

Effet de substances humiques extraites à partir du bois de peuplier sur la croissance et le développement d'une culture de *Lantana camara*

Labrousse P.², Morad M.³, Lhernould S.¹, Fage J-C.¹, Krausz P.¹, Costa G.^{1*}

¹Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Faculté des Sciences et Techniques de Limoges 123, avenue Albert Thomas, F-87060, Limoges Cedex, France Tél: 33 (0) 555 45 72 16, mail guy.costa@unilim.fr;
<http://www.unilim.fr/glycophy>

²Khloris SARL, 24 avenue du président Wilson, 87700, Aix sur Vienne

³BoisValor SAS, 4 rue Jean le Rond d'Alembert 81000 Albis

*Pour toute correspondance.

RESUME - Les substances humiques sont connues pour être des produits naturels pouvant être utilisés comme bio-fertilisant. Dans ce travail nous avons testé des molécules issus d'un traitement thermo-mécanique de déchets de sciure du bois de peuplier (SHB: substance humique du bois, BoisValor). Les SHB ont servi d'amendement organique à une culture de *Lantana camara*. Dans ce travail nous démontrons que les SHB à l'instar des SH (substances humiques fossiles) sont des biofertilisants pour les cultures horticoles. Leur utilisation améliore la croissance et le développement de l'appareil végétatif et réduit le temps de culture avant floraison.

MOTS CLÉS : Substances humiques, *Lantana camara*, bouture ligneuse.

ABSTRACT - Humic substances are known to be natural product that could be used as an alternative to chemical fertilisers. The aim of this work was to compare the effects of a commercial product containing humic substances from Léonardite rock, Humyk-Fer (Duclos International) and product obtained from a poplar wood transformation, on woody cutting-plant development (*Lantana camara*). The biological effects of Humyk-Fer were then investigated on plant development. Different levels (0, 1, 2 and 4% (v/v)) were tested in greenhouse for *L. camara*. First results show that Humyk-Fer drastically increase the growth (170 x), but also reduce the delay of floral transition of *L. camara*. In addition a strong reduction of ferric chlorosis occurred on treated plants. In comparison, we demonstrated that SHB exhibited similar results, suggesting that SHB could be an alternative to fossil humic compounds for a sustainable management of plant fertilizers

KEY WORDS: Humic Substances, *Lantana camara*, cutting plants.

INTRODUCTION

La valorisation de la biomasse végétale passe soit par la recherche de nouvelles molécules, soit par la mise au point de nouveaux procédés capables de modifier les molécules

présentes. Les substances humiques sont des composés connus depuis de nombreuses années. Ces composés sont issus de la décomposition de la litière ou extraites à partir de résidus fossiles de la biomasse végétale (Léonardite). Les co-produits de l'exploitation forestière offrent une biomasse actuellement peu valorisée. La société BoisValor a mis au point un procédé thermo-mécanique capable de transformer les co-produits de sciage du bois peuplier en substance humique (SHB). Le traitement produit une fraction liquide appelée SHB et un résidu solide. Les SHB produites par la société BoisValor contiennent $\frac{2}{3}$ d'acide fulvique et $\frac{1}{3}$ d'acide humique.

Les substances humiques sont connues depuis de nombreuses années pour induire la croissance et la différenciation des plantes. Les effets physiologiques des substances humiques (SH) sur certains aspects du métabolisme des plantes ont fait récemment l'objet d'une synthèse bibliographique (Nardi *et al.*, 2002). Les données présentées montrent que les effets des SH sont directement liés à la source, à la concentration et à la masse moléculaire des fractions humiques (Francioso *et al.*, 1996; Nardi *et al.*, 2000). Les SH de faible masse moléculaire (Low Molecular Substance < 3500 Da) traversent facilement le plasmalemme des cellules (Muscolo *et al.*, 1999) alors que les SH de forte masse moléculaire (High Molecular Substance > 3500 Da) ne sont pas absorbées, mais interagissent avec la paroi cellulaire (Malcom & Vaughan, 1979). Les LMS sont considérés comme des inducteurs de la croissance. La transformation progressive des HMS en LMS permet alors d'expliquer l'effet à long terme, à la fois sur la nutrition hydrique et minérale, observé lors de l'utilisation de ces molécules (Albuzio *et al.*, 1986). Les SH semblent également jouer un rôle hormonal (Cacco & Dell'Agnola, 1984; Dell'Agnola & Nardi, 1987; Nardi *et al.*, 1988).

L'objectif de ce travail est de tester l'effet des SHB produites par la société BiosValor avec une solution de substances humiques (société Duclos International) issue de l'exploitation d'un gisement de Léonardite fossile. Les essais ont été conduits sur une culture horticole de *Lantana camara* (Lantanier à feuilles de Mélisse) avec comme objectif principal de diminuer les amendements en engrais chimiques.

MATERIEL & METHODES

Matériel biologique

Les substances humiques utilisées dans ces expériences ont été produites par la société BoisValor, pour ce qui est des molécules issues de la valorisation des co-produits de la filière bois (substances humiques du bois: SHB), et par la société Duclos International pour ce qui est des substances humiques issues de l'exploitation minière de Léonardite (substances humique: SH). Les molécules ont été appliquées à des boutures de *Lantana camara* issues de pieds mères produits par la société Benoit SA.

Conditions de culture

Les boutures sont mises à enraciner pendant 5 semaines dans un substrat Fertil, puis transférées dans des pots de 12 cm de diamètre contenant un substrat EGO (45/30/25 tourbe brune/blonde/fibre de coco) additionné de PGMix à pH 6. La culture dure 6 semaines en serre. Les plantes ont été divisées en plusieurs lots de 50 plantes : un lot témoin (0%) ne recevant aucun apport, sauf un apport d'eau au goutte à goutte pendant toute la durée de l'expérience ; un lot recevant 1, 2 ou 4 % de SH et un lot recevant 5‰ de SHB. Enfin, toutes les plantes bénéficient de 2 applications d'engrais chimiques, une après 2 semaines, puis une autre après 4 semaines de culture.

Méthodes d'analyse

Des mesures biométriques, ainsi que des mesures de masses (masse fraîche et sèche) ont été réalisées sur l'ensemble des plantes. La chlorophylle a été extraite sur un échantillon de 5 plantes par traitement suivant la méthode décrite par Nelson (1960). La teneur en chlorophylle est déterminée au spectrophotomètre à 664, 645, 652 and 440 nm (Kontron UV/Visible). Le Fer a été mesuré par spectrométrie d'absorption atomique à la flamme.

RESULTATS

Dans nos expériences, nous n'avons pas observé des différences significatives du nombre de feuilles et des ramifications (données non présentées), mais nous avons observé un effet sur la production de biomasse par les plantes (figure 1B), sur la croissance des bourgeons axillaires (figure 1C) et sur le contenu en Fer (figure 1D) lors d'un traitement avec des substances humiques (SH, SHB). L'augmentation de la teneur en Fer permet d'expliquer la diminution de la chlorose ferrique observée. Dans nos expériences, les plantes témoins reçoivent une quantité de Fer-EDTA équivalente au traitement 1% Humik-Fer. Cependant, la chlorose est moins marquée pour le traitement 1% par rapport au témoin. Si l'un des effets d'un traitement avec des acides humiques est une diminution de la chlorose ferrique, nous n'avons pas observé d'effet sur le rapport chlorophylle a/b qui, elle, est connue pour affecter la photosynthèse (Sladky, 1959). Les SH sont également connues quant à leur effet sur l'absorption minérale (Canelas *et al.*, 2002). Dans nos travaux, nous démontrons que l'absorption de Fe est améliorée en présence de SH et ceci que ce soit pour Humik-Fer (SH) ou les substances humiques du bois (SHB) suggérant une meilleure disponibilité en Fer des substrats traités avec des substances humiques. Outre l'absorption d'éléments minéraux, le développement et la croissance des racines facilitent également l'absorption minérale. Ici encore, le développement racinaire est très important en présence de ces molécules. Des essais d'induction *in vitro* du développement de la racine en présence de ces composés ne nous ont cependant pas permis d'observer la formation de *primordia* racinaire, alors qu'un traitement hormonal d'IBA (10^{-1} g l⁻¹) induit l'organogenèse de nouvelles racines (données non présentées). Nous avons alors testé le fonctionnement physiologique des systèmes d'absorption des racines au travers d'un suivi des activités ATPase à proton (H⁺-ATPase), mais, ici encore, nous n'avons pas observé de stimulation de ces activités suite au traitement avec des SH (données non présentées).

DISCUSSION

Les substances humiques (acide humique et fulvique) représentent une classe de biomolécule "naturelle" actuellement valorisée comme des engrais organiques. Dans ce travail, nous avons souhaité comparer l'efficacité de substances humiques classiques (SH), issues de l'extraction de Léonardite, avec des molécules produites par un processus thermo-mécanique dans le cadre d'une valorisation des co-produits de la filière bois (SHB). Les SHB sont produits à partir des déchets de sciage du peuplier. Le produit ainsi obtenu est composé de 70% d'acide fulvique et 30% d'acide humique. Il est de ce fait plus riche en acide fulvique que celui issu de Léonardite (40% d'acide fulvique et 60% d'acide humique). Tous les essais que nous avons réalisés démontrent que l'addition de substances humiques améliore la croissance, le développement et dans certains cas la ramification des plantes (figure 1). Les améliorations observées permettent de réduire les amendements en engrais chimique. L'un des effets majeurs de ces molécules est une diminution de la chlorose ferrique et une accélération de la floraison (figure 1A). Cette amélioration de l'appareil photosynthétique de la plante, s'il n'a pas pu être corrélé avec une augmentation du rapport chlorophylle a/b doit contribuer à une augmentation de la photosynthèse permettant d'expliquer les gains de biomasse. Ces molécules de structure complexe et évolutive ont été décrites comme pouvant être des sources potentielles de production d'hormones végétales (auxine-like). Encore une fois, notre expérience *in vitro* ne nous permet pas de conclure à un tel rôle avec les SH utilisées. Cependant, il faut retenir que l'évolution dynamique des substances humiques *in vitro* est différente de celle rencontrée au sein d'un substrat de culture. Néanmoins, les augmentations de croissance et de biomasse produites (jusqu'à 170% par rapport au témoin) sont telles qu'elles permettent de gagner jusqu'à 3 semaines de culture sur la production de plantes commercialisables de *Lantana camara*.

Si l'on compare les SH par rapport au SHB on observe les mêmes résultats avec des amplitudes plus réduite. Ceci suggère que les molécules produites à partir des co-produits de la filière bois peuvent être des substituts au prélèvement de SH fossilisées. La valorisation des co-produits de sciage en engrais organique présente alors une alternative permettant une gestion durable des ressources biologiques. De plus nous n'avons testé pour ces molécules qu'une concentration ce qui nous laisse encore la possibilité d'étendre le champs des réponses de ces composés. Notre travail doit être complété maintenant par une application dans un contexte industriel de ces molécules.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBUZIO, A., FERRARI, G., NARDI, S., 1986 – Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings. *Can. J. Soil Science* 66 : 731-736.
- CACCO, G., DELL'AGNOLA, G., 1984. Plant growth regulator activity of soluble humic complex. *Can. J. Soil Science* 62:306–310.
- CANELAS, L.P., OLIVARES, F.L., OKOROKOVA-FACANHA, A.L. and FACANHA, A.R. 2002. Humic Acids Isolated from Earthworm Compost Enhance Root Elongation,

Lateral Root Emergence, and Plasma Membrane H⁺-ATPase Activity in Maize Roots Plant Physiol. 130:1951-1957.

DELL'AGNOLA, G., NARDI, S., 1987. Hormone-like effect of enhanced nitrate uptake induced by depolycondensed humic fractions obtained from *Allolobophora rosea* and *A. caliginosa* faeces. Biol. Fertil. Soils 4:115–118.

FRANCIOSO, O., SANCEHEZ-CORTES, S., TUGNOLI, V., CIAVATTA, C., SITTI, L., GESSA, C., 1996. Infrared, Raman and nuclear magnetic resonance (¹H, ¹³C and ³¹P) spectroscopy in the study of fractions of peat humic acids. Applied Spectroscopy 50:1165–1174.

MALCOM, R.E., VAUGHAN, D., 1979. Humic substances and phosphatase activities in plant tissues. Soil Biology & Biochemistry 11: 253–259.

MUSCOLO, A., BOVALO, F., GIONFRIDDO, F., NARDI, S., 1999 – Earthworm humic matter produces auxin-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. Soil Biol. Biochem. 31 : 1303-1311.

NARDI, S., ARNOLDI, G., DELL'AGNOLA, G., 1988. Release of the hormone-like activities from *Allolobophora rosea* and *A. caliginosa* faeces. Can. J. Soil Science 68:563–567.

NARDI, S., PIZZEGHELLO, D., GESSA, C. FERRARESE, L., TRAINOTTI, L., CASADORO, G. 2000. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. Soil Biol. Biochem. 32:415-419.

NARDI, S., PIZZEGHELLO, D., MUSCOLO, A., VIANELLO, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biol. Biochem. 34:1527-1536.

NELSON, D. H., 1960 – Improved Chlorophyll Extraction Method. Science, 132 : 351.

SLADKY, Z., 1959. The effect of extracted humus substances on growth of tomato plants. Biologia Plantarum 1:142-150.

Figure 1: (A) Photographie de *Lantana camara* en fin de culture traité ou non avec des substances humiques issues de Léonardite (SH) et de bois de peuplier (SHB). Effet du traitement sur la biomasse (B), sur la croissance des bourgeons axillaires (C), sur la teneur en Fe (D), et le rapport Chlorophylle a/b (E).



