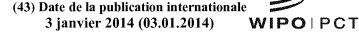
(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle

Bureau international





(10) Numéro de publication internationale WO 2014/001728 A1

(51) Classification internationale des brevets : A01C 21/00 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2013/051512

(22) Date de dépôt international :

27 juin 2013 (27.06.2013)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité : 12/56197 28 juin 2012 (2

28 juin 2012 (28.06.2012)

FR

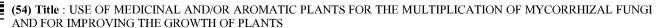
- (71) Déposants: INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPEMENT (I.R.D.) [FR/FR]; 44, Boulevard de Dunkerque, CS 90009, F-13572 Marseille Cedex 02 (FR). CENTRE DE COOPERATION INTERNATIONALE EN RECHERCHE AGRONOMIQUE POUR LE DE-VELOPPEMENT (CIRAD) [FR/FR]; 42, rue Scheffer, F-75116 Paris (FR). UNIVERSITE CADI AYYAD-FA-CULTE DES SCIENCES SEMLALIA, MARRAKE-CH-MAROC [MA/MA]; Avenue Prince Moulay Abdellah, BP 511, Marrakech, 40000 (MA).
- (72) Inventeurs: DUPONNOIS, Robin; 77, Grande Rue, F-71640 Mercurey (FR). PRIN, Yves; 13, rue Général Lafon, F-34000 Montpellier (FR). HAFIDI, Mohamed; Apt. 6, B4 Warda II, Allal El Fassi, Marrakech, 40000 (MA). OUAHMANE, Lahcen; 106 Mohamed Safou, Hay Youssef Ben Tachfine, Marrakech, 40100 (MA). BOUMEZ-

ZOUGH, Ali; 14 Lotissement Ibn Khaldoun, Hay Al Firdaous, Route de Casa, Marrakech, 40080 (MA).

- (74) Mandataire: GROSSET-FOURNIER, Chantal; Grosset-Fournier et Demachy, 54, rue Saint-Lazare, F-75009 Paris (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))



(54) Titre : UTILISATION DE PLANTES MEDICINALES ET/OU AROMATIQUES POUR LA MULTIPLICATION DE CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS ET L'AMELIORATION DE LA CROISSANCE DES CULTURES

- (57) Abstract: The present invention concerns the use of at least one seed or plant chosen from the *Lamiaceae* family and precultured in an area of ground for revegetation, in particular an area of ground for revegetation having a volume of approximately 0.5L, in particular for approximately 3 to 6 months, in particular 5 months, to produce a precultured plant, said precultured plant being uprooted from the area of ground after said precultivation, for the multiplication of mycorrhizal fungi and for improving the growth of at least one seed or plant of forest and/or fruit species in said ground for revegetation.
- (57) Abrégé: La présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser.



UTILISATION DE PLANTES MEDICINALES ET/OU AROMATIQUES POUR LA MULTIPLICATION DE CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS ET L'AMELIORATION DE LA CROISSANCE DES CULTURES

5

10

15

20

25

30

La présente invention concerne l'utilisation de plantes médicinales et/ou aromatiques pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance des cultures.

Dans le bassin méditerranéen, la déforestation est une pratique commune depuis plus de 2000 ans ayant pour conséquence la perte de la plupart des forêts primitives (Bauer, 1991; Los montes de Espana en la historia. Second edition. Ministerio de Agricultura y Pesca, Madrid, Spain; Blondel, J., Aronson, J., 1999. Biology and wildlife in the Mediterranean region.Oxford University Press, Oxford, UK).

Il a été estimé que seulement 9-10% de la zone méditerranéenne est actuellement occupée par la forêt (Marchand, 1990; Les Forêts Méditerranéennes. Enjeux et perspectives. Les fascicules du Plan Bleu, 2. Economica, Paris, France). Ces activités de dégradation dues à l'homme (surpâturage, techniques de culture non régulées, déforestation, etc) associées à des précipitations irrégulières, des étés longs et secs ont accéléré les processus de désertification des terres aboutissant une perte de la biodiversité et des capacités de production des terres forestières et agricoles.

En raison de la dégradation des forêts matures et l'abandon des terres agricoles, la surface recouverte par le maquis a significativement augmenté (Grove and Rackham, 2001; The nature of Mediterranean Europe: an ecological history. Yale University Press, London, UK) conduisant à un échec du processus de succession écologique (Pickett et al., 2001; Implications from the Buell-Small succession study for vegetation restoration. Applied Vegetation Science, 4: 41-52. R Development Core Team, 2007. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN: 3-900051-07-0. http://www.R-project.org) et, en consequence, à des limitations dans la restauration des structures et de la complexité de la communauté mature originale (Blondel and Aronson, 1999; Biology and wildlife in the Mediterranean region. Oxford University Press, Oxford, UK).

Par conséquent, l'intervention humaine est nécessaire pour assister la succession secondaire au niveau du maquis et pour faciliter le rétablissement des forêts. Dans les zones

WO 2014/001728 2 PCT/FR2013/051512

méditerranéennes, la plantation des espèces d'arbres est une pratique courante pour accélérer et récupérer des écosystèmes forestiers mais les performances de reforestation restent très faibles (Garcia-Salmeron, 1995; Manual de repoblaciones forestales II. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Madrid, Spain).

5

10

15

20

25

30

Dans les pratiques de reforestation conventionnelles utilisées dans les zones Méditerranéennes, les communautés d'arbustes sont généralement éliminées des zones de plantations puisqu'elles sont considérées comme des compétiteurs importants des arbres nouvellement plantés (Savill et al., 1997; Plantation sylviculture in Europe. Oxford University Press, Oxford, UK). Bien qu'il soit bien connu que la structuration et la dynamique du couvert végétal est assujeti aux relations entre les plantes, incluant la compétition (impact négatif), la neutralité et la facilitation (impact positif), la recherche en écologie s'est essentiellement focalisée sur la compétition (Callaway and Walker, 1997; Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. Ecology, 78: 1958-1965). Mais, dans les écosystèmes de type Méditerranéen, de nombreuses études ont montré que la proximité spatiale entre deux espèces de plantes pouvait être bénéfique plutôt que préjudiciable à leurs développements respectifs (Callaway and Walker, 1997; Brooker and Callaghan, 1998; The balance between positive and negative plant interactions and its relationship to environmental gradients: a model. Oikos, 81: 196-207; Ouahmane et al., 2006; Lavandula species as a source of arbuscular mycorrhizal propagules facilitating the early development of Cupressus arizonica. Appl. Soil Ecol, 34: 190-199).

Des schémas d'associations spatiales positives entre les espèces de plantes font référence au « syndrome plante-nourrice » selon les résultats de Niering et al. 1963; The saguaro: A population in relation to environment. Science, 142: 15-23 and Steenberg and Lowe (1969; Critical factors during the first year of life of the saguaro (*Cereus giganteus*) at Saguaro National Monument. Ecology, 50: 825-834 and 1977; Ecology of the saguaro. II. Reproduction, germination, establishment, growth, and survival of the young plant. Monogr. N°8. National Park Service, Washington, DC).

Ces plantes appelées nourrices agissent positivement sur la survie et la croissance d'autres espèces de plantes voisines en créant un meilleur habitat environnemental caractérisé par de faibles stress dus aux températures et rayonnements élevés et de carences limitées en humidité ou en nutriments du sol (Callaway, 1995; Positive interactions among plants. Botanical Review, 61: 306-349).

WO 2014/001728 3 PCT/FR2013/051512

Ces phénomènes de facilitation entre les espèces de plantes conduisent à la distribution éparse de la végétation communément observée dans le bassin Méditerranéen, spécialement dans les écosystèmes dégradés (Callaway and Pugnaire, 1999; Facilitation in plant communities. In: Pugnaire, F.I. and Valladares, F., editors. Handbook of functional plant ecology. Marcel Dekker, New York, USA. Pages 623-648; Maestre, 2002; Larestauracion de la cubiertavegetal en zonas semiaridas en funciondel patron espacial de factoresbioticos y abioticos. Dissertation. University of Alicante, Alicante, Spain).

5

10

15

20

25

30

Les « îlots de fertilité » (Garner and Steinberger, 1989, A proposed mechanism for the formation of fertile islands in the desert ecosystem. J Arid Environ 16: 257-262) ou les « îlots de ressources » (Schlesinger et al., 1996, On the spatial pattern of soil nutrients in desert ecosystems. Ecology 7: 364-374) résultant de l'établissement de plantes nourrices montrent une plus grande colonisation du sol par des champignons mycorhiziens arbusculaires (AM) (propagules infectieuses mycorhiziennes totales par unité de sol) comparée au sol adjacent éloigné de la plante d'influence (Ouahmane et al., 2006). Les champignons mycorhiziens arbusculaires augmentent la croissance et la survie des plantes dans des conditions arides en augmentant la mise à disposition de nutriments aux plantes (spécialement pour l'absorption du phosphate) (Ouahmane et al., 2007, Soil functional diversity and P solubilization from rock phosphate after inoculation with native or exotic arbuscular mycorrhizal fungi. For Ecol Manage, 241: 200-208), en augmentant l'agrégation du sol dans les sols érodés (Caravaca et al., 2002, Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for reafforestation with Oleaeuropaea subsp. sylvestris through changes in soil biological and physical parameters. Appl Soil Ecol, 20: 107-118) et en réduisant le stress hydrique (Augé, 2001, Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza, 11: 3-42).

L'absorption du phosphore est l'un des obstacles majeurs à la croissance de la plante du à son insolubilité et une capacité d'adsorption élevée résultant en des niveaux faibles en phosphore biodisponible pour les plantes (Marschner, 1995, Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. London. Niering, W.A., Whittaker, R.H., Lowe, C.H., 1963. The saguaro: A population in relation to environment. Science, 142: 15-23). Cependant, il est maintenant bien admis que l'exsudation des plantes et les activités microbiennes du sol pourrait donner accès à des réserves de phosphore organique et inorganique dans le sol (Jones, 1998, Organic acids in the rhizosphere – a critical review. Plant Soil, 205: 25-44). De nombreuses études ont montré que les champignons arbusculaires mycorhiziens présentent

une capacité élevée à solubiliser le phosphore à partir de phosphates inorganiques (Caravaca et al., 2004, Comparing the effectiveness of mycorrhizal inoculum and amendment with sugar beet, rock phosphate and *Aspergillus niger* to enhance field performance of the leguminous shrub *Dorycenium pentaphyllum* L. Appl Soil Ecol, 25: 169-180; Duponnois et al., 2005, The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. Soil BiolBiochem, 37: 1460-1468). Pour réduire les déficiences en phosphore et assurer la productivité des plantes, l'utilisation de phosphate de roche (RP) comme source alternative de phosphore fertilisant a été largement étudiée et plus particulièrement au Maroc, la troisième plus grand producteur de phosphate de roche (derrière les Etats-Unis et la Chine).

5

10

15

20

25

30

Malheureusement, la solubilisation de phosphate de roche se produit rarement dans des sols non acides fréquemment rencontrés dans les zones Méditerranéennes (Caravaca et al., 2004, Comparing the effectiveness of mycorrhizal inoculum and amendment with sugar beet, rock phosphate and *Aspergillus niger* to enhance field performance of the leguminous shrub *Dorycenium pentaphyllum* L..Appl Soil Ecol, 25: 169-180). Pour augmenter le processus de solubilisation de RP dans de telles conditions environnementales, l'utilisation de technologies mycorhiziennes appropriées peut renforcer ou remplacer le potentiel natif d'inoculum de champignons mycorhiziens dans le sol (Caravaca et al., 2003, Establishment of shrub species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochtonous arbuscular mycorrhizal fungi. Appl Soil Ecol, 22: 103-111).

Cependant, ces différentes techniques de mycorhization contrôlée présentent plusieurs insuffisances :

- i) la faible diversité génétique et fonctionnelle des communautés de champignon présents dans le substrat de culture suite à l'inoculation en masse d'une souche fongique sélectionnée pour son impact sur la croissance de la plante hôte mais également pour sa compétitivité vis-à-vis des peuplements naturellement présents dans le substrat,
- ii) une adaptation plus ou moins réelle de la souche fongique inoculée aux conditions environnementales du milieu dans lequel les plants sont transférés,
- iii) un besoin de technicité élevée pour la production en masse de l'inoculum fongique,
- iv) une augmentation significative du coût de revient des plants.

WO 2014/001728 5 PCT/FR2013/051512

Un des buts de la présente invention est l'utilisation de plantes nourrices pour la multiplication de champignons mycorhiziens.

Un autre but de la présente invention consiste en la fourniture d'un procédé de multiplication de champignons mycorhiziens aisément mis en œuvre permettant l'amélioration de la croissance des cultures.

5

10

15

20

25

30

La présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture,

pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser.

Le terme « graine » désigne une graine prégermée qui donnera une plante durant sa préculture.

L'invention n'est pas limitée aux graines et plantes mais concerne aussi les semences, les grains, les fruits, les pépins et les noyaux susceptibles de conduire à une plante précultivée.

L'expression « au moins une graine ou plante » signifie qu'une, deux, trois, quatre, cinq, ou même plus, graine(s) ou plante(s) la famille des *Lamiaceae* est(sont) introduite(s) dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L.

Le sol a revégétaliser peut être mélangé ou non avec un autre constituant tel que du sable pour constituer un substrat de culture.

L'expression « au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières » signifie qu'une, deux, trois, quatre, cinq, ou même plus, graine(s) ou plante(s) d'espèces forestières et/ou fruitières sera ou seront introduite(s) dans le sol à revégétaliser après ladite préculture et ledit déracinement pour l'amélioration de la croissance desdites espèces forestières et/ou fruitières, en particulier dans un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L.

Dans un mode de réalisation avantageux, seule une graine(s) ou plante(s) d'espèces forestières et/ou fruitières sera introduite dans ledit sol, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L.

WO 2014/001728 6 PCT/FR2013/051512

La famille des *Lamiaceae* comprend des plantes aromatiques et médicinales et est une importante source d'huiles essentielles et d'antibiotiques naturels. Elle est utilisée pour la cosmétique, l'aromathérapie, la parfumerie, la pharmacie ou l'industrie alimentaire.

L'espace de sol à revégétaliser correspond à un espace de sol qui a été déforesté et a subi une perte de sa biodiversité et de ses capacités de production forestières et agricoles.

5

10

15

20

25

30

L'espace de sol à revégétaliser possède une superficie moyenne comprise de 1 à 100 hectares.

Avantageusement, le sol à revégétaliser est un échantillon dudit sol d'environ 0,5L.

Le sol peut être utilisé tel quel après prélèvement ou broyé et tamisé sur un tamis d'environ 1 à 10 mm, en particulier un tamis de 2 mm.

En dessous de 3 mois de préculture, la plante précultivée n'a pas pu développer suffisamment de masse racinaire et ladite masse racinaire n'est pas suffisamment colonisée par des champignons mycorhizien, en particulier des champignons mycorhiziens arbusculaires.

Au dessus de 6 mois, la plante devient trop grande pour pouvoir être aisément utilisée.

Ladite plante précultivée est encore dénommée plante nourricière dans toute la description.

Après la préculture, la plante précultivée est déracinée, et par conséquent, l'espace de sol ou l'échantillon de sol comprend des morceaux de racines de la dite plante précultivée, des hyphes mycorhiziens, qui correspondent à l'organe principal d'un champignon et qui ont colonisé les racines de ladite plante précultivée, et des propagules infectieuses ou spores de champignons mycorhiziens développés sur les racines de la dite plante précultivée.

Les inventeurs ont trouvé de façon tout à fait inattendue que l'introduction d'une graine ou plante de la famille des *Lamiaceae*, sa préculture dans un sol à reforester puis son déracinement permettait de développer ou multiplier des champignons mycorhiziens, notamment arbusculaires préalablement à l'introduction d'une graine ou d'une plante d'un espèce forestière et/ou fruitière, augmentant ainsi la diversité génétique et fonctionnelle de champignons présents, une adaptation réelle desdits champignons aux conditions environnementales du milieu dans lequel les plants d'espèce forestière et/ou fruitière seront transférés, permettant ainsi une augmentation de la croissance desdits plants d'espèce forestière et/ou fruitière, sans utilisation d'engrais chimique extérieur pour améliorer la fertilité du substrat.

WO 2014/001728 7 PCT/FR2013/051512

Cela permet également d'éviter de recourir à une inoculation en masse nécessitant une technicité élevée, et, après déracinement de ladite plante nourrice, d'améliorer la croissance des cultures à des coûts très faibles, évitant ainsi une adaptation de la souche fongique inoculée aux conditions environnementales du milieu dans lequel les cultures sont transférées.

Par ailleurs, ladite plante précultivée ainsi déracinée peut être utilisée et valorisée pour ses applications diverses et servir ainsi de source d'huile essentielle, de condiment, de médicament... permettant ainsi de réduire de façon drastique les coûts de revient de la reforestation.

5

10

15

20

25

30

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, telle que définie ci-dessus, pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser,

dans laquelle une seule graine ou une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est précultivée dans un espace de sol à revégétaliser.

Dans ce mode de réalisation, seule une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est introduite dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, telle que définie ci-dessus,

dans laquelle ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est du genre *Ajuga*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Prunella*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja* ou *Thymus*.

Le genre Ajuga comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes : Ajuga australis, Ajuga decumbens, Ajuga bombycina, Ajuga bracteosa, Ajuga campylantha:, Ajuga campylanthoides, Ajuga chamaepitys, Ajuga chasmohila, Ajuga chia, Ajuga cliliata, Ajuga decaryana, Ajuga decumbens, Ajuga dictyocarpa, Ajuga flaccida, Ajuga forrestii, Ajuga genevensis, Ajuga glabra, Ajuga iva, Ajuga japonica, Ajuga laxmannii, Ajuga linearifolia,

WO 2014/001728 8 PCT/FR2013/051512

Ajuga lobata, Ajuga lupulina, Ajuga macrosperma, Ajuga makinoi, Ajuga mollis, Ajuga multiflora, Ajuga nipponensis, Ajuga nubigena, Ajuga oblongata, Ajuga oocephala, Ajuga ophrydris, Ajuga orientalis, Ajuga ovalifolia, Ajuga pantantha, Ajuga piskoi, Ajuga postii, Ajuga pygmaea, Ajuga pyramidalis, Ajuga relicta, Ajuga remota, Ajuga reptans, Ajuga robusta, Ajuga solicifolia, Ajuga sciaphila, Ajuga shikotanensis, Ajuga tenorii, Ajuga vestita, Ajuga xylorrhiza ou Ajuga yesoensis,

5

10

15

20

25

30

Le genre Lamium comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes: Lamium album L., Lamium amplexicaule L., Lamium bifidum, Lamium caucasicum, Lamium chinense, Lamium confertum Fr., Lamium coutinhoi, Lamium eriocephalum, Lamium flexuosum, Lamium galactophyllum, Lamium galeobdolon L, Lamium garganicum L., Lamium gevorense, Lamium gilongensis, Lamium glaberrimum, Lamium × holsaticum, Lamium kwangtungense, Lamium macrodon, Lamium maculatum L., Lamium moschatum, Lamium multifidum L., Lamium orientale, Lamium orvala L., Lamium purpureum L, Lamium szechuanense, Lamium taiwanense, Lamium tomentosum, Lamium tschorochense, Lamium vreemanii ou Lamium yangsoense.

Le genre Lavandula comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes : Lavandula angustifolia, Lavandula latifolia, Lavandula hybrida, Lavandula stoechas, Lavandula viridis, Lavandula pinnata, Lavandula lanata, Lavandula dentata ou Lavandula multifida.

Le genre Mentha comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes : Mentha aquatica L., Mentha arvensis L., Mentha asiatica Boriss., Mentha australis R. Br., Mentha canadensis L., Mentha cervina L., Mentha citrata Ehrh., Mentha cunninghamii Benth., Mentha dahurica Fisch. ex Benth., Mentha diemenica Spreng., Mentha gattefossei Maire, Mentha grandiflora Benth., Mentha haplocalyx Briq., Mentha japonica (Miq.) Makino, Mentha kopetdaghensis Boriss., Mentha laxiflora Benth., Mentha longifolia (L.) Huds., Mentha micrantha (Benth.) Des.-Shost., Mentha × piperita L., Mentha pulegium L., Mentha requienii Benth., Mentha rotundifolia (L.) Huds., Mentha satureioides R. Br. ou Mentha spicata L., Mentha suaveolens Ehrh.

Le genre *Prunella* comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes : *Prunella albanica* Pénzes, *Prunella asiatica* Nakai, *Prunella grandiflora* (L.) Scholler, *Prunella hastifolia Prunella hispida* Bentham, *Prunella hyssopifolia* L, *Prunella japonica* Makino, *Prunella laciniata* (L.) L, *Prunella orientalis* Bornm ou *Prunella vulgaris* L. WO 2014/001728 9 PCT/FR2013/051512

Le genre *Rosmarinus* comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes : *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr ou *Rosmarinus officinalis* L.

Le genre Salvia comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes : Salvia apiana Salvia divinorum, Salvia elegans, Salvia fruticosa, Salvia hispanica, Salvia leucantha, Salvia microphylla Salvia miltiorrhiza, Salvia nemorosa, Salvia officinalis, Salvia sclarea ou Salvia splendens.

5

10

15

20

25

30

Le genre Satureja comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes: Satureja acinos, Satureja alpina, Satureja coerulea, Satureja cuneifolia, Satureja douglasii, Satureja gillesii, Satureja hortensis, Satureja mexicana, Satureja montana, Satureja multiflora, Satureja palmeri, Satureja rumelica, Satureja spicigera, Satureja thymbra, Satureja viminea, Satureja viminea ou Satureja vulgaris.

Le genre *Thymus* comprend, sans être limité à celles-ci, les espèces suivantes: *Thymus* alpestris, *Thymus capitatus*, *Thymus citriodorus*, *Thymus dolomiticus*, *Thymus embergeri*, *Thymus herba-barona*, *Thymus nitens*, *Thymus oenipontanus*, *Thymus polytrichus*, *Thymus praecox*, *Thymus pseudolanuginosus*, *Thymus pulegioides*, *Thymus satureioidesto*, *Thymus serpyllum*, ou *Thymus vulgaris*.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, telle que définie ci-dessus,

dans laquelle la dite graine ou plante est du genre *Thymus* et appartient à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, la dite graine ou plante étant du genre *Thymus* et appartient à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*, telle que définie ci-dessus,

dans laquelle le nombre de propagules infectieuses de champignons mycorhiziens présentes dans l'espace de sol après préculture de ladite graine ou plante du genre *Thymus*, en particulier *Thymus satureioides*, est augmenté d'un facteur environ égal à 3 à 100, notamment environ égal à 5 à 25, en particulier d'un facteur environ égal à 9,1, par rapport audit espace

WO 2014/001728 10 PCT/FR2013/051512

de sol sans préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des Lamiaceae.

L'expression « propagules infectieuses » désigne les spores et est un organe de dissémination (propagation) et de reproduction. Son augmentation traduit donc également l'augmentation ou la multiplication des champignons mycorhiziens, en particulier arbusculaires pour promouvoir la croissance de graines ou plantes forestières et/ou fruitières.

5

10

15

20

25

30

L'introduction d'au moins une graine ou plante choisie parmi le genre *Thymus*, en particulier *Thymus satureioides*, dans un espace de sol à revégétaliser permet donc la multiplication par un facteur au moins égale à 3 des champignons mycorhizien, en particulier arbusculaires par rapport à la proportion de champignons mycorhizien, en particulier arbusculaires dans le même espace de sol dans lequel aucune préculture de plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* n'a été effectuée.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, telle que définie ci-dessus,

dans laquelle la dite graine ou plante est du genre Lavandula et appartient à l'espèce Lavandula spp., en particulier Lavandula dentata, Lavandula multifida ou Lavandula stoechas.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, ladite graine ou plante étant du genre *Lavandula*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, telle que définie ci-dessus,

dans laquelle le nombre de propagules infectieuses de champignons mycorhiziens présentes dans l'espace de sol après préculture de ladite graine ou plante du genre *Lavandula*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, est augmenté d'un facteur environ égal à 3 à 50, notamment environ égal à 4 à 15, en particulier d'un facteur environ égal à 6,8, par rapport audit espace de sol sans préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.

WO 2014/001728 11 PCT/FR2013/051512

L'introduction d'au moins une graine ou plante choisie parmi le genre *Lavandula*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, dans un espace de sol à revégétaliser permet donc la multiplication par un facteur au moins égale à 3 des champignons mycorhizien, en particulier arbusculaires par rapport à la proportion de champignons mycorhizien, en particulier arbusculaires dans le même espace de sol dans lequel aucune préculture de plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* n'a été effectuée.

5

10

15

20

25

30

La présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser, telle que définie ci-dessus,

dans laquelle la dite plante est dépourvue d'inoculation préalable par un champignon mycorhizien, en particulier un champignon du genre *Glomus*, notamment *Glomus mosseae* ou *Glomus intradradices*.

Dans ce mode de réalisation, lorsque la graine ou la plante sont introduits dans ledit espace de sol à revégétaliser, il n'y a pas eu d'inoculation préalable de la graine ou de la plante avec un champignon mycorhizien, en particulier un champignon du genre *Glomus*, notamment *Glomus mosseae* ou *Glomus intradradices*, c'est-à-dire que la graine ou la plante sont introduits dans l'espace à revégétaliser sans apport extérieur d'inoculum fongique ou de champignon mycorhizien.

Un autre avantage de l'invention est donc d'éviter un surcoût significatif dans la production des plants pour la reforestation, notamment ceux dus à l'emploi d'un inoculum fongique produit selon les règles de la mycorhization contrôlée.

La présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, pour la multiplication de champignons

WO 2014/001728 12 PCT/FR2013/051512

mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser, telle que définie ci-dessus,

dans laquelle ledit espace de sol à revégétaliser contient du phosphate de roche, en particulier à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v), après avoir déraciné ladite au moins une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.

5

10

15

20

25

30

Le phosphate de roche peut être naturellement présent dans le sol à revégétaliser. S'il est présent en quantité suffisante pour atteindre lesdites concentrations, il n'est alors pas nécessaire d'en rajouter.

Cependant, dans la plupart des sols à revégétaliser, soit la concentration de phosphate de roche naturellement présente est insuffisante soit il n'y a pas de phosphate de roche et dans ces deux cas il est nécessaire de compléter ou d'amender le sol pour atteindre la concentration ci-dessus définie.

Le phosphate de roche avant amendement peut être préalablement broyé et tamisé sur un tamis de 10 à 200 mm, en particulier 90 mm.

La présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser, telle que définie ci-dessus,

comprenant de plus la culture d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière, après avoir déraciné ladite plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ledit espace de sol à revégétaliser contenant éventuellement du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, en particulier à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v).

Un autre avantage de l'invention consiste en le déracinement de la plante précultivée permettant toujours de favoriser la croissance des plants d'espèce forestière et/ou fruitière, notamment en rendant les champignons mycorhiziens présents sur les racines de ladite plante précultivée bio disponibles uniquement pour les plants d'espèce forestière et/ou fruitière

WO 2014/001728 13 PCT/FR2013/051512

évitant ainsi la mobilisation desdits champignons par ladite plante précultivée pour sa propre croissance s'il elle avait été laissée en place, non déracinée.

Le nombre de graines ou de plantes d'espèces forestières et/ou fruitières introduits dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, après ladite préculture et le dit déracinement peut être de, un, deux, trois, quatre, cinq, ou même plus, graine(s) ou plante(s) d'espèces forestières et/ou fruitières.

5

10

15

20

25

30

Le phosphate de roche lorsqu'il est présent ou introduit de la même manière que cidessus définie permet d'augmenter encore la croissance des graines ou plantes d'espèces forestières et/ou végétales.

Dans un mode de réalisation avantageux, seule une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est introduite au préalable et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, et seule une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières est introduite après ladite préculture et ledit déracinement dans ledit espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L.

La présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser, et comprenant de plus la culture d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière, après avoir déraciné ladite plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ledit espace de sol à revégétaliser contenant éventuellement du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, en particulier à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v), telle que définie ci-dessus,

dans laquelle ladite culture d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière, après avoir déraciné ladite plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, est effectuée sans co-culture avec une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.

WO 2014/001728 14 PCT/FR2013/051512

Le déracinement de la plante précultivée signifie dans ce mode de réalisation que la culture d'au moins une graine ou plante forestière et/ou fruitière lorsqu'elle est introduite dans le sol à revégétaliser est dépourvue de co culture avec ladite plante précultivée.

Dans un mode de réalisation avantageux, le déracinement de la plante précultivée signifie que la culture d'au moins une graine ou plante forestière et/ou fruitière lorsqu'elle est introduite dans le sol à revégétaliser est dépourvue de co culture avec ladite plante précultivée ou toute autre plante précultivée ou nourricière.

5

10

15

20

25

30

La présente invention concerne l'utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser, et comprenant de plus la culture d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière, après avoir déraciné ladite plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ledit espace de sol à revégétaliser contenant éventuellement du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, en particulier à une concentration d'environ 0,01 % (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),

ladite culture d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière, après avoir déraciné ladite plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, étant effectuée sans co-culture avec une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, telle que définie ci-dessus, dans laquelle ladite espèce forestière est du genre *Cupressus*, en particulier *Cupressus atlantica*, *Cupressus arizonica* ou *Cupressus sempervirens*.

Il n'existe pas d'ectomycorhizes sur les racines d'espèces forestières du genre Cupressus ou cyprès et par conséquent, ce genre de champignons mycorhizien n'est pas responsable de la croissance de celui-ci.

Selon un autre aspect, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant :

la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de

volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée,

la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, tel que défini ci-dessus, et comprenant les étapes suivantes :

10

5

- a. la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée,
- b. le déracinement de la dite plante précultivée,
- c. la culture dans ledit espace de sol à revégétaliser d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée.

20

15

Le sol à revégétaliser est mélangé ou non avec un autre constituant tel que du sable en proportion sol/sable comprise de 0,5 :1,5 (v :v) à 1,5 :0,5 (v :v), préférentiellement 1 :1 (v :v) pour constituer un substrat de culture.

La préculture est effectuée directement dans le sol à revégétaliser ou un volume de sol à revégétaliser de 0,5L est collecté et introduit dans un récipient destiné aux cultures.

La préculture permet la multiplication des champignons mycorhiziens en particulier arbusculaires.

25

30

Le déracinement permet après la multiplication des champignons mycorhiziens, en particulier arbusculaires, de conserver tout le potentiel mycorhizien disponible pour la culture d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière.

Il est introduit dans ledit espace de sol à revégétaliser après préculture et déracinement de ladite plante précultivée un, deux, trois, quatre, cinq ou même plus graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière.

Avantageusement, seule une graine est introduite et le sol a à revégétaliser possède un volume de 0,5L.

WO 2014/001728 16 PCT/FR2013/051512

La graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière peut être désinfectée avant introduction. Dans le cas où elle est désinfectée, il ne peut y avoir de champignons mycorhiziens présents sur les graines ou les racines de la plante..

La culture de la graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière dans ledit espace de sol à revégétaliser dépend du volume de ce dernier.

5

10

15

20

25

30

Si la culture a été effectuée en volume d'environ 0,5L, elle peut durer de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois.

Après culture de la graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière en volume d'environ 0,5L, la plante est transférée en milieu naturel et plantée dans l'espace de sol à reforester pour y être cultivée.

Si la culture de la graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière a été effectuée directement dans l'espace complet de sol à revégétaliser ou reforester, il n'y a alors pas de transfert et la plante forestière se développe.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, tel que défini ci-dessus,

dans lequel une seule graine ou une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est précultivée dans un espace de sol à revégétaliser.

Dans ce mode de réalisation seule un graine ou plante est précultivée. Après préculture et déracinement, une, deux, trois quatre, cinq ou même plus graine(s) ou plante(s) d'une espèce forestière et/ou fruitière est(sont) introduite(s) dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L.

Dans un mode de réalisation avantageux, seule un graine ou plante est précultivée et seule une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière est introduite dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante

WO 2014/001728 17 PCT/FR2013/051512

précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, tel que défini ci-dessus, dans lequel ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est du genre *Ajuga*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Prunella*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja*, *Thymus*.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, et ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Ajuga*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Prunella*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja*, *Thymus* tel que défini ci-dessus,

5

10

15

20

25

30

dans lequel la dite graine ou plante est du genre *Thymus* et appartient à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Thymus* et appartient à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*, tel que défini ci-dessus,

dans lequel le nombre de propagules infectieuses de champignons mycorhiziens présentes dans l'espace de sol après préculture de ladite graine ou plante du genre *Thymus*, en particulier *Thymus satureioides*, est augmenté d'un facteur environ égal à 3 à 100, notamment environ égal à 5 à 25, en particulier d'un facteur environ égal à 9,1, par rapport audit espace de sol sans préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante

choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Thymus* et appartenant à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

a. Récolte du sol à revégétaliser;

5

10

15

20

25

30

- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Thymus satureioides*.
 notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée;
- d. Optionnellement récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Optionnellement, amendement dudit sol avec du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- g. Optionnellement transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Thymus* et appartenant à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

- a. Récolte du sol à revégétaliser;
- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Thymus satureioides*.
 notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée;
- d. Récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;

e. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;

f. Transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Thymus* et appartenant à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

a. Récolte du sol à revégétaliser;

5

10

15

20

25

30

- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Thymus satureioides*, notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée;
- d. Récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Amendement dudit sol avec du phosphate de roche, broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- g. Transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante

WO 2014/001728 20 PCT/FR2013/051512

choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, et ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Ajuga*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Prunella*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja*, *Thymus*, tel que défini ci-dessus,

dans lequel la dite graine ou plante est du genre Lavandula et appartient à l'espèce Lavandula spp., en particulier Lavandula dentata, Lavandula multifida ou Lavandula stoechas.

5

10

15

20

25

30

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, et ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Lavandula* et appartenant à l'espèce *Lavandula spp.*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoecha*, tel que défini ci-dessus,

dans lequel le nombre de propagules infectieuses de champignons mycorhiziens présentes dans l'espace de sol après préculture de ladite plante du genre *Lavandula*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, est augmenté d'un facteur environ égal à 3 à 50, notamment environ égal à 4 à 15, en particulier d'un facteur environ égal à 6,8.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, et ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Lavandula* et appartenant à l'espèce *Lavandula spp.*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoecha*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

- a. Récolte du sol à revégétaliser;
- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée;

- c. Déracinement de ladite plante précultivée après ladite préculture;
- d. Optionnellement récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Optionnellement, amendement dudit sol avec du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- g. Optionnellement transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, et ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Lavandula* et appartenant à l'espèce *Lavandula spp.*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoecha*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

a. Récolte du sol à revégétaliser;

5

10

15

20

25

30

- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée après ladite préculture;
- d. Récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- f. Transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Lavandula* et appartenant à l'espèce *Lavandula spp.*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoecha*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

a. Récolte du sol à revégétaliser;

5

10

15

20

25

30

- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée après ladite préculture;
- d. Récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Amendement dudit sol avec du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- g. Transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Thymus* et appartenant à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*, ou du genre *Lavandula* et appartenant à l'espèce *Lavandula spp.*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoecha*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

a. Récolte du sol à revégétaliser;

- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Thymus satureioides*, *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée;

5

10

15

20

25

30

- d. Optionnellement récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Optionnellement, amendement dudit sol avec du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- g. Optionnellement transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.

dans lequel ladite graine ou plante est dépourvue d'inoculation préalable par un champignon mycorhizien, en particulier un champignon du genre *Glomus*, notamment *Glomus mosseae* ou *Glomus intraradices*.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Thymus* et appartenant à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*, ou du genre *Lavandula* et appartenant à l'espèce *Lavandula spp.*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoecha*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

- a. Récolte du sol à revégétaliser;
- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Thymus satureioides*, *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*,

WO 2014/001728 24 PCT/FR2013/051512

notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois pour donner une plante précultivée;

c. Déracinement de ladite plante précultivée;

5

10

20

25

30

- d. Optionnellement récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Optionnellement, amendement dudit sol avec du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- g. Optionnellement transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.

dans lequel ladite culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière est effectuée sans co-culture avec une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne un procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* étant du genre *Thymus* et appartenant à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*, ou du genre *Lavandula* et appartenant à l'espèce *Lavandula spp.*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoecha*, tel que défini ci-dessus, comprenant les étapes suivantes :

- a. Récolte du sol à revégétaliser et/ou;
- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Thymus satureioides*, *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*,
 notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée;

WO 2014/001728 25 PCT/FR2013/051512

d. Optionnellement récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;

- e. Optionnellement, amendement dudit sol avec du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois;
- g. Optionnellement transfert des plants en milieu naturel et plantation.

dans lequel ladite graine ou plante est dépourvue d'inoculation préalable par un champignon mycorhizien, en particulier un champignon du genre *Glomus*, notamment *Glomus mosseae* ou *Glomus intraradices* et dans lequel ladite culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière est effectuée sans co-culture avec une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.

Dans un mode de réalisation avantageux, la présente invention concerne l'un quelconque des procédés de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des Lamiaceae, ou d'une seule graine ou plante choisie parmi la famille des Lamiaceae, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, ladite graine ou plante choisie parmi la famille des Lamiaceae étant du genre Thymus et appartenant à l'espèce Thymus spp., en particulier Thymus satureioides, ou du genre Lavandula et appartenant à l'espèce Lavandula spp., en particulier Lavandula dentata, Lavandula multifida ou Lavandula stoecha, tels que définis ci-dessus,

dans lequel ladite espèce forestière est du genre *Cupressus*, en particulier *Cupressus atlantica*, *Cupressus arizonica* ou *Cupressus sempervirens*

DESCRIPTION DES FIGURES

5

15

20

25

30

Les figures 1A et 1B présentent l'analyse en composantes principales (ACP) des réponses de respiration induite (SIR) en fonction des traitements du sol. Cette méthode permet d'évaluer la diversité fonctionnelle de la microflore du sol en fonction des traitements qui lui sont imposés en mesurant le dégagement de CO₂ issu de l'amendement d'un échantillon de sol par un substrat organique donné. Cette mesure permet d'évaluer la capacité de la microflore à

cataboliser ce substrat. Dans cette expérience, 32 substrats ont été testés à savoir : 10 acides aminés (L-arginine, L-serine, acide L-glutamic, L-phenylalanine, L-asparagine, L-lysine, L-cysteine, L-tyrosine, L-glutamine et L-histidine), 3 amides (D-glucosamine, N-methyl-D-glucamine et L-succinamide), 3 hydrates de carbone (D-mannose, D-saccharose, et D-glucose), et 17 acides carboxyliques (acide α-ketoglutarique, acide α-ketobutyrique, acide fumarique, acide oxalique, acide tartrique, acide gluconique, acide ascorbique, acide DL-malique, acide malonique, acide quinique, acide DL-α-Hydroxybutyrique, acide formique, acide gallique, acide succinique, acide trisodium citrique et acide urique). La figure 1 représente la capacité de la microflore des sols de chaque traitement (Fig. 1B. Ct: témoin sans culture de lavande ou thym (contrôle); CtPN: sol non cultivé amendé avec du phosphate de roche de Khouribga (KRP); Lade: sol cultivé avec *L. dentata*; LadePN: sol cultivé *L. dentata* amendé avec phosphate de roche de Khouribga (KRP); Thy: sol cultivé avec *T. satureioides*; ThyPN: sol cultivé avec *T. satureioides* amendé avec du phosphate de roche de Khouribga (KRP)) à cataboliser les substrats testés (Fig. 1A).

15 La lettre C de la figure 1A représente :

5

10

20

25

30

les acides aminés suivants : L-arginine, acide L-glutamique, L-phenylalanine, L-asparagine, L-lysine, L-cysteine, L-tyrosine, L-glutamine et L-histidine,

les amides suivantes: D-glucosamine, N-methyl-D-glucamine L-succinamide,

les hydrates de carbone suivants: D-mannose et D-glucose,

les acides carboxyliques suivants: gluconique, ascorbique, DL- α -Hydroxybutyrique, formique et gallique.

Les résultats montrent que la diversité fonctionnelle microbienne est différente en fonction de l'espèce végétale et qu'elle est significativement modifiée après l'amendement en roche de phosphate. Il y a une opposition entre les traitements Lavande et Thym, avec le témoin plutôt en position intermédiaire. L'effet de l'amendement avec le phosphate de roche est comparable pour la lavande et le thym et inversé pour le témoin. Le traitement « Thym » favorise plutôt l'utilisation des substrats positionnés vers la droite, en particulier ketobutyric acid et aussi les acides tartaric, oxalic, gluconic, quinic, malonic et saccharose quand on rajoute l'amendement. La lavande favorise plutôt les autres substrats, et le témoin est intermédiaire. Pour le témoin, l'amendement en phosphate de roche favorise plutôt les acides cétobutyrique et cétoglutarique et ceux favorisés par le thym (acides cétobutyrique, tartarique, oxalique, gluconique, quinique et malonique) alors que pour la lavande l'amendement les défavorise.

WO 2014/001728 27 PCT/FR2013/051512

EXEMPLES:

5

10

15

20

25

30

Exemple 1: Echantillonnage du sol

Le sol a été collecté dans la vallée N'Fis (Haut Atlas, Maroc) au niveau de la station d'Idni (8° 17' 02" W, 31° 54' 34", 1700 m. au dessus du niveau de la mer). Dans ce site de recherche, la végétation est une forêt ancienne de *C. atlantica* avec principalement de vieux arbres *C. atlantica*. Une couverture de plantes de sous étage, dégradée et éparse, se développe sous la canopée des cyprès comprenant plusieurs espèces d'arbustes et plus particulièrement *L. dentata* et *T. satureioides*. Des échantillons de sol ont été collectés de manière aléatoire dans des zones de sol nu, sur une couche de 10 à 20 cm de profondeur, éloignés de l'influence des plantes (au moins 2 m des espèces *L. dentata* et *T. satureioides* et à au moins 20 m de tout arbre *C. atlantica* établi. Les échantillons de sol ont été collectés, réunis ensemble et stockés à 4°C avant utilisation.

Le mélange de sols collectés a été broyé et passé à travers un tamis de 2 mm. Ses caractéristiques chimiques sont les suivantes :

pH (H₂O) 7,6; carbone organique total (%) 1,60; azote total (%) 0,10; Phosphore soluble 19,8 mg kg⁻¹.

Des graines de *L. dentata* et *T. satureioides* (provenance Idni, Maroc), ont été mises en germination sur du sable humide désinfecté (140°C, 40 min). Des pots (0,5L) ont été remplis avec le mélange de sol collecté et un semis de huit jours de graine de *L. dentata* et *T. satureioides* a été individuellement transplanté dans les pots. Des pots identiques sont remplis avec le même sol mais sans plantes en guise de contrôle. Les pots ont été agencés de façon aléatoire par blocs de 20 répétitions par traitement. Ils ont été protégés de la pluie et mis en culture sous une lumière naturelle (durée du jour de 10h approximativement, moyenne de température de 22°C) et arrosés tous les jours avec de l'eau du secteur durant 5 mois de culture.

Exemple 2 : Amendement en phosphate de roche et culture de C. atlantica

Après cinq mois de culture, les plants de *L. dentata* et *T. satureioides* ont été déracinées et, le sol collecté pour chaque traitement a été mélangé soigneusement et passé à travers un tamis de 2 mm pour enlever tout fragment de racine.

Le sol d'origine a été divisé en deux volumes égaux et l'un a été amendé avec du phosphate de roche de Khouribga (KRP) 1%, m/v, poudre de phosphate de roche insoluble) tandis que l'autre partie a été laissée non amendée. Le phosphate de roche de Khouribga (Maroc) a été broyé avec un pilon et un mortier et passé à travers un tamis de 90 m. Ses

WO 2014/001728 28 PCT/FR2013/051512

caractéristiques chimiques sont les suivantes (%): SiO₂ 3,1; Al₂O₃ 0,5; Fe₂O₃ 0,27; P₂O₅ 33,4; MgO 0,5; CaO 54; K₂O 0,06; Na₂O 0,76; CaP 2,64; CO₂ 2,1 (Hafidi, 1996, Enrichissement du compost par addition des phosphates naturels. Thèse d'Etat, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech).

5

10

15

20

25

30

Puis des pots (0,5 l) ont été remplis avec les mélanges de sols amendés ou non et une graine prégermée de *C. atlantica* y a été plantée. Avant plantation, les graines de *C. atlantica* (Provenance Idni, Maroc) ont été désinfectée en surface avec de l'eau oxygénée à 30% pendant 5 min. Elles ont été rincées durant 24h et à 4°C dans de l'eau distillé stérile et transférées de manière aseptique dans des boites de Petri remplies avec un milieu agar/eau à 1% (m: v). Après 8 jours d'incubation à 20°C dans le noir, les graines germées ont été utilisées lorsque les radicelles mesuraient 1 à 2 cm de long. Les pots ont été agencés de façon aléatoire par blocs de 10 répétitions par traitement (sol d'origine et amendement au KRP). Ils ont été placés sous serre dans des conditions neutres (environ 10h de jour et 20°C de température journalière) et ont été arrosés tous les jours avec de l'eau du robinet durant 12 mois de culture.

Exemple 3: Détermination de la croissance de C. Atlantica et de l'état mycorhizien

Après 12 mois de culture, la hauteur et le diamètre de la tige des cultures de *C. atlantica* ont été mesurés.

Puis les plants ont été déracinés et leur système racinaire minutieusement lavé. Pour chaque plant, le système racinaire entier a été minutieusement lavé, nettoyé et coloré selon Phillips and Hayman (1970, Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans Brit Mycol Soc, 55: 158-161). Les racines ont été coupées en morceaux de 1 cm, les morceaux ont été mélangé et placés sur des lames pour observation microscopique. L'importance de la colonisation mycorhizienne a été exprimée en pourcentage de racine mycorhizée.

Puis, les poids secs des parties aériennes et des racines ont été mesurés (60°C, 1 semaine). Après séchage, des sous échantillons de tissus de parties aériennes et de racines broyés ont été réduits en cendres (500°C), digérés dans 2 ml d'HCl 6M et 10 ml d'HNO₃ 1M et le contenu en P a été analysé par colorimétrie (John, 1970, Colorimetric determination in soil and plant material with ascorbic acid. Soil Sci., 68: 171-177). Puis les sols échantillonnés (100g) collectés dans chaque pot ont été conservés à 4°C pour d'autres mesures (Tableau 1).

Tableau 1. Croissance des cultures de *C. atlantica* dans les sols cultivés avec *L. dentata, T. satureioides*, ou non précultivé (contrôle) et amendés ou non avec le Phosphate de roche de Khouribga (KRP) après 12 mois de culture en conditions de serre.

	Origine des sols							
	Contrôle		L. dentata		T. satureioides			
	- KRP	+ KRP	- KRP	+ KRP	- KRP	+ KRP		
Hauteur (cm)	11.7 (0.33) ⁽¹⁾ a ⁽²⁾	13.0 (0.6) a	25,7 (0,7) b	29,7 (0,9) c	28,2 (1,2) b	29,7 (1,2) b		
Diamètre de la tige (mm)	4,0 (0,0) a	4,0 (0,0) a	5,3 (0,33) a	5,3 (0,33) a	5,0 (0,0) a	6,0 (0,0) b		
Biomasse aérienne	1,5 (0,05) b	1,2 (0,08) a	2,6 (0,07) c	2,7 (0,05) c	2,1 (0,08) c	3,3 (0,14) d		
(g de poids sec)								
Biomasse racinaire	0,84 (0,08) a	0,76 (0,04) a	1,13 (0,02) b	1,27 (0,02) c	1,16 (0,05) b	1,70 (0,07) d		
(g de poids sec)								
Biomasse totale	2,38 (0,08) b	1,96 (0,12) a	3,74 (0,07) c	3,99 (0,07) c	3,25 (0,13) c	5,04 (0,21) d		
(g de poids sec)								
Contenu en P des parties	0,33 (0,02) a	0,43 (0,02) b	0,74 (0,02) c	1,0 (0,02) d	0,56 (0,02) b	0,97 (0,04) d		
aériennes (mg par plante)								
Contenu en P des racines	0,03 (0,003) a	0,11 (0,006) c	0,06 (0,001) b	0,35 (0,004) d	0,08 (0,003) b	0,10 (0,004) c		
(mg par plante)								
Contenu en P total	0,36 (0,03) a	0,54 (0,029) b	0,79 (0,02) d	1,35 (0,02) f	0,64 (0,02) c	1,09 (0,04) e		
(mg par plante)								

Erreur Standard $^{(2)}$ Pour chaque traitement de sol, les données d'une même ligne suivie de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon les résultats du test de Newman-Keul (p < 0.05).

WO 2014/001728 30 PCT/FR2013/051512

Exemple 4: Analyse biologique et chimique du sol dans les expériences de culture de C. atlantica

4.1 : Analyse du sol

Tous les sols échantillonnés de chaque pot ont été analysés par mesure du pH, du carbone organique total du sol après oxydation dichromique (Aubert 1978, Méthodes d'Analyse des sols. Edition CRDP, Marseille, p. 360), de l'azote total par la méthode de Kjeldahl et du phosphore soluble par la méthode d'Olsen (Olsen et al, 1954, Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Circular, Vol 939. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC, p. 19)(Tableau 2).

10

5

Tableau 2. Caractéristiques chimiques des sols plantés ou non avec *L. dentata et T. satureioides*, amendé ou non par du phosphate de roche de Khouribga, après 12 mois de culture de *C. Atlantica* dans des conditions sous serre.

	Traitements du sol						
	Contrôle		L. dentata		T. satureioides		
	- KRP	+ KRP	- KRP	+ KRP	- KRP	+ KRP	
pH (H ₂ O)	7.6 (0.28) ⁽¹⁾ a ⁽²⁾	7.2 (0.23) a	7.0 (0.17) a	7.1 (0.19) a	7.5 (0.11) a	7.2 (0.23) a	
Carbone total (%)	1.60 (0.21) a	1.61 (0.09) a	1.60 (0.06) a	1.64 (0.14) a	1.67 (0.12) a	1.65 (0.15) a	
Azote total (%)	0.10 (0.01) a	0.11 (0.02) a	0.13 (0.03) a	0.12 (0.04) a	0.09 (0.02) a	0.11 (0.03) a	
P soluble (mg kg ⁻¹)	19.8 (0.62) c	20.1 (0.58) c	7.9 (0.87) a	12.3 (0.51) b	9.8 (0.47) a	12.8 (0.58) b	

⁽¹⁾ Erreur Standard (2) Pour chaque traitement de sol, les données d'une même ligne suivie de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon les résultats du test de Newman-Keul (p < 0.05)

WO 2014/001728 32 PCT/FR2013/051512

4.2 : Détermination du potentiel mycorhizien du sol

5

10

15

20

25

30

La longueur des hyphes arbusculaires mycorhiziens (AM) a été mesurée sur des filtres à membrane selon Jakobsen et Rosendahl (1990, Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. New Phytol. 115, 77-83). L'infectivité mycorhizienne du sol (MSI) a été déterminée pour chaque traitement.

Un test biologique basé sur une dose (quantité de sol non désinfecté) - réponse (état mycorhizien des plants tests) a été utilisé selon le principe du test biologique de Plenchette (1989, Plenchette, C., Perrin, R., and Duvert, P., 1989. The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. Can. J. Bot. 67, 112-115). La méthode est basée sur la culture d'une population de plantules mycotrophes sur une gamme de concentrations de sol naturel dilué avec le même sol désinfecté. Six dilutions d'échantillons de sol ont été effectuées en mélangeant le sol original dans des quantités variées (100, 48, 24, 12, 6 et 3%, m/v) avec le même sol autoclavé (140°C, 40 min) pour conduire à une gamme de concentrations. 5 répétitions par dilution ont été effectuées. Des graines de millet (Pennisetum typhoides L.) ont été prégermées pendant 2 jours dans des boites de Pétri sur du papier filtre humide. Dix graines germées ont été transplantées dans des pots en plastique (5,5 cm de diamètre, 6 cm de hauteur) remplis avec 100g de chaque dilution. Les pots ont été placés dans une serre (30°C le jour, 20°C la nuit, 10h de période lumière) et arrosés tous les jours avec de l'eau du robinet. Après 2 semaines de culture, le système racinaire entier de chaque plante a été collecté, lavé minutieusement à l'eau du robinet, clarifié par de la potasse 10% pendant 30 min à 90°C et coloré pendant 15 minutes par de la fushine acide (0,05% dans le lactoglycérol). Chaque système racinaire a été monté sur une lame de microscope et observé à un grandissement de 250x pour détecter la présence de structures mycorhiziennes. Un seul hyphe AM a été considéré comme marque de présence de l'infection mycorhizienne pour donner une réponse quantitative en tout ou rien. Les plants infectés ont été comptés et les résultats sont exprimés en pourcentage de plants mycorhizés par pot.

Pour chaque traitement de sol, le pourcentage de plants mycorhizés a été représenté en fonction du logarithme de la concentration de sol non désinfecté. Les droites de régression (modèle Y = BX + A) ont été calculées, pour chaque traitement de sol et l'analyse de variance a été effectuée pour tester la non égalité des pentes. L'unité d'infectivité mycorhizienne des sols (MSI) a été calculée en utilisant une équation de ligne de régression linéaire (Duvet et al., 1990, Soil receptiveness to VA mycorrhizal association: concept and method. Plant Soil 124,

WO 2014/001728 33 PCT/FR2013/051512

1-6) et définie comme le poids sec minimum (g) de sol nécessaire pour infecter 50% (MSI 50) d'une population de plante dans les conditions du test biologique et calculées pour Y = 50%) (Tableau 3).

Tableau 3. Potentiels Mycorrhizien des sols, longueur d'hyphe et colonisation arbuscuslaire mycorrhizienne de *C. atlantica* dans les traitements de sols plantés avec *L. dentata*, *T. satureioides* et de sols non plantés, amendés ou non avec du Phosphate de Roche Khouribga (KRP) après 12 mois de plantation dans des conditions de serre.

Paramètres Mycorhizien	Traitements du sol						
	Contrôle		L. dentata		T. satureioides		
	- KRP	+ KRP	- KRP	+ KRP	- KRP	+ KRP	
Colonisation AM (%)	35 (4.5) ⁽¹⁾ a ⁽²⁾	49 (1.6) b	46 (2.9) a	53 (4.6) b	48.3 (5.2) a	65.8 (6.2) b	
Longueur d'hyphe (m g ⁻¹	1.2 (0.06) a	1.4 (0.02) a	2.4 (0.11) b	3.3 (0.08) c	2.5 (50.09) b	3.5 (0.14) c	
sol)							
Potentiel mycorhizien du sol							
intersection de Y	0.142 a	0.211 b	0.332 b	0.416 b	0.345 b	0.351 b	
Coefficient de régression	0.61	0.71	0.75	0.78	0.73	0.81	
Unités MSI ₅₀ (g pour 100 g)	> 100 c	72.8 c	32.6 b	11.1 a	29.4 b	12.5 a	

⁽¹⁾ Erreur Standard (2)Les données d'une même ligne suivie de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon les résultats du test de Newman-Keul (p < 0.05).

WO 2014/001728 35 PCT/FR2013/051512

4.3: Mesure de la diversité fonctionnelle microbienne

5

10

15

20

25

La diversité fonctionnelle microbienne des sols de chaque traitement a été examinée par mesure des schémas de potentiel catabolique (ISCP) des comunautés microbiennes comme décrit par Ouahmane et al. (2009, Responses of *Pinus halepensis* growth, soil microbial catabolic functions and phosphate-solubilizing bacteria after rock phosphate amendment and ectomycorrhizal inoculation. Plant Soil 320, 169-179). Cette méthode est basée sur la mesure des réponses à la respiration court terme de sols mélangés avec une gamme de composés organiques simple (acides aminés, sucres, acides organiques et amides (Degens, B.P., Harris J.A., 1997. Development of a physiologicalapproach to measuring the catabolic diversity of soilmicrobial communities. Soil BiolBiochem, 29: 1309-1320.)

Trente deux substrats ont été utilisés pour l'analyse : dix acides aminés (L-arginine, L-sérine, L-glutamic acid, L-phenylalanine, L-asparagine, L-lysine, L-cystéine, L-tyrosine, L-glutamine et L-histidine), trois amides (D-glucosamine, N-méthyle-D-glucamine et L-succinamide), trois sucres (D-mannose, D-sucrose, et D-glucose) et 16 acides carboxyliques (acide α-cétoglutarique, α- acide cétobutyrique, acide fumarique, acide oxalique, acide tartrique, acide gluconique, acide ascorbique, acide DL-malique, acide malonique, acide quinique, acide DL-α-hydroxybutyrique, acide formique, acide gallique, acide succinique, acide citrique trisodique et acide urique). Les amides et les acides aminés ont été ajoutés à des concentrations de 10mM, tandis que les sucres ont été ajoutés à 75mM et les acides carboxyliques à 100 mM (Degens and Vojvodic-Vukovic,1999, A sampling strategy to assess the effects of land use on microbial functional diversity in soils. Aust. J Soil Res, 37:593-601). L'équitabilité catabolique (une mesure de la viarabilité relative dans les fonctions cataboliques), la biomasse microbienne de carbone (MBC), la respiration induite par le substrat (SIR) et le quotient mértabolique (qCO₂) ont été calculés comme décrit dans Ouahmane et al. (2009) (Tableau 4).

Tableau 4. Equitabilité catabolique et réponses SIR moyennes (μg CO₂ g⁻¹ sol h⁻¹) avec chaque groupe de substrat (acides carboxylique, acides aminés, amides et sucres) des sols collectés à partir des traitements de sols plantés avec *L. dentata* et *T. satureioides* et de sols non plantés, amendés ou non avec du Phosphate de Roche de Khouribga (KRP) après 12 mois de plantation dans des conditions de serre.

	Traitements du sol					
	Contrôle		L. dentata		T. satureioides	
	- KRP	+ KRP	- KRP	+ KRP	- KRP	+ KRP
Biomass Microbienne (μg C g ⁻¹ sol) (MBC)	622 (16,8) ⁽¹⁾ b ⁽²⁾	924 (60,6) c	672 (33,6) b	756 (100,8) bc	286 (44,4) a	538 (16.8) b
qCO_2 (µg-C-CO ₂ g ⁻¹ MBC h ⁻¹)	0,27 (0,014) a	0.22 (0,015) a	0,27 (0,031) a	0,29 (0,043) a	0,77 (0,010) b	0.43 (0.028) b
Equitabilité catabolique	11,7 (0,05) b	11,6 (0,04) b	11,9 (0,03) c	12,1 (0,03) d	11,3 (0,02) a	11.5 (0.02) b
Acides Aminés	116,7 (4,69) a	202,9 (14,38) b	151,4 (11,16) a	158,6 (15,73) a	122,9 (2,18) a	137.6 (5.49) a
Amides	70,1 (2,88) a	86,67 (4,41) b	130,1 (2,89) c	128,3 (3,33) c	123,3 (3,33) c	125.1 (5.00) c
Sucres	88,3 (4,41) b	183,3 (7,27) c	115,1 (2,89) b	120,1 (10,41) b	55,2 (7,64) a	121.7 (4.41) c
Acides Carboxylique	342,6 (2,95) b	486,3 (1,12) e	314,4 (1,23) b	249,1 (0,12) a	457,9 (0,61) d	410.4 (0.89) c

^{5 (1)} Erreur Standard (2)Les données d'une même ligne suivie de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon les résultats du test de Newman-Keul (p < 0.05)

4.4: Analyse statistique

Les données ont été traitées par analyse de variance à un facteur. Les données ont été comparées en utilisant le test de Newman-Keuls (p < 0.05). Les pourcentages de mycorhization ont été transformés par arcsin(racine carrée) avant analyse statistique.(Tableau 5)

Tableau 5. ANOVA à deux facteurs (traitements du sol et amendement en phosphate de roche de Khouribga (KRP)) pour les paramètres de croissance de *C. atlantica* et l'absorption du phosphore.

	Sources de variation		
	Origines des sols	Amendement en KRP	So x KRP
	(So)	(KRP)	
Hauteur	< 0.0001 (1)	0.003	0.4757
Diamètre de la tige	< 0.0001	0.0499	0.0180
Biomasse des parties	< 0.0001	< 0.0001	0.0001
aériennes			
Biomasse des racines	< 0.0001	< 0.0001	0.0056
Biomasse totale	< 0.0001	< 0.0001	0.0003
Contenu en P des	< 0.0001	< 0.0001	0.0002
parties aériennes			
Contenu en P des	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
racines			
Contenu en P total	< 0.0001	< 0.0001	0.0001

⁽¹⁾ valeurs de significativité P

10

15

5

L'analyse des composantes principales (ACP) a été utilisée pour analyser les réponses à la respiration induite par les substrats (SIR) des trois sols d'origine *L. dentata* (Lde), *T. satureioides* (Tsa) et le sol nu (BS) amendé ou non avec du phosphate de roche de Khouribga (KRP). Un test de monte-Carlo (test multivarié de permutation) a été utilisé pour vérifier la signification des différences entre les origines des sols. Les représentations graphiques et les analyses statistiques ont été réalisées avec « ade4 package for R» (Thioulouse J., & Dray S. 2007. Interactive Multivariate Data Analysis in R with the ade4 and ade4TkGUI Packages. J. Stat. Soft. 22, 1-14.) pour l'environment statistique de R (R Development Core Team, 2012, A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical

WO 2014/001728 38 PCT/FR2013/051512

Computing, Vienna, Austria. ISBN: 3-900051-07-0. http://www.R-project.org). (Figure 1A et B).

Exemple 5 : Résultats

5

10

15

20

25

30

5.1: Croissance des plantes

Après 12 mois de culture, les traitements de sols avec *L. dentata* et *T. satureioides* ont significativement augmenté la croissance des plants de *C. atlantica* (hauteur, biomasse aériennes et racinaire, contenus en phosphore des racines et des parties aériennes) comparé au contrôle (traitement de sol non planté) (Tableau 1). L'effet de l'amendement en KRP sur la croissance de plantes est dépendant des traitements du sol (Tableau 1). Pour le traitement contrôle, un effet dépressif est observé pour la biomasse aérienne et la biomasse totale tandis que les contenus en phosphore des parties aériennes et des racines ont été augmentés après amendement en phosphore (Tableau 1). Par contre, pour le traitement de sol avec *L. dentata*, l'amendement en phosphore a augmenté tous les paramètres de croissance excepté pour le diamètre de la tige et la biomasse des parties aériennes et totale (Tableau 1). Les mêmes effets positifs ont été observés pour les traitements de sol avec *T. satureioides* sauf pour la hauteur des plants (Tableau 1).

5.2: Fonctionnalités microbiennes, mycorhiziennes et chimiques des traitements de sol.

Aucune différence significative n'est observée pour le pH, le carbone total et l'azote total avec tous les traitement (Tableau 2). Les contenus les plus élevés en phosphore soluble ont été observés dans le contrôle avec ou sans amendement en phosphore tandis que les plus faibles ont été trouvés dans les traitements avec *L. dentata* et *T. satureioides* sans addition de KRP (Tableau 2). Pour ces deux traitements, l'amendement en PRP augmente les contenus du sol en phosphore soluble (Tableau 2).

La colonisation mycorhizienne des plants de *C. atlantica* est significativement plus élevée dans les traitements de sol avec addition de KRP que dans ceux sans KRP (Tableau 3). Le réseau d'hyphe est plus important dans les sols collectés avec les traitements par *L. dentata* et *T. satureioides* comparés aux contrôles (Tableau 3). L'addition de KRP a significativement amélioré l'étendue de mycélium extramétrique dans ces deux traitements (Tableau 3). La MSI₅₀ est significativement plus faible dans les traitements avec *L. dentata* et *T. satureioides* que celle mesurée dans le contrôle amendé ou non avec KRP (Tableau 3).

WO 2014/001728 39 PCT/FR2013/051512

L'analyse du tableau des résultats SIR a montré une forte influence des deux traitements de préculture avec *L. dentata* et *T. satureioides* et de l'amendement en KRP sur les profils SIR. (figure 1). Les échantillons contrôles présentent une position intermédiaire aux deux traitements de préculture avec *L. dentata* et *T. satureioides*. L'effet de la préculture est hautement significatif (p<0,001). L'effet de KRP (après retrait de l'effet de la plante cible) est aussi hautement significatif (p<0,01) montrant que la diversité fonctionnelle bactérienne est fortement affectée par les deux traitements (espèces de plantes et amendement en KRP). Cependant, l'effet de l'amendement en KRP est inversé dans les traitements contrôles et les traitements de préculture. *T. satureioides* augmente l'utilisation d'acides malonique, tartrique, oxalique, succinique, malique, cétoglutarique et fumarique. Inversement, *L. dentata* diminue l'utilisation des acides organiques et augmente l'utilisation du succinamide. L'amendement en KRP diminue l'utilisation des acides organiques dans les sols échantillonnés dans les traitements de préculture avec les espèces de plantes cibles tandis qu'il augmente l'utilisation de ces acides dans les sols contrôles.

La biomasse microbienne la plus faible des sols est trouvée dans le traitement par *T. satureioides* sans amendement avec KRP tandis que la plus élevée est observée dans le contrôle avec un amendement en en KRP (Tableau 4). Le taux de respiration spécifique de la biomasse microbienne du sol est significativement plus élevé dans les traitements avec *T. satureioides* avec ou sans amendement en KRP comparé aux autres traitements (Tableau 4). L'équitabilité catabolique du sol est significativement plus élevée dans le traitement avec *L. dentata* avec ou sans addition de phosphate que dans les autres traitements tandis que la plus faible est observée pour le traitement par *T. satureioides* sans amendement en KRP (Tableau 4). La respiration moyenne (SIR) la plus élevée en acides aminés et acides carboxyliques est observée dans les sols collectés dans les traitements contrôle avec ou sans phosphate (Tableau 4). Les réponses SIR les plus élevées sont observées avec les traitements par *L. dentata* et *T. satureioides* amendés ou non avec KRP (Tableau 4). La réponse SIR la plus faible avec les sucres est observée dans le traitement par *T. satureioides* sans KRP et la plus élevée dans le traitement contrôle avec KRP (Tableau 4).

10

15

20

REVENDICATIONS

- 1. Utilisation d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* et précultivée dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée, la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture, pour la multiplication de champignons mycorhiziens et l'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières dans ledit sol à revégétaliser.
- 2. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle une seule graine ou une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est précultivée dans un espace de sol à revégétaliser.
- **3.** Utilisation selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est du genre *Ajuga*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Prunella*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja*, *Thymus*.
- **4.** Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, dans laquelle la dite graine ou plante est du genre *Thymus* et appartient à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*.
- 5. Utilisation selon la revendication 4, dans laquelle le nombre de propagules infectieuses de champignons mycorhiziens présentes dans l'espace de sol après préculture de ladite graine ou plante du genre *Thymus*, en particulier *Thymus satureioides*, est augmenté d'un facteur environ égal à 3 à 100, notamment environ égal à 5 à 25, en particulier d'un facteur environ égal à 9,1, par rapport audit espace de sol sans préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.

- **6.** Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, dans laquelle la dite graine ou plante est du genre *Lavandula* et appartient à l'espèce *Lavandula spp.*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*.
- 7. Utilisation selon la revendication 6, dans laquelle le nombre de propagules infectieuses de champignons mycorhiziens présentes dans l'espace de sol après préculture de ladite graine ou plante du genre *Lavandula* est augmenté d'un facteur environ égal à 3 à 50, notamment environ égal à 4 à 15, en particulier d'un facteur environ égal à 6,8, par rapport audit espace de sol sans préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.
 - **8.** Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, dans laquelle la dite plante est dépourvue d'inoculation préalable par un champignon mycorhizien, en particulier un champignon du genre *Glomus*, notamment *Glomus mosseae* ou *Glomus intradradices*.

20

- 9. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 8, dans laquelle ledit espace de sol à revégétaliser contient du phosphate de roche, en particulier à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v), après avoir déraciné ladite au moins une plante choisie parmi la famille des Lamiaceae.
- 10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, comprenant de plus la culture d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière, après avoir déraciné ladite plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, ledit espace de sol à revégétaliser contenant éventuellement du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, en particulier à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v).
- 11. Utilisation selon la revendication 10, dans laquelle ladite culture d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière, après avoir déraciné ladite plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*, est effectuée sans co-culture avec une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.

- **12.** Utilisation selon la revendication 11, dans laquelle ladite espèce forestière est du genre *Cupressus*, en particulier *Cupressus atlantica*, *Cupressus arizonica* ou *Cupressus sempervirens*.
- 13. Procédé de multiplication des champignons mycorhiziens et d'amélioration de la croissance d'au moins une graine ou plante d'espèces forestières et/ou fruitières comprenant :

la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée,

la dite plante précultivée étant déracinée de l'espace de sol après ladite préculture.

- 14. Procédé selon la revendication 13, comprenant les étapes suivantes :
 - a. la préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* dans un espace de sol à revégétaliser, en particulier un espace de sol à revégétaliser de volume d'environ 0,5L, durant notamment environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée,
 - b. le déracinement de la dite plante précultivée,

10

15

20

- c. la culture dans ledit espace de sol à revégétaliser d'au moins une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée.
- **15.** Procédé selon la revendication 14, dans lequel une seule graine ou une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est précultivée dans un espace de sol à revégétaliser.
- 16. Procédé selon la revendication 14 ou 15, dans lequel ladite graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae* est du genre *Ajuga*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Prunella*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja*, *Thymus*.
- 30 **17.** Procédé selon la revendication 16, dans lequel la dite graine ou plante est du genre *Thymus* et appartient à l'espèce *Thymus spp.*, en particulier *Thymus satureioides*.

- 18. Procédé selon la revendication 17, dans lequel le nombre de propagules infectieuses de champignons mycorhiziens présentes dans l'espace de sol après préculture de ladite graine ou plante du genre *Thymus*, en particulier *Thymus satureioides*, est augmenté d'un facteur environ égal à 3 à 100, notamment environ égal à 5 à 25, en particulier d'un facteur environ égal à 9,1, par rapport audit espace de sol sans préculture d'au moins une graine ou plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.
- 19. Procédé selon la revendication 18, comprenant les étapes suivantes :
 - a. Récolte du sol à revégétaliser;

10

15

20

- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Thymus satureioides*, notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée;
- d. Optionnellement récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Optionnellement, amendement dudit sol avec du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- g. Optionnellement transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.
- 20. Procédé selon la revendication 16, dans lequel la dite graine ou plante est du genre Lavandula et appartient à l'espèce Lavandula spp., en particulier Lavandula dentata, Lavandula multifida ou Lavandula stoechas.
 - 21. Procédé selon la revendication 20, dans lequel le nombre de propagules infectieuses de champignons mycorhiziens présentes dans l'espace de sol après préculture de ladite plante est du genre *Lavandula*, en particulier *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, est augmenté d'un facteur environ égal à 3 à 50, notamment environ égal à 4 à 15, en particulier d'un facteur environ égal à 6,8.

- 22. Procédé selon la revendication 20 ou 21, comprenant les étapes suivantes :
 - a. Récolte du sol à revégétaliser;

10

15

20

25

- b. Préculture d'une graine ou d'une plante de *Lavandula dentata*, *Lavandula multifida ou Lavandula stoechas*, notamment durant environ 3 à 6 mois, en particulier 5 mois, pour donner une plante précultivée;
- c. Déracinement de ladite plante précultivée après ladite préculture;
- d. Optionnellement récolte des fruits et/ou des parties aériennes de ladite plante précultivée;
- e. Optionnellement, amendement dudit sol avec du phosphate de roche, éventuellement broyé et tamisé, à une concentration d'environ 0,01 % (m : v) à environ 0,2% (m : v), en particulier d'environ 0,1 % (m : v),
- f. Introduction et culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière éventuellement désinfectée de 1 à 12 mois, en particulier 5 mois pour obtenir une plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée;
- g. Optionnellement transfert de la plante d'espèce forestière et/ou fruitière cultivée en milieu naturel et plantation.
- **23.** Procédé selon la revendication 19 ou 22, dans lequel ladite graine ou plante est dépourvue d'inoculation préalable par un champignon mycorhizien, en particulier un champignon du genre *Glomus*, notamment *Glomus mosseae* ou *Glomus intraradices*.
- **24.** Procédé selon la revendication 19, 22 ou 23, dans lequel ladite culture d'une graine ou plante d'une espèce forestière et/ou fruitière est effectuée sans co-culture avec une plante choisie parmi la famille des *Lamiaceae*.
- **25.** Procédé selon l'une des revendications 13 à 24, dans lequel ladite espèce forestière est du genre *Cupressus*, en particulier *Cupressus atlantica*, *Cupressus arizonica* ou *Cupressus sempervirens*.

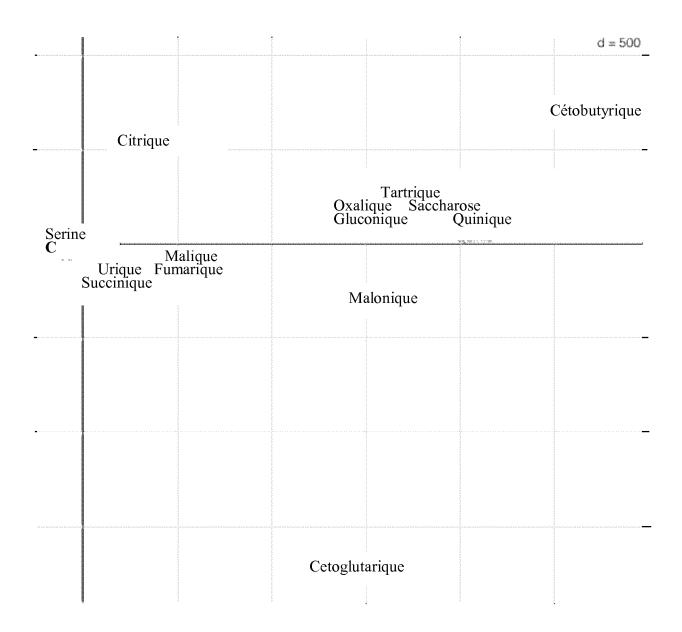


Figure 1A

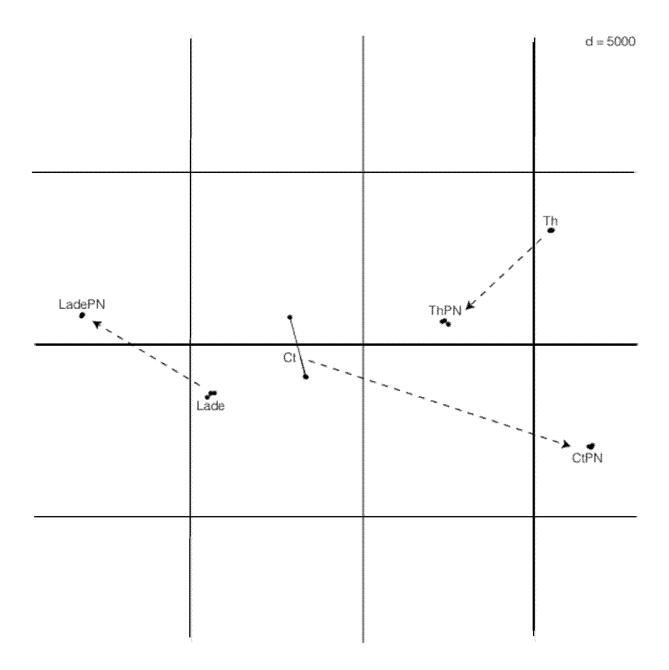


Figure 1B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/FR2013/051512

INV.	FICATION OF SUBJECT MATTER A01C21/00		
ADD.			
According to	International Patent Classification (IPC) or to both national classification	tion and IPC	
	SEARCHED		
Minimum do A01C	cumentation searched (classification system followed by classification	n symbols)	
Danimantat		ale description and included in the fields are	wala a d
Documentat	ion searched other than minimum documentation to the extent that su	ion accuments are included in the fields sea	roned
	ata base consulted during the international search (name of data bas	e and, where practicable, search terms use	d)
EPO-In	ternal		
C. DOCUME	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the rele	vant passages	Relevant to claim No.
X	Rickrich: "Mykorrhiza eine Bio High-Tech", agrarheute.landlive.de, 26 February 2010 (2010-02-26), pages 1-6, XP055056137, Retrieved from the Internet: URL:https://agrarheute.landlive.de/blogs/e		1-8, 10-25
Y	ntries/2972/ [retrieved on 2013-03-12] the whole document 	-/	9
X Furth	ner documents are listed in the continuation of Box C.	See patent family annex.	
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be			
filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than			
the prid	the priority date claimed "&" document member of the same patent family Date of the actual completion of the international search Date of mailing of the international search report		
	9 September 2013	18/09/2013	omeport
Name and n	nailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2	Authorized officer	
	NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Schlichting, N	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/FR2013/051512

C(Continue	ntion). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Folko Kulmann: "Einfluss des Arbuskulären Mykroohizapilzes Glomus intraradices Schenk & Smith auf den Ertrag und die Nährstoffaufnahme verschiedener Gwwürzkräuterarten", 1 November 2002 (2002-11-01), pages 1-126, XP055056133, Retrieved from the Internet: URL:http://tumb1.biblio.tu-muenchen.de/publ/diss/ww/2002/kullmann.pdf [retrieved on 2013-03-12] page 30, lines 14-15,20-25 page 31, lines 5-7 page 109, line 15 - page 110, line 6 page 22, line 4 - page 23, line 27	9
Α	 Magdalena Kraml: "Basilikum und symbiotischer Mykorrhizapilz",	1-25
	1 July 2007 (2007-07-01), pages 181, XP055056132, Retrieved from the Internet: URL:https://zidapps.boku.ac.at [retrieved on 2013-03-12] page 1, lines 4-9,29-33 page 4, line 32 - page 6, line 14	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n° PCT/FR2013/051512

	ment de l'objet de la demande A01C21/00		
Selon la clas	ssification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classifica	ation nationale et la CIB	
	IES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
A01C	ion minimale consultée (système de classification suivi des symboles d	e classement)	
recherche	tion consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où nnées électronique consultée au cours de la recherche internationale (n		
recherche u EPO-In	tilisés)	om de la base de données, et si dela est	eansable, termes de
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication d	es passages pertinents	no. des revendications visées
X	Rickrich: "Mykorrhiza eine Bio High-Tech", agrarheute.landlive.de,		1-8, 10-25
	26 février 2010 (2010-02-26), page XP055056137, Extrait de l'Internet: URL:https://agrarheute.landlive.de ntries/2972/ [extrait le 2013-03-12]		
Υ	le document en entier	/	9
X Voir	la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	Les documents de familles de bre	vets sont indiqués en annexe
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais		document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier document qui fait partie de la même famille de brevets	
Date à laque	elle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport d	e recherche internationale
10	0 septembre 2013	18/09/2013	
Nom et adre	sse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2	Fonctionnaire autorisé	
	NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Schlichting, N	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n° PCT/FR2013/051512

C(suite). L	OCCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages p	ertinents	no. des revendications visées
Υ	Folko Kulmann: "Einfluss des Arbuskulären Mykroohizapilzes Glomus intraradices Schenk & Smith auf den Ertrag und die Nährstoffaufnahme verschiedener Gwwürzkräuterarten", 1 novembre 2002 (2002-11-01), pages 1-126, XP055056133,		9
	Extrait de l'Internet: URL:http://tumb1.biblio.tu-muenchen.de/pub l/diss/ww/2002/kullmann.pdf [extrait le 2013-03-12] page 30, ligne 14-15,20-25 page 31, ligne 5-7 page 109, ligne 15 - page 110, ligne 6 page 22, ligne 4 - page 23, ligne 27		
A	Magdalena Kraml: "Basilikum und symbiotischer Mykorrhizapilz",		1-25
	i juillet 2007 (2007-07-01), pages 181, XP055056132, Extrait de l'Internet: URL:https://zidapps.boku.ac.at [extrait le 2013-03-12] page 1, ligne 4-9,29-33 page 4, ligne 32 - page 6, ligne 14		