

19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

11) N° de publication : 2 910 230
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

21) N° d'enregistrement national : 06 11422

51) Int Cl⁸ : A 01 C 21/00 (2006.01)

12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22) Date de dépôt : 22.12.06.

30) Priorité :

43) Date de mise à la disposition du public de la demande : 27.06.08 Bulletin 08/26.

56) Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été établi à la date de publication de la demande.*

60) Références à d'autres documents nationaux apparentés :

71) Demandeur(s) : CLAUDE PIERRE PHILIPPE — FR.

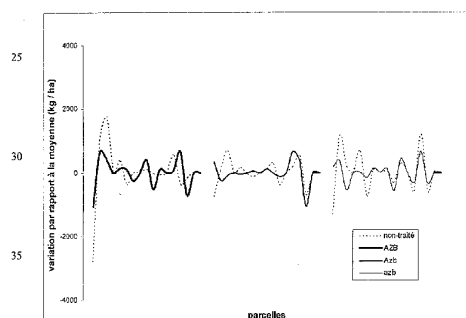
72) Inventeur(s) : CLAUDE PIERRE PHILIPPE.

73) Titulaire(s) :

74) Mandataire(s) :

54) METHODES DE BIOFERTILISATIONS POUR AMELIORER LA STABILITE DES RENDEMENTS DE GRANDES CULTURES AGRONOMIQUES.

57) L'invention consiste en une méthode d'utilisation de biomasses bactériennes pour l'amélioration de la stabilité des rendements de grandes cultures agronomiques comportant au moins; (i) une biomasse bactérienne d'origine tellurique, (ii) un substrat in situ cible de ces biomasses et (iii) une grande culture agronomique non - légumineuse. Ces biomasses bactériennes sont phytogènes, bien adaptées à la vie dans les sols et apportées en quantités suffisantes. Elles sont composées de bactéries fixatrices d'azote (diazotrophes). Il s'agit soit de bactériser les résidus de culture au sol et de les enfouir en pré - semis, soit d'utiliser comme substrat des engrais organo - minéraux comportant ce même type d'inocula et de les utiliser comme engrais de démarrage en proximité des semences. La méthode d'utilisation de biomasses bactériennes est applicable aux grandes cultures agronomiques non - légumineuses pour lesquelles les variations spatiotemporelles des conditions de culture sont source d'instabilité des rendements.



FR 2 910 230 - A1



DESCRIPTION DE L'INVENTION**TITRE**

- 5 **MÉTHODE DE BIOFERTILISATION POUR AMÉLIORER LA STABILITÉ DES RENDEMENTS ET RÉDUIRE LE RISQUE DE PRODUCTION DES GRANDES CULTURES NON - LÉGUMINEUSES**

DOMAINE TECHNIQUE DE L'INVENTION

- 10 Le domaine technique de l'invention concerne la production et l'utilisation d'inocula de microorganismes favorisant la croissance des plantes, et plus particulièrement les bactéries. L'invention concerne aussi les méthodes pour l'amélioration et la stabilité des rendements des grandes cultures agronomiques.

- 15 **ÉTAT DE LA TECHNIQUE**

Stabilité des rendements et mesure connexes : revue

- La production agronomique de grandes cultures, le blé et le maïs en particulier, est intrinsèquement risquée. Ce risque de production provient de la forte variation spatio-temporelle des conditions pédo – climatique sur les quelles s'appuie l'élaboration de rendements agronomiques (Saunders *et al.* 1997). Cette variation spatio-temporelle constitue un réel problème en terme de production agronomique qui a depuis fait l'objet de multiple travaux de recherche et développement (Booltink *et al.* 2001, Plant 2001). Cette variation spatio-temporelle contribue donc directement à ce risque de production en réduisant la probabilité d'obtenir le rendement, et la qualité, attendus (Stafford *et al.* 1996, Vollmann *et al.* 2000). La gestion agronomique et la production agricole ont comme but, souvent inavoué, de réduire au maximum ce risque de production et d'assurer ainsi l'élaboration d'un rendement attendu, souvent dit « optimum ».

- La stabilité des rendements est recherchée en agronomie (Piepho 1998 ; Hildebrand 1984), notamment par les améliorateurs de variétés de céréales et autres grandes cultures. Parmi les méthodes d'analyses permettant de mettre en évidence cette notion, il y a l'analyse des tendances de rendements a travers le temps (Calderini et Slafer 1998) (*i.e.* « *time-series* »), la comparaison à des moyennes environnementales (Yamoah *et al.* 2002), la gestion de la variation spatio-temporelle des conditions pédo-climatiques (Berzsenyi *et al.* 2000), la réduction de l'interaction G*E (Génotype * Environnement) (Booltink *et al.* 2001), l'utilisation de prévisions « stochastique » des rendements (Stevenson *et al.* 2001), et enfin l'agrégation des individus (Stafford *et al.* 1996).

- a) **Analyse des tendances de rendements a travers le temps** (Flores *et al.* 1998) (*i.e.* « *time-series* ») : *A priori* c'est l'approche la plus intuitive, mais aussi la plus rétrospective. Pour les cultures céréalières, il y a deux chose, à remarquer ; (1) les systèmes les plus productifs par hectare, et donc les

plus intensifs sont aussi souvent les plus stables, et (2) la stabilité des rendements, notamment du blé, c'est maintenue malgré de forts gains en productivité depuis le début du siècle. Cette stabilité s'appuie sur d'importants apports en engrais azotés de synthèses.

5 **b) Comparaison à des moyennes environnementales** (Grausgruber *et al.* 2000, Bannayan et Crout 1999) : Pour un même environnement agro-pédo-climatique cette approche permet de mettre en évidence la capacité qu'a la fertilisation sur-intensive à (re)stabiliser les monocultures céréalières, notamment celle du maïs-grain. Bien que l'approche démontre que l'enfouissement des résidus de cultures céréalières peut parfois contribuer à une plus grande stabilité des rendements, notamment en situations de cultures peu intensives, en situations de cultures plus intensives, européennes notamment, 10 ce même type enfouissement en soi ne peut contribuer à une plus grande stabilité des rendements.

c) Gestion de la variation spatio-temporelle des sols et du climat (Mikkelen *et al.* 1996, Li *et al.* 2001, Lark 2001) : C'est l'approche la plus apte à mettre en évidence l'amplitude de la variation spatio-temporelle à l'intérieure d'une parcelle agronomique typique de 6 à 10 hectare. D'un point de vue azote minéral, par exemple, les reliquats et/ou les teneurs initiale à la sorti d'hiver ou au semis des céréales 15 peuvent varier du simple au double, voir le triple, sur des distances aussi petites que 10 mètres. Une des fonction traditionnelle des sur-doses d'azote est justement de niveler (gommer) autant que possible cette variation spatiale de la teneur des sol en azote minéral en début de campagne.

d) Réduction de l'interaction G*E (Génotype * Environnement) (Baldwin *et al.* 1998, Calderini et Slafer 1998) : Utilisé principalement en amélioration des plantes, cette approche permet de 20 mettre en évidence l'interaction d'un génotype (G) avec son environnement (E). Des variétés cultivées (cultivars) pour lesquelles l'interaction G x E est faible sont considérées comme stables.

e) Prévisions « stochastique » des rendements (Yamoah *et al.* 2002, Berzsenyi *et al.* 2000, Bootlink *et al.* 2001, Stevenson *et al.* 2001, Stafford *et al.* 1996, Flores *et al.* 1998, Grausgruber *et al.* 2000) : La variabilité météorologique et climatique est pour un bonne part responsable de l'instabilité des 25 rendements céréaliers et *Leguminosae*. Cette relation entre événements récent et prochain est plus ou moins étroite selon la région ; elle constitue en sorte une des données climatique de cette région. En principe, il est possible d'utiliser une approche analogue pour les rendements attendus en fonction des rendements récemment obtenus dans une région agricole donnée.

g) Agrégation – (dis)similarité des individus (Bannayan et Crout 1999, Mikkelen *et al.* 1996, 30 Li *et al.* 2001, Lark 2001, Baldwin *et al.* 1998) : Il est possible d'ordonner des mesures individuelles de rendements grains, par exemple, selon le degré de similarité de leurs composantes (*eg.* poids de mille grains, teneur en azote des grains, nombre de grains par épi, nombre d'épis par plant, poids relatif des grains par rapport à la paille, etc.). Ces groupes plus ou moins homogènes ainsi constitués comportent des individus dont le comportement agronomique est d'autant plus prévisible.

35 En ce sens, la gestion agronomique doit rendre moins variable dans l'espace et dans le temps la production de grandes cultures. Les « parcelles » d'un champ doivent être les plus « similaires » possibles. En générale, cette similitude peut être mesurée par des mesures aussi simples que l'écart - type et le coefficient de variabilité (CV), voire à l'aide de statistiques 40 *multidimensionnelles* plus élaborées telles que les analyses en composantes principales (ACP), les classifications hiérarchiques (CAH), les analyses factorielles, le positionnement multi - dimensionnel (*multi – demensional scaling*) et/ou encore les analyses canoniques (*cf.* Lebart *et al.* 2000). Tout dépend de l'effort de collecte d'information mise en œuvre.

Approches traditionnelles pour la stabilisation des rendements agronomiques

En production céréalière, le taux d'utilisation des engrais minéraux azotés est ~ 50%. Pour obtenir une teneur en azote du grain d'environ 1,7 à 1,8 pour-cent, il faut actuellement apporter plus de trois unités (*i.e.* 3 kg/ha) d'azote par quintaux (*i.e.* 100 kg) de rendement attendu, soit une « surdose » de plus de 50% (*i.e.* 1,7 / 3,0 ~ 57%). Cette surdose sert néanmoins à assurer la réalisation de ce rendement attendu et elle est donc défendable d'un point de vue agronomique ; elle l'est cependant de moins en moins d'un point de vue agro-environnemental, d'où l'intérêt à « raisonner » les apports d'engrais minéraux azotés. Néanmoins, en absence de cette surdose d'azote minéral, il faudra néanmoins assurer la réalisation des rendements attendus sans risque de production additionnel. Pour ce faire, il faut réduire la variation, dans le temps et dans l'espace, des rendements, comme l'a fait implicitement les susdites surdoses. Par exemple, et dans les cas de la production céréalière intensive, une bonne part de l'azote minéral assimilé par la plante provient des réserves du sol. La fertilisation azotée permet de combler d'éventuels déficits en azote minéral, notamment en fin de culture au cours du remplissage du grain. Cependant, la variabilité spatiotemporelle de ces réserves peut varier du simple au triple, voire plus, sur des distances aussi petites que 5-10 m. Cette très forte variabilité spatiotemporelle des teneurs initiales en azote minéral du sol provoque une certaine l'instabilité (variabilité) spatiotemporelle des rendements. Spécifiquement, la gestion de cette variabilité spatiotemporelle est généralement assurée à l'aide de ;

- Méthodes des bilans massique et des rendements attendus : L'apport massif de d'éléments nutritifs permet de « gommer », atténuer en sorte, les variations spatiotemporelles des conditions pédo - climatiques déterminant l'élaboration d'un potentiel de rendements (voir ci-haut).
- Agriculture de Précision et la modulation spatio-temporelle des apports massiques : La collecte exhaustive d'informations pédo – climatiques au niveau de la parcelle agronomique dans l'optique d'une agriculture dite « de précision » permettant de « caler » les éventuels apports d'éléments nutritifs en fonction de cette variabilité spatio-temporel. Or, cette collecte d'information est aujourd'hui moins qu'exhaustive, et la véritable agriculture de précision « géo - positionnée » plutôt rare en France et en Europe. De plus, la fertilisation raisonnée, une forme d'agriculture de précision permettant de piloter (moduler) les apports d'azote minéral fertilisant selon les besoins de la plante « en temps réel » ne cherche pas nécessairement à réduire *de facto* la variabilité spatio-temporelle, mais simplement de réduire au maximum les susdites surdoses d'engrais azoté.
- Sélection de cultivars (variétés cultivées) dotés de faibles interaction génotype x environnements (GxE) : Les variétés cultivées (« cultivars ») les plus « stables » sont en principe peu ou pas affectés par l'interaction génotype x environnement (GxE). La faiblesse de cette interaction assurait que le cultivar a le potentiel de rendre l'optimum, quantitativement et qualitativement, dans une large gamme d'environnements pédo - climatiques. Or, cette « stabilité variétale » fit l'objet des programmes de R&D chez la plupart des semenciers sans avoir pu pour autant, il me semble, avoir complètement résout ce problème qu'est la l'instabilité des rendements agronomique attribuable à la variabilité spatiotemporelle des conditions de culture.

Enfin, il existe deux brevets russo - soviétiques décrivant des méthodes de mesure et/ou capables de favoriser la stabilité des rendements des grandes cultures, soit RU 2141186 (*Method for increasing stability and productivity of crop rotations in arid regions*) et SU 1271449 (*Method of determining the level of stability of wheat yield*) ; tel qu'attendu, ces méthodes ne font aucune

5 mention de l'utilisation de biofertilisants à base de microorganismes phylogènes (voir ci-dessous).

Indépendamment de leurs effets sur la performance agronomique des grandes cultures, ces techniques impliquent donc soit des apports d'engrais sans considérations de leurs impacts sur la qualité des eaux et des sols arables, soit un effort considérable en terme de collecte et traitement d'informations pédo – climatiques et/ou de R&D. Or, Il serait donc avantageux pour

10 l'agriculteur et l'agronome de disposer de simples intrants à la production capables en eux-mêmes de réduire cette variabilité spatiotemporelle des parcelles individuelles.

L'utilisation d'inocula BFCP AVS : une approche innovante à la stabilité des rendements

En effet, la bactérisation azotobactérienne des résidus de culture en pré-semis de cultures hivernales à l'aide d'inocula BFCP AVS (i.e. Bactéries Favorisant la Croissance des Plantes Adaptée à la Vie dans les Sols) tel que rapporté par Claude et Fillion (2004) et/ou l'utilisation d'engrais organo-minéraux (EOM) comportant de telles BFCP rapporté par Claude et Giroux (2006) n'ont jamais été proposées comme méthodes d'atténuation de la variabilité spatiotemporelle

15 des conditions de culture. La présente invention propose donc cette quatrième alternative pour la gestion de ce risque de production, alternative moins dommageable pour l'environnement que l'apport massif d'élément nutritifs et plus simple de mise en œuvre que la modulation spatiotemporelle de ces apports ou encore que le développement de nouvelles variétés. Du coup, l'invention permet de vaincre le préjugé selon lequel l'efficacité agronomique d'inocula BFCP AVS

20 est, au mieux, aléatoire. Au contraire, cette utilisation de certains inocula favorise maintenant la stabilité des rendements via à une réduction de la variabilité spatiotemporelle des conditions de culture.

Pourtant, l'utilisation d'inocula BFCP AVS en agronomie n'est pas nouvelle. Elle a été essayée avec des cultures de riz, de millet, de blé, d'orge, de coton, de tournesol, de jute,

30 d'avoine, de maïs, de canne à sucre et de sorgho. C'est surtout la bactérisation des semences qui est visée, la bactérisation *in situ* des résidus de culture au sol (Halsall *et al.* 1989a, 1989b) et/ou d'engrais organo-minéraux (EOM) étant, malgré quelques avancées majeures en ce sens (*cf.* Claude et Fillion 2004, Claude et Giroux 2006), les enfants pauvres de ce secteur.

Les bienfaits agronomiques associés à l'utilisation de ces inoculants ont été revus (Bashan 1998, Okon *et al.* 1994). Dans l'ensemble il ressort qu'à ce jour l'application de cette technologie aux grandes cultures non – légumineuse telles que le blé et le maïs n'est pas au point, et que lesdits bienfaits apparaissent de façon irrégulière ; Okon *et al.* (1994) parlent d'une certaine efficacité allant de 10 à 40% par rapport à des témoins plus ou moins fertilisés, et cela dans

35 détectable dans 70% des cas - bref pas de quoi convaincre le producteur agricole, acteur plutôt conservateur et déjà confronté à d'importants risques de productions. L'utilisation de ces

40

biomasses est donc vue comme source de variabilité plutôt qu'une façon de réduire les risques de production agricole en améliorant la stabilité des rendements.

Or, j'ai découvert que l'utilisation d'inocula BFCP, en principe bien adaptées à la vie dans les sols (AVS) au sens de FR 01/15542, Claude et Fillion (2004) et de Claude et Giroux (2006) par exemple, permet de réduire l'hétérogénéité inter-parcellaire et donc d'augmenter la stabilité des rendements. Cette utilisation d'inocula BFCP AVS n'augmente pas variabilité spatiotemporelle des conditions de culture et/ou l'instabilité des rendements. Au contraire. Cette utilisation desdits inocula contribue donc à vaincre un des préjugés limitant le développement d'inocula BFCP AVS destinés aux grandes cultures agricoles. A noter que par **stabilité des rendements** je veux dire l'hétérogénéité dans le temps et/ou dans l'espace des rendements qualitatifs et quantitatifs responsable d'une performance agricole sub-optimal d'une grande culture au champs couvrant généralement plusieurs hectare. Par **variabilité spatiotemporelle** je veux dire la variation des conditions pédologiques (eg. les teneurs en azote minéral du sol par sur de courtes distances) et/ou météorologiques (eg. les déficits hydriques ou thermiques).

15

DIVULGATION DE L'INVENTION

Problème technique

Le problème technique réside donc dans le besoin de réduire la variabilité spatiotemporelle des conditions de culture des grandes cultures agricoles source d'instabilité des rendements, et cela sans avoir à nécessairement recourir aux habituelle et/ou fastidieuses pratiques que sont les surdoses d'azote, le géo - positionnement précis des intrants à la production, y compris donc l'azote minéral, voire de coûteux programmes d'amélioration variétales marginalement de moins en moins efficaces. Du coup, il faut aussi vaincre ce préjugé à l'égard des biofertilisants à base de microorganismes favorisant la croissance des plantes, et plus particulièrement à base de BFCP, selon le quel ces innovations sont trop souvent responsables d'une augmentation des risques de production agricoles étant donnée leur supposée efficacité relative et aléatoire.

20
25
30

Solution technique

La solution technique proposée consiste en une méthode d'utilisation de biomasses bactériennes pour l'amélioration de la stabilité des rendements de grandes cultures agricoles comportant au moins ; (i) une biomasse bactérienne d'origine tellurique, (ii) un substrat *in situ* cible de ces biomasses et (iii) une grande culture agricole non - légumineuse.

35

Ces biomasses bactériennes sont phylogènes, bien adaptées à la vie dans les sols, avantageusement au sens de FR 01/15542 et apportées en quantités suffisantes, avantageusement au moins 5×10^{12} cellules bactériennes viables par hectare. Elles sont composées de bactéries fixatrices d'azote (diazotrophes), avantageusement mais non exclusivement de famille *Azotobacteracea*.

40

S'il y a des résidus de cultures pailleux au sol, il s'agit de les bactériser ces substrats avec des inocula de BFCP AVS, avantageusement au sens et selon FR 01/15542, et de les enfouir en pré-semis de cultures d'hivers céréalières tel que rapporté par Claude et Fillion (2004). Lorsque qu'il n'y a pas de résidus de culture au sol à enfouir, il est aussi avantageux d'utiliser comme

5 substrat des engrais organo - minéraux (EOM) comportant ce même type d'inocula BFCP AVS ; les EOM ainsi bactérisés (EOMI) sont par la suite utilisés comme engrais de démarrage (« starter ») placés en proximité des semences tel que rapporté par Claude et Giroux (2006). La méthode d'utilisation de biomasses bactériennes est applicable aux grandes cultures

10 agronomiques non - légumineuses telles que le maïs - grain, le sorgho, blé, le seigle, l'avoine, l'orge, le colza et/ou le lin, et pour lesquelles les variations spatiotemporelles des conditions de culture sont sources d'instabilité des rendements au sens entendus.

Avantages apportés

15 L'invention assure une certaine stabilité des rendements par voie d'une plus grande homogénéité des parcelles individuelles. Dans le temps, cette plus grande stabilité entraînera inéluctablement soit ; (i) une augmentation quantitative et/ou qualitative des rendements, soit (ii) une diminution relative et moyenne des besoins en apports massiques d'éléments nutritifs. La stabilité des rendements peut être augmentée et cela même en absence d'habituelles surdoses

20 d'engrais azotés utilisées à cette fine mais pouvant aussi nuire à l'efficacité de la diazotrophie des cellules bactériennes de type *Azotobacteracea*. Enfin, l'invention est une alternative de choix lorsque les habituelles méthodes devant assurer une certaine stabilité des rendements, à savoir de coûteux programme de sélection variétale et/ou le géo - positionnement précis des apports d'azote, s'avèrent impraticables,

25 Nous ne savons pas aujourd'hui exactement comment et pourquoi les susdits inocula BFCP AVS améliorent ainsi la stabilité des rendements. Cela dit, il est raisonnable de croire que la présence desdites BFCP AVS en proximité des résidus de culture au sol et/ou des granules d'engrais organo-minéraux (EOM) permet de « tamponner » l'offre azotée du sol ; là où il y aurait abondance d'azote minéral les BFCP AVS l'immobiliseraient, là où il y a moins d'azote minéral, les

30 BFCP AVS y contribueraient par voie de diazotrophie. Dans l'ensemble, il semble que l'habituelle variabilité spatiale de l'azote minéral, sur des distances aussi petites que 5-10 m, est ainsi réduite et la stabilité des rendement améliorée.

BRÈVE DESCRIPTION DE DESSINS ET FIGURES

35

Figure 1 : Variation par rapport à la moyenne des rendements en blés obtenus sur parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non - traitées. L'axe des X énumère les jeux de parcelles traitées / non - traitées jumelées (30 m²), et l'axe de Y la variation (kg/ha de rendement en blé) par rapport à la moyenne de l'essai.

40

Figure 2 : Coefficients de variabilité (CV%) des rendements blé provenant des différentes parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins). A noter qu'afin d'accentuer la variabilité inter – parcellaire ces parcelles ne reçurent que 67% de la dose d'engrais azoté recommandé.

5

Figure 3 : Fréquences cumulées pour la réalisation des rendements optima pour un ensemble des parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins).

10

Figure 4 : Ordination des rendements blé sur parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins) pour trois (3) sites expérimentaux, Toulouse 1999/00 (Site 1), Toulouse 2000/01 (Site 2) et Lusignan 2000/01 (Site 3). A noter une plus grande proximité, une moins grande variabilité, des rendements élaborés sur parcelles traitées.

15

Figure 5 : Ordination des efficacités relative (AZB/Azb, Azb/azb et AZB/azb) des rendements blé sur parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins) pour trois (3) sites expérimentaux, Toulouse 1999/00 (Site 1), Toulouse 2000/01 (Site 2) et Lusignan 2000/01 (Site 3). A noter une meilleure corrélation inter-site de ces efficacité relatives pour les données provenant des parcelles traitées.

20

Figure 6 : Coefficients de corrélation des données provenant des essais sur le site de Toulouse pour trois campagnes consécutives, 1999-2000 (Tise 00), 2000-2001 (Tise 01) et 2001-2002 (Tise 2001-2002). Les données rendements (a) et poids de mille grains (b) ont été obtenues des parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins). A noter des coefficient de corrélation inter - années plus faibles (*i.e.* moins négatifs) pour les parcelles traitées.

25

Figure 7: Représentation graphique d'une analyse par composantes principales (ACP) des rendements blé sur parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins) pour les données provenant du site Toulouse 2000/01 (Site 2). A noter la plus grande similitude des parcelles traitées - AZB.

30

Figure 8 : Représentation graphique d'une analyse par composantes principales (ACP) des rendements blé sur l'ensemble des parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins) pour quatre (4) sites expérimentaux, Toulouse 1999/00 (Site 1), Toulouse 2000/01 (Site 2), Lusignan 2000/01 (Site 3) et Toulouse 2001/02 (Site 4). A noter encore une fois la plus grande similitude des parcelles traitées - AZB.

35

Figure 9 : Indices « dissimilarité » (dissimilitude) (selon l'algorithme MDS) des parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins) selon les distances euclidiennes calculées (par ACP) qui les séparent. A

40

noter qu'à une même distance euclidienne, les susdits indices sont plus faibles pour les parcelles traitées que pour les parcelles témoins non - traitées.

Figure 10 : Ordination selon deux composantes principales calculées par l'algorithme MDS des distances euclidiennes entre les parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins), ainsi que pour la moyenne (m) de l'essai, pour trois (3) sites expérimentaux, Toulouse 1999/00 (tlse00), Toulouse 2000/01 (tlse01) et Lusignan 2000/01 (lus01). A noter que pour les parcelles non – traitées, les témoins non-inoculés très similaires (concentrés) sur la moyenne de l'essai sur ce site, ce qui n'est plus du tout le cas pour les parcelles traitées.

Figure 11 : Variations des coefficients de corrélations (cc) entre les rendements et leurs divers composantes (*i.e.* poids des épis, teneur en matière sèche (MS) de l'épis, le poids des épis par rapport à celui de la tige, et des grains par rapport à l'ensemble de l'épis, ainsi que l'indice de récolte (IR) pour les épis et les grains) sur les parcelles avec résidus de culture au sol traitées au sens de FR 01/15542 (*i.e.* BFCP AVS AZB, Azb ou azb) et non – traitées (témoins) pour le site Toulouse 2002. A noter que seul l'inocula AZB permet d'augmenter appréciablement ce déterminisme des composantes du rendement.

Figure 12 : Coefficients de variabilité (CV ; %) pour les rendements (RDT), humidité des grains (%HUM), poids spécifiques des grains (Pspec), et l'ensemble des prélèvements à la récolte (p) en N, P, K, Ca et Mg sur parcelles de maïs - grain (*cf.* Claude et Giroux 2006) traitées avec des EOM avec (EOMI) et sans (EOM) l'incorporation d'un inocula BFCP AVS au sens de FR 06/00014 ; les parcelles ayant aussi reçu un complément de nitrate d'ammonium au démarrage sont identifiées (+). A noter que les CV sur parcelles gleysoliques ayant reçu ledit inocula sont généralement les plus faibles, ce qui n'est plus du tout le cas pour les parcelles podzoliques.

Figure 12 bis : Coefficients de variabilité (CV ; %) pour l'ensemble des prélèvements en N, P, K, Ca et Mg par la matière sèche des parties aérienne (MSPA) 34 et 49 jours post semis selon le type de sol. Les parcelles de maïs - grain (*cf.* Claude et Giroux 2006) traitées avec des EOM avec (EOMI) et sans (EOM) l'incorporation d'un inocula BFCP AVS au sens de FR 06/00014 sont comparées ; les parcelles ayant aussi reçu un complément de nitrate d'ammonium au démarrage sont identifiées (+). A noter que les CV sur parcelles gleysoliques ayant reçu ledit inocula sont systématiquement les plus faibles, ce qui n'est plus du tout le cas pour les parcelles podzoliques.

Figure 13 : ACP des données de Claude et Giroux (2006) présentées au Tableau 1 ; à gauche de l'axe central, les gleysols, à droite les podzols. (*Nb.* cercles – témoins sans engrais de démarrage, carrés et losanges claires – EOM et EOM+, respectivement, carrés et losanges noir – EOMI et EOMI+, respectivement). Pour fin de clarté, sur la figure du bas seule les parcelles avec l'inocula BFCP AVS au sens de FR 01/00014 sont illustrées. A noter que sur gleysol, les parcelles traitées sont très similaires entre elles, et du coup distinctes des parcelles témoins, ce qui n'est plus le cas sur podzol.

MODE DE RÉALISATION PRÉFÉRÉ DE L'INVENTION

L'invention consiste en un méthode permettant d'augmenter la stabilité des rendements de certaines grandes cultures agronomiques en leurs apportant des BFCP AVS bien adaptées à la vie dans les sols en quantité suffisantes et par tout moyen appropriés.

Il s'agit d'apporter une quantité suffisante, soit avantageusement au moins 5×10^{12} cellules BFCP AVS par hectare. Cette apport peut ce faire de façon conventionnel soit, (i) par pulvérisation d'inocula BFCP AVS en pré-semis sur des résidus de culture au sol (Claude et Fillion 2004), soit (ii) par incorporation d'inocula BFCP AVS dans des EOM à être utilisés comme engrais de démarrage (« starter ») (Claude et Giroux 2006). Dans les deux cas lesdites biomasses bactériennes sont formulée et conditionnées par tout moyen approprié. Dans le cas de cultures non - légumineuses, notamment celle des céréales d'hiver, il est avantageux d'apporter un agent azoto – nutritionnels afin d'améliorer l'efficacité agronomique *in situ* des biomasses PGPR ainsi apportées au sol par voie de bactérisation de résidus de culture.

Les cultures sont par la suite régies de façon intensives mais selon les nouvelles règles dites de l'agriculture raisonnée, et plus particulièrement de la fertilisation raisonnée, y compris mais non-exclusivement, le pilotage intra-saisonnier de la fertilisation azotée, ou encore par toute méthodes capable d'éviter l'apports excessif d'intrants synthétiques et/ou minéraux pouvant nuire au fonctionnement desdites BFCP.

Outre une certaine augmentation des rendements, voire une meilleure efficacité pondérale des engrais N et P et/ou de la fertilisation raisonnée telles que déjà rapportées dans Claude et Fillion (2004) et Claude et Giroux (2006), la réalisation de l'invention est avantageusement mis en évidence à l'aide de divers outils statistiques. Nommons par exemples le calcul des écarts – types et de coefficients de variabilité (CV) pour les plus simples (Figures 1, 2 et 12), l'utilisation graphique des fréquences cumulées (Figure 3), voire le rapport ordonné des rendements élaborés sur divers sites et/ou campagnes (Figures 4, 5 et 6). Il est aussi avantageux d'utiliser des méthodes statistiques plus élaborées telles que l'analyses par composantes principales (ACP), ou encore le *multidimensional scaling* (Lebart *et al.* 2000 ; *cf.* Figures 7, 8, 9, 10 et 13). Dans ces cas, il faut rapporter sous forme matricielle des données concernant l'état nutritionnel des cultures pour ensemble des parcelles individuelles, avantageusement ~ 10 - 12 variables pour ~ 10 - 12 individus. Il est aussi possible de déterminer le degré de détermination du rendement à partir de corrélations entre le rendement agronomique à la récolte et les mesures des diverses composantes de rendement (*eg.* poids des tiges, nombre de graines par épis, indice de récolte, etc.) (Figure 11).

Donc, au cours de l'élaboration des rendements les composantes du rendement (*eg.* indices de récolte, nombre de graines par épis, poids des épis, etc.), et de façon plus générale toutes les informations sur les variables capables de décrire l'état de la culture en cours d'élaboration (*eg.* prélèvement et teneurs en N, P, K, Ca et Mg des plantules et grains, indices chlorophylliens, poids spécifiques et humidité des grains, etc.), sont évaluées et rapportées dans le cadre d'un dispositif d'échantillonnage permettant de mettre en évidence la variabilité spatio-

temporelle en cours. Il est aussi possible de rapporter le rendement agronomique, ainsi que ces composantes au moment de la récolte. En guise d'exemple, j'ai rapporté au Tableau 1 trois de ces matrices comportant pour l'essentiel de l'information sur l'état nutrition de la culture en cours et sur sont rendement agronomique à la récolte.

5 Le Tableau 1-a) concerne l'utilisation d'inocula BFCP AVS au sens de FR 01/15542 pour la bactérisation des résidus de culture au sol (Claude et Fillion 2004), tandis qu'au Tableau 1-b) concerne l'utilisation de ce même type d'inocula mais pour la bactérisation d'EOM utilisés comme engrais de démarrage (« starter ») (Claude et Giroux 2006). Les colonnes de celui-ci comprennent des variables et/ou les composantes du rendement, tandis que ses lignes représentent les
10 diverses parcelles individuelles, traitées et non-traitées. Il est ainsi possible de scinder en deux une seule parcelle (*i.e.* « *paired plots* »), voire comparer la stabilité du rendement et ses composantes, sur deux parcelles agronomiques voisines (« jumelles ») et similaires en terme de variabilité pédo - climatique.

Par définition, et afin d'évaluer l'amélioration des composantes d'un rendement, il est
15 avantageux d'utiliser des mesures statistiques de types ; l'écart type, la moyenne, coefficients de corrélation (c) et de détermination (R^2), la fréquence cumulative (relative), les statistiques non-paramétriques basées sur le rang, l'indice de (dis)similarité, la fréquence relative de l'indice de (dis)similarité, la distance euclidienne calculée et/ou mesurée, l'indice de (dis)similarité selon les distances euclidiennes calculées et/ou mesurées, les valeurs propres (ou pourcentage d'inertie liée
20 à un facteur). Selon la description de l'invention, cette plus grande stabilité des rendements est fonction de l'homogénéité des plantules, plantes et parcelles participant à l'élaboration de ces rendements. Cette homogénéité est essentielle à la stabilité des rendements.

Ces plantules, plants et/ou parcelles individuelles maintenant plus similaires (homogènes) sont donc mieux déterminés et prévisibles. Les rendements agronomiques ainsi élaborés sont
25 donc mieux assurés contres d'éventuels risques de production associés au forts taux de variations des conditions pédo - climatiques et leurs effets néfastes sur l'homogénéité des ces plantules, plants et/ou parcelles.

Les parcelles individuelles peuvent être prises à même un dispositif expérimental comprenant soit des parcelles disposées aléatoirement au seins de « blocs » (répétitions), soit des
30 parcelles jumelées traitées / non-traitées (*paired-plots*, *strip-plots* ; *cf.* Bermudez et Mallarioni 2002, Helms *et al.* 1999). L'ensemble des parcelles individuelles analysées peuvent aussi comporter des parcelles provenant de divers sites sur plusieurs années (sites-années) ; la même parcelle récoltée années après année peut donc être considérée comme autant de parcelles individuelles.

C'est surtout l'état nutritionnel (*eg.* teneurs ou prélèvement en N, P, K, Ca, Mg, teneurs en
35 azote des jus de bas de tige (jbt), poids de mille grains, rendement en grains, teneurs en azote (~protéine) des grains, indice chlorophylliens, etc.) qui doivent servir au ACP et autres analyses statistiques. Les composantes du rendement (*eg.* poids relatif des épis, tige et grains par rapport au plant entier, nombre de grains par épis, etc.) ne serviront qu'au calcul des coefficients de corrélation rendement x composante en guise de valeur approximative d'un certain déterminisme.

Tableau 1-a : Exemple d'un jeu de donnée concernant la bactérisation des résidus de culture au sol au sens FR 01/15542.

Parcelle	tise 00 RDT	tise 01 RDT	lugs 01 RDT	tise 02 RDT	tise 00 PMG	tise 01 PMG	lugs 01 PMG	tise 02 PMG	tise 00 tN	tise 01 tN	lugs 01 tN
AZB 1	5941,00	6002,00	9574,00	6626,00	42,55	46,10	38,40	38,80	1,66	1,69	1,44
AZB 2	7672,00	5955,00	8670,00	7220,00	42,17	47,32	38,50	39,16	1,60	1,81	1,50
AZB 3	7443,00	5611,00	9286,00	5834,00	41,80	47,31	38,20	43,34	1,82	1,56	1,24
Azb 1	7799,00	5905,00	9170,00	6981,00	42,30	46,96	38,00	39,15	1,78	1,65	1,36
Azb 2	7251,00	5953,00	9045,00	6702,00	41,25	47,06	38,30	39,17	1,87	1,69	1,57
Azb 3	7389,00	6007,00	8937,00	5256,00	41,77	47,87	38,50	40,84	1,82	1,63	1,37
azb 1	7467,00	6132,00	9562,00	5804,00	43,22	47,64	37,00	40,02	1,84	1,72	1,44
azb 2	7648,00	5953,00	8875,00	6763,00	41,10	46,93	38,50	40,30	2,01	1,75	1,27
azb 3	6730,00	6264,00	9870,00	5759,00	42,13	47,44	38,10	42,55	1,84	1,69	1,52
AZB témoin 1	3493,00	6408,00	9409,00	6944,00	41,60	47,69	37,90	41,64	1,82	1,72	1,54
AZB témoin 2	7311,00	5632,00	9259,00	6037,00	42,10	46,99	37,90	41,25	1,76	1,65	1,31
AZB témoin 3	8085,00	6018,00	9231,00	6214,00	41,63	46,90	38,20	41,51	1,93	1,73	1,34
Azb témoin 1	6005,00	6346,00	9229,00	6887,00	41,65	48,42	38,20	38,97	1,91	1,74	1,33
Azb témoin 2	6819,00	6136,00	9422,00	7054,00	41,95	46,32	38,60	42,53	1,97	1,74	1,38
Azb témoin 3	7455,00	6062,00	8735,00	5804,00	42,15	47,42	37,90	36,27	1,80	1,73	1,31
azb témoin 1	5812,00	6701,00	9540,00	5827,00	42,25	48,21	37,90	40,46	1,84	1,69	1,36
azb témoin 2	8275,00	5297,00	9165,00	7597,00	42,00	47,32	38,10	41,66	1,85	1,58	1,31
azb témoin 3	7300,00	6139,00	9780,00	5813,00	42,20	45,25	37,55	42,00	1,85	1,90	1,56

Tableau 1-b : Exemple d'un jeux de donnée concernant la bactérisation d'engrais organo – minéraux au sens de FR 06/00014.

GELYSOL													
Parcelle	rN	rP	rK	rCa	rMg	rP/N	rP/K	rP/Ca	rP/Mg	RDT	%HUM	Pspec	
1A Témoins	103,88	15,18	21,44	0,37	7,29	0,15	0,71	40,60	2,08	8,09	33,8	66,86	---
1B Témoins	101,30	12,10	18,68	0,71	6,30	0,12	0,65	17,01	1,92	7,81	34,8	67,32	---
1C Témoins	83,75	11,68	16,38	0,34	5,71	0,14	0,71	34,37	2,05	6,67	34,56	66,65	---
2A MAP+	111,57	18,33	24,31	0,49	8,47	0,16	0,75	37,70	2,16	8,39	28,35	67,17	---
2B MAP+	134,01	20,86	26,55	0,36	9,85	0,16	0,79	58,36	2,12	9,33	27,54	68,88	---
2C MAP+	102,60	12,77	16,98	0,45	5,87	0,12	0,75	28,40	2,17	7,58	28,61	67,49	---
3A EOM :	107,44	17,93	22,39	0,44	8,31	0,17	0,80	41,09	2,16	7,73	30,22	67,64	---
3B EOM :	99,02	13,49	18,68	0,41	6,84	0,14	0,72	32,84	1,97	7,52	30,25	67,25	---
3C EOM :	99,42	14,43	20,19	0,49	7,41	0,15	0,71	29,15	1,95	7,72	33,12	68,23	---
5A EOMI :	126,57	17,82	24,01	0,66	8,71	0,14	0,74	27,06	2,05	8,84	30,19	67,76	---
5B EOMI :	118,83	17,95	23,96	0,47	8,60	0,15	0,75	38,56	2,09	8,84	31,33	67,14	---
5C EOMI :	115,69	17,20	22,81	0,53	8,13	0,15	0,75	32,21	2,12	8,57	29,35	66,27	---
4A EOM + :	137,61	21,30	25,89	0,87	9,97	0,15	0,82	24,46	2,14	9,26	26,89	69,05	---
4B EOM + :	102,52	14,10	21,41	0,45	7,00	0,14	0,66	31,34	2,01	8	33,36	66,57	---
4C EOM + :	99,55	12,61	17,67	0,80	6,17	0,13	0,71	15,70	2,04	7,46	33,45	67,31	---
6A EOM I+ :	124,96	18,21	22,70	0,91	8,44	0,15	0,80	20,11	2,16	8,9	29,1	67,43	---
6B EOM I+ :	108,68	15,78	21,14	0,38	7,57	0,15	0,75	41,29	2,09	8,15	30,39	67,63	---
6C EOM I+ :	101,90	16,58	22,58	0,45	7,93	0,16	0,73	36,82	2,09	8,05	32,65	66,32	---

	N	P	K	Ca	Mg	P/N	P/K	P/Ca	P/Mg	
---	3,456	2786	19610	4729	4173	8,060	0,142	0,589	0,668	---
---	3,093	2703	24718	4193	2891	8,740	0,109	0,645	0,935	---
---	3,144	2696	16808	4563	3353	8,576	0,160	0,591	0,804	---
---	3,054	2990	21239	4776	3465	9,792	0,141	0,626	0,863	---
---	3,165	2913	20815	5726	3459	9,203	0,140	0,509	0,842	---
---	3,133	2664	21983	4836	2978	8,504	0,121	0,551	0,895	---
---	3,305	2928	16218	5135	3285	8,860	0,181	0,570	0,891	---
---	3,600	2720	17436	5567	2971	7,554	0,156	0,489	0,915	---
---	3,312	2896	21638	5470	2955	8,744	0,134	0,529	0,980	---
---	3,033	2929	16946	5334	4147	9,657	0,173	0,549	0,706	---
---	3,410	2949	19736	5625	3251	8,649	0,149	0,524	0,907	---
---	3,100	2595	21396	4427	2950	8,373	0,121	0,586	0,880	---
---	3,304	2832	18696	5430	2859	8,573	0,151	0,522	0,991	---
---	3,429	3026	20725	5704	3173	8,826	0,146	0,531	0,954	---
---	3,521	2887	19674	5550	3029	8,199	0,147	0,520	0,953	---
---	3,234	2990	17643	5577	4596	9,245	0,169	0,536	0,651	---
---	3,504	3003	17723	5781	3660	8,568	0,169	0,519	0,820	---
---	3,307	3030	18248	6332	3830	9,164	0,166	0,479	0,791	---

	tN	tP	tK	tCa	tMg	MSPA SL
---	9,75	0,71	9,62	1,45	1,01	250,00
---	15,96	1,32	16,42	2,24	1,37	412,50
---	12,04	0,71	13,79	2,03	1,14	341,67
---	49,63	3,55	53,44	5,04	3,51	1250,00
---	63,05	4,80	50,59	7,43	6,24	1612,50
---	43,04	2,83	42,18	5,34	3,99	1358,33
---	47,38	4,00	37,39	6,06	6,25	1187,50
---	34,55	2,59	48,04	4,21	2,91	962,50
---	27,72	1,82	31,46	4,06	2,19	991,67
---	52,11	4,31	51,68	5,53	4,58	1350,00
---	52,37	4,35	46,99	6,34	5,54	1312,50
---	50,67	3,95	51,54	5,63	4,30	1391,67
---	51,01	3,87	51,91	6,28	5,23	1325,00
---	34,65	2,49	38,03	4,23	2,74	962,50
---	35,74	2,65	34,59	4,16	3,24	1100,00
---	25,04	1,67	18,48	3,42	2,85	662,50
---	28,68	1,97	34,84	3,54	2,19	775,00
---	26,58	1,77	25,62	4,03	2,65	737,50

Tableau 1-b : Exemple d'un jeux de donnée concernant la bactérisation d'engrais organo – minéraux au sens de FR 06/00014 (... suite).

PODZOL												
Parcelle	rN	rP	rK	rCa	rMg	rP/N	rP/K	rP/Ca	rP/Mg	RDT	%HUM	Pspec
1A Témoins	247,46	41,90	50,57	1,06	14,12	0,17	0,83	39,50	2,97	14,78	29,46	65,9
1B Témoins	231,02	37,76	47,35	1,16	13,04	0,16	0,80	32,66	2,90	14,32	29,11	68,11
1C Témoins	192,82	28,60	36,94	0,74	10,37	0,15	0,77	38,72	2,76	12,48	29,12	67,55
2A MAP+	215,17	33,16	40,79	1,09	10,98	0,15	0,81	30,48	3,02	13,23	30,38	65,66
2B MAP+	237,73	43,00	53,42	0,96	13,50	0,18	0,81	44,58	3,19	15,6	29,01	66,18
2C MAP+	189,13	32,67	41,33	0,84	11,58	0,17	0,79	38,86	2,82	12,5	28,74	67,49
3A EOM :	225,93	35,49	44,88	0,90	11,90	0,16	0,79	39,34	2,98	14,32	29,46	67,25
3B EOM :	236,63	30,15	37,45	0,65	10,71	0,13	0,81	46,14	2,82	14,2	29,05	67,75
3C EOM :	197,34	24,72	31,46	0,55	8,19	0,13	0,79	44,66	3,02	12,21	29,28	67,96
5A EOMI :	246,06	41,19	52,77	0,98	14,03	0,17	0,78	41,84	2,94	14,8	30,14	68,66
5B EOMI :	236,42	45,32	54,38	0,72	16,12	0,19	0,83	62,95	2,81	15,25	29,81	67,91
5C EOMI :	189,14	31,89	38,39	0,72	10,43	0,17	0,83	44,09	3,06	11,54	28,74	67,64
4A EOM+ :	219,74	33,72	41,21	0,65	11,45	0,15	0,82	51,70	2,95	12,99	31,31	66,77
4B EOM+ :	191,05	33,08	41,33	1,08	10,91	0,17	0,80	30,74	3,03	12,24	27,43	67,78
4C EOM+ :	233,17	28,62	38,72	0,89	9,69	0,12	0,74	31,99	2,95	15,15	29,47	67,25
6A EOM I+ :	248,47	38,50	48,39	0,93	12,43	0,15	0,80	41,37	3,10	14,79	28,26	68,06
6B EOM I+ :	201,84	23,81	31,77	0,72	7,69	0,12	0,75	33,03	3,10	12,96	27,8	67,72
6C EOM I+ :	209,46	28,73	37,03	0,77	9,28	0,14	0,78	37,45	3,10	12,94	28,08	67,05

	N	P	K	Ca	Mg	P/N	P/K	P/Ca	P/Mg	
---	3,164	2685	20557	7085	1314	8,486	0,131	0,379	2,044	---
---	3,153	2870	19988	6655	1424	9,102	0,144	0,431	2,015	---
---	3,079	2527	17540	6694	1754	8,208	0,144	0,378	1,441	---
---	3,110	2556	19441	7303	1270	8,219	0,131	0,350	2,013	---
---	3,122	2882	19889	7497	1477	9,230	0,145	0,384	1,951	---
---	2,997	2776	18407	8338	1727	9,263	0,151	0,333	1,607	---
---	3,205	2529	19713	7567	1330	7,893	0,128	0,334	1,902	---
---	3,167	3011	18257	7485	1490	9,508	0,165	0,402	2,021	---
---	3,006	2778	16819	7554	1714	9,241	0,165	0,368	1,621	---
---	3,215	2685	18959	6460	1260	8,352	0,142	0,416	2,132	---
---	3,167	2757	20663	6809	1395	8,704	0,133	0,405	1,976	---
---	3,088	2659	17258	7783	1639	8,609	0,154	0,342	1,622	---
---	3,214	2612	20598	6189	1259	8,129	0,127	0,422	2,075	---
---	2,918	2679	19296	6457	1324	9,181	0,139	0,415	2,023	---
---	3,167	3201	18026	8386	1608	10,106	0,178	0,382	1,991	---
---	3,079	2860	19946	6827	1338	9,290	0,143	0,419	2,137	---
---	3,079	2693	20076	6674	1329	8,747	0,134	0,403	2,026	---
---	3,132	2722	17573	8210	1678	8,691	0,155	0,332	1,622	---

	tN	tP	tK	tCa	tMg	MSPA SL
---	11,56	1,64	15,94	0,10	0,85	425,00
---	12,59	1,83	18,31	0,13	1,29	475,00
---	7,72	1,36	13,76	0,09	0,69	413,33
---	26,46	3,11	25,56	0,17	1,48	675,00
---	36,89	5,84	27,38	0,17	2,10	920,00
---	38,15	5,03	30,85	0,19	2,10	849,58
---	17,44	1,91	18,09	0,14	1,82	530,00
---	21,49	2,36	20,05	0,14	1,99	617,50
---	19,45	3,81	31,09	0,18	1,78	674,58
---	14,76	1,38	19,92	0,13	1,19	516,25
---	14,11	2,02	16,52	0,11	1,33	498,75
---	26,06	5,10	36,73	0,20	1,99	650,83
---	14,11	1,70	18,05	0,10	0,97	468,75
---	32,97	4,09	27,58	0,18	2,40	931,25
---	23,79	2,80	25,09	0,19	2,15	719,17
---	29,63	5,20	29,90	0,19	1,78	853,75
---	31,95	3,59	23,67	0,15	2,14	887,50
---	24,92	3,16	22,94	0,15	1,61	825,42

Par exemple, pour illustrer l'utilité de la bactérisation des EOM selon le mode opératoire décrit dans FR 06/00014 et leur utilisation comme engrais de démarrage (Claude et Giroux 2006), des informations sur l'état nutritionnel des plants de maïs grain ont été obtenues et rapportées pour chacune des 36 parcelles expérimentales ayant servi aux essais agronomiques rapportés dans

5 Claude et Giroux (2006) (Tableau 1-b). Ces informations comprennent les prélèvements en N, P, K, Ca et Mg des plants à 34 et 49 jours post-semis, et des grains à la récolte, des teneurs en N, P, K, Ca et Mg et feuilles épis (71 jps), ainsi que les indices chlorophylliens (71 jps), le rendement, le poids spécifique des grains et leur teneur en humidité. Ou encore, et selon une utilisation d'inocula BFCP AVS (AZB) sur résidus de culture au sol au sens du brevet FR 01/15542 et rapporté dans

10 Claude et Fillion (2004) des informations sur les rendements, le poids de mille grains (PMG) et la teneur en azote des grains pour quatre campagnes (sites-années) ont été ordonnées sous forme matricielle et présentés au Tableau 1-a.

APPLICATIONS BIOINDUSTRIELLES ET AGRONOMIQUES

15

Exemple 1 : réduction de la variabilité et de l'écart-type

Les données rapportées au Tableau 1-a) nous permettent d'entrevoir une plus grande stabilité des rendements sur parcelles traitées AZB, Azb et azb au sens de FR 01/15542 et Claude

20 et Fillion (2004) par rapport aux parcelles jumelées non-traitées (Figure 1). Ces parcelles semées en blé (Toulouse (31) et Lusignan (86) de 2000 à 2002) ont reçu que 70% de la dose d'azote recommandée, dite « dose X » ; elles sont donc sous – fertilisées et d'autant plus variables en terme de rendement.

Il est aussi possible d'exprimer cette moins grande variation des rendements entre les

25 parcelles bactérisées en rapportant les écarts types de ces rendements par rapport au écarts types provenant des parcelles témoins non - traitées (Figure 2). L'écart-type des rendements sur parcelles traitées est moins que celui des parcelles témoins non - traitées.

Exemple Céréale 2 : augmentation de la fréquence des rendements « optimaux »

30

À partir de fréquences cumulées (Figure 3) il est possible d'estimer l'écart par rapport à un rendement moyen dans, par exemple, 80% des cas selon le type d'inocula. Ces écarts sont de deux à trois fois plus faibles sur parcelles bactérisées (« traitées ») que sur leurs parcelles jumelles et appariées non - bactérisées (« témoins ») (Tableau 2). Cela est d'autant plus vrai, si les inocula

35 sont du type AZB au sens de FR 01/15542. Donc, la bactérisation des résidus de culture telle que rapportée dans Claude et Fillion (2004) fait que les rendements attendus sont d'autant plus prévisible et atteignables, *i.e.* stables.

Tableau 2 : Écarts des rendements moyens blés attendus dans 80% des cas selon le type de d'inocula des résidus de culture et par rapport aux parcelles témoins jumelées.

Inocula BFCP AVS	Écart de rendement attendu dans 80% des cas		
	Traitées	Témoins	... Traitées / Témoins
AZB	1573	4370	0.36
Azb	328	1058	0.31
Azb	927	2275	0.41

5 **Exemple 3 : augmentation de la corrélation inter-sites**

Il est aussi possible de mettre en évidence une plus forte similitude, une plus forte corrélation, des rendements provenant des diverses parcelles sur les divers sites x campagnes (Tableau 1-a). Par rapport aux rendements provenant des parcelles non-traitées, les rendements
 10 provenant des parcelles traitées sont plus semblables entre eux ; leurs corrélations inter - sites est plus marquées (Figures 4, 5 et 6). La bactérisation des résidus de culture au sol au sens de FR 01/15542 et Claude et Fillion (2004) réduit donc l'effet de l'environnement sur l'élaboration des rendements. En ce sens, les rendements en cours l'élaboration sur ces parcelles sont ainsi plu
 15 « isolés » des variations spatio-temporelles des teneurs en azote des sols, des bilan hydriques et thermiques, etc., dans cet environnement. L'élaboration de ces rendements est donc plus prévisible et moins sujet à de fortes variations ; il est plus stable.

A noter que la corrélation entre les données agronomiques provenant d'un même site l'année consécutive et l'année en cours devrait être plus ou moins négative ; le potentiel de rendement dans la région étant fixé à court et moyen terme, *i.e.* une bonne année en terme de
 20 rendements supérieur à ladite moyenne sur ce site augmentera inéluctablement la probabilité d'un rendement inférieure sur ce même site l'année suivante. Or, une valorisation microbiologique des résidus de culture devrait en sorte « briser » cette corrélation négative et permettre somme tout des rendements consécutifs plus importants.

Enfin, à noter que ce type de corrélations inter - sites de données partiellement aléatoires
 25 est beaucoup utilisé en modélisation météorologique (Mikkellen *et al.* 1996).

Exemple Céréale 4 : augmentation de la similarité des parcelles individuelles

Les parcelles d'un champ similaires entre elles seront d'autant plus en mesure de rendre
 30 de façon stable. En générale les rendements stables dans le temps et l'espace sont plus élevés, d'où l'intérêt agronomique de favoriser la stabilité des rendements en assurant la plus grande similarité des parcelles individuelles d'un champs.

À l'aide d'analyses en composantes principales (ACP) et/ou de techniques dites de *multi-dimensional scaling* (MDS) (*cf.* Lebart *et al.* 2000 ; Baldwin *et al.* 1998) il est possible de mesurer
 35 cette similitude en terme de « distance euclidienne » (DE) séparant lesdites parcelles ; l'intégral de ces DE servant d'indice de similarité inter – parcellaire ; des exemples de matrices de données pouvant avantageusement servir à ce type de mesure sont rapportées au Tableau 1.

J'ai donc, à l'aide d'une ACP, mesuré la DE séparant les différentes parcelles traitées ou non avec l'un des trois inocula BFCP AVS conçu au sens de FR 01/15542, soit AZB, Azb et azb, AZB étant en principe l'inocula le plus utile étant donnée le haut degré d'adaptation à la vie dans les sols (AVS) des souches AZB. Pour un site semé en blé (Toulouse, récolte 2001) et sous –
 5 fertilisé en azote (*i.e.* 70 de la « dose X »), nous avons effectué une ACP sur la base de diverses données provenant de chacune des 18 parcelles (30 m², 9 traitées, 9 non-traitées) y compris les rendements, les teneurs en nitrate des jus de bas tige (jbt) et les poids de mille grains (PMG). Comme nous le voyons à la Figure 7 les parcelles traitées AZB et, fait notable, que les parcelles AZB, sont appréciablement plus similaires entre elles que les parcelles non – traitées. Cette effet
 10 « stabilisateur », des inocula AZB explique vraisemblablement leur plus grande efficacité agronomique telle que rapportée dans Claude et Fillion (2004) et FR 01/15542.

J'ai effectué ce même type d'ACP mais pour des parcelles témoins et traitées azb, Azb et AZB pour l'ensemble des données rendements, PMG, et teneurs en azote des grains provenant des quatre (4) sites x années (Tableau 1-a). Comme nous le voyons à la Figure 8, seules les DE
 15 séparant les parcelles traitées AZB sont relativement plus faibles par rapport aux DE séparant les parcelles jumelées non – traitées ; les inocula Azb et azb au sens de FR 01/15542 étant relativement moins efficace qu'AZB en ce sens.

L'algorithme MDS permet lui aussi de mesurer, pour une DE donnée, la dissimilitude de l'ensemble des individus se trouvant à cette distance l'un de l'autre. Or, j'ai remarqué que pour
 20 une DE donnée, les parcelles traitées étaient dans l'ensemble moins dissimilaires entre elles que les parcelles témoins non – traitées (Figure 9). C'est-à-dire qu'on retrouve plus de parcelles traitées à faibles DE les unes des autres que de parcelles traitées à grandes DE les unes de autres ; cette observation est moins appréciable avec les parcelles témoins non – traitées (Figure 9).

La bactérisation des résidus de culture au sens de FR 01/15542 permet donc de réduire la
 25 dissimilitude des parcelles agronomiques individuelles et de « stabiliser » les rendements agronomiques élaborés sur ces parcelles.

Exemple Céréale 5 : réduction de l'effet de l'interaction site x année

30 Il est aussi possible de démontrer que la susdite bactérisation des résidus de culture au sol réduit, « brise » en sorte, l'effet des variations de l'environnement pédo - climatique permettant ainsi la formation d'un ensemble de parcelles homogènes.

Le « *multidimensional scaling* » (MDS) (ou positionnement multidimensionnel) est une méthode d'analyse statistique qui a pour objectif de modéliser les proximités, en terme de DE entre
 35 les individus de façon à pouvoir les représenter le plus fidèlement possible dans un espace de faible (deux) dimension (Lebart *et al.* 2000). L'indice de « dissimilitude » est analogue à une véritable différence phénotypique appréciable visuellement. L'algorithme MDS a l'avantage de pouvoir intégrer l'ensemble des traits variables (rendements, composantes de rendements, etc.) pour lesquels nous avons des informations, et de les traduire en coordonnées géométriques.

L'algorithme MDS permet donc de calculer, à partir des données au Tableau 1-a par exemple, les DE pour des parcelles individuelles à partir de la matrice des indices de dissimilitude que lui fournit l'ACP ; ces DE ordonnées en deux dimensions sont rapportées graphiquement à la Figure 10. A noter que les susdits inocula azotobactériens permettent de « dissoudre » les groupes homogènes constitué de parcelles témoins non-traitées, groupes homogènes déterminés essentiellement ici que par des facteurs pédo - climatiques (*i.e.* Toulouse (31) en 2000 et 2001, ou Lusignan (86) en 2001). Selon cette analyses les parcelles traitées au sens de FR 01/15542 sont effectivement peu ou pas sujettes à cette interaction site x année ; l'élaboration des rendements sur ces parcelles ce fait donc plus indépendamment des conditions agro - climatiques.

10

Exemple Céréale 6 : augmentation du déterminisme

Les rendements en grains sont déterminés par les « composantes du rendements » (*i.e.* poids relatifs des épis, grains, tiges, contribution au rendement en matière sèche et grains par rapport à l'ensemble du plant, dit « indice de récolte », etc.). S'il est possible de connaître le rendement d'une parcelles en mesurant ces diverses composantes du rendement, le rendement est d'autant plus déterminé, moins aléatoire et plus prévisible et stable au sens entendu.

Pour un site donnée (Toulouse, récolte 2001), j'ai donc calculé les coefficients de corrélation entre diverses composantes du rendement et les rendements effectivement obtenus sur parcelles témoins non – traitées et traitées avec l'un ou l'autre des inocula AZB, Azb et azb au sens de FR 01/15542 (Figure 11). A noter que j'ai rapporté la différence entre ces coefficients de corrélation établis sur parcelles traitées et non – traitées. Or, c'est surtout sur parcelles bactérisées avec les inocula AZB que l'augmentation des susdits coefficients de corrélations par rapport aux parcelles témoins jumelées est la plus importante ; les inocula azb et Azb moins efficaces tendent au contraire à réduire ce déterminisme.

25

Exemple Céréale 7 : Variabilité inter-parcellaire d'un essai maïs grain

A partir de l'ensemble des données (Tableau 1-b) ayant servit aux essais agronomiques des EOMI conçus selon FR 06/00014 et rapportés dans Claude et Giroux (2006), j'ai pu démontrer que la variabilité inter – parcellaire (écart-types) pour les traitements EOM (*i.e.* sans inocula BFCP AVS de type AZB) est plus grandes que celle pour les traitements EOMI (*i.e.* avec ledit inocula BFCP AVS incorporé) (Figure 12 et 12-bis). De plus, cela est surtout vrai sur gleysols ; les podzols, moins riche en composés calcio – magnésiques phosphatés, sont moins réceptifs à ce type de biofertilisation à base de BFCP AVS azotobactériennes capable de solubiliser l'hydroxy – apatite (*cf.* Claude et Giroux 2006). A noter que selon les données rapportées dans Claude et Giroux (2006), les EOMI sont effectivement plus efficaces en terme de rendements agronomiques sur gleysol que sur podzol. Nous sommes donc en droit d'attribuer cette plus grande efficacité des EOMI sur gleysol à la plus faible variabilité inter – parcellaires des rendements que provoque ces même EOMI sur ce type de sol.

40

En effet, à l'aide d'un ACP des données de Claude et Giroux (2006) (Tableau 1-b), j'ai pu illustrer la plus grande similitude entre les parcelles traitées - EOMI (i.e. avec l'inocula BFCP AVS azotobactérien incorporé) qu'entre celles traitées - EOM (i.e. sans ledit inocula BFCP ; Figure 13). Sur gleysols, sols réceptifs aux inocula BFCP AVS au sens de Claude et Giroux (2006), les
 5 parcelles inoculées (EOMI et EOMI+) sont distinctes des parcelles témoins et des parcelles non – inoculées (EOM et EOM+) (Figure 13) ; sur podzols, sols peu/pas réceptifs aux susdits inocula, cette distinction des parcelles inoculées n'est plus observable. L'efficacité desdits inocula sur gleysol rapportée par Claude et Giroux (2006) est donc liée, ou du moins concomitante, à leur
 10 l'hétérogénéité des parcelles individuelles.

Références, bibliographie et brevets pertinents

- 15 Baldwin, D.S., P. Ford et D.L. Nielsen. 1998. Resolution of the spatial variability in sediment composition within and between water-storage reservoirs using non-parametric statistical techniques. *Water Research* 32 :826-830.
- Bannayan, M. et N.M.J. Crout. 1999. A stochastic modelling approach for real-time forecasting of winter wheat yield. *Field Crop. Res.* 62:85-95.
- 20 Bashan, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances* Vol. 16 (4) : 729-770.
- Bermudez, M. et A.P. Mallarino. 2002. Yield and early growth responses to starter fertilizier in no-till corn assessed with precision agriculture technologies. *Agron. J.* 94:1024-1033.
- Berzsenyi, Z., B. Györfy et D-Q. Lap. 2000. Effect of crop rotation and fertilisation on maize and wheat yields and yield stability in a long-term experiment. *Eur. J. Agron.* 13 :225-244.
- 25 Booltink, H.W.G., B.J. van Alphen, W.D. Batchelor, J.O. Paz, J.J. Stoorvogel et R. Vargas. 2001. Tools for optimizing management of spatially-variable fields. *Agric. Syst.* 70:445-476.
- Calderini, D.F. et G.A. Slafer. 1998. Changes in yield and yield stability in wheat during the 20th century. *Field Crop Res.* 57:335-347.
- 30 Claude, P-P. et L. Fillion. 2004. Effet de l'apport d'un inoculum bactérien aux résidus de culture de maïs-grain au sol sur le rendement et la qualité de blés d'hiver panifiables en France. *Agrosol* 2004 (juin) 15(1) : 23-29.
- Claude, P-P et M. Giroux. 2006. Effet des engrais organo-minéraux inoculés (EOMI) sur la croissance des plants de maïs-grain, les rendements, les prélèvements des éléments nutritifs et la qualité des grains. *Agrosolutions* 2006 (novembre) 17(1) : 51-64.
- 35 Calderini, D.F. et G.A. Slafer. 1998. Changes in yield and yield stability in wheat during the 20th century. *Field Crop Res.* 57:335-347.
- Flores, F., M.T. Moreno et J.I. Cubero. 1998. A comparison of univariate and multivariate methods to analyse G x E interaction. *Field Crop Res.* 56:271-286.
- 40 Grausgruber, H., M. Oberforster, M. Werteker, P. Ruckenbauer et J. Vollmann. 2000. Stability of quality traits in Austrian-grown winter wheats. *Field Crop Res.* 66:257.
- Halsall, D.M. . 1993. Inoculation of wheat straw to enhance lignocellulose breakdown and associated nitrogenase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 25, Issue 4, Pages 419-429
- Halsall, D.M. and A.H. Gibson . 1991. Nitrogenase activity (C₂H₂ reduction) in straw-amended wheat belt soils in response to diazotroph inoculation. *Soil Biology and Biochemistry*, 23, Issue 10, Pages 987-998
- 45 Halsall, D.M. and A.H. Gibson . 1989a. Nitrogenase activity of a range of diazotrophic bacteria on straw, straw breakdown products and related compounds. *Soil Biology and Biochemistry*, 21(2) Pages 291-298.
- Halsall, D.M. and A.H. Gibson . 1989b. Nitrogenase activity by diazotrophs grown on a range of agricultural plant residues. *Soil Biology and Biochemistry*, 21, Issue 8, Pages 1037-1043.
- 50 Helms, T.C., R.A. Scott et J.J. Hammond. 1999. Intra-block variance among duplicate treatments for nearest - neighbor analyses. *Agron. J.* 91:317-320.
- Hildebrand, P.E. 1984. Modified stability analysis of farmer managed, on-farm trials. *Agron. J.* 76:271-274.
- Lark, R.M. 2001. Some tools for parsimonious modelling and interpretation of within-field variation of soil and crop systems. *Soil Till. Res.* 58:99-111.
- 55 Lebart, L., A. Morineau et M. Piron. 2000. *Statistique exploratoire et multidimensionnelle*. Dunod, ed., (Paris).

- Li, H., R.J. Lascano, J. Booker, L.T. Wilson et K.F. Bronson. 2001. Cotton lint yield in a heterogeneous soil at a landscape scale. *Soil Till. Res.* 58:245-258.
- Mikkelen, P.S., H. Madsen, D. Rosbjerg et P. Harremoës. 1996. Properties of extreme point rainfall III : identification of spatial inter-site correlation structure. *Atmosphere Res.* 40:77-98.
- 5 Okon, Y.V.. 1994. Agronomic application of *Azospirillum* : an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 26(12) 1591-1601.
- Piepho, H-P. 1998. Methods for comparing the yield stability of cropping systems – a review. *J. Agron. Crop Sci.* 180:193-213.
- 10 Plant, R.E. 2001. Site-specific management: the application of information technology to crop production. *Comput. Elect. Agric.* 30:9-29.
- Saunders. L.S., T.H. Webb et J.R.F. Barringer. 1997. Integrating economic data with spatial biophysical data to analyse profitability and risks of wheat production on a regional basis. *Agric. Syst.* 55(4):583-599.
- Stafford, J.V., B. Ambler, R.M. Lark et J. Catt. 1996. Mapping and interpreting the yield variation in cereal crops. *Comput. Elect. Agric.* 14 :101.
- 15 Stevenson, F.C., J.D. Knight, O. Wendroth, C. van Kessel et D.R. Nielsen. 2001. A comparison of two methods to predict the landscape-scale variation of crop yield. *Soil Till. Res.* 58:163-181.
- Vollmann *et al.* 2000. Spatial field variation in soybean (*Glycine max* L. Merr.) performance trials affect agronomic characters and seed composition. *Eur. J. Agron.* 12:13-22.
- 20 Yamoah, C.F., A. Bationo, B. Sharpiro et S. Koala. 2002. Trend and stability analyses of millet yields treated with fertilizer and crop residues in the Sahel. *Field Crop Res.* 75:53-62.

REVENDEICATIONS

1. Méthode d'utilisation de biomasses bactériennes pour l'amélioration de la stabilité des rendements de grandes cultures agronomiques comportant au moins ; (i) une biomasse bactérienne d'origine tellurique, (ii) un substrat *in situ* cible de ces biomasses et (iii) une grande culture agronomique non - légumineuse.
5
2. Méthode d'utilisation de biomasses bactériennes selon la revendication 1 caractérisée en ce que les biomasses bactériennes sont phytogènes, bien adaptées à la vie dans les sols et apportées en quantités suffisantes,
10
3. Méthode d'utilisation de biomasses bactériennes selon la revendication 2 caractérisée en ce que les biomasses bactériennes comprennent au moins 5×10^{12} cellules bactériennes viables par hectare.
15
4. Méthode d'utilisation de biomasses bactériennes selon la revendications 3 caractérisée en ce les cellules sont des bactéries fixatrices d'azote (diazotrophes), avantageusement mais non exclusivement de famille *Azotobacteracea*.
- 20 5. Méthode d'utilisation de biomasses bactériennes selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisée en ce que s'il y a comme substrat des résidus de cultures pailleux au sol ceux-ci sont bactérisés avec des biomasses bactériennes d'origine telluriques et enfouis en pré - semis de cultures d'hivers.
- 25 6. Méthode d'utilisation de biomasses bactériennes selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisée en ce que s'il n'y a pas de résidus de culture au sol comme substrat on utilise comme substrat des engrais organo - minéraux (EOM) devant servir par la suite d'engrais de démarrage (« starter ») en proximité des semences.
- 30 7. Méthode d'utilisation de biomasses bactériennes selon l'une quelconque des revendications 1 – 6 caractérisée en ce qu'elle est applicable aux grandes cultures agronomiques non - légumineuses telles que le maïs - grain, le sorgho, blé, le seigle, l'avoine, l'orge, le colza et/ou le lin.
- 35 8. Méthode d'utilisation de biomasses bactériennes selon la revendication 7 caractérisée en ce que pour ces grandes cultures agronomiques les variations spatiotemporelles des conditions de culture sont sources d'instabilité des rendements.

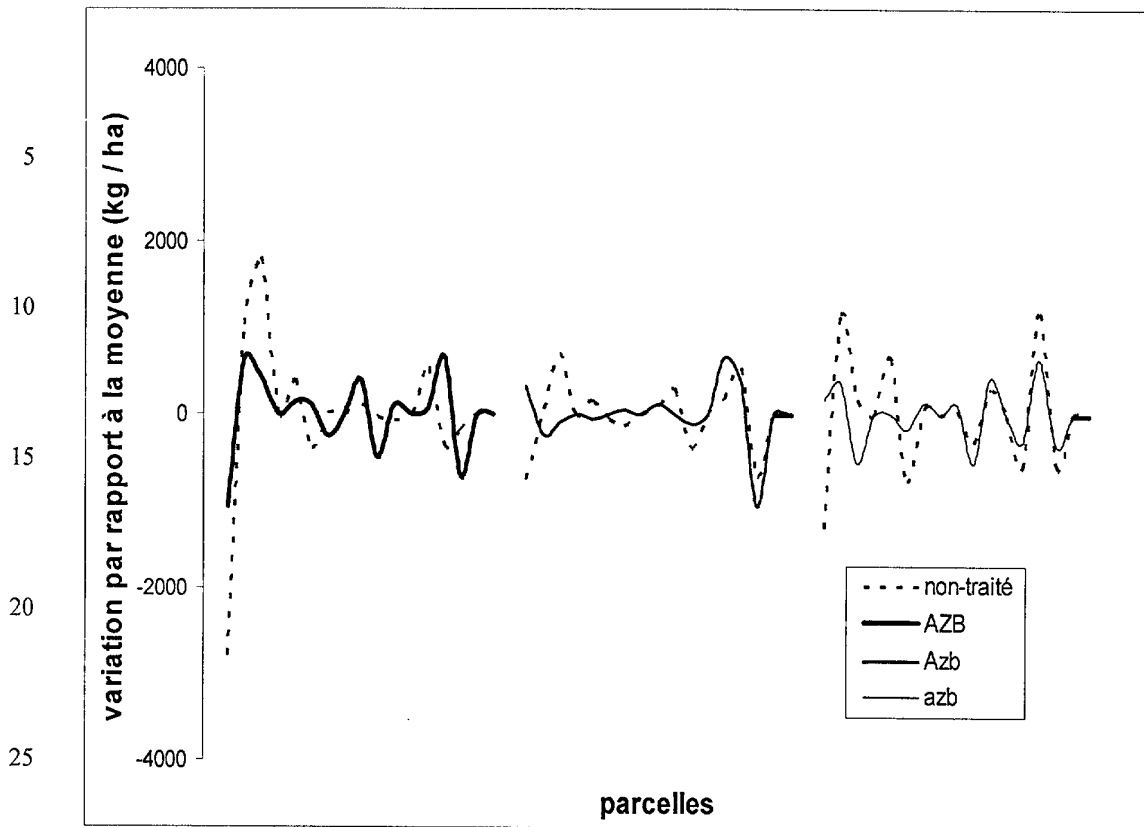


FIG 1

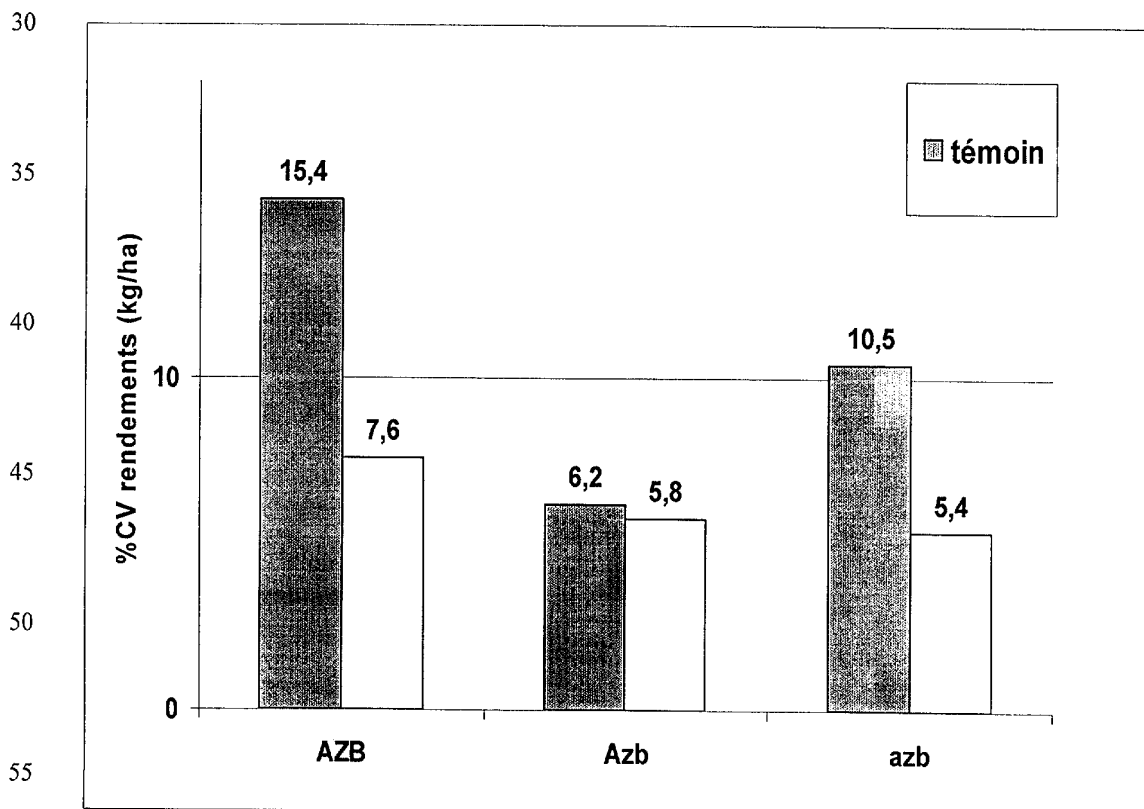
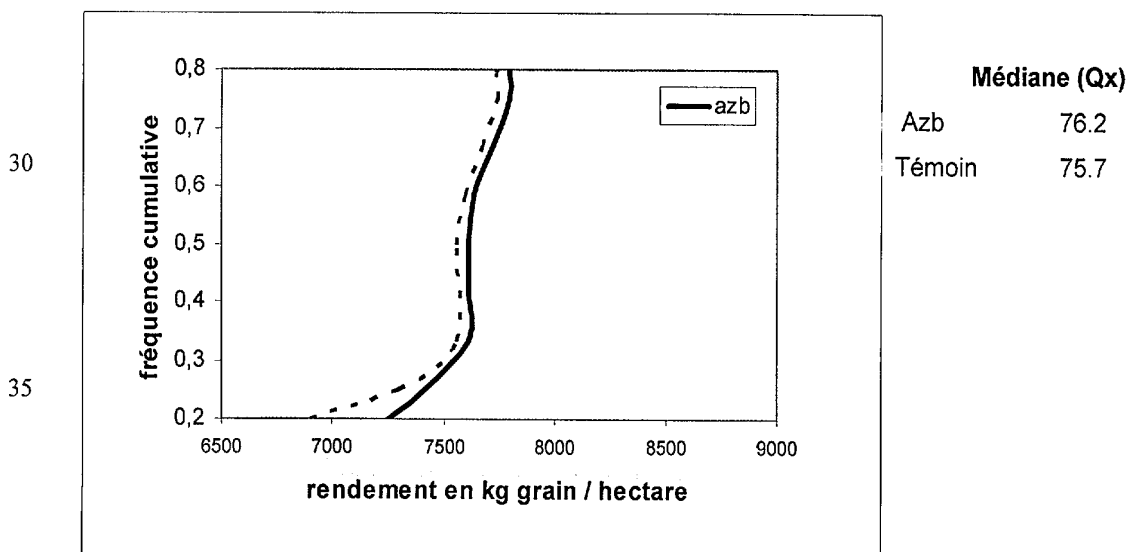
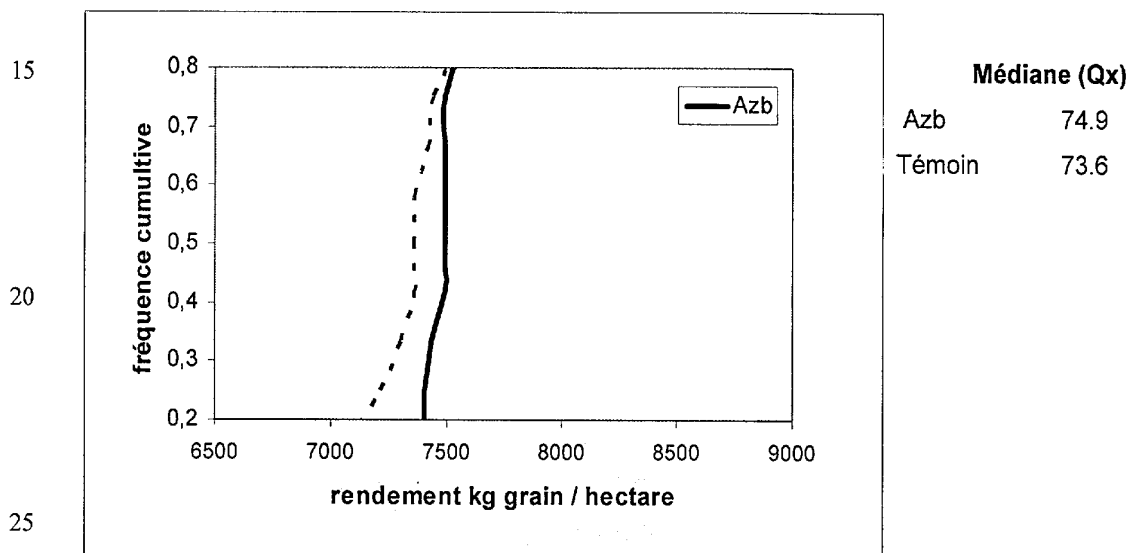
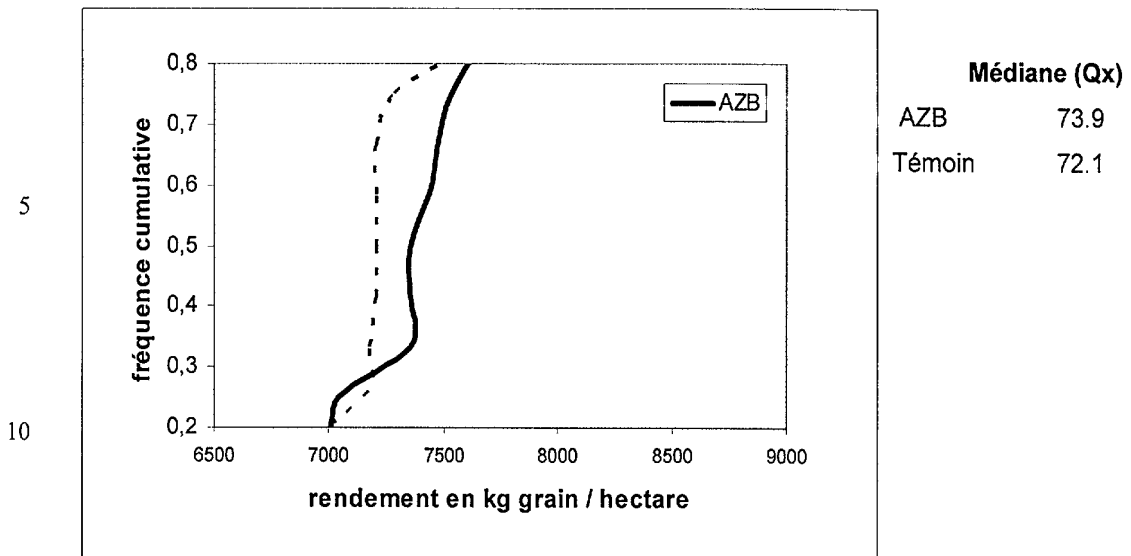
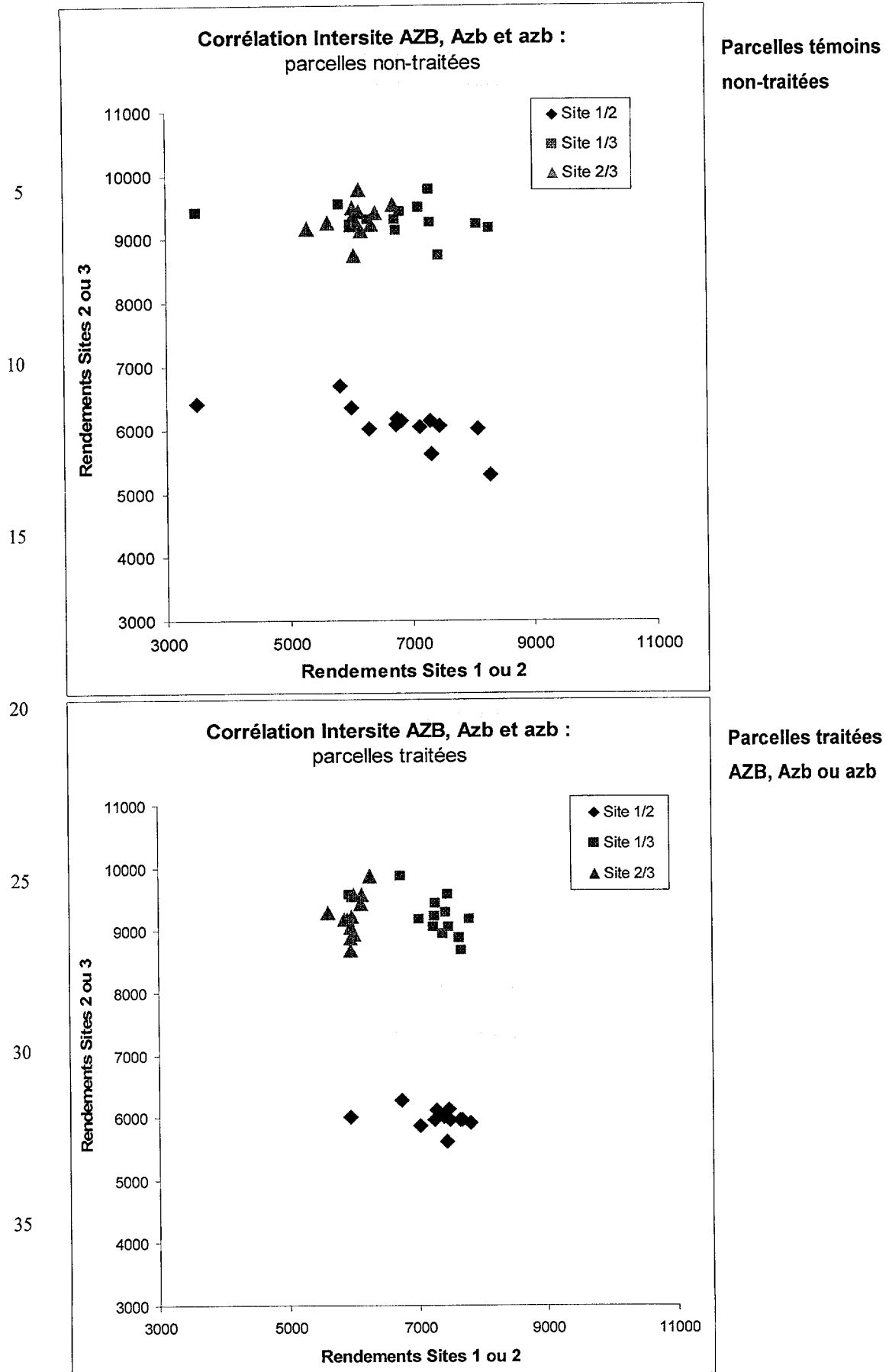


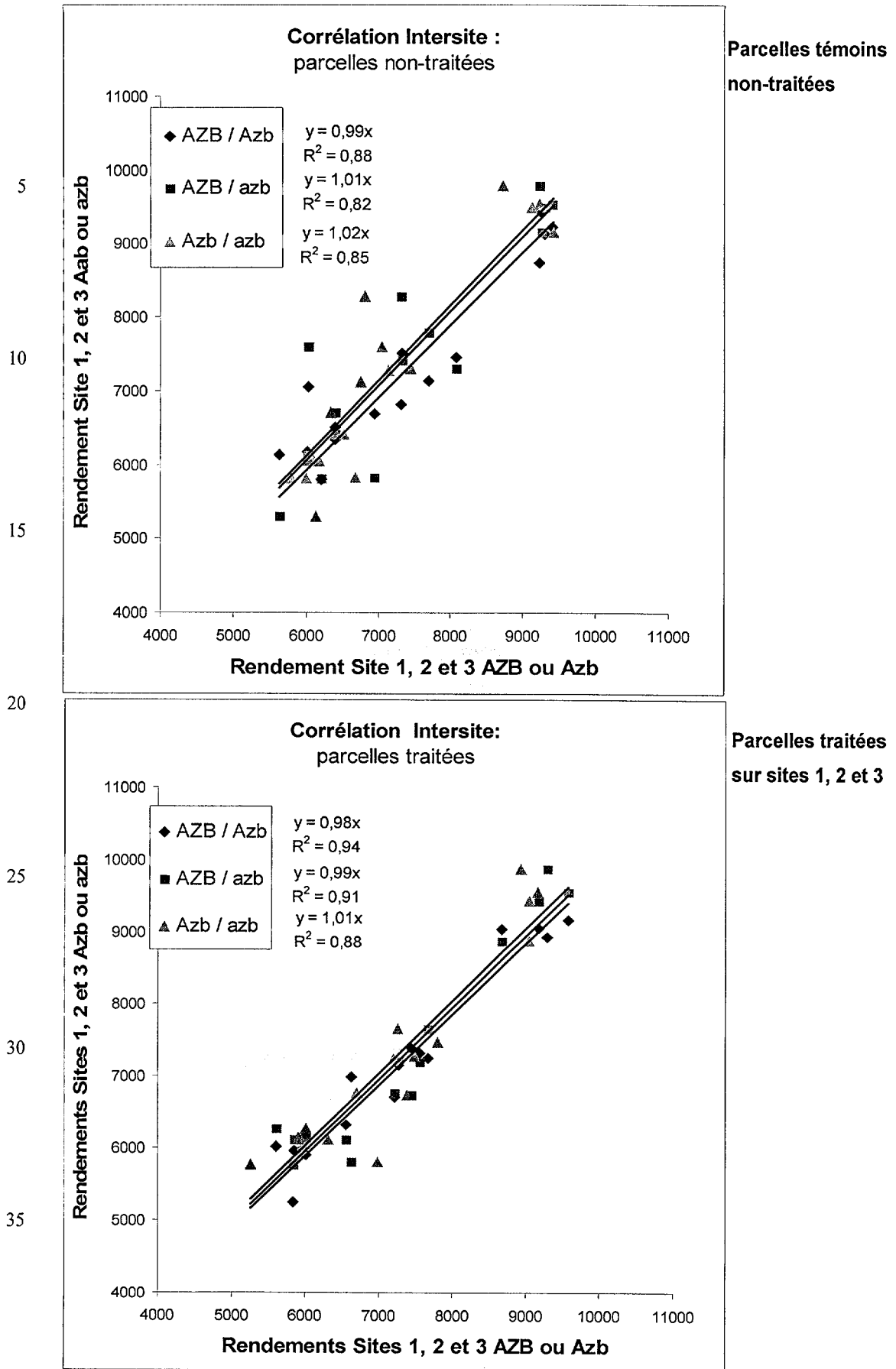
FIG 2



40 FIG 3

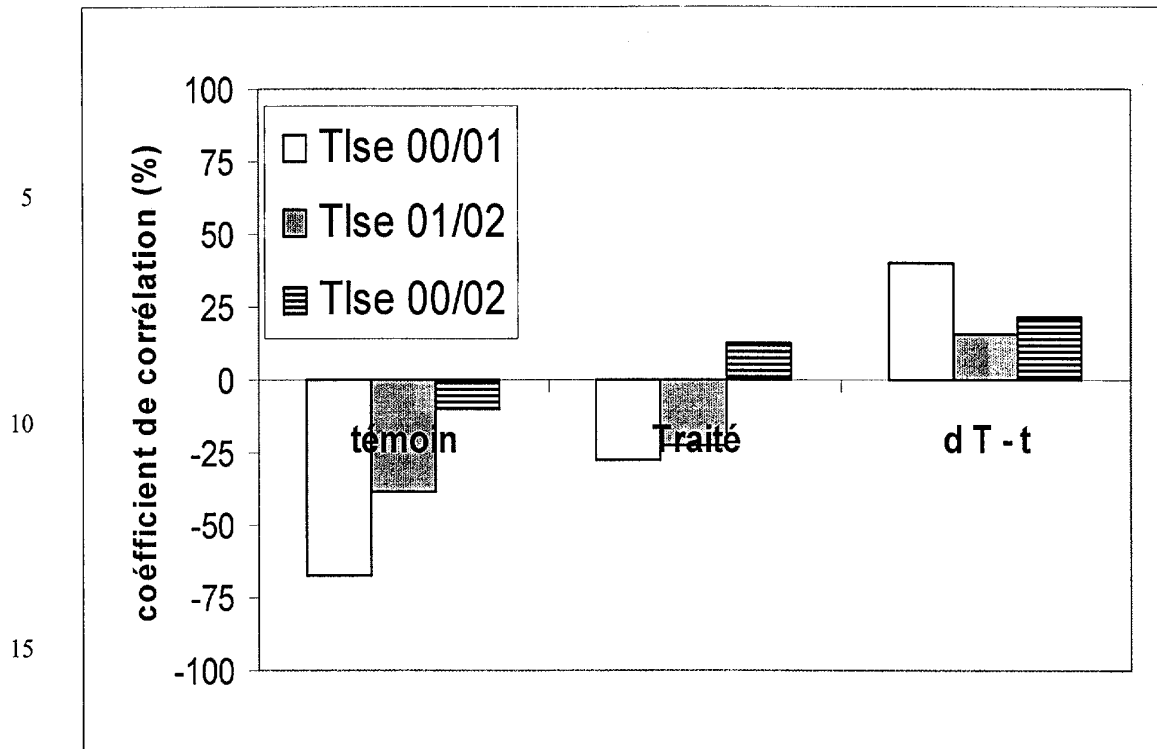


40 FIG 4

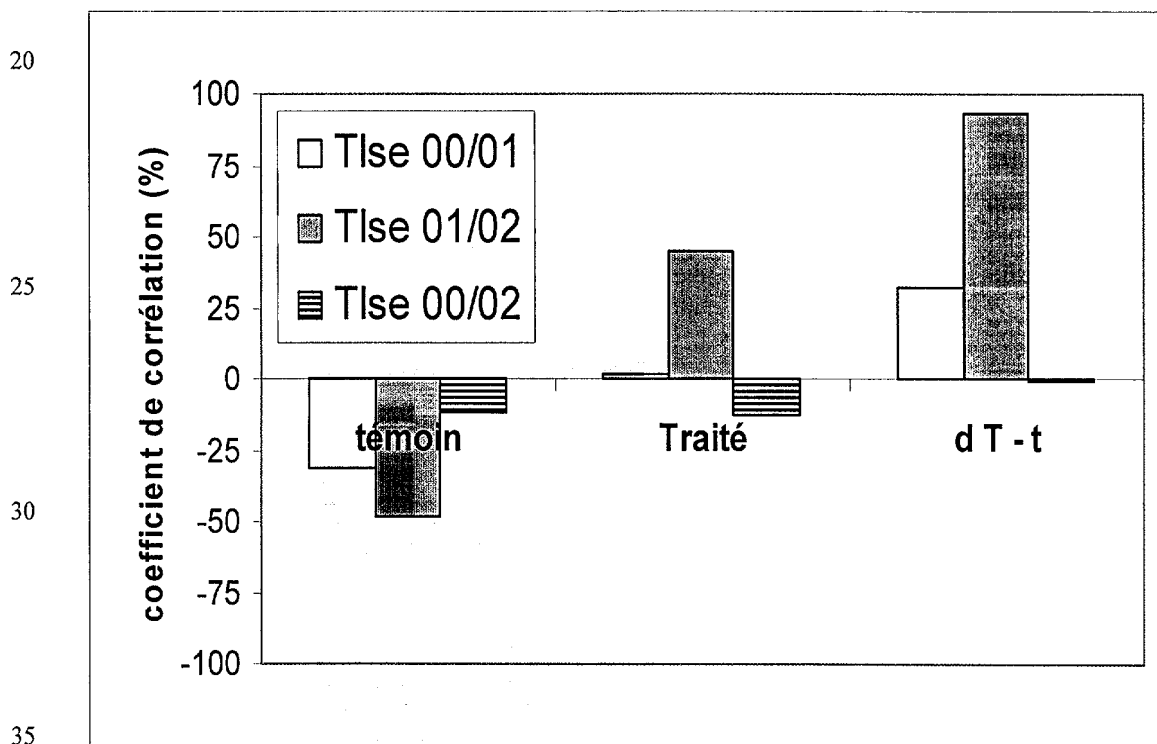


40 FIG 5

5/13

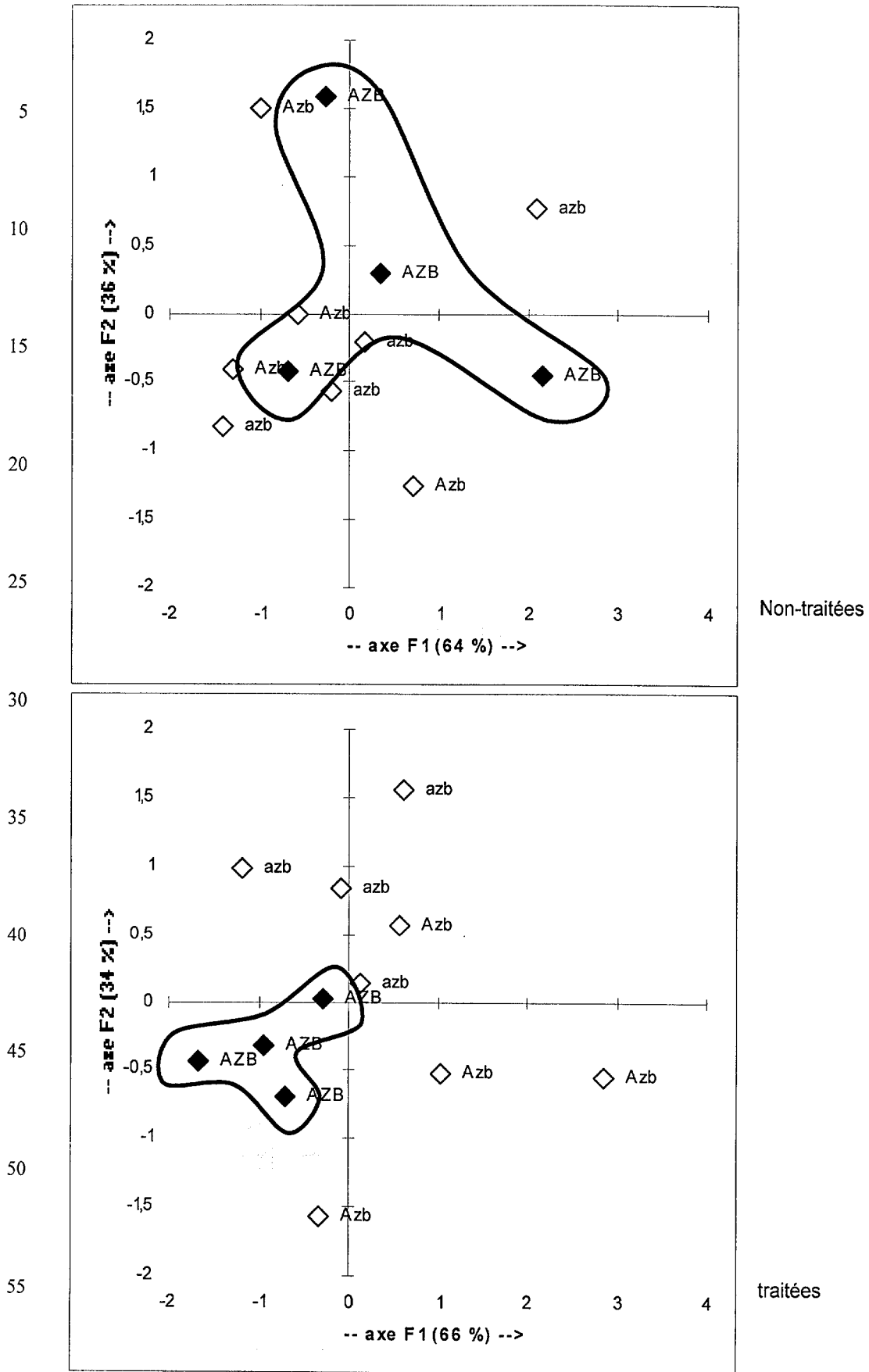


a) données Rendements (Rdt)

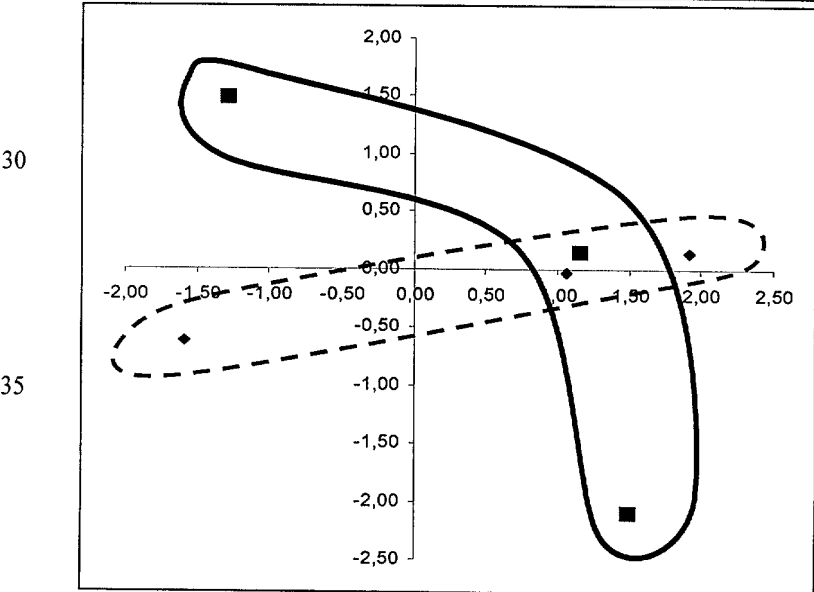
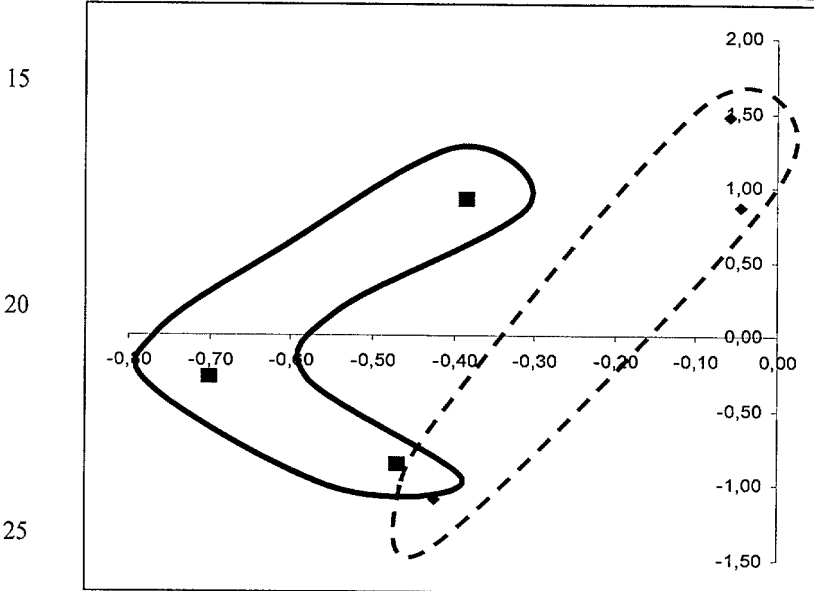
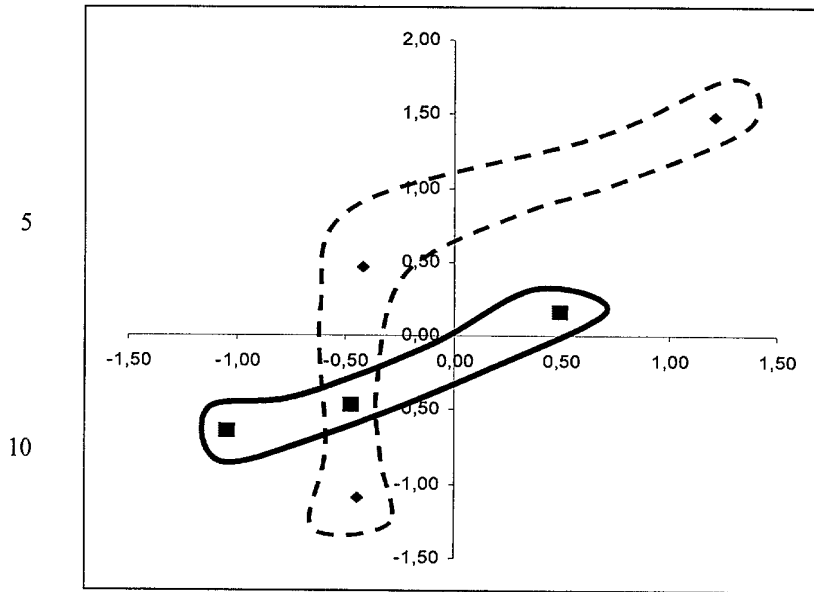


b) données poids de mille grains (Pmg)

FIG 6

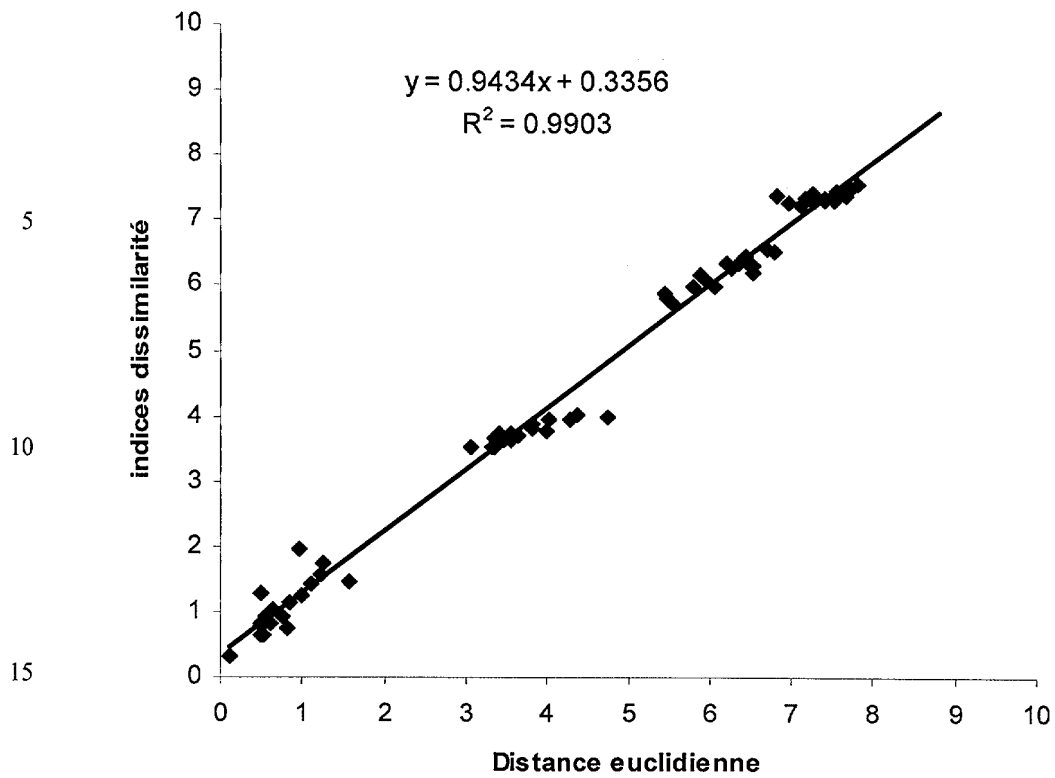


7/13

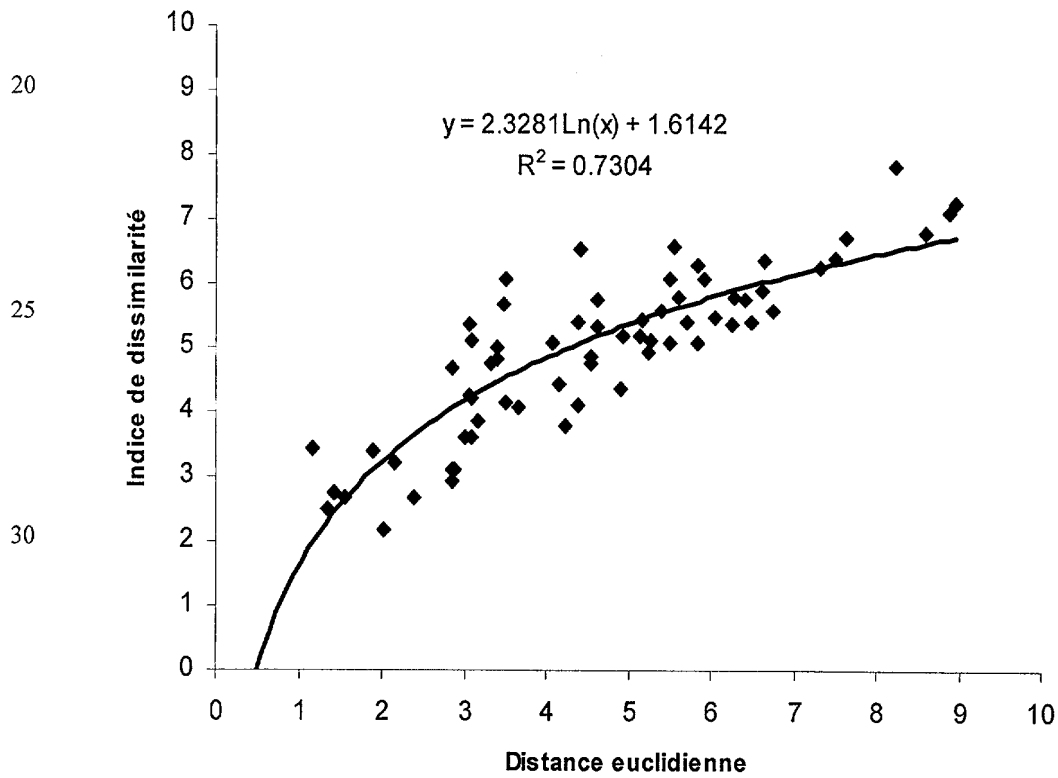


40 FIG 8

8/13

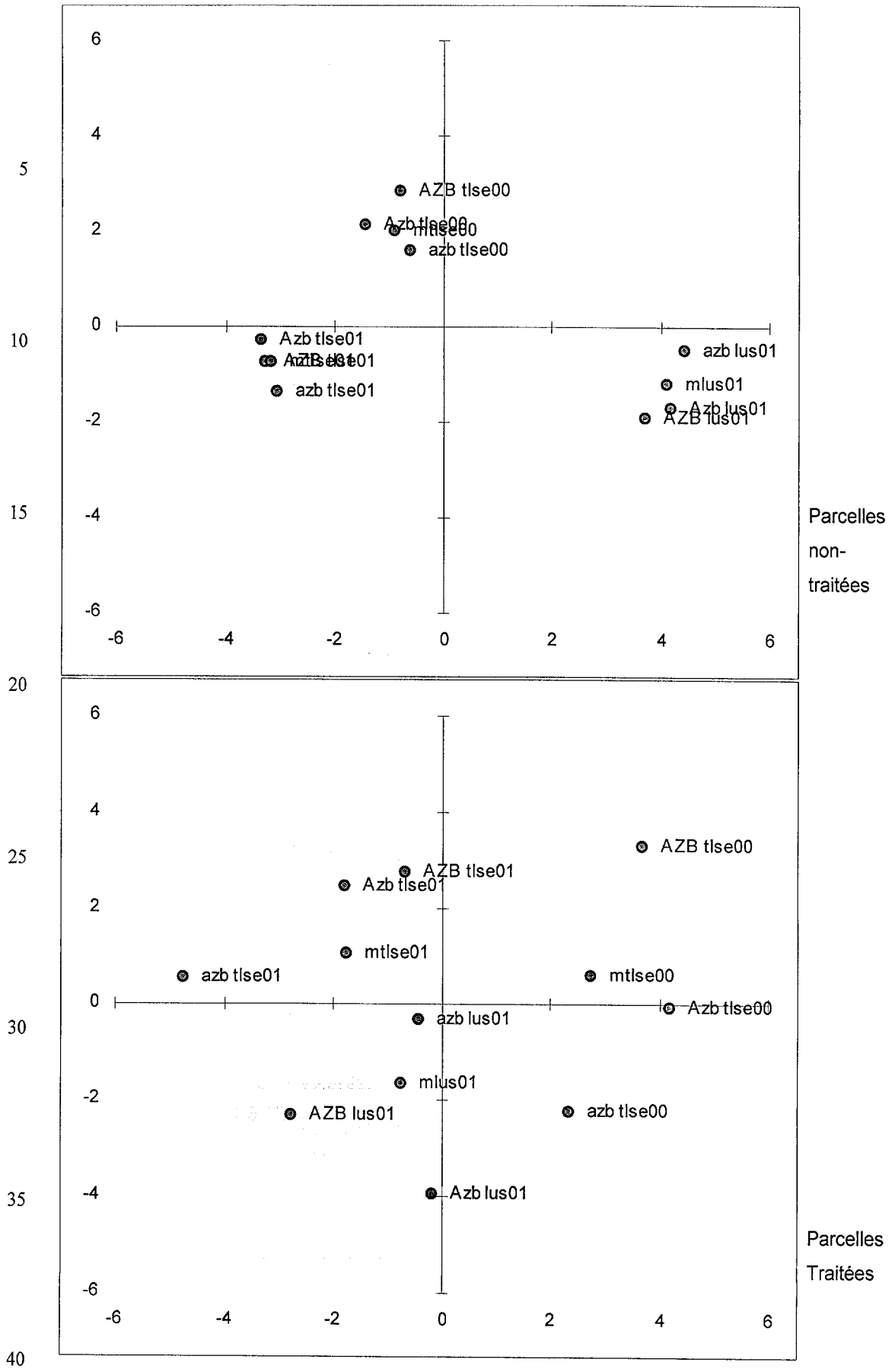


Parcelles non-Traitées



Parcelles Traitées

FIG 9



FIGU 10

10/13

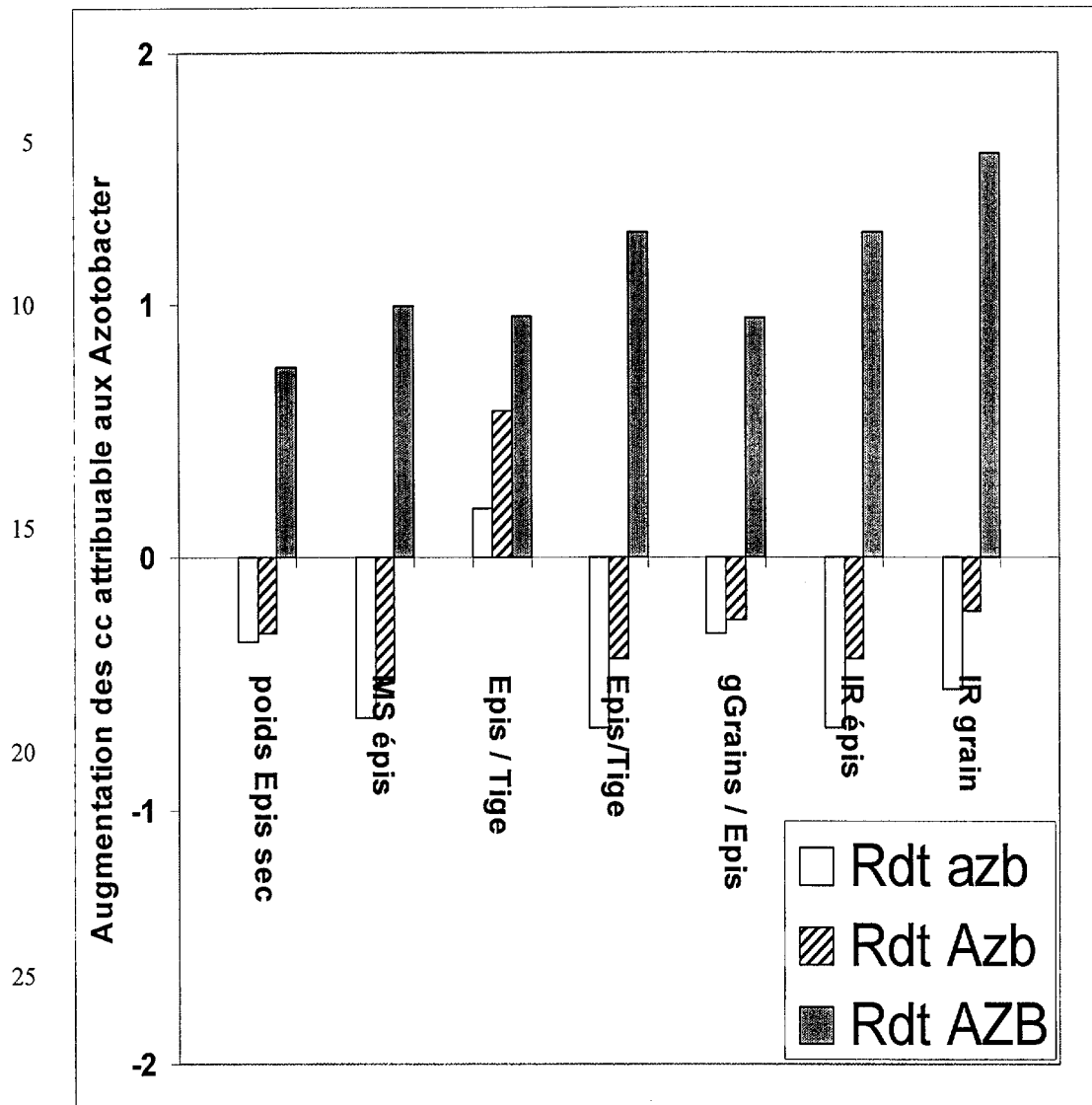
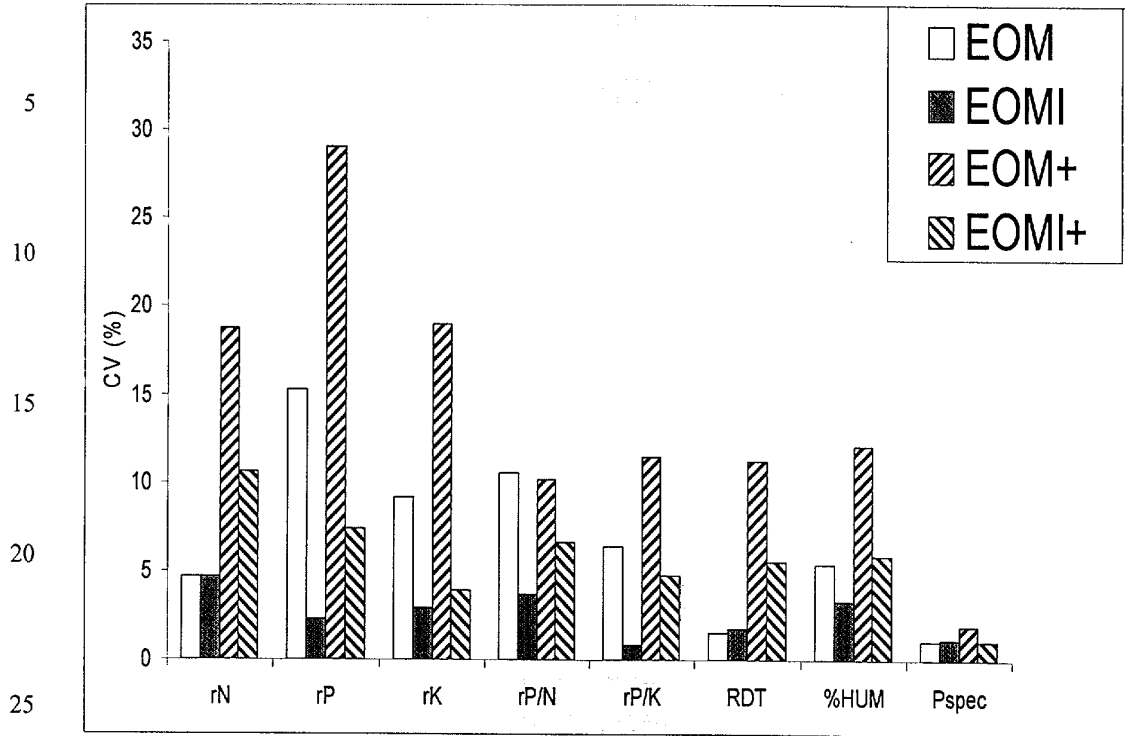


FIG 11

a) parcelle sur gleysol



b) parcelles sur podzol

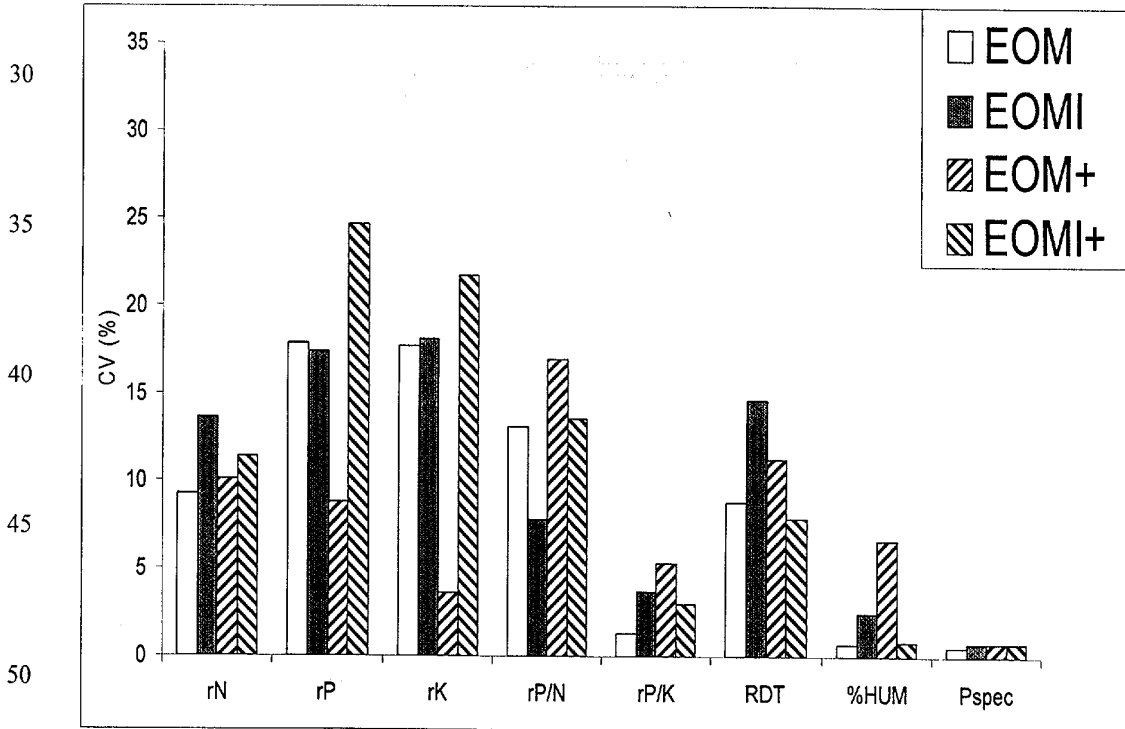
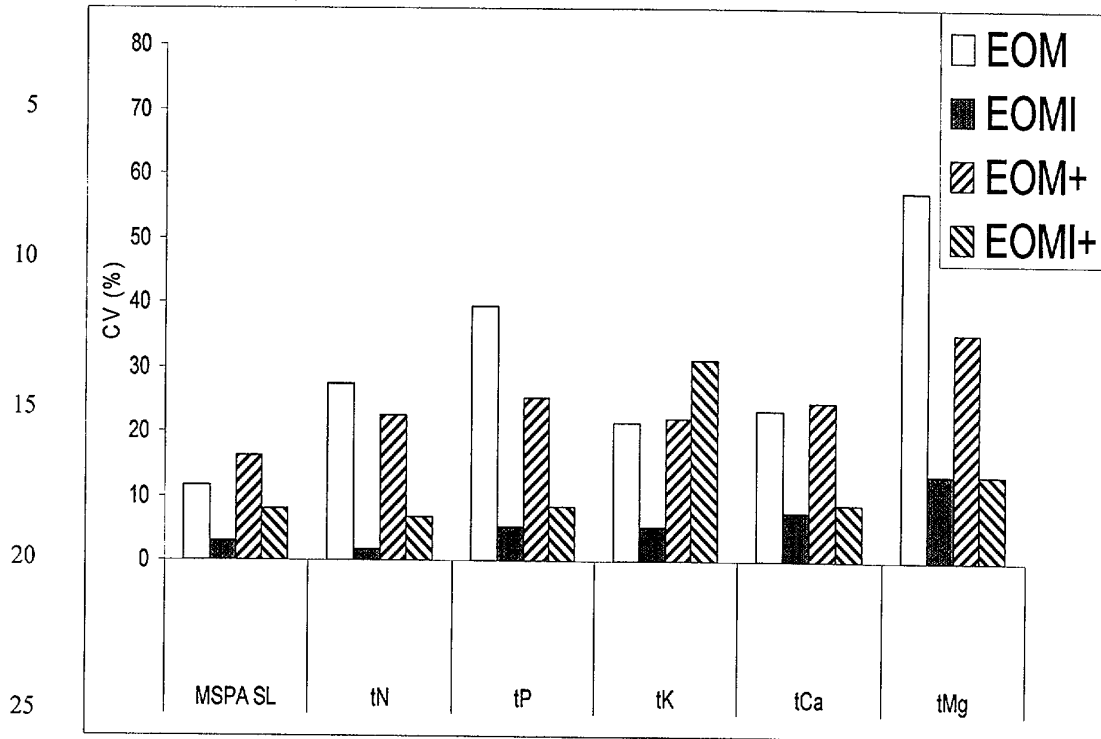


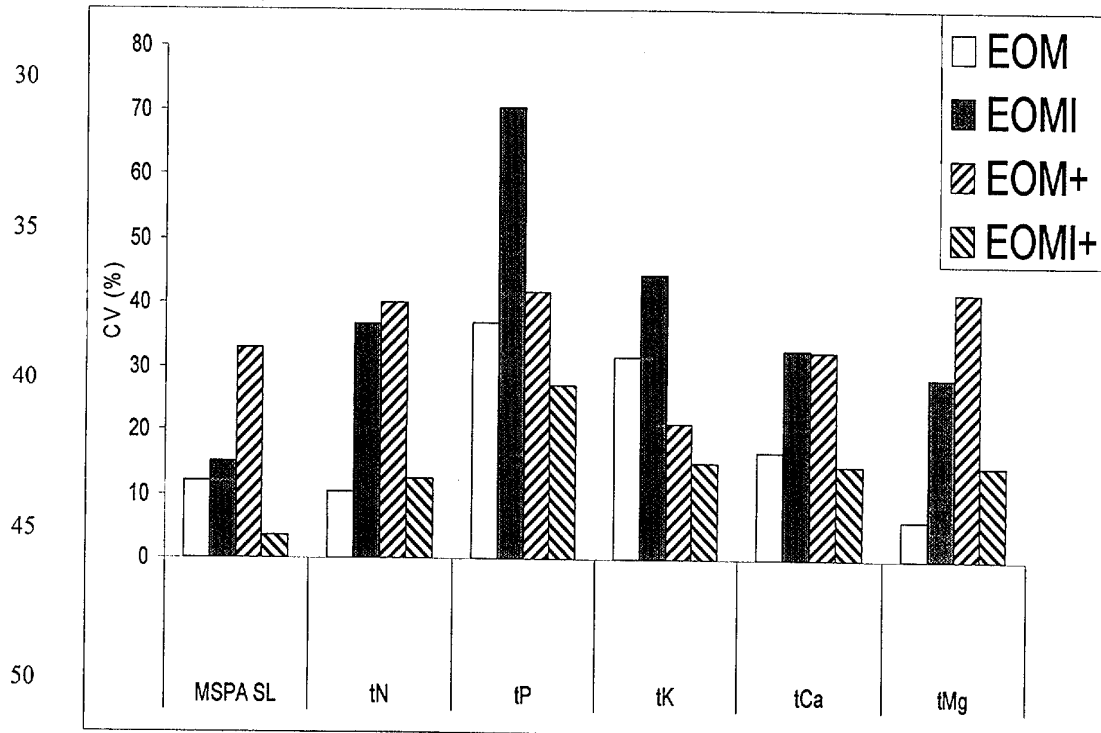
FIG 12

12/13

a) parcelles sur gleysol

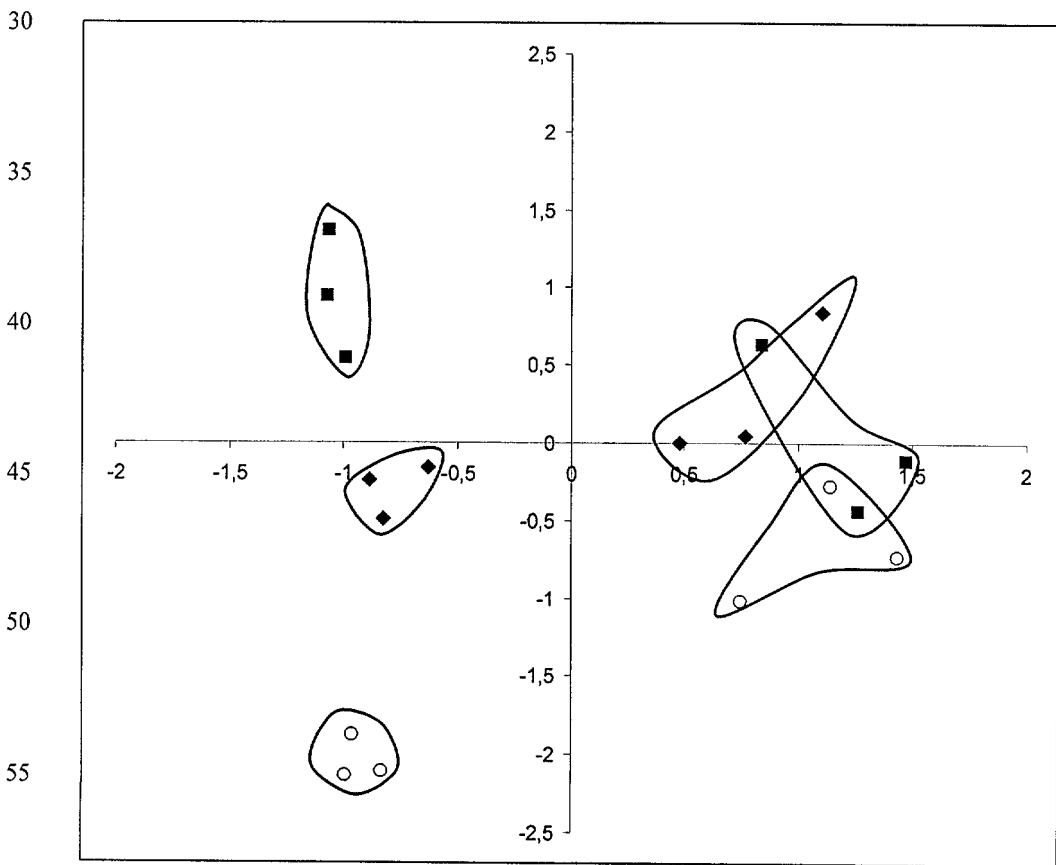
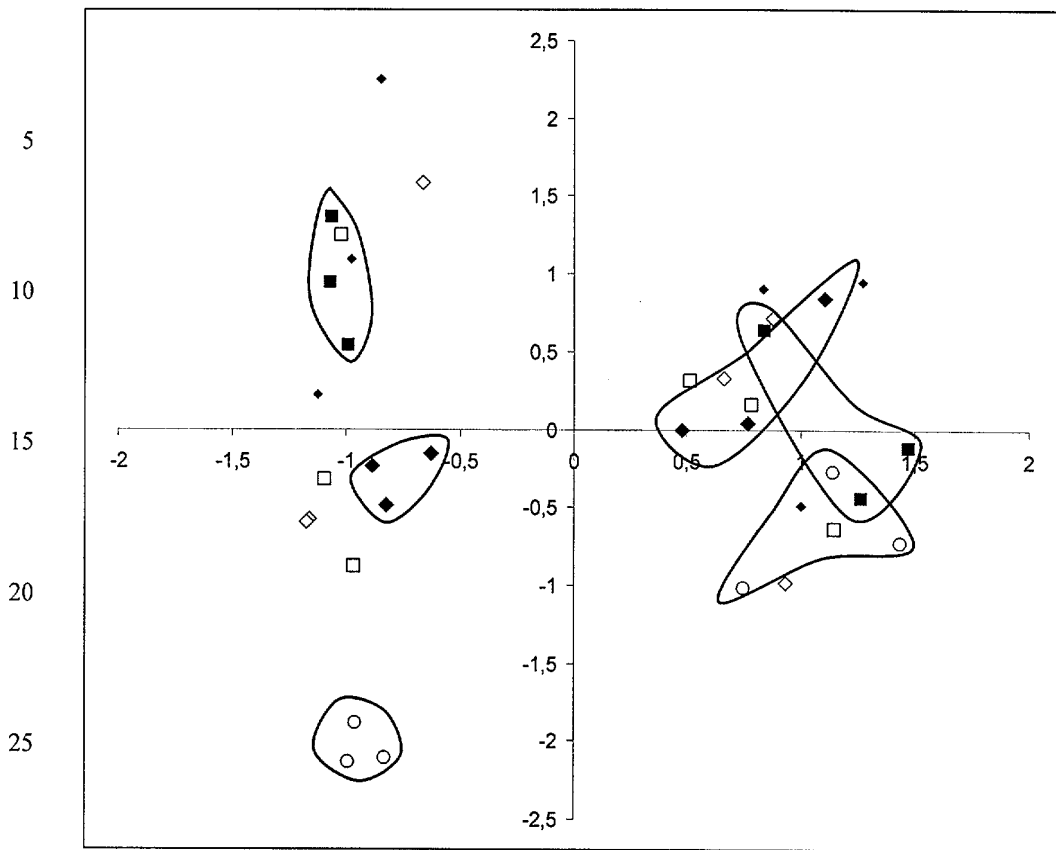


b) parcelles sur podzol



FIGU 12-BIS

13/13



60 FIG 13