

INFLUENCE DE LA NUTRITION ORGANIQUE SUR LE STATUT PHYTOSANITAIRE DE *CITRUS SINENSIS* THOMSON. ÉVALUATION DE L'INSTALLATION PRIMAIRE DES ESPÈCES FOLIVORES ET VARIATION PHYTOCHIMIQUE

BENHAMMOUDA Bouchra^{1*}, BOUNOUAR Akila¹, MOHAMMEDI Radia¹ et DJAZOULI Zahr-Eddine¹

1. Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales, Département de Biotechnologie et Agro-Écologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1, B.P.270, route de Soumaa, Blida, Algérie

Reçu le 30/01/2021, Révisé le 23/10/2021, Accepté le 30/11/2021

Résumé

Description du sujet : Dans le but d'une régulation biologique des nuisibles, plusieurs méthodes ont été utilisées comme une bonne alternative à la lutte chimique pour contrôler ces ravageurs. Le lombricompostage de la biomasse végétale constitue une des voies les plus explorées.

Objectifs : L'étude a pour but d'évaluer les effets biostimulateur et/ou stimulateur des défenses naturelles d'un lombricompost à base de marc de café complétement.

Méthodes : Deux bioengrais E3 et E4 à C/N 24,90 et 50,30 respectivement, obtenus par le lombricompostage de marc de café complétement, ont été appliqués sur des plants d'oranger *Citrus sinensis Thomson* à deux doses, D1=60g/l et D2=120g/l. Les apports ont été renouvelés chaque mois, durant la période de l'essai qui s'est étalée sur 6 mois. L'installation primaire de l'arthropodofaune folivore a été estimée et la modulation de certains paramètres physiologiques et biochimiques a été quantifiée.

Résultats : Les résultats ont montré que la distribution moyenne des abondances des différents groupes fonctionnels selon le type de bioengrais et des doses appliquées, fait ressortir une gradation de recrutement des nuisibles selon le gradient : TM>D1-E3>D2-E3 & D1-E4>D2-E4. La forte dose d'E4 s'avère la plus contraignante en termes d'installation primaire des bioagresseurs. Les valeurs des paramètres physiologiques et biochimiques des feuilles de *Citrus sinensis Thomson* ont exprimés les effets positifs du bioengrais à C/N 50,30. Globalement, des différences très significatives entre l'expression phytochimique des plants traités et le témoin ont été établies, autant pour les faibles doses que pour les fortes doses.

Conclusion : Le marc de café complétement et lombricomposté pourrait être envisagés comme intrant phytopharmaceutique dans les itinéraires de la production végétale intégrée.

Mots clés : Lombricompostage, Marc de café, Groupe fonctionnels, l'arthropodofaune folivore, Proline.

INFLUENCE OF ORGANIC NUTRITION ON THE PHYTOSANITARY STATUS OF *CITRUS SINENSIS* THOMSON. EVALUATION OF PRIMARY SETTLEMENT OF FOLIVOROUS SPECIES AND PHYTOCHEMICAL VARIATION

Abstract

Description of the subject: With the aim of biological pest control, several methods have been used as a good alternative to chemical control of these pests. Vermicomposting of plant biomass is one of the most explored methods.

Objective : The purpose of the study is to evaluate the biostimulatory and/or natural defenses stimulating effects of a vermicompost based on supplemented coffee grounds.

Methods : Two biofertilizers E3 and E4 with C/N 24.90 and 50.30 respectively, obtained by vermicomposting of supplemented coffee grounds, were applied to orange plants *Citrus sinensis Thomson* at two doses, D1=60g/l and D2=120g/l. The applications were repeated every month during the 6-month trial period. The primary settlement of the folivorous arthropodofauna was estimated and the modulation of some physiological and biochemical parameters was quantified.

Results : The results showed that the average distribution of abundances of the different functional groups according to the type of biofertilizer and the applied doses, shows a gradation of pest recruitment according to the gradient: TM>D1-E3>D2-E3 & D1-E4>D2-E4. The high dose of E4 was the most restrictive in terms of primary establishment of pests. The values of physiological and biochemical parameters of *Citrus sinensis Thomson* leaves expressed the positive effects of biofertilizer at C/N 50.30. Overall, very significant differences between the phytochemical expression of the treated plants and the control were established for both low and high doses.

Conclusion : Complementary and vermicomposted coffee grounds could be considered as a phytopharmaceutical input in integrated crop production itineraries

Keywords : Vermicomposting, Coffee grounds, Functional group, Folivorous arthropodofauna, Proline.

* Auteur correspondant : BENHAMMOUDA Bouchra, E-mail:benhammouda.bouchra@gmail.com

INTRODUCTION

Ces dernières années ont vu se développer, au sein du marché des intrants agricoles, divers produits et substances qui visent à améliorer le fonctionnement du sol, de la plante ou les interactions entre sol et plante. Il s'agit d'une catégorie très large de produits et substances qui apportent des solutions souvent innovantes dans le domaine de la fertilisation et de la protection des cultures. Ces solutions ont pour caractéristique commune de reposer sur un mode d'action passant par la stimulation de processus biologiques au niveau du sol ou de la plante [1, 2]. Dans un contexte où les attentes sociétales sur la durabilité des systèmes agricoles, et les contraintes réglementaires et techniques sont de plus en plus fortes, les produits de stimulation suscitent un intérêt grandissant auprès des différents acteurs du monde agricole [3]. Ainsi, la stimulation des défenses naturelles des plantes est vue comme une option pour aller vers la réduction de l'utilisation de produits phytopharmaceutiques traditionnels et les biostimulants sont quant à eux un moyen pour aller vers une fertilisation raisonnée, limitant les apports en engrais minéraux [4].

La production mondiale de café a augmenté de 21% depuis 2005. Les exportations totales s'élèvent à 8 millions de tonnes métriques [5]. Cependant, le marc de café est un produit à usage unique et le total des déchets générés par l'élimination du marc de café usagé est égal à l'ensemble des importations et des ventes. L'impact du café sur l'environnement est énorme quantités de déchets solides et liquides générés au niveau mondial [6]. Dans une analyse du cycle de vie du café, Salomone [7], a rapporté que la culture et la consommation de café sont les deux principaux facteurs d'impact négatif sur l'environnement. La pulpe de café et les eaux usées de traitement représentent les deux flux de déchets qui contribuent le plus à la contamination des sols et de l'eau.

L'eau de traitement nécessaire pour obtenir des grains de café propres varie de 5 à 20 L kg⁻¹, avec des niveaux de DBO₅ dans les effluents passant de 13 à 11 000 mg L⁻¹ [6]. La pulpe et les coques du café représentent également un risque important de contamination du sol et de l'eau par le biais de composants hautement dégradables, tels que les protéines et les sucres, et de composés plus complexes qui peuvent être phytotoxiques tels que les tanins et les phénols [8]. En Amérique du Nord, les 1,8 million de tonnes métriques de marc de café usagé générées sont soit mises en décharge,

soit éliminées, soit traité dans des installations de dans des installations de compostage municipales avec d'autres déchets organiques. Le marc de café usagé est un matériau sous-utilisé à haute teneur en nutriments et en énergie, avec un potentiel de compost de niche pour l'horticulture. La littérature disponible sur le compostage du marc de café est limitée, mais certaines études ont évalué son utilisation en tant que d'amendement horticole, de milieu de culture de champignons, de charge de de compost et de biocarburant [9]. Les technologies de compostage ont été largement appliquées pour transformer les matières premières organiques en matériaux stabilisés de type humus [10]. Différentes approches de compostage ont été examinées dans la littérature scientifique pour gérer les effluents d'élevage, les déchets végétaux et alimentaires y compris le lombricompostage [11]. Les lombricomposts ont été utilisés pour traiter un large éventail de matières premières, dont la pulpe de café, le fumier de bétail et les déchets de cuisine, les effluents d'élevage et les déchets alimentaires [12, 13].

Cette étude a évalué le lombricompostage avec *Eisenia foetida*, comme approches de la biotransformation du marc de café usagé en un amendement horticole stabilisé. Les effets de biostimulation et/ou stimulation des défenses naturelles des plantes ont été mesurés au cours de la période d'étude, à travers l'installation primaire des espèces folivores et la modulation phytochimique sur l'oranger *Citrus sinensis* Thomson

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Conditions générales de l'expérimentation

L'étude s'est déroulée pendant les saisons 2018 et 2019 sur un dispositif expérimental mis en place sur une parcelle de la station expérimentale de l'Université de Blida 1 (36° 29' 46" Nord, 2° 51' 40" Est) sous des conditions semi-contrôlées. Le climat est de type méditerranéen [14]. Le sol utilisé dans le dispositif et celui de la de la parcelle. Il est brun calcaire, de texture argileuse, profond et homogène [15]. Pour cette étude seulement une partie de la parcelle expérimentale a été utilisée.

2. Biofertilisants lombricomposté à base de marc de café

Le protocole prévoit l'utilisation de deux biofertilisants recommandés d'une étude antérieure sur la qualité du lombricompostage de marc à café. Selon Aroun *et al.* [16], dans l'objectif de la production d'un lombricompost à partir de marc de café complétement,

les auteurs préconisent le substrat E4 (marc de café, carton broyé, chapelure de pain) à C/N 24,90, s'ils envisagent l'obtention à courte durée du produit. En revanche, à long terme, ils préconisent l'utilisation du substrat E3 (marc de café, coquille d'œufs, carton broyé, tourbe professionnelle) à C/N 50,30 afin d'obtenir un produit plus stable.

3. Dispositif expérimental et conduite de l'essai

L'essai est réalisé en bloc aléatoire complet en utilisant la variété Thomson navel. Cette variété d'agrumes fait partie des oranges douces Navels (Washington, Thomson et Navelate). Le dispositif composé de 5 blocs à raison de 20 plants par traitement (100 plants=unité expérimentale) à savoir : TM : Témoin (eau de ville), E3 et E4 : Biofertilisants lombricomposté à base de marc de café complétement appliqués sous deux doses (D1=60 g/l, mélange de 60g du substrat avec un litre d'eau ; D2=120 g/l, mélange de 120 g du substrat avec un litre d'eau). Les blocs sont distants de 50 m les uns des autres. Les plants sont irrigués régulièrement selon leur besoin en eau de ville. 6 apports foliaires à l'aide d'un pulvérisateur manuel ont été apportés durant la période de l'essai (6 mois).

4. Méthodes d'étude

4.1. Technique d'échantillonnage et de détermination des espèces inventoriées

L'échantillonnage de l'entomocénose de l'oranger *Citrus sinensis* Thomson a été traité d'un point de vue quantitatif. Nous avons adopté une approche classique qui fournit un inventaire de bonne qualité et des informations spatialisées par le recours à la méthode de transect linéaire (line intersect sampling) [17, 18]. Le positionnement des transects est de type systématique avec un point de départ aléatoire de manière à obtenir une surface d'inventaire suffisante tout en restant à l'intérieur de l'homogénéité de l'unité expérimentale. Nous avons donc retenu, deux transects relativement courts (5 m) disposés en lignes parallèles, espacés entre eux de 10 m. Pour la collection d'une entomocénose ordonnée dans le temps et dans l'espace, tous les 15 jours durant la période de février à juillet 2018, nous avons choisi de prélever cinq feuilles par plant se positionnant au niveau des placeaux d'observation retenus chaque 2 mètres le long du transect. Tous les prélèvements et les observations ont été réalisés entre 9 heures et 13 heures [19]. Ce délai est un compromis acceptable entre la réduction des déplacements et la conservation des individus échantillonnés [20].

Les spécimens ainsi collectés sont mis dans des flacons contenant du formol à 33% pour être déterminés et dénombrés (estimation de l'abondance). Chaque spécimen a été identifié par des spécialistes de l'entomofaune agrumicole par le recours aux collections de références de l'Ecole Nationale supérieure Agronomique et sur la base de la littérature spécialisée.

4.2. Estimation des paramètres physiologiques et biochimiques

- Extraction et dosage des sucres solubles totaux

La quantification des sucres totaux est réalisée par la méthode de Dubois *et al.* [21]. Elle consiste à additionner l'éthanol à la matière végétale. Le mélange est mis pendant 48 heures. Après, cette solution est placée dans l'étuve à 80°C. L'extrait obtenu est additionné à l'eau distillée. Une prise d'essai de solution analyser est mélange au phénol dont on ajoute rapidement l'acide sulfurique, .après homogénéisation au vortex, l'échantillon est placé au bain marie à une température de 30°C. L'absorbance est lu à 485nm. Les valeurs obtenues sont reports sur la gamme étalon, à l'aide de l'équation suivant : $Y=4,3918X-0,1946$ ($R^2=0,9865$), Avec : Y: étant l'absorbance/X=étant la quantité des sucres totaux exprimée en mg/g. M.F.

- Quantification et dosage des acides aminés solubles et de la proline

L'extraction a été réalisée selon la méthode décrite par Naidu [22]. Cette méthode consiste de mélangé 50mg d'échantillon avec le mélange (méthanol : chloroforme : eau) dans des tubes. Les tubes scellés ont été chauffés au bain marie 60°C, durant 2 heures et centrifugés à 5000 G pendant 10mn. Le surnageant a servi ensuite aux dosages des acides aminés solubles et de la proline.

-Acides aminés solubles : La solution tampon acide acétique /acétate de sodium et ninhydrine ont été additionnés au surnageant. Les échantillons ont été agités puis chauffés au bain marie 55°C pendant 15mn. Les densités optiques obtenues par le biais d'un spectrophotomètre ($\lambda=570$ nm) permettent ensuite de calculer la concentration initiale en acides aminés solubles contenue dans les échantillons au moyen d'une courbe standard effectuée avec L-leucine, suivant la relation : $Y=0,0023X+0,005$ ($R^2=0,9221$). La teneur en acides aminés solubles est exprimée en mg./g. de M.S.

-Proline libre endogène : La proline a été déterminé par une méthode développée par Singh [23]. Le surnageant, la solution de ninhydrine, l'acide acétique glacial et l'eau distillée sont placés dans des tubes de centrifugation. Ce mélange a été chauffé au bain marie 90°C pendant 45mn et refroidi à la température ambiante. Les densités optiques obtenues par le biais d'un spectrophotomètre ($\lambda=520$ nm) permettent ensuite de calculer la concentration initiale de proline contenue dans les échantillons au moyen d'une courbe standard effectuée avec une protéine de référence (L-proline), suivant la relation : $Y=0,0112X+0,0004$ ($R^2=0,9989$). La teneur en proline est exprimée en mg./g. de M.S.

-Mesure de la teneur relative en eau

Selon Ben Naceur [24], le contenu relatif en eau qui exprime la quantité d'eau présente en pourcentage de la quantité mesurée à saturation. Il permet donc une évaluation physiologique de l'état hydrique du végétal au même titre que le potentiel hydrique. La prise en compte de la quantité d'eau dans cette étude a pour objectif de savoir si cet état de stress de manque d'eau va influencer les constituants biochimiques des feuilles infestées par les pucerons, notamment les productions par la plante en proline et en flavonoïdes, lesquelles vont conditionner la densité de ces opophages. L'estimation teneur relative en eau se fait par la formule suivante : $CRE = (PF - PS) \cdot 100 / (PSat - PS)$. Avec : PF : Poids Frais, PS : Poids Sec, PSat : Poids à la saturation. Le poids frais est déterminé par pesée de la feuille immédiatement après son prélèvement.

Le poids à la saturation est obtenu en plaçant la feuille dans l'eau distillée pendant 24 heures. Le poids sec est obtenu en plaçant la feuille à l'étuve jusqu'à la stabilité de ce dernier.

5. Analyse des données

L'ensemble des mesures ont été réalisées en 5 répétitions. Les analyses de la variance sont faites sur des moyennes homogènes adoptées sur la base d'un coefficient de variance ($C.V.<15\%$). La signification des comparaisons des moyennes a été confirmée par un test de comparaison par paire (Test Tukey). Les contributions significatives retenues sont au seuil d'une probabilité de 5%, les calculs ont été déroulés par le logiciel XLSTAT vers. 9 [25].

RÉSULTATS

1. Estimation de la richesse spécifique

Les résultats de l'inventaire de l'arthropodofaune agrumicole sont reportés dans la figure 1. Le graphique de raréfaction de l'entomocénose folivore affiche une faible gradation en nombre de taxa, ce qui réconforte le dispositif d'échantillonnage de la présente étude. Il ressort que l'effort d'échantillonnage déployé sur le terrain a pu cerner la disponibilité des taxons qui présente une relation directe avec les plants de *Citrus sinensis* Thomson sous l'effet des différents traitements. Cette raréfaction se traduit par un nombre de taxa très réduit signalé au niveau des plants traité à la forte dose du substrat E4 (E4D2) (Fig. 1d), par comparaison aux différents agrégats du dispositif expérimental (Fig. 1a, b, c et e).

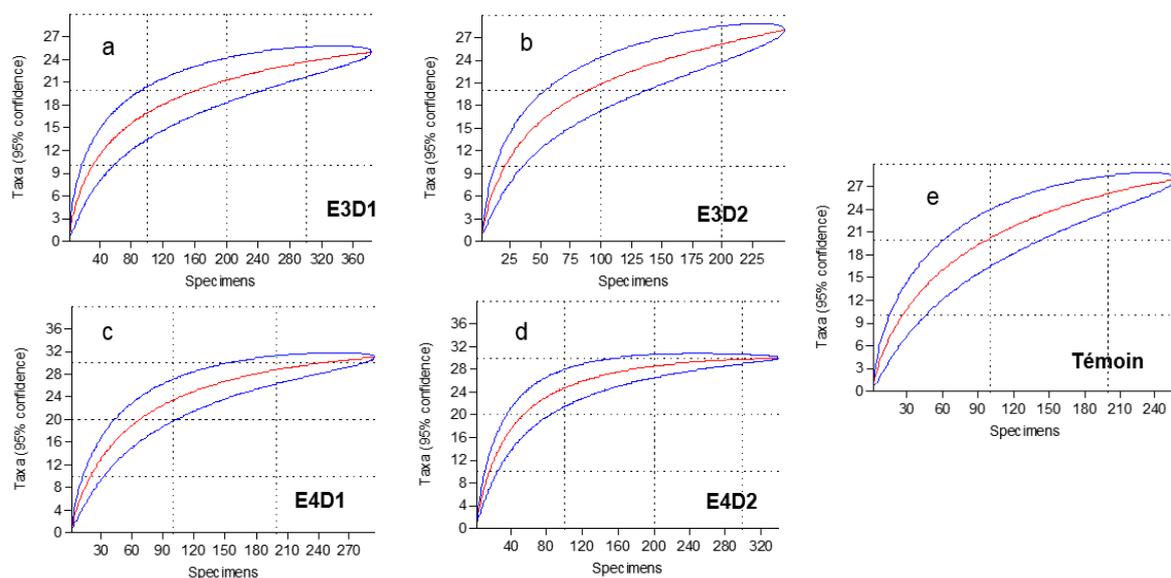


Figure 1 : Estimation de la richesse spécifique (Indice de raréfaction) de l'arthropodofaune folivore de *Citrus sinensis* Thomson.

2. Disponibilité et recrutement de l'arthropodofaune folivore

Cette partie est focalisée sur la diversité et la succession temporelle des communautés de l'arthropodofaune folivore associées à *Citrus sinensis* Thomson. Conduite sous un itinéraire de nutrition organique. L'écosystème dépend des contributions conjuguées de chacun des organismes qu'il abrite et la modification d'une quelconque espèce peut donc entraver le fonctionnement de l'ensemble de l'écosystème. Dans le cas des unités expérimentales de cette étude, les populations de consommateurs primaires (Hemiptera) interagissent non seulement avec le statut sanitaire et physiologique des plants de *Citrus sinensis* Thomson mais aussi avec les différentes populations d'auxiliaires (Araneae, Coleoptera, Diptera et Hymenoptera). Les données présentées concernent essentiellement le complexe arthropodologique folivore présent dans les conditions de la pratique de la nutrition organique par l'apport de bioengrais

lombricomposté à base de marc de café complétement (E3 & E4). Les espèces dénombrées dans les unités expérimentales sont regroupées par ordres puis classées dans une liste systématique (Tableau 1).

L'inventaire montre une diversité d'espèces très riche dans les unités expérimentales. Les données montrent un nombre important d'arthropodes nuisible au niveau des unités expérimentales traitées au bioengrais E3 et témoin. Cependant, l'unité expérimentale traité au E4, exprime le nombre d'individus le moins important associé à un nombre de taxa très faible (Tableau 1). Par ailleurs, l'inventaire a mis en évidence des auxiliaires entomophages qui sont pour la plupart des prédateurs Salticidae, Coccinellidae, Cecidomyiidae et Syrphidae, Leurs effectif se rapprochent numériquement, alors que la disponibilité taxonomique est en faveur des unités expérimentales ayant subis les bioengrais E3 et E4.

Tableau 1 : Paramètre qualitatif de l'arthropodofaune nuisible et auxiliaire agrumicole sous l'effet des traitements

Ordres	Familles	Espèces	ni E3	ni E4	ni TM
Hemiptera	Diaspidae	<i>Parlatoria pergandii</i> (Comstock, 1881)	114	82	261
		<i>Aonidiella aurantii</i> (Maskell, 1879)	243	107	385
		<i>Parlatoria ziziphi</i> (Lucas, 1853)	198	0	296
	Aphididae	<i>Aphis gossypii</i> (Glover, 1877)	76	0	112
		<i>Aphis spiraecola</i> (Patch, 1914)	381	74	451
		<i>Toxoptera aurantii</i> (Boyer de Fonscolombe, 1841)	276	62	372
		<i>Myzus persicae</i> (Sulzer, 1776)	98	0	114
	Aleyrodidae	<i>Aleurothrixus floccosus</i> (Maskell, 1896)	167	39	239
		<i>Dialeurodes citri</i> (Ashmead, 1885)	82	0	108
	Total consommateurs I			1635	364
Total taxa			9	5	9
Araneae	Salticidae	<i>Salticidae sp1</i> (Blackwall, 1841)	28	18	1
		<i>Salticidae sp2</i> (Blackwall, 1841)	23	9	2
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Clitostethus arcuatus</i> (Rossi, 1794)	26	8	11
		<i>Coccinella algerica</i> (kovar, 1977)	4	1	23
		<i>Psyllobora vigintiduopunctata</i> (Linnaeus, 1758)	5	12	1
		<i>Rodolia cardinalis</i> (Mulsant, 1850)	70	21	67
		<i>Scymnus subvillosus</i> (Goeze, 1777)	35	13	5
		<i>Stethorus punctillum</i> (Weise, 1891)	15	4	0
Diptera	Cecidomyiidae	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> (Rondani, 1847)	59	69	2
	Syrphidae	<i>Episyrphus balteatus</i> (De Geer, 1776)	38	53	84
Hymenoptera	Aphelinidae	<i>Aphelinus mali</i> (Haldeman, 1851)	7	17	32
		<i>Cales noacki</i> (Howard, 1907)	71	22	84
	Formicidae	<i>Tapinoma nigerimum</i> (Forster, 1850)	30	19	103
Total auxiliaires			411	266	415
Total taxa			13	13	12
Total individus			2046	630	2753

L'examen de la distribution moyenne des abondances des différents groupes fonctionnels selon le type de bioengrais et des doses appliquées, fait ressortir une gradation de recrutement des nuisibles selon le gradient :

TM > D1-E3 > D2-E3 & D1-E4 > D2-E4. La forte dose d'E4 s'avère la plus contraignante en termes d'installation primaire des bioagresseurs (Tableau 2).

En parallèle, nous avons analysé le recrutement des auxiliaires selon les mêmes conditions expérimentales. La matrice globale établie à partir des données d'abondance des taxons

bénéfiques montre une suprématie d'individus selon un gradient ascendant TM > D1-E3 > D1-E4 > D2-E3 > D2-E4.

Tableau 2 : Comparaison des abondances moyennes des nuisibles et des auxiliaires sous l'effet des bioengrais

	D1-E3	D2-E3	D1-E4	D2-E4	TM	F	p
Abondance CI	128,56±4,50b	53,11±1,09c	32,67±1,23c	7,78±0,21d	259,78±7,93a	18,41	1,19×10 ^{-8***}
Abondance CII & CIII	20,85±1,08a	10,77±0,63ab	15,15±4,12ab	5,31±1,52b	31,92±10,64a	3,33	0,015*

CI : Consommateur primaire, CII & CIII : Auxiliaires, D1 : 60 g/l, 60g de substrat / litre d'eau ; D2= 120 g/l, 120 g de substrat / litre d'eau), TM : Témoin, * : Significative à 5%, ***/ Significative à 0,1%, les valeurs avec les lettres sont significativement différentes à p < 5%, selon le test de Tukey a > b > c

3. Expression physiologiques et biochimiques des feuilles d'oranger sous l'effet des biofertilisants

Les données des paramètres physiologiques et biochimiques des feuilles de *Citrus sinensis* Thomson ont été mises en relation avec la nature des doses des biofertilisants expérimentés. Cela permet de valider l'hypothèse des effets positifs d'une expression physiologique et biochimique élevée sous l'effet du bioengrais à C/N 50,30. En effet, des différences très significatives (Test One-Way ANOVA, p < 1%) entre l'expression phytochimique des plants traités et le témoin ont été établies, autant pour les faibles doses que pour les fortes doses (Tableau 3).

Pour la teneur relative en eau on observe aussi des différences significatives (Test One-Way ANOVA, p < 0,01%) entre l'effet du bioengrais E3 à C/N 24,90 et le bioengrais E4 à C/N 50,30, avec des relations de meilleure qualité pour l'E4 sous les deux doses expérimentées. Une plus forte dispersion de l'expression phytochimique pour les deux doses de l'E4 et la forte dose de l'E3 montrent l'effet important sur la modulation des teneurs en sucres solubles totaux et en acides aminés solubles par rapport au témoin. Pour cette expérimentation pareillement sous l'effet des deux doses de l'E3 et de l'E4, montrent des quantités faibles en proline libre endogène par comparaison au témoin (Tableau 3).

Tableau 3 : Effets des différents traitements sur la qualité physiologique et biochimique des feuilles d'oranger

Traitements	Teneur relative en eau (%)	Teneur en sucres solubles totaux (mg.g ⁻¹ de M.F.)	Teneur en acides aminés solubles (mg.g ⁻¹ de M.S.)	Teneur en proline libre endogène (mg.g ⁻¹ de M.S.)
D1-E3	40,06±2,21d	3,07± 0,03c	4,50±0,46c	1,33±0,10b
D2-E3	46,99±1,77c	3,93±0,12b	5,32±0,78b	1,36±0,12b
D1-E4	59,34±3,24b	4,74± 0,82b	6,12±0,54a	1,39±0,16b
D2-E4	71,59±5,45a	6,83± 0,79a	7,85±0,60a	1,42±0,25b
TM	41,26±2,61d	2,31±0,25d	3,57±0,76d	2,89±0,35a
F	16,38	10,13	9,03	20,31
p	1,34×10 ^{-8***}	2,8×10 ^{-5***}	0,0077*	1,01×10 ^{-7***}

D1 : 60 g/l, 60g de substrat / litre d'eau ; D2= 120 g/l, 120 g de substrat / litre d'eau), TM : Témoin, ** : Significative à 1%, ***/ Significative à 0,1%, les valeurs avec les lettres sont significativement différentes à p < 5%, selon le test de Tukey a > b > c

DISCUSSION

Selon Edwards [26], les lombricomposts sont des matières organiques finement divisées et entièrement stabilisées qui favorisent une grande activité microbienne, supportant un grand nombre et une grande activité microbienne. Ils sont produits dans le cadre d'un processus mésophile grâce aux interactions entre les vers de terre et les microorganismes qui décomposent les déchets organiques. Les lombricomposts augmentent la germination des plantes, la croissance, la floraison et la

fructification d'un large éventail de cultures grâce aux effets hormonaux, indépendamment des nutriments [27]. Le recours à l'application du lombricompost dans les itinéraires culturaux a permis de supprimer des nématodes phytoparasites [28, 29], des agents phytopathogènes [30] et des arthropodes nuisibles des plantes [28, 31]. Cependant, ces auteurs reconnaissent que le lombricompostage de marc de café complétement a été peu exploré. Nos travaux ont montré que l'apport des bioengrais E3 et E4 est très contraignant à l'installation primaire des ravageurs de *Citrus*.

Cette difficulté est très apparente à travers la réduction numérique de l'ensemble des bioagresseurs inventoriés. Cependant, on observe une suppression de divers groupes entomologiques opophages, notamment, *Parlatoria ziziphi* (Diaspididae), *Aphis gossypii* et *Myzus persicae* (Aphididae), *Dialeurodes citri* (Aleyrodidae), en faveur de l'apport de la forte dose d'E4. Cette tendance a également été signalée suite à l'application de la forte dose d'E3 et la faible dose d'E4, mais avec une moindre intensité. Ce sont donc les constituants du lombricompost qui induisent des variations dans le métabolisme végétal, permettant de stimuler la défense naturelle des plantes.

Il existe quelques rapports dans la littérature scientifique sur la suppression des ravageurs opophages suite à l'application de lombricompost. Les informations préliminaires ont signalé des effets de suppression significative des attaques des Psyllae [32], des Jassidae, des Aphididae et des Tetranychidae sur l'arachide [33, 34], des Diaspididae et des Tetranychidae sur tomate et concombre [35, 36]. Par ailleurs, Chaichi et Djazouli [37], ont avancé que l'utilisation du thé de lombricompost conduit à la réduction de la disponibilité des formes biologiques d'*Aphis fabae*, accompagnée par une perturbation du potentiel biotique des femelles adultes; et que ce dernier est considéré comme étant un stimulateur des défenses naturelles des plantes [31].

Dans un contexte similaire, Shova *et al.* [38], ont affirmé que les mécanismes d'action par lequel le lombricompost pourrait supprimer la pénétration des larves de *M. incognita* dans les racines et l'éclosion des œufs de cette espèce, pourraient être dû à l'induction de la résistance de la plante hôte par des *Rhizobactéries* bénéfiques, ou la sécrétion d'enzymes hydrolytiques telles que la chitinase, qui provoque l'hydrolyse des œufs de nématodes ; ou une protéase qui hydrolyse les protéines protégeant la couche de chitine de la coquille d'œuf de nématode, exposant ainsi la couche de chitine à la chitinase.

Ducasse [39], estime que les teneurs élevées en microorganismes de lombricompost protègent les plantes en concurrençant les organismes pathogènes sur le plan des ressources tout en bloquant également leur accès aux racines par une occupation des sites disponibles. Cette hypothèse a été expérimentée par Chaoui *et al.* [30], qui ont testé l'apport du lombricompost commercial sur des végétaux malades. Les résultats ont montrés que les infections de *Pythium* (concombre),

de Rhizoctone (radis sous-serre), de Verticilliose (fraise), d'Excoriose et d'Oïdium (vigne), ont été fortement réduites. Les applications du lombricompost ont diminué de manière importante l'incidence de ces diverses maladies.

Norman *et al.* [35], estiment que la diminution du nombre d'insectes nuisibles et les dommages subis aux plantes cultivées suite à l'apport du lombricompost, pourrait être attribuée, au moins partiellement, à des changements dans la forme de N, à un ralentissement contrôlé des taux de libération des nutriments minéraux et notamment par la production de composés phénoliques grâce à l'utilisation des lombricomposts. D'autres recherches sont nécessaires pour identifier les mécanismes par lesquels le lombricompost supprime l'alimentation et la reproduction des arthropodes nuisibles.

Les résultats de cette expérience montrent l'interaction entre le métabolisme primaire et secondaire des plants de *Citrus* et la nature des bioengrais testés. En comparant les paramètres physiologiques et biochimiques des plants témoin (sans apport) aux paramètres des plants traités, on constate que l'apport d'E3 et d'E4 a influencé significativement les teneurs en eau, en sucres solubles totaux, en acides aminés solubles et en proline libre endogène. Le bioengrais E4 sous ses deux doses, se démarque particulièrement pour la quantité des sucres solubles totaux et des acides aminés solubles. Nous avons ainsi validé l'hypothèse de Devisscher [40], qui signale que la qualité d'un lombricompost est liée à sa teneur en carbone organique, en azote, en potasse, en phosphore ainsi que le degré de maturité du lombricompost qui peut être estimé par le rapport C/N. Il apparaît d'après les résultats obtenus que le lombricompostage a entraîné une modification de la composition chimique des différents substrats (marc de café complétement). Aroun *et al.* [16], ont constaté une augmentation du taux en azote total et en carbonate de calcium, par contre une diminution du taux en matière organique, en carbone organique, du poids en phosphore assimilable et du rapport C/N. En effet, la diminution du taux en matière organique et en carbone total est due comme le montrent déjà en 1952 Joshi et Kelkar [41], à la présence d'une certaine activité bactérienne nitrifiante active dans les tubes digestifs des vers ou dans leur excréta qui favorise la décomposition de la matière organique tout en augmentant la teneur en azote et une diminution du rapport C/N des substrats lombricompostés, mais qui reste supérieur à 20.

En effet, cela démontre que malgré la diminution de ce rapport, le taux d'azote reste assez faible et que la décomposition de la matière organique est assez lente. Ainsi, il est démontré par Morel *et al.* [42], que la diminution du pH correspond à une évolution des matières organiques vers des formes plus stables et plus humifiées. Cependant, selon les substrats, nous remarquons une certaine variabilité de l'ordre de grandeur de ce rapport dont dépend le taux d'humification. En effet, le substrat E4 est celui qui est le plus humifié. Mais, il est signalé par Zamora *et al.* [43], que plus le rapport C/N d'un produit est élevé, plus il se décompose lentement et plus l'humus obtenu est stable.

Nous avons également validé notre prédiction sur la stimulation de la physiologie de la plante par la disponibilité du calcium, en raison de la présence de glandes calciféreuses dans le tube digestif des vers [44].

Nos résultats ont montré que l'accumulation des teneurs en proline libre endogène est relativement différente. Les teneurs accumulées ne deviennent significatives qu'après comparaison des plants traités aux bioengrais E3 et E4 avec les plants témoins. Cette divergence d'accumulation entre les traités et le témoin peut s'expliquer par l'installation d'un stress nutritionnel chez les plants témoins, perturbant ainsi le fonctionnement physiologique des plants de *Citrus*. Notre hypothèse rejoint les conclusions de Tahri *et al.* [45], qui estiment que le fort taux de présence de la proline chez les plantes est relatif aux différentes situations de stress qu'elles confrontent. L'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress (osmotiques, hydriques, thermiques) [46, 47]. Singh *et al.* [48], pensent que les quantités accumulées pourraient être liées au niveau de tolérance aux stress. La proline accumulée pourrait jouer un rôle d'osmoticum [49]. Elle pourrait, également, intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique ou constituer une réserve d'azote utilisée par la plante postérieurement à la période du stress [50, 51].

Bien que les mécanismes responsables de ces changements de l'homéostasie, de l'expression physiologique et biochimique de la plante n'aient pas été élucidés dans cette étude, les résultats attirent l'attention sur la l'opportunité d'utilisation des bioengrais développés comme amendement dans la nutrition organique des plantes, ces lombricomposts apporteront une quantité élevée nutriments.

Cependant, ces deux bioengrais E3 et E4, proviennent eux-mêmes de matériaux naturels et alimentaires ajoutés lors lombricompostage et ils ne devraient pas être considérés comme nuisibles.

CONCLUSION

Cette étude a démontré que l'ensemble de nos expériences sur l'activité des bioengrais issus du lombricompostage de marc de café complétement, ont montré leurs statut de biostimulant et de stimulateur des défenses naturelles des plantes. L'originalité de ce travail repose sur l'association entre les techniques biotechnologiques et la réduction de la mise en décharges. Les résultats obtenus sont encore fragmentaires étant donné que nous n'avions pas pu étendre nos expériences à l'ensemble des paramètres de croissance et de production, toutefois, les informations obtenues pourraient servir de base solide pour la sensibilisation des secteurs utilisateurs afin de valider les expériences scientifiques comme outil de lutte écologiquement et économiquement viable pour le secteur agricole. Le contexte de recherche dans lequel se situe cette étude nous semble particulièrement favorable au développement d'innovations associées à la sélection d'intrants phytopharmaceutique qui s'intégrera aisément dans la gestion durable de la production végétale

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Paudel S., Rajotte E.G. & Felton, G.W. (2014). Benefits and costs of tomato seed treatment with plant defense elicitors for insect resistance. *Arthropod-Plant Interactions*, 8(6):539–45
- [2]. Shekhar Sharma, H. et al., (2014). Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *Journal of Applied Phycology*, 26: 465–490. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0101-9>
- [3]. Tamm, L. et al., (2011). Elicitors and soil management to induce resistance against fungal plant diseases. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 58(3-4):131-137.
- [4]. Thakur M. & Sohal, B. (2013). Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: A review. *ISRN Biochemistry*. Article ID 762412, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/762412>.
- [5]. International Coffee Organization (ICO), (2010). Total production of exporting countries. <http://www.ico.org/prices/po.htm> [Accessed Jun 28, 2021].
- [6]. Hue N.V., Bittenbender H.C. & Ortiz-Escobar M.E. (2006). Managing coffee processing water in Hawaii. *J. Hawaiian Pacific Agric.* 13, 15–21.
- [7]. Salomone R. (2003). Life cycle assessment applied to coffee production: investigating environmental impacts to aid decision making for improvements at company level. *Food, Agric. Environ.* 1, 295–300.

- [8]. Preethu D.C., Prakash B.N.U.H., Srinivasamurthy C.A. & Vasanthi, B.G. (2007). Maturity indices as an index to evaluate the quality of compost of coffee waste blended with other organic wastes. In: Proceedings of the International Conference on Sustainable Solid Waste Management, Chennai, India, pp. 270–275.
- [9]. Kondamudi N., Mohapatra S.K. & Misra M. (2008). Spent coffee grounds as a versatile source of green energy. *J. Agric. Food Chem.* 56:11757–11760.
- [10]. Tiquia S.M., Richard T.L. & Honeyman M.S. (2002). Carbon, nutrient, and mass loss during composting. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 62: 15–24.
- [11]. Larney F.J., Olson A.F., Carcamo A.A. & Chang C. (2000). Physical changes during active and passive composting of beef feedlot manure in winter and summer. *Biores. Technol.* 75: 139–148.
- [12]. Lopez M.J.A. (2001). Quality and maturation of vermicompost derived from different feedstocks. MSc Thesis, Nova Scotia Agricultural College and Dalhousie University, Halifax, Canada.
- [13]. Liu K. & Price G.W. (2011). Evaluation of three composting systems for the management of spent coffee grounds. *Bioresource Technology* 102:7966–7974
- [14]. Aroun M.E.F. (2015). Le complexe aphides et ennemis naturels en milieux cultivé et forestier en Algérie. Thèse Doct., ENSA, El Harrach, Alger, Algérie, 106 p.
- [15]. Chaichi W., Djazouli Z.E., Zebib B. & Merah O. (2018). Effect of Vermicompost Tea on Faba Bean Growth and Yield, *Compost Science & Utilization*, DOI:10.1080/1065657X.2018.1528908 To link to this article: <https://doi.org/10.1080/1065657X.2018.1528908>
- [16]. Aroun M.E.F., Benhammouda B. & Djazouli Z.E. (2018). Physicochemical evaluation of the composting of different types of organic matter on some biological parameters of the manure worm (*Eisenia foetida*). *J. Fundam. Appl. Sci.*, 10(5S): 16-31.
- [17]. Waddell K.L. (2002). Sampling coarse woody debris for multiple attributes in extensive resource inventories. *Ecological indicators*, 1: 139–153.
- [18]. Woldendorp G., Keenan R.J., Barry S. & Spencer R.D. (2004). Analysis of sampling methods for coarse woody debris. *Forest Ecology and Management*, 198: 133–148.
- [19]. Bastide A. (1989). *Méthodologie d'échantillonnage sur terrain sur terrain*. Ed Masson. Paris, 280p.
- [20]. Sarmoum R., Biche M. & Djazouli Z.E. (2018). Inventaire des espèces folivores de la vigne *Vitis vinifera* dans la Mitidja occidentale. Effet du cépage sur la structuration des réseaux trophiques. *Agrobiologia*, 8(2): 1027-1037
- [21]. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. & Smith F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.*, 28(3) : 350–356.
- [22]. Naidu B.P., Cameron D.F. & Konduri S.V. (1998). Improving Drought Tolerance Of Cotton By Glycine Betaine Application And Selection. Proceedings Of The Australian Agronomy Conference, July 20-23, 1998, The Australian Society Of Agronomy, Australia
- [23]. Singh T.N., Aspinall D., Paleg L.G. & Bogges S.F. (1973). Stress Metabolism. Ii. Changes In Proline Concentration In Excised Plant Tissues. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26: 57-63
- [24]. Ben Naceur M. (1994). Contribution à l'évaluation du degré de résistance aux contraintes hydriques (sécheresse et excès d'eau) chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) et la fétuque (*Festuca arundinacea* Schreb.). Thèse de doctorat d'état en Sciences, 113 p.
- [25]. SPSS, Inc. (2016) –SYSTAT 4.00 for windows, statistics and graphics.
- [26]. Edwards C.A. (2004). The use of earthworms in processing organic waste into plant-growth media and animal feed protein. In: Edwards, C.A. (Ed.), *Earthworm Ecology*, second ed. CRC Press/Lewis Publ. Boca Raton, FL, pp. 327–354.
- [27]. Benazzouk S. & Dobrev Petre I. & Djazouli Z.-E. & Motyka V. & Lutts S. (2019). Positive impact of vermicompost leachate on salt stress resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) at the seedling stage: a phytohormonal approach. *Plant Soil*, <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04361-x>
- [28]. Arancon N.Q., Edwards, C.A. & Lee S. (2002). Management of plant parasitic nematode population by use of vermicomposts. Proceedings Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases 2.705–710.
- [29]. Safiddine F., Nebih D., Merah O. & Djazouli Z.-E. (2019). Impact de différents types de vermicompost sur la réduction du nombre de galles de Meloidogyne et l'expression végétative des plants de tomate. *Agrobiologia*, 9(1): 1415-1427
- [30]. Chaoui H., Edwards C.A., Brickner M., Lee S. & Arancon N. (2002). Suppression of the plant diseases, Pythium (damping off), Rhizoctonia (root rot) and Verticillium (wilt) by vermicomposts. In: Proceedings of Brighton Crop Protection Conference Pests and Diseases, 18–21 November 2002, Brighton, U.K., vol. II, 8B-3, 711–716.
- [31]. Chaichi W. Djazouli Z.-E., Djemai I., Abdelkader S. Ribera I. & Nancé J. (2018). Stimulation des défenses naturelles par l'application d'un Lombricompost. Effet sur les paramètres populationnels d'*Aphis fabae* Scop. (Homoptera: Aphididae) et la qualité phytochimique de la fève. *Lebanese Science Journal*, 18(1): 81-97.
- [32]. Biradar A.P., Sunita N.D., Teggel R.G. & Devarandavadgi S.B. (1998). Effect of vermicompost on the incidence of subadult psyllid. *Ins. Environ.* 4: 55–56.
- [33]. Rao K.R., Rao P.A. & Rao K.T. (2001). Influence of fertilizers and manures on the population of coccinellid beetles and spiders in a groundnut ecosystem. *Ann. Plant Prot. Sci.* 9 : 43–46.
- [34]. Rao K.R. (2002). Induced host plant resistance in the management of sucking pests of groundnut. *Ann. Plant Prot. Sci.* 10: 45–50.
- [35]. Norman Q. Arancon, Clive A. Edwards, Erdal N. Yardim, Thomas J. Oliver, Robert J. Byrne & George Keeney (2007). Suppression of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*), mealy bug (*Pseudococcus* sp) and aphid (*Myzus persicae*) populations and damage by vermicomposts. *Crop Protection* 26:29–39
- [36]. Edwards Clive A., Arancon Norman Q., Vasko-Bennett M., Askar A., Keeney G. & Little B. (2010). Suppression of green peach aphid (*Myzus persicae*) (Sulz.), citrus mealybug (*Planococcus citri*) (Risso), and two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Koch.) attacks on tomatoes and cucumbers by aqueous extracts from vermicomposts. *Crop Protection* 29 : 80–93

- [37]. Chaichi W. & Djazouli Z.-E. (2017). Impact du thé de vermicompost sur la qualité phytochimique de la fève et sur la réduction des populations du puceron noir de la fève *Aphis fabae*. *Agrobiologia*, 7(1): 247-262.
- [38]. Shova M., Koon H.W., Brent S. & Miaoying T. (2017). Suppression of Root-Knot Nematode by Vermicompost Tea Prepared From Different Curing Ages of Vermicompost. *Plant Disease*, 101:734-737.
- [39]. Ducasse V. (2015). La valorisation des déchets organiques de la métropole de Lyon par la technique du lombricompostage. Mém. Licence. Univ. Lion. France. 58 p.
- [40]. Devisscher S. (1997). Propriétés et valorisation du Compost. Mém. D.E.S.S., Univ. Picardie, 60 p.
- [41]. Joshi N.V. & Kelkar, B.V. (1952). The role of earthworms in soil fertility. *Indian J. agric. Sci.*, XXII, 2: 189-196.
- [42]. Morel P., Guckert A., Nicoladot B., Benistant D., Catroux G. & German D. (1986). Etude de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques et de la stabilité biologique des ordures ménagères au cours du compostage. *Agronomie*, 6 (8) : 693-701.
- [43]. Zamora A.J., Pastoriza S. & Henares J.A.R (2015). Revalorization of coffee by- products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 61:12-18.
- [44]. Edwards C.A. & Bohlen P.J. (1996). *Biology and ecology of earthworms*, third edition. Chapman & Hall London, UK. 412 pages.
- [45]. Tahri E. H., Belabed A. & Sadki K. (1998). Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*, 21 : 81-87.
- [46]. Dörfling K. & Askman A. (1989). Relationship between frost tolerance and formation of proline, abscisic acid and specific proteins in cold hardned winter wheat (*Triticum aestivum*) varieties. XII Eucarpia Congress
- [47]. Ober E.S. & Sharp R.E. (1994). Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentiels. *Plant. Physiol.*, 105: 981-987.
- [48]. Singh T.N., Paleg L.G. & Aspinall, D. (1973). Nitrogen metabolism and growth in barley plant during water stress. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26: 45-56.
- [49]. Kauss H. (1977). *Biochemistry of regulation*. In NORTHCOTE (Ed): *Intenational Review of Biochemistry*, 2: 119-139
- [50]. Pesci P. & Beffagna A. (1984). Inhibiting effect of fusicoccin on abscisic acid induced proline accumulation in barley leaves. *Plant Sci. Letters*, 37 : 7-12.
- [51]. Tal M. & Rosenthal I. (1979). Salt tolerance in *Simmondria chenensis* water balance and accumulation of chloride sodium and proline under low and high salinity. *Ann. Bot.*, 34: 701-708.