6.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
7.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
8.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>

9.	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
11.	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
12.	Elisé SABABA	Maître de Conférences	En poste
13.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. d'Etat/MINMIDT</i>
14.	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
15.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i>
16.	MBIDA YEM	Maître de Conférences	En poste
17.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
18.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
19.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
20.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
21.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
23.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
24.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
25.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

26.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
27.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
28.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
29.	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	En poste

30.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
31.	MBESSE Cécile Olive	Chargée de Cours	En poste
32.	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté Maroua</i>
34.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En poste
37.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
38.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
39.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
40.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste

41.	KOAH NA LEBOGO Serge Parfait	Assistant	En poste
42.	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste
43.	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Assistante	En poste

### Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

#### NOMBRE D'ENSEIGNANTS

DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	15 (11)	13 (03)	7 (05)	<b>43 (20)</b>
BPA	14 (01)	16 (09)	18 (04)	4 (02)	<b>52 (16)</b>
BPV	6 (01)	12 (02)	13 (07)	3 (00)	<b>34 (10)</b>
CI	7 (01)	15 (04)	5 (01)	1 (00)	<b>28 (06)</b>
CO	6 (01)	18 (04)	11 (04)	2 (00)	<b>37 (09)</b>
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	<b>22 (01)</b>
MAT	1 (00)	8 (00)	17 (01)	7 (02)	<b>33 (03)</b>
MIB	2 (01)	7 (03)	8 (04)	7 (02)	<b>24 (10)</b>
PHY	15 (01)	15 (04)	11 (01)	2 (00)	<b>43 (06)</b>
ST	8 (00)	17 (03)	15 (04)	3 (01)	<b>43 (08)</b>
<b>Total</b>	<b>69 (07)</b>	<b>125 (40)</b>	<b>125 (30)</b>	<b>40 (12)</b>	<b>359 (89)</b>

Soit un total de

**359 (89)** dont :

- Professeurs **69 (07)**
- Maîtres de Conférences **125 (40)**
- Chargés de Cours **125 (30)**
- Assistants **40 (12)**

( ) = Nombre de Femmes

**89**

## **DÉDICACE**

À la famille KAZA

## REMERCIEMENTS

Ce travail est arrivé à terme grâce à l'assistance et à la collaboration de nombreuses personnes. Je profite de cette occasion de gratitude et de reconnaissance pour remercier tous ceux qui de près ou de loin y ont contribué.

J'exprime avant tout ma reconnaissance et mes sincères remerciements à :

- Chef de Département de Biologie des Organismes Végétaux de m'accepter au sein du Département et pour son implication dans le bon déroulement de mes travaux ;
- Pr DJOCGOUE Pierre-François qui a accepté co-dirigé ce travail, pour sa disponibilité, ses encouragements et ses conseils qui ont donné la qualité et la pertinence scientifiques à ce travail ;
- Pr FOTSO qui a bien voulu par son aimable bienveillance co-diriger cette étude avec une grande patience ; pour son soutien inestimable et sa rigueur scientifique m'encourageant toujours à aller de l'avant. Veuillez trouver ici l'expression de mon estime et ma considération ;
- Tous les enseignants de thèse du Département de Biologie et Physiologie végétales, qui n'ont cessé de nous prodiguer des conseils sur les paramètres à prendre en compte pour la bonne élaboration d'une thèse ;
- Dr TENE TAYO Paul Martial qui a su de par sa disponibilité, m'orienter durant ce travail, en laboratoire comme sur le terrain ;
- Dr NGATSI Patrice qui a consacré son temps afin que ce travail trouve une bonne orientation ;
- Mr GUEDIA du Laboratoire d'Analyses des Sols et de Chimie de l'Environnement (LABASCE) de la faculté d'agronomie et des sciences agricoles de l'Université de Dschang et de Mr KWITEKAM Patrice du Laboratoire National d'Analyse Diagnostique des Produits et des Intrants Agricoles du MINADER pour leur contribution dans le partage de leurs compétences respectivement en analyse de sol et en analyses biochimiques des extraits de gombo ;
- Au jury pour sa qualité et ses remarques pertinentes qui me permettront à la fin d'obtenir un document répondant aux normes scientifiques ;
- Dr AMBOMBO ONGUENE Marien, ETOUNDI Florent et TIENCHEU Stéphanie, pour leur apport incontestable durant les analyses statistiques des données de ce travail ;

- MBITA EMMA Francine Murielle, pour son soutien moral, affectueux et financier durant ces années de recherche ;
- Mes frères et sœurs qui ont toujours cru en moi et n'ont cessé de m'encourager ;
- Mes promotionnaires de thèse pour la solidarité sur le plan social et pour les bons moments passés ensemble. Je pense à TCHAPDA Charly, YENDE Abdoulaye, MASSAHA KEBOUN Joseline ; NGATA Laurence et tous les autres dont je n'ai pu citer les noms, trouvez ici ma sincère reconnaissance.

## TABLE DE MATIÈRE

DÉDICACE.....	xi
REMERCIEMENTS .....	xii
TABLE DE MATIÈRE .....	xiv
LISTE DES FIGURES .....	xvii
LISTE DES TABLEAUX .....	xx
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	xxi
RÉSUMÉ.....	xxii
ABSTRACT .....	xxiv
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE .....	6
I.1. Généralités sur <i>Abelmoschus esculentus</i> L.....	7
I.1.1. Taxonomie .....	7
I.1.2. Description botanique .....	7
I.1.3. Origine et répartition géographique.....	8
I.1.4. Variétés de Gombo commun .....	9
I.1.5. Exigences écologiques.....	9
I.1.6. Usages .....	10
I.1.7. Valeur nutritive.....	10
I.1.8. Pratiques de culture .....	11
I.1.8.1. Labour et enfouissement de la matière organique.....	11
I.1.8.2. Réalisation des poquets et Semis .....	12
I.1.8.3. Entretien du champ d'expérimentation .....	12
I.1.9. Production .....	12
I.1.10. Maladies et ravageurs.....	13
I.1.11. Récolte et rendement de <i>Abelmoschus esculentus</i> L.....	16
I.2. Généralités sur les biostimulants et bioformulations .....	17
I.2.1. Biostimulants et biofertilisants.....	17
I.2.1.1. Microorganismes bénéfiques dans l'agriculture .....	18
I.2.2. Intérêt des bioformulations dans l'agriculture .....	26
I.3. Activités biochimiques chez <i>Abelmoschus esculentus</i> L. ....	29
I.3.1. Activité antioxydante et biocontrôle chez <i>Abelmoschus esculentus</i> L.....	29
I.3.2. Stress oxydant et radicaux libres.....	30
I.3.2.1. Stress oxydant .....	30
I.3.2.2. Radicaux libres.....	30
I.3.3. Système de défense antioxydant .....	31
I.3.3.1. Antioxydants enzymatiques endogènes .....	32



I.3.3.2. Antioxydants exogènes .....	33
CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	36
II.1. Matériel.....	37
II.1.1. Présentation de la zone d'étude .....	37
II.1.2. Présentation du matériel biologique.....	38
II.1.2.1. Matériel végétal .....	38
II.1.2.2. Microorganismes .....	39
II.1.3. Matériel technique .....	39
II.2. Méthodes.....	40
II.2.1. Tests d'identification morphologique .....	40
II.2.1.1. Description de la morphologie de <i>Trichoderma</i> spp.....	40
II.2.1.2. Description de la morphologie de <i>Bacillus velezensis</i> .....	40
II.2.1.3. Description de la morphologie de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	41
II.2.1.4. Test de compatibilité entre souches microbiennes.....	41
II.2.2. Préparation des bioformulations .....	42
II.2.3. Préparation de l'espace de culture et dispositif expérimental.....	43
II.2.3.1. Analyses physico-chimiques du sol.....	44
II.2.3.2. Semis du gombo et gestion du champ .....	48
II.2.4.3. Évaluation des paramètres agromorphologiques du gombo .....	49
II.2.4.4. Évaluation de la productivité .....	51
II.2.4. Criblage phytochimique.....	51
II.2.5. Détermination du taux de peroxyde d'hydrogène sur les fruits de gombo .....	52
II.2.6. Évaluation de l'activité antiradicalaire des fruits de <i>Abelmoschus esculentus</i> L.....	53
II.2.6.1. Préparation des extraits .....	53
II.2.6.2. Activité antiradicalaire DPPH .....	53
II.2.6.3. Activité antiradicalaire ABTS .....	54
II.2.6.4. Activité antioxydante par la méthode de FRAP .....	55
II.2.7. Dosage des marqueurs enzymatiques du stress oxydatif sur les fruits de gombo.....	56
II.2.7.1. Superoxyde dismutase .....	56
II.2.7.2. Catalase.....	56
II.2.7.3. Glutathion peroxydase .....	57

II.2.8. Analyses du profil nutritionnel des fruits de <i>Abelmoschus esculentus</i> .....	58
II.2.8.1. Dosage des molécules minérales .....	58
II.2.8.2. Dosage des molécules organiques .....	60
II.2.9. Analyse des données .....	62
CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION .....	64
III.1. RÉSULTATS .....	65
III.1.1. Effet des bioformulations sur les paramètres physico-chimiques du sol et agromorphologiques de <i>Abelmoschus esculentus</i> .....	65
III.1.1.2. Effet des bioformulations sur les paramètres agromorphologiques de <i>Abelmoschus esculentus</i> L.....	70
Discussion partielle 1 .....	89
Conclusion partielle 1.....	97
III.1.2. Effet de la bioformulation à base de <i>Trichoderma harzianum</i> et <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> sur les paramètres biochimiques de <i>Abelmoschus esculentus</i> .....	98
III.1.2.1. Criblage phytochimique des extraits de feuilles de <i>Abelmoschus esculentus</i> et tentative d'identification des molécules bioactives .....	98
III.1.2.2. Teneur en de peroxyde d'hydrogène .....	104
III.1.2.3. Effet de la bioformulation sur l'activité antioxydante des extraits de fruits d' <i>Abelmoschus esculentus</i> .....	105
III.1.2.4. Enzymes du stress oxydant.....	110
III.1.2.5. Corrélation entre les enzymes du stress oxydant et le taux de peroxyde d'hydrogène .....	112
Discussion partielle 2 .....	114
Conclusion partielle 2.....	118
III.1.3. Effet de la bioformulation à base de <i>Trichoderma harzianum</i> et <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> sur les propriétés nutritionnelles de deux variétés d' <i>Abelmoschus esculentus</i> L. ....	119
III.1.3.1. Evaluation du profil nutritionnel .....	119
III.1.3.2. Corrélation entre les paramètres physicochimiques, agromorphologiques et nutritionnels.....	122
III.1.3.3. Fiche technique de la bioformulation .....	124
Discussion partielle 3 .....	127
Conclusion partielle 3.....	128
DISCUSSION GÉNÉRALE .....	129
CONCLUSION GÉNÉRALE .....	131
PERSPECTIVES.....	133
BIBLIOGRAPHIE .....	134
ANNEXES .....	150

## LISTE DES FIGURES

Fig. 1. Plante de <i>Abelmoschus esculentus</i> .....	8
Fig. 2. Manifestation de la maladie d'enroulement des feuilles chez le gombo.....	14
Fig. 3. Manifestations de l'altise sur les feuilles de gombo .....	14
Fig. 4. Manifestation de la fusariose chez le gombo .....	15
Fig. 5. Manifestation du nématode à galles chez le gombo.....	15
Fig. 6. Maladie de la Cercosporiose du gombo. ....	16
Fig. 7. Manifestation de l'oïdium chez le gombo.....	16
Fig. 8. Cartographie terminologique des biostimulants.....	18
Fig. 9. Mécanismes d'action des PGPR. ....	19
Fig. 10. Morphologie de <i>Bacillus velezensis</i> .....	20
Fig. 11. Morphologie de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	22
Fig. 12. Mécanismes d'action de <i>Bacillus</i> spp. Contre les infections pathogéniques. ....	22
Fig. 13. Morphologie <i>Trichoderma harzianum</i> .....	23
Fig. 14. Mécanismes d'action de <i>Trichoderma</i> spp. ....	26
Fig. 15. Interactions entre les microorganismes du sol .....	28
Fig. 16. Utilisation de la bioformulation en agriculture .....	29
Fig. 17. Les différents types d'antioxydants .....	31
Fig. 18. Répartition des principales défenses antioxydantes de l'organisme .....	32
Fig. 19. Cartographie de localisation des zones d'études.....	38
Fig. 20. Semence de gombo variété <i>Clemson spineless</i> .....	39
Fig. 21. Constituants de préparation des bioformulations.....	42
Fig. 22. Formation des billons suivant le dispositif split-spot.....	43
Fig. 23. Dispositif expérimental en split-plot.....	44
Fig. 24. Test de compatibilité entre souches microbiennes.....	65
Fig. 25. Analyse en composantes principales des paramètres physicochimiques des sols dans les trois sites en fonction des traitements.....	69
Fig. 26. Variation de l'émergence des plantes de la variété de gombo <i>Clemson</i> entre les traitements de chaque site à 14 JAS.....	70
Fig. 27. Variation de l'émergence des plantes de la variété de gombo <i>Hire</i> entre les traitements de chaque site à 14 JAS.....	71
Fig. 28. Variation de la hauteur des variétés de gombo <i>Hire</i> et <i>Clemson</i> entre les traitements du 14 <sup>ème</sup> au 35 <sup>ème</sup> JAS dans les zones agroécologiques III, IV et V. ....	72

Fig. 29. Variation du nombre de feuilles des variétés de gombo <i>Hire</i> et <i>Clemson</i> entre les traitements du 14 <sup>ème</sup> au 35 <sup>ème</sup> JAS dans les zones agroécologiques III, IV et V. ....	74
Fig. 30. Variation de la surface foliaire des plantes de la variété de gombo <i>Clemson spineless</i> entre les traitements de chaque site à 35 JAS. ....	76
Fig. 31. Variation de la surface foliaire des plantes de la variété de gombo <i>Hire</i> entre les traitements de chaque site à 35 JAS.....	77
Fig. 32. Effet des phytopathogènes et les ravageurs sur l'état sanitaire des plantes de gombo.....	78
Fig. 33. Variation de la vigueur des plantes de la variété de gombo <i>Clemson spineless</i> entre les traitements de chaque site à 35 JAS. ....	79
Fig. 34. Variation de la vigueur des plantes de la variété de gombo <i>Hire</i> entre les traitements de chaque site à 35 JAS.....	80
Fig. 35. Variation de la longueur moyenne des fruits de la variété de gombo <i>Clemson spineless</i> entre les traitements de chaque site à la récolte.....	82
Fig. 36. Variation de la longueur moyenne des fruits de la variété de gombo <i>Hire</i> entre les traitements de chaque site à la récolte. ....	82
Fig. 37. Dendrogramme de regroupement entre les paramètres agromorphologiques des variétés de gombo en fonction des sites et des traitements. ....	85
Fig. 38. Analyse factorielle des données mixtes entre les paramètres agromorphologiques des variétés de gombo en fonction des sites et des traitements.....	86
Fig. 39. Analyse en composante principale entre les paramètres agromorphologiques des variétés de gombo et des paramètres physicochimiques dans les différents sites en fonction des traitements .....	88
Fig. 40. Chromatogramme de l'extrait méthanolique des feuilles de gombo issus des plantes non traitées. ....	99
Fig. 41. Chromatogramme de l'extrait méthanolique issu des feuilles de gombo de la parcelle traitée par la bioformulation.....	100
Fig. 42. Variation de la teneur en peroxyde d'hydrogène des extraits de fruits de gombo du traitement et du témoin dans les différents sites.....	104
Fig. 43. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH avec les extraits des fruits chez la variété <i>Clemson spineless</i> dans les trois zones agroécologiques. ....	106
Fig. 44. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH avec les extraits des fruits chez la variété <i>Hire</i> dans les trois zones agroécologiques.....	106
Fig. 45. Pourcentage d'inhibition du cation ABTS <sup>+</sup> avec les extraits des fruits du gombo <i>Clemson spineless</i> issus des trois zones agroécologiques.....	108
Fig. 46. Pourcentage d'inhibition du cation ABTS <sup>+</sup> avec les extraits des fruits du gombo <i>Hire</i> issus des trois zones agroécologiques. ....	108
Fig. 47. Activité antiradicalaire au test FRAP des extraits des fruits du gombo de variété <i>Clemson spineless</i> issus du traitement et du témoin dans les trois sites.....	109
Fig. 48. Activité antiradicalaire au test FRAP des extraits des fruits du gombo de variété <i>Hire</i> issus du traitement et du témoin dans les trois sites.....	109

Fig. 49. Effet du traitement sur l'activité spécifique des enzymes du stress oxydant chez les fruits de gombo <i>Clemson spineless</i> dans les trois sites. ....	111
Fig. 50. Effet du traitement sur l'activité spécifique des enzymes du stress oxydant chez les fruits de gombo <i>Hire</i> dans les trois sites.....	111
Fig. 51. Analyse en composante principale entre le taux de peroxyde et les enzymes du stress oxydant chez deux variétés de gombo.....	113
Fig. 52. Analyse en composante principale entre les paramètres nutritionnels en fonction des sites et des traitements.....	121
Fig. 53. Analyse en composante principale entre les paramètres physicochimiques, agromorphologiques et nutritionnels de gombo dans trois zones agroécologiques.....	123
Fig. 54. Parcelles de culture de gombo (A) : Plantes de gombo montrant l'effet de la bioformulation à base de <i>Trichoderma harzianum</i> et <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; (B) : Plantes témoins de gombo.....	125

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau I. Position taxonomique de <i>Abelmoschus esculentus</i> L.....	7
Tableau II. Caractéristiques morphologiques de quelques variétés de <i>Abelmoschus esculentus</i> L. ....	9
Tableau III. Valeurs nutritives de <i>Abelmoschus esculentus</i> L.. ....	11
Tableau IV. Représentation de la production mondiale de gombo dans quelques pays, évaluée en tonnes.....	13
Tableau V. Composition physicochimique des sols en fonction des traitements. ....	66
Tableau VI. Variation de la hauteur des plantes en fonction des traitements 35 jours après semis.....	73
Tableau VII. Effet des traitements sur le nombre des plantes.....	75
Tableau VIII. Effet des traitements sur la vigueur des plantes de gombo à 35 jours après semis.....	80
Tableau IX. Effet des traitements sur la productivité des deux variétés de <i>Abelmoschus</i> <i>esculentus</i> L. à la récolte en fonction des zones agroécologiques.....	83
Tableau X. Molécules spécifiques issues des feuilles de gombo du témoin T0. ....	101
Tableau XI. Molécules spécifiques issues des feuilles de gombo traité par la bioformulation T1. ....	102
Tableau XII. Molécules hypothétiques communes aux feuilles des plantes témoins et celles issues des plantes de gombo traité.....	103
Tableau XIII. Variation du profil nutritionnel chez les deux variétés de gombo en fonction des traitements dans les trois zones agroécologiques. ....	119

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

ABTS	Acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
APG	Angiosperm Polygeny Group
ACM	Analyse en Composantes Multiples
CAT	Catalase
CEC	Capacité d'échange cationique
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazine
ERO	Espèce oxygénée réactive
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GPx	Glutathion peroxydase
GSSG	Glutathion oxydé
GSH	Glutathion réduit
JAS	Jour après semis
MS	Spectrométrie de masse
LB	Luria-Bertani
OM	Matière organique
ONOO <sup>-</sup>	Radical peroxydinitrite
Pass	Phosphate assimilable
PDA	Patatoe dextrose agar
PDB	Patatoe dextrose Broth
PI	Pourcentage d'inhibition
PGPM	Plant Growth Promoting Microbes
PT	Phosphate total
SBE	Somme des bases échangeables
SOD	Superoxyde dismutase
TPTZ	2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,2,5-triazine
TSA	Gélose tryptique de soja
V	Taux de saturation en bases échangeables

## RÉSUMÉ

Le gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) est une plante cultivée dans les régions tropicales et tempérées dans le monde. Il est très apprécié pour ses divers usages. Sa culture connaît des contraintes au Cameroun plus précisément dans les zones agroécologiques III (site 2), IV (site 3) et V (site 1) en partie à cause du problème lié à la faible fertilité des sols due à l'acidité. Afin de palier à cette difficulté, les intrants biologiques sont visés pour régénérer les sols agricoles en vue d'un rendement agricole élevé. L'objectif de ce travail visait à produire des bioformulations à base des microorganismes bénéfiques en vue d'améliorer la fertilité des sols pour le rendement du gombo et le profil nutritionnel dans les zones agroécologiques suscitées du Cameroun pour sa valorisation en alimentation humaine.

À cet effet, trois types de formulations à savoir T1 (*Bacillus amyloliquefaciens* et *Trichoderma harzianum*); T2 (*Bacillus velezensis* et *Bacillus amyloliquefaciens*) et T3 (*Bacillus velezensis* et *Trichoderma harzianum*), un témoin T0 et deux variétés de gombo V1 (*Clemson spineless*) et V2 (*Hire* ou *kirikou*) ont été utilisés dans le dispositif en blocs aléatoires complets avec parcelles subdivisées (split-plot) en 5 répétitions. Les paramètres chimiques du sol ont été évalués. Par la suite, les paramètres agromorphologiques et biochimiques (l'activité antioxydante, l'activité enzymatique et les propriétés nutritionnelles) du gombo ont été évalués.

L'analyse de variance avec le test de Tukey ( $p = 0,05$ ) a montré que les paramètres physicochimiques majeurs (N, P, K), les taux de potassium, de phosphate assimilable (Pass), de magnésium sont influencés par le traitement T1 et il existe une différence significative par rapport aux autres traitements et par rapport au témoin. Pour ce qui est des paramètres morphologiques tels que la hauteur des plantes, la vigueur des plantes, la différence a été statistiquement ( $P < 0,05$ ) enregistrée entre les traitements T1 et les T2 et T3 et aussi avec le témoin dans les trois zones pour chaque variété de gombo. La productivité à l'hectare a été significativement différente entre les traitements T1, T2, T3 et le témoin T0 ( $P < 0,05$ ) concernant la variété V1 avec des scores respectivement de 16,6 ; 13,24 et 11,89 contre 8,53 t/ha pour le site 1 en suite 17,96 ; 17,17 ; 16,34 et 9,08 t/ha pour le site 2 et enfin 15,84 ; 11,88 ; 10,96 et 8,45 t/ha pour le site 3. Il en est de même pour la variété V2 avec les scores respectifs de 17,56 ; 12,4 ; 13,6 contre 8 t/ha pour le site 1 ; 18,44 ; 17,56 ; 17,67 contre 12,96 t/ha pour le site 2 et 15,92 ; 14,12 ; 11,08 et 6,67 t/ha pour le site 3. Il est ainsi observé que le traitement T1 a positivement et significativement influencé les paramètres



physicochimiques du sol et par conséquent les paramètres agromorphologiques ( $P < 0.05$ ) par rapport aux autres traitements.

Le criblage phytochimique fait par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) sur l'extrait méthanolique des feuilles de gombo a révélé une surexpression des métabolites dans les feuilles du traitement T1 par rapport au témoin. Les molécules majoritaires étant des acides organiques aux effets de bicontrôle et de stimulateurs de croissance. L'activité antioxydante évaluée au test de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine (DPPH), de l'Acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) et de Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) par la méthode spectrométrique a été significative ( $p < 0,05$ ) dans les fruits de gombo du traitement T1 qui enregistre respectivement des valeurs de 90,37 % ; 91,47 % et 85,40 % par rapport aux fruits issus du témoin T0 dont les valeurs étaient de 62,55% ; 67,83% et 36,43% dans les sites 1, 2 et 3. Les enzymes du stress oxydant glutathion peroxydase (GPx), Catalase (CAT) et superoxyde dismutase (SOD) évaluée par spectrométrie, ont eu une activité spécifique hautement significative ( $P < 0.001$ ) chez les extraits des fruits de gombo traité par rapport aux extraits témoins chez les variétés de gombo V1 et V2 dans les sites 1, 2 et 3. Nous enrégistrons respectivement pour la catalase 38,47 ; 41,18 ; 32,4 UI/min/mg de protéines contre 17,9 ; 20,8 ; 15,22 UI/min/mg de protéines et 39,66 ; 45,42 ; 40,11 UI/min/mg de protéine contre 21,01 ; 24,89 ; 22,1 UI/min/mg de protéines. En ce qui concerne la SOD, sa variation suivant le même ordre a été de 25,47 ; 28,67 ; 29,58 UI/min/mg de protéines contre 13,27 ; 15,17 ; 15,1 UI/min/mg de protéines et 28,12 ; 30,23 ; 25,4 UI/min/mg de protéines contre 12,99 ; 15,06 ; 10,63 UI/min/mg de protéines. La GPx quant à elle a également varié de 5,7 ; 6,8 ; 5,4 mmol/L de protéines contre 3,21 ; 4,31 ; 3,99 mmol/L de protéines pour la variété V1 et 5,11 ; 5,97 ; 4,92 mmol/L de protéines contre 3,87 ; 4,86 ; 3,11 mmol/L de protéines respectivement dans les sites 1, 2 et 3.

Les teneurs de certains paramètres nutritionnels ont significativement augmenté ( $P < 0.05$ ) chez le traitement T1 par rapport au témoin tels que Na (6,00 à 8,07 mg/100g de matière sèche) ; K (291,67 à 364,00 mg/100g ms) ; Mg (56,00 à 60,00 mg/100g Ms) ; Cu (1,89 à 2,01 mg/100g Ms) ; Fe (0,63 à 0,87 mg/100g Ms) ; Zn (2,82 à 3,00 mg/100g Ms) ; glucides (7,00 à 9,00 g/100g Ms) et protéines (2,10 à 4,40 g/100g Ms). Ces différents résultats montrent que l'utilisation de la bioformulation à base de *Bacillus amyloliquefaciens* et *Trichoderma harzianum* pour booster la fertilité du sol et de produire en quantité suffisante un gombo biofortifié serait ainsi idéale. Cette bioformulation via l'itinéraire technique peut être accessible au petit paysan, sa réalisation est facile et donne un meilleur rendement sans nuire à l'environnement et aux êtres vivants.

**Mots clés :** *Abelmoschus esculentus* L., bioformulation, productivité, microorganismes bénéfiques.

## ABSTRACT

Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) is a plant widely cultivated in tropical and temperate regions of the world. It is highly appreciated for its various uses. In Cameroon, however, its production is constrained, more specifically in agro-ecological zones III (site 2), IV (site 3) and V (site 1), due in part to the problem of low soil fertility caused by acidity. In order to overcome this challenge, biological inputs are targeted to regenerate agricultural soils for high crop yields. The aim of this work was to produce bioformulations based on beneficial microorganisms to improve soil fertility for okra yield and nutritional profile in three agroecological zones of Cameroon for its valorization in human food. For this purpose, three types of formulation were used : T1 (*Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma harzianum*) ; T2 (*Bacillus velezensis* and *Bacillus amyloliquefaciens*) and T3 (*Bacillus velezensis* and *Trichoderma harzianum*), a T0 control and two okra varieties V1 (Clemson spineless) and V2 (Hire or kirikou) were used in a randomized complete block design with split-plots divided into 5 replicates. Soil chemical parameters were assessed. The agromorphological and biochemical parameters (antioxidant activity, enzymatic activity and nutritional properties) of okra were then assessed.

Analysis of variance using Tukey's test ( $p = 0.05$ ) showed that the main physicochemical parameters (N, P, K), potassium, assimilable phosphate (Pass) and magnesium levels were influenced by treatment T1, with a significant difference compared to the other treatments and to the control. For morphological parameters such as plant height and vigour, there was a statistical difference ( $P < 0.05$ ) between treatments T1 and T2 and T3, and also with the control in all three zones for each okra variety. Productivity per hectare was significantly different between treatments T1, T2, T3 and control T0 ( $P < 0.05$ ) for the V1 variety, with respective scores of 16.6; 13.24 and 11.89 versus 8.53 t/ha for site 1, followed by 17.96; 17.17; 16.34 and 9.08 t/ha for site 2, and 15.84; 11.88; 10.96 and 8.45 t/ha for site 3. The same holds in the case of the V2 variety, with respective scores of 17.56; 12.4; 13.6 vs. 8 t/ha for site 1 ; 18.44; 17.56; 17.67 vs. 12.96 t/ha for site 2 and 15.92; 14.12; 11.08 and 6.67 t/ha for site 3. It is therefore observed that treatment T1 positively and significantly influenced soil physicochemical parameters and consequently agromorphological parameters ( $P < 0.05$ ) compared with the other treatments.

Phytochemical screening using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) on the methanolic extract of okra leaves revealed an over-expression of metabolites in leaves from treatment T1 compared to the control. The main molecules were organic acids with

bicontrol and growth stimulating effects. Antioxidant activity assessed by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine (DPPH), 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) spectrometric assays was significant ( $p < 0.05$ ) in okra fruits from treatment T1, with values of 90.37% ; 91.47% and 85.40% respectively, compared to fruits from the T0 control which recorded values of 62.55% ; 67.83% and 36.43% at sites 1, 2 and 3. The oxidative stress enzymes glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD), assessed by spectrometry, had highly significant specific activity ( $P < 0.001$ ) in extracts from treated okra fruit compared with control extracts in okra varieties V1 and V2 in sites 1, 2 and 3. For catalase, we respectively recorded 38.47; 41.18; 32.4 IU/min/mg protein vs. 17.9; 20.8; 15.22 IU/min/mg protein and 39.66; 45.42; 40.11 IU/min/mg protein vs. 21.01; 24.89; 22.1 IU/min/mg protein. As concerns SOD, its variation in the same order was 25.47; 28.67; 29.58 IU/min/mg protein vs. 13.27; 15.17; 15.1 IU/min/mg protein and 28.12; 30.23; 25.4 IU/min/mg protein vs. 12.99; 15.06; 10.63 IU/min/mg protein. GPx also varied from 5.7; 6.8; 5.4 mmol/L protein vs. 3.21; 4.31; 3.99 mmol/L protein for V1 and 5.11; 5.97; 4.92 mmol/L protein vs. 3.87; 4.86; 3.11 mmol/L protein for sites 1, 2 and 3 respectively.

The contents of some nutritional parameters were significantly increased ( $P < 0.05$ ) in T1 treatment compared to the control, such as Na (6.00 to 8.07 mg/100g Dm) ; K (291.67 to 364.00 mg/100g Dm) ; Mg (56.00 to 60.00 mg/100g Dm) ; Cu (1.89 to 2.01 mg/100g Dm) ; Fe (0.63 to 0.87 mg/100g Dm) ; Zn (2.82 to 3.00 mg/100g Dm); carbohydrates (7.00 to 9.00 g/100g Dm) and proteins (2.10 to 4.40 g/100g Dm). These results show that using bioformulation with *Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma harzianum* to improve soil fertility and produce biofortified okra in suitable quantities would be beneficial. This bioformulation, via the technical approach, is affordable for smallholders, and easy to perform, producing higher yields without harming the environment or wildlife.

**Key words:** *Abelmoschus esculentus* L., bioformulation, productivity, beneficial microorganisms, biochemical parameters.

## INTRODUCTION

Le gombo commun (*Abelmoschus esculentus* L.) est le quatrième légume-fruit le plus prisé au Cameroun après les tomates, le piment et les aubergines (Schippers, 2000). Il a un énorme potentiel économique pour les communautés pauvres du fait de son potentiel de vente sur les marchés ruraux et urbains (Nana *et al.*, 2009). Le gombo commun est reconnu pour ses vertus thérapeutiques (Julia *et al.*, 2022) et son utilisation industrielle et artisanale. Ses fruits ont une haute valeur nutritive en molécules biologiquement actives (nutriments et antioxydants). Ils sont notamment riches en calcium, fer, magnésium, en vitamines A, C, E, K et en lipides (acides oléiques, linoléiques, et palmitiques) (Ndangui *et al.*, 2010 ; Mahamadi *et al.*, 2016). Ying *et al.* (2019) ont indiqué que le gombo est une source excellente d'antioxydants naturels pour la prévention des maladies et la promotion de la santé. Ce potentiel est lié à sa richesse en métabolites parmi lesquels, les composés phénoliques dont l'ingestion contribuerait à renforcer le système immunitaire contre certaines maladies et le processus d'oxydation menaçant quotidiennement les cellules (Kanfon *et al.*, 2018). Ces métabolites doivent au quotidien, répondre aux besoins nutritionnels de l'organisme et participer à sa protection contre les agressions externes, notamment les maladies et le vieillissement précoce (Gbohaida *et al.*, 2016 ; Al-kanani *et al.*, 2019). Le gombo est également une source d'enzymes du stress oxydant qui contribuent ainsi à la réduction du taux de radicaux libres générés par l'organisme. Les radicaux libres résultent du stress oxydatif qui crée un état de déséquilibre entre leur production et la défense antioxydante. Ceci se traduit par une modification de l'activité des enzymes du stress oxydatif qui soutiennent indirectement le système de défense antioxydante en catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène.

Entre 2013 et 2022, la production mondiale de gombo est passée de 6,48 millions de tonnes à 10,5 millions de tonnes, l'Inde, le Pakistan et l'Irak étant d'importants centres de production (Julia *et al.*, 2022). En Afrique par contre, les productions sont en baisse et varient en fonction des pays durant les mêmes périodes. Elles sont passées de 120000 à 90780 tonnes au Cameroun ; de 100000 à 57721 tonnes en Égypte ; de 71350 à 66360 tonnes au Ghana mais de 826170 à 1978256 tonnes au Nigéria (Idowu *et al.*, 2022) avec des rendements d'ordre de 12 à 15/ha. Le faible rendement du gombo s'explique non seulement par sa marginalisation dans les programmes de développement et de recherche (Sawadogo *et al.*, 2006) mais aussi par la faible fertilité des sols de culture. Au Cameroun en particulier et dans les zones agroécologiques III, IV et V où sa culture est prisée, la faible fertilité des sols est

généralement liée aux techniques d'agriculture intensive ; à la déforestation causant la podzolisation et à la nature des roches, ce qui induit ainsi l'acidité des sols. L'utilisation abusive des engrais chimiques dans le but d'améliorer la production agricole renforce à long terme cette acidité des sols et la perte de la biodiversité. En conditions optimales de croissance, la productivité du gombo peut atteindre jusqu'à 30 / ha (Eifediyi *et al.*, 2015). Cependant, il existe un grand écart entre le rendement potentiel et le rendement escompté.

D'après les récentes statistiques de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 820 millions de personnes souffrent de la faim (Anonyme, 2019). Près de 40 % des terres cultivables de la planète sont dégradées par l'utilisation des engrais chimiques qui cause à long terme l'appauvrissement des terres conduisant à la perte de carbone organique, au déséquilibre des éléments nutritifs, à la salinisation, à la contamination, à l'acidification, à la perte de la biodiversité et à l'imperméabilisation (Juhos *et al.*, 2021). Les sols dégradés par les engrais chimiques minimisent le rendement des cultures pour répondre aux besoins de la population sans cesse croissante. Ces terres en danger nécessitent des mécanismes plus adaptés pour les rendre fertiles. L'amélioration de la fertilité du sol est loin d'être simple. Les sols constituent une ressource naturelle essentielle et non renouvelable qui recèle des biens et des services indispensables aux écosystèmes et à la vie humaine. Ils jouent un rôle fondamental dans la production des plantes cultivées (Anonyme, 2017). La gestion durable des sols constitue le point de départ de l'élimination de la pauvreté, du développement agricole et rural, de la promotion de la sécurité alimentaire et de l'amélioration de la nutrition (Anonyme, 2017).

Les techniques biologiques de restauration de la fertilité des sols dans les petits agroécosystèmes, en combinaison avec d'autres pratiques de gestion agronomique, fourniraient les solutions indispensables pour revitaliser le déclin de la production alimentaire. Les intrants biologiques traditionnels tels que les fientes de poules, les excréments issus de l'élevage bovin et bien d'autres fumiers ont été utilisés pour une production agricole beaucoup plus en qualité qu'en quantité, la croissance démographique nécessitant ce dernier facteur. Les parfaits alliés des cultures que sont les microorganismes bénéfiques ont donc été évoqués pour être au centre de la production quantitative et qualitative (Higa, 1991). Les microorganismes promoteurs de croissance (PGPM) constituent un ensemble des microorganismes favorisant la croissance des plantes, regroupe spécifiquement de bactéries et de champignons, qui fournissent des services agroécosystémiques essentiels. Ils favorisent la

croissance des plantes (Rouphael & Colla, 2020) et améliorent la productivité du sol (Raja et al., 2020). Les PGPM maintiennent des cycles agroécologiques essentiels à l'enrichissement des sols en nutriments, à l'amélioration des cultures, à la tolérance des plantes aux stress biotiques (maladies et ravageurs) et abiotiques (salinité excessive, stress hydrique, variations climatiques).

Les PGPM tels que le genre *Bacillus* ; les champignons mycorhiziens ; les *Trichoderma* favorisent la croissance et la productivité des plantes par diverses approches directes et indirectes. Plusieurs mécanismes directs ont été établis par des études antérieures et peuvent être classés dans la catégorie de phytostimulant (Faessel et al., 2014), de rhizomédiateur ou de régulateur de stress et de biofertilisant (Stamenkovic et al., 2018). Les mécanismes indirects se manifestent principalement sous la forme d'un biocontrôle des phytopathogènes à travers la compétition pour les nutriments, la lyse enzymatique, l'antibiose (Köhl et al., 2019), la sécrétion de composés organiques volatils (COV), le déclenchement du mécanisme de défense antioxydant (Malik et al., 2020), la réponse de résistance systémique induite (RSI) dans l'organisme et la résistance systémique (RIS) dans la plante hôte.

Les inoculants microbiens commerciaux (communément utilisés comme des biofertilisants ou des biostimulants) contenant une seule espèce ou des souches de *Rhizobia*, *Pseudomonas* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., de *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp., et de *Glomus* spp ont été largement utilisés dans les petits agroécosystèmes pour la production de cultures (Adeyemi et al., 2019). Des recherches antérieures menées sur le terrain dans différents agroécosystèmes à travers le monde ont rapporté des niveaux variables de succès sur l'utilisation des PGPM pour soutenir les performances des cultures sur le plan quantitatif et qualitatif (Saad et al., 2020). Ces microorganismes d'origine indigènes produisent des substances bioactives et des antioxydants tels la vitamine E, les flavonoïdes et ceci à partir de substances organiques (Mbouobda et al., 2013). Ces transformations ne produisent pas de dérivés nuisibles tels que l'ammoniac ou l'acide sulfhydrique. Au contraire, les biogaz existants sont dégradés (Chrispaul et al., 2010). Les nutriments normalement indisponibles, les substances biologiquement actives (minéraux, vitamines, nucléotides, antioxydants) et les enzymes mis à disposition par les microorganismes bénéfiques avec la décomposition de la matière organique stimulent d'autres micro-organismes dans leur activité (Kengo & Hui-lian, 2000). Au Cameroun, aucune étude n'a encore été menée sur la combinaison entre *Trichoderma harzianum* et *Bacillus* spp., ayant des effets spécifiques.

## **Problématique**

La faible fertilité des sols généralement liée à l'acidité (Juhos *et al.*, 2021) réduit le rendement agricole en Afrique et au Cameroun en particulier. Les techniques d'amendement traditionnel par les populations locales à l'instar de la rotation des cultures, des amendements organiques ; restent limitées. La demande croissante des petits exploitants agricoles de réduire le coût des intrants, le besoin de pratiques et de gestion durables des nutriments du sol conduit à l'adoption et l'utilisation croissantes d'engrais riches en microbes dans leurs installations (Raimi *et al.*, 2017). Il en résulte donc la nécessité d'améliorer la fertilité des sols par l'une des techniques innovantes en pleine propension qui promeut l'utilisation des bioformulations microbiennes. Ceci a pour but d'accroître le microbiote tellurique pour le biocontrôle des plantes de gombo et la disponibilité en éléments minéraux du sol pour une production accrue possédant une valeur nutritive conséquente.

## **Question de recherche**

La question de recherche de ce travail est de savoir comment l'association des microorganismes bénéfiques va-t-elle augmenter l'indice de consommation des végétaux par modification des propriétés physicochimiques du sol, pour une production qualitative et accrue ? Cette question pose des axes principaux autour desquels s'articulent des questions sous-jacentes suivantes :

- les bioformulations microbiennes modifient-elles les propriétés physicochimiques des sols et les paramètres agromorphologiques du gombo au cours de son développement ?
- la bioformulation microbienne augmente-t-elle l'activité antioxydante de *Abelmoschus esculentus* et son profil phytochimique permettant ainsi sa valorisation en alimentation animale ?
- la bioformulation microbienne au travers de la fertilisation des sols améliore-t-elle les propriétés nutritionnelles de *Abelmoschus esculentus* ?

## **Hypothèse de recherche**

Comme hypothèse de recherche, les bioformulations à base de micro-organismes bénéfiques induisent la fertilité des sols et la productivité des plantes de gombo commun. Ils agiront ainsi comme des associés vitaux des plantes dans le but d'améliorer leur nutrition minérale avec obtention des produits agricoles biofortifiés. Des hypothèses suivantes sont relevées par la suite afin d'être vérifiées :

- les bioformulations microbiennes influencent positivement les propriétés physicochimiques des sols et par conséquent les paramètres agromorphologiques de *Abelmoschus esculentus* ;
- la bioformulation microbiennes augmente l'activité antioxydante de *Abelmoschus esculentus* par variation son profil phytochimique ;
- la bioformulation microbienne améliore le potentiel nutritionnel du gombo.

### **Objectif général**

L'objectif général contribue à l'amélioration de la fertilité des sols et à la stimulation d'un rendement et le profil nutritionnel élevés du gombo dans les zones agroécologiques III, IV et V à travers les bioformulations à base des microorganismes bénéfiques.

### **Objectifs spécifiques**

Plus spécifiquement, il est question de :

- tester la compatibilité des souches microbiennes utilisées tout en identifiant la meilleure bioformulation à travers de son effet sur les propriétés physicochimiques du sol et les paramètres agromorphologiques du gombo ;
- évaluer l'effet de la meilleure bioformulation microbienne sur le profil phytochimique et l'activité antioxydante du gombo pour sa valorisation sur le plan alimentaire ;
- déterminer l'effet de la formulation sur les propriétés nutritionnelles du gombo tout en proposant l'itinéraire technique de mise en œuvre de la bioformulation pour les paysans des zones d'étude.

Ce travail trouve son importance dans plusieurs axes :

- Sur le plan académique, il apporte des connaissances supplémentaires sur l'implication des microorganismes bénéfiques dans la variation du profil nutritionnel et des molécules phytochimiques du gombo assurant sa résistance aux facteurs biotiques et abiotiques tout en augmentant son potentiel de productivité ;
- Sur le plan sanitaire, il contribue à l'identification des marqueurs du stress oxydant dans un gombo biofortifié, capables de réduire les espèces oxygénées réactives produites par l'organisme et pouvant lui provoquer certaines pathologies ;
- Sur le plan économique, l'action des microorganismes bénéfiques contribue à une production accrue du gombo ayant un potentiel de vente qui génère ainsi des revenus aux populations locales ;
- Sur le plan environnemental : l'utilisation des techniques de biofertilisations microbiennes dans la productivité agricole pourront épargner l'environnement des polluants supplémentaires en réduisant également ceux déjà présents dans le sol.
- Sur le plan agronomique, la formulation réduit considérablement l'acidité du sol pour leur meilleure utilisation et améliore ainsi le rendement agricole.



# **CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE**

## I.1. Généralités sur *Abelmoschus esculentus* L.

### I.1.1. Taxonomie

Les variétés de gombos cultivées et les espèces sauvages apparentées ont été initialement classées dans le genre *Hibiscus*, section *Abelmoschus* par Linné (1735) (Tableau I). Le genre *Abelmoschus* se distingue du genre *Hibiscus* d'après les caractéristiques du calice qui est spatiforme à cinq dents courtes, soudés à la corolle et caduc après la floraison (Terrell & Winters, 1974).

Tableau I. Position taxonomique de *Abelmoschus esculentus* L. selon Anonyme (2009)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Malvales
Famille	Malvaceae
Genre	<i>Abelmoschus</i>
Espèce	<i>Abelmoschus esculentus</i> L.

*Abelmoschus esculentus* porte différentes appellations ou noms vernaculaires selon les pays : Gombo ou Gumbo en français ; Okra, Okro ou lady's finger en anglais ; Quimgombo en espagnole ; Quibeiro en polonais ; Mbamia ou mbinda en suédois et Bamiah en arabe Anonyme (2009).

### I.1.2. Description botanique

Le gombo est une plante annuelle plus ou moins ramifiée et pouvant atteindre 4 m de haut. La tige est cylindrique, avec des poils raides disséminés, glabrescente et souvent tachetée de rouge. Les ramifications sont dressées ou courbées vers le bas (Fig. 1).

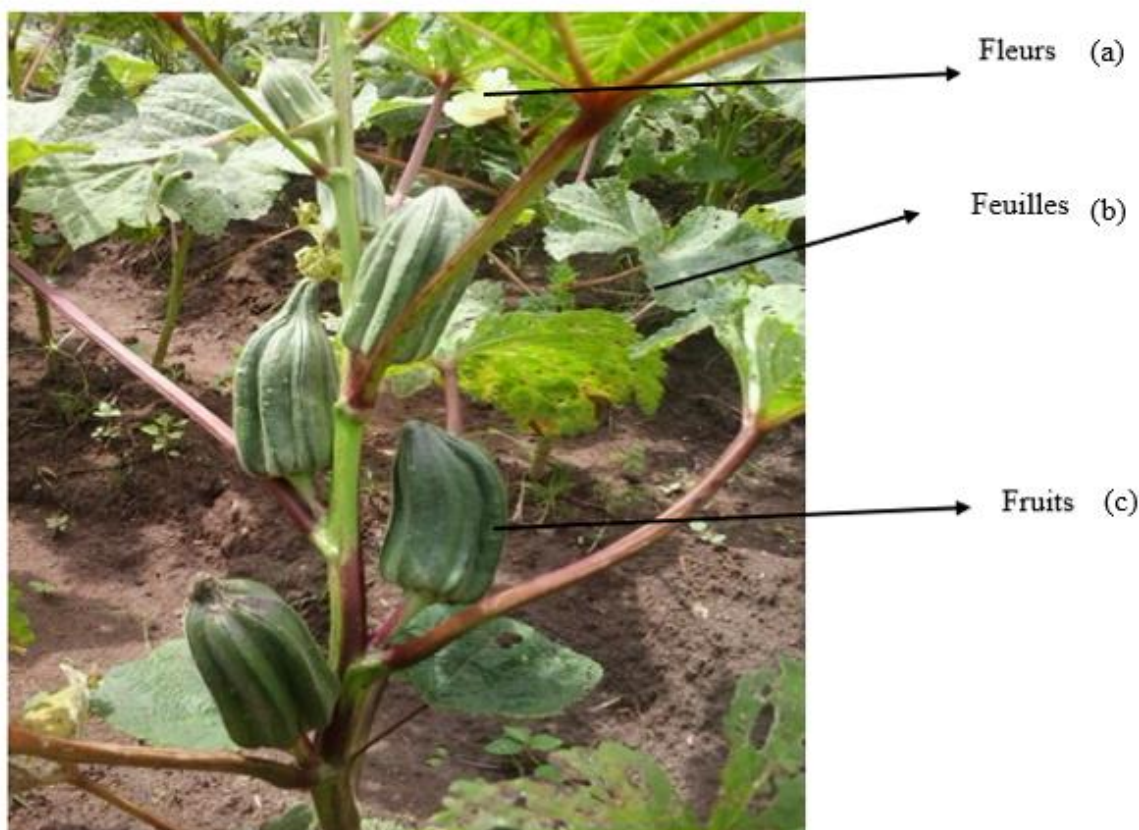


Fig. 1. Plante de *Abelmoschus esculentus* (a) = Fleurs ; (b) = Feuilles ; (c) = Fruits

Les feuilles de *Abelmoschus esculentus* sont disposées en simples spirale et de taille variables avec des stipules filiformes allant jusqu'à 2 cm de long et souvent fendues à la base (Fig. 1c). Les fleurs axillaires sont solitaires ou en grappe par réduction des feuilles supérieures. Le pédicelle fait environ 3 cm de long sur la fleur, 7 cm sur le fruit, avec des poils raides disséminés, glabrescent (Fig. 1b). Les fruits sont à capsule érigée, cylindrique à pyramidale. (Fig. 1c) (Stevens, 1988, De Lannoy, 2001). Les graines sont globuleuses à ovoïdes, de 3–6 mm de diamètre, avec de petites verrues en rangées concentriques, portant rarement de longs poils rouges sur le tégument (Stevens, 1988 ; Zemani, 2009).

### I.1.3. Origine et répartition géographique

*A. esculentus* L. est une plante originaire d'Afrique, connue pour ses fruits utilisés comme légumes (Macleod & Ames, 1990). Il est très répandu dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes, mais est particulièrement appréciée en Afrique de l'Ouest, en Inde, aux Philippines, en Thaïlande et au Brésil. L'espèce *Abelmoschus esculentus* est un cultivar des régions tropicales et subtropicales d'Asie, d'Afrique et d'Amérique, avec une extension aux régions tempérées du bassin méditerranéen (Siemonsma *et al.*, 2004).

#### I.1.4. Variétés de Gombo commun

Il existe plusieurs variétés de Gombo commun genre *Abelmoschus* (Tableau II)

Tableau II. Caractéristiques morphologiques de quelques variétés de *Abelmoschus esculentus* L.(Stevens, 1988)

Variétés	Couleur tige et fruits	Lignification et degré de mucilage des fruits	Temps mis du semis à la récolte	Cycle de culture (Jours)	Lieu de sélection et année
Clemson Spinless	Vert foncé	Rapide et élevée	50-65 jours	130-150	USA 1939
Puso	Vert foncé	Rapide et élevée	50-65 jours	130-150	Sénégal 1982
Pop 12	Vert foncé et vert claire	Lente et élevé	50-60 jours	130-150	Sénégal 1982
Red Rocket	Rouge et rouge vif	Bon taux	Précoce	-	Sénégal
Paysan	Vert anthocyané et vert	Bon taux	Tardive	-	Sénégal
Hire	Vert	Bon taux	Précoce	110-115	Sénégal
Indiana	Vert	Faible taux	Précoce	110-120	Sénégal
Emerald	Vert anthocyané et vert	Bon taux	Peu précoce	-	-
Essoumtem	Vert	Bon taux	Précoce	-	Sénégal
F1 Volta	Vert	Bon taux	Précoce	-	Sénégal
F1 Madison	Vert	Bon taux	Précoce	-	Sénégal
F1 Lima	Vert	Bon taux	Peu précoce	-	Sénégal
F1 Kirène	Vert	Bon taux	Précoce	-	Sénégal
F1 Sahari	Vert anthocyané et vert	Bon taux	Précoce	-	Sénégal

#### I.1.5. Exigences écologiques

Dans les conditions du climat tropical, les cultivars locaux et introduits fleurissent dans un délai de 45–80 jours après le semis en saison sèche, et de 55–105 jours après un semis en saison des pluies. La période de culture excède rarement 6 mois. La floraison et la pollinisation se produisent tôt le matin (Lim & Chai, 2007). Les semences ne germent pas à une température en dessous de 15 °C (l'optimum de la température du sol est de 20°C). La germination nécessite 17 jours à 20 °C, 13 jours à 25 °C ou 7 jours à 30°C. *Abelmoschus esculentus* L. Ce dernier nécessite des températures supérieures à 20°C pour avoir une

croissance optimale. Le pourcentage de germination et la rapidité de levée des semis sont optimaux à 30–35 °C (Sonto *et al.*, 2022). Le gombo pousse bien avec une certaine humidité dans le sol mais pas en hydromorphe. Les besoins en eau pour un cycle cultural sont de l'ordre de 900 à 1200 mm. L'initiation florale est retardée au fur et à mesure que la température s'élève. Cependant les sols profonds, silico-argileux bien drainés, limono-sableux, bien drainés, riches en matières organiques et à bonne capacité de rétention d'eau seront les plus indiqués pour sa culture (Lim & Chai, 2007). Le pH du sol approprié pour la culture varie de 6 à 7 (Bibata *et al.*, 2017).

#### **I.1.6. Usages**

Le gombo peut traiter les troubles sexuels chez l'homme et la femme ; il stimule le muscle cardiaque et favorise les sécrétions hormonales. Sa consommation régule le taux du cholestérol sanguin, contribue à stabiliser la concentration du glucose dans le sang et limite la vitesse d'absorption du sucre au niveau du tractus intestinal. Manger du gombo cuit permet de lutter contre la constipation tandis que le consommer cru présente un bon remède contre l'incontinence urinaire. Une tisane faite à base des graines sèches est conseillée pour lutter contre la fièvre et l'irritation des intestins (Zemani, 2009). La décoction des capsules immatures est adoucissante, diurétique et émolliente (Dantas *et al.*, 2021).

Les jeunes fruits immatures constituent un légume important sur le plan comestible. En Afrique de l'Ouest, ils sont généralement bouillis pour faire des sauces gluantes (Mahamadi *et al.*, 2016). On peut les conserver par séchage, entiers ou coupés en tranches, ou encore par saumurage. Les jeunes feuilles sont parfois consommées comme des épinards. Les fruits mûrs renferment 50 à 90 graines qui constituent une source d'huile. Après le pressage des graines, le tourteau contient environ 30% de protéines. Les graines torréfiées de gombo dans certaines régions sont employées comme substitut de café (Siemonsma & Hamon, 2004 ; Zemani, 2009). Le mucilage du gombo est utilisé comme agent de collage en confiserie.

#### **I.1.7. Valeur nutritive**

La valeur nutritive de *Abelmoschus esculentus* L. pour 100 g de chaque partie comestible est la suivante (Tableau III) :

Tableau III. Valeurs nutritives de *Abelmoschus esculentus* L. (Hamon, 1990 ; Silue, 2017).

Fruits		Feuilles	
Principes	Valeur nutritive	Principes	Valeur nutritive
Eau	85,7 - 90,2 g	Eau	75,3–92,4g
Energie	36 kcal	Energie	56 kcal
Fibres	1,7 g	Fibres	2,1 g
Protéines	1,1 – 3,0 g	Protéines	2,8–5,6g
Lipides	0,2 g	Lipides	0,6 g
Glucides	8,2 g	Glucides	11,3 g
Calcium	55 – 142 g	Calcium	258–635mg
Phosphore	90 g	Phosphore	70 mg
Fer	1,1 – 1, 5 g	Fer	0,7 mg
$\beta$ -carotène	180–190 $\mu$ g	$\beta$ -carotène	385 $\mu$ g
Thiamine	0,04 mg	Thiamine	0,25 mg
Riboflavine	0,08 mg	Riboflavine	2,8 mg
Niacine	0,6 mg	Niacine	0,2 mg
Acide ascorbique	20–126mg	Acide ascorbique	9–75mg

Comparé à d'autres légumes-fruits charnus (tomate, aubergine), le gombo est particulièrement riche en calcium et en acide ascorbique (Zemani, 2009). Les glucides sont présents principalement sous forme de mucilage. Les principaux éléments nutritifs sont le galactose (25 %), le rhamnose (22 %), l'acide galacturonique (27 %) et des acides aminés (11 %) (Nzikou et *al.*, 2002). Les graines de gombo contiennent environ 30 % de protéines (dont la composition en acides aminés est comparable à celle des protéines du soja), et 20 % de lipides (dont la composition en acides gras est comparable à celle de l'huile de graines de coton). (Haoua et *al.*, 2011 ; Law-Ogbmo, 2013).

## I.1.8. Pratiques de culture

### I.1.8.1. Labour et enfouissement de la matière organique

Le gombo se développe bien sur un sol meuble et aéré. Il est donc important de procéder à un labour sur au moins une profondeur de 20cm suivi d'émiettement des blocs. Pour permettre un bon développement de la plante, l'opération d'enfouissement de la matière organique peut être réalisée de façon localisée au niveau des poquets de semis sans mélange avec le sol. Ceci a l'avantage de limiter les attaques de nématodes à galles (Anonyme, 2007).

### **I.1.8.2. Réalisation des poquets et Semis**

Le semis du gombo se fait par des piquetages de 40cm x 60cm correspondant à une densité de 41750 plantes à l'hectare (simple ligne), ou de 25 cm x 50cm x 80cm correspondant à une densité de 61.500 plantes à l'hectare (double lignes). Pour un hectare de gombo, 3 à 6Kg de semences sont nécessaires. Il est important de tester le pouvoir germinatif des semences en les trempant 24h avant le semis pour ramollir le tégument. Le semis se réalise en introduisant 3 graines de semence à une profondeur de 1,5 à 2cm et presser légèrement la terre au-dessus des graines. La conservation des graines dans les capsules est le moyen le plus sûr moyen (Mahamadi *et al.*, 2016). Le poids des graines est de 30–80 g/1000 graines (Zemani, 2009).

### **I.1.8.3. Entretien du champ d'expérimentation**

Un nouveau semis est généralement effectué après levée pour des graines non germées dans les poquets, très souvent à cause des pathogènes, leur immaturité, des semis mal réalisés (profondeur de semis et compaction du sol) ou dû à cause des graines très fortement humidifiées, ce qui entraîne leur pourriture dans le sol. Après la levée des plantules, il est recommandé de faire le démariage qui est un processus au cours duquel sur les 3 plantules issues d'un poquet l'on procède à l'élimination des deux plants moins bien développés. Cette opération se réalise quand les plantules ont une taille entre 8 et 15cm ce qui correspond à 10 à 14 jours après semis pour une croissance optimale. Cette pratique permet d'augmenter le pourcentage de réussite de la culture. Le désherbage doit être permanent en début de culture afin de réduire la compétition entre les plantules et les mauvaises herbes en sources trophiques (Anonyme, 2007).

### **I.1.9. Production**

La production mondiale du gombo a été de 10 ;5 millions de tonnes en 2022 assuré à 80 % par l'Inde et Nigéria et au Cameroun de 90780 tonnes pour 8 à 12 tonnes par hectare. Il est cultivé principalement en Inde, au Nigéria, au Soudan, au Pakistan, en Côte d'Ivoire, au Ghana, en Égypte, au Bénin, en Arabie Saoudite, au Mexique et au Cameroun. Les zones de forte production sont l'Inde, suivie par le Nigéria, le Soudan et l'Irak (Julia *et al.*, 2022) (Tableau IV).

Tableau IV. Représentation de la production mondiale de gombo dans quelques pays, évaluée en tonnes (Julia *et al.*, 2022).

Pays	2013 (T)	2022 (T)
Inde	4.528.000	5.507.000
Nigéria	826.170	1.978.286
Cameroun	120.000	90.780
Egypte	100.000	97.721
Pakistan	116.096	117.961
Soudan	249.000	287.300
Autres	851 721	754 135
Total	6 862 167	8 901 543

En conditions favorables, le rendement moyen est de l'ordre de 8 à 12 t/ha pour la variété Indiana et 10 à 12 t/ha pour la variété Clemson (Zoa *et al.*, 2017 ; Anonyme, 2019).

#### **I.1.10. Maladies et ravageurs**

Plusieurs espèces fongiques phytopathogènes s'attaquent généralement au gombo avec des incidences économiques importantes (Singh *et al.*, 2018 ; Idowu *et al.*, 2022).

##### **- Maladie d'enroulement foliaire**

Elle peut être non pathogène et/ou pathogène et ainsi causée par la pullulation des mouches blanches genre *Moschatus* spp. Cette maladie est influencée par les conditions climatiques, les pratiques culturales et les variétés cultivées. Elle intervient lorsque les plantes sont chargées en fruits, alimentation hydrique des plantes, sécheresse prolongée, sol de nature axphysiante suite à de fortes pluies. Elle se manifeste par la déchirure du limbe foliaire des feuilles âgées (Fig. 2) L'incident directe de ces symptômes sur le développement et la production des plantes est souvent faible.





Fig. 2. Manifestation de la maladie d'enroulement des feuilles chez le gombo.

- **Infestations à Altise**

Les pucerons genre *Podagrica* spp sont la cause au niveau des sols légers ayant un excès de fumure azoté et provoquent des trous sur les jeunes gousses et des feuilles (Fig. 3).



Fig. 3. Manifestations de l'altise sur les feuilles de gombo

- **Fusariose**

L'agent pathogène de *Fusarium oxysporum* est à l'origine de cette maladie dans les sols à basse teneur en potassium et acidité élevée. Elle se manifeste par la chlorose des feuilles matures, le flétrissement général de la plante et un ralentissement de la croissance (Fig. 4).



Fig. 4. Manifestation de la fusariose chez le gombo (Singh *et al.*, 2018).

#### - Galle

Elles sont généralement provoquées par les nématodes à galles ou *Meloidogyne* spp. se développant dans les sols sableux et légers chauds. Ses symptômes sont le dépérissement des plantules, l'absence de développement des nouvelles racines (Fig. 5).



Fig. 5. Manifestation du nématode à galles chez le gombo.

#### - Cercosporiose de gombo

C'est une maladie causée par *Cercospora abelmoschi*, *Cercospora malayensis*, Champignon produisant des conidies disséminées par le vent. On observe sur les feuilles, les tâches nécrotiques brun-gris, des sporulations grisâtres et noirâtres (Fig. 6).



Fig. 6. Maladie de la Cercosporiose du gombo.

#### - Oïdium

L'agent causal de l'oïdium du gombo est *Erysiphe cichoracearum* ou *oidium abelmoschi*. Son développement est favorisé par une alternance des périodes humides avec des périodes ensoleillées. Elle se manifeste par un ralentissement de la croissance, un raccourcissement des entre-nœuds, les poils blanchâtres qui se développent sur les bourgeons, un feutrage gris blanchâtre et une crispation des feuilles (Fig. 7).



Fig. 7. Manifestation de l'oïdium chez le gombo.

#### **I.1.11. Récolte et rendement de *Abelmoschus esculentus* L.**

Les types de gombo les plus précoces sont récoltés 7 semaines après les semis. Les fruits sont généralement récoltés lorsqu'ils sont âgés de 7–8 jours. Une récolte plus précoce contribue à la réduction du rendement parce que les fruits ont un poids moindre, mais une récolte trop tardive réduit aussi le rendement commercial parce que les fruits deviennent trop mures et fibreux. Les champs de gombo sont par conséquent récoltés à l'intervalle de 2–3 jours (Zemani, 2009). Les rendements en graines sont de l'ordre de 500–1000 kg/ha. Une

bonne récolte de fruits varie de 8 à 15t/ha mais en conditions optimales on peut obtenir plus de 40 t/ha dépendamment des variétés. Les rendements sont généralement faibles lorsqu'ils varient de 2–4 t/ha en raison de méthodes de culture peu intensives (Anonyme, 2012). Il devient dès lors important d'appliquer les techniques d'agriculture biologique moderne par utilisation des biofertilisants pour régression cette pente.

## **I.2. Généralités sur les biostimulants et bioformulations**

### **I.2.1. Biostimulants et biofertilisants**

La cartographie terminologique de Faessel *et al.* (2014) place les biostimulants comme éléments agissant à deux grands niveaux : les sols et les végétaux (Fig. 8). Ces derniers ont des rôles diversifiés de par l'amendement des sols, la nutrition et la protection des plantes. Un biostimulant peut ainsi jouer le rôle de biofertilisant car améliore l'efficacité de la nutrition de plantes (Du Jardin *et al.*, 2015).

Les biostimulants sont des substances et/ou des microorganismes dont la fonction, lorsqu'appliqués aux plantes ou à la rhizosphère, est de stimuler des processus naturels qui favorisent/améliorent l'absorption ou l'utilisation des nutriments, la tolérance aux stress abiotiques, la qualité ou le rendement de la culture, indépendamment de la présence de nutriments (Yakhin *et al.*, 2017).

Dans leur rôle de fertilisant, ils sont des substituts d'engrais chimiques car apportent aux plantes :

- les éléments nutritifs majeurs que sont l'azote, le phosphore et le potassium ;
- les éléments secondaires à savoir le calcium, le magnésium, le sodium, le soufre ;
- les oligo-éléments tels que le Bore, le Cuivre, le Fer, le Manganèse, le Molybdène, le Zinc, le Chlore, le Cobalt, le Vanadium, le Silicium (Anonyme, 2019).

Les microorganismes en tant que biostimulants ont de nombreux avantages, ils jouent le rôle de stimulants de croissance, de phytostimulants, d'activateur de sol et d'additifs agronomiques (Faessel *et al.*, 2014). À cet effet, ils induisent un meilleur état des cultures au tavers des métabolites dont ils induisent la synthèse chez les végétaux, d'où le bon rendement agricole. Ils transforment également la matière organique en éléments nutritifs qui peuvent être utilisés pour rendre les plantes plus productives. Ils améliorent contrairement aux engrais chimiques, la biodiversité des sols et maintiennent la productivité à long terme.

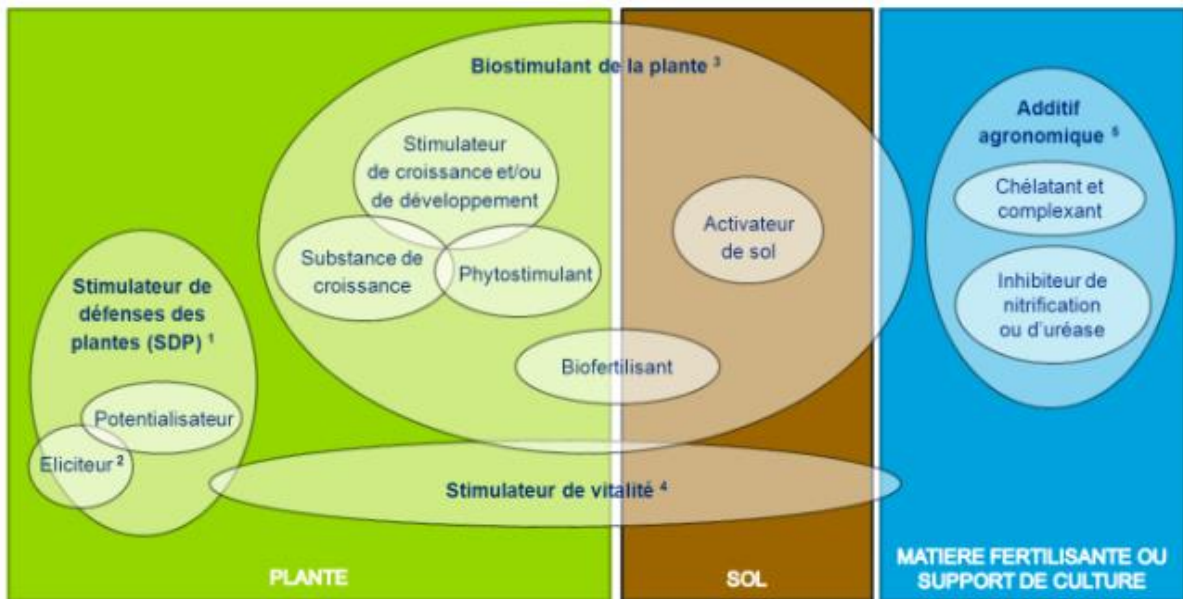


Fig. 8. Cartographie terminologique des biostimulants (Faessel *et al.*, 2014).

Les microorganismes bénéfiques (petites colonies de bactéries, champignons et protozoaires) sont des biostimulateurs (Faessel *et al.*, 2014) de l'agriculture naturelle qui inclut plusieurs principes de l'agriculture biologique (pas d'herbicides ni de pesticides de synthèse ; l'accent sur la durabilité ; une production de qualité supérieure) (Cho, 1997).

### I.2.1.1. Microorganismes bénéfiques dans l'agriculture

#### I.2.1.1.1. Généralité sur les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes

Les bactéries entretenant une interaction bénéfique avec la plante sont communément désignées comme des bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) (Beneduzi *et al.*, 2012). Ces bactéries stimulent ainsi la croissance des plantes selon différents mécanismes incluant la mobilisation des nutriments du sol, la production de régulateurs de croissance, le contrôle des phytopathogènes et la séquestration des métaux lourds (Ahemad & Kibret, 2014). Lorsqu'elles sont cultivées avec une plante, les rhizobactéries améliorent sa croissance (Vessey, 2003). Il en existe différentes sortes dont certaines ont été répertoriées par Ahemad & Kibret (2014). Les PGPR représentent une possibilité intéressante pour remplacer les fertilisants chimiques et les pesticides dans le futur (Ahemad & Kibret, 2014 ; Maroua, 2018).

Les PGPR peuvent agir par voie nommée directe (Fatema *et al.*, 2022) sur le développement de la plante avec laquelle ils interagissent en augmentant de la disponibilité en nutriments, la surface d'échange racinaire, ou solubilisation du phosphore et du fer (Oriane, 2019). D'autres auront un effet encore plus direct par la synthèse des composés directement

utilisables par la plante tels que les phytohormones (production d'auxine par *Pseudomonas fluorescens*) (Fig. 9) ou de substances volatiles (*Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*) (Oriane, 2019).

Les PGPR sont également capables d'agir selon une voie indirecte sur la croissance des plantes (Maroua, 2018). Certains PGPR, que l'on peut qualifier d'antagonistes auront un effet local sur les pathogènes du sol grâce à la production de composés antimicrobiens. Ces composés sont notamment représentés par les sidérophores, les bactériocines et les antibiotiques (Maroua, 2018). Des exemples d'antibiotiques sont la production de phenazine par *P. spp.* (Liang *et al.*, 2020) et la production de lipopeptides (LPs3) biosurfactants par *Bacillus subtilis* et *amyloliquefaciens* (Barbara *et al.*, 2022). L'utilisation des PGPR comme agents de biocontrôle en agriculture est une solution viable pour remplacer les produits chimiques existants.

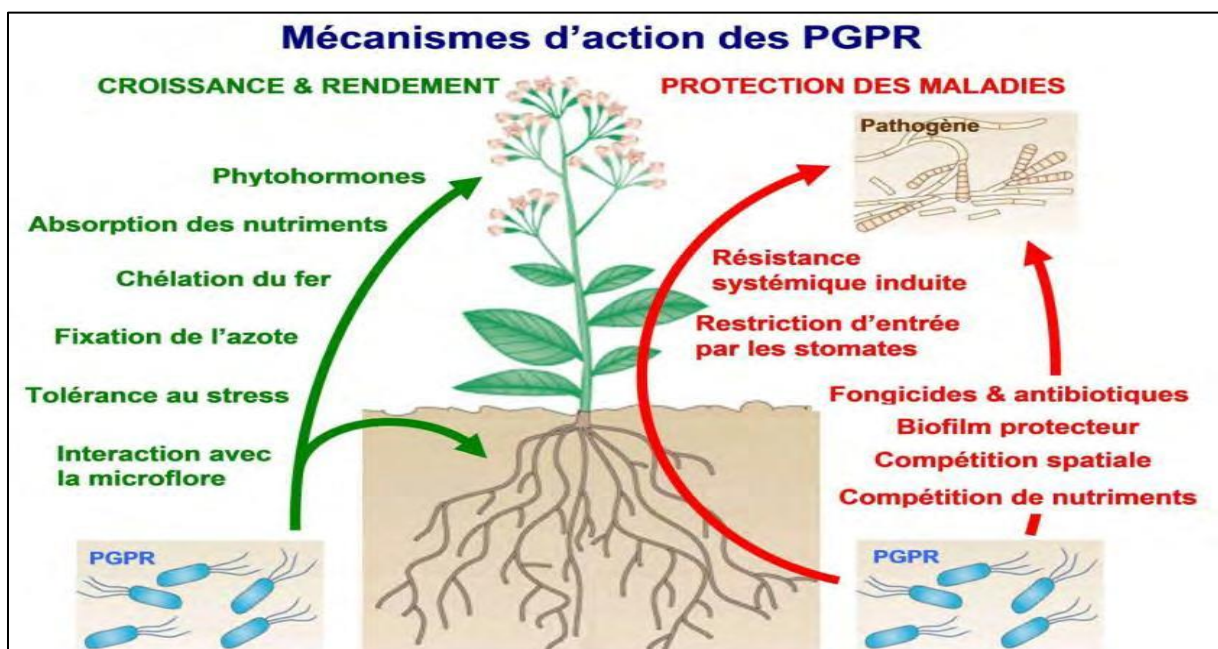


Fig. 9. Mécanismes d'action des PGPR (Fatema *et al.*, 2022).

#### I.2.1.1.1. Mode d'action de *Bacillus velezensis*

*Bacillus velezensis* (Fig. 10) est une espèce de bactérie aérobie à Gram-positif, formatrice d'endospores qui favorise la croissance des plantes au travers de la production des phytohormones (Rabbee *et al.*, 2019). Cette espèce fait partie du complexe d'espèces de *B. subtilis* et connu pour sa résistance à des températures allant jusqu'à 80°C, son activité

optimale étant à une température de 16°C (Michele *et al.* 2021) et plus particulièrement du groupe opérationnel *B. amyloliquefaciens* comprenant *B. amyloliquefaciens*, *B. siamensis*, et *B. velezensis*. Ce groupe opérationnel comprend les plus importants bacilles de biocontrôle et de promotion de la croissance des plantes. Ils sont utilisés avec succès dans l'agriculture notamment grâce à leur capacité à coloniser les végétaux et à résister à de fortes réactions des plantes (Oriane, 2019).

Depuis, plusieurs espèces de *Bacillus* ont été reclassées comme *B. velezensis* (Rabee *et al.*, 2019) et certaines souches de *B. velezensis* ont déjà été commercialisées comme bio-inoculant pour le contrôle de plusieurs maladies présentes dans le sol. Les molécules bioactives produites par *B. velezensis* ont été répertoriées par Rabee *et al.* (2019). Parmi ces métabolites secondaires produits, se retrouve l'amylocycline. Cette molécule bioactive est une bactériocine de nature peptidique à rôle antimicrobien (Abriouel *et al.*, 2011). Ces molécules bioactives se distinguent des antibiotiques traditionnels par leur spectre d'action qui est relativement étroit et leurs cibles qui sont souvent des bactéries étroitement liées à la souche productrice. Les bactériocines permettent à la souche de s'établir dans une communauté microbienne, de se défendre contre l'invasion de leur niche par de nouvelles espèces ou de limiter l'avancée des cellules voisines (Riley & Wertz, 2002). Elle a été découverte par Scholz *et al.* (2014) et identifiée dans les métabolites secondaires produits par *B. amyloliquefaciens* FZB42 qui a maintenant été déclassifié comme une souche de *B. velezensis* (Barbara *et al.*, 2022).

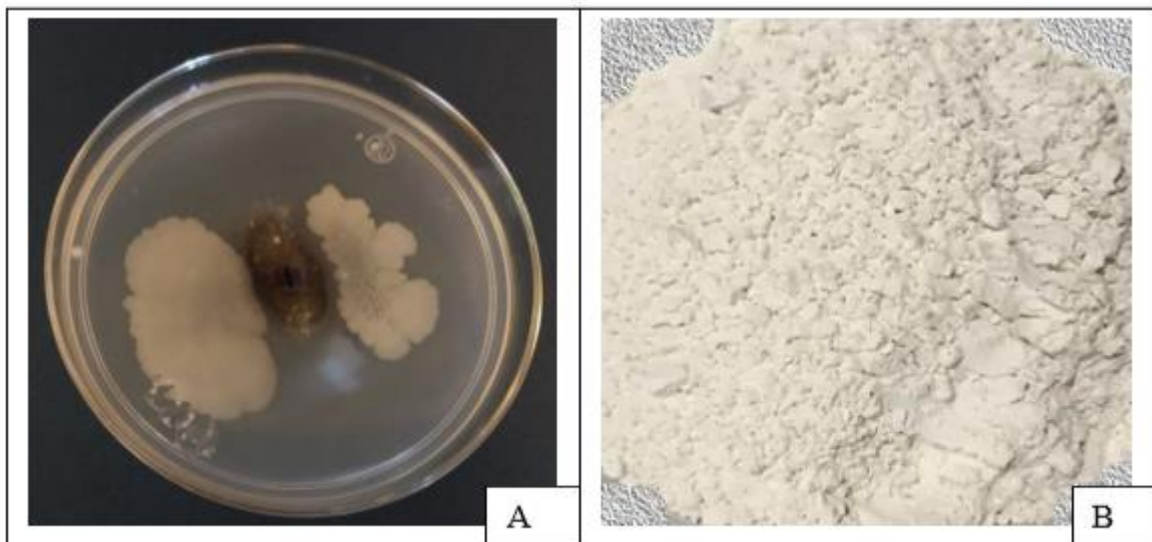


Fig. 10. Morphologie de *Bacillus velezensis* (A) : Aspect macroscopique (Liu *et al.*, 2017) ; (B) : Forme poudreuse.

#### **I.2.1.1.1.2. Mode d'action de *Bacillus amyloliquefaciens***

*Bacillus amyloliquefaciens* (Fig. 11) est une bactérie à Gram positif qui se développe de façon optimale de 30 à 40°C. Elle produit des métabolites secondaires tels que la subtiline, une protéase qui dégrade les protéines comme la trypsine, la plantozolicine ayant une activité bactéricide contre *Bacillus anthracis* (Amalia & Miguel, 2023).

Il a été démontré que les espèces de *B. amyloliquefaciens* colonisent efficacement la rhizosphère et surmontent l'action antibactérienne de certains exsudats racinaires (Reva et al. 2004 ; Barakat et al., 2019). Il a également été démontré que divers isolats de *B. amyloliquefaciens* favorisent la tolérance au sel (El-Daim et al., 2014), augmentent le rendement de plusieurs espèces végétales telles que la tomate (Guel et al., 2008) et améliorent la biomasse des racines et pousses de certains plants à l'instar du colza, du blé et du maïs (Zhang et al., 2017) à travers ses effets de biocontrôle et de phytostimulation. Certaines souches de *B. amyloliquefaciens* synthétisent des métabolites secondaires, notamment des lipopeptides cycliques (cLPs) et des polycétides (PK) à action antimicrobienne (Fig. 12) (Oksana et al. 2019). Ces peptides peuvent faciliter la colonisation des racines et l'interaction avec les réponses de défense de la plante hôte (Ongena & Jacques, 2008 ; Sylvia et al., 2021). L'efficacité favorisant la croissance des plantes par *B. amyloliquefaciens* a été étudiée dans différentes conditions de stress abiotique et biotique. Les résultats de différentes expériences ont révélé que ces souches bactériennes avaient un effet significatif sur la germination des graines et l'établissement des plantules de *Brassica napus* cv. Écotype Westar, blé et *A. thaliana* Col-0 (El-Daim et al., 2014). La variabilité de la promotion de la croissance des plantes et de l'inhibition des agents pathogènes a été observée lorsque *B. amyloliquefaciens* a amélioré la croissance des plantes dans une plus grande mesure que les deux autres souches de son genre (Amalia & Miguel, 2023). Il a la capacité de fabriquer des endospores ayant un fort niveau de résistance à la dessiccation et aux autres stress physiques, ce qui favorise sa conservation durable dans la formulation (Jeyaraman & Robert, 2018). Il se reproduit également très rapidement, ce qui favorise un niveau élevé de colonisation racinaire après biotisation.



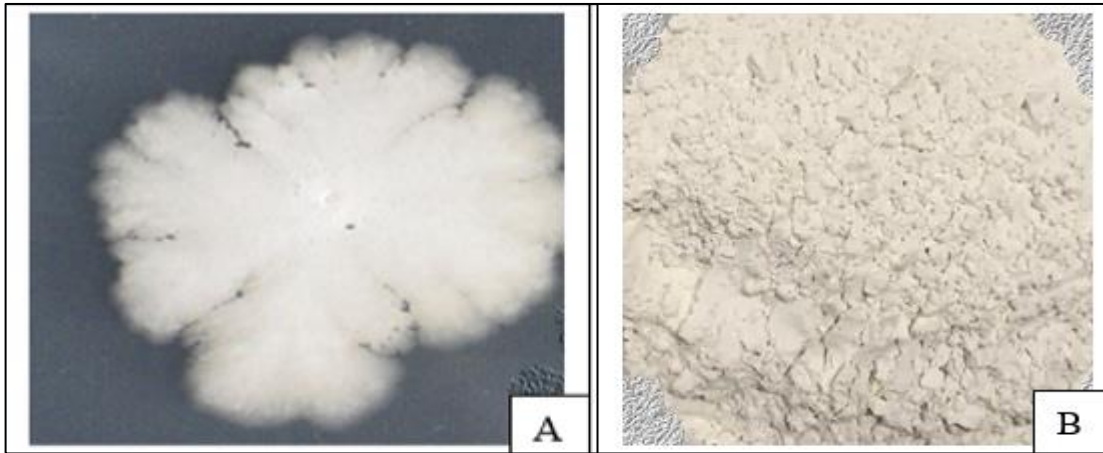


Fig. 11. Morphologie de *Bacillus amyloliquefaciens* (A) : Aspect macroscopique (El-Daim *et al.*, 2014) ; (B) : forme poudreuse.

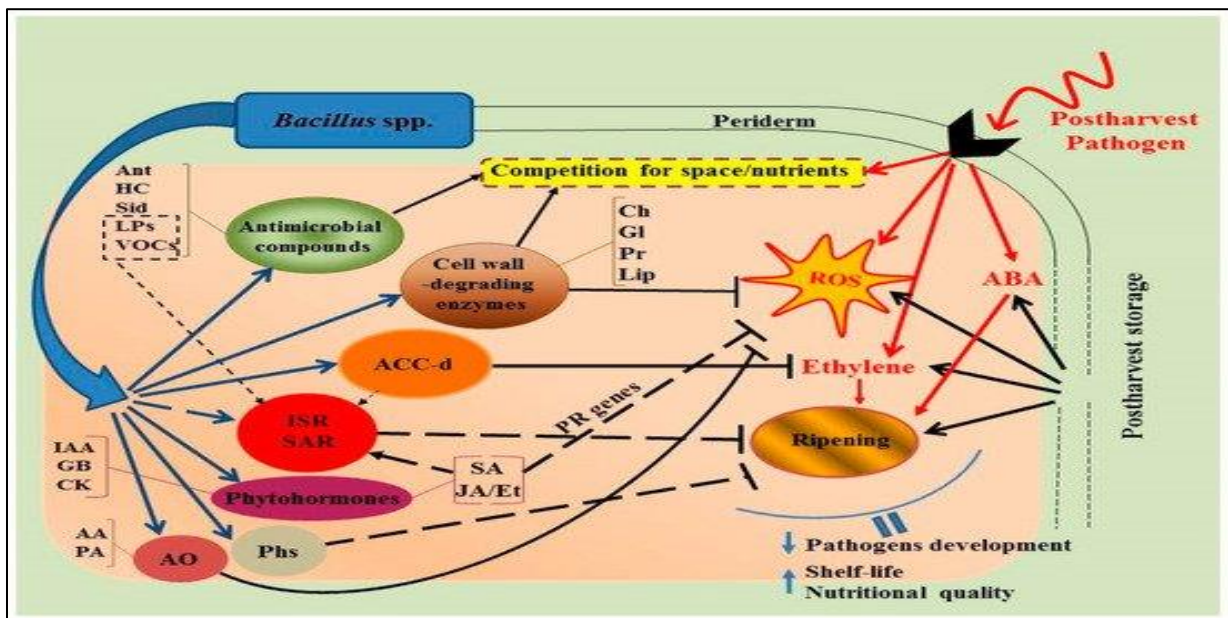


Fig. 12. Mécanismes d'action de *Bacillus* spp. Contre les infections pathogéniques. (Oksana *et al.* 2019).

SR = résistance systémique induite ; GI = glucanase ; AO = antioxydants ; JA = acide jasmonique ; Lip = lipases ; PA = peroxydase ; Pr = protéase ; HC = cyanide d'hydrogène ; Phs = phytoalexines ; SA = acide salicylique ; SAR = résistance systémique acquise ; Sid = sidérophores ; Et = éthylène ; AA = acide ascorbique ; ACC-d = 1-aminocyclopropane-1- carboxylate desaminase.

### I.2.1.1.2. Généralité sur *Trichoderma*

Le genre *Trichoderma* est une moisissure appartenant à la classe des Sordariomycètes, et dont les membres sont généralement classés comme organismes anamorphes (reproduction asexuée) de la famille des *Hypocraceae* de la division des Ascomycètes. La caractérisation de nouvelles espèces de *Trichoderma* ne cesse d'augmenter, rendant la taxonomie du genre *Trichoderma* très complexe. Cette classification, initialement basée sur des critères morphologiques au niveau des conidiophores et des phialides (Maroua, 2018), est continuellement bouleversée par le biais de la biologie moléculaire (Chaverri *et al.*, 2015 ; Raja *et al.*, 2020). Quant à *T. harzianum*, l'analyse de séquences de gènes d'ARN ribosomiques (ITS), d'un facteur d'élongation (EF-1alpha), d'une calmoduline (CAL) et d'une actine (ACT) chez différentes espèces, a permis de prouver que *Trichoderma harzianum* était le téléomorphe (forme reproductrice sexuée) de l'Ascomycète *Hypocrea lixii*. Ses souches sont floconneuses ou bien compactées en touffes (Fig. 13) (Maroua, 2018).

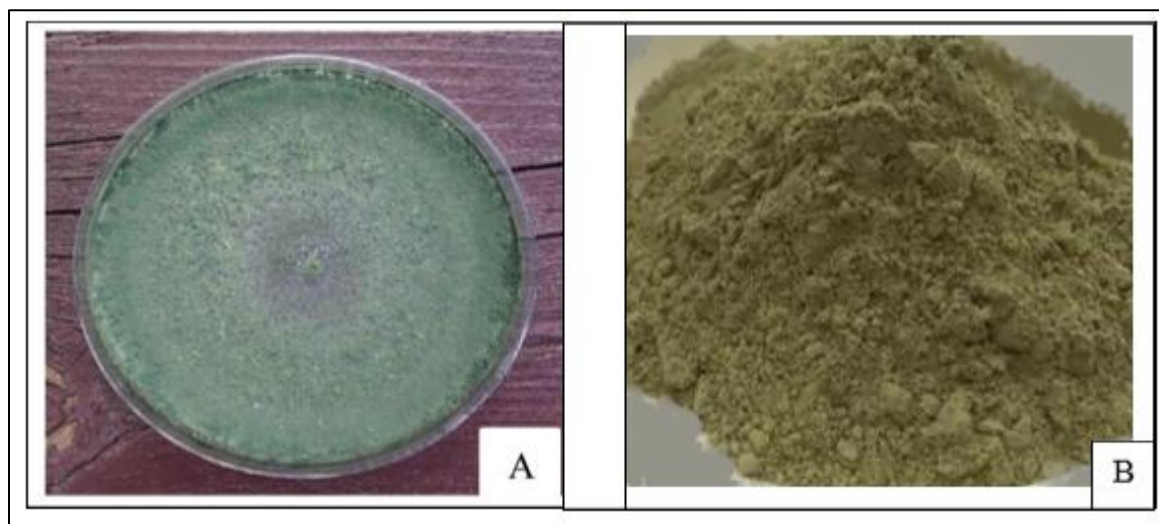


Fig. 13. Morphologie *Trichoderma harzianum* (A) : Aspect macroscopique (Rayenne & Mihoubi, 2017) ; (B) : poudreux

Les souches de *Trichoderma* sont avant tout identifiables par leurs aspects morphologiques caractéristiques, notamment grâce à leurs pigments conidiens verts clairs ou blancs et à leur structure de conidiophores branchés. La plupart ne présentent pas de cycle sexuel et leur cycle de développement ne présenterait que des phases de multiplication végétative par mitoses. Ces sporulations, abondantes, leur assurent un développement très rapide. Ce mode de vie est d'autant plus efficace que les organes de dissémination de

*Trichoderma* sont capables de rester à l'état quiescent. Leur développement mycélien est stimulé lorsqu'une source d'énergie appropriée est disponible (Samuels, 2006).

Les *Trichoderma* sont remarquables pour leur croissance rapide (avec un mycélium verdâtre en pleine croissance liée à la sporulation du champignon) et leur capacité à utiliser une large gamme de substrats d'origines naturelle ou chimique bien que leurs besoins nutritionnels semblent assez faibles (Yedidia *et al.*, 2003 ; Narasim *et al.*, 2021). Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, les *Trichoderma* sont ubiquitaires et très répandus dans la nature, à l'exception notable de l'antarctique. En relation avec les plantes, les *Trichoderma* sont pour la plupart saprophytes et très rarement parasites, et vivent principalement associés aux racines ou sur des débris végétaux en décomposition (tout particulièrement dans la litière des forêts) (Howell, 2003). Enfin certaines espèces sont endophytes et colonisent les parties aériennes, les feuilles notamment. Il a été démontré que la plupart des sols tempérés et tropicaux contiennent au minimum une centaine de propagules de *Trichoderma* par gramme du sol (Harman *et al.*, 2004). Environ soixante-dix souches de *Trichoderma* y compris *T. viride*, *T. harzianum* et *T. aureoviride* ont été testés contre le *R. solani in vitro* et ont montré une inhibition totale de la croissance de *R. solani*. Shaoqing *et al.* (2023) ont ajouté que la colonisation des racines par *Trichoderma* améliore la croissance et le développement de ces derniers, la productivité, la résistance au stress abiotique et le prélèvement et l'utilisation des nutriments. *Trichoderma* pousse généralement dans les PDA (Potatoes Dextrose Agar) ou TSA (Tryptic Soy Agar). Il est connu que *Trichoderma* pousse mieux dans le PDA (Vinale *et al.*, 2007), les autres milieux comme le TSA sont rarement utilisés.

#### **I.2.1.1.2.1. Mode d'action de *Trichoderma harzianum***

Des mécanismes de protection développés par *Trichoderma harzianum* sont variés et les principaux sont le parasitisme, l'antibiose et la compétition (Vinale *et al.*, 2007 ; Rayene & Mihoubi, 2017). Ces mécanismes sont utilisés de manière complexe, indépendamment ou en synergie suivant l'adversaire et les conditions du milieu (Fig. 9) (Reino *et al.*, 2008).

Certaines souches de *Trichoderma* présentent l'aptitude à parasiter des champignons appartenant notamment à une très large gamme d'agents phytopathogènes (Maroua, 2018). De plus, certaines souches établissent des colonisations vigoureuses et durables à la surface des racines de plants parasitées, en pénétrant l'épiderme ainsi que quelques couches cellulaires sous-épidermiques. Ce contact avec la plante instaure une relation très particulière entre les

protagonistes, dont la plante tire un profit positif et très significatif. En premier lieu se déroule une croissance chimiotrophe du parasite vers l'hôte (Jian *et al.*, 2021). Il s'ensuit sa reconnaissance via un processus classique de type récepteurs/ligands. Ainsi les souches de *Trichoderma* reconnaissent leur cible par l'intermédiaire de petites molécules, notamment des fragments peptidiques, qui sont libérées sous l'action d'enzymes hydrolytiques sécrétées par *Trichoderma*.

A l'instar de n'importe quel organisme vivant, l'agent parasité répond simultanément à l'attaque portée par *Trichoderma*, en sécrétant des métabolites secondaires volatiles ou dissouts et des poisons oxygénés (ROS, reactive oxygen species). Ces derniers élicitent une réponse de stress supplémentaire chez *Trichoderma*, concourant à la production d'enzymes et de nouveaux métabolites secondaires dédiés à leur détoxification (Shaoqing *et al.* 2023).

Le genre *Trichoderma* instaure également des situations de compétition envers les ressources en nutriments et l'espace à coloniser. Les *Trichoderma* sont parmi les microorganismes rhizosphériques les plus compétitifs. Ils tirent profit de l'apport nutritif libéré par le système racinaire des plantes avec la possibilité de coloniser ces racines.

Ces événements de compétitions sont généralement assortis à des sécrétions de toxines. En effet, les *Trichoderma* sont aptes à sécréter près de 200 métabolites secondaires appartenant à différentes classes de composés chimiques (Reino *et al.*, 2008). Parmi ces composés, on retrouve des peptaïboles (polypeptides) ayant des effets antifongiques, antibactériens (principalement contre les souches Gram +) et antiviraux. La nature des peptaïboles varie selon les espèces. Par exemple, *T. harzianum* sécrète des trichorzianines A et B et des trichorzines, *T. viride* sécrète les viridines, trichotoxines A et B, et des trichorovines, quant à *T. koningii*, il synthétise de la koningine, de l'acide koningique et des trichokonines (Shaoqing *et al.* 2023) (Fig. 14). Certains de ces métabolites sont aussi nécessaires pour assurer des modifications chimiques de l'environnement (pH, ionisation etc) (Barakat *et al.*, 2019).

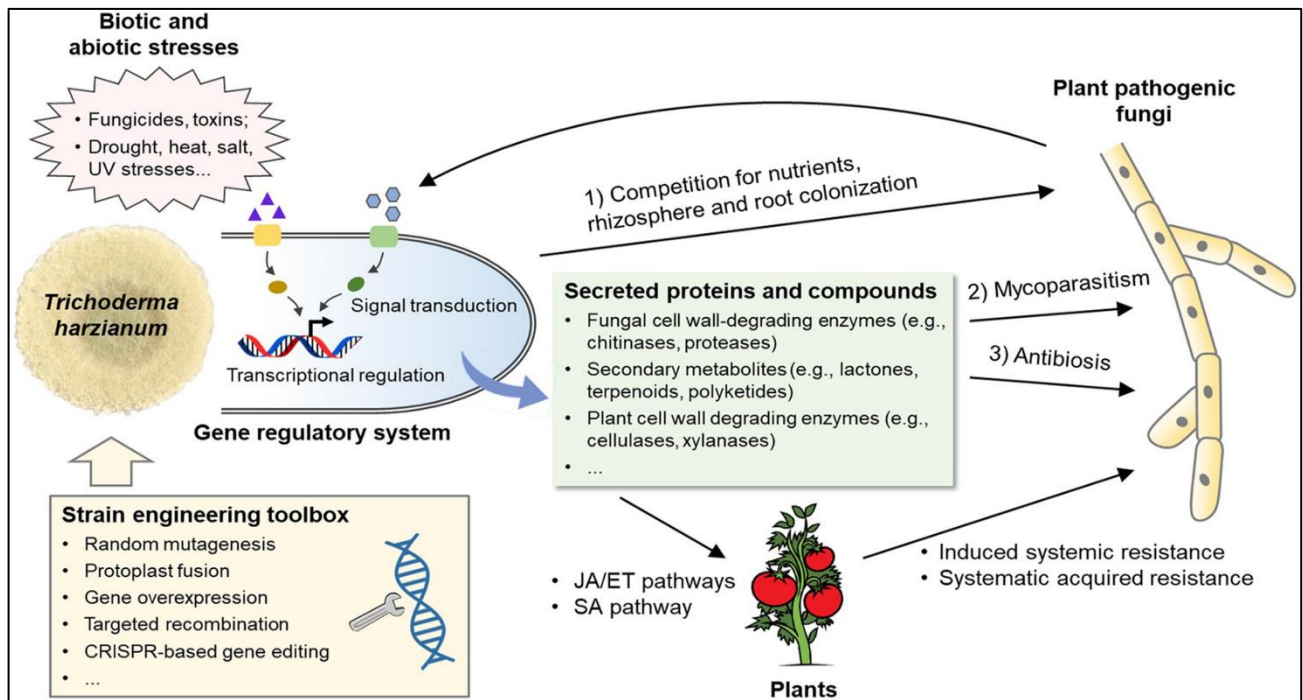


Fig. 14. Mécanismes d'action de *Trichoderma* spp. (Shaoqing *et al.* 2023).

### I.2.2. Intérêt des bioformulations dans l'agriculture

Les formulations microbiennes en agriculture sont soit liquides soit solides. Cette dernière option consiste généralement à l'association soit d'une souche microbienne ou de plusieurs à un « véhicule » afin de favoriser leur application sur le sol pour une nutrition optimale de la plante. Les travaux de Mazen (2021) ont démontré que *Trichoderma* spp. associé à un compost par rapport à la souche isolée, augmentait positivement le nombre de nodules sur la plante, la hauteur de la plante, le nombre de graines et leur contenu en protéine chez la lentille (*Lens culinaris*). La plupart des formulations mises en évidence consistent en l'utilisation d'une seule souche microbienne. Les travaux de Kavita & Nagaram (2021) ont testé les effets de *Trichoderma viride* et *Bacillus subtilis* sur l'activité des enzymes antioxydante et la peroxydation lipidiques chez le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) sous stress saline. Il a été démontré que la formulation à base de *Trichoderma viride* a eu un effet significatif sur les paramètres testés par rapport au contrôle.

Les combinaisons de microorganismes bénéfiques au service agricole prennent leur essor dès 1980 grâce aux découvertes de Teruo Higa. Il en a créé une combinaison des aérobies et anaérobies où les uns vivent des métabolites des autres, chaque famille de ces micro-organismes possédant des rôles particuliers. Grâce à cette combinaison, l'effet individuel des bactéries et champignons a été multiplié de façon synergique. Ces Micro-

organismes efficaces sont collectés dans la nature et cultivés d'une façon spécifique, mais ne sont ni modifiés, ni manipulés (Dorian, 2015). L'agriculture naturelle grâce aux microorganismes promotrices de croissance des plantes (PGPM) contribue à réduire la pauvreté, la maladie et la destruction de l'environnement en fournissant un moyen alternatif de production alimentaire (Cho, 1997).

La symbiose des microorganismes bénéfiques augmente la valeur biologique et la structure du sol, ceci influence positivement l'immunité des plantes et les protège contre les bactéries et les moisissures nocives (Nadjib, 2011). Ils participent aussi dans la dégradation naturelle des dioxines contenues dans le sol. Ces microorganismes bénéfiques fortifient également les plantes et leur donne une défense naturelle. Ils libèrent les sols des hôtes indésirables car les métaux lourds sont pour eux un mets de premier choix, ils transforment aussi les molécules chimiques apportées par les intrants chimiques de synthèse (herbicides, fongicides, insecticides...) et permettent ainsi une dépollution des terres abîmées (Mbouobda *et al.*, 2014). Les microorganismes bénéfiques pourvoient aussi les végétaux en matières bioactives, telles que des hormones de croissance et des antibiotiques naturels, des vitamines, des enzymes, des antioxydants.... À des taux bien déterminés, ils s'installent définitivement dans le sol, se multiplient et dominent les bactéries, moisissures et virus nocifs présents. Les micro-organismes neutres qui, dans un sol malade, avaient opté d'imiter les micro-organismes nocifs prédominants à ce moment-là, suivront et imiteront dès lors les micro-organismes efficaces. Ainsi, on crée un équilibre naturel durable (Fig. 15). Melis & Gursel (2021) ont testé les effets individuels et combinés de *Trichoderma (virens et atroviride)* et des PGPR à l'instar de *Pseudomonas koreensis* et *Bacillus subtilis* sur la verticilliose de l'aubergine causée par *Verticillium dahliae*. Ils en sont arrivés à la conclusion selon laquelle l'effet combiné des souches réduisait considérablement la sévérité de la maladie tout en influençant positivement la croissance et la production de la plante par rapport à l'effet individuel (Fig. 16). Ce potentiel était lié à leur capacité à stimuler la synthèse des enzymes chez la plante telles que la peroxidase, la polyphenol oxidase, la phenylalanine ammonium lyase et la  $\beta$ -1,3 glucanase. Ces effets étaient plus optimaux avec la combinaison de *Trichoderma* et des PGPR étaient que celle avec des souches de la même famille. Yobo *et al.* (2011) ont testé l'effet des bioformulations à souches individuelle et combinée de *Trichoderma* et *Bacillus* sur la croissance du haricot et le contrôle de leur infection à *Rhizoctonia solani*. Ils ont démontré que l'effet combiné de *Trichoderma harianum* et *Bacillus atroviride* a considérablement augmenté la hauteur du haricot et supprimé la maladie, comparé à l'effet individuel de ces

souches dans les formulations. L'effet synergique de la formulation à base de *Trichoderma virens* et *Bacillus velezensis* avait également été démontré sur le biocontrôle contre la maladie du flétrissement chez la tomate (Zhou *et al.* 2021). Les travaux antérieurs de Meli & Gursel (2021) ont révélé les mêmes résultats sur le rôle de l'effet combiné des microorganismes genre *Trichoderma* et *Bacillus* dans une gestion favorable de la flétrissure de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en champ.

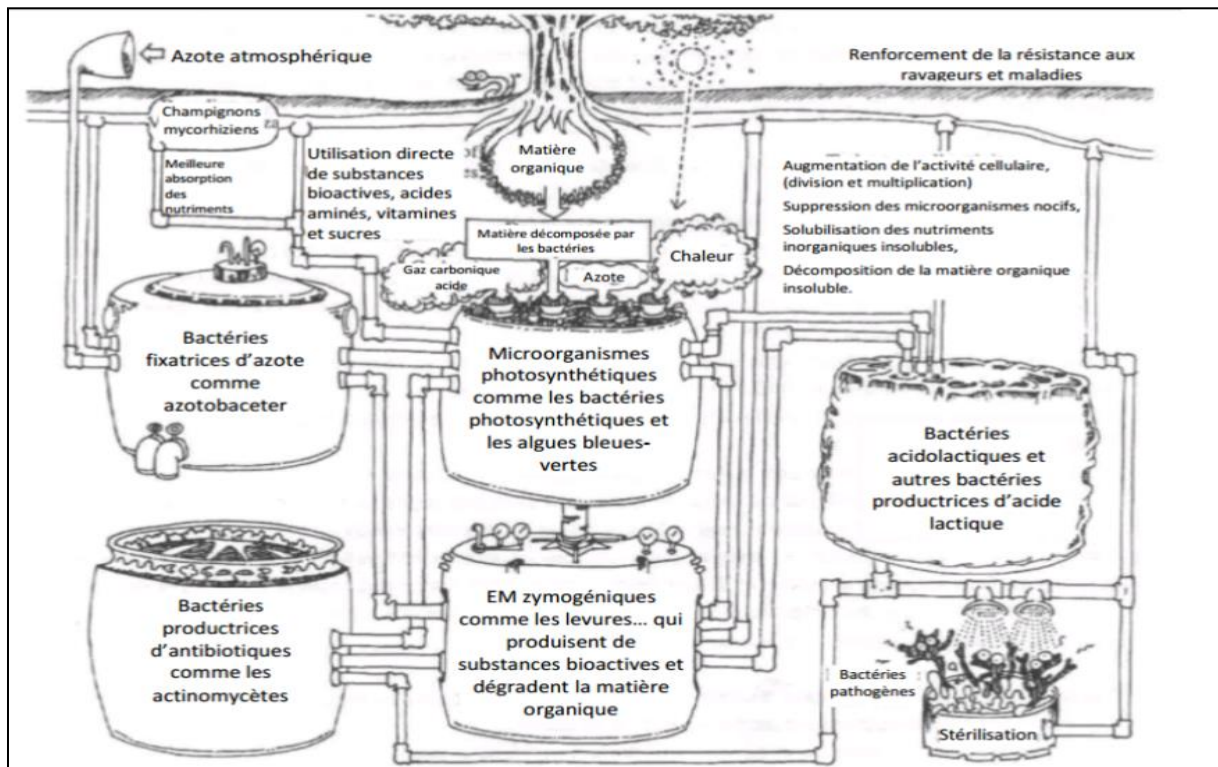


Fig. 15. Interactions entre les microorganismes du sol (Higa, 1996)

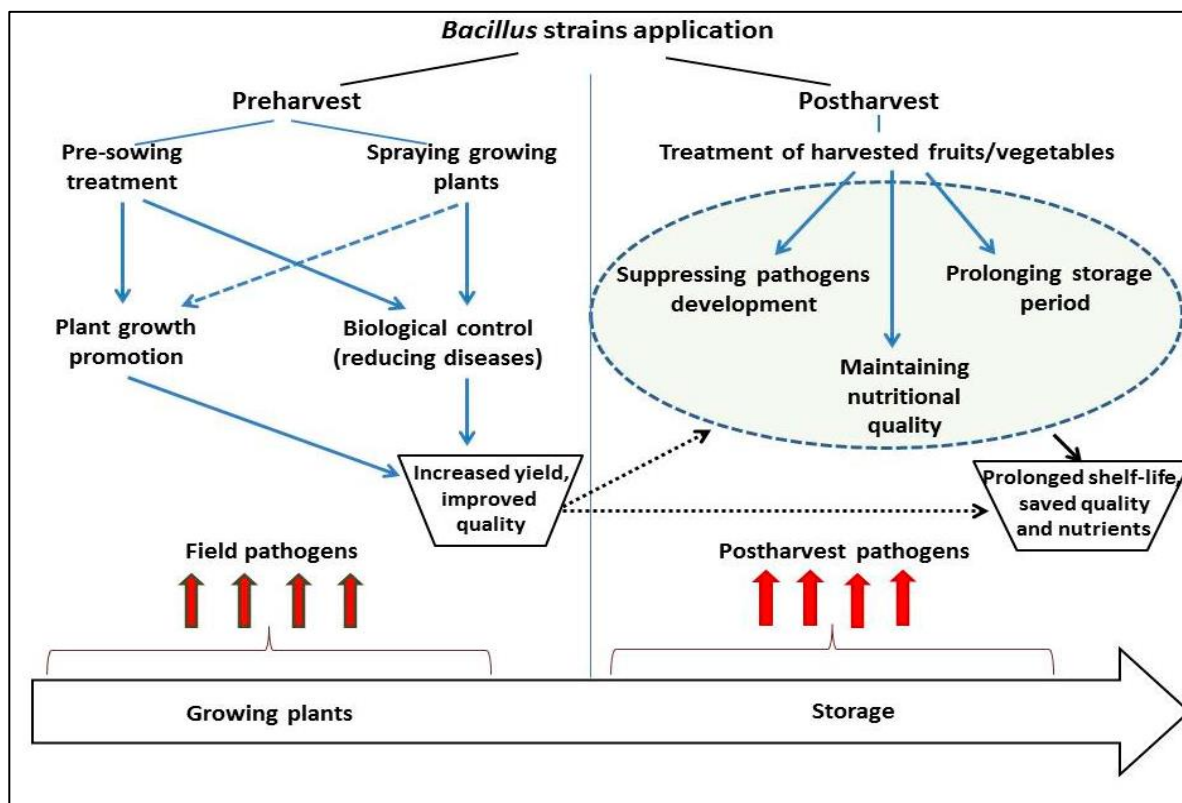


Fig. 16. Utilisation de la bioformulation en agriculture (Meli & Gursel, 2021)

### I.3. Activités biochimiques chez *Abelmoschus esculentus* L.

#### I.3.1. Activité antioxydante et biocontrôle chez *Abelmoschus esculentus* L.

Le système de défense antioxydante élicité par les plantes passe par la production des molécules capables de réduire le taux de radicaux libres produits au sein de la plante et qui détériorent les fonctions de ses cellules. La production de ces radicaux libres est très souvent induite par les pathogènes et agents ravageurs (Rustérucci *et al.*, 1996). Ceci va amener la plante à développer un mécanisme de défense par production des molécules biologiques de défense naturelle à rôle structural (retarder la progression de l'agent infectueux dans les tissus de la plante et empêcher la diffusion des substances délétères) et à fonction antimicrobienne directe. Ainsi les plantes pour répondre aux agressions biotiques et abiotiques vont sécréter des molécules organiques ayant la capacité d'agir par voie directe (biochimique) ou indirecte (structurale) (Benhamou & Rey, 2012). La voie indirecte produit ainsi des molécules polysaccharidiques et des métabolites issus des voies de phénylpropanoïdes, des protéines et les glycoprotéines riches en hydroxyproline. La voie directe par contre produit des métabolites secondaires à potentiel antimicrobien. D'après Benhamou (2009), une plante préalablement traitée avec un agent inducteur de résistance lui confèrerait une protection systémique de longue durée contre les potentiels agresseurs ce qui tribuerait également à



augmenter sa production. L'utilisation des biostimulants dans l'agriculture va ainsi amplifier le système de défense chez la plante en stimulant les gènes impliqués dans ces mécanismes de défense (Benhamou, 2012).

### **I.3.2. Stress oxydant et radicaux libres**

#### **I.3.2.1. Stress oxydant**

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais les cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques. Le stress oxydant peut se définir comme un déséquilibre dans la balance entre peroxydants (Producteurs de radicaux libres) et antioxydants (protection contre les radicaux libres) au profit des premiers ; conduisant à des altérations cellulaires et tissulaires. L'ADN, les lipides membranaires, ou encore les protéines seront des cibles privilégiées de ces oxydations (Mok & Lee, 2013). Ce déséquilibre est dû, soit à une surproduction d'espèces radicalaires, soit à un affaiblissement des défenses antiradicalaires de l'organisme. Ce stress peut avoir diverses origines : mauvaise alimentation, phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et habitudes de vie inadéquates (tabagisme, consommation excessive d'alcool etc.) (Pincemail & Defraigne, 1999 ; Serigne *et al.* 2017).

#### **I.3.2.2. Radicaux libres**

Les radicaux libres sont des substances chimiques très réactives comportant un nombre impair d'électrons (Mandelker, 2008). Ces derniers peuvent semer le désordre dans la structure des protéines cellulaires, des lipides membranaires et des acides nucléiques. Ces radicaux peuvent éventuellement entraîner la mort cellulaire et des maladies telles que les maladies cardiaques, le cancer (Pincemail *et al.*, 2004) et la maladie d'Alzheimer. Les espèces oxygénées réactives incluent non seulement des radicaux libres dérivés de l'oxygène anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ) , radical hydroperoxyde ( $HO_2\cdot$ ), radical peroxyde ( $RO_2\cdot$ ) , radical alcoxyde ( $RO\cdot$ ) , mais d'autres espèces non radicalaires dérivées de l'oxygène : peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), acide hypochloreux ( $HOCl$ ), Ozone ( $O_3$ ), Oxygène singulet ( $^1O_2$ ), peroxydinitrite ( $ONOO^-$ ) (Saka *et al.*, 2011). Les radicaux libres sont formés de façon continue dans l'organisme sain, en particulier par fuite d'électrons à partir de la chaîne respiratoire. Ils peuvent également être générées suite à une respiration excessive, un exercice physique ou un stress, ou même à une exposition environnementale à des facteurs pro-

oxydants : tabac, alcool, amiante etc (Aurousseau, 2002 ; Alghazall *et al.*, 2007). L'augmentation de la production des radicaux libres entrainant le stress oxydatif (Dazy *et al.*, 2009).

### I.3.3. Système de défense antioxydant

Les radicaux libres sont produits spontanément et de manière continue au sein de l'organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique d'ERO (espèces oxygénées réactives) est assuré par des systèmes antioxydants. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques et peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine. Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat par chélation de radicaux libres qui sont à l'origine de diverses maladies. On peut trouver des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Fig. 17) (Berger & Que, 2009).

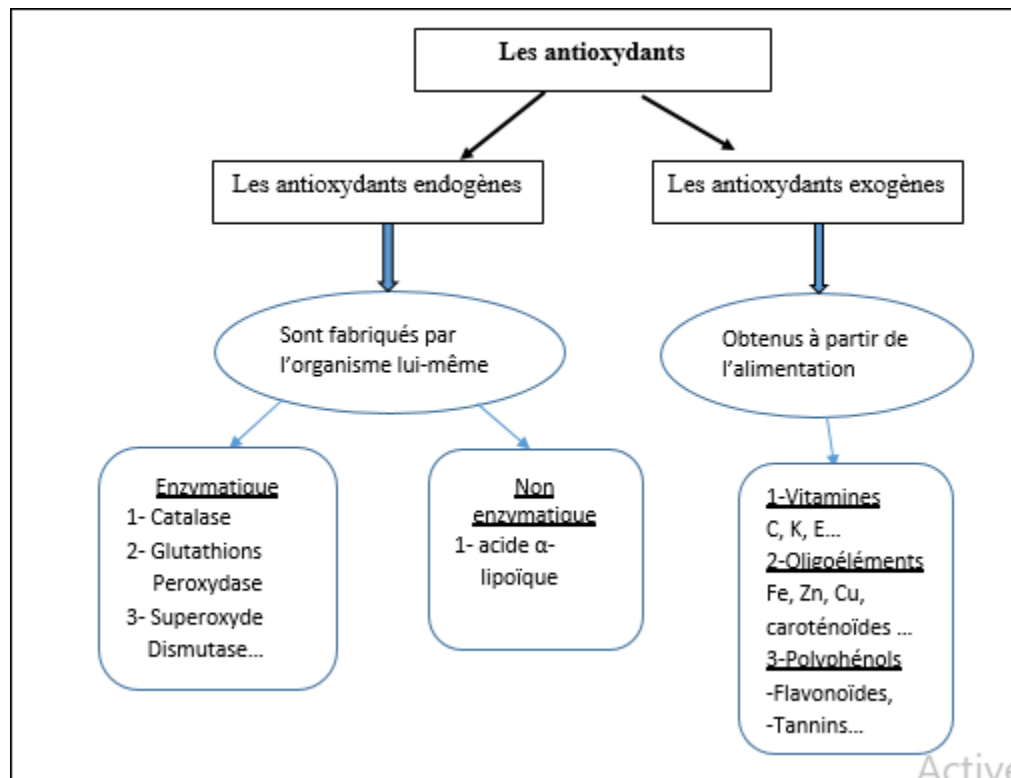


Fig. 17. Les différents types d'antioxydants (Amrouch & Yaya, 2017)

### I.3.3.1. Antioxydants enzymatiques endogènes

Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme. On en compte plusieurs mais les principales les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion peroxydase (GSH-Px) (Sharma *et al.*, 2012 ; Benyamina, 2017) (Fig. 18). La superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, sont présentes dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO. Ces enzymes jouent un rôle très important dans le maintien de la santé. (Pincemail *et al.*, 2004).

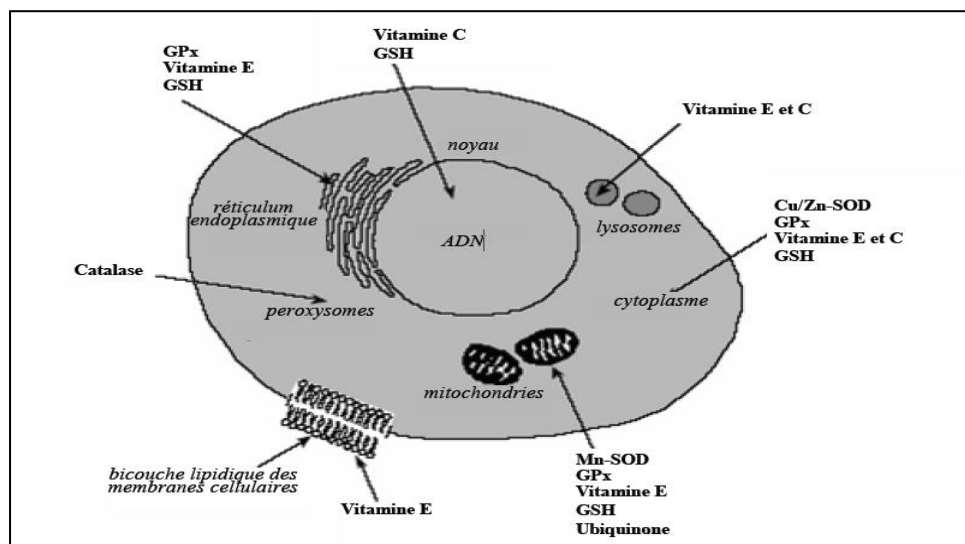


Fig. 18. Répartition des principales défenses antioxydantes de l'organisme (Sharma *et al.*, 2012).

#### I.3.3.1.1. Catalase

Les catalases sont localisées dans les peroxydases et sa cible principale est le  $H_2O_2$ . Cette place est stratégique puisque c'est ici que des enzymes comme les flavines, l'urate oxydase, la glucose oxydase et les D-amino-oxydases produisent des radicaux libres  $H_2O_2$ . L'activité de la catalase est coordonnée avec la concentration en  $H_2O_2$ . Chacune d'elle possède un groupement hémique comprenant un atome de fer et capable de convertir 6 millions de molécules d' $H_2O$ . (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

### **I.3.3.1.2. Superoxyde dismutase**

C'est une métallo-enzyme se trouvant dans les organites aérobie. C'est la première enzyme antioxydante de défense contre le stress abiotique et biotique. Elle catalyse la dismutation de deux anions superoxydes en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène et diminue le risque de formation du radical OH via la réaction de Habere-Weiss (Arora *et al.*, 2002 ; Benyamina, 2017). Selon le cofacteur métallique, il existe trois types de SOD connus : Zn/Cu-SOD, Fe-SOD et Mn-SOD. Elles sont localisées dans différents compartiments cellulaires, essentiellement dans la mitochondrie et peroxysomes pour Mn-SOD, dans les chloroplastes pour Fe-SOD et dans les chloroplastes et cytosol pour Cu/Zn-SOD (Luis *et al.*, 2003).

### **I.3.3.1.3. Glutathion peroxydase**

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>. Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG). Il existe également une glutathion peroxydase associée à la membrane mitochondriale, la phospholipide-hydroperoxyde glutathion peroxydase (PHGPx) qui est spécifiquement impliquée dans la diminution de la peroxydation lipidique (Nomura *et al.*, 2000). Ces enzymes ont une vie très courte parce qu'elles s'épuisent facilement. Aussi, avec l'âge, les antioxydants ne compensent plus l'action des radicaux libres. Leur quantité diminue et l'organisme devient plus vulnérable au stress oxydatif.

### **I.3.3.2. Antioxydants exogènes**

Ce sont des antioxydants non enzymatiques. Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation.

#### **I.3.3.2.1. Polyphénols**

Les plantes à polyphénols sont reconnues pour leur activité antioxydante (Allane & Benamara, 2010). En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH) et superoxydes (O<sub>2</sub>) (Amrouch & Yaya,

2017). Les polyphénols sont capables de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le Fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations (Lehucher-Michel *et al.*, 2001). Ils jouent également plusieurs rôles (Fig. 15).

#### **I.3.3.2.2. Caroténoïdes**

Les caroténoïdes dont le bêta-carotène qui est le plus connu sont des précurseurs de la vitamine A. Ils jouent le rôle de pigments colorés de jaune à rouge dans beaucoup de fruits et de légumes. Il existe principalement deux groupes de caroténoïdes qui sont des puissants neutraliseurs des ERO : ceux porteurs de substituants oxygénés (lutéine, zéaxanthine et la cryptoxanthine) et ceux qui n'ont pas d'oxygène ( $\alpha$ -carotène,  $\beta$ -carotène et lycopène). Ils sont présents dans les compartiments lipidiques car ils sont plutôt lipophiles. Ils sont apportés par l'alimentation, les aliments les plus riches sont la carotte ( $\alpha$ -carotène,  $\beta$ carotène), la tomate et le melon (lycopène), les agrumes ( $\beta$ -cryptoxanthine), les épinards et endives ( $\beta$ -carotène et lutéine) et le maïs (zéaxanthine). Le gombo contient  $\beta$ -carotène, lutéine, zéaxanthine et est la deuxième source en quercétine après l'oignon. Ces molécules antioxydantes permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (Valko *et al.*, 2006).

#### **I.3.3.2.3. Oligoéléments**

Les oligoéléments antioxydants sont des micronutriments qui sont fortement impliqués dans l'homéostasie énergétique. Ce sont des cofacteurs indispensables pour des réactions métaboliques d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. Il s'agit principalement du cuivre, du manganèse, du sélénium et du zinc.

##### **I.3.3.2.3.1. Cuivre**

Le cuivre d'origine alimentaire est absorbé au niveau digestif par l'intermédiaire de protéines spécifiques. Il a un rôle essentiel au sein du corps humain et plus particulièrement du métabolisme cellulaire car il est le cofacteur de nombreuses enzymes. Il agit au niveau de la synthèse érythropoïétique en agissant sur la libération du fer, c'est un stimulant neuropsychique car il favorise la synthèse des catécholamines au niveau du système nerveux. Il se comporte également comme un antioxydant en stimulant la superoxyde dismutase, protégeant ainsi la cellule contre l'effet toxique des radicaux libres (Pincemail *et al.*, 2004).

Les apports recommandés sont entre 1 et 2 mg/j chez l'adolescent et l'adulte, quel que soit le sexe (Pincemail *et al.*, 2004).

#### **I.3.3.2.3.2. Manganèse**

Le manganèse est présent en grande quantité dans les mitochondries du muscle squelettique, du foie, du pancréas et du rein. Il est impliqué dans la synthèse, la sécrétion et l'action de l'insuline en association au zinc et au cuivre. Il est également indispensable pour la maturation des os et du cartilage. Il participe aussi à la synthèse des vitamines E et B1. La carence en manganèse peut entraîner une hypocholestérolémie, une hypocoagulabilité ainsi qu'une atteinte cutanée. En revanche, l'excès de manganèse entraîne une toxicité lorsqu'elle est localisée dans le cerveau car elle peut entraîner un syndrome pseudo-parkinsonien (Guillouty, 2016). Lorsque l'on observe un déficit ou une diminution de la biodisponibilité du manganèse dans les tissus riches en mitochondries, on observe parallèlement une inactivation de la SOD-Mn, ce qui peut augmenter le stress oxydant (Guillouty, 2016).

#### **I.3.3.2.3.3. Zinc**

Le zinc est principalement retrouvé dans les os, les muscles et les liquides riches en protéines du fait de ses liaisons, comme par exemple dans le plasma ou le liquide céphalorachidien. L'apport en zinc se fait principalement par les viandes et poissons puis dans les fruits de mer, les céréales, les légumes secs (Guillouty, 2016). Les besoins en zinc sont établis à environ 15 mg/j chez l'adulte. Du fait de la liaison avec des protéines, le zinc est impliqué dans de nombreuses réactions métaboliques par l'intermédiaire de métalloenzymes, notamment l'anhydrase carbonique ou la superoxyde dismutase qui est un scavenger capital des ions superoxydes, précurseurs de la chaîne des radicaux libres. C'est en ce sens que le zinc a des propriétés antioxydantes (Guillouty, 2016).

## **CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## **II.1. Matériel**

### **II.1.1. Présentation de la zone d'étude**

L'étude a été menée dans les zones agroécologiques III, IV et V du fait de la forte propension de culture de gombo mais limitée par la faible fertilité des sols liée à leur acidité.

L'étude dans la zone III s'est déroulée dans la localité de King-Palace Bandjoun du Département du Koung-Khi. Elle est située à 1529 m d'altitude de coordonnées géographiques 5°22'32" N et 10°24'48" E. Son climat est équatorial de type camerounéen avec une température moyenne d'environ 22°C et une pluviométrie moyenne d'ordre annuel de 916,6 mm (Anonyme, 2019).

La localité de la zone IV est située à Domé dans l'arrondissement de Kribi, Département de l'Océan. C'est une zone d'altitude moyenne 18 m au dessus de la mer et de coordonnées géographiques 2°55'48" N et 9°54'40" E. Son climat est de type équatorial camerounéen avec une température moyenne de 25,7°C et une pluviométrie moyenne annuelle de 2957 mm (Fig. 19) (Anonyme, 2011).

La zone V a pour localité d'étude Mbélé II, situé dans l'Arrondissement d'Obala, Département de la Lékié. Cette localité est située à 528 mètres d'altitude de coordonnées géographiques 4°10'0" N et 11°31'60" E. Son climat est tropical humide avec une température d'environ 24,7°C et une pluviométrie moyenne d'ordre annuel de 1638 mm (Endamana & Sonwa, 1998).



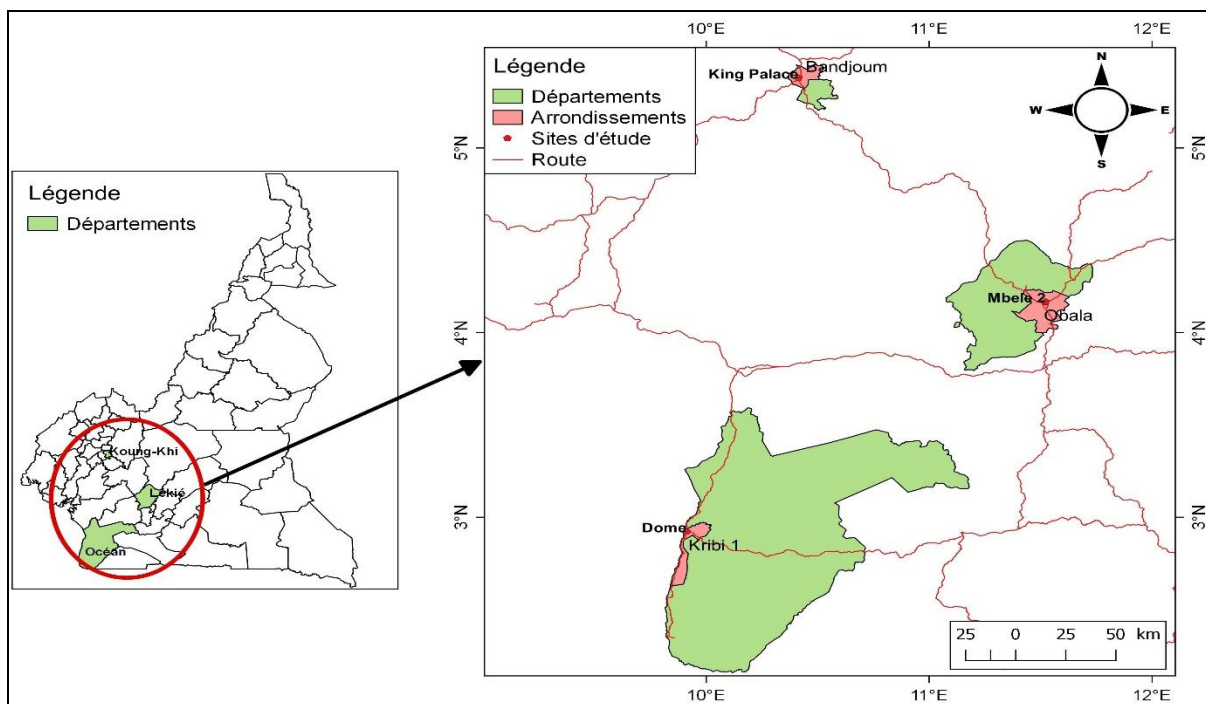


Fig. 19. Cartographie de localisation des zones d'études.

## II.1.2. Présentation du matériel biologique

### II.1.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de la semence de deux variétés de gombo (Fig. 20) récoltées dans les villages de la Lekie, du Koung-Khi et de l'océan du point de vue de leur pouvoir germinatif et de leur précocité :

- variété *Clemson Spineless*, de par sa précocité variant entre 40 et 50 jours et également pour sa vulgarisation. Sa production moyenne à l'hectare est d'ordre de 10 à 12 t/ha.
- variété F1 *Kirikou (Hire)* pour sa précocité variant de 50 à 60 jours, son bon taux de mucilage, son rendement moyen variant de 12 à 15 t/ha et son potentiel de vente dans les marchés locaux.



Fig. 20. Semence de gombo variété *Clemson spineless*

#### II.1.2.2. Microorganismes

Le matériel microbien utilisé dans cette étude provenait des Laboratoires DORA AGRI-TECH de la Compagnie H.K. Industrial CO., LTD en Chine. Il était constitué de trois souches de microorganismes, les bactéries PGPR (*Bacillus amyloliquefaciens*  $1 \times 10^{11}$ CFU/g et *Bacillus velezensis*  $10^{10}$ CFU/g) et les champignons (*Trichoderma Harzianum*  $2 \times 10^9$ CFU/g).

#### II.1.3. Matériel technique

Le matériel technique utilisé était constitué de :

- son de blé utilisé comme « véhicule » pour la préparation des formulations ;
- sucre brin granulé utilisé en tant que source de carbone pour l'activation des spores ;
- seaux de 20L et 50L pour activer les souches microbiennes et la fermentation des formulations solides ;
- réactifs de fuschine de Ziehl pour la coloration des champignons *Bacillus* spp et du chloramphénicol afin d'empêcher la prolifération bactérienne dans le milieu de culture des champignons *Trichoderma*.

- milieux de culture PDA (Patatoes Dextrose Agar) et PDB (Patatoe Dextrose Broth) destinée à la culture de *Trichoderma* et le milieu PDB destinée à la culture de *Bacillus* spp;
- balance électrique qui a servi à l'évaluation de la masse de la récolte ;
- papier millimétré était destiné à l'évaluation de la surface foliaire
- décimètre a permis de déterminer la longueur et la hauteur des plantes ;
- machette et houe pour la préparation de l'espace de culture ;
- tarière manuelle pour prélever le sol à analyser.

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Tests d'identification morphologique**

#### **II.2.1.1. Description de la morphologie de *Trichoderma* spp.**

Les isolats de *Trichoderma* ont été soumis à une identification morphologique. Une suspension sporale de 2 g de culture pure de *Trichoderma* spp a été préparée en présence de 98 ml d'eau distillée stérile. Après une série de dilutions ( $10^{-10}$ ) et étalement de 1ml sur milieu PDA puis incubation pendant 7 jours à 25 °C et à l'obscurité, les conidies germées ont été visualisées au microscope d'objectif 40 et de grandissement X400 et repiquées à l'aide d'une aiguille sur milieu PDA et incubées pendant une semaine à 25 °C, il y a eu apparition du mycélium de couleur verte indiquant la présence de *Trichoderma* spp. (Samuels, 1996).

#### **II.2.1.2. Description de la morphologie de *Bacillus velezensis***

Un prélèvement de 5 g de spores a été utilisée et mélangée avec 95ml d'eau distillée dans une fiole jaugée de 200 ml et agitée pendant 10min. un millilitre de cette solution a été prélevé pour des dilutions en série jusqu'à  $10^{-10}$ . Par la suite, 1ml a été prélevée pour culture dans un milieu de gélose LB pendant 72 h à 30 °C dans une étuve et repiquée dans le milieu de culture pendant 7 jours et on a obtenu des colonies isolées et viables. Elles sont invisibles si elles sont libres dans le milieu ou apparaissent comme des tâches incolores si elles se trouvent encore à l'intérieur des bacilles. L'entrée du colorant dans les spores a été faite par chauffage par coloration de Moeller : fuschine de Ziehl à chaud + bleu de méthylène.

### II.2.1.3. Description de la morphologie de *Bacillus amyloliquefaciens*

La méthode appliquée a été celle utilisée pour identifier *Bacillus velezensis* dans la gélose LB et température d'incubation à 27 °C pendant 72 heures (Joffin & Leyral, 1996) hormis le test de coloration. L'observation a été faite au microscope optique à l'objectif 40 de grossissement 400.

### II.2.1.4. Test de compatibilité entre souches microbiennes

La conception de la formulation de consortiums microbiens efficaces en tant qu'inoculants nécessite la preuve de la capacité des membres du consortium à coexister. Par conséquent, les souches microbiennes ont été soumises à un test de compatibilité *in vitro* en appliquant le test de diffusion en gélose d'après la méthode modifiée de Irabor & Mmbaga (2017). Ces tests concernaient les associations microbiennes en trois formulations à élaborer T1 (*Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens*); T2 (*Bacillus velezensis* et *Bacillus amyloliquefaciens*); T3 (*Trichoderma harzianum* et *Bacillus velezensis*) (Fig. 15).

Pour déterminer les combinaisons d'isolats susceptibles d'avoir des effets additifs et synergiques, la compatibilité entre deux souches microbiennes à tester a été déterminée en effectuant un test de diffusion sur gélose modifiée (ou test de Kirby-Bauer). Une anse de culture vieille de 24 heures et cultivée dans la gélose LB (Luria-Bertani) a été transférée dans 4 tubes à essai en verre contenant 5 ml de bouillon LB et incubée pendant 24 heures sur un agitateur d'incubateur (New Brunswick Scientific CO., Inc, Edison, NJ 08817, USA) réglé à 200 rpm et 30°C. La concentration de la suspension de la première souche a ensuite été quantifiée et ajustée à ~10<sup>8</sup> CFU/ml. Des disques stériles de papier filtre Whatman de 8 mm ont été plongés aseptiquement dans la suspension du milieu de la deuxième souche et séchés à l'air pendant 30 minutes. La première souche a été tamponnée uniformément sur la plaque à l'aide d'un applicateur stérile à bout de coton. Quatre disques imprégnés de la suspension fongique ou bactérienne de l'une des souches bactérienne ou fongique représentant soit la souche 1, soit la souche 2 ont été délicatement pressées sur les surfaces de géloseensemencées par l'une des souches à tester à quatre positions équidistantes à l'aide de pinces stériles. Les plaques ont été incubées à 28 ± 2°C et observées sur une période de 72 h. Les souches incompatibles ont été identifiées par une zone d'inhibition entre elles.

## II.2.2. Préparation des bioformulations

Trois formulations T1 (*Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens*) ; T2 (*Bacillus velezensis* et *Bacillus amyloliquefaciens*) ; T3 (*Trichoderma Harzianum* et *Bacillus velezensis*) ont été ainsi élaborées en associant deux souches de microorganismes. Le « véhicule » utilisé était le son de riz suivant la méthode modifiée de Olivera *et al.* (2014). Ceci a consisté à mélanger 1kg de chaque formulation microbienne avec 1kg de sucre brun dans 8l d'eau non chlorée. Le mélange était fermenté dans un seau hermétiquement fermé pendant 07jours. Le produit obtenu a été mélangé par la suite avec 50 kg de son de riz et porté dans un fut pour une autre fermentation pendant 7 jours avant leur application sur la surface de culture (Fig. 21).



Fig. 21. Constituants de préparation des bioformulations. (a) : souches microbiennes, (b) : Mélange de sucre brun + souches microbiennes + eau sans chlore = solution activée, (c) : son de riz, (d) : Mélange solution activée et de son de riz, (e) : Formulation prête à l'emploi.

### II.2.3. Préparation de l'espace de culture et dispositif expérimental

Des parcelles de terrain ont été défrichées, bêchées, émietées et les billons ont été formés (Fig. 22) suivant la méthode de split-plots avec cinq répétitions. Quatre traitements (T1 ; T2 ; T3 et le témoin T0) pour 18 plants de gombo chacun avec les variétés *Clemson* et *Hire*.



Fig. 22. Formation des billons suivant le dispositif split-spot. (a) : Réalisation des poquets ; (b) : Billons prêts à l'emploi.

Le dispositif expérimental était constitué de 20 parcelles élémentaires séparées entre elles par une allée de 0,5 m et entre les blocs d'une allée de 2 m pour chaque variété de gombo. La superficie totale de la parcelle par variété était de 229,5 m<sup>2</sup> (25,5 m x 9 m) (Fig. 23). L'ensemble des parcelles d'un bloc représentait le même traitement.

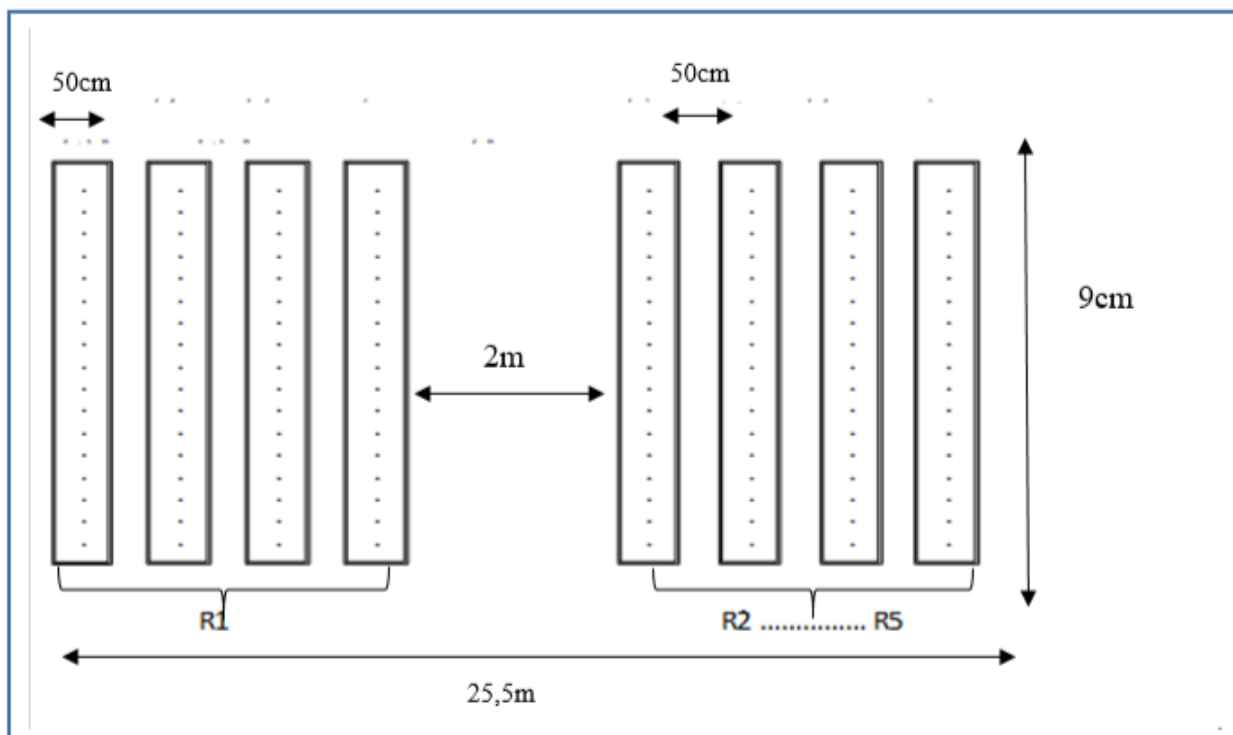


Fig. 23. Dispositif expérimental en split-plot

### II.2.3.1. Analyses physico-chimiques du sol

Les analyses physico-chimiques ont été effectuées avant et 35 jours après semis. Des échantillons de sol ont été prélevés à l'aide d'une tarière manuelle dans les vingt premiers centimètres supérieurs du sol selon le dispositif de randomisation de blocs, en cinq différents points du champ. Il a été obtenu des sous-échantillons composites qui ont été ensuite mélangés pour obtenir un échantillon de 1 kg.

Les analyses ont été effectuées pour les variables tels que le pH, la matière organique (MO), les bases échangeables (BE), la Capacité d'Échange Cationique (CEC), l'azote total (N<sub>tot</sub>), le phosphore assimilable (P<sub>ass</sub>), le phosphore total (PT), l'acidité échangeable (AE), la granulométrie suivant les méthodes internationales préconisées par Pauwels *et al.* (1992).

#### II.2.4.1.1. Granulométrie

Les différentes fractions granulométriques ont été déterminées par une analyse mécanique. La procédure a consisté en l'élimination de la matière organique par oxydation avec l'eau oxygénée, des sesquioxydes de fer et d'aluminium par le HCl, puis la séparation de sable par tamisage sous eau avec un tamis de 50 $\mu$ m. Le mélange argile + limon fin a été prélevé à l'aide d'une pipette Robinson-Köhn après dispersion de la suspension colloïdale

avec l'hexamétaphosphate de sodium. Le temps et la profondeur de sédimentation ont été déterminés selon la loi de Stokes, dont le principe est le suivant : une particule supposée sphérique et en chute dans un fluide au repos acquiert rapidement une vitesse  $V_1$  (cm/s) donnée d'après la formule suivante (Soltner, 2005) :

$$V_1 = g \frac{d_p - d_f}{18\eta} d^2 = \frac{H}{t}$$

Où  $g$  est l'accélération de la pesanteur (cm / s<sup>2</sup>),

$d_p$  et  $d_f$  sont respectivement les densités de la particule et du fluide,

$\eta$  est la viscosité du fluide (en poise),

$d$  est le diamètre de la particule (cm),

$H$  est la profondeur de prélèvement de la suspension par rapport au niveau supérieur du liquide au repos (en cm),  $t$  est le temps au bout duquel il faut effectuer le siphonage (en s) (Soltner, 2005).

#### **II.2.4.1.2. Dosage du carbone et de la matière organique totale**

Le carbone organique (%) a été dosé par la méthode Walkley & Black (1934) et modifiée par Baize (2000). Elle a été faite par détermination du pourcentage du carbone organique. La détermination du pourcentage carbone organique (%C) s'est faite selon la méthode de Walkley et Black (1934).

Cinq grammes de sol introduits dans un mélange constitué de 10 ml de dichromate de potassium (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), 1N et 20 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré ont été incubés pendant 30min. Ensuite, 150 ml d'eau distillée, 10 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> et 1 ml d'indicateur coloré (permanganate de potassium) ont été successivement ajoutés puis homogénéiser. Après homogénéisation le mélange a été titré avec le FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O, 1N jusqu'à l'obtention d'une coloration vert brillant. Un blanc constitué d'eau distillée et traité dans les mêmes conditions que l'échantillon a été réalisé. Le pourcentage en carbone et en matière organique a été calculé par les formules :



$$\% C = \frac{4 (a-b)}{a X p}$$

Où a = volume de FeSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O ajouté au témoin ;

b = volume de FeSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O ajouté à l'échantillon ;

p = masse de l'échantillon.

$$\%MO = 1,723 X \%C$$

Le rapport C / N est obtenu en divisant la teneur en carbone organique par celle de l'azote total.

#### II.2.4.1.3. pH

La mesure du pH repose sur une estimation de l'acidité d'une solution en équilibre avec le sol. Le pH-H<sub>2</sub>O (acidité actuelle) du sol a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre muni d'une électrode de verre 24 heures après avoir mélangé 10g de chaque échantillon de sol dans 25ml d'eau distillée. Le pH-KCl (acidité potentielle ou totale) a été mesuré 15mn après avoir introduit 10g de chaque échantillon de sol dans 25ml de solution de KCl 1N suivant la norme internationale NF ISO 10390 (Staff, 1993).

#### II.2.4.1.4. Somme des bases échangeables et capacité d'échange cationique

La détermination des teneurs en BE (Ca, Mg, K, Na) a été effectuée après extraction à l'acétate d'ammonium 1N à pH = 7. Na et K ont été dosés par spectrophotométrie de flamme, tandis que le calcium et le magnésium ont été déterminés par complexométrie par l'EDTA (éthylène diamine tétra acétate) telle que décrite par Saragoni *et al.* (1992). La détermination de la CEC à pH 7 est réalisée après lavage à l'alcool (90 °C) afin d'éliminer la solution saturante NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Le dosage de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a été effectué par distillation Kjeldahl après désorption quantitative K<sup>+</sup>.

#### II.2.4.1.5. Taux de saturation en bases échangeables

Le taux de saturation en bases échangeables (V) a été obtenu par la formule suivante (Buol *et al.*, 2011) :

$$V (\%) = (S/CEC) *100$$

S = somme de bases échangeables en méq /100 g ;

CEC = capacité d'échange cationique du sol méq /100 g.

#### II.2.4.1.6. Azote total

La détermination de la teneur en azote total a été effectuée selon la méthode de Kjeldahl (Buol *et al.*, 2011). Elle consiste préalablement en la minéralisation complète de l'azote organique par un mélange d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré et d'acide salicylique à chaud (350 °C). Le minéralisât est distillé par entraînement à la vapeur d'eau, le distillat est ensuite titré avec une solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,01 N).

$$N(\text{g/kg}) = (v-v_0) * 0.01 * 14 / p_e$$

$p_e$  : prise d'essai ;

$v$  : volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versé pour neutraliser l'azote dans le distillat ;

$v_0$  : volume du témoin.

#### II.2.4.1.7. Phosphore assimilable

Le phosphore assimilable a été déterminé par la méthode Bray & modifiée par Buol *et al.* (2011).

##### Principe

La méthode de Bray combine l'extraction du phosphore en milieu acide à la complexation, par le fluorure d'ammonium, de l'aluminium lié au phosphore. Le dosage du phosphore se fait par spectrophotométrie avec le bleu de molybdène.

##### Mode opératoire

Deux grammes de terre ont été introduite dans un tube à essai contenant 17,5 ml de la solution acidulée (solution d'extraction), puis agités pendant 45 sec et filtrés. A 10ml de filtrat obtenu, 10ml d'acide borique, 4ml d'acide ascorbique et 2ml de mélange sulfomolybdique ont été ajoutés. Après homogénéisation, le mélange a été ensuite incubé pendant 10 min à 85°C au bain marie. Après refroidissement, les échantillons ont été dosés au spectrophotomètre à 665 nm. Un étalon a été réalisé dans les mêmes conditions que l'essai.

La teneur en phosphore a été calculée par la formule :

$$A = \left( \frac{1}{E_1} + \frac{2}{E_2} + \frac{3}{E_3} + \frac{4}{E_4} \right) / 4$$

$$P_i (\text{mg/g sol}) = C_i * A$$

C<sub>i</sub> = concentration de l'échantillon ;

E<sub>1</sub> = concentration de l'étalon 1 ;

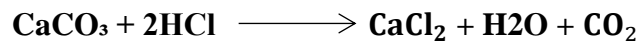
E<sub>2</sub> = concentration de l'étalon 2 ;

E<sub>3</sub> = concentration de l'étalon 3 ;

E<sub>4</sub> = concentration de l'étalon 4.

#### **II.2.4.1.8. Calcaire total**

Cette valeur a été déterminée par la méthode de calcimètre de Bernard après attaque HCl 6N en mesurant du volume de CO<sub>2</sub> dégagé à l'échantillon et attaqué par acide chlorhydrique (Baize, 2000).



#### **II.2.4.1.9. Phosphore total**

Le phosphore total est l'ensemble du phosphore présent dans un échantillon sous forme de phosphates ou de composés organophosphorés.

Il a été dosé à l'aide du bicarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub>) 0,5M à pH 8,5 suivant la norme internationale NF ISO 11263 (Buol *et al.*, 2011).

La détermination du phosphore total s'effectue en deux étapes. La première étape consiste à digérer et à oxyder toutes les formes de phosphore avec du persulfate de potassium en milieu acide sous pression à 121°C. Dans la seconde étape, l'ion orthophosphate réagit avec l'ion molybdate et l'ion antimoine pour former un complexe phosphomolybdate. Ce dernier est réduit avec l'acide ascorbique en milieu acide pour provoquer l'apparition du bleu de molybdène, dont l'absorbance à 660 nm est proportionnelle à la concentration de l'ion orthophosphate présent dans l'échantillon.

#### **II.2.3.2. Semis du gombo et gestion du champ**

Les poquets de 2 cm de profondeur afin de maximiser la levée des plantes avec des espaces de 50 cm ont reçu des formulations poudreuses à raison de 40 g par poquet (Anonyme, 2014). Les semences ont été préalablement trempées dans chaque formulation liquide pendant 24 h avant les semis pour ramollir les téguments afin de favoriser la germination (Anonyme, 2010). Le semis du gombo s'est fait 14 jours après application des bioformulations (Mbouobda *et al.*, 2014) en introduisant trois graines par poquet (Anonyme,

2007). Le démariage (élimination des plantes moins robustes) s'est fait deux semaines après le semis et les herbes étaient éliminées manuellement au fur et à mesure que les plantes croissaient pour éviter les compétitions en sources trophiques (Anonyme 2010). La deuxième application des formulations de 40 g par plante a eu lieu 28 jours après les semis en période de croissance végétative (Llamelo *et al.*, 2016) à 5 cm autour des plantes. L'évaluation des paramètres de croissance et de productivité a été également faite.

#### **II.2.4.3. Évaluation des paramètres agromorphologiques du gombo**

Les données ont été collectées sur les paramètres de croissance dès le 14<sup>ème</sup> jour jusqu'au 35<sup>ème</sup> jour après semis et sur les paramètres de rendement à la récolte à partir de 42 jours après semis.

##### **II.2.4.3.1. Émergence des plantes**

Elle a été notée par comptage des plantes levées 14 jours après semis (lorsque les plantes avaient déjà 2 feuilles environs) dans chaque traitement dans les différents sites pour chaque variété de gombo sur les 18 plantes initialement semées.

##### **II.2.4.3.2. Hauteur des plantes**

La hauteur des plantes (cm) a été mesurée à l'aide d'une règle de 50cm sur toutes les plantes dans chaque traitement 14 jours après les semis à partir du collet de la plante jusqu'à la première fourche foliaire. Cette opération était répétée après chaque 7 jours et ceci jusqu'à la floraison (35 JAS) sur les 18 plantes de chaque traitement.

##### **II.2.4.3.3. Nombre de feuilles**

Le nombre de feuilles ayant émergé à la base était compté suivant le même dispositif dès 14 jours après semis et ceci une fois après 7 jours jusqu'à la floraison.

##### **II.2.4.3.4. Surface foliaire**

La surface foliaire (mm<sup>2</sup>) a été mesurée 35 jours après semis sur 2 feuilles par plante pour un total de 36 feuilles dans chaque traitement pour les 18 plantes, par la méthode planimétrique (Carbonneau, 1976). Elle consiste à utiliser du papier millimétré sur lequel on calque la feuille et on compte par la suite le nombre de carrés contenus dans l'air délimité sachant que chaque carreau correspond à 1mm<sup>2</sup>. La moyenne était par la suite déterminée à partir la formule suivante :

$$SFm = \frac{SFtot}{Nf}$$

SFm = surface foliaire moyenne ;

SFtot = surface foliaire totale ;

Nf = nombre de feuilles.

#### II.2.4.3.5. Vigueur des plantes

La vigueur des plantes sur 18 plants par traitement au niveau des trois sites a été déterminée au 35<sup>ème</sup> jour après les semis. Il était question d'observer la sévérité des infestations et infections basée sur la taille des lésions symptomatiques (nécrose et trous) causées par les agents pathogènes et /ou ravageurs sur les feuilles par une observation visuelle sur les 18 plantes de chaque traitement et d'identification morphologique des agents en laboratoire. Il était donc question de compter déjà toutes les plantes attaquées par traitement et de déterminer par la suite le pourcentage des plantes ayant résisté à ces attaques selon la formule d'Ibeawuchi *et al.* (2007).

$$\% \text{infestation ou d'attaque} = \frac{\text{nombre de plantes infestées par traitement}}{\text{nombre total de plantes}} \times 100$$

$$\% \text{ plantes saines} = 100\% - \% \text{ infestation}$$

L'identification des spores de *Cercospora oryzae* à travers les symptômes observés sur la plante s'est fait à partir des segments de feuilles infectées qui ont été lavées dans 200ml d'eau. Cette solution a été filtrée sur des membranes millispores de 0,45µm. Le cube gélatine/glycérine a permis de récupérer les spores à la surface du filtre. Ces dernières ont été par la suite repiquées sur milieu de culture PDA. La mise en culture a été faite dans un incubateur à 28 °C avec alternance lumière obscurité 12 h/12 h. Après 15 jours d'incubation, la surface chargée de spores a été raclée stérilement à l'aide d'une spatule métallique et de l'eau distillée. La suspension obtenue a été filtrée sur une mousseline pour séparer les spores du mycélium ; l'observation et la photographie ont été faites grâce à un microscope photonique de grandissement 40X. Pour ce qui est des ravageurs responsables de l'altise, ils ont été identifiés grâce aux symptômes présentant la plante et photographié en champ.

#### **II.2.4.3.6. Longueur des fruits**

Trente fruits matures ont été sélectionnés de façon aléatoire par traitement après récolte à 60 JAS pour chaque variété dans les trois sites et la longueur (cm) a été mesurée à l'aide d'une règle graduée de 30cm. La moyenne a été déterminée par la suite pour chaque traitement.

#### **II.2.4.4. Évaluation de la productivité**

##### **II.2.4.4.1. Productivité par traitement**

La masse des fruits a été évaluée par traitement au fil du temps dès la première récolte. Les fruits étaient recueillis par lot dans chaque traitement selon le dispositif expérimental pendant 6 semaines. Chaque lot a été pesé à l'aide d'une balance électrique et la moyenne a été calculée afin d'évaluer la valeur moyenne de production pour chaque traitement.

##### **II.2.4.4.2. Productivité des plantes de gombo à l'hectare**

La productivité à l'hectare pour chaque traitement a été évaluée par extrapolation en tonne par hectare des données sur la production par traitement suivant la formule ci-après :

$$PHec = \frac{Pmt}{Ac} \times (10.000m^2)$$

PHec : production à l'hectare (tonnes)

Pmt : production moyenne par traitement (tonnes)

Ac : Aire de culture par traitement (m<sup>2</sup>)

#### **II.2.4. Criblage phytochimique**

Le criblage phytochimique a été fait avec les extraits méthanoliques des feuilles de gombo du témoin et du traitement T1 à base de *Trichoderma harzium* et *Bacillus amyloliquefaciens*.

##### **- Préparation des extraits**

L'extraction sur les feuilles a été réalisée sur les feuilles préalablement délipidées au soxhlet (avec du méthanol comme solvant) selon la méthode de Oomah et *al.* (2010) par décoction sous reflux de 50 g de poudre dans 500 ml d'un mélange hydro-méthanolique (20V/80V respectivement) pendant 30 mn dans le but d'extraire au maximum les composés polaires tels que les polyphénols. Après filtration sur papier Whatman No.1, les filtrats

obtenus ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60 °C. Les résidus de ce filtrat ont été séchés à l'étuve pendant 48 h à 45 °C pour obtenir les extraits secs.

#### - **Analyse qualitative des métabolites**

L'extrait méthanolique a été analysé par chromatographie en phase gazeuse capillaire suivie d'une spectrométrie de masse (GC/MS) réalisée avec un GC Agilent 7890A couplé à un spectromètre de masse 5975C inert MSD Agilent. La chromatographie gazeuse était équipée d'une colonne capillaire VF-1MS (100 % diméthylsiloxane, 20 m x 150 µm (diamètre interne) x 0,15 µm (épaisseur de film)) de Varian, liner de diamètre interne 4 mm. Gaz vecteur : hélium (débit constant de 1 mL/min) ; programmation du four : de 37 °C (1 min) à 250 °C à 5 °C/min, puis palier de 11 min à 250 °C ; température de source : 230 °C ; température de la ligne de transfert : 260 °C ; énergie d'ionisation : 70 eV. Les spectres de masse en ionisation électronique (EI) ont été enregistrés entre 40–400 u.

Dans le cas d'une spectrométrie de masse, la détection est basée sur le rapport masse / charge ( $m/z$ ) d'un analyte. Les molécules d'analyte dans la phase vapeur, sont bombardés avec un faisceau d'électron à haute énergie. Les ions positifs sont produits par le bombardement dans un champ magnétique sur la base de leur rapport  $m/z$ . le signal émis par les ions à partir du spectre est enregistré et est présenté comme un graphique tracé par ordinateur.

L'identification des constituants était basée sur la comparaison des spectres de masse avec des bases de données commerciales Wiley et internes au laboratoire. Les indices de rétention ont été calculés en utilisant la série homologue des alcanes (C7-C40) et comparés aux indices de rétention disponible dans le Webbook de la NIST (2013) d'après Kondjoyan & Berdagué (1996). Chaque analyse a été réalisée en triplicat après l'optimisation expérimentale.

#### **II.2.5. Détermination du taux de peroxyde d'hydrogène sur les fruits de gombo**

La concentration du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été déterminée par la méthode de Velikova *et al.* (2000). 100mg de fruits frais sont homogénéisés avec 2ml de trichloracétique à 0,1%. L'homogénat est centrifugé à 12000 tr/min pendant 15min à 4 °C ; à 500 µL du surnageant, on ajoute 500 µL de tampon phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 10mM, PH = 7) et 1mL d'iodure de potassium (KI à 1M). L'absorbance est lue à 390nm, en utilisant le coefficient d'extinction 26,6 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>. Les résultats sont exprimés en méq O<sub>2</sub>/Kg de matière fraîche.

## II.2.6. Évaluation de l'activité antiradicalaire des fruits de *Abelmoschus esculentus* L.

L'activité antioxydante a été évaluée sur les extraits méthanoliques des jeunes fruits du témoin et du traitement avec les tests au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), à l'Acide 2,2-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) et au Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP).

### II.2.6.1. Préparation des extraits

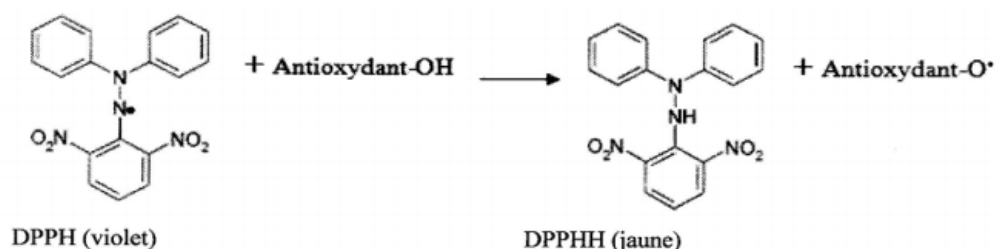
L'extraction sur les fruits de gombo a été réalisée selon le protocole de Molyneux (2003) sur 10g broyés dans 500ml de solution méthanolique aqueuse (méthanol/eau, 70/30). Le matériel végétal a été placé dans une cartouche exposée au solvant d'extraction à une température de 30°C. La cartouche a été retirée après 4h extraction, et le solvant chargé d'extrait de la variété a été récupéré pour être évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif.

### II.2.6.2. Activité antiradicalaire DPPH

L'activité antiradicalaire DPPH de la fraction polysaccharidique a été évaluée suivant le protocole de Molyneux (2003).

#### Principe

Il repose sur la réduction du radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) de couleur violette en un composé de couleur jaune par transfert de l'atome d'hydrogène pour former le DPPH-H stable (1,1-diphényl-2-picrylhydrazine). L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 517 nm, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés contenus dans l'extrait à analyser.



#### Mode opératoire

Dans différents tubes à essai, ont été introduits 500  $\mu$ L d'extrait aux concentrations 50 ; 100 ; 150 et 200  $\mu$ g/mL et 500  $\mu$ L d'une solution méthanolique de DPPH 400  $\mu$ M fraîchement préparé. L'acide gallique aux concentrations 0,1 ; 1 ; 10 ; 100 et 1000  $\mu$ g/mL ont



été utilisés comme standard. La solution contrôle était constituée de 500 µL d'eau distillée et 500 µL de la solution DPPH. Après 30 min d'incubation à température de 37 °C et à l'obscurité contre un blanc constitué de 500 µL de méthanol et 500 µL d'eau distillée, la lecture de la densité optique a été faite à 517 nm au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu. L'activité antiradicalaire a été exprimée en pourcentage de radical DPPH réduit et calculée selon Molyneux (2003) :

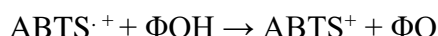
$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [1 - (\text{DO échantillon 517}/\text{DO contrôle 517})] \times 100$$

### II.2.6.3. Activité antiradicalaire ABTS

Elle a été déterminée selon le protocole décrit par Leong & Shui (2002).

#### Principe

En présence d'antioxydant donneur de proton, le radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  de couleur verte arrache un proton conduisant à l' $\text{ABTS}^+$ . Ce qui entraîne une décoloration de la solution avec une absorption maximale à 734 nm.



$\Phi\text{OH}$ : Antioxydant donneur de proton;  $\Phi$ : Antioxydant réduit.

$\text{ABTS}^{\cdot+}$  : Radical piègeur de proton ;  $\text{ABTS}^+$  : Radical stable

#### Mode opératoire

Dans différents tubes, ont été introduits, 500 µL de fraction polysaccharidique aux concentrations 50 ; 100 ; 150 et 200 µg/mL et 500 µL du réactif ABTS fraîchement préparé.

La densité optique a été déterminée à 734 nm au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu après 30 min d'incubation à TA et à l'obscurité contre de l'eau distillée (Blanc). L'acide gallique utilisé comme standards, ont subi le même traitement aux concentrations de 0,1 ; 1 ; 10 et 100 µg/mL. La fraction polysaccharidique a été remplacée par de l'eau distillée dans la solution contrôle. L'activité antiradicalaire a été exprimée en pourcentage de radical  $\text{ABTS}^{\cdot}$  réduit

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [1 - (\text{DO échantillon 734}/\text{DO Contrôle 734})] \times 100$$

#### II.2.6.4. Activité antioxydante par la méthode de FRAP

##### Préparation des solutions

Une solution tampon acide acétique / acétate de sodium à 300 mM à pH = 3,6 a été préparée. Le réactif TPTZ à 10mM, dilué dans de l'HCl à 40 mM, a été également préparé extemporanément tout comme le réactif FeCl<sub>3</sub> à 20 mM. La solution de travail FRAP a été ainsi réalisée d'après Pulido *et al.* (2000) en mélangeant 2,5 ml de solution TPTZ ; 2,5 ml de solution FeCl<sub>3</sub> et 25 ml de solution tampon puis conservée directement dans un bain à 37°C.

##### Mode opératoire

Le protocole qui suit était basé sur la méthode mise au point par Benzie *et al.* (1996) et modifiée par Pulido *et al.* (2000).

Le test consistait à mélanger, dans des tubes à hémolyse en verre, 100 µl d'extrait dilué (ou de méthanol) à 300 µl d'eau distillée puis à 3000 µl de solution de travail FRAP maintenue à 37°C. L'absorbance est mesurée à 595 nm après avoir laissé incuber la réaction dans un bain thermostaté à 37 °C à l'obscurité pendant exactement 30 minutes (Pulido *et al.*, 2000).

##### Expressions des résultats

La droite d'étalonnage a été établie à partir des absorbances lues pour la gamme de solutions de sulfate ferreux heptahydraté utilisée comme composé de référence. Elle est de la forme :  $Abs = a \times [Fe(II)] + b$ . Chaque extrait testé a produit une absorbance permettant de déterminer sa concentration soit en µM d'équivalent Fe (II) en utilisant les formules suivantes :

$$\text{Concentration en } \mu\text{M d'Eq Fe (II)} = \frac{Abs - ba}{a}$$

« a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine de la droite étalon.

En considérant ensuite la concentration de l'extrait étudié, on exprime alors l'activité oxydante soit directement en µM d'équivalent Fe (II) soit en µmol d'équivalent Fe (II) / g d'extrait sec et de matière sèche. L'acide gallique à gradient de concentration a été utilisé comme étalon. La densité optique a été déterminée à 593 nm au spectrophotomètre UV-1605 Shimadzu après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité contre de l'eau

distillée. L'activité réductrice du fer a été exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique (EAG)/mg d'extrait sec.

$$\text{mg d'Eq Fe(II)/g d'extrait sec} = \frac{\text{Concentration en } \mu\text{M d'EqFe(II)} \times \text{MFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}{\text{Concentration de l'extrait} \times 1000}$$

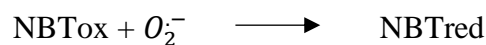
$$\text{G mg d'EqFe (II) / g de matière sèche} = \text{Mm d'Eq Fe (II) X Rdt}$$

## II.2.7. Dosage des marqueurs enzymatiques du stress oxydatif sur les fruits de gombo

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion peroxydase (GSH-Px) (Sharma *et al.*, 2012).

### II.2.7.1. Superoxyde dismutase

Ce test repose sur la formation du formazan lors de réduction avec l'anion superoxyde. La SOD inhibe la réduction photochimique du nitrobleu tétrazolium (NBT) par  $\text{O}_2^-$  dont l'équation est :



Son activité a été déterminée selon la méthode décrite par Marklund et Marklund, (1974). Le principe repose sur la capacité d'inhibition de l'autoxydation du pyrogallol par la SOD à 420nm.

La mesure de l'activité a été réalisée dans un volume final de 3ml. À 2,8ml de tampon Tris HCl (0,1mol, pH 8,2), ont été additionnés 0,1ml d'extrait enzymatique, 25 $\mu\text{l}$  de la catalase (30 $\mu\text{M}$  dans le tampon phosphate 0,1M, pH 9) et 25 $\mu\text{l}$  de pyrogallol (24mM préparé dans 10mM de HCl). Après incubation de 30s, le changement de l'absorbance a été mesuré à 420nm à chaque minute, dans un intervalle de temps de 3minutes. L'activité enzymatique spécifique de la SOD a été exprimée en UI/min/mg de protéine. Une unité de l'activité de la SOD est définie comme l'enzyme qui causerait l'inhibition de 50% de l'autoxydation de pyrogallol.

### II.2.7.2. Catalase

Son activité est mesurée selon la méthode décrite par Chance et Maehly (1955). La décomposition de peroxyde d'hydrogène est déterminée par la diminution de l'absorbance à

240nm. En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fonction du temps. Le milieu réactionnel contenait 2,9ml de 0,1M tampon phosphate, pH 7 et 0,1ml de 20mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et l'extrait enzymatique. Après incubation de 5 min, le réactif Titanium oxyde sulfate (TiOSO<sub>4</sub>) a été ajouté. La lecture s'est faite à 240 nm à chaque minute pendant 2 à 3 min maximums. Les concentrations du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> restant ont été déterminées à partir d'une gamme étalon de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l. Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A1 - \log A2.$$

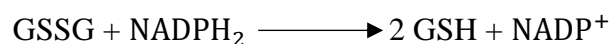
A1 est la concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de départ

A2 est la concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> après incubation (au bout de 5 min)

L'activité enzymatique spécifique a été exprimée en U/min/mg de protéine.

### II.2.7.3. Glutathion peroxydase

La technique de dosage de la glutathion peroxydase (GPx) était basée sur celle utilisée par Elia *et al.* (2006 ; 2007). L'activité de cette enzyme est déterminée via la formation du glutathion oxydé (GSSG) à partir du glutathion réduit (GSH). Le système nécessite la présence d'un oxydant (cumène-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et de la glutathion réductase (GR) qui réduit le GSSG en oxydant le NADPH en NADP comme suit :



La mesure a consisté à suivre par spectrophotométrie la disparition du NADPH à 340 nm à 25 °C dans un mélange réactionnel formé par l'ajout : du tampon sodium-phosphate (100 mM, pH = 7.5) contenant de l'EDTA (1 mM), du GSH (2 mM), du NADPH (0.12 mM), la GR (1Unité/ml), du DL-dithiothreitol (1 mM). Ceci avait pour but de stabiliser les enzymes contenant des groupements sulphydryles, de l'hydroperoxyde de cumène (0.8 mM) et d'un volume de l'échantillon ou du tampon pour les blancs qui complètent le volume total (1 ml). Une mise au point du dosage de la GPx a été réalisée au préalable afin de déterminer la bonne dilution des échantillons. Cette mise au point consistait à détecter une décroissance de l'absorbance significativement différente de celle des blancs en testant différentes dilutions. Dans le cas de ce dosage, le coefficient d'extinction molaire était de 6.22 mM<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>. L'activité de la GPx a été ainsi calculée en appliquant la loi de Beer-Lambert :

$$((\Delta A \text{ échantillon} - \Delta \text{ blancs}) / \epsilon l)$$

Le résultat trouvé a été multiplié par le facteur de dilution par rapport à la concentration des protéines totales dans la fraction S100 correspondante et en conséquent exprimée en  $\mu$ moles de NADPH consommées par minute et par mg de protéines totales (mmoles/L de Prot).

## **II.2.8. Analyses du profil nutritionnel des fruits de *Abelmoschus esculentus***

### **II.2.8.1. Dosage des molécules minérales**

L'évaluation des teneurs en quelques nutriments tels que le fer, le calcium, le zinc, le magnésium, le potassium, le sodium et le phosphore a été faite sur les fruits de gombo à la récolte.

#### **II.2.8.1.1. Minéralisation et préparations des solutions d'échantillons**

La préparation est faite selon la méthode décrite par Pinta (1976). Un gramme des fruits de chaque traitement a été introduit dans un creuset en porcelaine et calciné dans le four à moufle de marque Carbolite Eurotherm à 450 °C pendant 2 heures. Il a été par la suite digéré avec 10ml d'acide nitrique de concentration 1 N pendant 30min puis refroidit et filtré à l'aide d'un papier filtre wattman dans les fioles jaugées de 50ml. L'eau distillée a été complétée jusqu'au trait de jauge.

##### **II.2.8.1.1.1. Phosphore**

À 2 ml de l'extrait de cendre portés dans un tube à essai, ont été ajouté 6 ml d'eau distillée et 2 ml de réactif nitro-vanada-molybdate. La solution a été homogénéisée et laissé réagir pendant une heure puis dosé par spectrophotométrie à 430 nm.

##### **II.2.8.1.1.2. Fer**

5 ml de l'extrait + 1ml de KSCN à 5 % ont réagi pendant 10minutes et la densité lue au spectrophotomètre UV visible à 420 nm. Les étalons ont été traités de la même manière que les échantillons (suite pour la méthode du phosphore).

##### **II.2.8.1.1.3. Zinc, sodium et potassium**

20 ml de l'extrait + 20 ml de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  + 1 ml de HCl + 1ml de sulfite de Na + 1 ml de cyanoferrate de potassium 0,5 %, ont été mélangés et agités pendant 5 minutes à l'obscurité. La densité a été lue au spectrophotomètre UV visible à 650 nm. Pour le sodium et le potassium, le dosage a été fait par spectrophotométrie de flamme. Ceci consistait à vaporiser

dans une flamme de gaz butane ; l'extrait de gombo grâce à une cellule photoélectrique. L'intensité de la coloration en rapport avec la concentration des ions en question était lue.

#### **II.2.8.1.1.4. Calcium et Magnésium**

##### **Principe**

À pH 10, le Ca et le Mg forment avec l'EDTA les complexes Ca-EDTA et Mg-EDTA par des réactions instantanées aux températures avoisinant 60 °C. Avec l'indicateur noir ériochrome T de couleur bleu pur à l'état libre, des complexes Ca-NET et Mg-NET (rouge vineux) sont formés. Le classement des différents complexes par ordre de stabilité est le suivant : Ca NET < Mg-NET < Mg-EDTA < Ca-EDTA. La détermination de la teneur en calcium et magnésium libre dans le mélange se fait dans l'ordre de complexation ci-dessus : Ca-EDTA-Mg-EDTA.

##### **Mode opératoire**

Un aliquot de 50 ml de l'extrait d'acetate d'ammonium (NH<sub>4</sub>OAc) de sol a été introduite dans un erlenmeyer de 250 ml et supplémenter avec 50 ml d'eau distillée. Dans le milieu réactionnel successivement 50 ml de tampon pH 10 et 1 ml de Mg-EDTA ont été ajouté, puis chauffé au bain marie pendant 3 min à 60 °C. Parallèlement, un autre milieu réactionnel constitué de 50 ml l'extrait NH<sub>4</sub>OAc de sol et 50 ml de tampon pH 10 a été supplémenté successivement 3g d'acide ascorbique, 1ml de KCN et 1 ml de potassium hexacyanoferrate (II)-3-hydrate à 2%. Après ajout de 50 mg de l'indicateur NET/KNO<sub>3</sub> et HHSNN/Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> respectivement pour le milieu réactionnel 1 et pour le milieu réactionnel 2, les deux milieux réactionnels ont été titrés lentement avec le Na<sub>2</sub>-EDTA 0,002 M jusqu'au point d'équivalence marqué par le changement de la coloration violette à la coloration bleu pur caractérisant respectivement le Mg et la coloration rouge vineux à la coloration bleu pur caractérisant respectivement les ions calcium. Un témoin constitué d'eau distillée a été réalisé dans les mêmes conditions que l'essai. Le calcul de la teneur en calcium et magnésium s'est fait selon la formule :

$$\text{Meq (Ca + Mg)} = 8(V-V_0) / V_{pe}$$

V= volume de Na<sub>2</sub>-EDTA 0,002 m titré pour l'échantillon ;

V<sub>0</sub>= volume de Na<sub>2</sub>-EDTA 0,002 m titré pour le témoin ;

V<sub>pe</sub>= volume de prise d'essai.

### II.2.8.1.1.5. Cuivre

Une solution « stock » 0,02 M été préparée par pesée de 0.1g de matière sèche de gombo et 1,25 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  puis introduit dans une jauge de 250 ml. Il a été ajouté 100ml d'eau pour dissoudre le tout et complété au trait de jauge puis homogénéisation. Les solutions de  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$  ont été préparées en prélevant respectivement 4 – 8 – 12 – 16 – 20 – 30 – 40 – 60 ml de la solution stock à la pipette, en les versant dans des jauges de 100 ml. Il a été ajouté 10 ml d'ammoniaque concentré et en complétant au trait de jauge avec de l'eau distillée avant d'homogénéiser. Le blanc était constitué d'une solution contenant tous les réactifs, sauf l'ion à doser : dans une jauge de 100 ml, on a mis 10 ml d'ammoniaque concentré et complété au trait avec de l'eau distillée avant d'homogénéiser Pinta (1976).

### II.2.8.2. Dosage des molécules organiques

#### II.2.8.2.1. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides s'est fait en utilisant l'acide 3,5 Dinitrosalicylique (DNS).

Les sucres, encore appelés glucides ou hydrates de carbone  $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$ , sont des composés comportant de nombreux groupements hydroxyles (-OH) responsables de leur caractère très hydrophile. La présence de groupement carbonyle (-C = O), aldéhyde ou cétonique leur confère un caractère réducteur (Boukary, 2008).

#### Principe

On utilise les propriétés réductrices du glucose. À chaud et en milieu alcalin, il y a réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique ou DNS (aussi appelé acide 2-hydroxy-3,5dinitrobenzoïque) de couleur jaune qui joue le rôle d'oxydant en acide 3-amino-5nitrosalicylique (figure 07) qui est rouge-orangé, l'intensité de la coloration rouge est proportionnelle à la concentration de l'ose si l'on opère dans des conditions physico-chimiques constantes. La densité optique (DO) est lue au spectrophotomètre à 530 nm. Une courbe d'étalonnage  $\text{DO} = f(C)$  est établie avec des solutions en concentrations de glucose connues.

Le taux de glucides totaux a été déterminé en faisant la différence entre le poids sec des fruits de gombo et le poids des cendres, des protéines et des lipides (Dubois *et al.*, 1956).

$$\% \text{ glucides} = \text{Ms} - \% \text{ protéines} - \% \text{ lipides} - \% \text{ cendres}$$

### **II.2.8.2.2. Dosage des protéines totales**

Le dosage des protéines totales a été réalisé selon la méthode de Bradford (1976) utilisant le Bleu de Coomassie G250.

#### **Extraction**

L'extraction des protéines totales sous condition native. Ainsi, 1g de feuilles fraîches a été broyé à froid dans 10 ml de tampon d'extraction (Tris-HCl 10 mM, Triton X-100 1 %, pH 7,5). Le broyat a été resuspendu dans 5 mL de tampon d'extraction. Après agitation au vortex pendant 10 min et incubation dans la glace, le mélange a été soumis à la sonication (processeur ultrasonique de marque SONIREP 150) avec une amplitude de 20  $\mu$  et trois intervalles de temps d'une durée de 3 sec. Le mélange a été centrifugé à froid à 10000 g pendant 25 min. Le surnageant a été conservé, le culot repris et centrifugé à nouveau dans les conditions précédentes. Les deux surnageant sont mélangés et supplémentés avec 0,4 V (facteur de dilution) de n-butanol ainsi que 1/10 de tampon acétate de sodium 3 M, pH 4,5. Le mélange a ensuite été incubé dans la glace pendant 30 min avec agitation tous les 10 min. Après incubation, le mélange a été centrifugé à 10000 g pendant 15 min. Le surnageant recueilli constitue l'extrait de protéines totales.

#### **Principe**

En milieu acide, le Bleu Brillant de Coomassie G250 de couleur brun clair se fixe sur les résidus hydrophobes des acides aminés constituant les protéines pour former un complexe de coloration bleu absorbant à un maximum de 595 nm et dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans le milieu.

#### **Mode opératoire**

Dans chaque tube à essai, ont été introduits :

- 450  $\mu$ l d'eau distillée ;
- 50  $\mu$ l d'extrait ;
- 2000  $\mu$ l de réactif de Bradford.

Après incubation à la température ambiante pendant 2 min, la lecture de la DO à 595 nm s'est faite contre un blanc dans lequel l'extrait a été remplacé par l'eau distillée. Pour



chaque extrait, trois répétitions ont été réalisées et les quantités protéiques ont été exprimées en mg/g de matière fraîche par référence à la courbe étalon établie avec le BSA (Bovin Serum Albumin) 0,1 mg/ml.

### II.2.8.2.3. Détermination de la teneur en fibres

Pour la détermination de la teneur en fibres, 1g de poudre de gombo a été introduit dans un bécher contenant de l'acide sulfurique 0,255 N. Le mélange a été porté à ébullition pendant 30 min puis filtré. Au résidu, de la soude 0,313N a été ajoutée et le mélange a été nouveau porté à ébullition pendant 30min. Après filtration, le résidu a été lavé 3 fois à l'eau distillée chaude (5ml) et 2 fois à l'acétone (5ml), l'insoluble obtenu a été séché à 105°C pendant 8h et pesé. Ce résidu sec a été soumis à une incinération à 550°C pendant 3h et les cendres obtenues ont été pesées. La teneur en fibres a été calculée suivant la formule utilisée par Gordon & Okuma (2002) :

$$\text{Fibres} = \frac{M1 - M2}{M \times M_s} \times 100$$

Où :

- M1 : masse de l'échantillon séché à 105°C
- M2 : masse de l'échantillon séché à 550°C
- M : masse de la prise d'essai
- Ms : % en matière sèche

### II.2.9. Analyse des données

Les données ont été préalablement enregistrées sur Excel version 2016 puis analysées à l'aide du package Rcmd du logiciel Rversion 3.6.3. La normalité et l'homogénéité ont été testées respectivement à l'aide des tests de Shapiro-Wilk et Bartlett's K-squared. Le test de normalité de Shapiro-Wilk qui est un test d'ajustement a permis de vérifier si les échantillons recueillis sur les paramètres agromorphologiques du gombo et physicochimiques des sols étaient normalement distribués en fonction des différents traitements ( $p > 0,05$ ). Le test de TUKEY a permis de comparer les différentes moyennes à travers des analyses de variance à un facteur afin de ressortir les différences significatives entre elles.

Le package FactoMineR incorporé dans Rcmd a permis de faire des Analyses Factorielles de Données Mixtes (AFDM) pour tous les paramètres analysés. Pour une bonne

explication, l'AFDM qui est également une Analyse en Composantes Principales (ACP) a pour particularité de prendre en compte les données quantitatives et qualitatives afin de les compresser pour synthétiser l'information recherchée. Son interprétation repose sur la disposition des angles entre différents paramètres et sur les cosinus carrés ( $\text{Cos}^2$ ) en ce qui concerne la corrélation entre ces paramètres et vis-à-vis des traitements.

Pour ce qui est des angles :

- Il est observé que plus un angle entre deux paramètres est aigu, plus ces paramètres sont liés et se rapportent au traitement auquel ils sont attachés,
- Plus l'angle entre ces paramètres sont obtus ou droit, moins ils sont corrélés bien que rattachés à un traitement donné.

Concernant les cosinus carrés,

- Un paramètre a plus d'affinité avec un traitement que si son  $\text{Cos}^2$  est proche de 1,
- Des paramètres bien que rattachés à un traitement et dont le  $\text{Cos}^2 < 0,5$  sont négativement corrélés à ce traitement.

Les dendrogrammes ont permis de faire la classification hiérarchique ascendante des différents paramètres analysés en fonction des traitements et vis-à-vis des variétés de gombo dans les différents sites. Ceci avait pour objectif une meilleure interprétation de l'ACP afin de voir lequel des traitements a le plus influencé ces paramètres.

## **CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION**

### III.1. RÉSULTATS

#### III.1.1. Effet des bioformulations sur les paramètres physico-chimiques du sol et agromorphologiques de *Abelmoschus esculentus*

##### III.1.1.1. Évaluation de la compatibilité entre souches microbiennes

La figure 24 met en évidence le test de compatibilité effectué entre les combinaisons de souches microbiennes (2 souches par combinaison) pour évaluer leur capacité à cohabiter dans une même bioformulation. Il en ressort (T1 ; T2 et T3) que ces souches aient développées une capacité à cohabiter dans un même milieu au travers des résultats illustrés dans la figure 24.

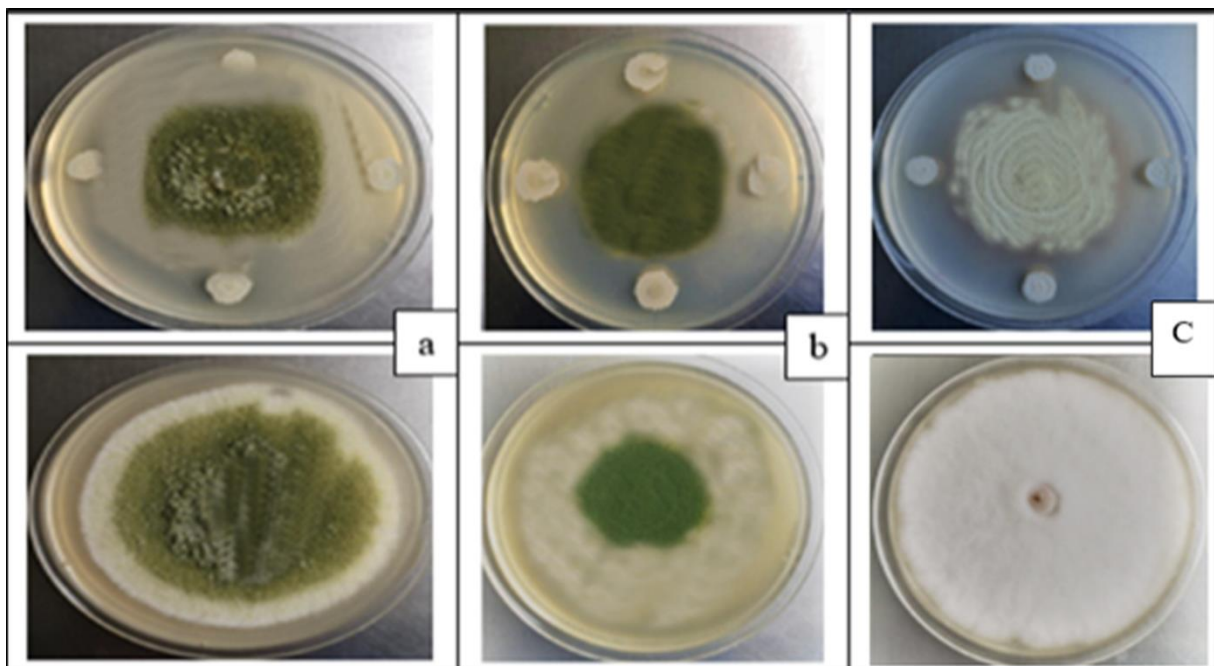


Fig. 24. Test de compatibilité entre souches microbiennes. (a) T1 = *T. Harzianum* et *B. amyloliquefaciens* ; (b) T2 = *Trichoderma Harzianum* et *Bacillus velezensis* ; (c) T3 = *B. velezensis* et *B. amyloliquefaciens*

##### III.1.1.1. Effet des bioformulations sur les paramètres physicochimiques du sol

L'analyse de variance d'après le test de Tukey met en exergue la relation qui existe entre les paramètres physicochimiques et des traitements (Tableau V) dans les trois zones agroécologiques. Il en ressort donc que plusieurs paramètres sont significativement rattachés au traitement T1 dans les zones agroécologiques V (site 1) et III (site 2) de façon variable à l'instar du taux de carbone (C), de matière organique (OM), la capacité d'échange cationique

(CEC), la somme des bases échangeables (SBE), le taux de saturation (V), le pHeau et le phosphore assimilable (p.ass). Les différences ne sont pas assez significatives pour ces paramètres vis-à-vis des traitements et des témoins bien que certaines valeurs penchent en faveur du traitement T1.

Tableau V. Composition physicochimique des sols en fonction des traitements.

	Paramètres	Sites	T0	T1	T2	T3
<b>Composition granulométrique</b>	A (%)	S1	21,00 ± 0,87a	20,00 ± 1,00a	29,50 ± 0,00c	25,17b ± 1,53b
		S2	20,47 ± 0,16a	20,33 ± 0,08a	23,27 ± 0,00b	21,33 ± 1,33a
		S3	31,67 ± 0,06b	29,00 ± 1,00ab	30,67 ± 1,33b	27,40 ± 0,33a
	S (%)	S1	61,33 ± 1,15d	53,50 ± 1,00b	50,00 ± 1,00a	57,00 ± 1,32c
		S2	38,10 ± 0,01b	32,40 ± 0,04a	30,67 ± 0,04a	32,00 ± 3,00a
		S3	47,53 ± 0,23d	44,20 ± 0,03c	41,33 ± 1,33b	44,33 ± 0,01a
	L (%)	S1	17,00 ± 0,87a	26,50 ± 0,00b	17,50 ± 6,08a	18,00 ± 0,50a
		S2	41,20 ± 0,04c	42,67 ± 2,33c	37,20 ± 0,053b	32,33 ± 1,33a
		S3	20,53 ± 0,16b	26,07 ± 0,044c	17,33 ± 1,33a	21,33 ± 0,00b
<b>Composition organo-minérale</b>	pH.eau	S1	5,50 ± 0,00a	6,70 ± 0,00c	6,00 ± 0,00b	6,20 ± 0,00b
		S2	6,60 ± 0,04a	7,00 ± 0,04b	6,90 ± 0,04b	7,00 ± 0,01b
		S3	6,50 ± 0,04a	7,00 ± 0,01a	6,70 ± 0,04a	7,00 ± 0,01a
	pH. KCl	S1	4,60 ± 0,00a	4,80 ± 0,00a	5,54 ± 0,00b	5,54 ± 0,00b
		S2	5,47 ± 0,02a	5,90 ± 0,00a	5,77 ± 0,02b	5,87 ± 0,02b
		S3	5,37 ± 0,043a	5,67 ± 0,023b	5,53 ± 0,003b	5,5 ± 0,01b
	OM (%)	S1	0,97 ± 0,02a	3,21 ± 0,03c	4,95 ± 0,04d	1,41 ± 0,03b
		S2	7,26 ± 0,00b	6,05 ± 0,00a	6,11 ± 0,00a	6,32 ± 0,00a
		S3	0,97 ± 0,00a	3,1 ± 0,00d	2,73 ± 0,00c	2,01 ± 0,00b
C (%)	S1	0,54 ± 0,02a	1,50 ± 0,10c	2,87 ± 0,02d	0,82 ± 0,02b	
	S2	3,57 ± 0,00a	4,2 ± 0,00b	4,3 ± 0,09b	3,25 ± 0,00a	
	S3	0,57 ± 0,00a	1,06 ± 0,00b	2,1 ± 0,01c	1,9 ± 0,01c	
Pass. (mg/kg Ms)	S1	28,49 ± 0,02c	31,65 ± 0,01d	19,18 ± 0,04a	24,91 ± 0,08b	
	S2	28,41 ± 0,00b	31,42 ± 0,00c	20,11 ± 0,04a	26,13 ± 0,00b	
	S3	8,74 ± 0,00b	10,20 ± 0,03d	7,33 ± 0,33a	9,67 ± 0,06c	
P.tot. (mg/kg Ms)	S1	124,66 ± 0,09a	153,19 ± 0,06b	156,45 ± 0,29c	156,16 ± 0,51c	
	S2	63,21 ± 0,07a	69,00 ± 1,00b	67,11 ± 0,00b	67,11 ± 0,00b	
	S3	27,6 ± 0,01a	36,07 ± 0,00d	31,01 ± 0,01b	33,8 ± 0,01c	

Paramètres	Sites	T0	T1	T2	T3
Ca <sup>2+</sup> (méq/100g Ms)	S1	12,24 ± 0,02d	10,56 ± 0,02c	6,71 ± 0,25a	8,32 ± 0,02b
	S2	6,74 ± 0,00a	9,01 ± 0,00d	8,34 ± 0,00b	8,71 ± 0,00c
	S3	2,70 ± 0,01c	2,13 ± 0,02b	1,60 ± 0,01a	2,03 ± 0,02b
N (%)	S1	0,07 ± 0,01a	0,14 ± 0,01b	0,17 ± 0,01bc	0,20 ± 0,03c
	S2	0,19 ± 0,00a	0,31 ± 0,00c	0,25 ± 0,00b	0,27 ± 0,00b
	S3	0,09 ± 0,00a	1,5 ± 0,01b	1,17 ± 0,00a	1,06 ± 0,01a
Na (méq/100g Ms)	S1	0,02 ± 0,01a	0,02 ± 0,00a	0,01 ± 0,00b	0,01 ± 0,00a
	S2	0,36 ± 0,00b	0,31 ± 0,00a	0,28 ± 0,00a	0,28 ± 0,00a
	S3	0,29 ± 0,00b	0,31 ± 0,00b	0,25 ± 0,00a	0,29 ± 0,00b
Mg <sup>2+</sup> (méq/100g Ms)	S1	2,42 ± 0,10a	2,56 ± 0,05a	1,03 ± 0,02b	3,12 ± 0,01c
	S2	2,19 ± 0,00b	2,39 ± 0,00c	1,86 ± 0,00a	2,54 ± 0,00c
	S3	2,81 ± 0,00b	3,52 ± 0,00c	2,13 ± 0,00a	3,17 ± 0,02b
k <sup>+</sup> (méq/100g Ms)	S1	1,11 ± 0,01b	1,90 ± 0,09c	0,70 ± 0,10a	0,93 ± 0,06b
	S2	2,32 ± 0,00b	2,69 ± 0,00b	1,86 ± 0,00a	2,41 ± 0,00b
	S3	1,15 ± 0,00a	1,83 ± 0,00b	1,03 ± 0,024a	1,10 ± 0,01a
SBE (méq/100g Ms)	S1	15,77 ± 0,19d	14,64 ± 0,12c	8,78 ± 0,21a	12,38 ± 0,05b
	S2	14,61 ± 0,00c	14,5 ± 0,00c	11,23 ± 0,00a	12,75 ± 0,00b
	S3	6,97 ± 0,00b	7,10 ± 0,01b	6,00 ± 0,04a	6,90 ± 0,00b
CEC (méq/100g Ms)	S1	24,33 ± 2,08c	18,40 ± 0,10a	20,00 ± 0,20ab	21,60 ± 0,10bc
	S2	22,50 ± 0,00b	23,10 ± 0,00b	21,04 ± 0,00a	22,25 ± 0,06b
	S3	13,9 ± 0,00a	15,8 ± 0,00c	13,43 ± 0,06a	14,3 ± 0,00b
V (%)	S1	66,17 ± 1,05c	79,57 ± 0,15d	42,03 ± 0,03a	57,18 ± 0,03b
	S2	64,92 ± 0,00c	78,1 ± 0,01d	45,00 ± 1,00a	56,02 ± 0,00b
	S3	50,23 ± 0,09a	69,23 ± 0,06c	6,9 ± 0,00c	61,33 ± 1,33b

Les traitements avec les mêmes lettres dans chaque site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey P<0.05.

OM = Matière organique ; CEC = Capacité d'Echange Cationique ; SBE = somme des bases échangeables ; V = taux de saturation ; p.ass = phosphore assimilable, L= taux de limon ; S = taux de sable ; A = taux d'argiles ; P.tot = Phosphore total.

L'analyse factorielle des données mixtes permettant de regrouper les paramètres physicochimiques ayant une affinité avec chacun des traitements en fonction des sites est illustrée par la figure 25. Les résultats de l'analyse des sols traités et des sols témoins dans les différents sites d'étude présentent un coefficient d'inertie global de 69,1% mettant en exergue le pourcentage de représentation des paramètres sur l'axe 1 et 2. Trois groupes sont représentés dans le cercle de corrélation et représentent les paramètres auxquels ils sont rattachés.

Les traitements du groupe 1 représentant le site 3, sont rattachés aux paramètres tels que le pH<sub>eau</sub>, le pH<sub>KCl</sub>, le CaCO<sub>3</sub>, N et dont les deux derniers ne sont pas significativement corrélés à ces traitements de part leurs cos<sup>2</sup>.

Les traitements du groupe 2 représenté par le site 2, influencent les paramètres tels que le carbone (C), le potassium (K), la matière organique (OM), et dont le taux de saturation en bases échangeables (V) et l'acidité échangeable ne sont pas significativement corrélés.

Les traitements du groupe 3, prennent en compte avec une corrélation positive et très significative les paramètres tels que la capacité d'échange cationique (CEC), le phosphore total (PT), la somme des bases échangeables (SBE), le calcium (Ca), le taux de phosphate assimilable (Pass). Le traitement T1 dans chaque site présente la meilleure affinité avec ces traitements.

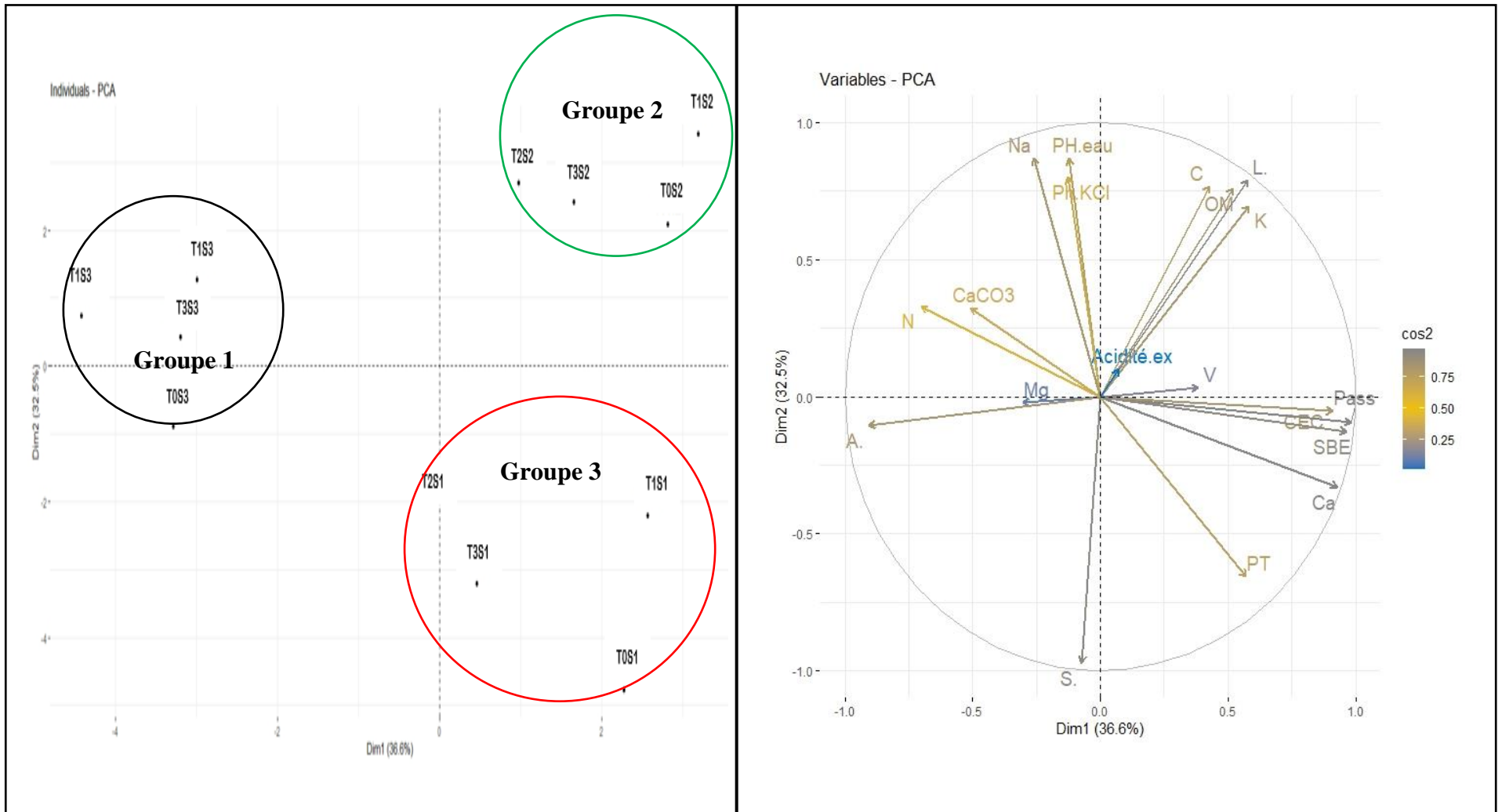


Fig. 25. Analyse en composantes principales des paramètres physicochimiques des sols dans les trois sites en fonction des traitements.

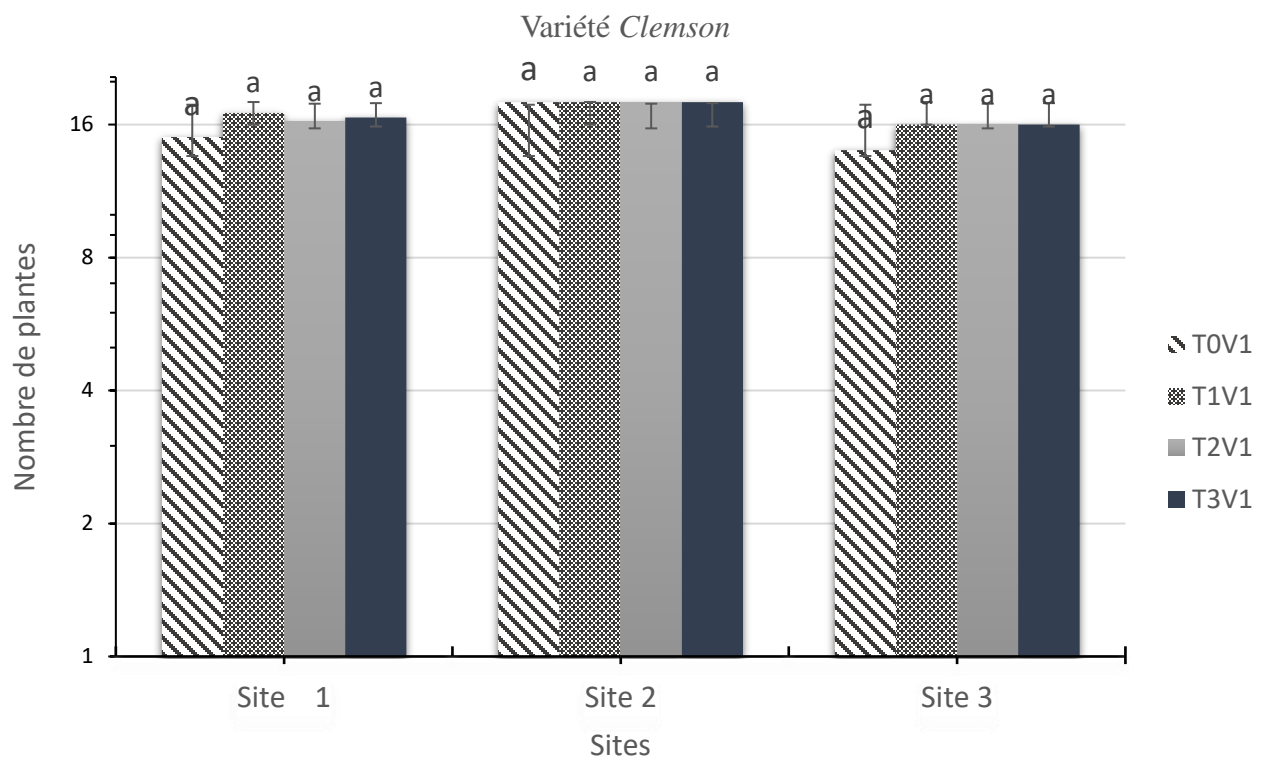
A=argile ; S=sable ; L=limon ; OM=matière organique ; C=carbone ; Pass=phosphate assimilable ; PT=Phosphore totale ; SBE=somme des bases échangeables ; CEC=capacité d'échange cationique ; V=taux de saturation en base échangeable. T0 = témoin ; T1 = traitement (*Trichoderma harzianum* + *Bacillus amyloliquefaciens*) ; T2 = *Bacillus amylo.* + *Bacillus velezensis* ; T3 = *Trichoderma harzianum* + *Bacillus velezensis*. S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV.



### III.1.1.2. Effet des bioformulations sur les paramètres agromorphologiques de *Abelmoschus esculentus* L.

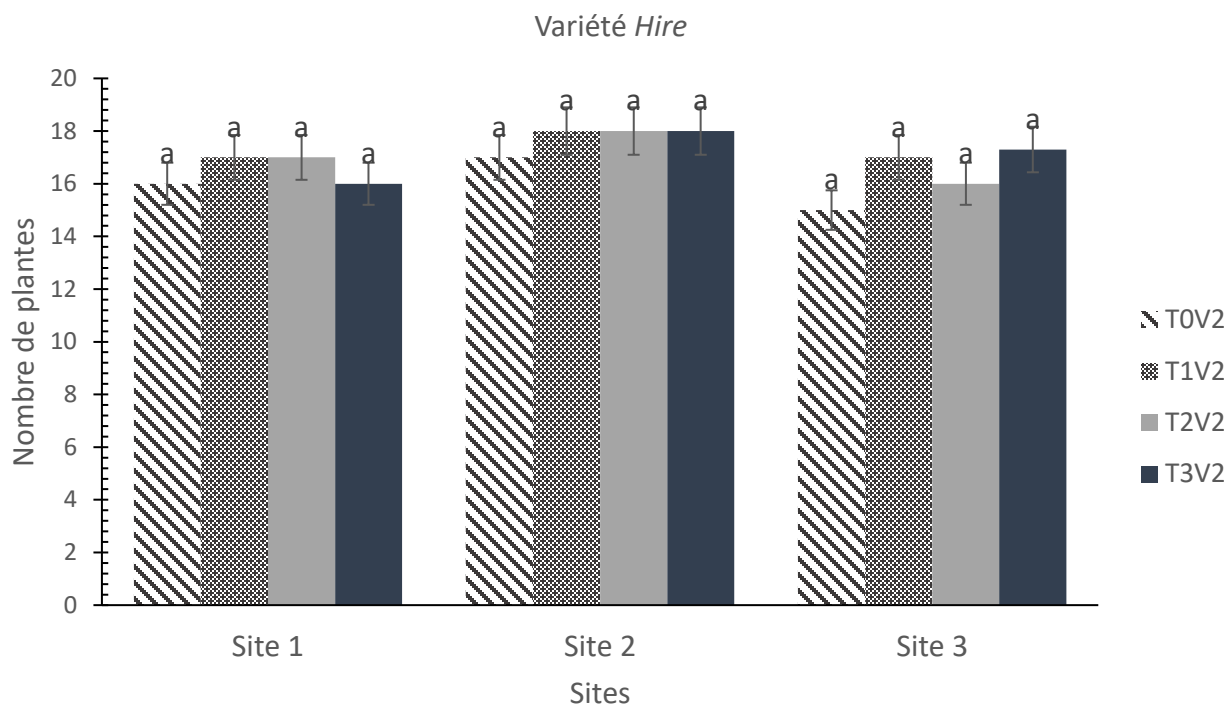
#### III.1.1.2.1. Emergence des plantes

La variance de l'émergence des plantes dans chaque site en fonction des deux variétés de gombo est analysée d'après le test de Tukey. Il en ressort pour la variété *C. spineless* qu'aucune différence n'a été significative entre les plantes traitées par rapport aux plantes témoins ( $p > 0,05$ ) dans le site 2 mais présente dans les sites 1 et 3 (Fig. 26). Pour la variété *Hire*, aucune différence statistique ne s'est également révélée entre les traitements et le témoin dans les trois sites. (Fig. 27).



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 26. Variation de l'émergence des plantes de la variété de gombo *Clemson* entre les traitements de chaque site à 14 JAS.



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 27. Variation de l'émergence des plantes de la variété de gombo *Hire* entre les traitements de chaque site à 14 JAS.

### III.1.1.2.2. Hauteur des plantes

D'une manière générale, la hauteur des plantes du gombo varie en fonction des traitements au cours du temps (Fig. 28).

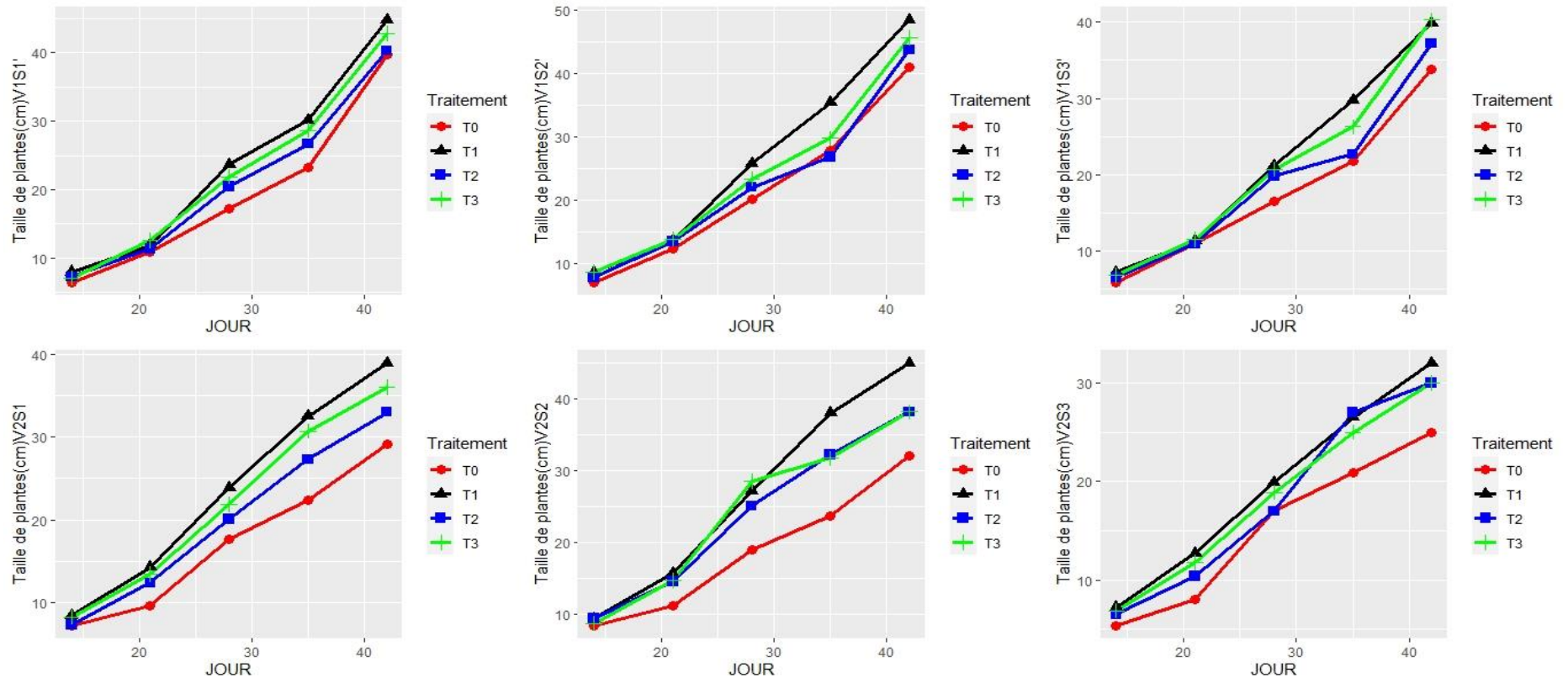


Fig. 28. Variation de la hauteur des variétés de gombo *Hire* et *Clemson* entre les traitements du 14<sup>ème</sup> au 35<sup>ème</sup> JAS dans les zones agroécologiques III, IV et V.

T0 = Témoin ; T1 = *Trichoderma harzianum* & *Bacillus amyloliquefaciens* ; T2 = *Bacillus amyloliquefaciens* & *Bacillus velezensis* ; T3 = *Trichoderma harzianum* & *Bacillus velezensis* ; V1 = variété *Clemson spineless* ; V2 = variété *Hire* ou *Kirikou* ; S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV

Les données sur la hauteur des plantes ont été analysées par le test de Tukey à  $p \leq 0,5$ . Ce dernier montre qu'il existe une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les traitements et les plantes témoins dans les sites 1, 2 et 3 chez la variété de gombo *Clemson*. Elle s'est révélée absente entre le T1 et les autres traitements bien qu'il ait eu une hauteur supérieure aux autres plantes. Par contre pour la variété *Hire*, la différence ne s'est révélée significative qu'entre les plantes du traitement T1 et les plantes témoins dans les sites 1, 2 et 3 (Tableau VI).

Tableau VI. Variation de la hauteur des plantes en fonction des traitements 35 jours après semis.

	Sites	Hauteur Variété 1 (cm)	Hauteur Variété 2 (cm)
<b>Site 1</b>	T0	19,50 ± 0,94 <sup>a</sup>	<b>17,24 ± 0,98<sup>a</sup></b>
	T1	<b>23,72 ± 0,77<sup>b</sup></b>	<b>23,62 ± 1,52<sup>b</sup></b>
	T2	21,24 ± 0,08 <sup>ab</sup>	<b>20,04 ± 1,47<sup>a</sup></b>
	T3	22,62 ± 0,01 <sup>ab</sup>	<b>22,08 ± 1,52<sup>b</sup></b>
<b>Site 2</b>	T0	21,70 ± 0,33 <sup>a</sup>	<b>18,84 ± 0,54<sup>a</sup></b>
	T1	<b>26,42 ± 0,15<sup>c</sup></b>	<b>27,04 ± 1,88<sup>c</sup></b>
	T2	22,82 ± 0,87 <sup>ab</sup>	<b>23,88 ± 1,97<sup>b</sup></b>
	T3	24,30 ± 0,49 <sup>b</sup>	<b>24,36 ± 1,25<sup>b</sup></b>
<b>Site 3</b>	T0	17,76 ± 0,74 <sup>a</sup>	<b>15,26 ± 0,36<sup>a</sup></b>
	T1	<b>21,88 ± 0,37<sup>b</sup></b>	<b>19,66 ± 0,03<sup>b</sup></b>
	T2	19,42 ± 0,90 <sup>a</sup>	<b>18,18 ± 0,19<sup>ab</sup></b>
	T3	21,12 ± 0,15 <sup>a</sup>	<b>18,52 ± 0,40<sup>ab</sup></b>
	<b>F-value</b>	<b>0,496</b>	<b>0,151</b>
	<b>P-value</b>	<b>0,0697</b>	<b>0,0799</b>

Les traitements avec les mêmes lettres dans chaque site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0,05$ .

### III.1.1.2.3. Nombre de feuilles

L'effet des différentes bioformulations sur la variation du nombre de feuilles des plantes de gombo en fonction du temps est présenté par la figure 29.

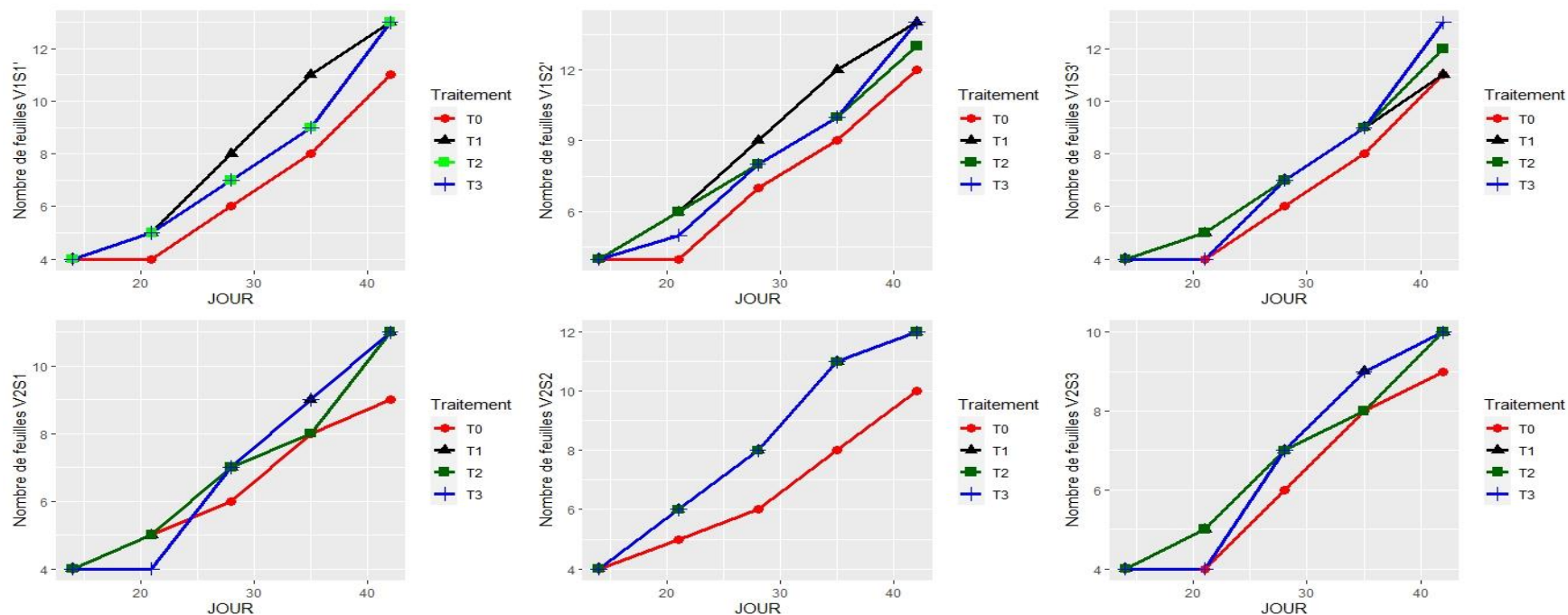


Fig. 29. Variation du nombre de feuilles des variétés de gombo *Hire* et *Clemson* entre les traitements du 14<sup>ème</sup> au 35<sup>ème</sup> JAS dans les zones agroécologiques III, IV et V.

T0 = Témoin ; T1 = *Trichoderma harzianum* & *Bacillus amyloliquefaciens* ; T2 = *Bacillus amyloliquefaciens* & *Bacillus velezensis* ; T3 = *Trichoderma harzianum* & *Bacillus velezensis* ; V1 = variété *Clemson spineless* ; V2 = variété *Hire* ou *Kirikou* ; S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV.

L'analyse de variance a révélé une absence d'augmentation significative ( $P > 0,05$ ) du nombre moyen de feuilles entre les différents traitements à 35 jours après les semis chez les deux variétés dans les trois sites (Tableau VII).

Tableau VII. Effet des traitements sur le nombre des plantes.

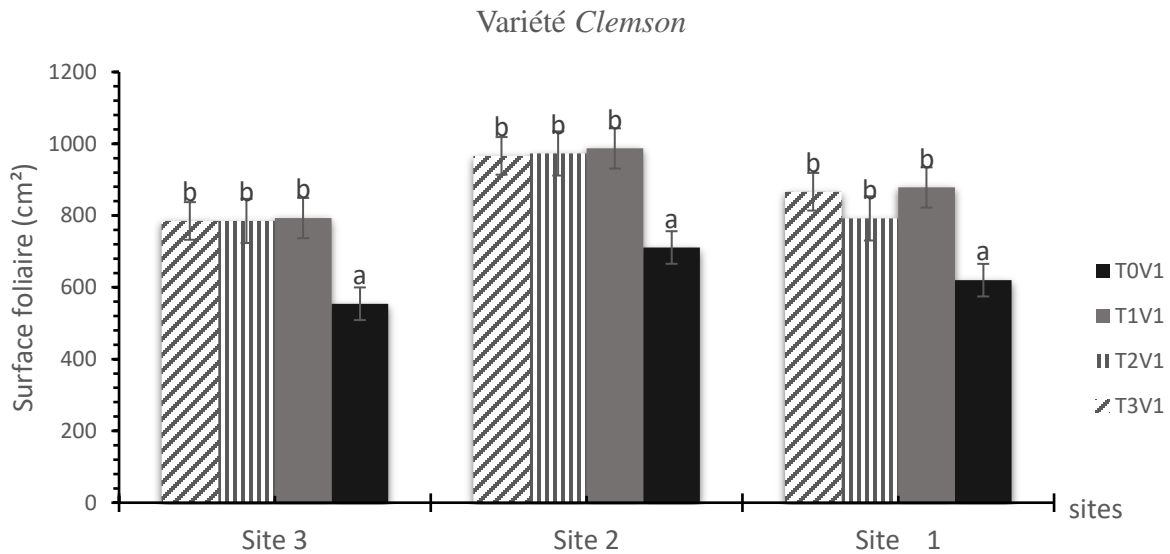
Sites	Traitements	Nombre de feuilles Variété 1 (cm)	Nombre de feuilles Variété 2 (cm)
<b>Site 1</b>	T0	6,6 ± 0,96 <sup>a</sup>	6,4 ± 0,07 <sup>a</sup>
	T1	8,2 ± 0,83 <sup>a</sup>	7,2 ± 0,86 <sup>a</sup>
	T2	7,6 ± 0,57 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,73 <sup>a</sup>
	T3	7,6 ± 0,57 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,08 <sup>a</sup>
<b>Site 2</b>	T0	7,2 ± 0,42 <sup>a</sup>	6,6 ± 0,40 <sup>a</sup>
	T1	9,0 ± 0,12 <sup>a</sup>	8,2 ± 0,34 <sup>a</sup>
	T2	8,2 ± 0,49 <sup>a</sup>	8,2 ± 0,34 <sup>a</sup>
	T3	8,2 ± 0,02 <sup>a</sup>	8,2 ± 0,34 <sup>a</sup>
<b>Site 3</b>	T0	6,6 ± 0,96 <sup>a</sup>	6,2 ± 0,28 <sup>a</sup>
	T1	7,2 ± 0,86 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,54 <sup>a</sup>
	T2	7,4 ± 0,20 <sup>a</sup>	6,8 ± 0,38 <sup>a</sup>
	T3	7,4 ± 0,78 <sup>a</sup>	6,8 ± 0,77 <sup>a</sup>
	<b>F-value</b>	<b>0,496</b>	<b>0,151</b>
	<b>P-value</b>	<b>0,897</b>	<b>0,999</b>

Les traitements avec les mêmes lettres dans chaque site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0,05$ .

### III.1.1.2.5. Surface foliaire

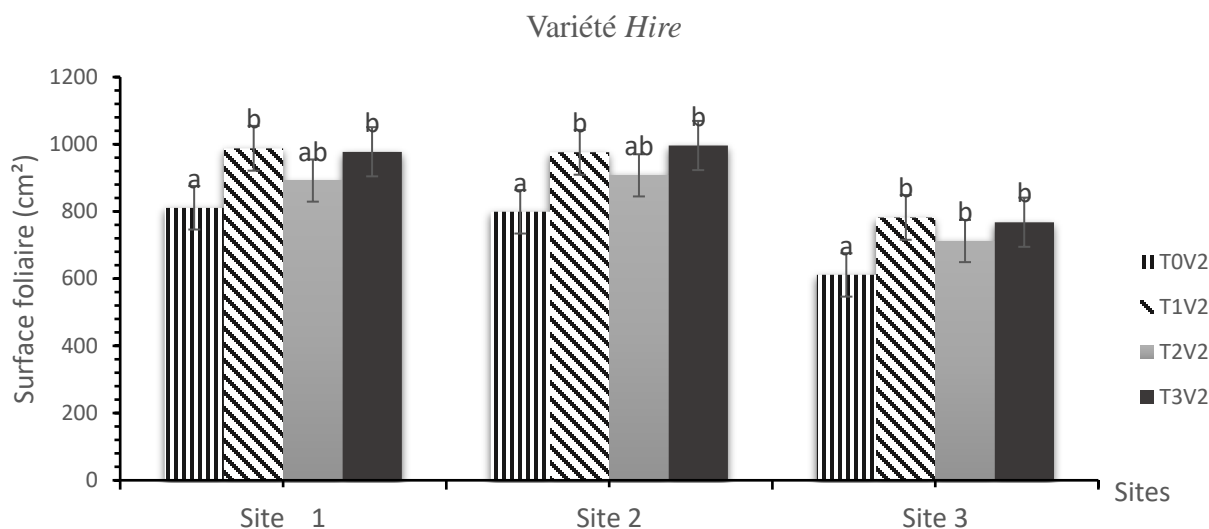
Le test de Turkey a été effectué sur les données de la surface foliaire des deux variétés de gombo à 35 jours après semis en fonction des traitements appliqués dans les trois sites. Il a été révélé pour la variété *Clemson* (Fig. 30) que les traitements T1, T2 et T3 ont influencé la surface foliaire de façon hautement significative ( $P < 0,001$ ) par rapport au témoin dans les sites 1, 2 et 3.

Concernant la variété *Hire* (Fig. 31), la surface foliaire observée à 35 JAS a aussi révélé une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre le traitement T1 et le témoin dans les sites 1 et 3 sauf avec le traitement T2 dans le site 2. La différence n'a pas été statistiquement significative entre les traitements en fonction des sites et des traitements.



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 30. Variation de la surface foliaire des plantes de la variété de gombo *Clemson spineless* entre les traitements de chaque site à 35 JAS.



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 31. Variation de la surface foliaire des plantes de la variété de gombo *Hire* entre les traitements de chaque site à 35 JAS.

### III.1.1.2.6. Résistance des plantes de gombo contre les phytopathogènes

La figure 32 révèle l'état sanitaire des plantes au travers de leurs feuilles au 35<sup>ème</sup> jour après les semis. Elle met en évidence le degré d'attaque causé par les ravageurs et les phytopathogènes sur les feuilles des plantes. Certaines plantes (Fig. 32 A) sont saines au travers de leurs feuilles et sont caractérisées par une bonne floraison alors que d'autres plantes (Fig. 32 B & 32 C) ont été attaquées et présentent beaucoup plus les symptômes des maladies. Les attaques identifiées au cours de la croissance du gombo dans les différents sites chez toutes les variétés sont la cercosporiose par *Cercospora oryzae* et l'altise par *Podagrica decolorata*.



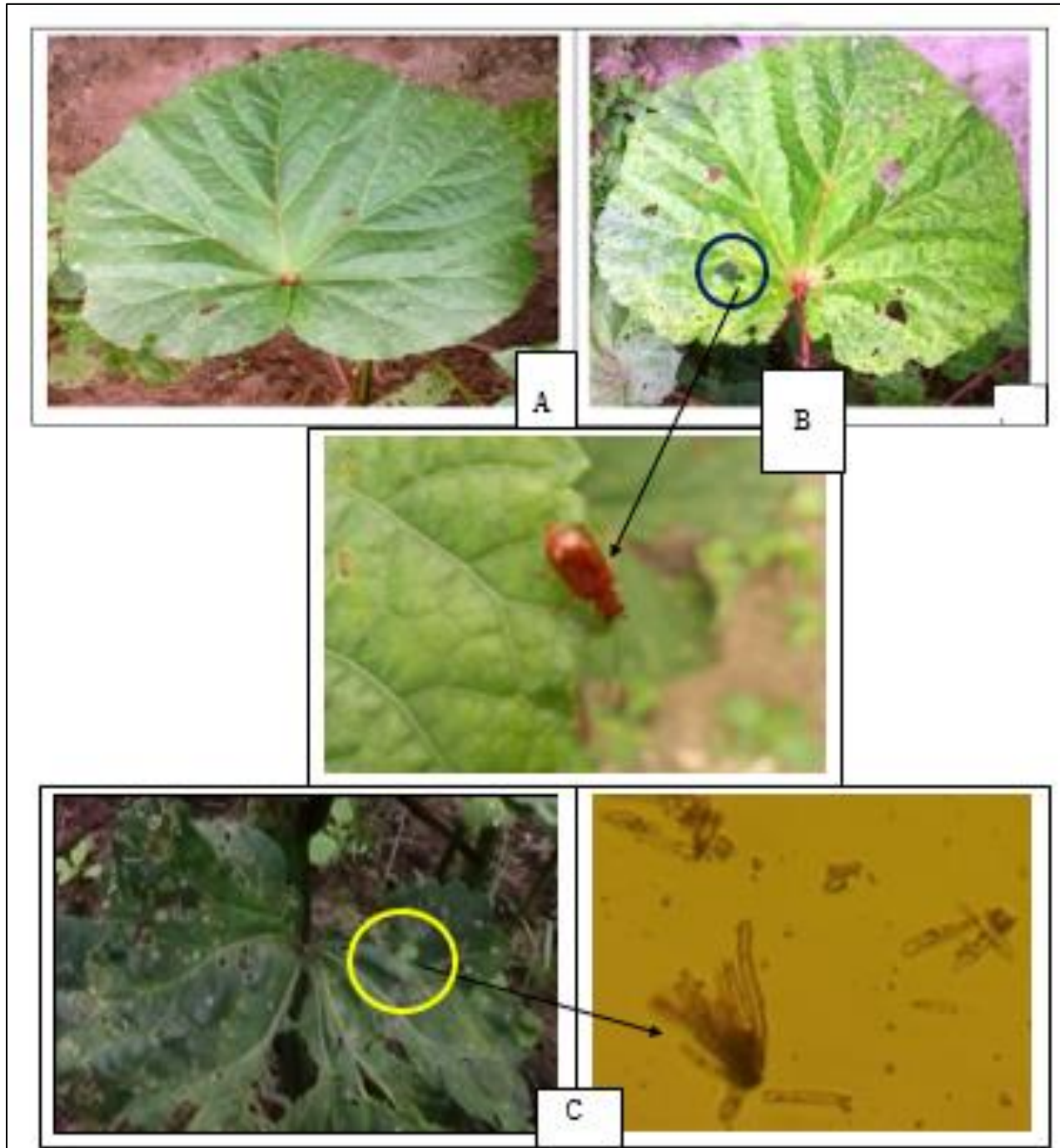
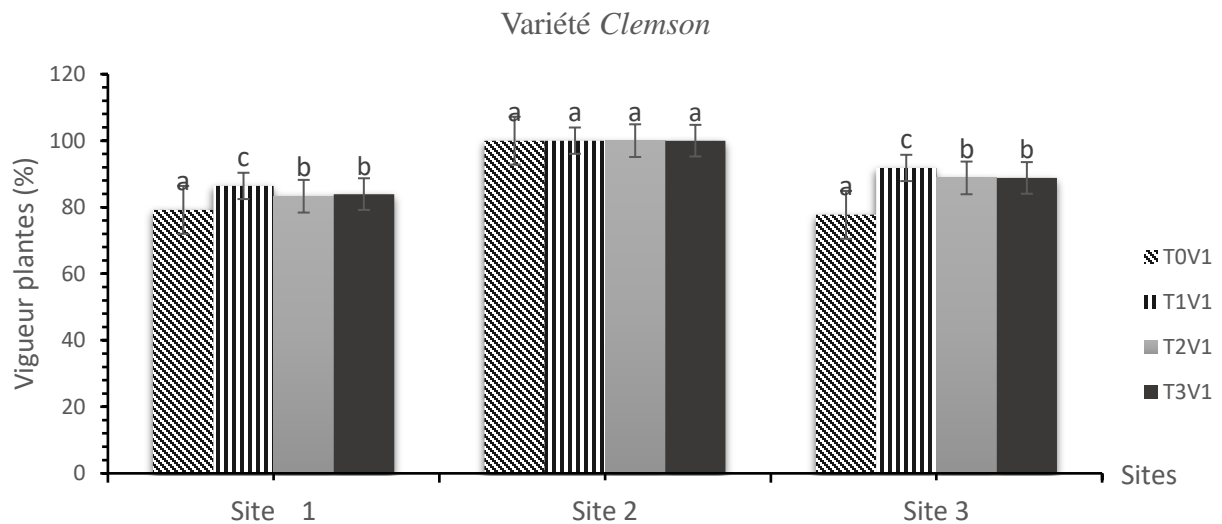


Fig. 32. Effet des phytopathogènes et les ravageurs sur l'état sanitaire des plantes de gombo. (A) : Feuilles issues des plantes saines ; (B) : Feuilles issues des plantes infestées par l'altise *Podagrica decolorata* ; (C) : Symptômes de cercosporiose par *Cercospora oryzae* et ses spores observées au microscope (grossissement x40).

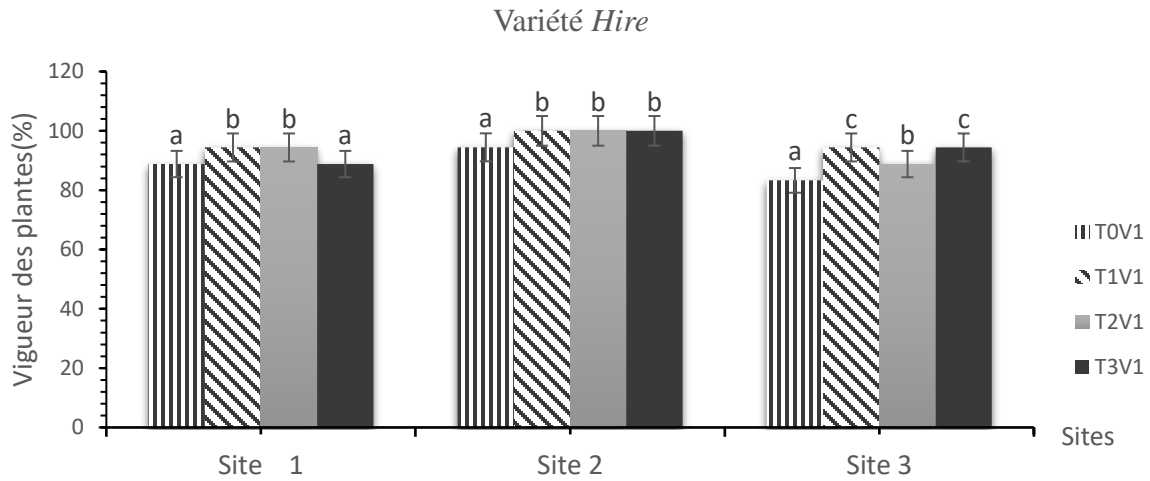
Le degré de sévérité d'attaque des plantes dans les sites de culture en fonction des traitements et les variétés de gombo est établi sur les figures 33 & 34 et est caractérisé par la

vigueur de ces plantes à résister contre les attaques des phytopathogènes et des ravageurs. Il était question d'observer la gravité des attaques basée sur la taille des lésions symptomatiques en décomptant le nombre de plantes attaquées, et en identifiant les agents responsables de ces attaques soit les agents pathogènes soit les ravageurs. L'analyse de la variance sur la variété V1 de gombo (*Clemson*) a montré un effet significatif ( $p < 0,05$ ) des traitements par rapport au témoin dans les sites 1 et 3 entre le témoin T0 et les traitements. En ce qui concerne la variété V2 (*Hire*), la différence a été statistiquement significative entre le témoin T0 et les traitements dans les trois sites sauf avec le traitement T2 dans le site 1 (Tableau VIII).



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 33. Variation de la vigueur des plantes de la variété de gombo *Clemson spineless* entre les traitements de chaque site à 35 JAS.



Les traitements ayant les lettres identiques dans chaque site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 34. Variation de la vigueur des plantes de la variété de gombo *Hire* entre les traitements de chaque site à 35 JAS.

Tableau VIII. Effet des traitements sur la vigueur des plantes de gombo à 35 jours après semis.

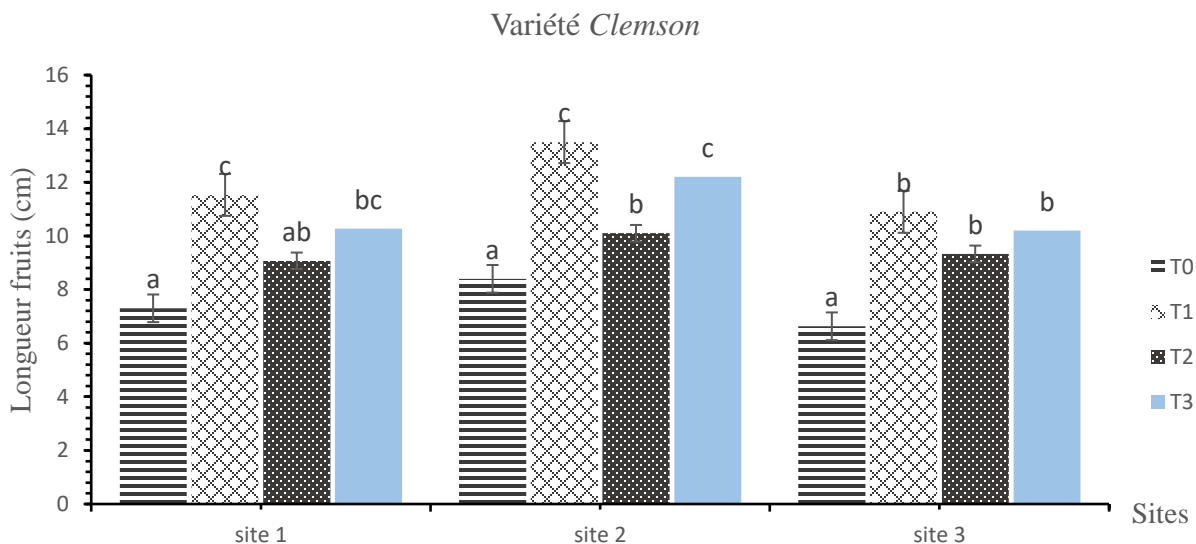
	Sites	Vigueur Variété 1 (cm)	Vigueur Variété 2 (cm)
Site 1	T0	79.24 ± 2.47 <sup>a</sup>	88,88 ± 0,91 <sup>a</sup>
	T1	86,48 ± 3,59 <sup>c</sup>	94,44 ± 1,22 <sup>c</sup>
	T2	83,33 ± 6,57 <sup>b</sup>	94,44 ± 1,22 <sup>c</sup>
	T3	83,94 ± 3,75 <sup>b</sup>	88,88 ± 0,91 <sup>a</sup>
Site 2	T0	100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	94,44 ± 1,45 <sup>a</sup>
	T1	100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	100,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
	T2	100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	100,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
	T3	100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	100,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
Site 3	T0	77,76 ± 0,85 <sup>a</sup>	83,33 ± 2,90 <sup>a</sup>
	T1	91,82 ± 6,97 <sup>c</sup>	94,44 ± 1,20 <sup>c</sup>
	T2	88,88 ± 1,11 <sup>b</sup>	88,88 ± 0,45 <sup>b</sup>
	T3	88,88 ± 2,10 <sup>b</sup>	94,44 ± 1,20 <sup>c</sup>
	<b>F-value</b>	19.05	53,5
	<b>P-value</b>	0,06*	0,051*

\*Les moyennes avec les mêmes lettres sur le même site ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

### III.1.1.2.7. Longueur moyenne des fruits

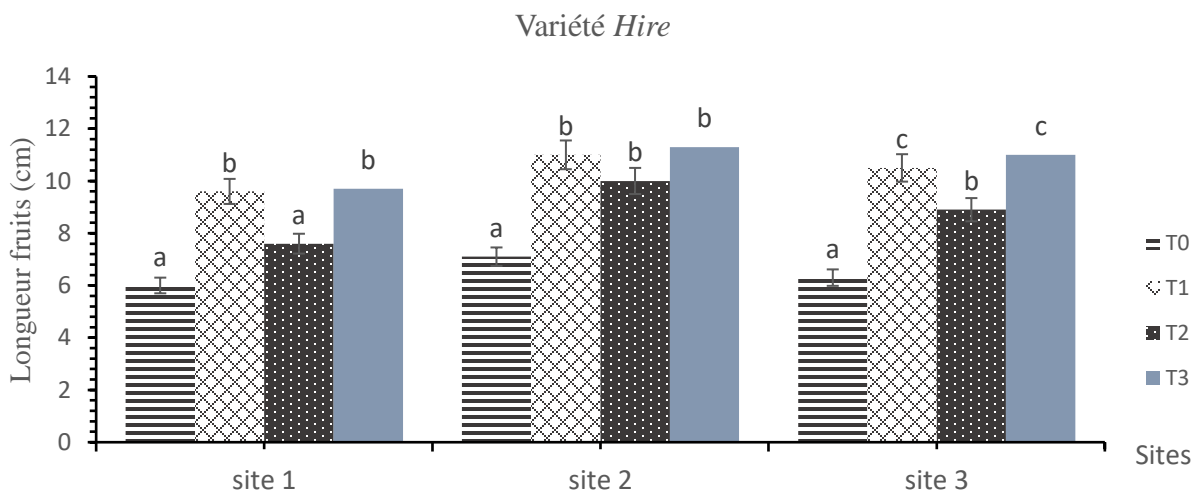
Les figures 36 & 37 présentent la variation de la longueur moyenne des fruits chez les deux variétés de gombo en fonction des traitements dans chaque site à la récolte. L'analyse de la variance pour la variété *Clemson* a relevé une différence significative ( $P < 0,05$ ) sur la longueur des fruits entre les traitements T1, T2 et T3 comparativement à celle des fruits des plantes témoins au niveau du site 1. Le traitement T1 a présenté une valeur statistiquement identique à celle du traitement T3 mais pas avec T2. Les plantes du traitement T1 ont présenté une valeur moyenne nettement élevée (11,53cm) par rapport aux autres traitements. Dans le site 2, la différence a été hautement significative entre les traitements T1, T3 et le témoin (7,3 cm) mais significative entre les traitements T2 (10,10 cm) et T1 (13,50 cm) et absente entre T1 et T3 (12,20cm). Toutefois, le traitement T1 s'est démarqué en obtenant les fruits dont la longueur moyenne était supérieure à celle obtenue dans les autres traitements. Au site 3, la différence s'est aussi révélée significative entre les traitements et le témoin.

Chez la variété V2, la différence a été hautement significative ( $P < 0.001$ ) entre les traitements T1, T3 et le témoin en ce qui concerne la longueur des fruits dans le site 1 et le traitement T1 (9,60 cm) supérieur aux autres traitements. Dans le site 2, cette différence s'est révélée significative ( $P < 0,05$ ) entre les traitements et les témoins mais absentes entre les traitements. Dans le site 3, la différence a été également significative entre les traitements et le témoin. Les traitements T1 et T3 sont statistiquement différents de T2.



\*Les traitements avec les mêmes lettres sur le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 35. Variation de la longueur moyenne des fruits de la variété de gombo *Clemson spineless* entre les traitements de chaque site à la récolte.



\*Les traitements avec les mêmes lettres sur le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 36. Variation de la longueur moyenne des fruits de la variété de gombo *Hire* entre les traitements de chaque site à la récolte.

### III.1.1.2.8. Evaluation de la productivité de *Abelmoschus esculentus* L.

L'évaluation des paramètres de productivité des variétés de gombo en fonction des traitements dans chaque site est consignée dans le Tableau IX.

En ce qui concerne la variété *Clemson*, le test de Tukey montre qu'il y a une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre le traitement T1 et le traitement T2 ainsi qu'avec le témoin mais significative avec T3 à ( $P < 0,05$ ) pour le poids frais des fruits et son rendement dans le site 1. Le traitement T1 a obtenu le poids frais des fruits (1868 g) et le rendement (16,60 t/ha) les plus élevés. Dans le site 2, aucune différence n'a été révélée entre les traitements mais hautement significative entre les traitements et le témoin. Toutefois, T1 s'est démarqué par le poids frais des fruits (2066,40g) et le rendement (17,96 t/ha) les plus élevés. Dans le site 3, la différence a été hautement significative entre le traitement T1 (1785g et 15,84 t/ha) et les autres traitements et aussi avec le témoin.

Pour la variété *Hire*, le test de Tukey a révélé dans le site 1 une différence hautement significative entre le témoin et les traitements et aussi entre le traitement T1 (17,56 t/ha) et les traitements T2 (12,4 t/ha) et T3 (13,6 t/ha). Dans le site 2, la différence a été hautement significative entre les traitements et le témoin. Aucune différence ne s'est observée entre traitements bien que T1 ait rapporté un meilleur rendement (18,44 t/ha). Dans le site 3, il a été observé une différence hautement significative entre les traitements et le témoin et une différence très significative entre T1 et T2 (11,08 t/ha) mais pas avec T3 (14,12 t/ha). Le traitement T1 dans ce site a également présenté un meilleur rendement (15,92 t/ha).

Tableau IX. Effet des traitements sur la productivité des deux variétés de *Abelmoschus esculentus* L. à la récolte en fonction des zones agroécologiques.

Sites	Traitements	Poids fruits Variété V1 (g)	Productivité(t/ha)	Poids fruits Variété V2 (g)	Productivité(t/ha)
Site 1	T0	960,20 ± 2,30 <sup>ab</sup>	8,53 ± 1,49 <sup>ab</sup>	900,70 ± 11,75 <sup>ab</sup>	8 ± 0,1 <sup>ab</sup>
	T1	1868 ± 279,45 <sup>f</sup>	<b>16,60±2,48<sup>f</sup></b>	1978 ± 26,25 <sup>e</sup>	<b>17,56 ± 0,23<sup>e</sup></b>
	T2	1338,66 ± 145,40 <sup>cd</sup>	11,89 ± 1,29 <sup>cd</sup>	1398,70 ± 43,14 <sup>c</sup>	12,4 ± 3,8 <sup>c</sup>
	T3	1490,33 ± 242,09 <sup>de</sup>	13,24 ± 2,14 <sup>de</sup>	1530,50 ± 52,91 <sup>cd</sup>	13,6 ± 0,46 <sup>cd</sup>

<b>Site 2</b>	<b>T0</b>	<b>1022,30 ± 42,56<sup>ac</sup></b>	<b>9,08 ± 0,37<sup>ac</sup></b>	<b>1460,60 ± 93,27<sup>cd</sup></b>	<b>12,96 ± 0,8<sup>cd</sup></b>
	T1	2066,40 ± 64,92 <sup>f</sup>	<b>17,96 ± 0,72<sup>f</sup></b>	2078 ± 31,43 <sup>e</sup>	<b>18,44 ± 0,27<sup>e</sup></b>
	T2	1838,60 ± 59,60 <sup>ef</sup>	16,34 ± 0,52 <sup>ef</sup>	1975,70 ± 80,42 <sup>e</sup>	17,56 ± 0,68 <sup>e</sup>
	T3	1932,50 ± 64,90 <sup>f</sup>	17,17 ± 0,57 <sup>f</sup>	1990,30 ± 72,30 <sup>e</sup>	17,68 ± 0,64 <sup>e</sup>
<b>Site 3</b>	T0	760,60 ± 49,48 <sup>a</sup>	8,45 ± 0,54 <sup>a</sup>	750,70 ± 85,45 <sup>a</sup>	6,67 ± 0,75 <sup>a</sup>
	T1	1785 ± 17,69 <sup>ef</sup>	<b>15,84 ± 0,70<sup>ef</sup></b>	1791,96 ± 59,61 <sup>de</sup>	<b>15,92 ± 1,04<sup>de</sup></b>
	T2	1234 ± 57,2 <sup>bcd</sup>	10,96 ± 0,50 <sup>bcd</sup>	1248,60 ± 384,64 <sup>bc</sup>	11,08 ± 0,38 <sup>bc</sup>
	T3	1337 ± 50,26 <sup>cd</sup>	11,88 ± 0,44 <sup>cd</sup>	1589,30 ± 78,03 <sup>cd</sup>	14,12 ± 0,68 <sup>cd</sup>
	<b>F-value</b>	<b>36,64</b>	<b>0,32</b>	<b>35,48</b>	<b>0,31</b>
	<b>P-value</b>	<b>0,001***</b>	<b>0,001***</b>	<b>0,001***</b>	<b>0,001***</b>

\*Les moyennes avec les mêmes lettres sur la même colonne ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey P<0.05.

T0 = Témoin ; T1 = *Trichoderma harzianum* & *Bacillus amyloliquefaciens* ; T2 = *Bacillus amyloliquefaciens* & *Bacillus velezensis* ; T3 = *Trichoderma harzianum* & *Bacillus velezensis*.

S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV ; V1 = *Clemson spineless* ; V2 = *Hire*

### III.1.1.2.9. Corrélation entre les paramètres agromorphologiques

Le dendrogramme ci-dessous illustre l'arrangement des paramètres agromorphologiques des deux variétés de gombo en fonction des différents traitements utilisés et en fonction des sites cultivés. Trois groupes de paramètres par rapport à ces traitements et aux sites apparaissent.

Le groupe 1 est constitué de 6 individus et les paramètres analysés ont plus d'affinité avec le traitement T1 pour les deux variétés de gombo dans le site 2. Ces paramètres sont majoritairement rattachés à la variété V2 pour tous les traitements.

Par contre, le groupe 2 est constitué de trois individus liés au traitement T0 dans le site 3 pour les deux variétés de gombo.

Pour ce qui est du groupe 3 représentant 15 individus issus de deux classes, le traitement T0 n'a d'affinité qu'avec les sites 1 et 2 pour les deux variétés de gombo. Les paramètres sont rattachés aux deux variétés de gombo dans le site 3 pour les traitements T1 et T2. Le traitement T3 par contre présente une affinité avec les sites 1 et 3 pour les deux variétés. L'inertie entre ces trois groupes est sensiblement  $\leq 0,75$  pour une inertie globale de 1,5 montrant qu'ils partagent 50 % de paramètres auxquels ils sont rattachés. (Fig. 37).

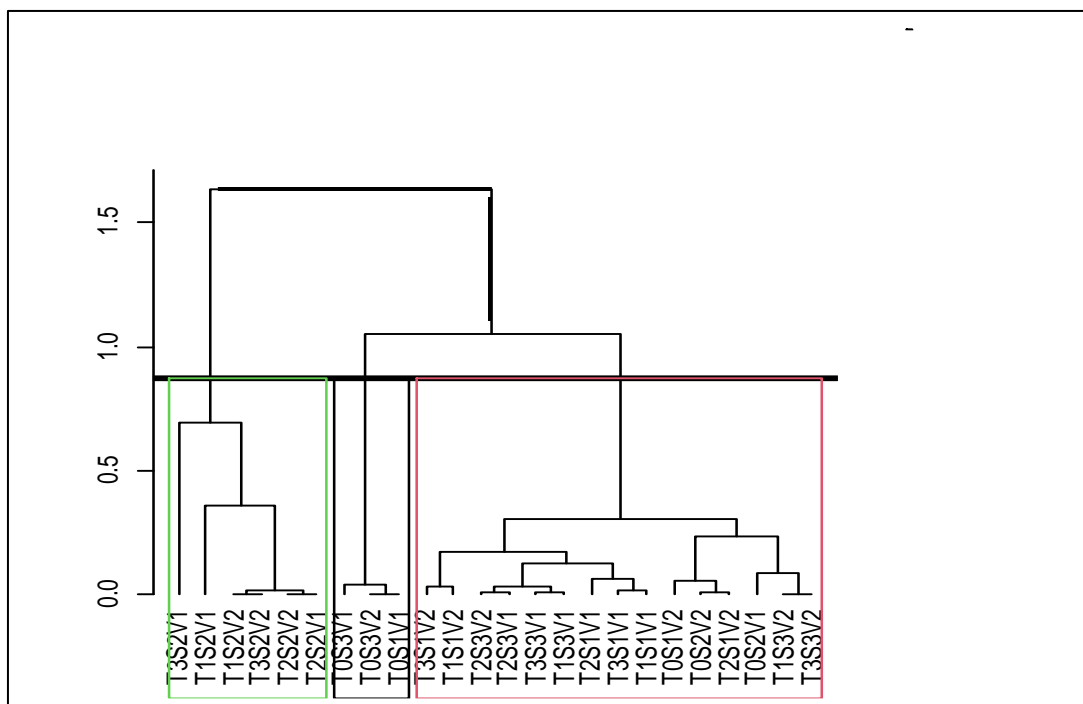


Fig. 37. Dendrogramme de regroupement entre les paramètres agromorphologiques des variétés de gombo en fonction des sites et des traitements.

S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV ; V1 = *Clemson spineless* ; V2 = *Hire* ; T0 = témoin ; T1 = traitement *T. harzianum* & *B. amyloliquefaciens* ; T2 = traitement *B. amyloliquefaciens* & *B. velezensis* ; T3 = traitement *T. harzianum* & *B. velezensis*

L'analyse factorielle de données mixtes (Fig. 38) a permis d'établir la corrélation entre les différents paramètres agromorphologiques en fonction des traitements et des sites. Elle a présenté un pourcentage d'inertie global de 92,9% déterminant une très bonne représentation des paramètres sur l'axe 1 et 2. Les paramètres tels que le poids moyen des fruits par traitement (Pfpt) et la longueur des fruits (LF) sont rattachés à la variété V2 (*Hire* ou F1 *Kirikou*) influencée par le traitement T1 dans le site 1 ; T1 et T3 dans le site 3. Ces mêmes paramètres sont également rattachés à la variété V1 (*Clemson spineless*) pour les traitements T1, T3 dans les sites 1 et 2. La surface foliaire (SF) et la vigueur des plantes (VP) se rapportent par ailleurs à la variété V2 (*Hire* ou *Kirikou*) pour les traitements T1 et T2 dans le site 2 et aussi à la variété V1 (*Clemson spineless*) pour le traitement T2 dans le site 2 pour un  $\text{Cos}^2 \geq 0,9$ . Le reste des paramètres ne se rapporte relativement à aucun traitement dans les différents sites.

Les angles entre ces différents paramètres sont très obtus, impliquant ainsi une forte corrélation et significative entre eux. De plus les cosinus carrés de tous ces paramètres sont très proches de 1 et ainsi positivement corrélés aux traitements auxquels ils se rattachent en fonction des différents sites.



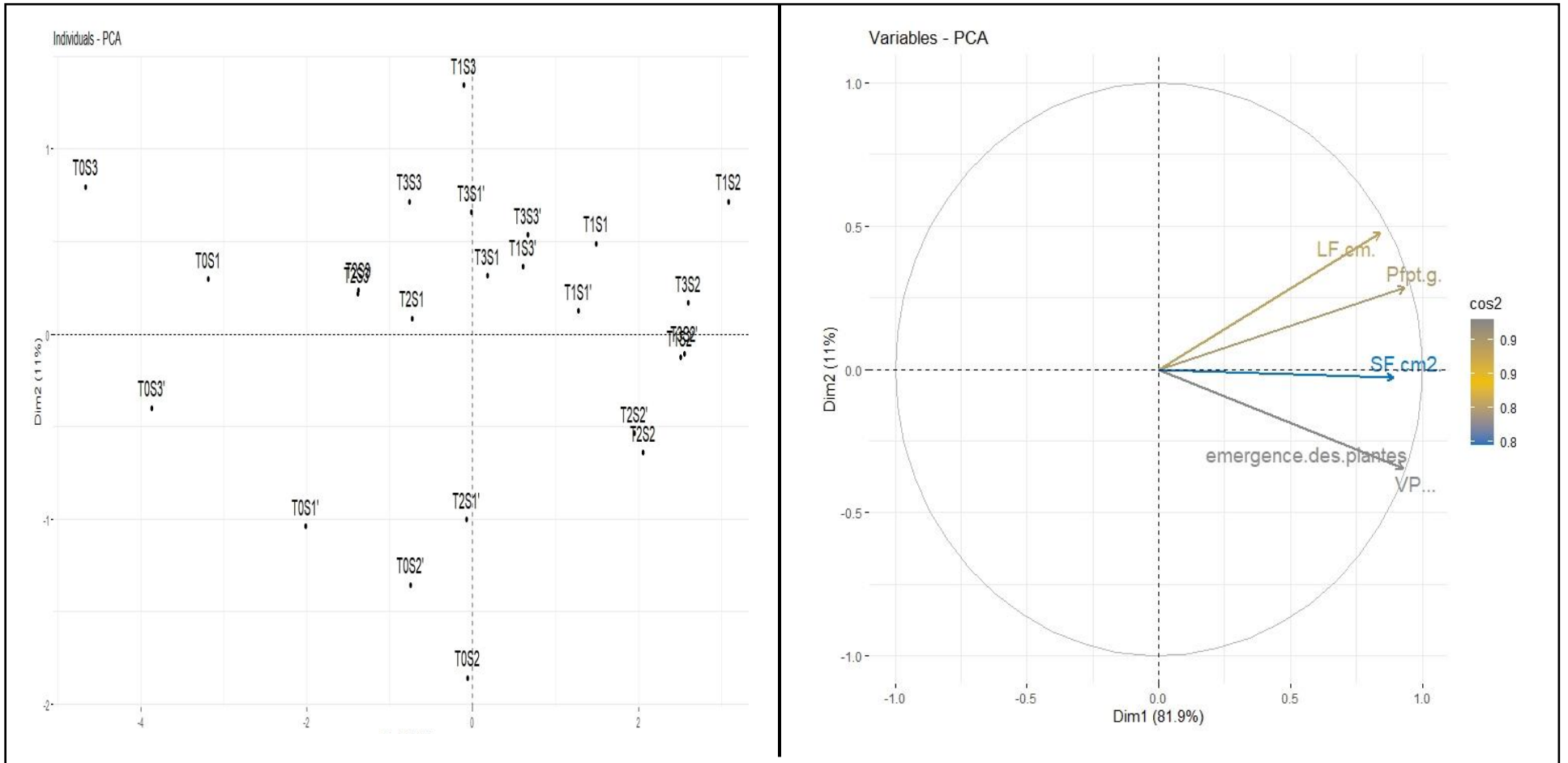


Fig. 38. Analyse factorielle des données mixtes entre les paramètres agromorphologiques des variétés de gombo en fonction des sites et des traitements.

S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV ; V1 = *Clemson spineless* ; V2 = *Hire* ; T0 = témoin ; T1 = traitement *T. harzianum* & *B. amyloliquefaciens* ; T2 = traitement *B. amyloliquefaciens* & *B. velezensis* ; T3 = traitement *T. harzianum* & *B. velezensis*

### III.1.1.2.10. Corrélation entre les paramètres agromorphologiques et physicochimiques

L'analyse en composantes principales (Fig. 39) a permis d'établir la corrélation entre les différents paramètres agromorphologiques et physicochimiques en fonction des traitements au niveau des différents sites. Elle a présenté un pourcentage d'inertie global de 65,8 % déterminant une bonne représentation des paramètres sur l'axe 1 et 2.

Il ressort de cette représentation, trois groupes de paramètres dont le groupe 1 est représenté par le site 3 et constitué des paramètres tels que l'azote, le sodium et le magnésium qui sont influencés par tous les traitements chez les deux variétés de gombo mais éloignés du témoin et très proches de T1.

Le groupe 2 est représenté par le site 2 et est constitué des paramètres à l'instar du poids moyen des fruits par traitement (Pfpt) et la longueur des fruits (LF), la vigueur des plantes (VP), la surface foliaire (SF), l'émergence des plantes, du taux de carbone, de potassium et de matière organique (OM) dont le tout est rattaché aux traitements par rapport au témoin. Ils sont positivement corrélés de façon significative de part les angles obtus qui les séparent par rapport à l'axe du cercle de corrélation et de leurs flèches qui tendent à toucher le cercle. Ils sont ainsi plus rattachés au traitement T1 de par sa position et ensuite au traitement T3 puis au traitement T2 chez les deux variétés de gombo.

Le groupe 3 quant à lui est représenté par le site 1 et regroupe les paramètres tels que la capacité d'échange cationique (CEC), la somme ses bases échangeables (SBE), le phosphate assimilable (P.ass), le calcium et le phosphore total (Ptot) qui se rapportent au traitement T1 pour les deux variétés de gombo et au traitement T3 pour la variété v2. Le reste de traitement ne se rapporte à aucun paramètre.

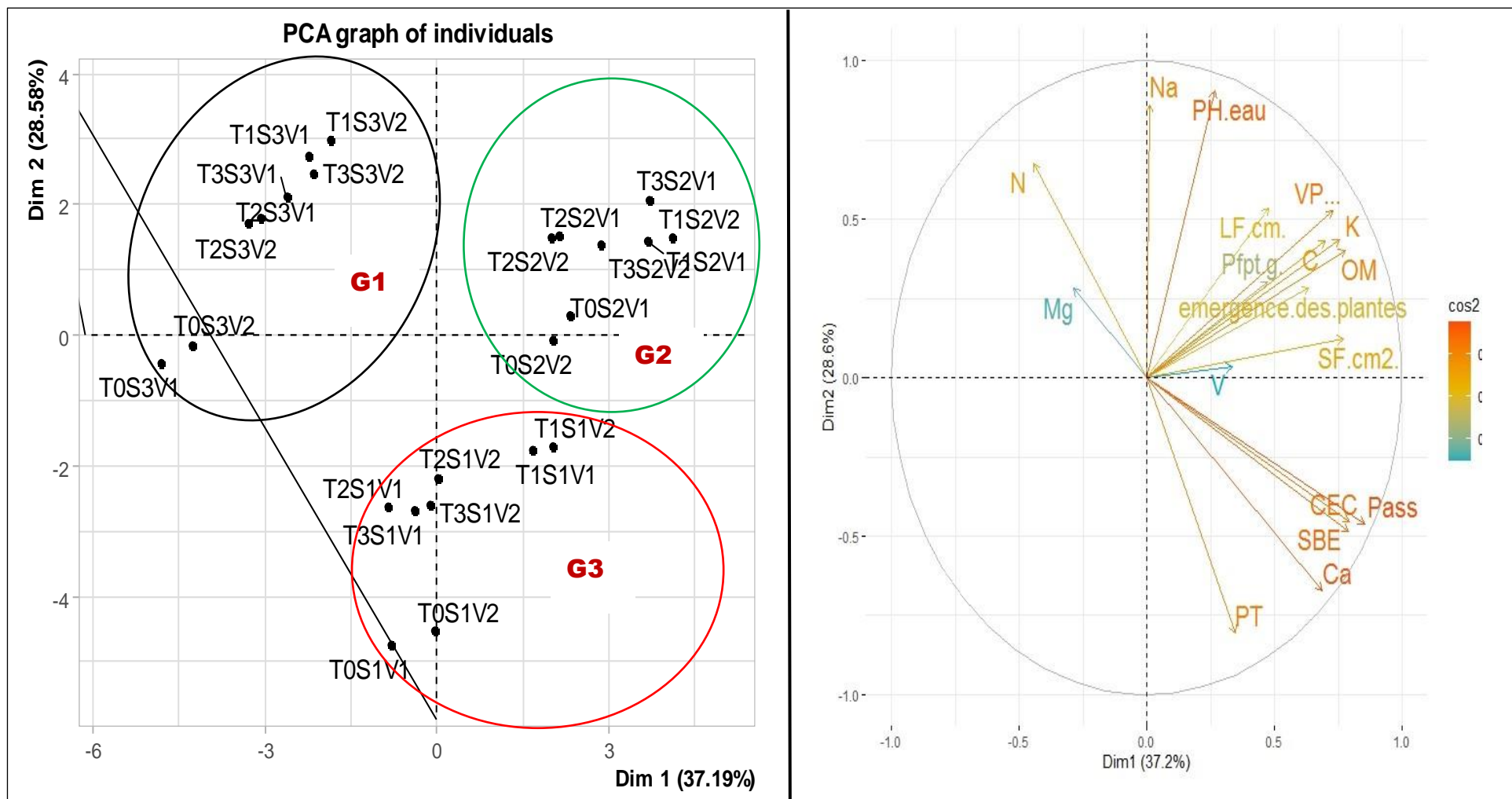


Fig. 39. Analyse en composante principale entre les paramètres agromorphologiques des variétés de gombo et des paramètres physicochimiques dans les différents sites en fonction des traitements

S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV ; V1 = *Clemson spineles* ; V2 = *Hire* ; T0 = témoin ; T1 = traitement *T. harzianum* & *B. amyloliquefaciens* ; T2 = traitement *B. amyloliquefaciens* & *B. velezensis* ; T3 = traitement *T. harzianum* & *B. velezensis*

## Discussion partielle 1

L'étude de cette partie a permis de tester la compatibilité entre souches microbiennes bénéfiques et de déterminer l'effet de la meilleure bioformulation sur les paramètres physicochimiques des sols et sur les paramètres agromorphologiques des deux variétés de gombo dans les trois zones agroécologiques. Les faibles productivités des cultures dans ces zones agroécologiques sont liées à l'acidité des sols causant la perte de la biodiversité et par conséquent la faible répartition des minéraux nécessaires pour la survie de la plante. Dans le cas des technologies de gestion des matières organiques, on accorde moins d'attention à la microbiologie, et les approches physique, chimique et technique prédominent pour améliorer la production tout en causant davantage l'augmentation de l'acidité des sols. L'ensemble de ces éléments lors du processus de production de bioformulations doit être pris en compte.

La correction des sols par les bioformulations microbiennes pour une production optimale constitue ainsi un atout majeur de nos jours. Plusieurs études ont déjà été menées dans ce sens au niveau du Cameroun à l'instar des travaux de Nwaga *et al.* (2010) ; Mbouobda *et al.* (2013). Trois types de bioformulations à savoir T1 (*Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens*) ; T2 (*Bacillus velezensis* et *Bacillus amyloliquefaciens*) ; T3 (*Trichoderma Harzianum* et *Bacillus velezensis*) ont été élaborés et testés sur les paramètres physicochimiques des sols et des variétés de gombo étudiées. Les charges bactériennes et fongiques de chaque formulation étaient de  $10^{11}$  CFU/g pour *Bacillus amyloliquefaciens* ; *Bacillus velezensis*  $10^{10}$  CFU/g et  $2 \times 10^{10}$  CFU/g pour *Trichoderma Harzianum* pour une activité optimale. Cependant, Yin *et al.* (2020) ont montré que ces mêmes souches à des concentrations respectives de  $10^6$  CFU/mL pour *B. amyloliquefaciens* et *B. velezensis* ; *T. harzianum* à une concentration de  $2 \times 10^5$  CFU/mL ont fourni une protection significative à la plante de chou chinois (*Brassica rapa*). Par ailleurs, des résultats antérieurs ont rapporté que les souches combinées de microorganismes bénéfiques ont augmenté le poids des racines du blé, la longueur des racines des haricots et les rendements de la tomate (Singh *et al.*, 2018). De Jaeger *et al.* (2011) ont rapporté que *T. harzianum*, lorsqu'il est combiné à une autre souche PGPM régule l'acquisition de phosphore par les plantes.

Le « véhicule » microbien utilisé était le son de riz dans le but d'obtenir une formulation solide. Soumare *et al.* (2020) ont souligné dans leurs travaux qu'un bon inoculum microbien

devrait être emballé dans un matériau de support qui fournit un microenvironnement optimal en termes de pH, d'eau et de teneur en carbone pour les microorganismes, afin de maintenir une durée de conservation plus longue et une viabilité microbienne sans avoir besoin d'une installation de stockage spéciale. Alori & Babalola (2018) ont souligné que le matériau de support doit être rentable, facilement disponible, écologique, compatible avec le supplément de nutriments et non dangereux pour l'utilisateur. Le son de riz comme matériau de support a été utilisé par Mbouobda *et al.* (2014) et Higa (1996) dans leurs diverses formulations microbiennes. La bioinoculation a été faite une semaine avant les semis pour chaque traitement dans les différentes zones agroécologiques. L'application avant le semis avait pour but d'une part d'activer le microbiote du sol et d'autre part de détruire les phytopathogènes susceptibles de nuire aux plantes. En effet, Nuzzo *et al.* (2020) ont démontré que l'inoculation de certaines formulations microbiennes n'ont pas d'impact direct sur la croissance des plantes mais affectent de manière significative la diversité et la structure des communautés microbiennes indigènes qui influencent à leur tour les activités des plantes. Par contre, Piromyou *et al.* (2011) soulignent que l'inoculation améliore le statut nutritionnel des plantes mais n'a aucune influence directe sur la diversité des espèces et la richesse des microbes indigènes dans les racines de la plante hôte. Les travaux de Yin *et al.* (2020) ont également démontré des activités *in vitro* de *Trichoderma harzianum* sur les plantes cultivées en champ, que son application avant l'émergence des semis était moins efficace qu'après les semis. Cela justifie la seconde application d'inoculants microbiens trois semaines après le semis dans cette étude.

L'analyse factorielle de données mixtes a permis de regrouper les paramètres physicochimiques ayant une meilleure affinité avec chaque traitement au niveau des différents sites agroécologiques. Cette analyse sur les sols traités et les sols témoins a présenté un coefficient d'inertie global de 69,9 % mettant en exergue le pourcentage des paramètres bien représentés sur l'axe 1 et 2. Les différentes variables telles que l'azote, le sodium et le magnésium sont rattachés aux traitements chez les deux variétés par rapport au témoin. Il en est de même pour le poids moyen des fruits par traitement (Pfpt) et la longueur des fruits (LF), la vigueur des plantes (VP), la surface foliaire (SF), l'émergence des plantes, du taux de carbone, de potassium et de matière organique (OM), la capacité d'échange cationique (CEC), la somme ses bases échangeables (SBE), le phosphate assimilable (P.ass), le calcium et le phosphore total (Ptot). L'analyse de Tukey au seuil de probabilité 5 % montre que plusieurs paramètres sont

significativement corrélés au traitement T1 par rapport aux autres et rapport au témoin (traitement T0) dans les différents sites de culture. Cette variation serait liée à l'activité synergique des microorganismes composant cette bioformulation à savoir *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* qui ont la capacité de dégrader efficacement la matière organique du sol afin de libérer une grande palette d'éléments solubles en vue d'être efficacement absorbés par la plante. Les travaux de Barbara *et al.* (2022) et de Liu (2017) montrent que les souches de PGPR à l'instar du genre *Bacillus amyloliquefaciens* secrètent un spectre diversifié en composés favorisant la solubilisation de la matière organique pour libérer les éléments constitutifs destinés à la croissance des plantes.

La teneur en calcium et en magnésium chez le traitement T1 montre que les souches microbiennes y afférentes ont corrigé le  $\text{pH}_{\text{eau}}$  respectivement (6,70 ; 7,2 et 7) du sol de culture et ainsi contribué à la bonne croissance du gombo qui nécessite un  $\text{pH}_{\text{eau}}$  optimal compris entre 6 et 7. Bibata *et al.* (2017) justifient cela du fait que les exigences édaphiques du gombo en termes de  $\text{pH}_{\text{eau}}$  soient comprises entre 5,8 et 7,5 avec un idéal de 6 à 7. Une corrélation positive et significative a été ainsi établie entre le  $\text{pH}_{\text{eau}}$  et les paramètres agromorphologiques tels que la taille des plantes, la longueur des fruits et le poids moyen des fruits car la réduction de l'acidité du sol contribue à une meilleure absorption des éléments nutritifs du sol. Le taux de saturation (78,2% ; 79,57 % et 69,5%) en cation dans les sols traités par T1 était élevé, ceci montrant la capacité de *Bacillus amyloliquefaciens* à libérer les cations contenus dans la matière organique afin d'être valorisés par la plante cultivée. Cette libération peut se justifier par des teneurs élevées en Mg (2,56 ; 2,39 et 3,52 méq/100g), en potassium (1,90 ; 2,69 et 1,8 méq/100g), en phosphore assimilable (31,65 ; 31,42 et 10,3 méq/100kg) par rapport aux autres traitements. L'humidité relative dans les zones agroécologiques est respectivement d'ordre de 1529 ; 916,6 et 2957 mm répondant favorablement aux exigences du gombo en eau au stade de croissance végétative pour un besoin moyen de l'ordre de 900 à 1500 mm pour les sites 1 et 2 (Anonyme, 2007).

Les températures moyennes dans les sites 1, 2 et 3 sont d'ordre de 24,5 ; 22 et 25,7 °C et répondent aux besoins de la plante pour une croissance optimale de température comprise entre 20 et 30 °C (Anonyme, 2007). La modification des paramètres édaphiques tels que le pH pourrait être lié à l'action de *T. harzianum* qui sécrète des métabolites capables d'assurer des modifications chimiques de l'environnement. Cette hypothèse est soutenue par Andrabi *et al.*

(2011) qui a montré dans ses travaux que l'action des trichorzianines A et B, des viridines et des trichorzines sécrétées par *T. harzianum* assurent la modification chimique du sol de culture d'où la corrélation positive entre le pH<sub>eau</sub> avec des paramètres chimiques tels que le phosphore total, l'azote et le potassium.

La disponibilité en phosphate au niveau des sols pour les plantes est due à l'action de *Bacillus amyloliquefaciens* et *B. velezensis* capables de solubiliser le phosphore total en partie assimilable par les plantes (Yassin *et al.*, 2021). Ce serait aussi lié à leur capacité à sécréter des phytases qui sont des enzymes capables de dégrader les phytates (phosphate organique) pour libérer les ions phosphates ainsi disponibles pour les plantes (Adjanohoun *et al.*, 2017). Le traitement T1 dispose ainsi d'une quantité importante de phosphore assimilable par rapport aux autres traitements et par rapport au témoin dans les différents sites ; preuve que les microorganismes de cette bioformulation ont solubilisé une quantité importante de phosphore total du sol majoritairement sous l'effet de *B. amyloliquefaciens*. Silvia *et al.* (2021) ont souligné que les PGPR à l'instar de la souche de *B. amyloliquefaciens* pourraient jouer le rôle de biofertilisant prometteur dans l'agriculture. Ils produisent des acides organiques tels que le gluconate, le 2-cétogluconate, lactate, isobutyrate, acétate etc., mobilisant le phosphate grâce aux interactions ioniques avec les cations du sel de phosphate qui conduisent à l'acidification des cellules microbiennes et leur environnement, libérant ainsi du phosphate sous forme ionique. Une corrélation négative s'est ainsi établie entre le phosphore total et le phosphate assimilable justifiant la diminution du taux de phosphore total au profit du phosphate assimilable.

Le traitement T2 (*B. velezensis* et *B. amyloliquefaciens*) disposait de plus de matière organique non dégradée que les autres traitements ainsi qu'une faible disponibilité en cations échangeables était faible. Ceci pourrait être dû à une température non adaptée au *Bacillus velezensis* à dégrader considérablement la matière organique. Michele *et al.* (2021) soulignent que *Bacillus velezensis* a une activité maximale à une température de 16 °C. Ceci aurait donc conduit à une activité non synergique des deux PGPR de cette bioformulation. Cela peut aussi être dû à une inhibition compétitive en sources trophiques entre les PGPR constituant cette bioformulation car vivent des exsudats racinaires des végétaux qu'ils colonisent (Fatema *et al.*, 2022) pour leur activité. Cela pourrait aussi être causé par le taux important d'argile dans les sols

à traitement T2 des différents sites par rapport aux autres ; ralentissant ainsi la minéralisation de la matière organique par ces PGPR (Chenu *et al.*, 2014).

Le taux d'émergence s'est révélé élevé aussi bien avec les plantes traitées que les plantes témoin au niveau des trois sites. Ceci serait dû à la qualité des semences locales ayant été utilisées contrairement aux semences industriellement conditionnées. Ceci est en accord avec les résultats de Mahamadi *et al.* (2016) qui ont montré que les semences paysannes présentent un taux de germination élevé, à savoir 86 % en moyenne lorsqu'elles restent conditionner dans les capsules par rapport aux semences industriellement conditionnées. Cette émergence favorable des plantes serait aussi due à la présence préalable des éléments nutritifs dans le sol pour le cas du témoin et de l'apport supplétif en éléments nutritifs du sol en partie induit par l'activité des microorganismes issus des bioformulations. Ceci renforcerait ainsi l'action du microbiote du sol dans leurs rôles biostimulants. Il a été démontré que les plantes traitées avec *T. harzianum* et *B. amyloliquefaciens* aient eu un pourcentage de germination nettement élevé que celles traitées avec les autres bioformulations et par rapport au témoin. Ce processus serait l'action de *T. harzianum* qui secrète les phytohormones telle que la gibbérelline capable de briser la dormance des semences et l'auxine induisant ainsi l'élongation des cellules pour la croissance de la plantule. Les travaux de Rababe *et al.* (2020) ont démontré cette capacité de *T. harzianum* sur *Fragaria vesca* à stimuler sa germination au travers des phytohormones sécrétées. Il a été aussi démontré que la germination des graines peut être effective lorsque ces dernières sont prétraitées dans une solution contenant la souche soit de *T. harzianum* soit de *B. amyloliquefaciens*, car ces derniers sécrètent les phytohormones à l'instar de la gibbereline qui brise leur dormance (Budiharjo *et al.*, 2014 ; Liang *et al.*, 2020).

Les résultats obtenus ont présenté les plantes traitées au T1 comme celles ayant significativement augmenté de hauteur par rapport aux autres traitements et au témoin. Ceci serait dû à l'action synergique de *B. amyloliquefaciens* et de *Trichoderma harzianum* ayant colonisé la rhizosphère d'*Abelmoschus esculentus* L., sécrétant donc des phytohormones telles que l'auxine et la gibbérelline qui stimulent ainsi leur développement racinaire et leur croissance verticale. Les mélanges de PGPMs à souches multiples, appelés consortiums microbiens, semblent avoir une plus grande efficacité sur l'amélioration de la croissance des plantes que les souches individuelles (Thomloudi *et al.*, 2019). Il en est de même pour ce qui est du nombre de feuilles et de la surface



foliaire bien que ces paramètres n'aient pas significativement varié entre les différents traitements sauf avec le témoin dans les différents sites en fonction des variétés de gombo étudiés. L'action de *B. amyloliquefaciens* et de *Trichoderma harzianum* au travers des phytohormones suscitées est soutenue dans les travaux de Jolanta *et al.* (2019) sur leur implication dans la croissance et le développement du blé. Tout de même, les travaux de Zhang *et al.* (2017) ont démontré que *Trichoderma harzianum* induisait la germination et la croissance du haricot de par sa capacité à solubiliser le phosphate, le zinc, le manganèse, le cuivre et le fer. Mehata *et al.* (2022), ont ainsi observé que le taux de germination et la croissance en hauteur des plantes de gombo seraient dûs à leur capacité à absorber les nutriments du sol mis à leur disposition.

Des données préliminaires suggèrent aussi fortement que la souche de *B. amyloliquefaciens* a la capacité de production d'hormones de croissance végétale telles que l'acide indole acétique (IAA) dans la rhizosphère. Une étude précédente menée par Mohamad *et al.* (2021) a démontré la capacité de *B. amyloliquefaciens* à produire l'acide indole acétique et l'acide gibbérellique lorsque cette souche était utilisée pour traiter et améliorer le maltage du Sorgho rouge Africain. Une telle activité de biofertilisation des bacilles a été décrite et corrélée avec l'IAA et la production de phytase (Budiharjo *et al.*, 2014). Il a été constaté également que d'autres paramètres physicochimiques des sols sous l'effet du traitement T1 tels que le phosphore assimilable et le potassium ont révélé des concentrations plus importantes par rapport aux autres traitements, ce qui contribuerait à améliorer la croissance du gombo par rapport aux autres. Les travaux d'Oriane (2019) justifient le fait que les PGPR à l'instar de *Bacillus amyloliquefaciens* améliorent le statut nutritif de la plante en l'aidant à la fixation de l'azote ce qui augmente la surface d'échange des racines de ladite plante.

Concernant la vigueur des plantes, les résultats obtenus ont placé les deux variétés de plantes traitées à la formulation T1 comme celles ayant le plus de résistance vis-à-vis des facteurs biotiques durant la phase de croissance végétative dans chaque site. Les souches *Trichoderma* et *Bacillus amyloliquefaciens* de cette bioformulation ont permis de réduire efficacement l'incidence des attaques survenues durant la phase de développement du gombo. Ceci pourrait se justifier d'une part par l'activité de *T. harzianum* du fait de sa capacité à synthétiser les éliciteurs tels que les peptaïboles (trichorzianines A et B et des trichorzines) et les exo-chitinases qui ont induit la résistance des plantes en accroissant leur immunité (Abeer *et al.*, 2021 ; Amalia &

Miguel, 2023). Jian *et al.* (2021) ont également démontré que *T. harzianum* avait une activité antagoniste contre *Fusarium proliferatum* et *Fusarium verticillioides*, avec des taux d'inhibition mycélienne de 68,38 % et 60,64 %, respectivement. Les taux de suppression des filtrats de culture des souches de *T. harzianum* ont présenté une activité antifongique contre une souche de *F. verticillioides* (32,2 %) qui était plus forte que le mycélium (23,50 %). L'efficacité de *T. harzianum* d'après Abeer *et al.* (2021) s'est démontrée par sa capacité à réduire 35 % à 50 % respectivement sur *Lactuca* et la pourriture blanche chez *Allium cepa*. Zerihun *et al.* (2021) ont démontré que les enzymes  $\beta$ -1,3 glucanase et chitinase sécrétées par *T. harzianum* sont capables d'hydrolyser les parois cellulaires des champignons parasites. Harwoko *et al.* (2020) ont signalé que *T. harzianum* élimine les champignons phytopathogènes par mycoparasitisme et par antibiose. Ce mycoparasitisme se fait à l'aide des appressoria qui se fixent à la surface des champignons parasites et sécrètent des enzymes spécifiques qui lysent les parois cellulaires de ces parasites. Aussi les substances volatiles comme les gliotoxines qu'il sécrète jouent le rôle d'antibiotiques. Cette vigueur serait aussi liée à l'activité de *Bacillus amyloliquefaciens* sécrétant les enzymes  $\beta$ -1,3 glucanase et chitinase ou des molécules bioactives telles que les biosulfactants, la plantozoline, le cyanure d'hydrogène, les sidérophores et les polycétides ayant des actions antifongiques et bactéricides qui permettraient la suppression des microorganismes nocifs à la plante (Oksana *et al.*, 2019 ; Barakat *et al.*, 2019). *Bacillus velezensis* pour le traitement T2 aurait également sécrété l'amylocyclicine ayant une action bactéricide. Cette assertion est corroborée par les travaux de Ongena & Jacques (2008) où *Bacillus* sp facilitait la colonisation des racines et l'interaction avec les réponses de défense de la plante hôte. Dans une étude connexe, il a été démontré que l'utilisation de *B. amyloliquefaciens* avec d'autres microorganismes améliore le potentiel de biocontrôle de la souche (Jeyaraman & Robert, 2018 ; Natalia *et al.*, 2023).

Pour ce qui est de la productivité, l'ensemble des cueillettes a été établi sur six semaines afin de déterminer le rendement en t/ha. Les résultats ont montré que le rendement global variait en fonction des traitements pour chaque variété dans les différents sites et a permis de mettre en première position l'effet biofertilisant des souches de la formulation T1 avec des rendements respectifs de 16,60 et 17,56 t/ha dans le site 1 ; 17,96 et 18,44 t/ha dans le site 2 ; 15,84 et 15,92 t/ha dans le site 3 ; ceci supérieur aux autres traitements. Cette production a été significative par rapport à celle du traitement T2 (*B. amyloliquefaciens* et *B. velezensis*) et du témoin. Ceci est dû à

la réduction de l'impact des attaques des ravageurs et pathogènes par les souches microbiennes contenues dans le traitement T1, attribuant ainsi la tolérance aux plantes vis-à-vis de certains facteurs biotiques. Law-Ogbomo (2013) en utilisant la variété de gombo *Hire* dans son étude à obtenu des rendements de 7,92 et 9,13 tonnes par hectare respectivement chez les plantes témoins et les plantes ayant reçu le fertilisant organique. Pour la même variété cultivée sous l'effet des microorganismes efficaces, Zoa (2017) a obtenu un rendement de 14,807 t/ha. Cette production serait également supérieure à celle obtenue par Bibata *et al.* (2017) qui enregistre un rendement de 11,70 t/ha en utilisant une variété différente de gombo et cultivé sous l'effet de fumure organique. Cette différence serait liée au type et au rôle des microorganismes issus de chaque formulation utilisée dans ces différents traitements de par leurs capacités à dégrader les ressources nutritives du sol au profit des plantes. Ceci leur permet aussi de renforcer leur immunité contre les attaques microbiennes pathogènes pour une production accrue.

En tant que bon agent de contrôle biologique, *T. harzianum* a été largement utilisé dans la production de légumes. Singh *et al.* (2018) ont montré que l'inoculation avec *Trichoderma harzianum* a permis d'augmenter le poids des racines du blé, la longueur des racines des haricots et les rendements de la laitue et de la tomate. Cette différence serait également liée à la hauteur des plantes et au poids des fruits d'où la corrélation fortement positive entre ces deux paramètres. La levée précoce donc l'émergence des plantes aussi bien que leur vigueur ont également justifié une meilleure production d'où la corrélation positive entre ces différents paramètres. En revanche, le rendement relativement bas fourni par le traitement T2 a été observée dans les sites 1 et 3. Ceci s'explique par un faible effet de l'association des souches *B. velezensis* et *B. amyloliquefaciens* de ce traitement sur la plante de gombo et aussi par des conditions agroécologiques défavorables au *B. velezensis* tels que la température qui lui est adéquate de l'ordre de 16 °C (Michele *et al.*, 2021). Ces facteurs climatiques par contre ont été favorables dans le site 2 d'où une absence de différence significative de production chez les plantes du traitement T1 et T2. Le témoin a eu une faible productivité dans tous les sites pour chaque variété. Cela peut être dû à l'absence de tolérance des plantes de gombo aux facteurs biotiques et abiotiques au stade de croissance. Raja *et al.* (2020) ont souligné dans ce sens que les agents biotiques et abiotiques provoquent des maladies chez les plantes et posent un problème en

agriculture en affectant de manière significative la croissance des plantes et le rendement des cultures à l'échelle mondiale.

### **Conclusion partielle 1**

Des analyses physicochimiques des sols et agromorphologiques du gombo au travers des cercles de corrélation et du test de Tukey ( $p = 0,05$ ), il en ressort que la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* a positivement et significativement influencé ces paramètres dans les zones agroécologiques III, IV, V sur les variétés de gombo *Hire* et *Clemson spineless* par rapport aux autres traitements (T2 et T3) et par rapport au témoin. L'augmentation des valeurs des paramètres suscités a été significatif au travers de cette bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* comparée aux autres traitements et au témoin. Le rendement du gombo serait lié à la capacité de cette formulation à assurer une activité de biocontrôle et de dégradation de la matière organique pour la libération des minéraux nécessaires à la bonne croissance des plantes dans les trois sites. Elle a ainsi donné une meilleure production chez les deux variétés de gombo dans lesdits sites.

### **III.1.2. Effet de la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* sur les paramètres biochimiques de *Abelmoschus esculentus***

#### **III.1.2.1. Criblage phytochimique des extraits de feuilles de *Abelmoschus esculentus* et tentative d'identification des molécules bioactives**

Les chromatogrammes ci-dessous représentent le criblage phytochimique des extraits méthanoliques du gombo issu du traitement témoin T0 (Fig. 40) et du traitement T1 à base de *Trichoderma harzianum* et de *Bacillus amyloliquefaciens* (Fig. 41). Les analyses de ces extraits au travers de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) ont révélé plusieurs pics déterminant les temps de rétention des molécules en phase stationnaire en fonction de leur affinité avec elle. Les temps de rétention variaient ainsi entre 3,788 min et 7,141 min pour le témoin et entre 3,587 min et 11,312 min pour le traitement T1. Ce criblage a par conséquent révélé une surexpression de métabolites secondaires dans les feuilles de gombo de la parcelle traitée (Tableau X) et qui lui sont spécifiques par rapport à la parcelle témoin (Tableau IX). Plusieurs molécules leur sont ainsi également communes (Tableau XI), jouant divers rôles chez la plante.

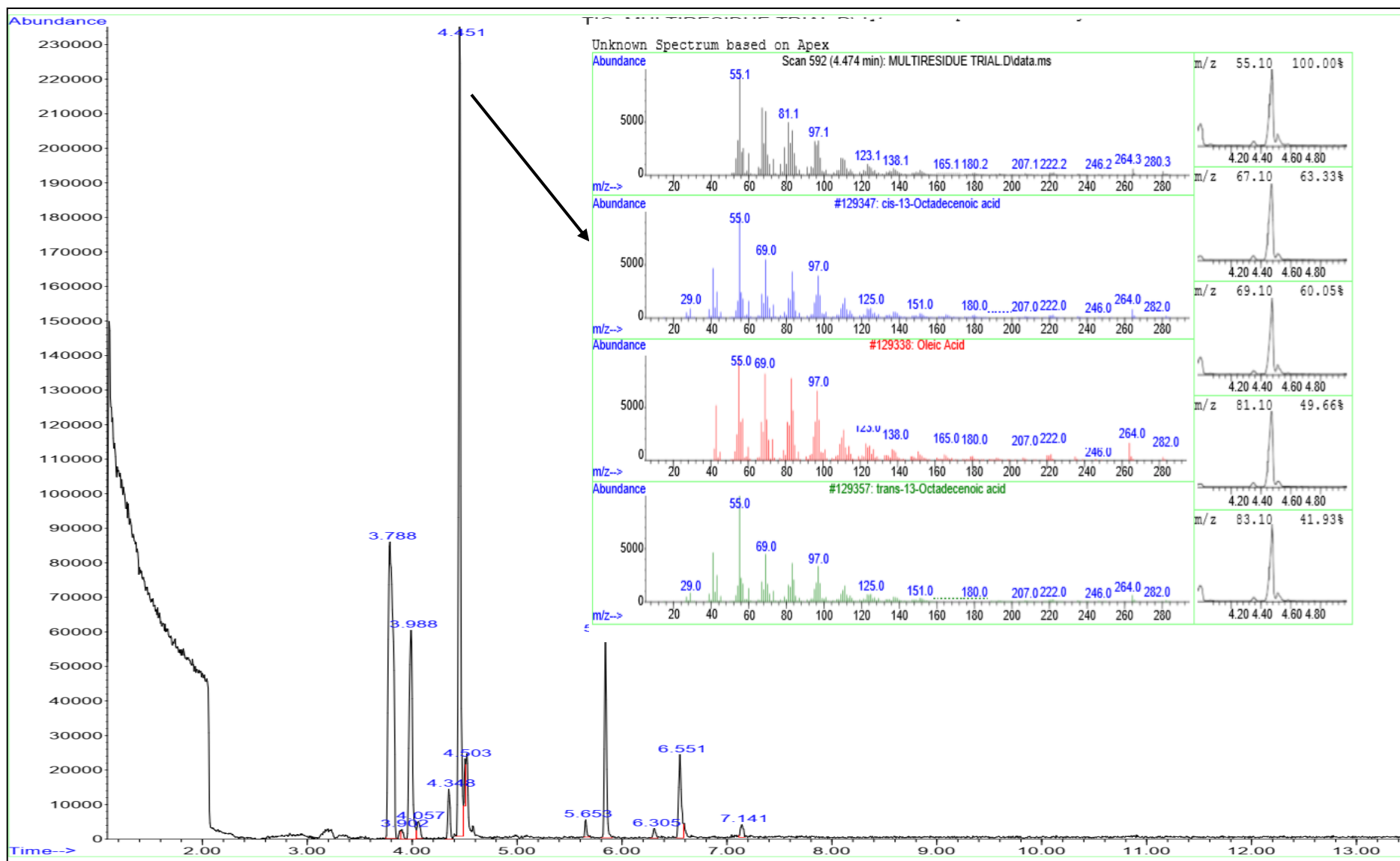


Fig. 40. Chromatogramme de l'extrait méthanolique des feuilles de gombo issus des plantes non traitées.

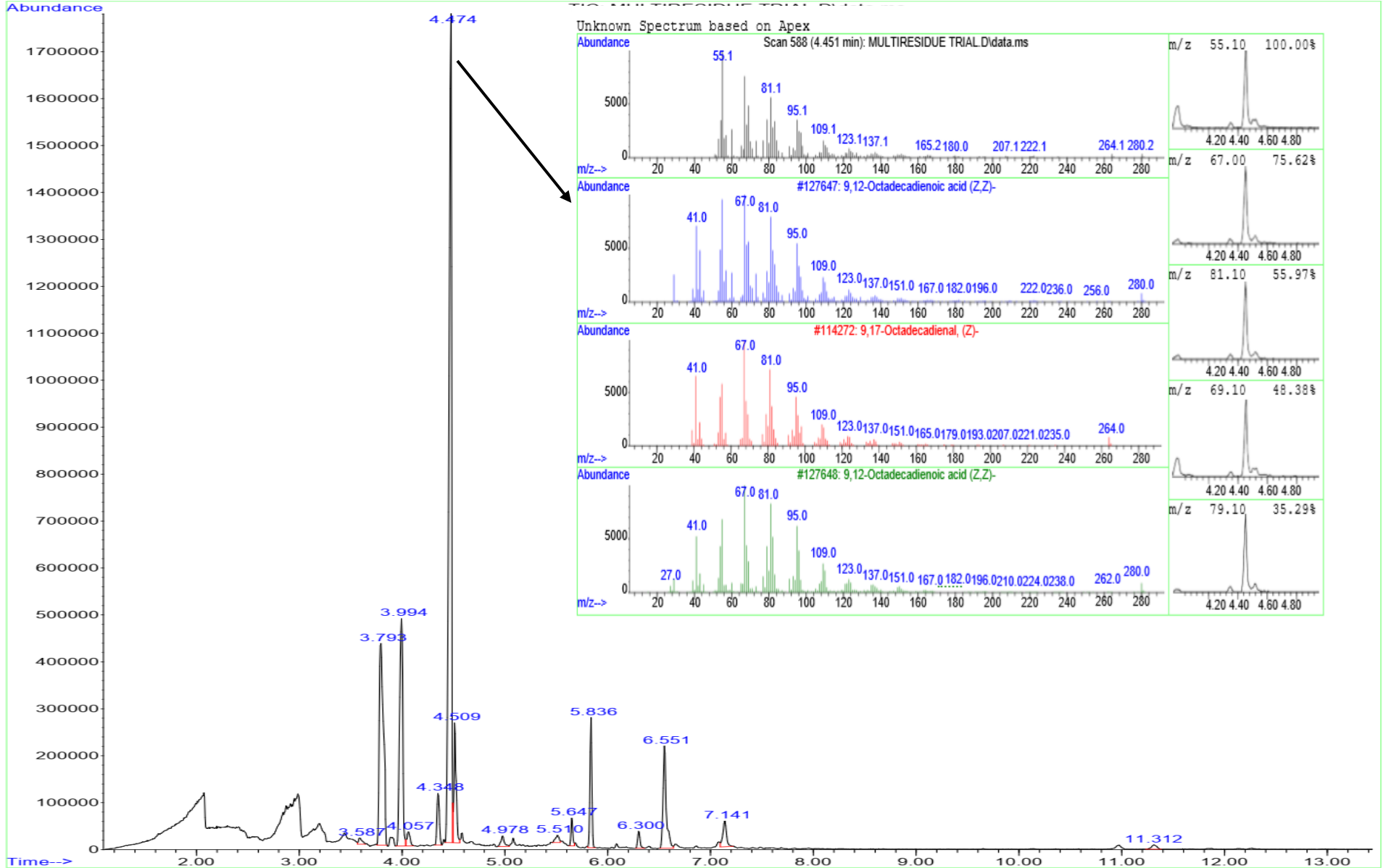


Fig. 41. Chromatogramme de l'extrait méthanolique issu des feuilles de gombo de la parcelle traitée par la bioformulation.

L'analyse GC-MS de l'extrait des feuilles de gombo a révélé la présence de plusieurs composés obtenus ayant des poids moléculaires différents au niveau de chaque pic lors de l'analyse de l'extrait des feuilles de gombo. Ces molécules étaient spécifiques à l'extrait témoin (Tableau X) et spécifiques au traitement T1 (Tableau XI) et d'autres communes aux deux extraits (Tableau XI). Des composés acides tels que les acides décanoïque, hexadécanoïque et tétradécanoïques ont été révélés (Tableau XII) tout comme le sucre 2-O-Methyl-D-mannopyranose (Tableau X).

Tableau X. Molécules spécifiques issues des feuilles de gombo du témoin T0.

<b>Molécules spécifiques hypothétiques à T0</b>	<b>Temps de rétention</b>	<b>Formules hypothétiques</b>	<b>Poids moléculaire</b>	<b>Abondance (%)</b>
<b>Acide Phthalique, 8-chlorooctyl isobutyl ester</b>	3,78	$C_{20}H_{29}ClO_4$	230,3	14,14
<b>2-O-Methyl-D-mannopyranose</b>	3,90	$C_7H_{14}O_6$	194,18	76,22
<b>Diisopropyl adipate</b>	6,30	$C_{12}H_{22}O_4$	230,3	65,27
<b>5.alpha.- Androstan-16-one,cyclic éthylène mercaptole</b>	6,30	$C_{21}H_{34}S_2$	350,6	86,82
<b>(Z)-Cyclohexylamine,</b>	7,14		56,10	72,65
<b>N-(2-chlorocyclopentylidene) -, N-oxide</b>	7,14	$C_{18}H_{32}O_2$	280,4	53,40



Tableau XI. Molécules spécifiques issues des feuilles de gombo traité par la bioformulation T1.

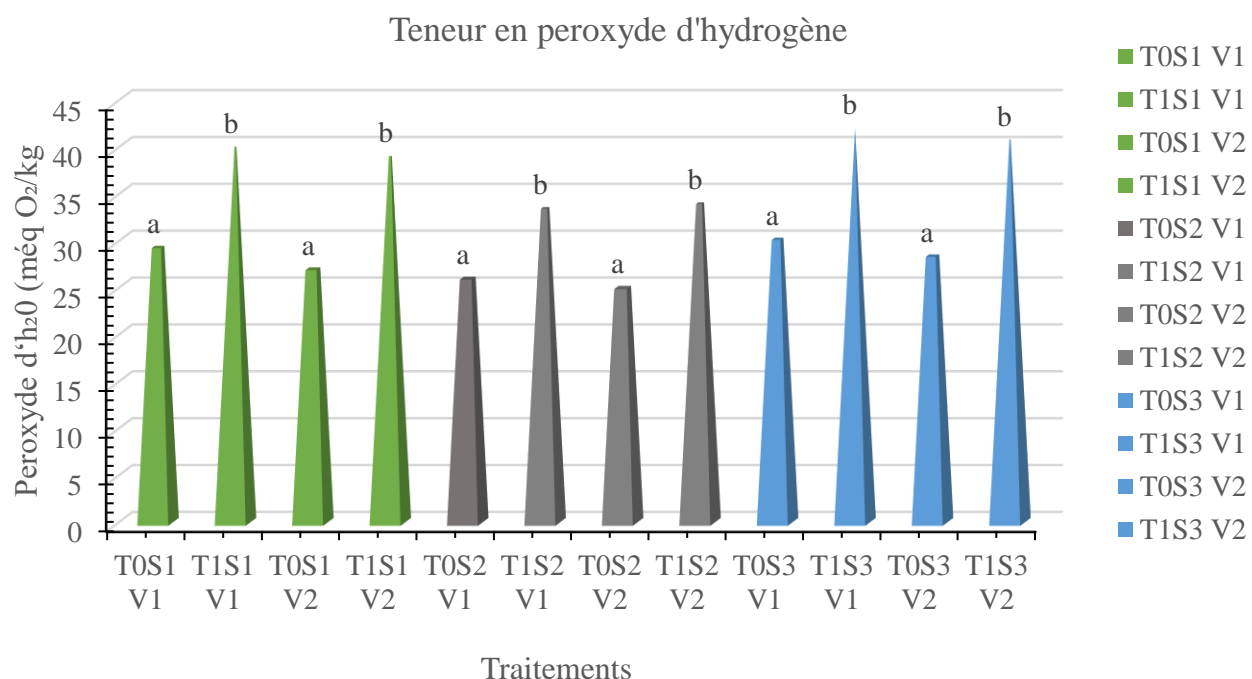
Molécules spécifiques hypothétiques à T1	Temps de rétention	Formules hypothétiques	Poids moléculaire	Abondance (%)
<b>5-Chloro-2-pyridinol</b>	6,3	$C_5H_4ClNO$	129,54	69,97
<b>Acide succinique, éthyl 3-(2-methoxyethyl) nonyl ester</b>	6,3		130	100
<b>1-(2 Adamantylidene) semicarbazide</b>	11,31	$CH_5NO_3$	92,1	100
<b>1,3-Bis-(2-cyclopropyl,2-methylcyclopropyl)-but-2-en-1-one</b>	11,31	$C_{16}H_{26}O$	258,4	73,20
<b>7-Hydroxy-3-(1,1-dimethylprop-2-enyl) coumarin</b>	5,51	$C_{14}H_{14}O_3$	230,26	100
<b>trans-2-Methyl-.beta.-methyl-.beta.-nitrostyrene</b>	5,51	$C_{10}H_{11}NO_2$	177,2	62,82
<b>3H-1,3,4-Benzotriazepin-2-one,1,2-dihydro-3,5-dimethyl-</b>	3,58	$C_{10}H_{11}N_3O$	189,2	100
<b>1-Phthalazinecarboxamide,3,4-dihydro-4-oxo-</b>	4,58	$C_{12}H_{13}N_3O_2$	279,29	27,6
<b>Glycerol 1-palmitate</b>	5,64	$C_{19}H_{38}O_4$	330,50	100
<b>Palmitoyl chloride</b>	5,64	$C_{16}H_{31}ClO$	274,9	78,49
<b>1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester</b>	3,79	$C_{16}H_{24}O_4$	278,3	100
<b>4-Piperidinemethanol, alpha.,. alpha.- diphenyl-1-methyl-</b>	4,97	$C_4H_6N_2O$	281,4	100
<b>1H-Imidazole-2-methanol</b>	4,97	$C_{19}H_{23}NO$	98,1	72,44
<b>Acide tétradécanoïque</b>	3,99	$C_{14}H_{28}O_2$	228,37	95,76

Tableau XII. Molécules hypothétiques communes aux feuilles des plantes temoins et celles issues des plantes de gombo traité.

<b>Composés similaires à T0 et T1</b>		<b>Temps de rétention</b>	<b>Formules hypothétiques</b>	<b>Poids moléculaire</b>
<b>Acide Phthalique, hexylpropyl ester</b>		5,84	$C_{22}H_{34}O_4$	362,5
<b>Acide n-hexadecanoïque</b>	T0	3,98/4,50	$C_{16}H_{32}O_2$	256,4
	T1	3,98		
<b>Acide octadécanoïque</b>		4,50	$C_{18}H_{36}O_2$	284,47
<b>9,17-Octadecadienal, (Z)-</b>	T0	4,45	$C_{18}H_{32}O$	264,44
	T1	4,34		
<b>9,12-Octadecadiène</b>	T0	4,45	$C_{18}H_{32}O$	264,44
	T1	6,55		
<b>9-Octadecenal, (Z)-</b>	T0	7,14	$C_{18}H_{34}O$	266,46
	T1	6,55		
<b>9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)-</b>	T0	6,55	$C_{18}H_{31}ClO$	298,9
	T1	7,14		
<b>1,3,12-Nonadecatriene</b>	T0	6,55	$C_{19}H_{34}$	262,5
	T1	7,14		
<b>(Z)-Cyclohexylamine</b>		7,14		56,10

### III.1.2.2. Teneur en de peroxyde d'hydrogène

La variation de la teneur en peroxyde d'hydrogène dans les extraits des fruits de gombos traités à la formulation T1 et non traitées est présentée sur la figure 42. Le test de Tukey au seuil de probabilité  $P = 0,05$  a révélé une différence significative en teneur en peroxyde d'hydrogène chez les extraits des deux variétés de gombo du traitement dans les trois sites par rapport à l'extrait du gombo témoin.



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$

Fig. 42. Variation de la teneur en peroxyde d'hydrogène des extraits de fruits de gombo du traitement et du témoin dans les différents sites.

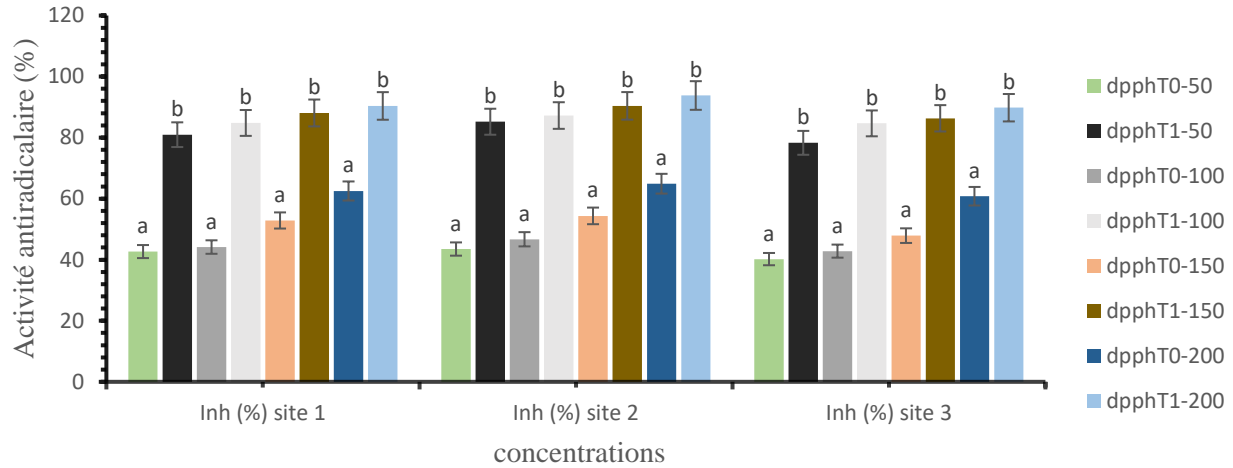
S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV ; T1 : traitement à base de *Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* ; T0 : témoin ; V1 : variété *Clemson spineless* ; V2 : Variété *Hire*

### **III.1.2.3. Effet de la bioformulation sur l'activité antioxydante des extraits de fruits d'*Abelmoschus esculentus***

#### **III.1.2.3.1. Test au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine (DPPH)**

L'activité antioxydante par le test à DPPH montre que tous les extraits des fruits de gombo issus des divers sites en fonction des traitements étudiés ont une capacité à diminuer l'absorbance à 517 nm, et donc à diminuer la concentration du radical DPPH en solution (Fig. 43 & 44). Les mesures de diminution de l'absorbance sont représentées sous forme de pourcentage. L'analyse de variance effectuée sur les différentes concentrations de ces extraits a révélé une activité inhibitrice hautement significative entre les extraits hydro-méthanoliques des gombos issus du traitement T1 à ceux du témoin ( $P < 0,001$ ) dans les différents sites. Les extraits du traitement T1 ont montré un pourcentage d'inhibition hautement supérieur dans toutes les concentrations par rapport à l'extrait issu du témoin. À la concentration de 200 µg/mL d'acide gallique, le traitement T1 a atteint son activité optimale. Le pourcentage d'inhibition pour la variété V1 dans les sites 1, 2 et 3 étant respectivement de 90,38 % ; 93,8 % et 89,8 % ; pour la variété V2 dans les mêmes sites 90,4 % ; 94,01 % ; 90,67 %. L'acide gallique utilisé comme référence a inhibé à 85,56 % le radical DPPH à une concentration de C100. Ceci revient pour la même concentration à une capacité d'inhibition de 85,31 % pour la variété V1 de l'extrait des fruits du traitement T1 contre 46,7 % de l'extrait témoin et 83,67 contre 48,27 % pour la variété V2 du site 2. Aucune différence n'a été significative entre les deux variétés de gombo dans les trois sites en ce qui concerne le traitement T1 et aussi entre les témoins.

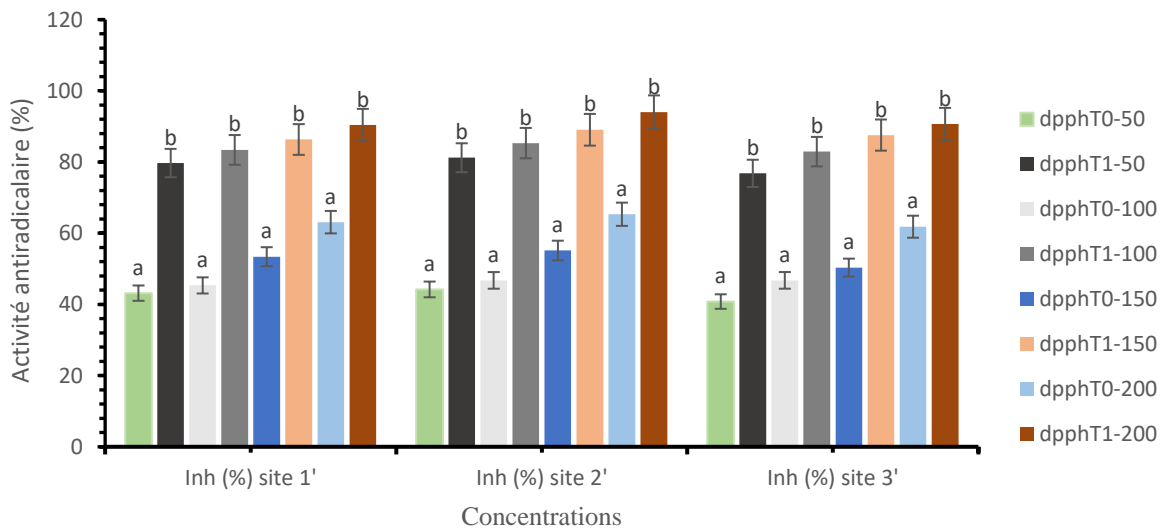
Variété *Clemson*



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 43. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH avec les extraits des fruits chez la variété *Clemson spineless* dans les trois zones agroécologiques.

Variété *Hire*



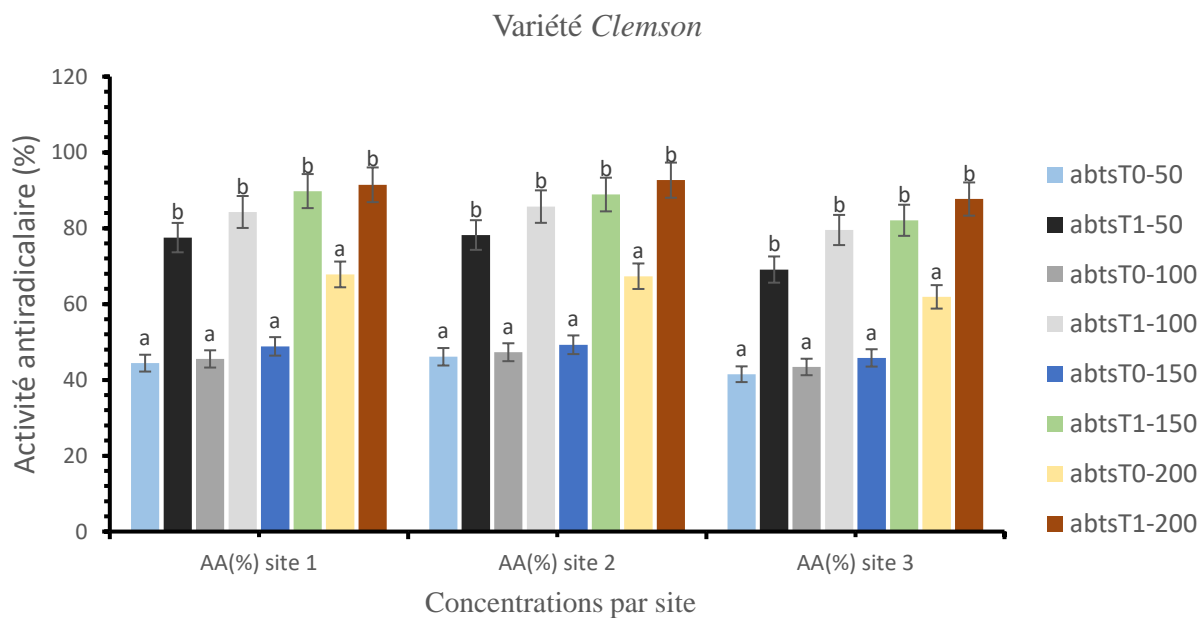
Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 44. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH avec les extraits des fruits chez la variété *Hire* dans les trois zones agroécologiques.

T1 : traitement à base de *Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* ; T0 : témoin.

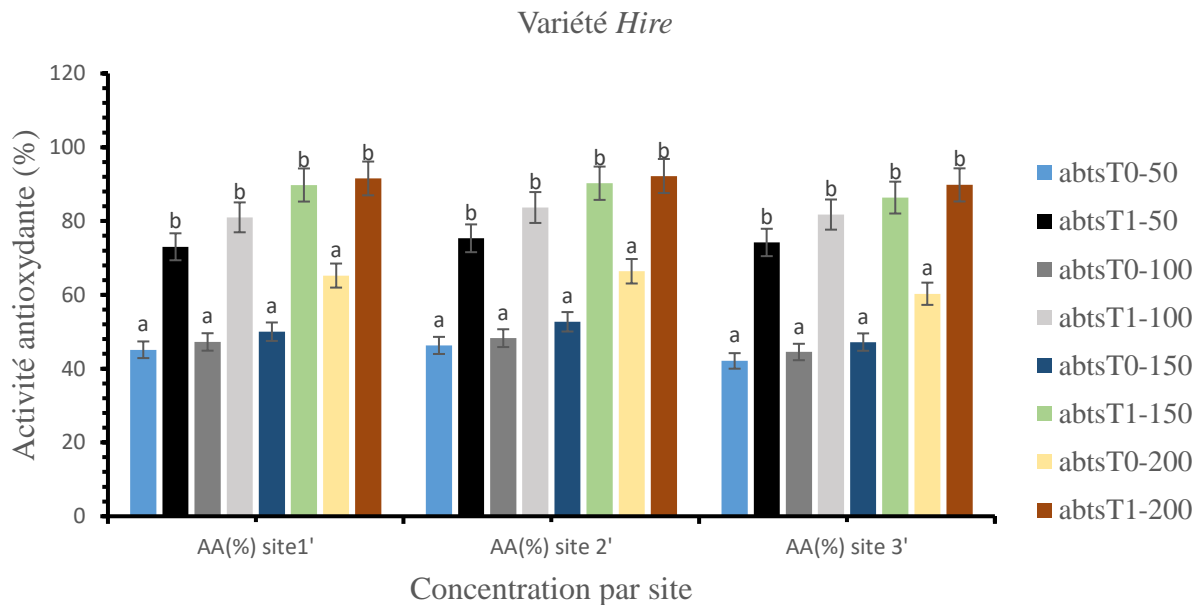
### III.1.2.3.2. Test Acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)

L'activité inhibitrice de l'extrait hydrométhanolique des fruits de gombo au test ABTS est présenté par les figures 45 & 46. Le radical cation ABTS<sup>+</sup> a été inhibé de façon hautement significative ( $P < 0,001$ ) à différentes concentrations des extraits testées, issus des fruits traités par rapport aux extraits témoins des deux variétés de gombo dans les trois sites. À la concentration C100, le pourcentage d'inhibition de l'acide gallique pris pour référence a été évalué à 96,08 %. À cette même concentration, le traitement T1 a révélé un pourcentage d'inhibition (PI) du radical de 84,29 % ; 85,71 % ; 79,54 % pour la variété V1 dans les sites 1, 2 et 3 contre 81,01 % ; 83,67 % ; 81,76 % pour la variété V2 dans les mêmes sites par rapport aux témoins. La concentration la plus haute C200 a présenté pour les traitements et les témoins, les PI respectivement de 91,46 % ; 92,68 % ; 87,7 % pour la variété 1 et 91,55 % ; 92,21 % ; 89,8 % pour la variété 2. Le témoin par contre a enregistré 67,82 % ; 67,35 % ; 61,9 % pour la première variété et 65,23 %, 66,4 % ; 60,3 % pour la variété 2 en fonction des sites. La différence s'est révélée significative entre le traitement T1 du site 3 et celui des sites 1 et 2 entre C50 et C150, également avec T0 à C200 pour les mêmes sites. Pour le reste, aucune différence n'a été significative avec le traitement T1.



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 45. Pourcentage d'inhibition du cation ABTS<sup>+</sup> avec les extraits des fruits du gombo *Clemson spineless* issus des trois zones agroécologiques.



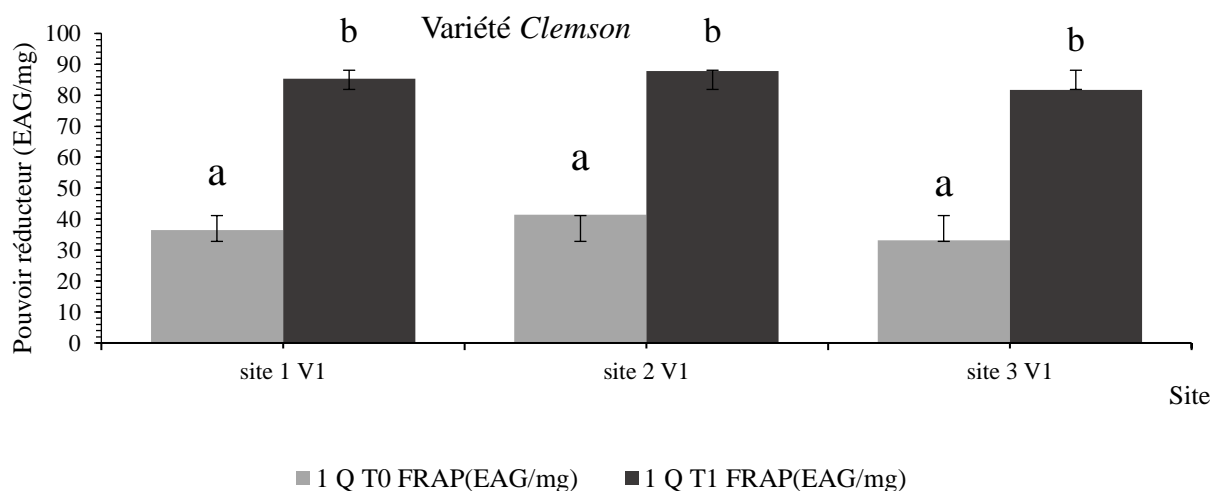
Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 46. Pourcentage d'inhibition du cation ABTS<sup>+</sup> avec les extraits des fruits du gombo *Hire* issus des trois zones agroécologiques.

T1 : traitement à base de *Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* ; T0 : témoin.

### III.1.2.3.3. Test au Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

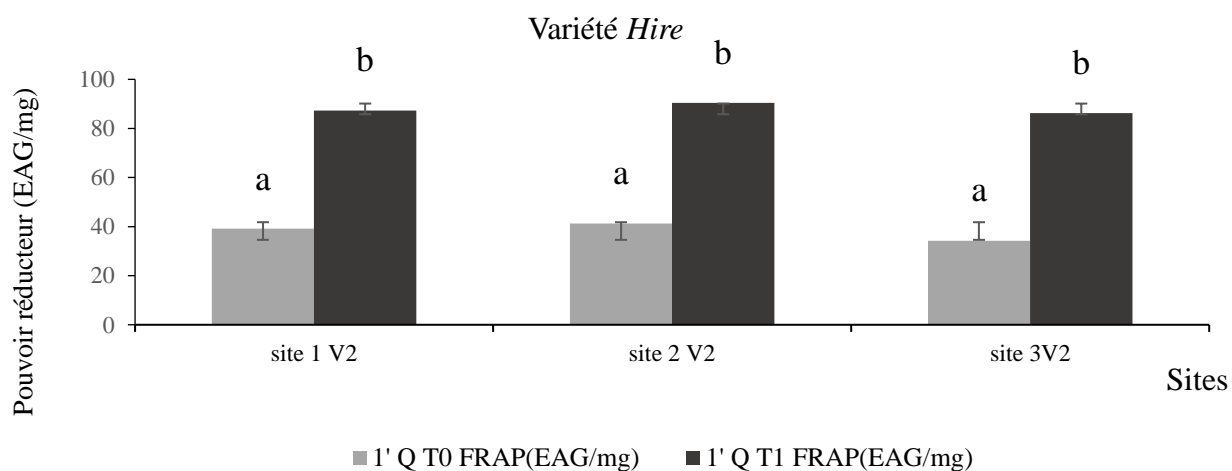
Les extraits de gombo testés au FRAP ont une activité antioxydante significative à réduire le taux de radicaux libres (Fig. 47 & 48). L'évaluation du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques a montré une activité inhibitrice élevée avec le traitement T1 chez la variété V1 (85,40 ; 87,91 ; 81,74 EAG/mg) et la variété V2 (87,29 ; 90,39 ; 86,2 EAG/mg) respectivement dans les sites 1, 2 et 3 par rapport à T0 V1 (36,44 ; 41,42 et 33,13 EAG/mg) et T0 V2 (39,13 ; 4,23 et 34,24 EAG/mg). Le test de Tukey au seuil de  $P = 0,05$  a révélé une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) sur l'activité inhibitrice des extraits entre le traitement et témoin au niveau des différents sites en fonction des variétés de gombo.



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 47. Activité antiradicalaire au test FRAP des extraits des fruits du gombo de variété *Clemson spineless* issus du traitement et du témoin dans les trois sites.

T1 : traitement à base de *Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* ; T0 : témoin



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

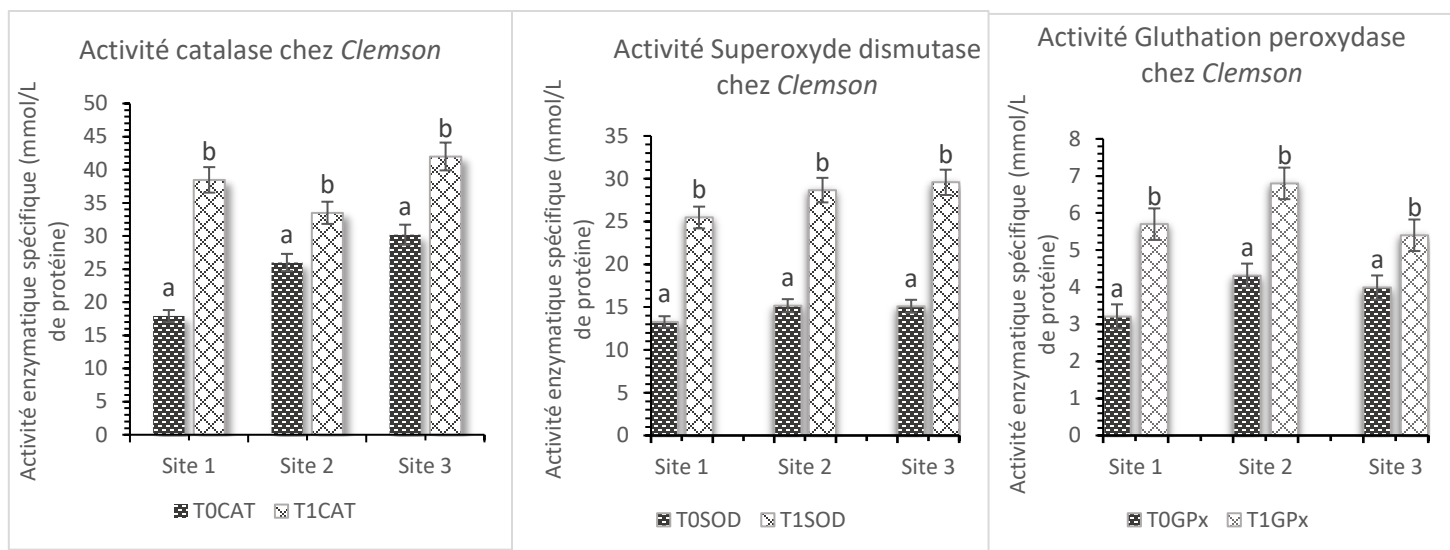
Fig. 48. Activité antiradicalaire au test FRAP des extraits des fruits du gombo de variété *Hire* issus du traitement et du témoin dans les trois sites.

T1 : traitement à base de *Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* ; T0 : témoin ; V1 : variété *Clemson spineless* ; V2 : Variété *Hire*



#### III.1.2.4. Enzymes du stress oxydant

L'activité enzymatique spécifique des extraits des fruits des deux variétés de gombo issus du traitement T1 et du témoin dans les trois sites déterminent la capacité de ces fruits à piéger les radicaux libres. Les figures 49 et 50 illustrent l'évolution de cette activité des extraits des fruits de gombo pour chaque variété dans les trois sites. Cette activité montre la capacité de ces extraits à réduire le taux de radicaux libres à travers leur dismutation. Les analyses de variance de l'activité spécifique de catalase (CAT) et superoxyde dismutase (SOD) ont montré une activité spécifique très significative ( $P < 0,01$ ) entre enzymes et en fonction des traitements (T1 et T0) dans les trois sites pour les deux variétés de gombo (Fig. 49). La glutathion peroxydase a présenté une activité spécifique très significative ( $P < 0,001$ ) entre les extraits du traitement T1 et le témoin T0 dans les mêmes sites chez les deux variétés (Fig. 50). L'activité enzymatique spécifique la plus importante a été attribuée à la catalase et qui varie respectivement pour les sites 1, 2 et 3 chez l'extrait de fruits du traitement T1 concernant la variété *Clemson* (38,47 ; 41,18 ; 32,4 UI/min/mg de protéine) et la variété *Hire* (39,66 ; 45,42 ; 40,11 UI/min/mg de protéine) par rapport à celle de la superoxyde dismutase (25,47 ; 28,67 ; 29,58 U/min/mg de protéine) pour la variété *Clemson* et (28,12 ; 30,23 ; 25,4 UI/min/mg de protéine) pour *Hire*. Le témoin enregistre une faible activité spécifique pour la CAT (17,93 ; 20,8 ; 15,22 UI/min/mg de protéine et (21,01 ; 24,89 ; 22,1 UI/min/mg de protéine) et pour la SOD (13,27 ; 15,17 ; 15,1 U/min/mg de protéine et 12,99 ; 15,06 ; 13,63 UI/min/mg de protéine). L'activité spécifique de la glutathion peroxydase est élevée dans l'extrait des fruits du traitement T1 dans les trois sites et chez les deux variétés de gombo (5,70 ; 6,8 ; 5,4 mmol/L de protéines et 5,11 ; 5,97 ; 4,92 mmol/L de protéines) comparée à l'activité de l'extrait des fruits du témoin (3,21 ; 4,31 ; 3,99 mmol/L et 3,87 ; 4,86 ; 3,8 mmol/L de protéines) (Fig. 50). Aucune différence ne s'est révélée significative entre les sites pour les deux variétés de gombo sauf pour la catalase avec le traitement T1 et le témoin dans les trois sites et aussi entre les sites 2 et 3 avec le traitement T1.

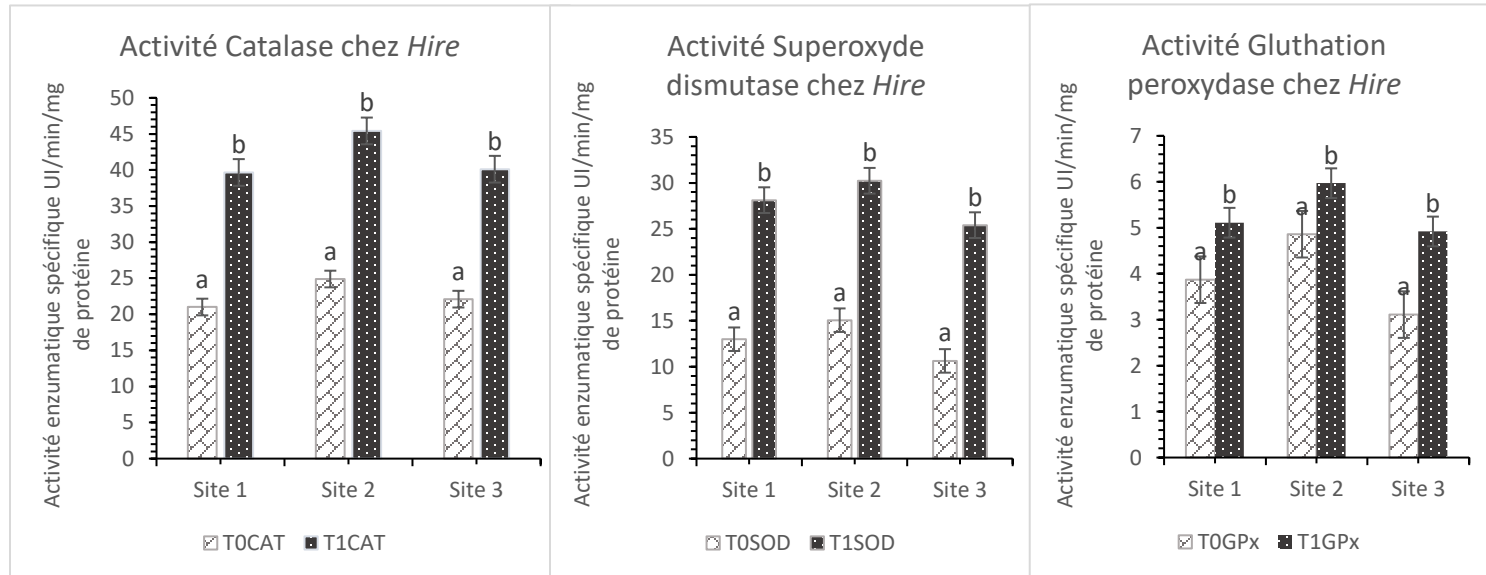


Les traitements ayant les lettres

identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 49. Effet du traitement sur l'activité spécifique des enzymes du stress oxydant chez les fruits de gombo *Clemson* spineless dans les trois sites.

T1 : traitement à base de *Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* ; T0 : témoin.



Les traitements ayant les lettres identiques dans le même site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0.05$ .

Fig. 50. Effet du traitement sur l'activité spécifique des enzymes du stress oxydant chez les fruits de gombo *Hire* dans les trois sites.

T1 : traitement à base de *Trichoderma Harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* ; T0 : témoin

### **III.1.2.5. Corrélation entre les enzymes du stress oxydant et le taux de peroxyde d'hydrogène**

L'analyse en composante principale ci-dessous (Fig. 51) met en exergue la corrélation qui existe entre le taux de peroxyde d'hydrogène et les activités enzymatiques du stress oxydant en fonction des traitements pour les différentes variétés de gombo dans les différents sites. Il est question de vérifier si la variation du taux de peroxyde d'hydrogène entraîne aussi la variation des activités enzymatiques. Elle présente un pourcentage d'inertie globale de 96% qui met en exergue une bonne représentation des variables sur l'axe 1 et 2. Il en ressort de l'ACP que le taux de peroxyde est corrélé aux activités des trois enzymes mais plus avec la SOD suivi de la CAT et de la GPx vu les angles qui les séparent étant très obtus et de leurs  $\text{Cos}^2$  très proches de 1. Ces différents paramètres sont rattachés au traitement T1 pour les deux variétés de gombo dans les sites 1 et 3. La CAT et la GPx au vu de leur position dans le quart de cercle dans lequel ils se trouvent sont rattachés au site 2 pour les deux variétés de gombo et corrélées au taux de peroxyde vis-à-vis de ce site et de part leurs  $\text{Cos}^2$  très proches de 1.

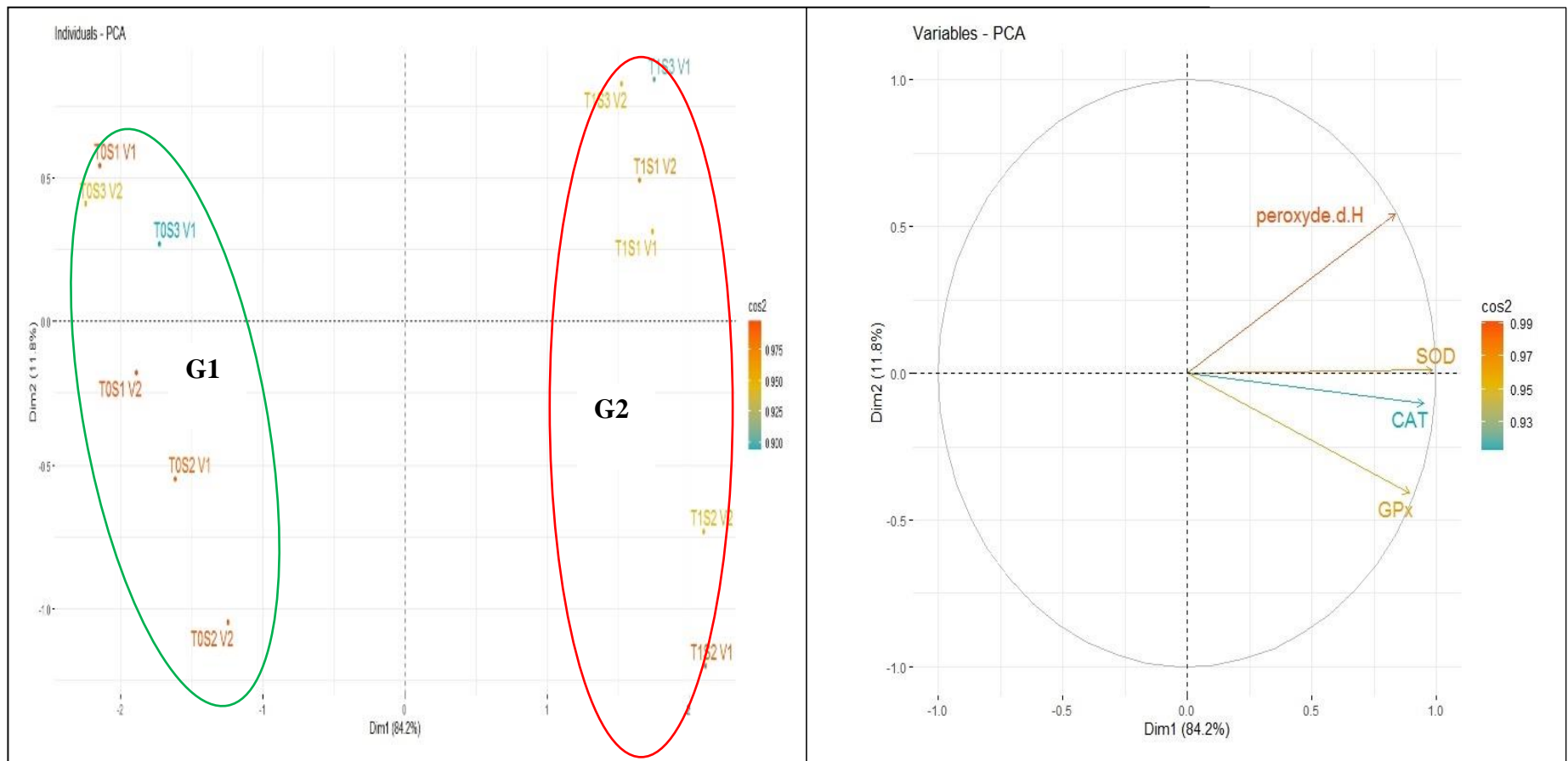


Fig. 51. Analyse en composante principale entre le taux de peroxyde et les enzymes du stress oxydant chez deux variétés de gombo

T1= traitement à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amuloliquefaciens* ; T0 = témoin ; S1 = zone agroécologique V ; S2 = zone agroécologique III et S3 = zone agroécologique IV ; V1 = *Clemson spineless* ; V2 = *Hire*

## Discussion partielle 2

Cette partie a permis d'évaluer l'impact de la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* sur le profil phytochimique et sur l'activité antioxydante du gombo afin de le valoriser en alimentation animale. L'exploration du potentiel phytochimique des extraits méthanoliques issus des feuilles de gombo dans les traitements T0 et T1 par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a révélé une surexpression de métabolites dans les parcelles traitées par la bioformulation T1 par rapport à la parcelle témoin dans les différents sites, pour chaque variété de gombo. Le traitement et le témoin partagent en commun certaines molécules et d'autres leur sont spécifiques. Cette expression serait dû à l'action de certaines molécules bioactives sécrétées par *Trichoderma harzianum* telles que le 6-pentyl-a-pyrone et/ou par *Bacillus amyloliquefaciens* telles que l'iturin A ou surfactin ou la fengycin qui ont stimulé les gènes responsables de l'induction des voies métaboliques tels que le *srfAA* ou *AB*, le *fenD* ou le *ituC* (Oksana *et al.*, 2019 ; Natalia *et al.*, 2023) entraînant ainsi l'expression des métabolites de différentes natures dans ces plantes de gombo.

Strobel *et al.* (2011) ; Barakat *et al.* (2019) ont rapporté que *Trichoderma harzianum* libère plusieurs substances volatiles comme le benzène-éthanol, acide butanoïque, acide propanoïque, palmitoyl chloride, glycerol-1-palmitate et acide hexadecanoïque. Ces métabolites possèdent ainsi de plusieurs fonctions aussi bien dans la stimulation de croissance (palmitoyl chloride, glycerol-1-palmitate) que dans la lutte biologique (benzène-éthanol, acide butanoïque, acide propanoïque, acide hexadecanoïque) en tant que phytoalexines (acide benzoïque ; scoparone ; scopoletin). Zhang *et al.* (2017) ont rapporté dans leurs travaux que le palmitoyl chloride augmentait la masse de l'eucalyptus de 9,5 à 22,8 %. Elles ont un pouvoir inhibiteur important sur le développement de *Cercospora beticola*, agent responsable de la cercosporiose de la betterave (*Beta vulgaris*), de *Sclerotinia sclerotiorum*, agent de la pourriture blanche de la carotte (*Daucus carota*) (Chen *et al.*, 2016). Elles ont aussi un pouvoir inhibiteur sur *Colletotrichum lagenarum*, agent de l'anthracnose du melon (*Cucumis melo*), et du concombre (*Cucumis sativus*) (Benzohra *et al.*, 2016). Benhamou & Picard (2000) ont indiqué qu'il existait une corrélation positive entre la réponse globale de la plante et des changements dans la biochimie et la physiologie des cellules végétales préinoculés par *Trichoderma* sp., lesquels étaient accompagnés des modifications structurales.

Il advient ainsi une résistance systémique induite contre les agents pathogènes grâce à ces métabolites qui développent les mécanismes allélopathiques chez la plante. Certains des métabolites identifiés dans les feuilles de gombo traitées tels que les coumarines seraient capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires (Boukri, 2014). Le 2-O-Methyl-D-mannopyranose présent dans les extraits des feuilles du traitement T1 a la capacité de stimuler les mouvements péristaltiques de l'intestin grêle. Il se transforme dans le côlon en sennosides et réduit l'absorption de l'eau pour rendre le bol fécal fluide et réduire ainsi les constipations (Dantas *et al.*, 2021).

Les résultats montrent que la mesure du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) dans les extraits de gombo traité au T1 a été hautement élevée par rapport aux extraits témoins. Ceci serait lié à la capacité desdits microorganismes à induire et réguler des gènes de défense (enzymes antioxydantes, gènes liés à la pathogenèse) qui vont ainsi isoler les infections auxquelles les plantes font face et fortifier les parois cellulaires. Cette accumulation leur confère ainsi le rôle de régulateur de la mort cellulaire programmée (Claire *et al.*, 2008). Il advient également qu'au cours du développement de la résistance systémique induite par les PGPM de la formulation T1, il y a formation des ROS qui enclenche un effet d'amorçage qui rend sensible la plante aux effets des substances étrangères. Ceci provoque ainsi chez la plante, une activation des mécanismes cellulaires de protection sous l'invasion d'agents pathogènes et d'insectes conduisant à une augmentation de la résistance des plantes (Oksana *et al.*, 2019).

L'activité antioxydante liée à la quantité des métabolites (secondaires et primaires) dans la plante, a été évaluée au stade de floraison de la plante sur les fruits de gombo en application avec les travaux de Bibata *et al.* (2017) et de Natalia *et al.* (2023) qui ont démontré que les teneurs en métabolites sont élevées au stade floral de la plante chez les feuilles et fruits. Il a été ainsi démontré que les extraits méthanoliques des feuilles de gombo traitées au T1 et le témoin ont présenté une inhibition de l'absorbance des radicaux DPPH• et ABTS+•. Les extraits traités ont inhibé ces radicaux de façon très significative par rapport au témoin. Les pourcentages d'inhibition obtenus avec le test au DPPH ont été légèrement faibles par rapport à ceux obtenus avec le test à l'ABTS. Ceci serait lié à la présence, dans les différents extraits de gombo, des substances qui ont présentées des bandes d'absorption à la même longueur d'onde que celle du radical DPPH• ; engendrant ainsi une augmentation de la densité optique et une diminution du pouvoir oxydant. Cela peut aussi se justifier par le fait que certaines molécules soient restées

inertes face au radical DPPH• ou alors à la réversibilité de certaines réactions créant ainsi une sous-estimation de la fraction à tester. Cette hypothèse est soutenue par les travaux de Serigne *et al.* (2017) où la même observation a été faite avec les extraits méthanoliques de *Vitex doniana* L.

Quant à l'évaluation du pouvoir réducteur de l'ion ferrique lié au test FRAP, celle-ci s'est avérée plus élevée et très significative entre l'extrait méthanolique traité par rapport à l'extrait méthanolique témoin. L'augmentation de l'activité antiradicalaire avec les différents tests antioxydants vis-à-vis des extraits traités par rapport aux extraits témoins serait liée à la surexpression des métabolites chez les plantes traitées et aux enzymes du stress oxydant. Ceci va en accord avec les travaux de Serigne *et al.* (2017) où des extraits testés des différentes parties de *Vitex doniana* augmentaient significativement l'activité antiradicalaire en fonction de la quantité de métabolites secondaires exprimés. Narasimha *et al.* (2021) ont également démontré que la surexpression des métabolites de diverses natures en particulier les polyphénols, les alcaloïdes, les phospholipides et les terpénoïdes augmentait la capacité antioxydante de la plante. Il existerait donc une relation directe entre les teneurs en métabolites (flavonoïdes, en composés phénoliques) et l'activité antioxydante. Le gombo cultivé à l'aide de la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* pourrait être conseillée et utilisée grâce à ses propriétés antioxydante pour renforcer le système immunitaire et aider l'organisme à lutter contre les radicaux libres produits par l'organisme. Ces antioxydants sont utilisés pour préserver les aliments de la décoloration, du rancissement et de la détérioration due à l'auto-oxydation (Kanfon *et al.*, 2018). Les extraits ayant présenté un pouvoir antioxydant supérieur pourraient être suggérés pour leur utilisation en agroalimentaire et en industrie pharmaceutiques.

L'activité d'une enzyme est d'autant plus élevée que sa teneur est élevée dans l'extrait (Benyamina, 2017). L'activité des différentes enzymes du stress oxydant s'est révélée significativement élevée dans l'extrait des fruits de gombo traités à la bioformulation T1 par rapport au témoin chez les deux variétés de gombo dans les différents sites. L'activité antioxydante de la catalase a été plus importante et non significative à celle de la superoxyde dismutase (SOD) dans les extraits de fruits issus des plantes traitées mais hautement significative par rapport à celle des extraits témoins. L'activité de la catalase augmente généralement lorsque la plante est exposée à des concentrations élevées en peroxyde d'hydrogène afin de dismuter ces derniers en molécules d'eau. Zhang *et al.* (2007) souligne dans leurs travaux que la concentration en métalloïdes à l'instar du plomb, du cadmium et du mercure avait généré une production élevée

de peroxyde d'hydrogène dans les feuilles de *Kandelia candel* activant ainsi l'action de la catalase. Dazy *et al.* (2009) a démontré dans ses travaux que *Fontinalis antipyretica* en présence de 10M de cuivre produisait en concentration élevée, les enzymes du stress oxydant.

L'activité de la SOD est généralement élevée lorsque la photosynthèse chez la plante est maximale, ceci en période de croissance végétative. Sa faible concentration par rapport à la catalase serait liée à la concentration importante en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> laquelle rend sensible la SOD aux divers inhibiteurs lorsqu'elle n'est pas associée aux métalloïdes tels que le cuivre ou le zinc. Cela serait encore liée à une forte activité de dismutation, la première ligne de défense contre les espèces oxygénées réactives étant la superoxyde dismutase qui catalyse la dismutation les radicaux peroxydes (anion superoxyde) en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et en O<sub>2</sub> (Saka *et al.*, 2011). Les enzymes du stress oxydant dont le rôle est de réduire le taux de radicaux libres généré par peroxydation chez la plante, ont des concentrations élevées chez les plantes traitées. Ceci pourrait s'expliquer par l'exposition des plantes de *Abelmoschus esculentus* L. aux agents pathogènes induisant la production les radicaux libres. Ceci active les microorganismes de la bioformulation T1 à stimuler les gènes responsables de la synthèse de ces enzymes dans ces plantes afin de dismuter ces espèces oxygénées réactives une fois leur action terminée.

L'activité spécifique de la catalase augmente considérablement vue la grande production du peroxyde d'hydrogène issu de la dismutation de l'anion superoxyde (McCord & Fridovich 1969). Quant à la glutathion peroxydase (GPx), sa teneur a été significativement différente chez le traitement T1 par rapport au témoin. L'une des fonctions de la GPx est principalement concernée par la neutralisation de radicaux libres, elle constitue une barrière de production contre les ERO. Ses processus de défense ne sont complètement efficaces que s'ils sont couplés aux antioxydants exogènes des végétaux tels que le zinc, le cuivre, le fer. La faible activité de ces enzymes chez l'extrait témoin peut s'expliquer du fait de leur inhibition à l'instar de la SOD par l'anion superoxyde issu de la dismutation du peroxyde d'hydrogène. Les résultats des travaux de Morgane (2013) sur les mécanismes moléculaires de la réponse des plantes face aux radiations ionisantes ont montré que l'activité enzymatique de SOD, CAT et GPx chez *Arabidopsis thaliana* diminuait par absence d'apport en antioxydants exogènes. Les travaux de Benyamina (2017) ont également démontré que l'activité enzymatique des extraits de *Artemisia absintium* L. chez les rats intoxiqués au plomb diminuait progressivement chez les rats n'ayant pas reçu les apports en antioxydants exogènes.



## **Conclusion partielle 2**

Le criblage phytochimique des extraits de feuilles de gombo a montré que la formulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* influence la production des métabolites chez la plante de gombo de façon significative. Ces métabolites jouent plusieurs rôles tant dans la stimulation des mécanismes de défense que dans la croissance, ce qui assure une bonne productivité des plantes de gombo. L'activité antioxydante se révèle également très importante au travers des trois tests effectués (DPPH, FRAP et ABTS) dans les fruits de gombo pour les variétés dans les trois sites faisant ainsi du gombo un produit ayant la capacité de piéger les radicaux libres susceptibles d'endommager la plante et dans l'organisme qui le consomme en empêchant ainsi l'endommagement de ses molécules vitales. La grande activité spécifique des enzymes au travers de leurs concentrations est ainsi impliquée dans la résistance des plants contre les pathogènes en dismutant les espèces oxygénées réactives générées par ceux-ci. Cette formulation en agriculture permet donc la production de gombo riches en composés antioxydants qui peut être conseillé en alimentation animale grâce à sa capacité à lutter contre le vieillissement crée par la production des radicaux libres dans l'organisme endommgeant ses molécules vitales.

### III.1.3. Effet de la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* sur les propriétés nutritionnelles de deux variétés d'*Abelmoschus esculentus* L.

#### III.1.3.1. Evaluation du profil nutritionnel

Les analyses de variance par le test de Tukey mettent en évidence le degré de significativité existant entre les paramètres nutritionnels vis-à-vis des traitements chez les deux variétés de gombo dans les trois zones agroécologiques (Tableau XIII). Il en ressort ainsi que le traitement T1 a influencé de façon très significative les différents paramètres chez les deux variétés de gombo par rapport au témoin ( $p < 0,05$ ). Cet effet s'est le plus démarqué chez la variété *Clemson* sauf pour le calcium, magnésium et glucides dans le site 1 et la variété 2 dans le site 3. Toutefois, les valeurs obtenues étaient supérieures à celles du témoin T0.

Tableau XIII. Variation du profil nutritionnel chez les deux variétés de gombo en fonction des traitements dans les trois zones agroécologiques.

Paramètres	Sites	Variété <i>Clemson</i>		Variété <i>Hire</i>	
		T0	T1	T0	T1
Fibres (g)	S1	2,87 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,77 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,45 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,86 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S2	2,90 ± 0,00 <sup>a</sup>	4,04 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,69 ± 0,00 <sup>a</sup>	4,16 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S3	2,54 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,28 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,44 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,02 ± 0,01 <sup>b</sup>
Glucides (g)	S1	7,00 ± 0,01 <sup>a</sup>	9,00 ± 0,25 <sup>b</sup>	4,75 ± 0,12 <sup>a</sup>	7,00 ± 0,02 <sup>b</sup>
	S2	7,23 ± 0,00 <sup>a</sup>	10,20 ± 0,02 <sup>b</sup>	5,55 ± 0,00 <sup>a</sup>	8,00 ± 0,02 <sup>b</sup>
	S3	7,00 ± 0,08 <sup>a</sup>	9,00 ± 0,50 <sup>b</sup>	6,71 ± 0,00 <sup>a</sup>	9,48 ± 0,49 <sup>b</sup>
Protéines (g)	S1	2,20 ± 0,00 <sup>a</sup>	4,40 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,99 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,20 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S2	2,24 ± 0,00 <sup>a</sup>	4,72 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,03 ± 0,00 <sup>a</sup>	4,20 ± 0,02 <sup>b</sup>
	S3	2,12 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,87 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,1 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,30 ± 0,02 <sup>b</sup>
Ca (mg/100g Ms)	S1	80,65 ± 0,00 <sup>a</sup>	86,33 ± 0,00 <sup>b</sup>	80,64 ± 0,00 <sup>a</sup>	82,50 ± 0,50 <sup>b</sup>
	S2	78,42 ± 0,01 <sup>a</sup>	88,90 ± 0,08 <sup>b</sup>	85,5 ± 0,50 <sup>a</sup>	99,50 ± 0,98 <sup>b</sup>
	S3	78,85 ± 0,04 <sup>a</sup>	86,10 ± 0,02 <sup>b</sup>	81,00 ± 2,00 <sup>a</sup>	84,24 ± 0,00 <sup>b</sup>

		Variété Hire		Variété Clemson	
Paramètres	Sites	T0	T1	T0	T1
<b>Mg</b> (mg/100g Ms)	S1	55,97 ± 0,25 <sup>a</sup>	60,00 ± 1,00 <sup>b</sup>	55,50 ± 0,50 <sup>a</sup>	56,20 ± 0,18 <sup>a</sup>
	S2	57,15 ± 0,00 <sup>a</sup>	61,13 ± 0,01 <sup>b</sup>	57,20 ± 0,02 <sup>a</sup>	63,90 ± 0,02 <sup>b</sup>
	S3	49,00 ± 2,00 <sup>a</sup>	58,85 ± 0,04 <sup>b</sup>	48,20 ± 0,08 <sup>a</sup>	62,05 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>K</b> (mg/100g Ms)	S1	291,66 ± 0,00 <sup>a</sup>	364,5 ± 0,25 <sup>b</sup>	291,65 ± 0,00 <sup>a</sup>	305,50 ± 0,50 <sup>b</sup>
	S2	300,42 ± 0,00 <sup>a</sup>	368,05 ± 0,04 <sup>b</sup>	308,50 ± 0,50 <sup>a</sup>	381,50 ± 4,50 <sup>b</sup>
	S3	288,30 ± 0,18 <sup>a</sup>	357,5 ± 4,50 <sup>b</sup>	292,00 ± 2,00 <sup>a</sup>	363,00 ± 2,00 <sup>b</sup>
<b>Na</b> (mg/100g Ms)	S1	6,00 ± 0,01 <sup>a</sup>	8,05 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,00 ± 0,02 <sup>a</sup>	7,05 ± 0,01 <sup>b</sup>
	S2	6,65 ± 0,00 <sup>a</sup>	9,13 ± 0,00 <sup>b</sup>	7,42 ± 0,03 <sup>a</sup>	9,45 ± 0,01 <sup>b</sup>
	S3	6,20 ± 0,08 <sup>a</sup>	8,71 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,20 ± 0,08 <sup>a</sup>	9,35 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Fe</b> (mg/100g Ms)	S1	0,62 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,87 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,61 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,74 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S2	0,71 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,02 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,77 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S3	0,65 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,67 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,00 <sup>b</sup>
<b>Zn</b> (mg/100g Ms)	S1	2,84 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,70 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,77 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,85 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S2	2,87 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,59 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,90 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,65 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S3	3,00 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,69 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,80 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,75 ± 0,00 <sup>b</sup>
<b>Cu</b> (mg/100g Ms)	S1	1,90 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,943 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,96 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,91 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S2	1,83 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,13 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,07 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,73 ± 0,00 <sup>b</sup>
	S3	0,97 ± 0,08 <sup>a</sup>	3,05 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,87 ± 0,01 <sup>b</sup>

Les traitements avec les mêmes lettres dans chaque site ne sont pas significativement différents selon le test de Tukey  $P < 0,05$ .

L'analyse factorielle des données mixtes (Fig. 52) a permis d'établir la corrélation entre le profil nutritionnel des deux variétés de gombo en fonction des traitements T0 et T1 et en fonction des trois sites. Elle a présenté un pourcentage d'inertie global de 89,8% déterminant une bonne représentation des paramètres sur l'axe 1 et 2.

Il apparaît ainsi deux groupes de valeurs dont le groupe 1 représentant le témoin n'est rattaché à aucun paramètre dans les trois sites. Le groupe 2 quant à lui regroupe les paramètres rattachés au traitement T1 dans les trois sites.

Les angles entre ces différents paramètres sont très obtus, impliquant ainsi la corrélation positive et significative entre eux. Il apparaît également que les cosinus carrés de tous ces paramètres sont très proches de 1 (varient entre 0,80 et 0,95) et ainsi positivement corrélés au traitement en fonction des différents sites. Les paramètres tels que le cuivre, le zinc, les glucides, les protéines et le fer y sont rattachés pour les deux variétés de gombo dans le site 3 et la variété 1 dans les sites 1 et 2. Les paramètres à l'instar du magnésium, du fer, du potassium, des fibres, le calcium et le magnésium y sont également rattachés pour la variété 2 cultivée dans le site 1.

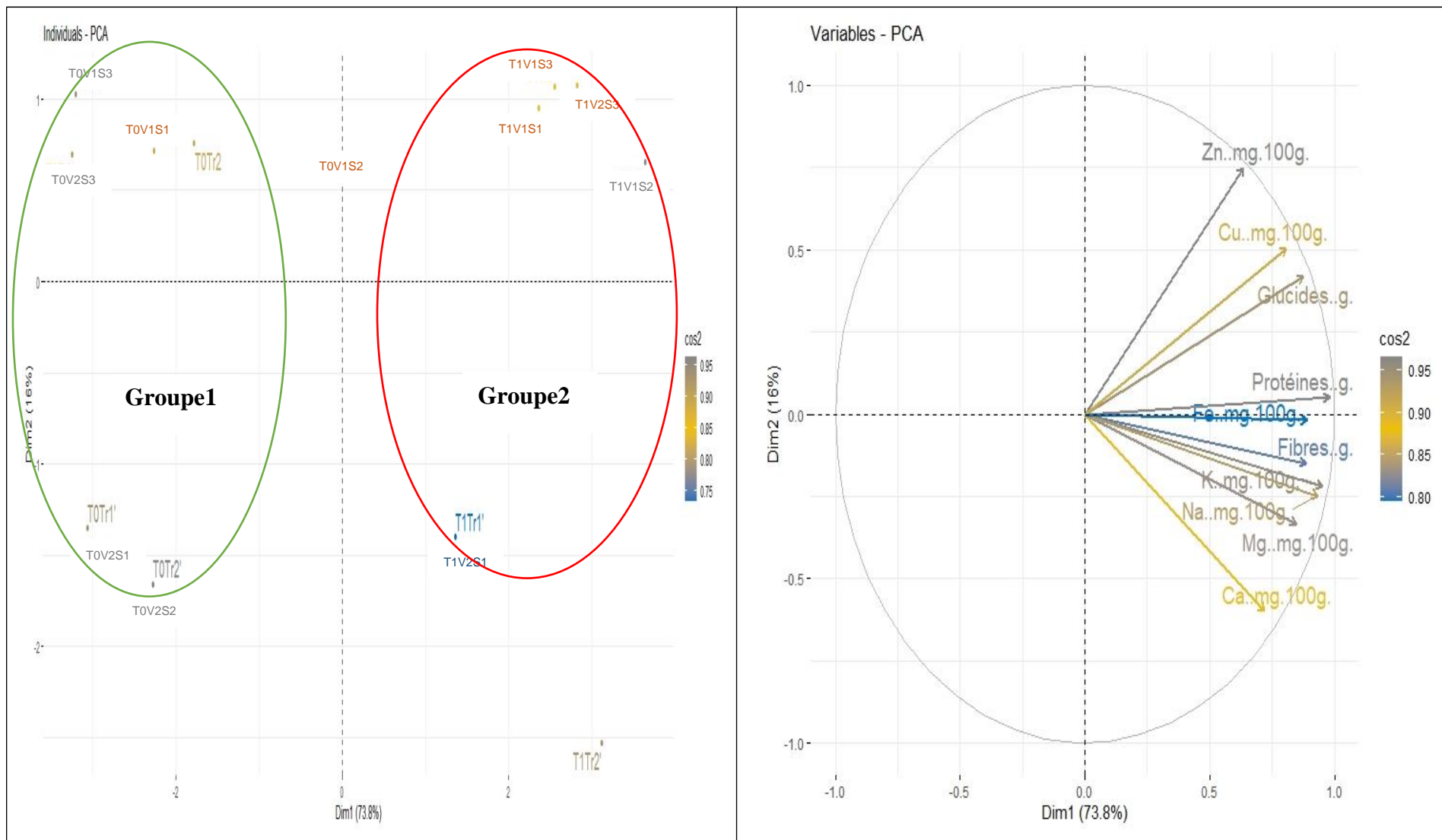


Fig. 52. Analyse en composante principale entre les paramètres nutritionnels en fonction des sites et des traitements.

T1= traitement à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amuloliquefaciens* ; TO = témoin ; Site 1 = zone agroécologique V ; site 2 = zone agroécologique III ;  
Site 3 = zone agroécologique IV

### **III.1.3.2. Corrélation entre les paramètres physicochimiques, agromorphologiques et nutritionnels**

L'analyse factorielle de données mixtes (Fig. 53) met en exergue la corrélation entre les paramètres physicochimiques, agromorphologiques et nutritionnels en fonction des traitements, des sites et des variétés de gombo. Il apparait deux groupes d'individus dans lesquels les paramètres sont influencés par les traitements auxquels ils sont rattachés dans le cercle de corrélation avec un coefficient d'inertie de 75,8 %. Le coefficient de Pearson d'après cette analyse montre une corrélation positive et significative entre l'émergence des plantes et le potassium du sol (0,89) ; le phosphore total (0,81) ; la matière organique (0,86) ; le magnésium des fruits (0,81) ; le phosphate assimilable (0,63). C'est également le cas pour la vigueur des plantes et les paramètres ci-contre ; le potassium (0,89) ; la matière organique (0,86) ; le magnésium du des fruits (0,75). Il en est de même entre la longueur des fruits et le potassium (0,70) ; les glucides (0,92) ; les protéines (0,95) ; le cuivre des fruits (0,86) et le sodium des fruits (0,84). La corrélation est également positive et significative entre le poids des fruits et le magnésium des fruits (0,90) ; le potassium de fruits (0,96) ; le potassium du sol (0,74) ; la matière organique du sol (0,62).

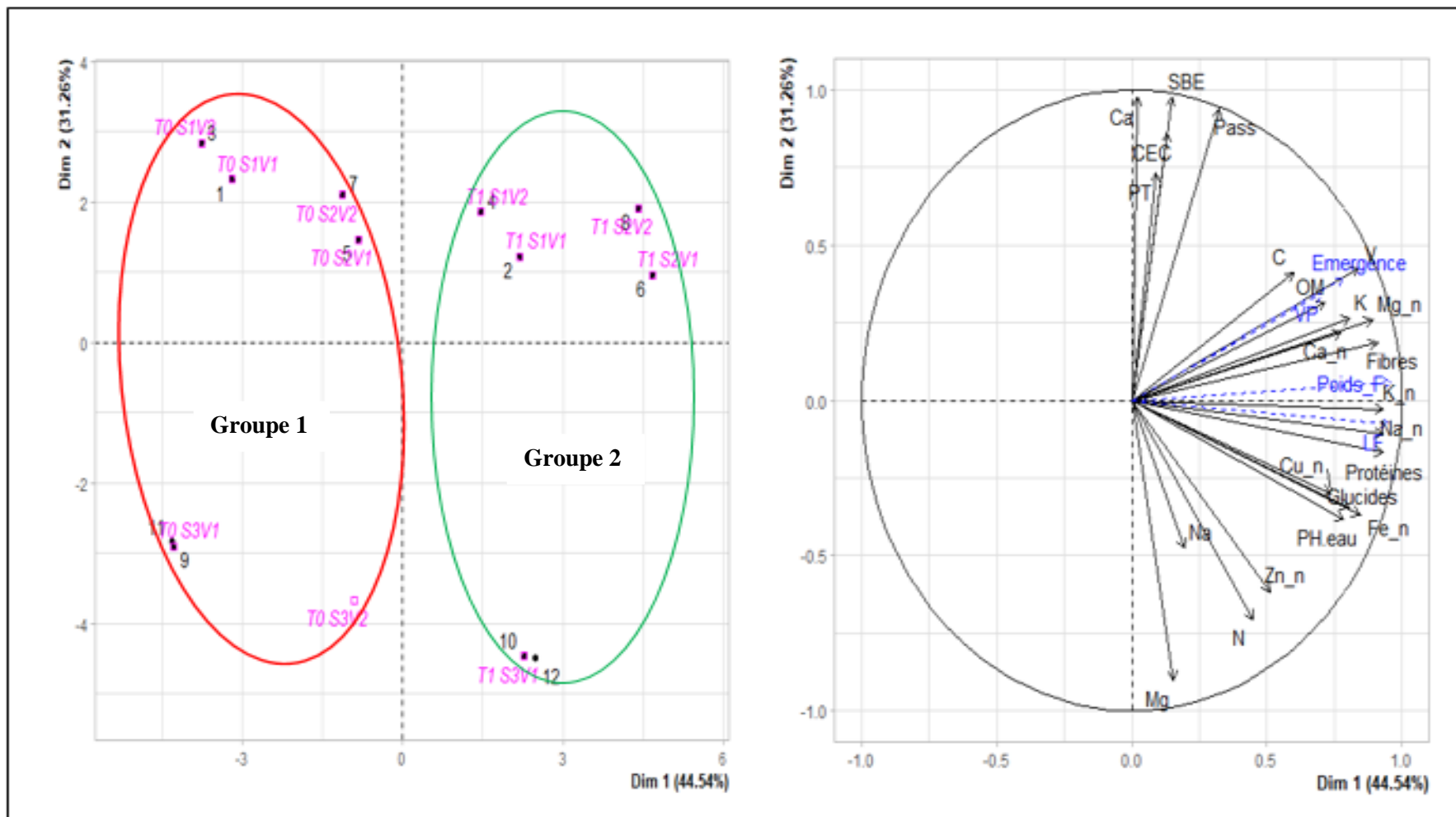


Fig. 53. Analyse en composante principale entre les paramètres physicochimiques, agromorphologiques et nutritionnels de gombo dans trois zones agroécologiques.

### **III.1.3.3. Fiche technique de la bioformulation**

#### **III.1.3.3.1. Information générale**

La bioformulation *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* est une solution idéale pour établir l'équilibre en sources trophiques et le microbiote du sol afin de booster la production du gombo. Il corrige l'acidité des sols et améliore d'adaptabilité des plantes sur ces sols. Cette bioformulation exerce une activité de restauration durable du sol par son effet de dégradation de la matière organique et de solubilisation de phosphate à travers les biostimulants microbiens ; deux applications suffisent pour des cultures annuelles. Elle est un modèle produit à base des matières organiques locales et des souches microbiennes et est adaptée aux cultures des légumineuses telles que le gombo. L'ensemble des éléments additionnés pour la réalisation de cette bioformulation donne une forme poudreuse de couleur marron foncé. Les rendements des cultures peuvent aller au-delà de 50 %. Ladite formulation améliore le profil nutritionnel et l'activité antioxydante des produits issus des cultures pratiquées pour l'alimentation animale.

#### **III.1.3.3.2. Mode d'emploi**

Le biofertilisant à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* (PGPM) est utilisé - dans le traitement des semences afin d'augmenter le pouvoir germinatif des graines par dilution de 1g pour 100 ml d'eau et laisser tremper les graines dans cette solution pendant 24heures.

- Il peut également être utilisé en champ :

- Avant les semis

L'application se fait une semaine avant les semis dans les poquets à raison de 20 à 40 g (soit 4cuillères ou 8 cuillères à café) dans les semis en poquets. En culture hors poquet, 750g/m<sup>2</sup> sont nécessaires soit 25 kg par hectare en mélangeant la formulation avec le sol dans toute la surface de culture. Ceci a pour but d'activer le microbiote natif du sol et favoriser l'émergence des plantules.

- En période de croissance végétative

L'application généralement se fait dans les mêmes doses à 10 cm autour du collet de la plante. Il est possible aussi de l'utiliser pour arrosage foliaire et racinaire en diluant 1kg pour 10L d'eau.

### III.1.3.3.3. Effets du biofertilisant en champ

Le biofertilisant en champ présente des effets bénéfiques sur les légumes - fruits (Fig. 54) en augmentant leur productivité, il leur attribue une résistance systémique et horizontale, améliore la fertilité des sols par réduction de l'acidité et la mise en disponibilité des éléments minéraux à la plante.

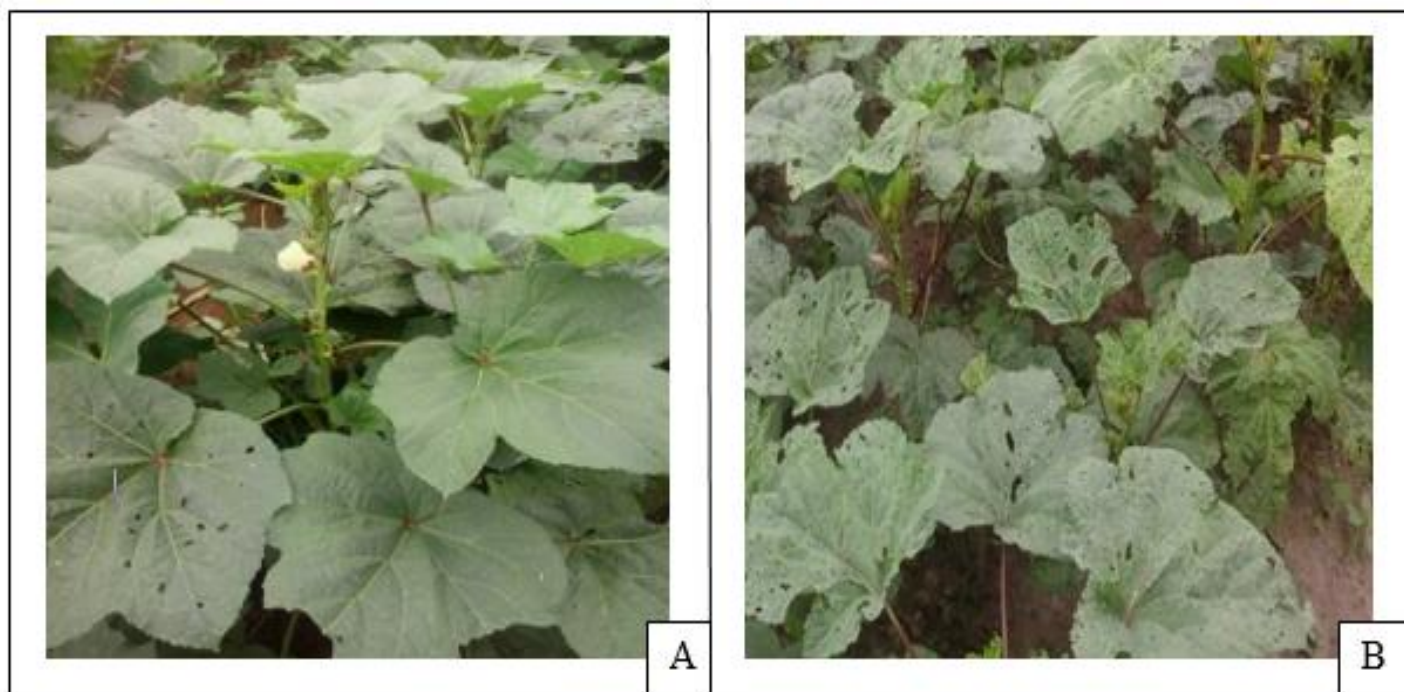


Fig. 54. Parcelles de culture de gombo (A) : Plantes de gombo montrant l'effet de la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* ; (B) : Plantes témoins de gombo.

### III.1.3.5.4. Avantages par rapport de la bioformulation sur les fertilisants chimiques

Ils développent deux types de mécanismes pour une meilleure production végétale :

- Mécanismes directs
- Biofertilisation par dégradation de la matière organique pour la nutrition minérale des plantes ;
- Rhizomédiation et phytostimulation dans la biodégradation des polluants organiques ;
- Régulation de stress.



- Mécanismes indirects se manifestent principalement sous la forme de biocontrôle des phytopathogènes à travers la compétition pour les nutriments, la lyse enzymatique, l'antibiose (production des molécules bioactives pour éliminer le phytopathogène).

Les fertilisants chimiques ont l'avantage d'apporter de façon directe les ressources minérales nécessaires à la croissance et à la production des plantes mais les conséquences qu'ils posent sont énormes :

- Pollution des sols et des nappes phréatiques due à la libération des métallogènes ;
- Augmentation de l'acidité des sols en détruisant les bactéries fixatrices d'azote ;
- Risques d'affection lors de leurs manipulations en agriculture.

#### **III.1.3.5.5. Recommandations**

La conservation de la formulation poudreuse réalisée peut se conserver jusqu'à deux ans à température ambiante, et à l'abri des fluctuations solaires au bout desquels l'effet diminue avec formations des grumeaux de couleur grisâtre.

- Respecter les doses recommandées dans le mode d'emploi,
- Conserver à l'abri des fluctuations solaires et à sec,
- Appliquer une semaine avant les semis et en plein champ, appliquer environ à 10 cm autour de la plante,
- Appliquer 40 g de formulation par plante pour les légumineuses.

#### **III.1.3.5.6. Élaboration de mise en œuvre**

La production du biofertilisant passe par le choix du matériel brut devant servir de support qui à son tour doit prendre en compte, sa disponibilité, sa qualité non toxique et son coût. Il devra également supporter la croissance des souches microbiennes tout en les maintenant actif sur une période relativement longue. L'élaboration de 50kg du biofertilisant à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* a pris en compte en dehors des souches microbiennes, l'utilisant du matériel suivant :

- 1kg de souches microbiennes ;
- 50kg de son de riz ;
- 1kg de sucre brun.

### Discussion partielle 3

Cette partie avait pour but de déterminer l'effet de la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* sur le profil nutritionnel du gombo. Les résultats de l'analyse de la composition biochimique du gombo ont permis de placer les fruits issus du traitement T1 comme celles ayant une meilleure constitution nutritionnelle par rapport au témoin. Les teneurs de la majeure partie des composants dosés sur le gombo séché ont été fortement significatifs par rapport à ceux du témoin plus précisément en protéines dont le taux a doublé dans le traitement T1 pour les deux variétés de gombo dans les différents sites. Les études menées par Silue (2017) ont démontré que les teneurs en constituants nutritionnels du gombo augmentent considérablement grâce au séchage qui conduit à la diminution de leur contenu en eau.

La teneur en fibre n'a pas varié entre le traitement et le témoin mais toutefois a doublé par rapport à la valeur standard pour les mêmes variétés. Ceci peut s'expliquer par la distribution et la biodisponibilité des minéraux due à l'action des microorganismes du traitement qui a contribué à renforcer les teneurs des fibres des plantes au cours de leur croissance dans les différents traitements. Les fibres ont un fort pouvoir hydrophile capables donc d'absorber jusqu'à 20 fois leur poids en eau. Cette capacité de rétention d'eau facilite ainsi le transit intestinal. Ces fibres vont donc former un gel visqueux qui tapisse la paroi de l'intestin et ralentissant ainsi l'absorption intestinale en glucide et cholestérol (Bibata *et al.*, 2017). Le taux en fer chez les plantes ( $<10\%$  /100 g) également augmenté, ceci dû à la capacité des microorganismes de la bioformulation à favoriser son acquisition au niveau du sol sous forme de fer ferrique et de le transformer en fer ferreux utilisable par les végétaux grâce à une réductase racinaire (Barbara, 2021). Le fer intervient dans les différentes voies métaboliques de la plante telles que la photosynthèse, la respiration, la fixation et l'assimilation de l'azote et la synthèse de l'ADN (Jean-François, 2005). Le taux élevé de magnésium est impliqué directement dans la croissance de la plante, dans la synthèse, le transport et le stockage des sucres. Une corrélation positive et très significative est observée entre le taux de magnésium et la longueur des fruits et significative avec le taux de sucres dans ces fruits. Il existe également une corrélation positive entre le taux de zinc et le taux de sucres. Il a été démontré que la présence du zinc chez les végétaux favorise la conversion de l'amidon en sucres. La teneur élevée en potassium proviendrait de la stimulation

des racines du gombo par *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* pour une meilleure absorption et dont le rôle est de favoriser la translocation de l'amidon des feuilles vers les organes de stockage (Jean-François, 2005) d'où le poids moyen des fruits dans ce traitement était élevé. Ainsi, une corrélation positive est enregistrée entre la longueur des fruits et la concentration en potassium. La teneur en sodium des fruits de gombo est corrélée à l'émergence des plantes ce qui signifie que cette teneur proviendrait de l'absorption racinaire au niveau du sol, stimulé par les potentiels microorganismes constituant la bioformulation T1 car les teneurs diffèrent entre la parcelle traitée et le témoin pour un sol de même nature. Ceci est justifié par les travaux de Maroua (2018) sur les caractérisations moléculaires chez l'olivier sous l'effet de *Trichoderma harzianum*. Ce dernier aurait donc la capacité d'augmenter la valeur nutritionnelle des produits agricoles (Yonsel & Demir, 2013). Son effet synergique avec *Bacillus amyloliquefaciens* amplifierait ainsi la teneur en nutriments. Il s'est établi une forte corrélation entre les propriétés nutritionnelles du gombo et ses concentrations aux différents enzymes du stress oxydant. Certains paramètres nutritionnels à l'instar du cuivre, fer, zinc ont donc considérablement augmenté l'activité antioxydante du gombo (Guillouty, 2016). Certaines de ces enzymes à l'instar de la SOD pour une activité optimale doivent fusionner avec ces antioxydants exogènes. Les différentes analyses nutritionnelles du gombo montrent les capacités de la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* (T1) à stimuler les diverses voies de sécrétion et d'absorption des nutriments par la plante de gombo. Il ferait de ses fruits un aliment biofortifié de par son contenu en divers nutriments. L'itinéraire technique de la bioformulation est pratique et à coût réduit grâce au matériel local utilisable pour sa conception. Il dispose des avantages d'utilisation sur le plan écologique et environnemental dans la mesure où il active le microbiote du sol et reste non nocif lors de sa manipulation.

### **Conclusion partielle 3**

Il ressort de cette partie que le gombo semé à base de la formulation de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* possède des teneurs élevées en certains nutriments tels que le glucose, les protéines, les fibres, le cuivre, le fer, le calcium, le sodium, le zinc. Son contenu en constituants nutritifs dont certains ont des rôles antioxydants peut ainsi être conseillé en tant qu'aliment biofortifié. Il peut être indiqué sur le plan alimentaire pour une consommation accrue dans le but de réduire et de lutter contre certaines pathologies créées à l'organisme.

## DISCUSSION GÉNÉRALE

La présente étude visait à analyser l'impact des biofertilisants à base des microorganismes bénéfiques sur l'amendement des sols et sur le profil nutritionnel du gombo. Les analyses factorielles des données mixtes et les corrélations à partir du coefficient de Pearson établissent les relations existantes entre les paramètres physicochimiques ; agromorphologiques et nutritionnels sous l'effet des traitements. Il s'établit une influence positive et significative des traitements vis-à-vis de ces paramètres. Il est à noter que des trois formulations faites, l'effet du traitement à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* a été très significatif et positif sur les paramètres physicochimiques des sols et agromorphologiques du gombo. Ceci lié à l'action de *Trichoderma harzianum* (trichorzianines A et B, trichorzines) et *Bacillus* spp. (l'amylocycline) qui secrètent un large spectre de substances bioactives modifiant la structure physicochimique du sol par solubilisation de la matière organique. Chenu (2014) a démontré que *Bacillus amyloliquefaciens* contribue à la stabilité des agrégats du sol déterminant les propriétés physiques et chimiques tout en modifiant l'arrangement des particules du sol. La croissance en hauteur des plantes était liée à la capacité de production des molécules telles que le glycérol 1-palmitate ayant la capacité d'augmenter les paramètres morphologiques de la plante. Raja et al. (2020) ont démontré que la fixation de *Trichoderma harzianum* favorisait l'absorption et l'augmentation en concentration de quelques éléments nutritifs « dissouts » par la plante dans la solution du sol comme le cuivre, le fer, le manganèse, le phosphore et le sodium. Ceux-ci participent à la restructuration morphologique du végétal.

Le rendement a été également significatif entre les traitements et le témoin et entre le traitement T1 et les autres traitements. Ceci serait liée aux effets synergiques des bioformulations à l'instar de la formulation T1 dont les effets de par les molécules produites telles que le palmitoyl chloride ont amélioré le potentiel d'acquisition du potassium du sol par les plantes. Ce dernier favorise ainsi la synthèse et la translocation des sucres vers les organes de stockage donc les fruits d'où l'augmentation du poids des fruits par traitement. Le rendement de gombo était ainsi lié au poids des capsules par plante, ceci justifié par les travaux de Sawadogo et al. (2006) où la productivité du gombo en champ a été fortement influencée par le nombre et le poids des capsules. Le coefficient de pearson a ainsi révélé une corrélation positive et significative entre le poids des fruits et la longueur des fruits (0,89).

Le profil nutritionnel chez les deux variétés de gombo a varié du fait de la capacité des microorganismes de la formulation T1 à améliorer le statut nutritionnel des sols qui à leur tour, influençaient les paramètres agromorphologiques du gombo et par conséquent l'augmentation en teneur des nutriments. Une corrélation positive et significative s'est ainsi établie entre la longueur des fruits et le potassium (0,70) ; les glucides (0,92) ; les protéines (0,95) ; le cuivre des fruits (0,86) et le sodium des fruits (0,84) et entre le poids des fruits et le magnésium des fruits (0,90) ; le potassium de fruits (0,96) ; le potassium du sol (0,74). La corrélation entre le potassium du sol et le taux de glucides des fruits vient du fait que les photoassimilats issus de la photosynthèse aient été dirigés vers les organes de stockage.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

L'étude conduite sur « l'analyse de l'impact des bioformulations à base des microorganismes bénéfiques sur les propriétés physicochimiques du sol et les performances agronomiques et nutritionnelles de *Abelmoschus esculentus* L. » avait pour objectif d'améliorer la productivité et les qualités nutritionnelles du gombo dans les zones agroécologiques III, IV et V à travers les bioformulations à base des microorganismes bénéfiques. En effet, l'étude relève d'une importance majeure dans la mesure où la faible fertilité des sols et des techniques de culture utilisées pour booster la production agricole conduisent à la réticence des cultures de certaines légumineuses à l'instar du gombo au Cameroun. Au regard de la faim qui mine le monde plus particulièrement dans les pays en développement, il est important de se tourner vers la recherche des techniques d'agriculture moderne afin d'améliorer la fertilité des sols. Ceci vise à réduire la famine au travers de la production végétale optimale tout en protégeant l'environnement contre les polluants synthétiques. Le choix des zones agroécologiques III, IV et V du Centre s'est fait dans la mesure où elles constituent des milieux de culture importante du gombo généralement en agriculture de subsistance malgré les contraintes de plus en plus récurrentes. Trois types de bioformulations constituées à savoir T1 (*Bacillus amyloliquefaciens* et *Trichoderma harzianum*) ; T2 (*Bacillus velezensis* et *Bacillus amyloliquefaciens*) et T3 (*Bacillus velezensis* et *Trichoderma harzianum*).

Au terme des diverses analyses, le traitement T1 a eu un impact significatif sur les propriétés physicochimiques du sol et les performances agronomiques du gombo par rapport aux autres traitements et au témoin. Les premières observations faites sur l'analyse des paramètres physicochimiques des sols témoins de culture montrent qu'ils sont acides et moyennement riches en minéraux. Les bioformulations ont donc joué le rôle de correcteur de sols en tant que chélatant et complexant et aussi d'inhibiteur de nitrification pour diminuer l'acidité du sol. La performance de la bioformulation à base de *Bacillus amyloliquefaciens* et *Trichoderma harzianum* au-dessus des autres traitements met en exergue son influence significative sur les paramètres agromorphologiques testés tels que l'émergence, la taille, la vigueur et le poids moyens de fruits par traitement, montrant ainsi. Elle aurait agi ici comme additif agronomique, biostimulant et situmulateur de défense des plantes. Elle peut être ainsi valablement considérée comme bioformulation adéquate de culture pour améliorer la production du gombo dans les différentes zones agroécologiques au travers des mécanismes de biocontrôle et de nutrition minérale.

Le criblage phytochimique des accessions traitées par la formulation à base de *Bacillus amyloliquefaciens* et *Trichoderma harzianum* (T1) a permis de constater une surexpression des métabolites secondaires chez les plantes par rapport au témoin. Certains de ces derniers ont été identifiés comme améliorant le système de défense des plantes de gombo contre les phytopathogènes et agents ravageurs ou en tant que bactéricide. En ce qui concerne l'activité antioxydante du gombo dont l'importance est de réduire les radicaux libres susceptibles de causer certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires, l'arthrose, certains cancers et bien d'autres, il a été observé qu'elle augmente significativement chez les plantes traitées à la bioformulation T1 par rapport au témoin. Tous les tests élaborés à savoir ABTS, DPPH et FRAP dans le but d'évaluer cette activité ont été significatifs mettant en première position le traitement T1 par rapport au témoin. Il en est de même pour ce qui est de l'activité spécifique des enzymatiques du stress oxydant évaluée à l'instar de la catalase, la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase qui a été élevée dans les fruits du traitement issu du traitement.

Les teneurs en nutriments comme le taux de glucides, de magnésium, de sodium, de potassium, de cuivre et de fer ont significativement augmenté dans les fruits du traitement.

Au vu de tout ce qui précède, la bioformulation à base de *Trichoderma harzianum* et *Bacillus amyloliquefaciens* est adaptée à l'amendement du sol et à l'amélioration du rendement du gombo. Les fruits y relatifs sont ainsi biofortifiés et seraient adéquats de par leur contenu, conseillés comme aliment pour lutter contre certaines pathologies générées ou non par la libération des radicaux libres. Cette bioformulation via ses coûts constructifs est très accessible au petit paysan, sa réalisation est facile et donne un meilleur rendement sans nuire à l'environnement et aux êtres vivants. Elle peut être trouvée au Centre de biotechnologie de Nkolbisson pour un début.

## **PERSPECTIVES**

L'utilisation des microorganismes bénéfiques dans l'agriculture biologique constitue un atout majeur dans le but de réduire la famine tout en améliorant la santé des agroécosystèmes et activités biologiques des sols. Il est donc important de considérer les résultats de ce travail et d'y apporter des améliorations. Des études ultérieures peuvent être portées sur :

- L'utilisation de cette bioformulation sur d'autres espèces végétales et dans d'autres zones agroécologiques ;
- L'identification des gènes responsables de la surexpression des molécules bioactives et des marqueurs nutritionnels du gombo.
- Réaliser une bioprospection des souches indigènes et comparer leur efficacité avec les souches importées.



## BIBLIOGRAPHIE

- Abdoul A.S., Houssou M. & Akoulong C.J., 2008. *Diagnostic du système national de recherche et de vulgarisation agricole du Cameroun et stratégie de renforcement des capacités pour la dissémination des connaissances et des technologies agricoles*. SNRVA, pp 5-11
- Abeer A.G., Kamar M., Abd E-H., Ayman Y., El-k., Noha M., Eldadamony, Samy F., Mahmoud & Ashraf E., 2021. Enhancing the Potentiality of *Trichoderma harzianum* against *Pythium* Pathogen of Beans Using Chamomile (*Matricaria chamomilla*, L.) Flower Extract. *Molecules*, 26: 1178-1197.
- Abriouel H., Franz C. M. A. P., Omar N. Ben & Galvez A., 2011. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiology Reviews*, 35: 201–232.
- Adeyemi N.O., Atayese M.O., Olubode A.A. & Akan M.E., 2019. Effect of commercial arbuscular mycorrhizal fungi inoculant on growth and yield of soybean under controlled and natural field conditions. *J. Plant Nutr.*, 16: 85-101.
- Adjanohoun A., Noumavo P. A., Sikirou R., Allagbé M., Gotoechan-Hodonou H., Dossa K. K., Yèhouéno B., Glèlè Kakaï R. & Baba-Moussa L., 2017. Effets des rhizobactéries PGPR sur le rendement et les teneurs en macroéléments du maïs sur sol ferrallitique non dégradé au Sud-Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 6: 279-288.
- Ahemad M., & Kibret M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science*, 10: 10-16.
- Alghazall M., Lenarto V., Holovska K., Sobekova A. & Falis M., 2007. Activities of antioxidant detoxifying enzymes in rat after lead exposure. *Acta Vet. Brno*, 77: 374-354.
- Al-Kanani E.A.S., Al-Hilifi S.A.H., Al-Kareem A.H. 2019. The nutritional composition and vitamin E of three Iraqi okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seeds oil. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 388 : 42-58.
- Allane T., & Benamara S., 2010. "Activités antioxydantes de quelques fruits communs et sauvages d'Algérie." *Phytothérapie*, 8:171-175.
- Alori E.T. & Babalola O.O., 2018. Microbial inoculants for improving crop quality and human health in Africa. *Front. Microbiol.*, 9: 13-22.
- Amalia R., & Miguel A. 2023. Microbial antibiotics take the lead in the fight against plant pathogens. *Applied Microbiol. Int.* 6 :28–33.
- Amrouch A., & Yaya K., 2017. *Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extraits aqueux de feuilles de Moringa oleifera*. Master. Université de Béjaïa, 48 : 9-12.
- Andrabi M., Vaid A., & Razdan V.K., 2011. Evaluation of different measures to control wild causing pathogens in chickpea. *J. Plant.Prot. Rest.*, 50:172-178.

- Anonyme, 1990. Official method of Analysis, Association of official Analytical chemists, food composition, Official Analytical Chemists, additives natural contaminant. *Adrich RC éd.*, Vol 2, 15<sup>ème</sup> éd., USA. 14p.
- Anonyme, 2007. Les cultures maraichères. *Place d'Armes*, 97232 LAMENTIN. 2p.
- Anonyme, 2009. An update of the angiosperm polygeny group classification for orders and families of flowering plants: *APG II. Bot. J. Linn. Soc.*, 161: 105-121.
- Anonyme, 2010. Fiches techniques valorisées des cultures maraichères et industrielles. *Ministère d'Agriculture et de développement rural*, pp. 1-13.
- Anonyme, 2012a. Calcul de la fertilisation azotée. *Le Diamant A 92909 Paris*. La Défense Cedex, 5p.
- Anonyme, 2012b. Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires comité du codex sur les fruits et légumes frais. Commission du CODEX Alimentarius. [www.codexalimentarius.org](http://www.codexalimentarius.org)
- Anonyme, 2013. Chemical and physical property data on over 40000 compounds. *WebBook of chemistry, SRD n°69*.
- Anonyme, 2014. Extension d'usage pour la préparation de TRIAMUN G. à base de *T. harzianum*. Société Koppert, France, N°1107, pp. 12-18.
- Anonyme, 2017. *Learning tool on Nationally Appropriate Mitigation Actions (NAMAs) in the agriculture, forestry and other land use (AFOLU) sector.*, Rome: FAO, 17p.
- Anonyme, 2019a. *Intervention en milieux agricole*. Guide de doctrine opérationnelle, 29p.
- Anonyme, 2019b. Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires comité du codex sur les fruits et légumes frais. *Commission du CODEX Alimentarius*. [www.codexalimentarius.org](http://www.codexalimentarius.org), 20p.
- Arora A. Sairam R.K. & Srivastava G.C., 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Curr. Sci. Bangalore*, 82 : 1227-1238.
- Aurousseau B., 2002. "Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits." *Productions Animales*, 15: 67-82.
- Baize D., 2000. Panosols in the « champagne Humide » region, France: a multi-approach study. *Pedology*, 138p.
- Barakat I., Chtaina N. EL, Guilli M. & Ezzahiri B. 2019. Efficacité de *Bacillus amyloliquefaciens* et *Trichoderma harzianum* dans le bio-contrôle de la septoriose du blé par enrobage des semences. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, 13 : 9-18.

- Barbara F., 2021. *Développement de stratégies de coculture favorisant l'amensalisme ou la coopération entre les agents de biocontrôle : Bacillus velezensis et Trichoderma harzianum*. Thèse de doctorat, Université de Lille., 33p.
- Barbara F., Sebastien S., Catherine H., Alice D., Barbara D., Vincent P., Frank D. & Philippe J. 2022. Coculture of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus velezensis* Based on Metabolic Cross-Feeding Modulates Lipopeptide Production. *Microorganisms*, 10: 1059.
- Beneduzi A., Ambrosini A., & Passaglia L. M. P., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Nat. Rev.Microbiol.*, 84 : 123-131.
- Benhamou N. & Rey P., 2012. Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable. *Phytoprotection*, 92 :1-23.
- Benhamou N., & Picard K., 2000. La résistance induite : une nouvelle stratégie de défense des plantes contre les agents pathogènes. *Phytoprotection*, 80 : 137-168.
- Benhamou N., 2009. La résistance chez les plantes : principes de la stratégie défensive et applications agronomiques. *Lavoisier*, France. 376 p.
- Benyamina-B A., 2017. Etude des effets de l'extrait d'*artemisia absintium* L. chez les rats intoxiqués au plomb. Etude neurocomportementale, biochimique et in silico des composés d'*artemisia absintium* L. à potentiel thérapeutique ciblant les récepteurs du système nerveux central. Université d'Oran 1. *Thèse de doctorat*, chap 2, 235 : 130-133.
- Benzie I. F. F. & Strain J. J., 1996. "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay." *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
- Benzohra I.E., Bendahmane B.S. & Youcef B.M., 2016. Essais de lutte biologique *in vitro* par l'utilisation de *Trichoderma harzianum* et de *Trichoderma viride* contre *Ascochyta rabiei*, agent de l'antracnose du pois chiche en Algérie. *Journal Algérien des Régions Arides*, 13 : 51-60.
- Berger M., & Que Y., 2009. "Traitement nutritionnel du grand brûlé." *Réanimation*, 18 : 694-701.
- Bibata K., Rasmata N., Koudbi J.Z., Badoua B., Sékeyoba L.N. & Zoumbiéssé T., 2017. Evaluation of agro-physiological and biochemical parameters of a variety and four accessions of gombo [*Abelmoschus esculentus* (L.) moench] grown under natural field conditions. *Int. J. of Rec. Sci. Res.*, 10 : 21154-21162.
- Boukri NE.H., 2014. *Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-elhanout*. Master, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie, 99 p.
- Buol S., Southard R., Graham, R., McDaniel, P., 2011a. Morphology and Composition of soils. *soil Genesis and Classification, Sixth Edition*, 5: 35-87.

- Buol S.W., Southard R.J., Graham R.C., McDaniel P.A., 2011b. Soil genesis and classification. *John Wiley & sons*, 13: 80-97.
- Carbonneau A., 1976. Principes et méthodes de mesure de la surface foliaire. Essai de caractérisation des types de feuilles dans le genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plant*, 26:327-343.
- Chance B. & Maelhy A.C., 1955. Assays of catalases and peroxidases. *Methods enzymol.*, 2: 764-775.
- Chaverri P., Branco-Rocha F., Jaklitsch W.M., Gazis R.O., Degenkolb T. & Samuels G.J., 2015. Systematic of *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains. *Mycologia*, 107: 558-590.
- Chen J., Li S., Luo J., Wang R., Ding W., 2016. Enhancement of the antibacterial activity of silver nanoparticles against phytopathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum* by Stabilization. *J. Nanomater.*, 20 : 71-85.
- Chenu C., Klumpp K., Bispo A., Angers D., Colnenne C. & Metay A., 2014. Stocker du carbone dans les sols agricoles : évaluation de leviers d'action pour la France. *Innovations Agronomiques*, 37:23-37.
- Cho H.K. & Koyama A., 1997. Korean natural farming: indigenous microorganisms and vital power of crop/livestock. *K. Nat. Farming.*, 172p.
- Chrispaul M., David MM., Joseph OA. & Samuel OV., 2010. Effective microorganisms and their influence on growth and yield of pigweed (*Amaranthus dubians*). *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 5:1-4.
- Claire P., Nicolas C., James D., 2008. Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *C. R. Biologies*, 331: 255–261
- Cristina R-G., Victor B., Fernando M-C., Inmaculada L. & Emilia Q., 2015. *Bacillus velezensis* sp. Nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Vélez in Malaga, southern Spain. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55 : 191-195.
- Dantas T.L., Alonso Buriti F.C., Florentino E.R. 2021. Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) as a Potential Functional Food Source of Mucilage and Bioactive Compounds with Technological Applications and Health Benefits. *Plants*, 10:1683.
- Dazy M., Masfarau J.-F. & Féraud J.-F., 2009. Induction of oxidative stress biomarkers associated with heavy metal stress in *Fontinalis antipyretica*. *Chemosphere*, 75 : 297-302.
- De Jaeger N., de la Providencia I.E., Rouhier H., Declerck S., 2011. Co-entrapment of *Trichoderma harzianum* and *Glomus* sp. within alginate beads: Impact on the arbuscular mycorrhizal fungi life cycle. *J. Appl. Microbiol.*, 111 : 125–135.

- De Lannoy G., 2001. Gombo *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. In : Agriculture en Afrique Tropicale. Légumes. *Direction Générale de la Coopération Internationale (DGCI)*. Paris, France, 6 :478-484.
- Dorian F., 2015. Les microorganismes efficaces. Compilation de documents et de témoignage cubains sur le fonctionnement, la production artisanale et l’usage de microorganismes efficaces en milieu paysan. *Station expérimentale, Terre&humanisme*, pp. 9-12.
- Du Jardin P., 2015. Plant biostimulants : Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196 : 3-14.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Pebers P.A and Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.
- Eifediyi E.K., Mohammed K.O. & Remison S.U., 2015. Effects of neem (*Azadirachta indica* L.) Seed cake on the growth and yield of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Agriculture*, 21: 46-52.
- El-Daim I.A.A., Bejai S. & Meijer J., 2014. Improved heat stress tolerance of wheat seedlings by bacterial seed treatment. *Plant and Soil*, 379:337-350.
- Elia A.C., Dörr A.J.M., Mastrangelo C., Prearo M. & Abete M.C., 2006. Glutathione and antioxidant enzymes in the hepatopancreas of crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) of Lake Trasimeno (Italy). *Bulletin Francais de la Pêche et de la Protection des Milieux Aquatiques.*, pp. 1351-1361.
- Elia A.C., Dörr A.J.M., Prearo M., Taticchi M.I. & Abete M.C., 2007. Detoxification enzymes of freshwater crayfish *Procambarus clarkii* fed a diet enriched in selenium: *Preliminary results. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 40 : 195-199.
- Emmanuel M., 2008. *Aloe vera (l.) burm. f. Aspects pharmacologiques et clinique*. Thèse de doctorat, Université de Nantes, Nantes, 224 p.
- Endamana D. & Sonwa D., 1998. Augmenter la productivité en milieu rural à forte pression foncière de la zone de forêt du Sud Cameroun. *Rapport des activités de recherche de Nkometou III*, 34p.
- Faessel L., Gomy C., Nassr N., Tostivint C., Hipper C. and Dechanteloup A., 2014. Produits de stimulation en agriculture visant à améliorer les fonctionnalités biologiques des sols et des plantes. Étude des connaissances disponibles et recommandations stratégiques, rapport d’étude au ministère de l’Agriculture, de l’Agroalimentaire et de la Forêt. *Bio by Deloitte et RITMO Agroenvironnement*, 148 p.
- Fatema B. H., Narges M., Simon G., Steffen R., Kristin D., Wilfried R., Klaus H., Joerg G., Gunter N. & Ingo S. 2022. Synergistic Effects of a Root-Endophytic *Trichoderma* Fungus and *Bacillus* on Early Root Colonization and Defense Activation Against *Verticillium longisporum* in Rapeseed. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 35: 380-392.

- Gordon D.T. & Okuma K., 2002. Determination of total dietary fiber in selected foods containing resistant maltodextrin by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: collaborative study. *J. AOAC Int.*, 85: 435-444.
- Guel A., Kidoglu F., Tuzel Y., & Tuzel I.H., 2008. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growing in perlite. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6 :422-429.
- Guillouty A., 2016. Plantes médicinales et antioxydants. Mémoire docteur d'Etat, Université Toulouse III Paul Sabier, France. 101p.
- Hamon M., Pellerin F., Guenet M. et Maauzier G., 1990. Abréges chimie analytique. Méthodes spectrales et analyse organique. Tome 3. 2eme édition. Masson. Paris., pp. 232-233.
- Haoua J., Sawadogo M. & Millogo J., 2011. Caractérisations agromorphologique et anatomi que du gombo du Yatenga et leur lien avec la nomenclature locale des variétés. *Sciences & Nature*, 8 : 23 – 36.
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I. & Lorito M., 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 43-56.
- Higa T., 1991. Effective microorganisms: a biotechnology for mankind. *USDA, Whashington, D.C., USA*, pp 8–14.
- Higa T., 1996. Effective microorganisms: Their role in Kyusei Nature Farming. In: Parr J.F., Hoitink H.A.J., Madden L.V., and Dorrance E.A. (2006). Systematic resistance induced by *Trichoderma* spp: Interaction between the host the pathogen, the bio-control agent and soil organic matter quality. *Phytopathol.*, 96 :186-189.
- Howell C.R., 2003. Mechanisms imployed by *Trichoderma* species in the biological control of diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87: 4-10.
- Ibeawuchi I.I., Dialoke S.A., Ogbede K.O., Ihejirika G.O., Nwokeji E.M., Chigbundu I.N., Adikuru N.C. and Oyibo P.O., 2007. Graded replacement of inorganic fertilizer with organic manure for sustainable maize production in Owerri Imo State, Nigeria. *Journ. of American Sc.*, 3:49-59.
- Idowu, G. A., Oyewale, R. O.b., Bolajoko, M. H., Ibrahim, R. O., Isah, C. 2022. Management of insect pests of okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *International Journal of Life Science Study*, 3: 7-13.
- Irabor A. & Mmbaga M., 2017. Evaluation of selected bacterial endophytes for biocontrol potentail against Phytophthora blight of bell pepper (*Capsicum annum* L.). *J. Plant Pathol. Microbiol.*, 8: 424.
- Jean-François B., 2005. Le fer du sol au végétaux. Académie Nationale de Médecine, *Communication scientifique*, 1p.

- Jeyaraman M. & Robert P.S., 2018. Bio efficacy of indigenous biological agents and selected fungicides against Branch Canker Disease of (*Macrophoma Theicola*) tea Under Field Level. *BMC Plant Biol.*, 18: 222.
- Jian-L.Z., Wen-Li T., Qing-R. Huang, You-Zhi L., Mao-Lian W., Lin-Lin J., Chong L., Xin Y., Hong-Wei Z., Guo-Zhong C. & Xing-Xiao Z., 2021. *Trichoderma*: A treasure house of structurally diverse secondary metabolites with medical importance. *Front. In Microbiol.*, 12 : 723828.
- Joffin J. N., & Leyral G., 1996. Microbiologie et technique. Centre Régional de documentation Pédagogique d'Aquitaine, *Bordeaux, France*, pp.216-223.
- Jolanta J., Renata T., Artur N., Ewa O., Malgorzata M., Agnieszka H., Katarzyna T., Anna P., & Grzegorz J., 2019. Phytohormones (Auxin, Gibberellin) and ACC Deaminase *In Vitro* Synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedling inoculated with this strain conidia. *Int. J. Mol. Sci.*, 20:1-35.
- Juhos K., Madarász B., Kotroczó Z., Béni Á., Makádi M., Fekete I., 2021. Carbon sequestration of forest soils is reflected by changes in physicochemical soil indicators. A comprehensive discussion of a long-term experiment on a detritus manipulation. *Geoderma*, 385, 114918.
- Júlia F., Miroslav Š., Tomáš K., Andrea V., Mária T., Ivana M. and Alena A. 2022. Yield, Antioxidant Activity and Total Polyphenol Content of Okra Fruits Grown in Slovak Republic. *Horticulturae*, 8: 966.
- Kanfou R.E., Gnawé M., Agbangnan D.C.P., Hounnankpon Y.D., Wotto V. & Sohounhloué C. K., 2018. Caractérisation physico-chimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de sept morphotypes de gombo (*Abelmoschus spp.*) cultivés au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 12: 1447-1458.
- Kavita & Nagaram S., 2021. Application of *Trichoderma viride* and *Bacillus subtilis* Leads to Changes in Antioxidant Enzymes, Proline, and Lipid Peroxidation under Salinity Stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Inter. J. of Plant & Soil Sci.*, 33: 187-197.
- Kengo Y. & Hui-lian X., 2000. Properties and applications of an organic fertilizer inoculated with effective microorganisms. *Journal of Crop production*, 1:255-268.
- Köhl J., Kolnaar R. & Ravensberg W. J., 2019. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Front. Plant Sci.*, 10:845. doi: 10.3389/fpls.2019.00845
- Kondjoyan N. & Berdagué J.L., 1996. A Compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds, *Edition du Laboratoire Flaveur, Theix*. NIST Webbook Website, 18/06/2013, <http://webbook.nist.gov/chemistry/>

- Law-Ogbomo K. E., 2013. Nutrient uptake by *Abelmoschus esculentus* and its effects on changes in soil chemical properties as influenced by residual application of fertilizer. *Journal of Soil Science and Environmental Management*, 4: 132-138.
- Lehucher-Michel M.P, Lesgards J. F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M., 2001. Stress oxydant et pathologies humaines : Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale*, 30 : 1076-1081.
- Leong LP. & Shui G., 2002. An investigation of antioxydant capacity on fruits in Singapore markets. *Food chem.*, 76: 69-75.
- Liang R., Hou R., Li J., Lyu Y., 2020. Ouyang Z. Effects of different fertilizers on rhizosphere bacterial communities of winter wheat in the north china plain. *Agronomy* 10: 93-105.
- Lim L. & Chai C., 2007. Performance of seven okra accessions. Senior officers Conference. *Departement of Agriculture, Sarawak.*, 12 p.
- Linnée, 1735. Systématique de la nature de Charles DE Linné française, Bruxelles, Lemaire pp 145.
- Liu K., John A.M., Chia-H.H & Joseph W.K., 2017. Mixture of plant growth promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple plant diseases and plant growth promotion in the presence of pathogens. *Plant disease*, 102: 67-72.
- Llanelo N., Stephen P., Bulalin, Augustina P. & Satur B., 2016. Effect of Different Bio Fertilizers Applied as Supplemental Foliar Spray on the Growth and Yield of Corn (*Zea Mays* L.). *Asia Pacific Journal of Multidisciplinary Research*, 4: 119-125.
- Luis A., Sandalio L.M., Altomare D.A. & Zilinskas B.A., 2003. Mitochondrial and peroxisomal manganese superoxide dismutase: differential expression during leaf senescence. *J. Exp. Bot.*, 54: 923-933.
- Macleod G. & Ames J.M., 1990. Volatile components of startfruit. *Phytochemistry*. Oxford: *Pergamon Press.*, 29: 165-172.
- Mahamadi H.O., Lardia A.B., Mahamadou S., Nerbéwendé S., Zakaria K. & Rasmata N., 2016. Modes of farmers' management of okra seeds (*Abelmoschus esculentus* L.) in Burkina Faso. *Internat. Journal of Dev. Research.*, 21: 69-80.
- Malik A., Mor V.S., Tokas J., Punia H., Malik S. & Malik K. 2020. "Biostimulant-treated seedlings under sustainable agriculture: a global perspective facing climate change. *Agronomy*, 11:14.
- Mandelker L., 2008. Introduction to oxidative and mitochondrial dysfunction. *Vet Clin: Small Anil Practice*. F. r. Oxidative stress: the role of mitochondria, and antioxydants, *Elsevier Inc.*, 38: 2-30.



- Marklund S. & Marklund G., 1974. Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem*, 47 :469-474.
- Maroua Ben A., 2018. *Etude de la relation mycoparasitaire Trichoderma harzianum avec Fusarium solani chez l'Olivier ; Caractérisations moléculaires et fonctionnelles des aquaporines chez Trichoderma harzianum*. Thèse doctorat. Université Clermont Auvergne, 246: 26-40.
- Mazen M.M., 2021. Combined Effects of Compost and Trichoderma spp. on Reducing Damping-off and Root Rot Diseases of Lentil Plants. *Egyp. J. of Phytopath.*, 49: 29-40
- Mbouobda H. D., Fotso, Carole A.D. Kilovis F. & Ndoumou D. O., 2013. Impact of effective and indigenous microorganism's manures on Colocassia *esculenta* and enzymes activities. *Schol. Research Library*, 12:1086-1092.
- Mbouobda H. D., Fotso, Margaret A. T., Muyang F. R., Njuaem D. K. & Omokolo D. N., 2014. Comparative study of EM and IMO manure on the growth of carrot (*Daucus carota* L.) and biochemical analysis. *Internat. Journal of Biochem.*, 19: 401-409.
- McCord J.M. & I. Fridovich. 1969. « The Utility of Superoxide Dismutase in Studying Free Radical Reactions. I. Radicals Generated by the Interaction of Sulfite, Dimethyl Sulfoxide, and Oxygen ». *The Journal of Biological Chemistry*, 244: 6056- 63.
- Mehata D. K., Kattel I., Yadav S. P. S., Bhujel S., Bhattarai S., Yadav P., Sapkota P., Timsina S., Lahutiya V. 2022. Varietal trial of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) for evaluation of yield and yield parameters. *Journal of Genetics, Genomics & Plant Breeding* 6:111-116.
- Melis B., Gursel H.K., 2021. Effects of *Trichoderma* and PGPR applications on growth and *Verticillium* wilt of eggplant. *Medit. Agri. Sci.*, 34: 267-272
- Michele S.M. Li, David A.P. & Ze-Chun Y., 2021. Evaluating the biocontrol potential of Canadian Strain *Bacillus velezensis* IB-23 via its surfactin production at various temperatures. *BCM Biotechnology*, 21: 31.
- Mohamad S.N., Radin S.R.Y., Mohamad M.A-B., Syafiqah M., Yaminudin, Murni K., Siti A.A. & Suriana S., 2021. A Review on the Biotechnological Applications of the Operational Group *Bacillus amyloliquefaciens*. *Microorganisms*, 9: 614.
- Mok SY. & Lee S., 2013. Identification of flavonoids and flavonoid rhamnosides from *Rhododendron mucronulatum* for. *albiflorum* and their inhibitory activities against aldose reductase. *Food Chem*, 136:969–74.
- Molyneux P., 2003. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity. *Songklanakarin J. sci. Techno.*, 26 : 211-219.

- Morgane G., 2013. Mécanismes moléculaires de la réponse des plantes aux radiations ionisantes. Exploration du rôle des glicosinolates dans la réponse antioxydante. Université de Rennes 1, *thèse de doctorat*, 223 : 94-98.
- Nana R., Zombre G., Tamin Z. & Sawadogo M., 2009. Effet du régime hydrique sur les rendements du gombo enculture de contre-saison (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) en culture de contre saison. *Sciences & Nature*, 6 : 107 – 116.
- Narasimha M.K., Arakere C., Udayashankar, Nirmaladevi D., Soumya K., Shubha J., Fazilath U., Chamanahalli K.P., Savitha D.B., Srinivas C. & Sudisha J., 2021. Ameliorated Antibacterial and Antioxidant Properties by *Trichoderma harzianum* Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles. *Biomolecules*, 11 : 535.
- Natalia L.-L., Vicente G.-G., Eugenia V.-C., José C.-G., Juan J.B. & Pablo M.-R. 2023. Comparison of the Efficacy of *Trichoderma* and *Bacillus* Strains and Commercial Biocontrol Products against *Grapevine Botryosphaeria* Dieback Pathogens. *Agronomy*, 13: 533.
- Ndangui C. B., Kimbonguila A., Nzikou J. M., Matos L., Pambou-Tobi N. P. G., Abena A. A., Silou TH., Scher J. & Desobry S., 2010. Nutritive Composition and Properties Physico-chemical of gumbo (*Abelmoschus esculentus* L.) Seed and Oil. *Research Journal of Environ. and Earth Sciences*, 2: 49-54.
- Nomura K., Imai H., Koumura T., Kobayashi T. & Nakagawa Y., 2000. Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase inhibits the release of cytochrome c from mitochondria by suppressing the peroxidation of cardiolipin in hypoglycaemia-induced apoptosis. *Biochem J.*, 351:183-193.
- Nono A., Likeng J.D.H., Wabo H., Tabue Y.H., & Biaya S., 2009. Influence de la nature lithologique et des structures géologiques sur la qualité et la dynamique des eaux souterraines dans les hauts plateaux de l'Ouest-Cameroun. *Int.J. Chem.Sci.*, 3: 218-239
- Nuzzo A., Satpute A., Albrecht U. & Strauss S.L., 2020. Impact of soil microbial amendments on tomato rhizosphere microbiome and plant growth in field soil. *Microbiol. Ecol.*, 80: 398–409.
- Nwaga D., Jansa J., Abossolo A. M., & Frossard E., 2010. The Potential of Soil Beneficial Micro-Organisms for Slash-and-Burn Agriculture in the Humid Forest Zone of Sub-Saharan Africa. *Soil Biology and Agriculture in the Tropics*, P. Dion (ed.), *Soil Biology*, 21p.
- Nzikou J.M., Mvoula T., Matouba E., Ouamba J.M., Kapseu C., Parmentier M., Oyen L.P.N. & Jemmens R.H.M.J., 2002. Ressources végétales de l'Afrique Tropicale. *PROTA précurseur*, 5 : 9-11.

- Oksana L., Ludmila P., Andrey B., Maryam S., Svetlana G., Sasan A., Darya K. & Igor M., 2019. *Bacillus* spp.: efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plants* 20 : 8, 97 ; doi:10.3390/plants8040097
- Olivera D., Ayala J., Calero A., Santana M., Hernandez A., 2014. Pratiques agroécologiques dans la province de Santi Spiritus, Cuba. *Les microorganismes efficaces, une technologie appropriée sur les bases agroécologiques*, 17p.
- Ongena M. & Jacques P., 2008. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16: 15–125.
- Oomah B. D., Caspar F., Malcolmson L. J., & Bellido A. S., 2010. Phenolics and antioxidant activity of lentil and peahulls. *Food Research International*, 44: 436-441.
- Oriane B., 2019. *Interaction microbienne entre Pseudomonas sp. CMR12a et Bacillus velezensis GAI au sein de biofilms synthétiques et in planta*. Master, Université de Liège, pp15-24.
- Pauwels J. M., van Ranst E., Verloo M., & Mvondo Ze A., 1992. Manuel de Laboratoire de pédologie. *Publications Agricoles N° 28*. Brielle's: AGCD, 34p.
- Pincemail J., & Defraigne J., 1999. "Les antioxydants : un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène." Presented at *Symposium « antioxydants et alimentation »*, Institut Danone, Bruxelles, 99p.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., & Defraigne J., 2004. "Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer." *Medi-Sphere*, 97 :29-33.
- Pinta M., 1976. Méthodes de références pour détermination des éléments dans végétaux : Détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Mn, Zn et Cu par absorption atomique, *Oléagineuse*, 28 : 87-92.
- Piromyou P., Buranabanyat B., Tantasawat P., Tittabutr P., Boonkerd N. & Teaumroong N., 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. *Euro. J. Soil Biol.*, 47: 44–54.
- Pulido R. L., Bravo & Saura-Calixto F., 2000. "Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3396-3402.
- Rababe E.-S., Houda T., Aïcha E.O., Latifa A., Patrick M., Alain B. & Ahmed L., 2020. Evaluation of Plant Growth Promoting Ability of *Bacillus amyloliquefaciens* Bc2 and *Trichoderma harzianum* TR in vivo. *Agricultural Sciences*, 11: 247-259.
- Rabbee M.F., Sarafat Ali M., Choi J., Hwang B.S., Jeong S.C. & Baek K. hyun., 2019. *Bacillus velezensis*: A valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes. *Molecules*, 10: 24-46.

- Raimi A., Ezeokoli O. & Adeleke R., 2019. High-throughput sequence analysis of bacterial communities in commercial biofertiliser products marketed in South Africa: an independent snapshot quality assessment. *3 Biotech.*, 9:108.
- Raja A.A.K., Saba N., Zhenchuan M., Jian L., Yuhong Y., Yan L. & Bingyan X., 2020. Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Bacteria and Root-Knot Nematode. *Microorganisms*, 8 : 401- 430.
- Rayene M. & Mihoubi R., 2017. *Activités antifongiques des métabolites secondaires de Trichoderma harzianum vis-à-vis de quelques champignons phytopathogènes*. Master, Université des Frères Mentouri Constantine 1. 73 : 12-16.
- Reino J.L., Guerrero R.F., Hernandez-Galan R. & Collado I.G., 2008. Secondary metabolites from species of the biocontrol of agent *Trichoderma*. *Phytochemistry*, 7: 89-123.
- Reva O.N., Dixelius C., Meijer J. & Priest F.G., 2004. Taxonomic characterization and plant colonizing abilities of some bacteria related to *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*. *FEMS microbiology ecology*, 48:249-259.
- Riley M.A., & Wertz J.E., 2002. Bacteriocin diversity: Ecological and evolutionary perspectives. *Biochimie*, 84: 14-21.
- Rouphael Y. & Colla, G., 2020. Editorial: biostimulants in agriculture. *Front. Plant Sci.* 11:40.
- Rustérucci C., Stallaert V., Milat M.L., Pugin A., Ricci P. & Blein J.P., 1996. Relationship between active oxygen species, lipid peroxidation, necrosis, and phytoalexin production induced by elicitors in *Nicotiana*. *Plant Physiol.*, 111: 885-891.
- Saad M.M., Ei A.A. & Hirt H., 2020. Tailoring plant-associated microbial inoculants in agriculture: a roadmap for successful application. *J. Exp. Bot.*, 71 : 3878–3901.
- Saka S, Bahi A. & Aouacheri W., 2011. L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats-Ann *Toxicol Anal.* (Française de Toxicologie Analytique), 23: 139-145.
- Samuels G.J., 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycological research*, 100: 923-935.
- Samuels G.J., 2006. *Trichoderma*: systematics, the sexual state and ecology. *Phytopathology*, 96 : 195-206.
- Saragoni H., Poss R., Marquette J. & Latrille E., 1992. Fertilisation et succession des cultures vivrières au sud du Togo : synthèse d'une expérimentation de longue durée sur terres de barre. *L'Agronomie tropicale*, 46 : 107-120.
- Sawadogo M., Balma D. & Zombre G., 2006. Expression de différents écotypes de gombo (*A. esculentus* L.) au déficit hydrique intervenant pendant la boutonnisation et la floraison. *BASE, Biotechnologie, Agronomie, Société, Environnement*, 10 : 43-54.

- Schippers R.R., 2000. African indigenous vegetables an overview of the cultivated species. *Agriculture fact book*, pp.24-37.
- Scholz R., Vater J., Budiharjo A., Wang Z., Hey Y. & Dietel K., 2014. Amylocyclin, a novel circular bacteriocin produced by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *J. Bacteriol.*, 196: 1842-1852.
- Serigne O.S., Alioune D.F., Rokhaya G., Amadou D., Khady D., Ndeye D., Bara N. & Yérim M.D., 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9: 1263-1269.
- Shaoqing W., Xinhua W., & Jie C. 2023. Identification of miRNAs Involved in Maize-Induced Systemic Resistance Primed by *Trichoderma harzianum* T28 against *Cochliobolus heterostrophus*. *J. Fungi*, 9 :278.
- Sharma A.B., Jha R.S., Dubey M. & Pessara k li., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot*, pp1-26.
- Siemonsma J.S. & Hamon S., 2004. *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. *Ressources végétales de l'Afrique Tropicale 2*. Fondation PROTA. Wageningen. Pays-Bas., pp. 25-30.
- Silue Y., 2017. *Effet du séchage solaire et de la cuisson à l'eau sur la digestibilité « in vitro » et les composés nutritifs du gombo au cours de la croissance*. Mémoire de Master, Université NANGUI ABROGOUA, pp. 43-46.
- Silvia T., Stefania P., Patrizia A., Liren H., Marina C., Cristina C., Jonas H., Antonella D.F., Alessia F., Andreas S., Alexander S., Elena M., Nelson M., Daniel N., Joseph N., Søren J.S., Giuseppe A., Chiara N., Ombretta P., Giusto G., Caterina G., Anne P., Andrea B. & Annamaria B., 2021. Identification of Beneficial Microbial Consortia and Bioactive Compounds with Potential as Plant Biostimulants for a Sustainable Agriculture. *Microorganisms*, 9:426.
- Singh A., Srivastava S. & Singh H.B., 2018. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. *Bioresource Technology*, 98 : 470-473.
- Soltner D., 2005. *Les bases de la production végétale. Le sol et son amélioration*. Tome I, 24emè édition ; collection Sciences et techniques agricoles. 40p.
- Sonto S.M., Hussein S., Abe S.G., Jacob M., & Admire S. 2022. Characterization of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Accessions with Variable Drought Tolerance through Simple Sequence Repeat Markers and Phenotypic Traits. *Diversity*, 14: 747.
- Soumare A., Boubekri K., Lyamlouli K., Hafidi M., Ouhdouch Y. and Kouisni L., 2020. From isolation of phosphate solubilizing microbes to their formulation and use as biofertilizers: status and needs. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 7: 425.

- Staff S.S.D., 1993. Soil survey manual. United States Department of Agriculture. 25p.
- Stamenkovic S., Beškoski V., Karabegovi I., Lazi M. & Nikoli N., 2018. Microbial fertilizers: A comprehensive review of current findings and future perspectives. *Span. J. Agric. Res.*, 16:2192. doi: 10.5424/sjar/2018161-12117
- Stevens J.M.C., 1988. *Une nouvelle combinaison dans Abelmoschus Medik. (Malvaceae), un gombo d'Afrique de l'Ouest et Centrale*. Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, séries 4, 10, section. B, Adansonia, 2: 137–144.
- Strobel G., Singh S. K., Riyaz-Ul-Hassan S., Mitchell A.M., Geary B. & Sears J., 2011. An endophytic/pathogenic *Phoma* sp. From creosote bush producing biologically active volatile compounds having fuel potential. *FEMS Microbiol. Letters*, 320: 87–94
- Sumathi T., Janardhan A., Srilakhmi A., Sai Gopal D.V.R. & Narasimha G., 2012. Impact of indigenous microorganisms on soil microbial and enzyme activities. *Schol. Research Library*, 4: 1065-1073.
- Terrell E.E. & Winters H.F., 1974. Changes in scientific names for certain crops plant. *Hort. Sci.*, 9: 324-325.
- Thomloui E.-E., Tsalgatiidou P.C., Douka D., Spantidos, T.-N., Dimou M., Venieraki A. & Katinakis P., 2019. Multistrain versus Single-Strain Plant Growth Promoting Microbial Inoculants-The Compatibility Issue. *Hell. Plant Prot. J.*, 12: 61–77.
- Valko M., Rhodes C.J. & Moncol J., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biol Inter.*, 160:1-40.
- Van der Wal A. & De Boer W., 2017. Dinner in the dark: Illuminating drivers of soil organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 105: 45-48.
- Velikova V., Yordanov I. & Edreva A., 2000. Oxydative stress and some antioxydant system in acid rain treated bean plant: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151: 59-66.
- Vessey J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255: 571-586.
- Vinale F., Sivasithamparam F., Ghisalberti E.L., Woo S.L., Nigro M., Marra R., Lombardi M., Pascale A., Ruocco M., Lanzuise S., Manganiello G. & Lorito M., 2007. *Trichoderma* secondary metabolite active on plant and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal*, 8: 127-139.
- Walkley A.J. & Black I.A., 1934. Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. *Soil Sci.*, 37: 29-38.

- Wang Y., Zhang L., Zhang H., Liu W., Zhang Y., Zhang X & Sun T., 2010. In vitro assessment of probiotic properties of *Bacillus* isolated from naturally fermented congee from Inner Mongolia of China. *World J Microbiol Biotechnol.*, 26:1369-1377.
- Yakhin O.I., Lubyantsev A.A., Yakhin I.A. & Brown P.H., 2017. Biostimulants in Plant Science: A global Perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7:1-32.
- Yassin M.T., Abdel-Fattah Mostafa A., Al-Askar A.A., Sayed S.R.M. & Radyc A.M., 2021. Antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* strains against some fusarial pathogens causing stalk rot disease of maize, in vitro. *J. King Saud Univ.Sci.*, 3: 3
- Yedidia I., Shoshitaishvili M., Kerem Z., Benhamou N., Kapulnik Y. & Chet I., 2003. Concomitant Induction of Systemic Resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lactucae* in Cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and Accumulation of Phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 7343-7353.
- Yin S., Song J., Fan J., Yan C., Dong S., Ma C. & Gong Z., 2020. Changes in soil organic carbon fractions and microbial community under rice straw return in Northeast China. *Glob. Ecol. Conserv.*, 22: 962–973.
- Ying L., Jingyi Q., Junyun L., Wen Q., Qingying L., Qing Z., Dingtao W., Derong L., Suqing L., Hongmin D. 2019. Okra in Food Field: Nutritional Value, Health Benefits and Effects of Processing Methods on Quality. *Food Rev. Int.*, 37 : 67–90.
- Yobo K. S., Laing M. D. & Hunter C. H., 2011. Effects of single and combined inoculations of selected *Trichoderma* and *Bacillus* isolates on growth of dry bean and biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off. *Afr. J. of Biotech.*, 10: 8746-8756
- Yonsel, Ş. & Demir, M., 2013. Dressing of Wheat Seeds with the PGP Fungus *Trichoderma harzianum* KUEN 1585. *Soil Water Journal*, 2: 1789-1796.
- Zemani N., 2009. Réponse de la germination des grains de Gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) à l'action combinée de la salinité et de la gibbérelline (GA3). *Magister en physiologie végétale*. pp. 23-24.
- Zerihun T., Dame., Mahfuz R. & Tofazzal I., 2021. Bacilli as sources of agrobiotechnology: recent advances and future directions. *Green Chem. Lett. and Rev.*, 14: 246-271.
- Zhang F., Chen C., Zhang F., Gao L., Liu J., Chen L., Fan X., Liu C., Zhang K. & Hea Y., 2017. *Trichoderma harzianum* containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase and chitinase improved growth and diminished adverse effect caused by *Fusarium oxysporum* in soybean. *J. Plant Physiol.*, 210: 84-94.

- Zhang F.Q., Wang Y.S., Lou Z.P. & Don J.D., 2007. Effect of heavy metal stress on antioxydative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots on two mangrove plant seedling (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorhiza*). *Chemosphere*, 64: 44-50
- Zhou Y., Yang L., Wang J., Guo L. & Huang J., 2021. Synergistic Effect between *Trichoderma virens* and *Bacillus velezensis* on the Control of Tomato Bacterial Wilt Disease. *MDPI Horticulturae*, 7 : 1-14
- Zoa P.A., 2017. *Utilisation des biofertilisations à microorganismes indigènes pour l'amélioration de la croissance et la productivité d'Abelmoschus esculentus cultivé dans la Région du Nord-Ouest Cameroun*. Mémoire Master, Université de Bamenda, 73 : 15-60.



# ANNEXES

Annexe 1. Préparation des solutions

Annexe 2. Courbes d'étalonnages ;

Annexe 3. Spectres de masses des témoins T0 et des traitements T1 ;

Annexe 3. Articles.

## **Annexe 1. Préparation des milieux de culture**

### **- Milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar)**

400 mL de jus de pomme de terre (obtenue de 200 g de pomme de terre) ; 20 g Glucose ; 20 g d'Agar sont dissous dans 600 ml H<sub>2</sub>O pH final 5,6 ± 0,2. Le mélange est cuit et autoclavé à 121°C, pendant 15 min.

### **- Milieu PDB (Potatoes Dextrose Broth)**

400 mL de jus de pomme de terre (obtenue de 200 g de pomme de terre) ; 15 g d'Agar sont dissous dans 600 ml H<sub>2</sub>O pH final 5,6 ± 0,2. Le mélange est cuit et autoclavé à 121°C, pendant 15 min.

### **- Milieu TSA (Gélose Tryptique de Soja)**

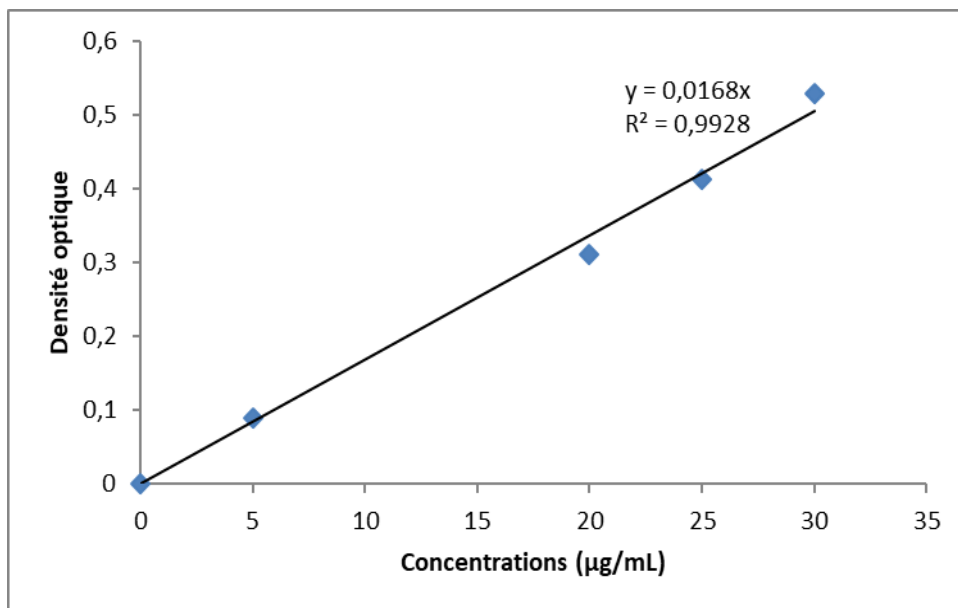
1000 mL d'eau distillée, 15 g de peptone de caséine, 5 g de peptone de soja, 5 g de chlorure de sodium, 15 g d'Agar, pH final 7,3 ± 0,2 à 25 °C. Le mélange autoclavé à 121°C, pendant 15 min.

### **- Gélose LB (Luria-Bertani)**

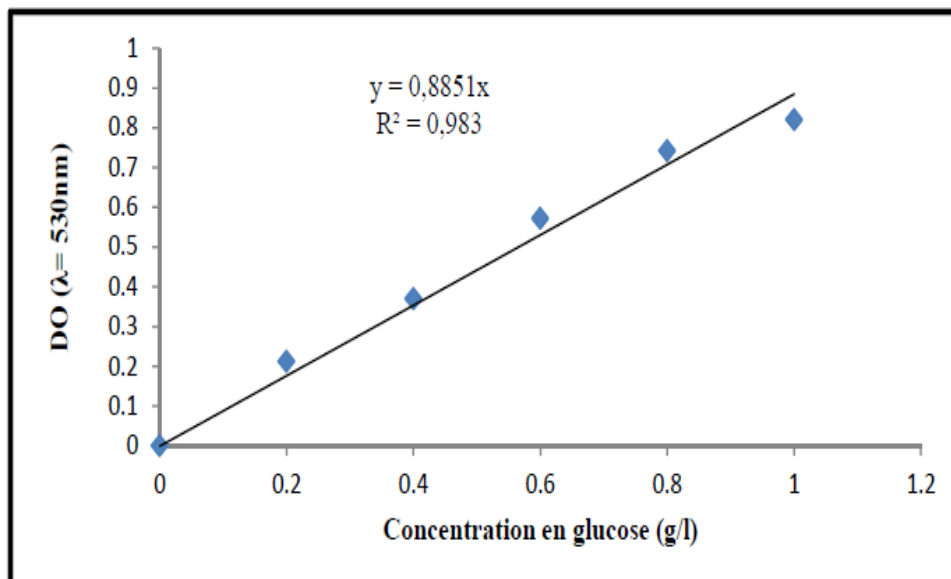
800 mL d'eau distillée, 10 g de peptone, 5 g d'extrait de levures, 10 g de NaCl et autoclavé le mélange à 121°C, pendant 15 min.

## Annexe 2. Courbes d'étalonnages

### 1- Courbe d'étalonnage de l'évaluation des activités antioxydantes.



### 2- Courbe d'étalonnage du dosage des glucides totaux



### **Annexe 3. Données de l'analyse des extraits par GC/MS**

### **Annexe 3. Articles**