

FORMULATION D'UN BIOSTIMULANT À BASE DE L'EXTRAIT AQUEUX DES FEUILLES DE *MORINGA OLEIFERA* : CAS DE LA STIMULATION DE LA GERMINATION DES GRAINES D'*ATRIPLEX HALIMUS*

STASAIID Fatma Zohra^{1*} et DJAZOULI Zahr-Eddine¹

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

Reçu le 29/12/2022, Révisé le 19/05/2023, Accepté le 05/06/2023

Résumé

Description du sujet : Un biostimulant est une substance ou microorganisme appliqué sur la plante afin d'améliorer tolérance au stress abiotique et la qualité de culture en plus de sa teneur en éléments nutritifs.

Objectifs : La présente étude vise l'optimisation de l'extrait aqueux des feuilles de *Moringa oleifera* par le recours à deux formulations.

Méthodes : Les bio engrais développés ont été appliqués en tant qu'agent de priming afin de déterminer leurs capacités à booster la croissance des graines d'*Atriplex halimus*. L'expérience a été réalisée dans une chambre de culture (16h/8h de photopériode, 25°C et 80% d'humidité). La technique de priming a été adoptée dans le but d'estimer l'effet booster des bioengrais développés. Les graines d'*Atriplex halimus* ont été amorcées par l'Extrait Aqueux (EAM), l'Extrait Aqueux formulé 1 (EAMF₁) et l'Extrait Aqueux Formulé 2 (EAMF₂), à différentes doses à savoir : 3ml/L, 2ml/L, 1,5ml/L et 1ml/L. Le suivi des essais est préconisé pendant 10 jours. Le taux de germination, le taux d'inhibition, la vitesse de germination et l'indice de vigueur ont été estimés.

Résultats : Les résultats ont montré que pour l'ensemble des paramètres étudiés, la forte dose 3ml/L de l'Extrait Aqueux (EAM) signale les valeurs les plus élevées rapport aux doses appliquées. Cependant, les mêmes paramètres de germination ont été obtenu sous l'effet des faibles doses (1ml/L) pour les l'Extrait Aqueux Formulés (EAMF₁ & EAMF₂). Par ailleurs, les résultats ont montré que le taux de germination, l'indice de germination, le taux d'inhibition et la vitesse de germination répondent positivement à l'Extrait Méthanolique (EMM), alors que la longueur des racines et des tiges ainsi que l'indice de vigueur sont en faveur de l'Extrait Aqueux Brut (EAM). Les formulations F1 et F2 ont montré une meilleure sécurisation des principes actifs de l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux.

Conclusion : L'optimisation des bioengrais à travers la formulation des principes actifs d'origine végétale permet de rationaliser l'utilisation des ressources phytogénétiques dans le cadre d'une agriculture durable.

Mots clés : *Atriplex halimus*, Extrait aqueux, formulation, *Moringa oleifera*, principe actif, indice de vigueur.

FORMULATION OF A BIOSTIMULANT BASED ON THE AQUEOUS EXTRACT OF *MORINGA OLEIFERA* LEAVES: CASE OF STIMULATION OF GERMINATION OF *ATRIPLEX HALIMUS* SEEDS

Abstract

Subject Description: A biostimulant is a substance or microorganism applied to the plant to improve tolerance to abiotic stress and crop quality in addition to its nutrient content.

Objectives: This study aims to optimize the aqueous extract of *Moringa oleifera* leaves by using two formulations.

Methods : The biofertilizers developed were applied as a priming agent to determine their ability to boost the growth of *Atriplex halimus* seeds. The experiment was carried out in a culture chamber (16h/8h photoperiod, 25°C and 80% humidity). The priming technique was adopted in order to estimate the booster effect of the biofertilizers developed. The seeds of *Atriplex halimus* were primed by the Aqueous Extract (EAM), the Aqueous Extract formulated 1 (EAMF₁) and the Aqueous Extract Formulated 2 (EAMF₂), at different doses namely: 3ml / L, 2ml / L, 1.5ml / L and 1ml / L. Follow-up of the trials is recommended for 10 days. Germination rate, inhibition rate, germination rate and vigor index were estimated.

Results : The results showed that for all the parameters studied, the high dose 3ml/L of the Aqueous Extract (EAM) indicates the highest values in relation to the applied doses. However, the same germination parameters were obtained under the effect of low doses (1ml/L) for formulated Aqueous Extract (EAMF₁ & EAMF₂). In addition, the results showed that the germination rate, the germination index, the rate of inhibition and germination rate respond positively to the Methanolic Extract (EMM), while the length of the roots and stems as well as the vigor index are in favor of the Crude Aqueous Extract (EAM). The F1 and F2 formulations showed better security of the active ingredients of the methanolic extract compared to the aqueous extract.

Conclusion : The optimization of biofertilizers through the formulation of active ingredients of plant origin makes it possible to rationalize the use of plant genetic resources in the context of sustainable agriculture.

Keywords : *Atriplex halimus*, Aqueous extract, formulation, *Moringa oleifera*, active ingredient, vigor index.

*Auteur correspondant: STASAIID Fatma Zohra, E-mail: stasaidfz@gmail.com,

INTRODUCTION

Le changement est une cause majeure de la réduction de la biodiversité. La température est un des principaux facteurs influencée par ces changements. Son augmentation pourrait entraîner l'extinction de nombreuses espèces, végétales ou animales [1, 2]. Certaines études ont montré que le nombre de graines germées augmente de manière linéaire lorsque la température augmente jusqu'à un niveau optimal, puis diminue de manière linéaire lorsque la température dépasse la limite [3, 4]. De plus, la température a un impact substantiel sur le métabolisme biochimique et physiologique. Selon Ahmed et al. [5], aucune germination n'a été observée pour les populations à 40°C. Des températures optimales pour la germination ont été estimées entre 7,9 et 25,9°C. Les contraintes abiotiques, telles que la sécheresse, la salinité, les températures extrêmes et l'application des différents intrants causent d'importantes pertes de récolte mondiale réduisant ainsi plus de 50% les rendements moyens pour la plupart des plantes cultivées [6]. Les facteurs de stress abiotiques, peuvent tous avoir des effets néfastes sur la croissance des plantes, entraînant une perte de rendement et une qualité réduite des cultures [7]. Les stress hydriques et thermiques sont les principaux obstacles à la réussite de l'établissement des cultures et à leurs performances ultérieures. Par conséquent, des circonstances défavorables pourraient gravement affecter l'établissement de la culture et le rendement ultérieur [8-10]. La germination des graines est la première étape de la vie d'une plante. C'est un processus qui se fait en trois phases. La première phase est l'imbibition. Les graines dormantes absorbent l'eau et le processus d'hydrolyse a lieu. L'imbibition des graines résulte de l'interaction des protéines, des glucides et des lipides, et les variations de leur contenu peuvent affecter le processus [11]. La deuxième phase est la régulation de la germination, caractérisée par l'activation de la synthèse d'ATP dans la glycolyse, le cycle de Krebs, la chaîne respiratoire et la traduction de l'ARNm stocké. Cependant, la troisième phase représente l'achèvement de la germination, lorsque la radicule dépasse du tégument et forme une racine, et les plumules forment un système de pousse capable d'utiliser la matière inorganique, l'eau et l'énergie lumineuse pour une croissance saine [12, 13]. La germination est un processus compliqué d'un point de vue physiologique, impliquant de multiples signaux, et il est influencé à la fois par des facteurs intrinsèques et extrinsèques [14].

Les facteurs intrinsèques comprennent la dormance des graines et les réserves de nourriture disponibles, et les facteurs extrinsèques comprennent l'eau, la température, l'oxygène, la lumière et l'humidité relative. En général, le biofertilisant est de nature organique contenant des microorganismes particuliers efficaces sous une forme concentrée qui provient soit du nodule racinaire de la plante, soit du sol de la rhizosphère. Les biofertilisants sont apparus comme des intrants potentiels respectueux de l'environnement qui profitent au système de production agricole. Ils ont de vastes perspectives pour répondre aux besoins en éléments nutritifs des plantes, ce qui réduit l'application d'engrais chimiques et minimise la pollution de l'environnement [15]. L'application de régulateurs de croissance des plantes ou de nutriments pendant le prétrempage, l'amorçage et d'autres traitements de pré-semis dans de nombreuses cultures a amélioré la performance des semences, ce qui se traduit par une croissance et une productivité globales des plantes, en particulier dans des conditions défavorables, telles que des températures extrêmes ou la salinité [16, 17]. Les réponses typiques à l'amorçage sont une propagation plus rapide et plus rapprochée des temps d'émergence sur tous les environnements de lit de semence et une plage de températures d'émergence plus large, conduisant à de meilleurs peuplements de cultures, et donc à un rendement et une qualité de récolte améliorés, en particulier dans des conditions de croissance sous-optimales et stressantes dans le champ [18]. De plus, les graines amorcées germent et émergent souvent plus rapidement que les graines non amorcées, surtout à basse température [19]. Le Moringa appartient à la famille des Moringacées. Il existe environ 13 espèces de Moringa dont *M. oleifera* est la plus cultivée. Comme les feuilles de Moringa sont riches en zéatine, elles peuvent être utilisées comme source naturelle de cytokinine [20]. De plus, la feuille de Moringa est également riche en ascorbates, caroténoïdes, les phénols, le potassium et le calcium, qui ont des capacités de promotion de la croissance des plantes et sont souvent appliqués comme activateurs de croissance des plantes exogènes [21]. Les antioxydants tels que l'acide ascorbique et le glutathion, qui se trouvent à des concentrations élevées dans les chloroplastes du Moringa et d'autres compartiments cellulaires, sont cruciaux pour la défense des plantes contre le stress oxydatif [22]. L'Atriplex étant convoité pour son action visant la mise en valeurs des sols.

Son utilisation est préconisée pour la restauration des sols dégradés ; en jouant le rôle de plantes pionnières facilitant l'implantation d'autres espèces végétales. Dans cette optique, notre étude se propose d'évaluer l'effet des extraits des feuilles de *Moringa* en état brut et formulé sur quelques paramètres de germination.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Présentation du matériel végétal

La semence utilisée dans cette étude est celle de l'Atriplex (*Atriplex halimus* L.), collectée au niveau du périmètre irrigué de l'Institut Technique de Développement de l'Agronomie Saharienne (ITDAS), dans la plaine de l'Otaya (W- Biskra), durant l'automne 2021. La faculté germinative a été estimée à 94%. Les graines sont stérilisées par le chlorure de sodium pendant 20 min à 20 % (v/v), puis rincées et trempées dans de l'eau distillée et séchées dans une étuve ventilée. Cette procédure est nécessaire pour éviter la contamination par les microorganismes pendant la germination.

2. Préparation des extraits de *Moringa oleifera*

Les feuilles de *Moringa oleifera* ont été collectées au niveau de la ferme de démonstration et de production de semences (FDPS) de Hassi-Benabdallah (Ouargla) durant la saison estivale. La biomasse échantillonnée a été séchée dans une étuve ventilée à 40°C pendant 24h et réduites en poudre par un broyeur à hélice (Ryobi, Al-ko).

- *Préparation de l'extrait aqueux* : Selon la méthode d'écrite par Roy [23], 60 g de poudre de *Moringa* a été mélangée à 400ml d'eau distillée. Le mélange a été homogénéisé sous agitation magnétique pendant 72 h à température ambiante. Après filtration, le filtrat a été centrifugé à 4000 tr/min pendant 15 minutes. Le surnageant (extrait aqueux) est récupéré puis conservé à l'obscurité et à basse température dans des flacons de couleur sombre.

- *Préparation de l'extrait méthanolique* : Une prise d'essai de 30 g de la poudre végétale de *Moringa* a été mise à macérer pendant 24 heures à température ambiante, dans un mélange méthanol-eau (80/20 ;V/V). L'extraction est refaite 3 fois avec renouvellement du solvant. Les macéras sont réunis et filtrés sur papier filtre. Le solvant est éliminé du filtrat sous vide à 45°C à l'aide d'un Rotavapeur (Buchi R-300) [24].

3. Obtention du vermicompost (VLC)

Le vermicompost utilisé dans cette étude a été produit dans le laboratoire de Biotechnologie

des productions végétales de l'Université de Blida 1 (Algérie), par vermicompostage de déchets alimentaires à l'aide du ver de terre *Eisenia foetida* et en suivant les recommandations de Ndegwa et Thompson [25]. Le vermicompost liquide collecté a précédemment montré qu'il contenait des acides humiques, des polyphénols, des auxines, des Cytokinines, des phytohormones et des éléments minéraux dont Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} [26, 27 et 28]. Une seule dilution a été utilisée. La dilution 10% a été préparée en ajoutant du VLC à de l'eau de ville (V/10V). Le choix de cette dilution a été basé sur une étude précédente réalisée dans notre laboratoire [29].

4. Formulations

Notre objectif est l'optimisation d'une formulation avec un effet biostimulant qui protège les cultures contre le stress hydrique et thermique. La réponse des cultures s'améliore face à des conditions défavorables, augmentant leur rendement productif. L'étude envisagée ici porte sur la sécurisation d'un mélange d'extraits de *Moringa* et la Glycine bêtaïne agit comme un osmoprotecteur, régulant les échanges hydriques des cellules, améliorant la résistance des plantes face aux conditions de température et d'humidité qui atteignent des valeurs critiques pour de nombreuses cultures. Le support utilisé varie selon les formulations proposées (tensioactifs & éléments minéraux). Les formulations ont été réalisées au niveau du Laboratoire de recherche de Biotechnologie des Productions Végétales, Université de Blida 1. Leur composition est comme suite :

Formulation F1 : c'est un mélange original ou la quantité des extraits méthanolique et aqueux de *Moringa oleifera* utilisée comme matière active a été réduite jusqu'à 24% et mélangée avec 60% d'un émulsifiant d'extrait de Bêtaïne et 16% de mouillant, après une agitation active de 6000 rpm pendant 15 min à l'UltraTurrax IKA (DJAZOULI com. per.)

Formulation F2 : C'est une mixture originale ou la quantité des extraits méthanolique et aqueux de *Moringa oleifera* utilisée comme matière active a été réduite jusqu'à 30% et mélangée avec 30% d'un émulsifiant d'extrait de Bêtaïne, 14% copper sulfate, 6% Manganèse sulfate, 20% Manganèse chloride, après une agitation active de 6000 rpm pendant 15 min à l'UltraTurrax IKA (DJAZOULI com. per.)

Formulation F3 : La mixture a été obtenue par l'utilisation du VLC brut à 60% comme matière active à laquelle un mélange de 30% de mouillant,

10% pénétrant et de tension actif sont ajoutés, après une agitation active à l'UltraTurrax IKA (DJAZOULI com. per.)

5. Conduite de l'essai

L'expérimentation a été réalisée au sein du laboratoire de recherche de Biotechnologie des Productions végétales de l'Université de Blida 1 (36° 30' 36,34'' N et 2° 52' 26,05'' E, Algérie). Les graines de l'Atriplex ont été décomptées en 5 lots de 50 graines, selon le nombre de traitements. Chaque lot a été soumis à 4 concentrations des extraits brut et formulé. Les graines du traitement témoin ont été également amorcées avec de l'eau courante (hydropriming). L'imprégnation a été effectuée dans l'obscurité à 23°C pendant 6h. Les graines ont, ensuite, été lavées trois fois avec de l'eau désionisée stérile pour éliminer les résidus de l'extrait aqueux et séchées sous flux d'air jusqu'à ce qu'elles atteignent leur niveau d'humidité initial. L'expérience d'amorçage de la germination a été réalisée dans des boîtes de Pétri de 9cm de diamètre dans un hortibox (16h/8h de photopériode, 23°C et 80% d'humidité). L'imbibition des graines a été réalisée selon les concentrations arrêtées (D1:3ml/L; D2:2 ml/L et D3: 1,5 ml/L; D4: 1ml/L). L'essai a été conduit en cinq répétitions.

6. Paramètres mesurés

Le suivi du processus de germination a été réalisé pendant 10 jours. La graine a été considérée comme germée, lorsque la radicule a percé l'enveloppe. A ce stade, différents paramètres de germination ont été déterminés comme déjà cité par Cherif et al. [30].

-Le pourcentage de germination totale (TG) a été calculé selon la formule : $TG (\%) = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre de graines semées}} \times 100$

-Le pourcentage de taux d'inhibition a été calculé selon la formule : $Ti (\%) = \frac{\text{Nombre de graines semées}}{\text{Nombre de graines germées}} \times 100$

- L'index de germination a été calculé selon la formule : $GI = \sum \left(\frac{Ni}{Ti} \right)$, Avec : Ti = nombre de jours après le semis, Ni = le nombre de graines germées le $i^{\text{ème}}$ jour.

-La vitesse de germination a été calculée selon la formule : $CV = \frac{N1+N2+...+Nn}{(N1T1+N2T2+...+NnTn)} \times 100$. Avec : $N1$: nombre de graines germées au temps $T1$, $N2$: nombre de graines germées au temps $T2$, Nn : nombre de graines germées au temps Tn .

-La longueur des parties aérienne et racinaire exprimé en (cm²), ont été estimés par analyse

d'image (image analysis software Digimizer ver. 3.0. (MedCalc Software bv, Ostend, Belgium))

-La longueur des racines et des pousses de chaque plant a été mesurée pour déterminer l'indice de vigueur selon la formule suivante : Indice de vigueur (IV) = (longueur moyenne des racines + longueur moyenne des pousses) × % de germination [31].

4. Analyses statistiques des données

L'analyse statistique a concerné l'impact des différents traitements (bruts et formulés) sur les paramètres de germination de l'Atriplex. 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 PAST vers. 3.2 [32]. La tendance des paramètres de germination de l'Atriplex par rapport à leurs réactions aux différentes biostimulants bruts et formulés ont a été établie par une analyse en composante principale (A.C.P.). La projection des variables sur les deux axes de l'analyse multivariées a été conduite par le logiciel PAST vers. 3.2 [32].

RÉSULTATS

1. Évaluation de l'effet des différentes concentrations sur les paramètres de germination

Afin de tester l'efficacité des différents biostimulants sous des conditions expérimentales, nous avons testé plusieurs concentrations dans l'esprit de déterminer la dose la plus pertinente pour chaque traitement sur la germination des graines d'*Atriplex halimus*. Les histogrammes des différents paramètres étudiés, montrent que les meilleurs valeurs du taux de germination TG, de l'indice de germination IG, de la vitesse de germination CV, du taux d'inhibition TI, de la longueur de la partie racinaire RL, de la longueur de la partie aérienne SL et de l'indice de vigueur IV, sont affichées sous l'effet des fortes concentrations D₁ (3ml) pour les traitements brut: extrait aqueux EAM et l'extrait méthanolique EMM de feuilles de *Moringa oleifera* (Fig. 1 et 2). En revanche, les traitements formulés; EAMF₁, EAMF₂, EMMF₁, EMMF₂, VLCF et de jus de lombricompost brut VLCB ont enregistré les meilleurs résultats sous l'effet des faibles concentrations D₄ (1ml) (Fig. 3, 4, 5, 6, 7 et 8).

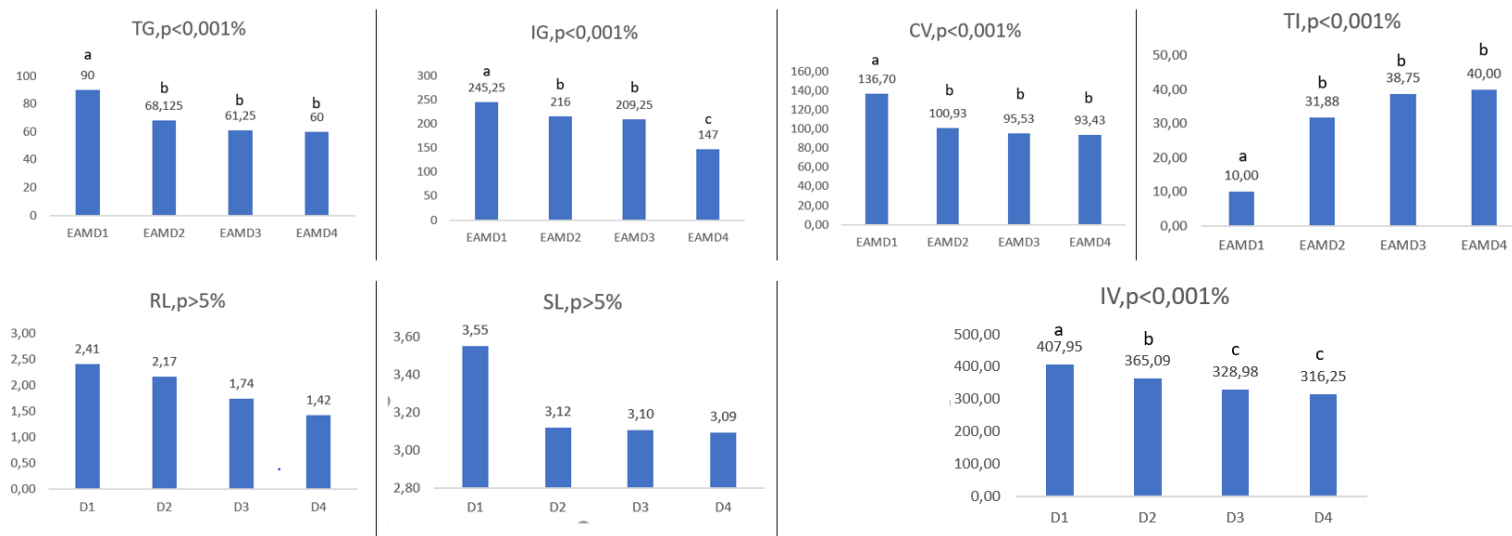


Figure 1: Evaluation de différentes concentrations du EAM sur les paramètres de germination

TG: taux de germination, IG: indice de germination, CV: vitesse de germination, TI: taux d'inhibition, RL: longueur des racines, SL: longueur des tiges, IV: indice de vigueur

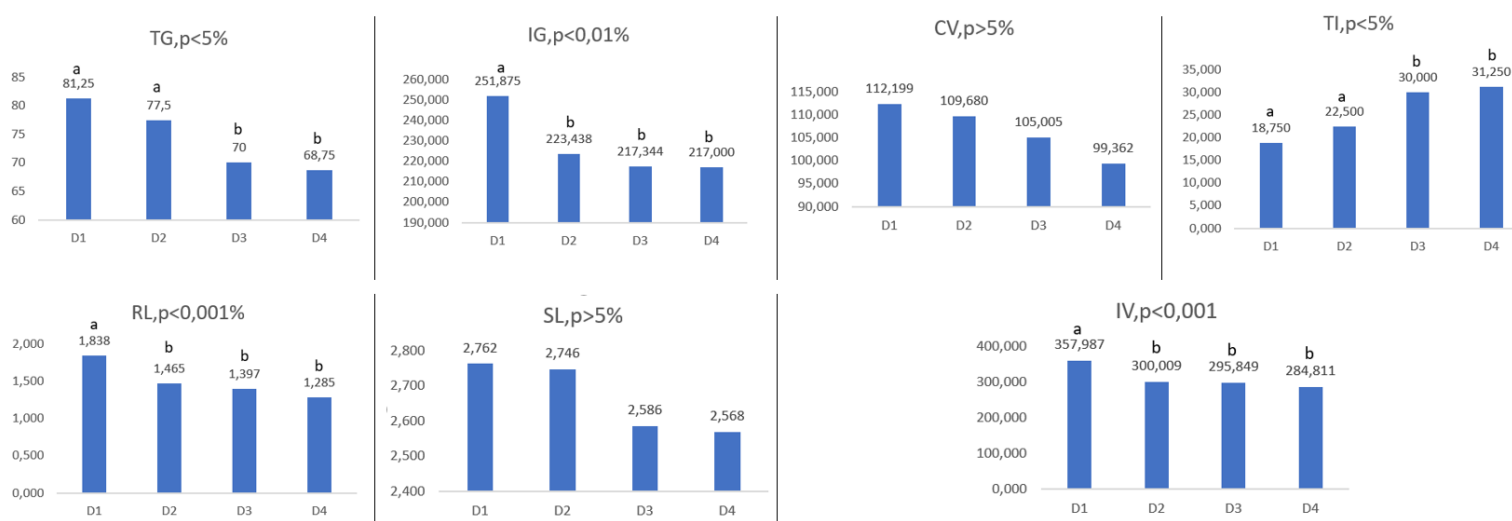


Figure 2: Evaluation de différentes concentrations du EMM sur les paramètres de germination

TG: taux de germination, IG: indice de germination, CV: vitesse de germination, TI: taux d'inhibition, RL: longueur des racines, SL: longueur des tiges, IV: indice de vigueur

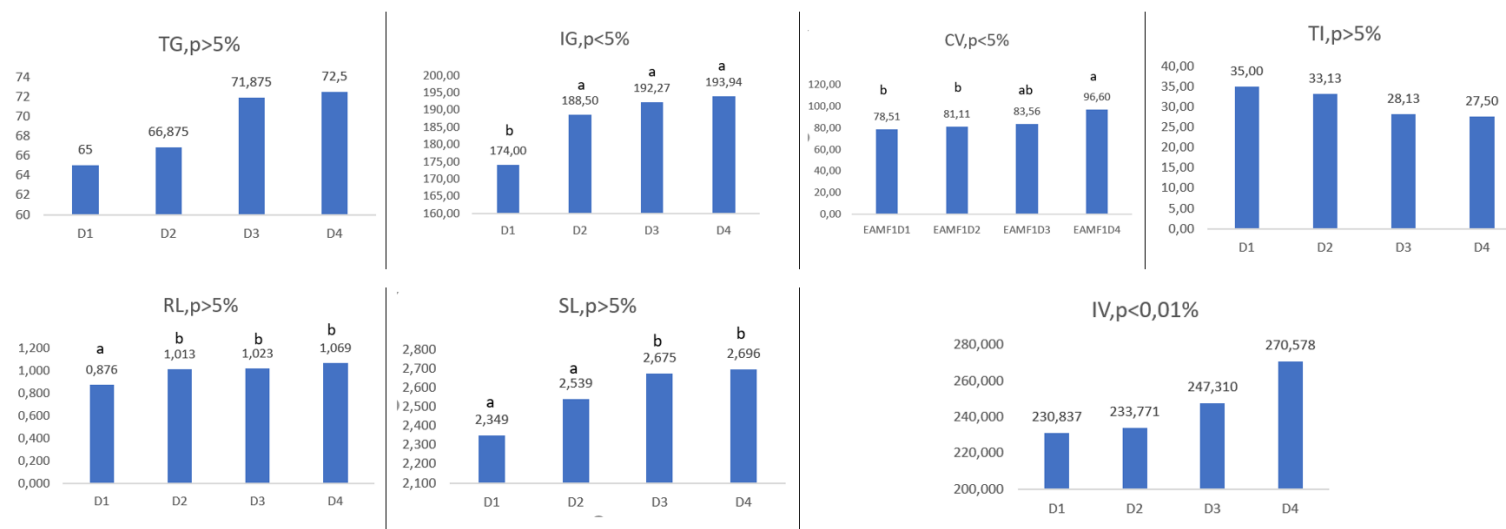


Figure 3: Evaluation de différentes concentrations du EAM F₁ sur les paramètres de germination

TG: taux de germination, IG: indice de germination, CV: vitesse de germination, TI: taux d'inhibition, RL: longueur des racines, SL: longueur des tiges, IV: indice de vigueur

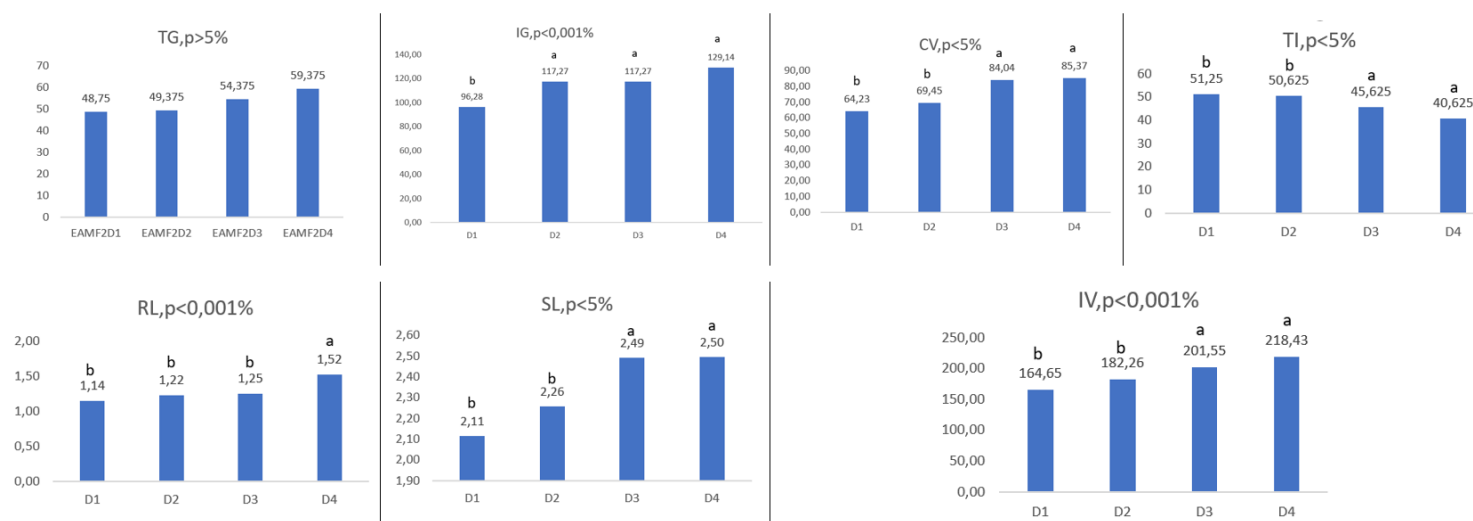


Figure 4: Evaluation de différentes concentrations du EAM F₂ sur les paramètres de germination

TG: taux de germination, IG: indice de germination, CV: vitesse de germination, TI: taux d'inhibition, RL: longueur des racines, SL: longueur des tiges, IV: indice de vigueur

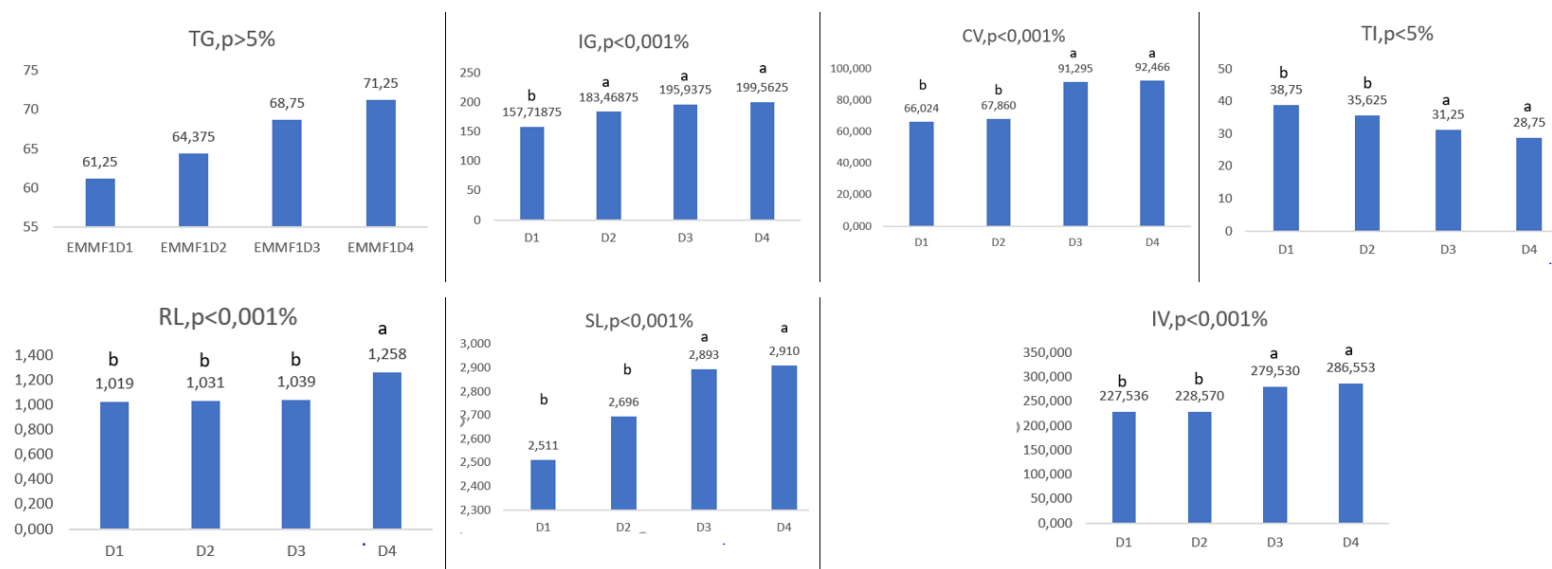


Figure 5: Evaluation de différentes concentrations du EMM F₁ sur les paramètres de germination
 TG: taux de germination, IG: indice de germination, CV: vitesse de germination, TI: taux d'inhibition, RL: longueur des racines, SL: longueur des tiges, IV: indice de vigueur

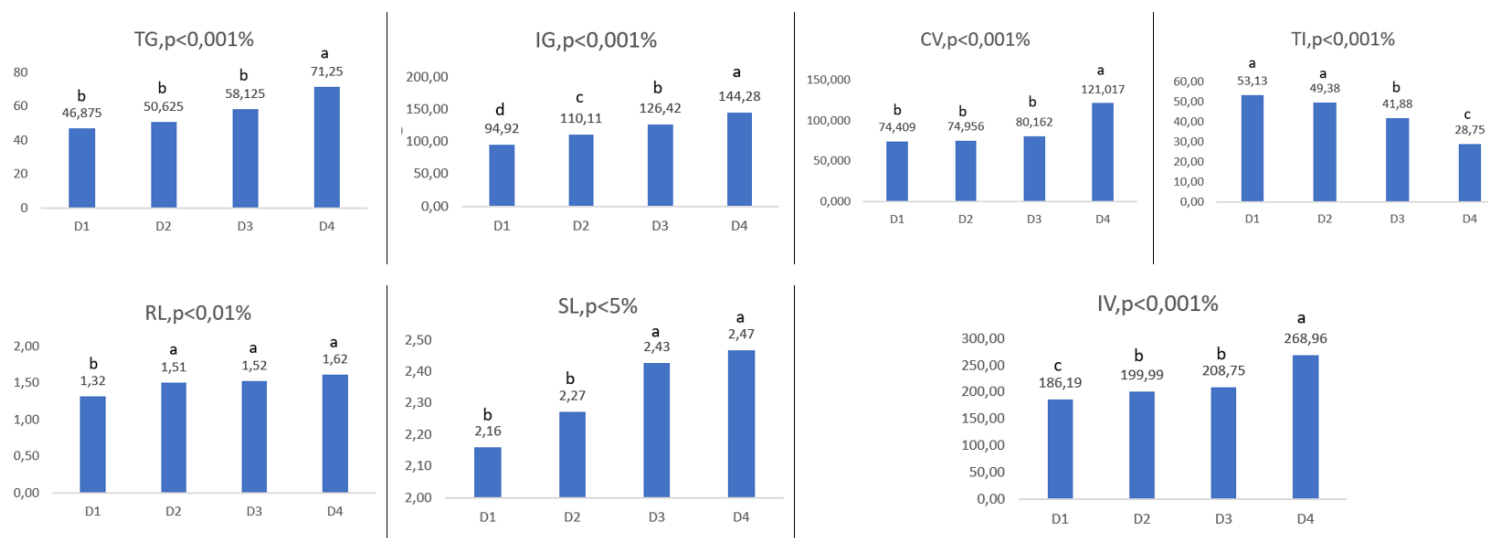


Figure 6: Evaluation de différentes concentrations du EMM F₂ sur les paramètres de germination
 TG: taux de germination, IG: indice de germination, CV: vitesse de germination, TI: taux d'inhibition, RL: longueur des racines, SL: longueur des tiges, IV: indice de vigueur

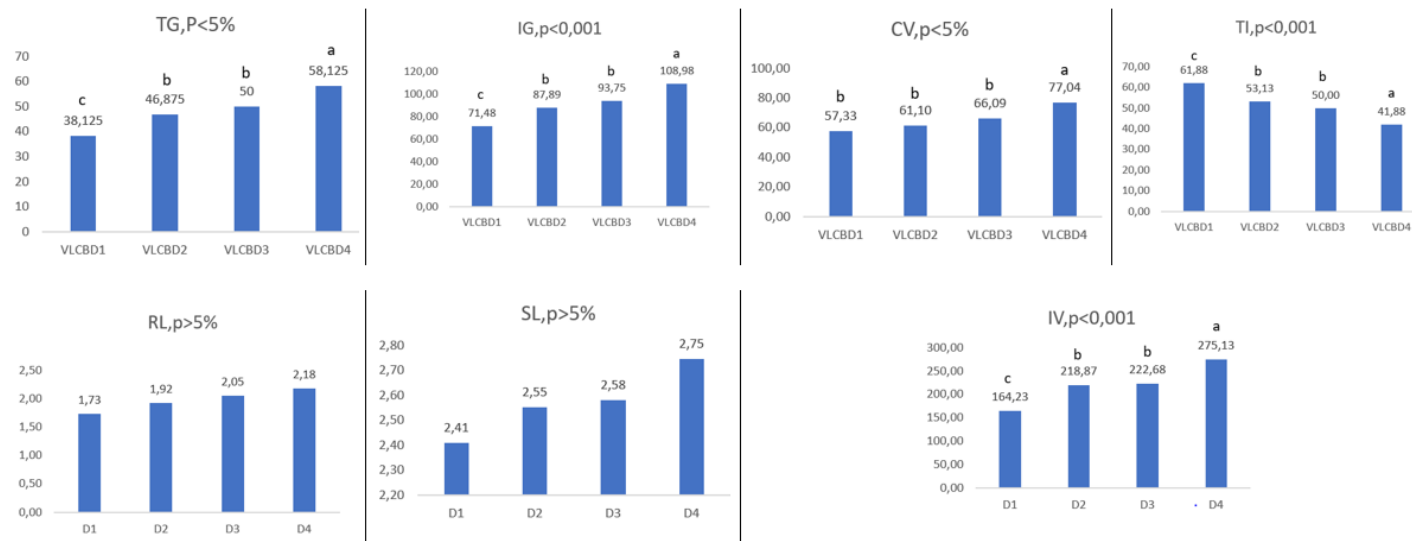


Figure 7: Evaluation de différentes concentrations du VLCB sur les paramètres de germination

TG: taux de germination, IG: indice de germination, CV: vitesse de germination, TI: taux d'inhibition, RL: longueur des racines, SL: longueur des tiges, IV: indice de vigueur

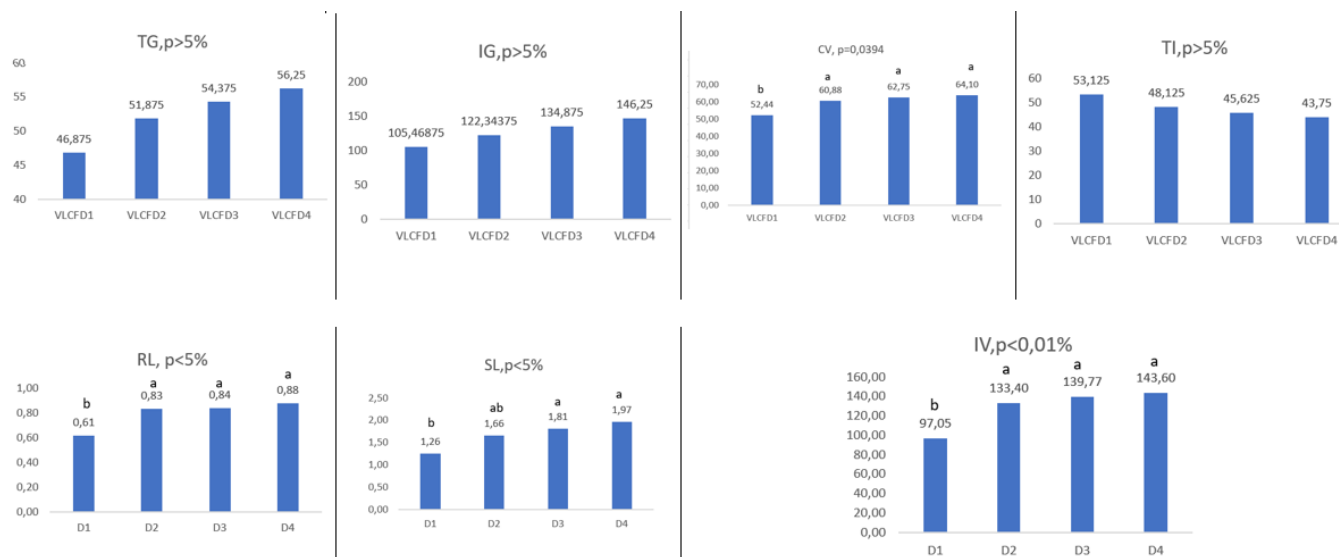


Figure 8: Evaluation de différentes concentrations du VLCF sur les paramètres de germination

TG: taux de germination, IG: indice de germination, CV: vitesse de germination, TI: taux d'inhibition, RL: longueur des racines, SL: longueur des tiges, IV: indice de vigueur

2. Étude comparée et tendance de l'effet des biostimulants sur les paramètres de germination

Une analyse type G.L.M a été utilisée pour chaque facteur étudié. Les résultats sont consignés dans le tableau 1. À partir des résultats obtenus, nous remarquons que les biostimulants bruts et formulés enregistrent un effet très significatif sur les paramètres de germination de l'Atriplex. Le test de comparaison multiple Post-Hoc de Tukey, désigne l'absence de différence significative entre les extraits aqueux EAM et l'extrait méthanolique EMM en termes d'effets sur les paramètres de germination (groupe homogène a). Le même test, nous informe que la formulation F1 appliquée aux extraits aqueux et méthanolique (24% extraits + 60% extrait de

Bétaïne + 16% mouillant), a exprimé les valeurs les plus importantes concernant TG, IG, CV et IV par comparaison aux autres formulations, elle est affiliée au groupe homogène b. En revanche, la formulation F2 appliquée aux extraits aqueux et méthanolique (30% extraits + 30% extrait de Bétaïne + 40% éléments minéraux), a montré qu'avec le maintien de la réduction du principe actif, les paramètres de germination s'expriment avec des valeurs assez importantes. Le test Post-Hoc de Tukey, indique que la formulation F2 s'adapte mieux à l'extrait méthanolique qu'à l'extrait aqueux. La formulation F3 (60% VLC brut + 30% mouillant + 10% pénétrant & tension actif) s'aligne avec un degré moindre avec la formulation F2 à base des extraits. Tableau 1).

Tableau 1 : Moyennes arithmétique (+ coefficient de variation en %) des paramètres de germination

	TG	IG	CV	TI	IV
EAM	90,03 a (0,082)	245,25 a (0,072)	136,69 a (0,083)	10,01 d (0,004)	407,95 a (0,029)
EMM	81,25 a (0,063)	251,87 a (0,006)	112,19 a (0,094)	18,75 d (0,072)	357,98 a (0,035)
VLCB	58,12 c (0,046)	108,98 d (0,009)	77,03 c (0,082)	41,87 a (0,011)	275,12 b (0,022)
VLCF3	56,25 c (0,061)	146,25 c (0,035)	64,10 d (0,071)	43,75 a (0,055)	143,59 d (0,094)
EAMF1	72,5 b (0,002)	193,93 b (0,003)	96,59 b (0,001)	27,5 c (0,021)	270,57 b (0,025)
EAMF2	59,37 c (0,011)	129,14 c (0,010)	85,37 b (0,009)	40,62 b (0,007)	218,43 c (0,016)
EMMF1	68,75 b (0,005)	199,56 b (0,018)	92,46 b (0,010)	38,75 b (0,026)	286,55 b (0,004)
EMMF2	71,25 b (0,023)	144,28 c (0,041)	121,01 a (0,007)	28,75 c (0,114)	268,95 b (0,050)
F	15,15	10,31	229,1	11,76	19,45
p	0,035*	0,017*	1,44×10 ⁻¹² ***	0,023*	0,004**

TG : Taux de germination, IG : Index de germination, CV : Vitesse de croissance, TI : Taux d'inhibition, IV : Indice de vigueur,

EAM : Extrait aqueux Moringa, EMM : Extrait méthanolique Moringa, VLCB : Vermicompost brut,

VLCF3 : Vermicompost formulation 3 EAMF1 : Extrait aqueux Moringa formulation 1, EAMF2 : Extrait aqueux Moringa formulation 2,

EMMF1 : Extrait méthanolique Moringa formulation 1, EMMF2 : Extrait méthanolique Moringa formulation 2,

* : Significative à 5%, ** : Significative à 1%, *** : Significative à 0,01%, a, b, c, d : Test Post-Hoc de Tukey

L'analyse des Clusters réalisée sur tous les paramètres de germinations sous l'effet de l'ensemble des traitements brut et formulés montre que les paramètres de germination de l'Atriplex varient en fonction des biostimulants dans leurs forme brut ou formulé (Fig. 5). Les axes Dim 1 et Dim 2 expliquent 45% de la variabilité totale entre les paramètres mesurés. Sur la base d'une similarité de -150, les résultats de la figure 9, mettent en évidence la présence de différence entre le Cluster 1 et le Cluster 2. A ce stade, nous choisissons d'analyser plus précisément ce qui se passe au sein de chaque Cluster.

L'examen du Clusters 1, nous a permis de constater que les extraits aqueux et

méthanolique de Moringa formulé F1, qui sont caractérisés par une faible concentration en principe actif s'alignent en termes d'effet avec les extraits aqueux et méthanolique de Moringa caractérisés par une forte concentration du principe actif. Les biostimulants appartenant au Cluster 1 désignent les valeurs de germination les plus importantes. Parallèlement, le Cluster 2, renfermant principalement les extraits aqueux et méthanolique de Moringa formulé F2 et le biostimulant à base de vermicompost sous ses concentrations les plus diverses, faible et forte ont été susceptibles d'exprimer les valeurs de germination intermédiaires (Fig. 5).

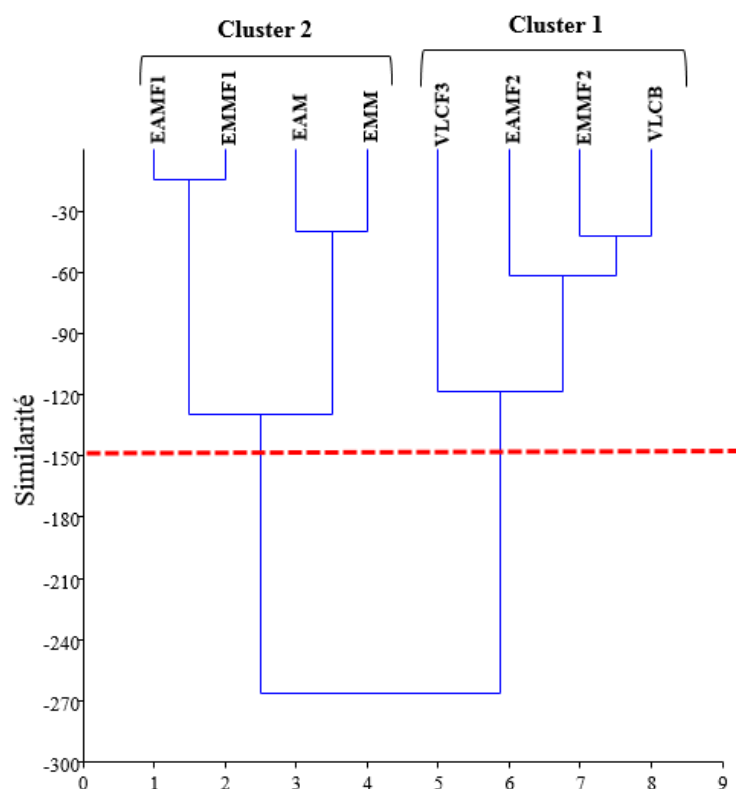


Figure 9 : Dendrogramme des paramètres de germination de l'Atriplex sous l'effet de différentes formulations des extraits aqueux et méthanolique de Moringa

EAM : Extrait aqueux Moringa, EMM : Extrait méthanolique Moringa, VLCB : Vermicompost brut, VLCF3 : Vermicompost formulation 3 EAMF1 : Extrait aqueux Moringa formulation 1, EAMF2 : Extrait aqueux Moringa formulation 2, EMMF1 : Extrait méthanolique Moringa formulation 1, EMMF2 : Extrait méthanolique Moringa formulation 2

DISCUSSION

Les variations de température, les schémas de précipitations modifiés et les événements météorologiques extrêmes associés au changement climatique peuvent avoir des conséquences néfastes sur la germination des graines. A cet effet, des températures plus élevées peuvent perturber la dormance des graines, réduire leur taux de germination ou même les rendre incapables de germer.

Les biofertilisants sont des substances naturelles utilisées pour améliorer la fertilité des sols et favoriser la croissance des plantes. Leur utilisation peut avoir une influence positive sur la germination des graines. Les biofertilisants contiennent des éléments nutritifs tels que l'azote, le phosphore et le potassium, ainsi que des composés organiques bénéfiques. Il convient de noter que les effets spécifiques des biofertilisants sur la germination des graines peuvent varier en fonction de facteurs tels que le type de biofertilisant utilisé. L'impact positif des biofertilisants sur la germination des graines peut être remarqué à travers la biofourniture des nutriments essentiels, en améliorant la structure

du sol et en favorisant un environnement propice à la croissance des plantes [30].

L'extrait de feuilles de Moringa contient des substances actives qui peuvent stimuler la germination des graines et la croissance des plantes, comme des hormones végétales, des antioxydants, des enzymes et des minéraux [33]. Plusieurs études ont montré que l'extrait de feuilles de Moringa a un effet positif sur la germination des graines de différentes espèces végétales, comme la tomate [33], le maïs [34], le blé [35], le sorgho et le riz. L'extrait de feuilles de Moringa augmente le taux de germination, la longueur des racines et des tiges, le poids sec et la teneur en chlorophylle des plantules. Il améliore aussi la résistance au stress hydrique et salin. L'extrait de feuilles de Moringa pourrait donc être utilisé comme un activateur naturel et écologique de la croissance des cultures, en complément ou en substitution aux engrais chimiques.

La formulation d'un biofertilisant brut peut avoir un impact significatif sur son efficacité et son utilisation pratique. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'impact de la formulation sur les biofertilisants brut et de tester la concentration adéquate pour chacun.

Pour l'extrait aqueux des feuilles de *Moringa oleifera* EAM, et l'extrait méthanolique EMM Les histogrammes représentent une répartition des valeurs vers la dose 1 D1 pour l'ensemble des paramètres : taux de germination TG, indice de germination IG, vitesse de germination CV, taux d'inhibition TI, longueur de la partie racinaire RL, longueur de la partie aérienne SL, et l'indice de vigueur, ceci nous permet de conclure que une application plus concentrée est nécessaire pour obtenir des résultats rapides et significatifs, cependant une basse concentration contient une quantité réduite d'éléments nutritifs ou de composés actifs et donc ne subviendra pas à stimuler la germination des graines

Pour les produits formulés EAMF1,EMMF1, EAMF2,EMMF2 Les histogrammes représentent une répartition des valeurs vers la dose 4 D4 pour l'ensemble des paramètres: taux de germination TG, indice de germination IG, vitesse de germination CV, taux d'inhibition TI, longueur de la partie racinaire RL, longueur de la partie aérienne SL, et l'indice de vigueur, ceci nous permet de déduire que une application d'une basse concentration d'un produit formulé est suffisante pour subvenir aux besoins de la graine pour germer. De ce fait on peut conclure que la formulation augmente l'efficacité des extraits bruts et nous permet une utilisation modérée de ces produits et donc de minimiser les couts tout en améliorant la qualité du produit, l'utilisation des produits formulés est donc privilégiée

La courbe de tendance montre qu'il y a deux groupes homogènes, le groupe qui contient les valeurs les plus significatives est celui qui comprend les traitements suivants avec une tendance descendante présentés comme suit: VLGB, EAMF2, EMMF2 et le VLGF, , le reste des traitements donnent des valeurs inférieurs comparant à ceux du premier groupe, avec une similarité enregistrée pour l'EAM et l'EMM, les traitements de la première formulation EAMF1 et EMMF1 donnent les valeurs les plus inférieurs. On peut en déduire que les produits brut des extraits de feuilles de *Moringa* n'ont pas de différence significative ce qui nous dirige vers l'utilisation de l'extrait aqueux à la place de l'extrait méthanolique

La première formulation n'a aucune efficacité sur les produits brut mais au contraire elle a diminué l'efficacité des produits, la deuxième formulation a un impact significatif sur l'efficacité et l'utilisation pratique et/ou économique des produits bruts tout en

améliorant sa qualité, ce qui nous a permis de déduire que la deuxième formulation est beaucoup plus efficace que la première ce qui nous dirige vers l'utilisation de cette dernière

CONCLUSION

En conclusion, il est essentiel de reconnaître l'importance de la formulation sur les biostimulants et l'influence de la concentration sur l'utilisation de ces derniers. Les discussions précédentes ont souligné que l'utilisation de la deuxième formulation avait un impact significatif sur l'efficacité et l'utilisation pratique des produits brut sur la germination des graines d'*Atriplex halimus*. A la lumière de nos résultats, quelques conclusions générales peuvent être tirées : (i) les extraits de feuilles de *Moringa oleifera* ont un effet remarquable sur la stimulation de la germination des graines cela met en évidence l'importance d'utiliser les poudres de plantes et les extraits végétaux dans la fabrication des bioproduits, (ii) le jus de lombricompost connu avec ses avantages très nombreux et pour sa richesse en nutriments essentiels tels que l'azote, le phosphore, le potassium, les oligo-éléments et les enzymes bénéfiques pour les plantes cela souligne l'importance de son utilisation dans une culture durable, (iii) les biofertilisants formulés offrent une alternative respectueuse de l'environnement aux engrais chimiques conventionnels. Cela souligne que leur utilisation permet d'améliorer la fertilité du sol, d'augmenter la croissance des plantes, renforcer leur résistance et de favoriser une agriculture durable.

En fin il convient de noter que l'utilisation des formulations pour le développement d'un biofertilisant donné est un sujet complexe et en constante évolution. Il est donc essentiel de poursuivre les recherches et les actions dans ce domaine afin de booster l'effet des biofertilisants formulés et d'augmenter leurs efficacités. Nos résultats ont mis en évidence l'importance des formulations et ont fournis des aperçus importants sur leurs rôles associés aux principes actifs d'origine naturelle. Ces conclusions générales fournissent une base solide pour une réflexion continue et des actions futures visant à développer les bioproduits, en faveur d'une agriculture durable.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC), (2013). Changements climatiques 2013, les éléments scientifiques - Résumé à l'intention des décideurs. Contribution du groupe de travail I au cinquième rapport d'évaluation du groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat, 27p
- [2]. Fenner M. & Thompson K. (2005). *The ecology of seeds*. Cambridge: Cambridge University Press 142 p.
- [3]. Bradford K. J. (2002). Applications of Hydrothermal Time to Quantifying and Modeling Seed Germination and Dormancy. *Weed Sci.*; 50:248–260.
- [4]. Steinmaus S.J., Prather T.S. & Holt J.S. (2000). Estimation of Base Temperatures for Nine Weed Species. *J. Exp. Bot.*; 51:275–286. doi:10.1093/jexbot/51.343.275.]
- [5]. Ahmed L.Q., Durand J.-L. & Gutiérrez A. E. (2015). Températures extrêmes et variabilité de la germination. Conference: Adaptation des prairies semées au changement Climatique, Poitiers-France. DOI:10.13140/RG.2.1.4591.3681
- [6]. Ahmad. F., Ahmad I. & Khan M.S. (2006). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbial. Res.*, 36:1-9.
- [7]. Zhao, T.J.; Liu, Y.; Yan, Y.B.; Feng, F.; Liu, W.Q. & Zhou, H.M. (2007). Identification of the Amino Acids Crucial for the Activities of Drought Responsive Element Binding Factors (DREBs) of *Brassica napus*. *FEBS Lett.*; 581:3044–3050.
- [8]. Okcu G.; Kaya M.D. & Atak M. (2005). Effects of Salt and Drought Stresses on Germination and Seedling Growth Pea (*Pisum sativum* L.). *Turk. J. Agric. For.*; 29:237–242.
- [9]. Marjanović-Jeromela, A.; Nagl, N.; Gvozdanović-Varga, J.; Hristov, N.; Kondić-Špika, A.; Vasić, M. & Marinković, R. (2011). Genotype by Environment Interaction for Seed Yield per Plant in Rapeseed Using AMMI Model. *Pesq. Agropec. Bras. Brasília*; 46:174–181.
- [10]. De Figueiredo E., Albuquerque, M.C. & De Carvalho, N.M. (2003). Effect of the Type of Environmental Stress on the Emergence of Sunflower (*Heliantus Annus* L.), Soybean (*Glycine Max* (L.) Merrill) and Maize (*Zea Mays* L.) Seeds with Different Levels of Vigor. *Seed Sci. Technol.*, 31:465–479.
- [11]. Ali, A.S. & Elozeiri, A.A. (2017). Metabolic Processes During Seed Germination. In *Advances in Seed Biology*; InTech: London, UK,
- [12]. Nonogaki, H.; Bassel, G.W. & Bewley, J.D. (2010). Germination-Still a Mystery. *Plant Sci.*, 179, 574–581.
- [13]. Szczerba, A.; Plazek, A.; Pastuszak, J.; Kopeć, P.; Horny ák, M. & Dubert, F. (2021). Effect of Low Temperature on Germination, Growth, and Seed Yield of Four Soybean (*Glycine Max* L.) Cultivars. *Agronomy*, 11: 800.
- [14]. Miransari, M. & Smith, D.L. (2014). Plant Hormones and Seed Germination. *Environ. Exp. Bot.*, 99:110–121.
- [15]. Bhardwaj, D.; Wahid Ansari, M.; Kumar Sahoo, R. & Tuteja, N. (2014). Biofertilizers Function as Key Player in Sustainable Agriculture by Improving Soil Fertility, Plant Tolerance and Crop Productivity. *Microbial Cell Factories*, 13:66.
- [16]. Savaedi, Z.; Parmoon, G.; Moosavi, S.A. & Bakhshande, A. (2019). The Role of Light and Gibberellic Acid on Cardinal Temperatures and Thermal Time Required for Germination of Charnushka (*Nigella sativa*) Seed. *Ind. Crops Prod.*, 132: 140–149.
- [17]. Pill W.G. & Finch-Savage W.E. (1998). Effects of combining priming and plant growth regulator treatments on the synchronization of carrot seed germination. *Annl. Appl. Biol.*, 113: 383–389
- [18]. Halmer P. (2004). Methods to improve seed performance in the field. In: Benech-Arnold, R.L., R.A. Sanchez (eds.), *Handbook of Seed Physiology*, pp: 125–166. New York, Food Products Press, The Harworth Press, Inc
- [19]. Murray G.A. (1990). Priming sweet corn seed to improve emergence under cool conditions. *Hort. Sci.*, 25: 231–232
- [20]. Fuglie L.J. (1999). *The Miracle Tree: Moringa oleifera: Natural Nutrition for the Tropics*, Church World Service, Dakar, 68 p.
- [21]. Foidl, N., Makkar H.P.S. & Becker K. (2001). The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: Fuglie, L.J. (eds.), *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*, pp: 45–76. Wageningen, The Netherlands
- [22]. Noctor G. & Foyer C.H. (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49: 249–279
- [23]. Roy S., (2011). A multiple network learning approach to capture system-wide condition-specific responses. *Bioinformatics Research Support, N.I.H.*, 27(13):1832-8.
- [24]. Ouldyeou k., Righi S., Meddah B. et Tir touil A., Bouhadi D. & Hariri A. (2018). Etude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes antidiabétique au niveau de la wilaya de Mascara. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 5(1): 670-679.
- [25]. Ndegwa, P.M. & Thompson, S.A. (2001) Integrating composting and vermicomposting the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresource Technology*, 76 : 107-112. [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00104-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00104-8)
- [26]. Benhebil M (2015). Approche à la Caractérisation de la Lombriculture.MSc Thesis, University of Blida, Algeria
- [27]. 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*. *Revue Agrobiologia*, 7(1): 247-262.
- [28]. Salima Benazzouk & Petre I. Dobrev, Zahr-Eddine Djazouli , Vaclav Motyka & Stanley Lutts (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>
- [29]. Djazouli, Z., W. Chaichi, I. Djemai, S. Abdelkader, I. Ribera, & J. Nancée. (2017). 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.

- [30]. Cherif, R., Kemassi, A., Boual, Z., Bouziane, N., Benbrahim, F., Hadjseyd, A., Gharib, T., Ould el Hadj-Khelil, A., Sakeur, M. L., & Ould el Hadj, M. D. (2016). Activités biologiques des extraits aqueux de *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae). *Lebanese Science Journal* 17:25-35.
- [31]. Abdul Baki A.A., & Anderson J.D. (1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Sci.*, 13: 630–633.
- [32]. Hammer, Øyvind, Harper, David A.T., and Paul D. Ryan, (2001). Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and. Data Analysis. 9 pages
- [33]. Basra, S. (2016). L'utilisation de l'extrait de feuilles de *Moringa* comme un activateur de la croissance des cultures efficace et facile. Notes de développement de ECHO no 131
- [34]. J S Adouko, Koutonin Bienvenu, Arnaud Soha, Okri Frejus Hans Ohouko, Tossou Jacques Dougnon,. (2019). Evaluation de l'effet de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sur la qualité des oeufs de poule ISA Brown
- [35]. Moringa | FAO | Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
- [36]. <https://www.fibl.org/fileadmin/documents/shop/1240-Biofertilisants.pdf>