



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE
ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHESCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB, BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE ET AGRO-ECOLOGIE



Laboratoire de Biotechnologie des
Productions Végétales

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master
En Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : SCIENCES AGRONOMIQUE
Option : Phytopharmacie et protection des végétaux

THÈME

Contribution à l'étude de l'effet d'un support synthétique sur la germination

Présenté par : **MR. BENAHMED Youcef**

Devant le jury :

<i>MR.DJAZOULI Z.</i>	Pr	Université de Blida 1	Président.
<i>MR.MOUSSAOUI K.</i>	MCA	Université de Blida 1	Examineur
<i>Mme BABA AISSA K .</i>	MCA	Université de Blida 1	Promotrice

2020 – 2021

Remerciements

*Tout d'abord, je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la santé la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

*Je remercie ma promotrice **Mme BABA AISSA. Karima** pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant ma préparation de ce mémoire de master.*

*Mes remerciements vont au **Pr DJAZOULI Zahreddine** d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance.*

*Je suis également reconnaissant à monsieur **MOUSSAOUI Kamel**. d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont à toute personne qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents

Mohamed et Mouna Tchantchane

Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux. Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.

*A mon cher frère Aymen et mes chères sœurs Sirine et Maram
Qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant toutes les années de
mes études*

A ma chère femme Selsabil

Merci énormément pour ton soutien plus que précieux, toutes tes qualités qui seraient trop longues à énumérer. Ma vie ne serait pas aussi magique sans ta présence et ton amour.

A toute ma famille, proche ou éloignée.

Et à tous ceux pour lesquels ma réussite leur tient à cœur.

Résumé

L'augmentation de la demande alimentaire et la diminution des ressources en eau sont devenus le défi majeur pour la sécurité alimentaire, ce qui a conduit à la recherche de nouvelles technologies innovantes. C'est dans cette optique que notre étude s'inscrit et ce, par le développement d'un support synthétique « hydrogel » à base de polyacrylate de potassium. Ce dernier a été synthétisé et testé sur la germination des graines de lentilles comparativement à un « hydrogel enrichi » contenant de l'engrais minéral. Il a été montré que des performances significatives du Gel hydrophile par rapport au témoin dès les premiers jours de la germination des graines de lentilles et que le gel amélioré a atteint un taux de 91% au 2^{ème} jour alors qu'il est de 77,77% pour le gel enrichi. Ceci est confirmé par l'analyse statistique qui affiche une différence significative démontrée par la valeur de $P = 0,000$ avec $P < 5\%$. Ce qui encourage l'utilisation de ce polymère couplé à un engrais naturel dans tous les types de plantations demandeuses d'eau afin d'assurer leur approvisionnement.

Mots Clés : Germination, grains de lentilles, hydrogel, hydro rétenteur , polymère

Abstract

Contribution to the study of the effect of a synthetic support on germination

The increase in food demand and the decrease in water resources have become the major challenge for food security, which has led to the search for new innovative technologies. It is in this perspective that our study is part of the development of a synthetic "hydrogel" support based on potassium polyacrylate. The latter was synthesized and tested on the germination of lentil seeds compared to an "enriched hydrogel" containing mineral fertilizer. It was shown that significant performance of the hydrophilic gel compared to the control from the first days of germination of the lentil seeds and that the improved gel reached a rate of 91% on the 2nd day whereas it is 77 , 77% for the enriched gel. This is confirmed by statistical analysis which shows a significant difference demonstrated by the value of $P = 0.000$ with $P < 5\%$. This encourages the use of this polymer coupled with a natural fertilizer in all types of plantations requiring water to ensure their supply.

Keywords: Germination, lentil grains, hydrogel, hydro-retentive, polymer

المخلص

المساهمة في دراسة تأثير الدعامه التركيبية على الإنبات

أصبحت الزيادة في الطلب على الغذاء وانخفاض الموارد المائية التحدي الرئيسي للأمن الغذائي ، مما أدى إلى البحث عن تقنيات مبتكرة جديدة. ومن هذا المنظور ، تعد دراستنا جزءاً من تطوير دعم "هيدروجيل" اصطناعي يعتمد على بولي أكريلات البوتاسيوم. تم تصنيع هذا الأخير واختباره على إنبات بذور العدس مقارنة مع "هيدروجيل محسن" يحتوي على سماد معدني. تبين أن أداء الهلام المحبة للماء معنوياً مقارنة بالسيطرة من الأيام الأولى لإنبات بذور العدس % في اليوم الثاني بينما كانت %77.77 للجيل المتعادل. . تم تأكيد ذلك من خلال 91 وأن الجل المحسن وصل إلى نسبة وهذا يشجع على استخدام هذا البوليمر . $P < 5\%$ مع $P = 0.000$ التحليل الإحصائي الذي يظهر فرقاً كبيراً أظهرته قيمة إلى جانب الأسمدة الطبيعية في جميع أنواع المزارع التي تتطلب المياه لضمان إمدادها

الكلمات المفتاح: إنبات ، حبوب عدس ، ، هيدروجيل ، بوليمر التوكيل المائي

SOMMAIRE

Introduction Générale	1
Chapitre I. Synthèse Bibliographique.....	3
I.1 Les légumineuses.....	3
I.1.1 Taxonomie et origine des légumineuses alimentaires	3
I.1.2 Production des légumineuses dans le monde.....	4
I.1.3 Place des légumineuses en Algérie	4
I.1.4 Les lentilles.....	5
I.1.4.1 Systématique des lentilles	6
I.1.4.2 Production des lentilles dans le monde.....	6
I.2 La germination	7
I.2.1 Types de germination	7
I.2.2 Morphologie de la germination.....	8
I.2.3 Physiologie de la germination	8
I.2.4 Conditions de la germination.....	8
I.2.4.1 Conditions internes de la germination	8
I.2.4.2 Conditions externes de la germination	8
I.2.5 Les étapes de la germination	9
I.2.5.1 Phase d'imbibition.....	9
I.2.5.2 Phase de germination au sens strict.....	9
I.2.6 Phase de croissance post-germinative.....	10
I.2.7 Différents obstacles de la germination.....	11
I.2.7.1 Inhibitions tégumentaires.....	11
I.2.7.2 Dormance embryonnaire	11
I.3 Généralités sur les gels	11
I.3.1 Définition.....	11
I.3.2 Classification générale	12
I.3.3 Hydrogels de polymères	13
I.3.4 Caractéristiques générales des hydrogels	14
I.3.5 Le polyacrylate de potassium.....	15
I.3.5.1 Mécanisme de polyacrylate de potassium.....	16
I.3.6 Les composants du polyacrylate de potassium.....	16
I.3.6.1 CARBOMER	16
I.3.6.2 Hydroxyde de potassium	17
Chapitre II : Matériel et Méthodes	20
II.1.3 Matériel végétal	20
II.1.3.1 Les lentilles	20
II.1.4. Matériel chimique.....	21

II.1.4.1 Grogreen Gel (Engrais minéral)	21
II.1.5 Le matériel utilisé au laboratoire.....	22
II.1.6 Partie expérimentale.....	22
II.1.6.1 Formulation du gel acrylamide de potassium.....	22
II 1.6.2.Exploitation des résultats.....	23
II.1.6.3.Analyse des données	24
II 1.6.3.1 Méthode d'estimation du taux de germination	24
II.1.6.3.2. Méthode d'estimation de la vitesse de germination.....	25
II.1.6.3.3 Méthodes d'estimation de la longueur des plantes *	25
II.1.6.4 Analyse de la variance :	25
III Résultats et Discussion	27
III.1.1 Taux de germination :.....	27
III.1.2. Vitesse de germination :	27
III.1.3. Développement de la longueur de la plante :.....	28
III.1.3.1. Longueur des racines :.....	28
III.1.3.2. Longueur des tiges:.....	29
III.1.3.3. Longueur totale :.....	30
III.2.2 Analyse de la variance du taux de germination	31
III.2.3 Analyse de la variance de la longueur :	34
III.2.3.1 Longueur des racines :	34
III.2.3.2. Longueur des tiges :.....	36
III.2.3.3. Longueur totale :.....	37
III.3. Discussion générale.....	39
Conclusion.....	43

Listes des figures

	Titre	Page
Figure1	La production mondiale de quelques légumineuses .	4
Figure2	Les parties de la plante de Lentille (graine, fleur et fruit) .	6
Figure3	La production mondiale de la lentille).	7
Figure4	Courbe théorique d'imbibition d'une semence .	10
Figure5	Synthèse d'hydrogels par polymérisation et réticulation simultanées à partir de monomères (a) et par réticulation de chaînes polymères fonctionnalisées (b).	14
Figure6	Structure générale de l'hydrogel .	15
Figure7	Milieus de culture formules	22
Figure8	germinations des graines in vitro	23
Figure9	Taux de germination des graines de lentilles dans les différents milieux de cultures et leTémoin	25
Figure10	Evolution temporelle de la Vitesse de germination des graines de lentilles dans les différents milieux de cultures .	26
Figure11	Evolution temporelle de la longueur racinaire au cours de la germination dans les différents milieux de culture	27
Figure12	Evolution temporelle de la longueur de la tige au cours de la germination dans les différents milieux de culture	28
Figure13	Evolution temporelle de la longueur totale au cours de la germination dans les différents milieux de culture.	29
Figure14	Représentation de la variance du taux de germination en fonction de la variable temps	30
Figure 15	Représentation de la variance du taux de germination dans hydrogel enrichi en fonction du temps	31
Figure 16	Représentation de la variance du taux de germination dans le témoin en fonction de:temps	32
Figure 17	Evolution des écarts de la longueur des racines en fonction du temps	33
Figure 18	Ecarts de la longueur des racines dans les deux milieux de cultures et le Témoin	33
Figure 19	Evolution temporelle des moyennes de la longueur des tiges au cours de la germination	34
Figure 20.	Ecart de la longueur des tiges dans les 2 milieux de cultures et le Témoin	35
Figure 21	Evolution de la longueur des tiges en fonction du temps.	36
Figure 22	Evolution de la longueur des tiges en fonction de milieu de culture.	36

Liste des tableaux

	Titre	Page
Tableau 1	Légumineuses alimentaires cultivées en Algérie : leur importance en superficie, production et rendement (moyenne 2013-2017)	5
Tableau 2	Classification des gels	13
Tableau 3	caractéristiques acide acrylique	17
Tableau 4	caractéristiques de l'hydroxyde de potassium	18
Tableau 5	Liste de génotype et origine de l'espèce <i>Lens culinaris</i> Medik	20
Tableau 6	Caractéristiques de Grogreen Gel	22
Tableau 7	Valeurs statistiques du taux de germination dans le milieu Gel neutre	29
Tableau 8	Valeurs statistiques du taux de germination dans le milieu enrichi	30
Tableau 9	Valeurs statistiques du taux de germination dans le témoin	31
Tableau 10	Valeurs statistiques de la longueur de la tige dans le gel enrichi	35

Introduction Générale

Face aux besoins alimentaires croissants dans le monde, l'agriculture vise à accroître de plus en plus ses rendements en améliorant la performance des sols et des végétaux par divers moyens principalement les engrais et les produits phytosanitaires. Le déficit hydrique figure parmi les facteurs abiotiques les plus importants, limitant la croissance et la productivité des plantes (**Šebanek et al., 1983**).

Les légumineuses alimentaires sont cultivées depuis fort longtemps dans le monde et occupent une place importante dans l'alimentation humaine. Selon **Obaton (1980)**, un hectare de légumineuses alimentaires produit une tonne de protéines, soit dix fois plus qu'une production d'un élevage à viande sur la même surface.

En Algérie, la lentille (*Lens culinaris*) est classée la troisième importante culture de légumineuse après le haricot (*Phaseolus vulgaris*) et le petit pois (*Pisum sativum*) et joue un rôle important dans l'amélioration de la fertilité des sols lors des rotations de cultures (**Ait Abdellah et al., 2011**). Aujourd'hui, les principaux objectifs des programmes d'amélioration de la lentille sont le rendement élevé et la résistance aux stress biotiques et abiotiques (**Icarda, 2001**).

La germination est un phénomène extrêmement complexe, régulé par de nombreux signaux, à la fois endogènes et environnementaux, comme par exemple les balances hormonales ou le taux d'humidité ambiant (**Penfield S et al., 2017**).

D'après **Krug et al. (2002)**, la période qui suit la semence peut être considérée comme celle où l'abondance de l'eau est nécessaire. La germination des graines et l'établissement des semis sont considérés comme les plus phases importantes dans la croissance initiale de toutes sortes de plantes; Le succès l'établissement dépend de l'eau disponible et est régulièrement restreint par le faible niveau d'humidité du sol principalement dans les régions arides et semi-arides. (**Abdel Raouf et al., 2003**)

Les polymères hydrophiles appelés communément hydrogels, sont utilisés dans la pratique agricole en tant qu'absorbants d'eau pour un meilleur soutien hydrique des plantes à déficit hydrique partiel (**Rehman et al., 2011**). Certains

auteurs recommandent des polymères hydrophiles pour la replantation dans le but de diminuer le stress hydrique (**Ruthrof et al., 2010**).

Le but de ce travail est de formuler un hydrogel chimique neutre et un autre enrichi avec un engrais minéral et de tester l'effet de chacun de ces supports sur la germination des gaines de lentilles dans les conditions de laboratoire sachant que ces dernières ont été choisies comme modèle de légumineuses en raison de leur demande importante en eau pour leur développement.

Ce mémoire est structuré en trois chapitres après une introduction générale

- Le premier est consacré à l'étude bibliographique traitant l'aspect de la germination des légumineuses et les polymères hydrophiles ;
- Le deuxième porte sur la partie expérimentale, la méthodologie appliquée et les différents paramètres de l'étude

Le troisième est relatif aux différents résultats obtenus et leur discussion

Enfin ce travail est finalisé par une conclusion et des recommandations qui ouvriront des perspectives futures.

Chapitre I. Synthèse Bibliographique

I.1 Les légumineuses

Les légumineuses font partie intégrante de l'alimentation humaine depuis des siècles. Leur production agricole remonte à 10 000 ans avant Jésus-Christ. Comprenant un large éventail d'espèces, de variétés et de cultivars, les légumineuses sont produites dans des conditions écologiques très diverses aux quatre coins de la planète, et on les retrouve ainsi dans de nombreux régimes alimentaires traditionnels **(FAO., 2016)**.

Les légumineuses sont des cultures essentielles pour de nombreuses raisons. Elles sont riches en nutriments et ont une teneur élevée en protéines. Cela en fait une source de protéines idéale, en particulier dans les régions où la viande et les produits laitiers ne sont pas accessibles pour des raisons géographiques ou économiques **(FAO., 2018)**.

I.1.1 Taxonomie et origine des légumineuses alimentaires

Le terme de légumineuse ou légumes secs désigne les graines comestibles présentes dans les gousses **(FAO., 2016)**. Les légumineuses sont des plantes dicotylédones appartenant à la famille botanique des Fabacées, qui représente la troisième famille de plantes par le nombre d'espèces à savoir 18 000 référencées, après les Astéracées et les Orchidées. La plupart des légumineuses cultivées appartiennent aux deux sous-familles : les Faboideae et les Papilionoideae, et plus précisément aux tribus des Fabeae, des Phaseoleae et des Trifolieae **(Schneider et Huyghe, 2015)**.

Les légumineuses à graines étaient parmi les premières espèces domestiquées dans le croissant fertile dont on retrouve encore certains restes archéologiques âgés d'environ 12 000 ans. Les écrits issus de la Rome antique rapportent de nombreux témoignages de l'utilisation des légumineuses à graines dans les rations alimentaires, qu'il s'agisse des fèves, de la lentille ou du pois **(Duc et al., 2010)**.

Le pois sec (*Pisumsativum*), la féverole (*Vicia faba*), les vesces (*Vicia sativa* et *Vicia ervilia*), la lentille (*Lens culinaris*) et le pois chiche (*Cicer arietinum*) sont les principales espèces cultivées dans la région de la Méditerranée (Duc et al., 2010).

I.1.2 Production des légumineuses dans le monde

Les légumineuses sont cultivées partout dans le monde, mais plus particulièrement dans des pays en développement (Inde, Chine, Canada, en Australie, au Brésil, Nigeria,) (Gordon, 2002) (Figure.1). Cette production des légumineuses à graines représente 12,5% de la production des céréales en 2012. Les légumineuses à graines mis à part soja ont connu plus de 50% d'augmentation en 30 ans (entre 1980 et 2010). Les pois représentent 10,5MT et la féverole 6MT en 2010 (Schneider et al., 2015).

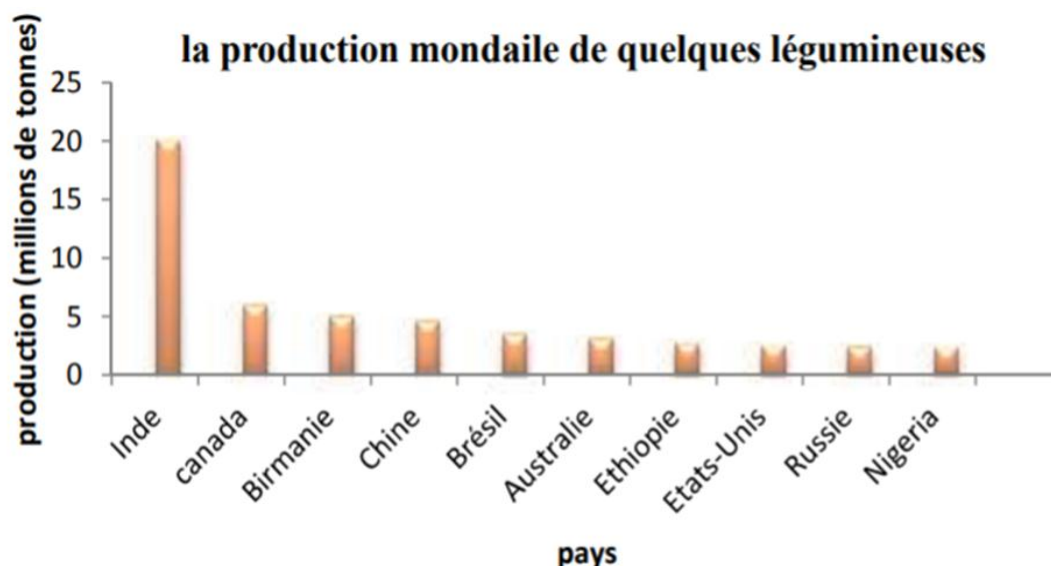


Figure 1. La production mondiale de quelques légumineuses (FAO, 2016).

I.1.3 Place des légumineuses en Algérie

Les légumineuses alimentaires ont toujours été présentes dans les systèmes de production agricole en Algérie. Sur le plan géographique, les espèces de légumineuses alimentaires les plus cultivées sont la lentille, le pois chiche, les pois, la fève et le haricot (La production nationale de légumes secs ne satisfait pas tous les besoins de la population algérienne, (DSA., 2019).

Tableau n° 01 : Légumineuses alimentaires cultivées en Algérie : leur importance en superficie, production et rendement (moyenne 2013-2017)

Cultures	Superficie		Production		Rendement (qx /Ha)
	Hectares	%	quintaux	(%)	
Fève/féverole	40299	48.96	207042	50.27	5,13
Pois chiche	30487	37.04	161799	39,28	5,30
Pois- sec	8627	10,48	29793	7,23	3,45
Lentilles	1271	1,54	5021	1,22	3,95
Haricot sec	1240	1,50	6480	1,57	5,22
Gesse	377	0,46	1732	0,42	4.59
Total	82301	100	411867	100	5,00

(Ministère de l'Agriculture.2018)

I.1.4 Les lentilles

La lentille (*Lens culinaris* ou *Lens esculenta*) est une plante annuelle, de 45cm de hauteur, porte des feuilles composés de six paires de folioles oblongues, les folioles supérieures étant transformées en vrilles, ses fleurs de pois bleu pâle sont suivies de gousses renflées contenant deux graines. Ce genre compte six espèces de légumineuses annuelles, originaires de la Méditerranée, de l'ouest de l'Inde et d'Afrique (**Geoff Burnie et al., 2006**) La lentille est l'une de nos plus anciennes plantes alimentaires cultivées. Ses feuilles, à stipules lancéolées, terminées par une longue vrille simple, présentent 5 à 7 paires de folioles. Les fleurs, petites et de couleur bleuâtre, sont groupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles. Les gousses, courtes, planes et tronquées, contiennent 2 graines aplaties riches en protéines (25% de matière fraîche) (Figure.2) (**Mazoyar, 2002**).



Figure 2. Les parties de la plante de Lentille (graine, fleur et fruit)
(Baba Aissa, 2000).

I.1.4.1 Systématique des lentilles

- Règne: Plantae
- Division: Magnoliophyta
- Classe: Magnoliopsida
- Ordre: Fabales
- Famille: Fabaceae
- Genre: *Lens culinaris*

I.1.4.2 Production des lentilles dans le monde

Jusqu'aux années 2000, l'Inde produisait les deux tiers de la production mondiale de lentille (Figure.3) qui était de l'ordre de 8 MT dans les années 1990. Le Canada est ensuite devenue le deuxième acteur majeur. De nos jours, ces deux pays produisent 60% de la production mondiale de lentille (près de 5MT) tous types confondus. Les autres producteurs sont la Turquie, les Etats-Unis, l'Australie, l'Ethiopie et le Népal, l'Union Européenne produit moins du tiers de ses besoins avec 60 000T, produites principalement en Espagne (**Schneider et al., 2015**).

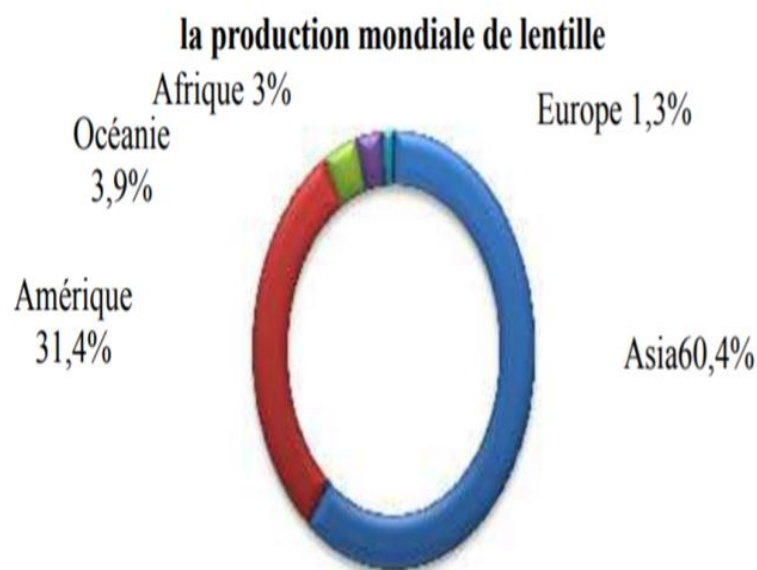


Figure 3. La production mondiale de la lentille (FAO, 2016).

I.2 La germination

La germination est définie comme la somme des événements qui conduisent la graine sèche à germer ; elle commence par la prise d'eau et se termine par l'allongement de l'axe embryonnaire (Hopkins, 2003). La germination est le passage de la vie latente de la graine à la vie active, sous l'effet de facteurs favorables. Selon Mazliak.(1982), c'est un processus physiologique dont les limites sont le début de l'hydratation de la semence et le tout début de la croissance de la radicule. Une semence a germé, lorsque la radicule a percé les enveloppes ou elle est visiblement allongée (Bewley, 1997).

I.2.1 Types de germination

On distingue deux types de germination :

- **La germination épigée** : caractérisée par un soulèvement des cotylédons hors du sol car il y a un accroissement rapide de la tige. Le premier entre-nœud donne l'épicotyle, et les premières feuilles, au dessus des cotylédons sont les feuilles primordiales (Ammari., 2011).

- **La germination hypogée** : chez les plantes à, germination hypogée, les cotylédons restent dans le sol (**Ammari, 2011**).

I.2.2 Morphologie de la germination

Pour une germination il faut que la graine s'imbibe d'eau et se gonfle, le tégument se fend et la radicule émerge et s'oriente vers le milieu (sol), selon un géotropisme positif. Ensuite, la tigelle émerge et s'allonge vers le haut (le ciel). Les téguments de la graine se dessèchent et tombent (**Meyer et al., 2004**).

I.2.3 Physiologie de la germination

La graine se réhydrate et consomme de l'oxygène pour oxyder ses réserves en vue d'acquiescer l'énergie nécessaire. Selon **Michel.(1997)**, la perméabilité du tégument et le contact avec les particules du sol conditionnent l'imbibition et la pénétration de l'oxygène. Les réserves de toute nature sont digérées.

I.2.4 Conditions de la germination

1.2.4.1 Conditions internes de la germination

Lorsque des graines arrivées à maturité sont placées dans des conditions optimales de température, d'humidité et d'oxygénation pour leur croissance et qu'elles ne germent pas, plusieurs causes sont à envisager : la dormance de l'embryon ou les inhibitions de germination. Les conditions internes de la germination concernent la graine elle-même; elle doit être vivante, mûre, apte à germer (non dormante) et saine (**Jeam et al.,1998**).

1.2.4.2 Conditions externes de la germination

La graine exige la réunion de conditions extérieures favorables à savoir l'eau, l'oxygène, la température et la lumière (**Hilhorst, 2007**).

- **L'eau** : Selon **Chaussat et Ledunff (1975)**, la germination exige obligatoirement de l'eau, celle-ci doit être apportée à l'état liquide. Elle pénètre par capillarité dans les enveloppes. Elle est remise en solution dans les réserves de la graine, pour être utilisée par l'embryon, et provoque le gonflement de leurs cellules, donc leur division.

- **L'oxygène** : La germination exige obligatoirement de l'oxygène (**Hilhorst, 2007**). Selon **Mazliak (1982)**, une faible quantité d'oxygène peut être suffisante pour permettre la germination. D'après **Meyer et al., (2004)**, l'oxygène est contrôlé par les enveloppes qui constituent une barrière, mais en même temps une réserve.
- **La température** : La température a deux actions : Soit directe par l'augmentation de la vitesse des réactions biochimiques, c'est la raison pour la quelle il suffit d'élever la température de quelques degrés pour stimuler la germination (**Mazliak,1982**), soit indirecte par l'effet sur la solubilité de l'oxygène dans l'embryon (**Chaussat et al.,1975**).
- **La lumière** : La lumière agit de manière différente sur les espèces. Elle inhibe la germination des graines à photosensibilité négative et stimule celles à photosensibilité positive (**Anzala,2006**). Les espèces indifférentes à la photosensibilité sont rares (**Heller et al.,1990**)

I.2.5 Les étapes de la germination

D'après **Hopinks (2003)** et **Heller et al. (2004)**, la cinétique de prise d'eau permet de caractériser la germination en trois phases :

I.2.5.1 Phase d'imbibition

Cette phase correspond à une forte hydratation des tissus. Elle est accompagnée d'une élévation de l'intensité respiratoire (**Heller et al., 2000**). Elle implique un mouvement d'eau dans le sens de potentiel hydrique décroissant (**Hopkins, 2003**). Cette entrée d'eau est accompagnée d'une augmentation de la consommation d'oxygène attribuée à l'activation des enzymes mitochondriales (**Anzala, 2006**)

I.2.5.2 Phase de germination au sens strict

Elle est caractérisée par une diminution de l'entrée d'eau .l'hydratation des tissus et des enzymes est totale et La consommation en oxygène est stable. De plus, les synthèses protéiques sont facilitées car la graine renferme toute la machinerie nécessaire, en particulier des ARNm y sont accumulés (**Rajjou et al.,2004**). Durant cette phase, il y a reprise de la respiration et des activités métaboliques.

La présence d'eau et d'oxygène permet l'activation des processus respiratoires et mitotiques. L'eau rend mobiles et actives les phytohormones hydrosolubles en stock dans la graine. C'est le cas des gibbérellines qui sont véhiculées vers la couche à aleurones où elles vont activer la synthèse d'hydrolases (telles que les amylases, les nucléases ou les protéinases) nécessaires à la dégradation des réserves, à la division et l'élongation cellulaire. Les analyses hydrolysent l'amidon stocké dans l'albumen et libèrent des molécules de glucose, substrat du métabolisme respiratoire. La phase de germination au sens strict se termine avec la percée du tégument par la radicule, rendue possible grâce à l'allongement des cellules (**Heller et al.,2004**).

I.2.6 Phase de croissance post-germinative

Elle est caractérisée à nouveau par une entrée d'eau et une augmentation importante de la respiration. La consommation de l'oxygène serait due aux enzymes néosynthétisées (**Anzala,2006**), puis très rapidement, on assiste à une reprise des divisions et grandissement cellulaires (**Hopkins,2003**) (Figure 04).

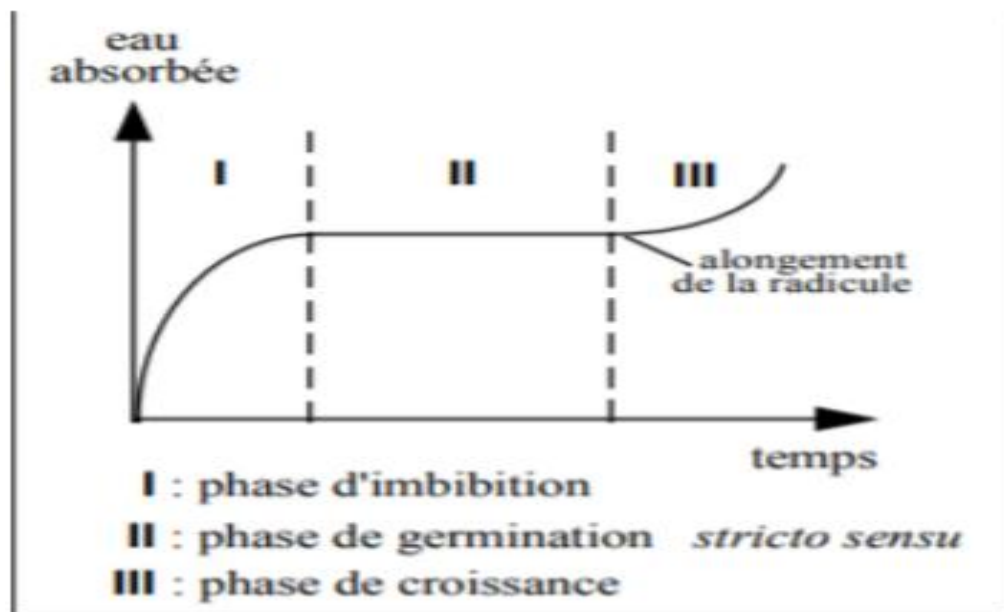


Figure 4. Courbe théorique d'imbibition d'une semence (**Côme, 1982**).

I.2.7 Différents obstacles de la germination

Les obstacles de la germination sont tous les phénomènes qui empêchent le développement d'un embryon non dormant placé dans des conditions convenables (**Mazliak, 1982**). La dormance est un état provisoire dans lequel des semences viables ne peuvent pas germer même dans des conditions favorables. Selon **Hilhorst (2007)**, la dormance est caractérisée par une absence virtuelle d'activité métabolique et par le manque virtuel de développement et de croissance. Les semences qui ne germent pas dans les différentes conditions de milieu, sont des semences dites «dormantes», et leur dormance peut concerner soit les téguments (inhibition tégumentaire), soit l'embryon (dormance au sens strict), soit les deux à la fois (**Soltner, 2001**).

I.2.7.1 Inhibitions tégumentaires

L'imperméabilité à l'eau ou à l'oxygène cause des dormances tégumentaires, c'est le cas des graines dures (**Soltner, 2001**). D'après **Mazliak (1982)**, les inhibitions tégumentaires peuvent être facilement définies par : les semences ont des enveloppes ; totalement imperméable à l'eau, les enveloppes séminales ne sont pas suffisamment perméables à l'oxygène.

I.2.7.2 Dormance embryonnaire

Dans ce cas les inaptitudes à la germination résident dans l'embryon et constituent les véritables dormances. L'embryon peut être dormant au moment de la récolte des semences on appelle« dormance primaire ». Dans d'autre cas, l'embryon est capable de germer mais il perd cette aptitude sous l'influence de divers facteurs défavorables à la germination on parle alors de « dormance secondaire » (**Cherfaoui, 1987**).

I.3 Généralités sur les gels

I.5.1 Définition

Le terme gel échappe à toute définition précise. Le gel est un état de la matière Il s'agit généralement d'une solution ou une suspension colloïdale qui subit une transformation physique ou chimique conduisant à un état semi-solide tout en conservant une grande partie du solvant à l'intérieur de sa structure. (**Bar-Cohen, 2001**).

Un gel macromoléculaire est une matrice polymère gonflée par une grande quantité de solvant. Les chaînes polymères sont connectées entre elles, formant un réseau qui sert à retenir le liquide et qui donne au gel sa rigidité. **(Osada.Y et al., 2004)** Les gels sont doux et humides, ils ressemblent à des matériaux solides mais ils sont capables de subir de grandes déformations, ce qui est en contraste avec la plupart des matériaux industriels, tels que les métaux, les céramiques et les matières plastiques qui sont secs et durs.**(Osada.Y et al., 2004)**

Selon **Gong (1998)**, l'organisme vivant est en grande partie constitué de gels sauf les os, les dents et les ongles. Les couches extérieures de la peau et les tissus des mammifères sont des gels dans lesquels la teneur en eau va jusqu'à 60% (plasma - sang) ce qui permet à l'organisme de transporter les ions et les molécules tout en gardant sa rigidité

I.3.2 Classification générale

D'après **(Osada.Y et al., 2004)** les gels sont classés selon leur origine tels que les gels naturels ou synthétiques; la matière contenue dans la matrice polymère tels que les hydrogels, les aérogels ou les organogels ou encore le type de liaison de la matrice polymère tels que les gels chimiques ou physiques. Tableau 2

La connexion entre les chaînes de polymères peut être de deux sortes, permanente (liaisons covalentes) ou réversible (liaisons hydrogènes, interactions de type Van der Waals, enchevêtrements ...) ce qui permet de différencier les deux grands types de gels: les gels chimiques et les gels physiques. Le processus de la gélification physique est généralement réversible. **(Barrow.G, 1979)**

Tableau 2 : Classification des gels

Milieu de gonflement	Liquide	Hydrogel (eau) Organogel (solvant organique) Lyogel (solvant huileux) Alcogel (alcool)
	Gaz	Xerogel Aérogel (air)
	Solide	Polymère – Gel polymère
Polymères de constitution	Gel naturel	Gel de protéine Gel de polysaccharide
	Gel synthétique	Gel de polymère organique Gel de polymère inorganique
	Gel hybride	Polysaccharide et polymère synthétique Polymère de protéine et gel synthétique
Réticulation	Liaison covalente	
	Interaction moléculaire	Interaction Coulombienne Liaison hydrogène Liaison de coordination
(Osada et al,2004)		

I.3.3 Hydrogels de polymères

Un hydrogel est une matrice polymérique, hydrophile formé par un réseau tridimensionnel dans lequel le solvant de gonflement est l'eau ou des liquides biologiques. Sa principale caractéristique est sa capacité à se gonfler en présence d'eau et à se contracter lorsque celle-ci s'évapore. Suivant la nature des pontages mis en œuvre dans le réseau, on distingue des hydrogels physiques et des hydrogels chimiques **(Strauss, 1996)**

Le même auteur rapporte que dans les hydrogels chimiques, des liaisons covalentes assurent la cohésion du gel et l'équilibre de gonflement est déterminé par le taux de réticulation. Les hydrogels « physiques » présentent des pontages ioniques et des interactions de type van der Waals. Ils sont plus hétérogènes en termes de structure chimique que les hydrogels chimiques en raison d'enchevêtrement des chaînes.

I.3.4 Caractéristiques générales des hydrogels

Selon **Nagasawa et al. (1965)** les hydrogels peuvent être synthétisés selon deux voies principales : La première consiste en la polymérisation et la réticulation simultanées d'un monomère de fonctionnalité égale à 2 et d'un réticulant de fonctionnalité au moins égale à 3 (Figure 5). Cette méthode, en une seule étape, permet une grande liberté dans le choix de la composition de l'hydrogel (nature chimique, concentration en monomère et densité de réticulant). Elle présente en revanche l'inconvénient de donner au gel une structure assez hétérogène aussi bien en volume qu'en surface. L'hydrogel peut également être préparé par réticulation de macromolécules linéaires préformées, lors d'une première étape de synthèse par des fonctions chimiques réactives (Figure 5). La structure obtenue est plus homogène mais cette méthode est plus délicate à mettre en œuvre dans le cas de la synthèse de copolymères.

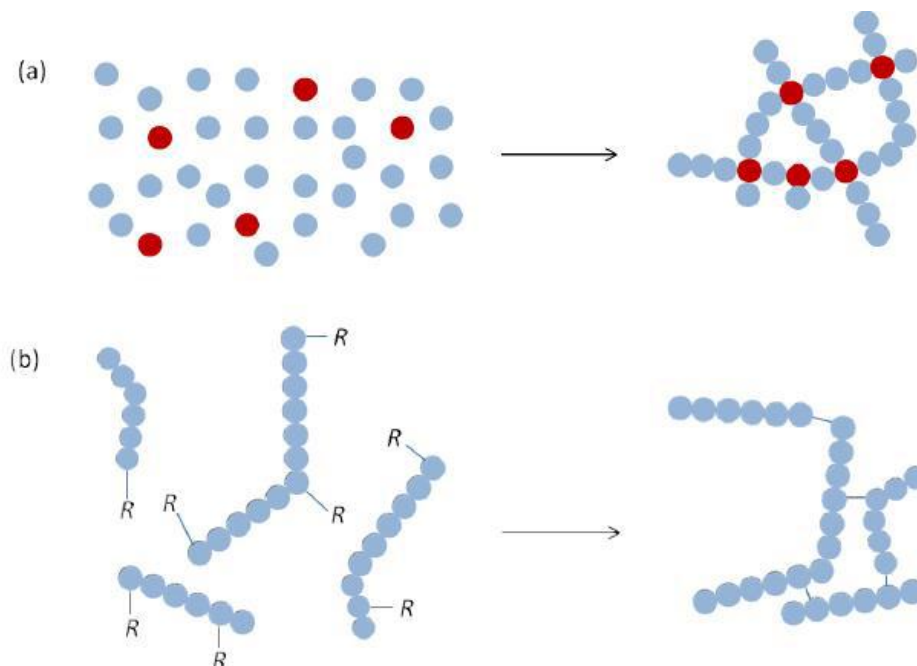


Figure 5 : Synthèse d'hydrogels par polymérisation et réticulation simultanées à partir de monomères (a) et par réticulation de chaînes polymères fonctionnalisées (b)

(Nagasawa et al., 1965)

Dans les deux cas, la structure de l'hydrogel obtenue après synthèse varie avec la nature du polymère, la densité de réticulation, la taille de la maille ou encore la présence de défauts éventuels (chaînes pendantes, boucles, enchevêtrements,...). Ces divers paramètres influent directement sur les propriétés de gonflement thermodynamique et cinétique des hydrogels, ainsi qu'à leurs propriétés élastiques, dont le module est généralement compris entre 10^3 et 10^5 pascal (**Nagasawa et al., 1965**).

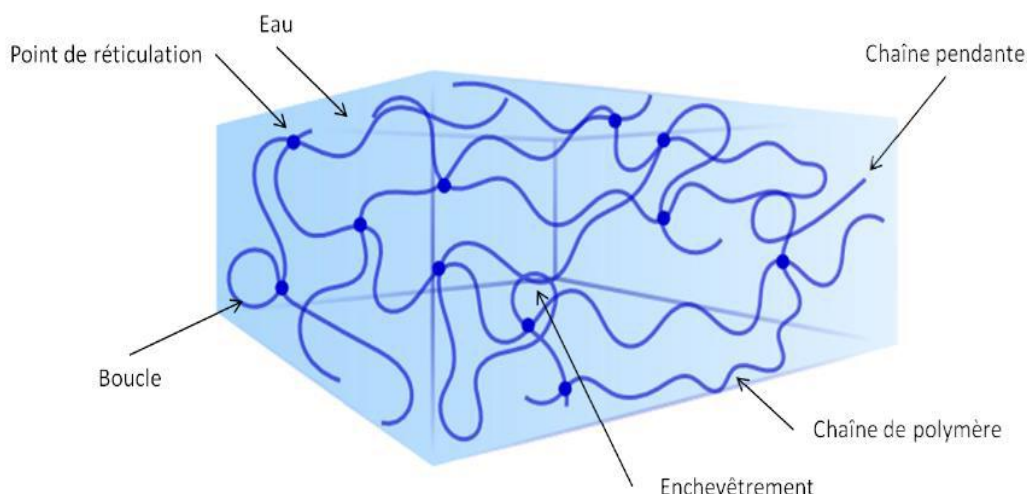


Figure 6 : Structure générale de l'hydrogel (**Nagasawa et al., 1965**)

I.3.5 Le polyacrylate de potassium

Le polyacrylate de potassium est un sel de potassium de l'acide polyacrylique de formule chimique $[-CH_2 -CH(CO_2 K) -]_n$.

Différent du polyacrylate de sodium, le polyacrylate de potassium peut être utilisé comme agent de rétention d'eau dans l'agriculture sans provoquer la salinisation du sol. En tant que type de polymère superabsorbant pour les plantes (Ag-SAP), il peut augmenter la disponibilité de l'humidité pour les plantes. En effet, il peut absorber des centaines de fois son poids d'origine en eau purifiée. Il se mélange au sol pour augmenter la capacité du sol à retenir l'eau (sous forme de gel d'eau qui reste dans le sol pendant des mois) (**Gómez, 2016**).

I.3.5.1 Mécanisme de polyacrylate de potassium

Le polyacrylate de potassium fonctionne comme une éponge sous la surface du sol. Il est composé d'un ensemble de chaînes polymères, qui sont liées entre elles chimiquement pour devenir une matrice en forme de filet insoluble dans l'eau qui attire et retient doucement les molécules d'hydrogène. La taille et le poids immenses de sa structure moléculaire permettent à chaque granule de polyacrylate de potassium d'absorber plus de 500 fois son poids d'origine en eau purifiée. Il ne «relie» pas l'eau de manière étanche. Ses granules libèrent juste la bonne quantité d'eau en réponse à l'aspiration des racines d'une plante. Il n'y a pas d'engorgement ou d'autres effets néfastes causés par l'eau « libre » remplissant les cavités d'air dans le sol. **(Escobosa et al., 2014)**

Selon le même auteur, le polyacrylate de potassium maximise la croissance des plantes en réduisant leur stress. Il absorbe et libère également les nutriments du sol, les engrais solubles dans l'eau et les produits chimiques de la même manière que l'eau, créant un microenvironnement sain dans la zone racinaire de la plante et qu'en tant qu'amendement du sol, il peut améliorer la capacité de rétention d'eau du sol.

I.3.6 Les composants du polyacrylate de potassium

I.3.6.1 CARBOMER

Les carbomères sont des polymères synthétiques hydrophiles d'acide acrylique. Dans les cosmétiques, ils sont utilisés pour épaissir les préparations en tant que gélifiant ou émulsifiant, mais aussi en tant que solvant pour aider les formules à rester bien mélangées. Ce sont de grosses molécules qui ne pénètrent pas les barrières de la peau. Ils améliorent les textures des crèmes ou des shampoings, pour qu'ils soient plus agréables à utiliser. Le CIR (**Cosmetic Ingredient Review, 2013**) estime que les carbomères sont sûrs pour la santé dans les cosmétiques. En effet, ils ont fait l'objet de nombreux tests et ne posent en général pas de problèmes. **(Hadj Sadok et al., 2013).**

Tableau 3 caractéristiques de l'acide acrylique

Description chimique :	poly(acide acrylique) réticulé avec des éthers allyliques de pentaérythritol ou des éthers allyliques de saccharose
Noms commerciaux :	<i>Carbopol</i> : 907, 910, 934, 934-P, 940, 941, 954, 980, 981, 1334, 2984 et 5984 (BF Goodrich) ; <i>Acritamer</i> : 934, 934-P, 940 et 941 (Rita) ; <i>Synthalen K, M et N</i> (3-V)
Dose d'utilisation :	0,3 à 1 % dans les gels ; 0,2 à 0,6 % dans les crèmes ; 0,1 à 0,5 % en lotions
Fonctions dans la formulation :	épaississant, agent gélifiant, stabilisateur de suspensions et d'émulsions
Caractéristiques de solubilité :	très hydrophile ; gonfle énormément dans l'eau, l'alcool et les solvants polaires
Forme disponible :	fine poudre blanche amorphe
Considération microbienne :	résiste aux attaques bactériennes et ne favorise pas la croissance de moisissures. Un conservateur est nécessaire pour les autres composants présents dans la formulation finale et pour les dispersions qui sont stockées pendant plusieurs semaines
(Merck index,2006)	

I.3.6.2 Hydroxyde de potassium

L'hydroxyde de potassium ou potasse est un produit chimique, utilisé essentiellement lors de la fabrication des produits fertilisants et des savons. La formule chimique de l'hydroxyde de potassium est KOH. Il est également un additif alimentaire (basifiant), noté E525. Il ne représente pas de danger pour l'organisme, étant donné que son dosage est infime dans les aliments. En surdose, l'hydroxyde de potassium peut en revanche être très dangereux: il s'attaque notamment au système digestif et respiratoire. **(Merck index,2006)**

Tableau 4 caractéristiques de l'hydroxyde de potassium

Nom Substance Détails	Hydroxyde de potassium Formule KOH N° CAS 1310-58-3
Etat Physique	Solide
Masse molaire	56,11
Point de fusion	360 °C (anhydre) 380 °C à 406 °C (données variables selon les sources)
Point d'ébullition	1 320 à 1 327 °
Densité	2,04
Pression de vapeur	1,3 hPa à 719 °C
(Merck index,2006)	

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

II : Matériel et Méthodes

Le but de notre étude est la formulation d'un support synthétique Un « Hydrogel », nutritif et économique composé de différentes matières minérales et organiques afin de tester son effet sur la germination des lentilles. Cet hydrogel est considéré comme un hydro rétenteur pouvant favoriser la germination et le bon développement des graines.

Notre étude est réalisée au niveau du laboratoire de Phytopharmacie et protection des végétaux du département de Biotechnologies et agro-écologie de l'université Blida 1.

II.1.3 Matériel végétal

II.1.3.1 Les lentilles

Le matériel végétal étudié est constitué par une variété de lentille (*syrie299*). La semence utilisée est fournie aimablement par l'institut technique des grandes cultures (ITGC) de Khroub. C'est une variété appréciée pour sa résistance à l'antrachnose et au froid, ses rendements assez bons et son port très érigé, permettant la récolte mécanisée (FAO, 2006 ; ITGC., 2013). Les caractéristiques des génotypes sont mentionnées ci-dessous dans le tableau 4.

Tableau 5. Liste de génotype et origine de l'espèce *Lens culinaris Medik*

Espèce	Géno types	Garn iture Chromo		Or igine	Sour ce	Caractéristiques
<i>Lens culinaris Medik</i>	Syrie 229	2n=2 x=14	5	IC ARDA	ITGC El Khroub	<ul style="list-style-type: none"> • Semi-érigé. • Précoce. • Vigoureuse. • Très bonne qualité culinaire
						(ITGC. 2013)

II.1.4. Matériel chimique

II.1.4.1 Grogreen Gel (Engrais minéral)

Grogreen Gel Starter est une formulation à haute teneur en phosphore pour les stades où une absorption suffisante de phosphate est cruciale, comme le développement des racines, la floraison, la nouaison et la transplantation.

Tous les nutriments sont entièrement solubles dans l'eau et donc plus efficaces car ils sont complètement assimilables et prêts à être utilisés par les cultures. Ce produit NPK complet fournit plusieurs micronutriments tels que le bore, le cuivre, le fer, le manganèse, le zinc et le molybdène.

C'est un engrais largement utilisé dans l'irrigation par goutte à goutte pour sa grande pureté et sa solubilité élevée. Il s'applique à tous les types de cultures, les cultures arables et les cultures ligneuses.

Lorsque cet engrais est dissous dans l'eau d'irrigation, le pH baisse légèrement, ce qui empêche la formation de précipités et facilite son utilisation dans les systèmes d'irrigation. Il doit être appliqué aussi fractionné que possible, en divisant le dosage total en fonction des besoins de la culture tout au long du cycle de culture **(Lima-europe, 2012)**.



Figure 7 : photo de l'engrais minéral Grogreen Gel **(Lima-europe, 2012)**.

Tableau 6. Caractéristiques de Grogreen Gel

Caractéristiques	W / W	W / V
Azote total (N)	9,70%	16,0%
Azote ammoniacal (N-NH ₄)	2,50%	4,1%
Azote uréique (N-NH ₂)	7,20%	11,9%
Pentoxyde de phosphore (P ₂ O ₅), soluble dans l'eau	42,00%	69,0%
Oxyde de potassium (K ₂ O), soluble dans l'eau	9,70%	16,0%
Bore (B), soluble dans l'eau	0,010%	0,016%
Cuivre (Cu), chélaté EDTA, soluble dans l'eau	0,002%	0,003%
Fer (Fe), chélaté EDTA, soluble dans l'eau	0,050%	0,082%
Manganèse (Mn), chélaté EDTA, soluble dans l'eau	0,025%	0,041%
Molybdène (Mo), soluble dans l'eau	0,002%	0,003%
Zinc (Zn), chélaté EDTA, soluble dans l'eau	0,010%	0,016%

II.1.5 Le matériel utilisé au laboratoire

- Une balance analytique (à 10⁻² g)
- Un agitateur mécanique
- Verrerie de laboratoire
- pH mètre
- Boîtes de pétri

II.1.6 Partie expérimentale

Dans cette partie, il s'agira de tester l'effet de 2 milieux différents sur la germination et la croissance des lentilles

II.1.6.1 Formulation du gel acrylamide de potassium

Nous avons formulé un gel à base d'acide d'acrylique et une base d'hydroxyde de potassium. Notre démarche expérimentale consiste à étudier le développement de la germination des lentilles.

Le milieu de culture neutre

Nous avons ajouté 4g de KOH dans 500g de l'eau distillée puis on a laissé le mélange se reposer pendant deux minutes.

Après avoir remarqué une dissolution Nous avons ajouté 8g d'acide acrylique dans 250 g du mélange précédent contenant (4g de KOH dans 500 g de l'eau distillée, puis on a mélangé avec le mélangeur pendant 60 s.

Le Milieu de culture enrichi (Gel + NPK)

Nous avons ajouté 4g de KOH dans 500g de l'eau distillée puis on a laissé le mélange se reposer pendant deux minutes.

Après avoir remarqué une dissolution, on a ajouté 1g d'engrais minéral dans 250 g du mélange précédent puis 8g d'acide acrylique, et on a mélangé avec le mélangeur pendant 60s.

Nous avons laissé les deux milieux de se refroidir dans le réfrigérateur pendant 24h



Gel neutre



Gel enrichi en N.P.K

Figure 7 Milieux de culture formules (**originale**)

II 1.6.2. Exploitation des résultats

Une semence a germé, lorsque la radicule a percé les enveloppes ou elle est visiblement allongée (**Come, 1970**).

La germination a été suivie par des prises des photos. Nous nous sommes intéressés à l'étude du taux et de la vitesse de germination des graines de lentilles ainsi que leur évolution dans le temps à savoir chaque 24h pendant 192h (8jours) présenté par la figure 08



Figure 8 Germination des graines in vitro (**originale**)

Tests de la germination

Des lentilles préalablement imbibées pendant deux heures dans l'eau, 9 graines ont été prises et mises dans des boîtes de pétrie de 9 cm de diamètre déjà remplies de chacun des milieux de culture préparé à savoir le gel neutre et le gel amélioré. Ces boîtes sont alors refermées étiquetées et placées dans un endroit lumineux et à température ambiante pour la germination. L'ensemble des boîtes est comparé à un lot témoin où les graines de lentilles sont déposées sur du coton imbibé dans de l'eau sans aucun ajout. Par ailleurs 4 répétitions et un suivi temporel ont été réalisés pour tous les tests.

II.1.6.3.Analyse des données

II 1.6.3.1 Méthode d'estimation du taux de germination

Une graine a été considérée germée lorsqu'il y a eu émergence de la radicule. En effet, le taux de germination est calculé par la formule suivante ; (**Belaidi et al., 2019**).

$$TG (\%) = Gx/Gt * 100$$

Où **TG** : Taux de germination final,

Gx : nombre des graines germées,

Gt : nombre total des graines mises à germer.

II.1.6.3.2. Méthode d'estimation de la vitesse de germination

La vitesse de germination permet d'exprimer l'énergie de germination responsable de l'épuisement des réserves de la graine. C'est la variation dans le temps des taux de germination dès l'apparition de la première pointe de la radicule d'une ou des graines jusqu'à la stabilité de la germination, s'exprimant par le taux de germination obtenu à un moment donné (**Belaidi et al., 2019**).

$$VG = (N1 + N2 + N3 + \dots + N) / (N1T1 + N2T2 + N3T3 + \dots + NnTn) \times 100$$

Où, **VG**=vitesse de germination,

N1 = nombre de graines germées au temps T1,

N2 = nombre de graines germées entre le temps T1 et T2,

N3, Nn = graines germées au temps T3...jusqu'au temps Tn.

II.1.6.3.3 Méthodes d'estimation de la longueur des plantes *

L'estimation de la longueur des racines, des tiges et totale de la plante a été mesurée à l'aide du logiciel <<Digimizer>>

II.1.6.4 Analyse de la variance :

Lorsque le problème est de savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions (types de milieux, croissance en longueur, taux de germination et périodes d'exposition), il est préconisé de réaliser une analyse de variance. Dans les conditions paramétriques (ANOVA pour ANalysis Of VAriance), la distribution de la variable quantitative doit être normale, nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M.). Le déroulement des tests a été réalisé par le logiciel statistique SPSS vers. 24 (2017). La signification des différences entre les traitements est exprimée en fonction de la probabilité P erreur 5% avec $P > 0,05$: Différence non significative, $P < 0,05$: Différence significative

Chapitre III

Résultats et Discussion

III Résultats et Discussion

III.1.1 Taux de germination :

Le taux de germination des graines de lentilles sur une durée de 8 jours est présenté sur la figure 9 suivante.

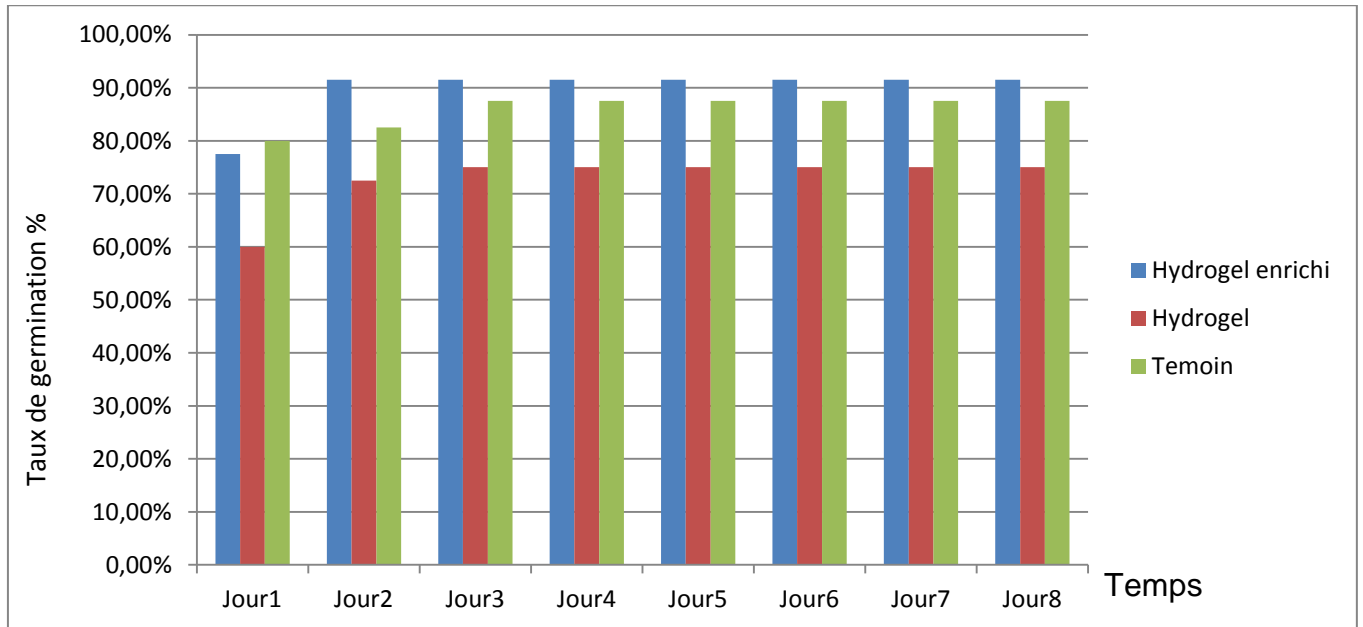


Figure 9 Taux de germination des graines de lentilles dans les différents milieux de cultures et le Témoin

Il est à noter que le taux de germination dépasse les 77% dans les 2 milieux de cultures et le témoin dans les différents lots. Dans l'hydrogel enrichi ce taux atteint 90% à partir du 2^{ème} jour et se maintient jusqu'au 4^{ème} jour..

Tous ces résultats sont confrontés à ceux du témoin, dont le taux de germination varie entre 77,77 et 91%. A titre d'exemple, et pour le 4^{ème} jour le classement du taux de germination est comme suit :

Hydrogel neutre < Témoin < Hydrogel enrichi.

III.1.2. Vitesse de germination :

La vitesse de germination est exprimée en pourcent en fonction du temps

L'évolution de cette vitesse est résumée sur la figure 10 suivante.

Contrairement à ce qui précède, la vitesse de germination des graines de lentille s'avère la plus élevée en particulier dans l'hydrogel enrichi elle atteint 40%., cette vitesse est classée comme suit :

V_G (Hydrogel enrichi) > V_G (Témoin) > V_G (Hydrogel neutre)

A l'issue de ces résultats, l'Hydrogel enrichi semble le plus prometteur quant à la vitesse de germination des graines de lentilles et qui reste en moyenne plus élevée que celles des graines déposées sur le milieu de cultures d'hydrogel neutre et du témoin.

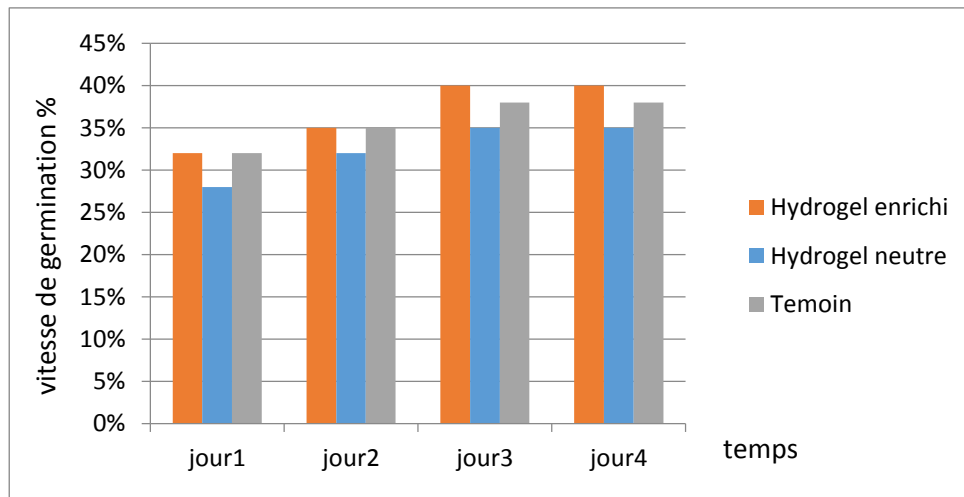


Figure 10 Evolution temporelle de la vitesse de germination des grains de lentilles dans les différents milieux de culture

III.1.3. Développement de la longueur de la plante :

le suivi de la longueur des différentes parties (aérienne et racinaire) de la plante germée au cours du temps. a été fixé à 8 jours en accord avec la bibliographie.

III.1.3.1. Longueur des racines :

La figure 11, montre l'accroissement de la longueur des racines de la plante germée tout au long des 8 jours.

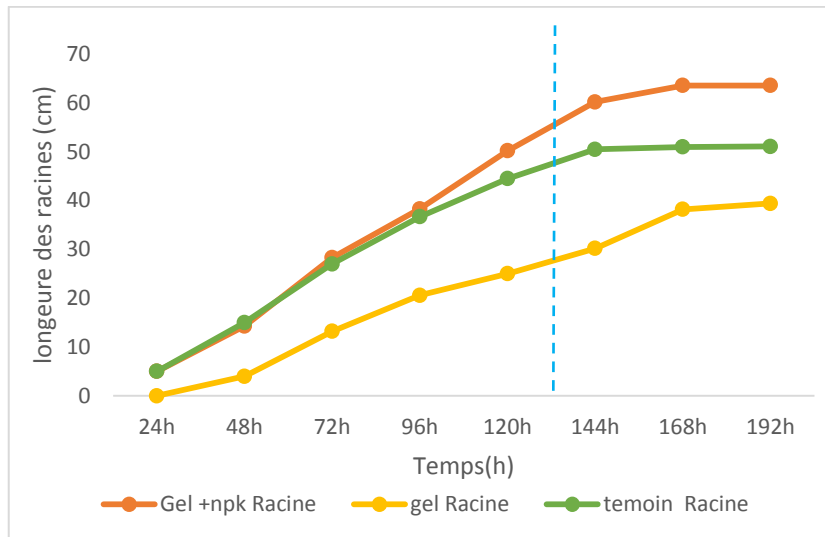


Figure 11. Evolution temporelle de la longueur racinaire au cours de la germination dans les différents milieux de culture

Au bout de 144h, soit 6 jours, le palier de l'évolution des racines est atteint dans témoin, alors que l'allongement continue avec une légère augmentation dans les milieux de cultures de l'hydrogel (neutre et enrichi). Au bout du 8^{ème} jour, la longueur racinaire atteint la valeur maximale de 42,2 mm dans l'hydrogel+NPK. Cette longueur est de 13,1% et 27,2% plus importante que celles obtenu dans le témoin et dans le gel neutre respectivement. Ceci montre que le gel a un effet positif sur la croissance de la racine lorsqu'il est enrichi avec de l'engrais minéral NPK.

III.1.3.2. Longueur des tiges:

En ce qui concerne, la longueur de la partie aérienne, les résultats sont exposés sur la figure 12. Il a été bien montré que le palier de l'accroissement de la tige est atteint à 120h, soit 5 jours pour les plantes ayant germé dans le témoin et l'hydrogel enrichi. Par contre, le palier n'est atteint qu'au bout de 7 jours pour le milieu Hydrogel neutre.

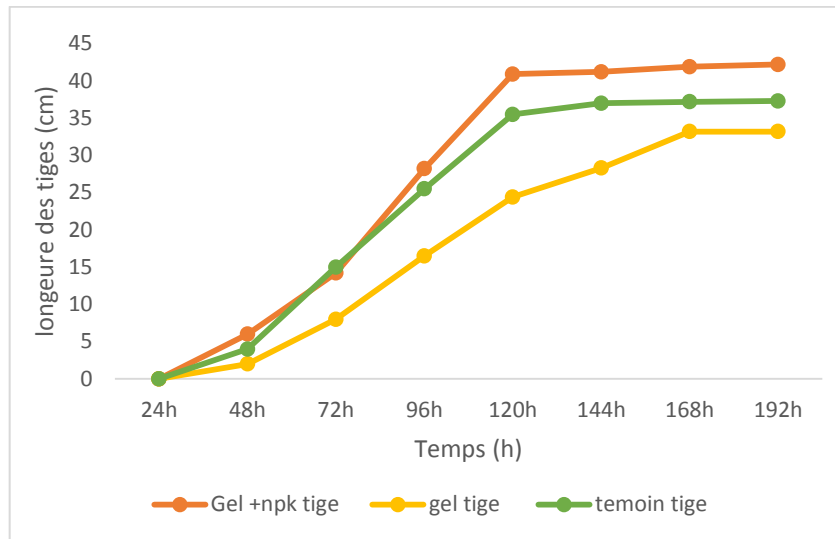


Figure 12. Evolution temporelle des longueurs de la tige au cours de la germination dans les différents milieux de culture

Il est à noter que la tendance est la même que celle de l'évolution des racines. En effet, à partir du 3^{ème} jour, les longueurs des tiges sont classées comme suit :

$$L_{\text{Tige}} (\text{Hydrogel enrichi}) > L_{\text{Tige}} (\text{Témoin}) > L_{\text{Tige}} (\text{Hydrogel})$$

Au bout de 8 jours, les longueurs des tiges valent 63,6cm ; 51,1cm et 39,4cm respectivement dans les milieux enrichi ; Témoin et Hydrogel neutre, ce qui confirme une fois de plus l'intérêt d'associer l'hydrogel à l'engrais minéral.

III.1.3.3. Longueur totale :

La figure 13 résume la croissance de la plante dans sa globalité et montre le même comportement que sur les figures précédentes confirmant ainsi que la croissance de la plante est en faveur du gel associé à l'engrais minéral

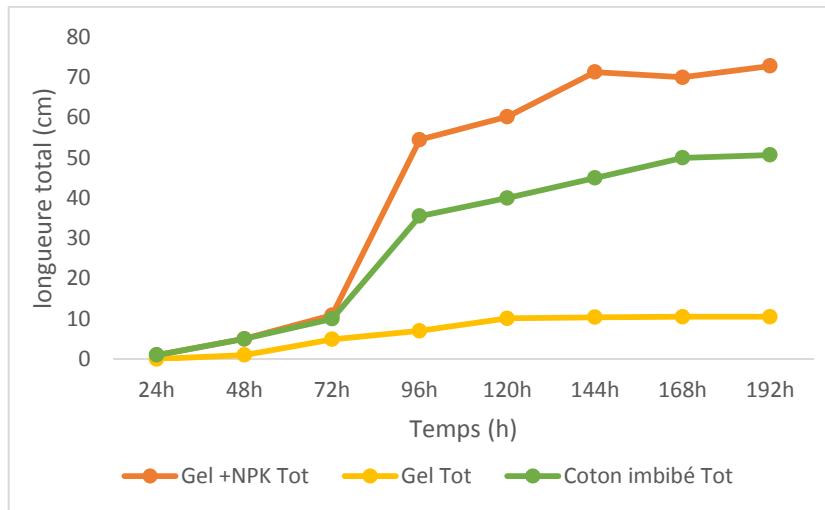


Figure 13. Evolution temporelle de la longueur totale au cours de la germination dans les différents milieux de culture.

A ce titre, le grain de lentille ayant séjourné 8 jours dans le milieu de culture Hydrogel enrichi développe une plante de longueur totale de 72,8cm, soit 43,6% plus grande que celle développée dans le milieu témoin.

III.2.2 Analyse de la variance du taux de germination

Le milieu hydrogel neutre

Le tableau7 ci-dessous présente les valeurs statistiques du taux de germination dans l'hydrogel neutre en fonction du temps.

Tableau 7. Valeurs statistiques du taux de germination dans le milieu Gel neutre

ANOVA						
Source	Variable dépendante	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
constante	temps	100,000	1	100,000	75,000	,000
	milieu	98506,530	1	98506,530	1094,486	,000

L'analyse des données montre une significativité $P_{\text{valeur}} = 0.00$, que ce soit en fonction de la variable qualitative (temps) et milieu de culture. Cette valeur est inférieure au seuil de risque 0.05 ce qui suggère, que l'hypothèse nulle d'égalité est rejetée et que l'hypothèse alternative est prise en compte.

Le graphique représentant la variance de la germination en fonction du temps

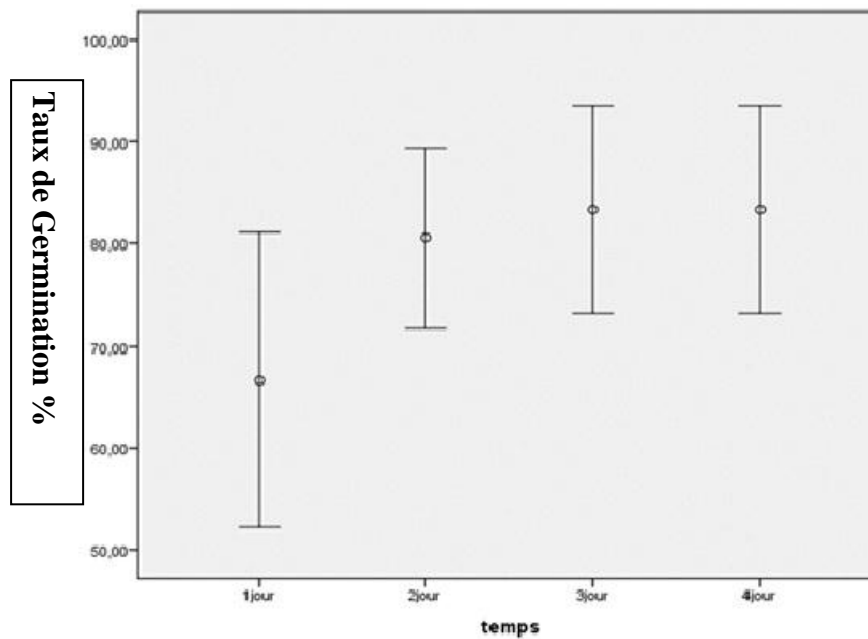


Figure 14: Représentation de la variance du taux de germination dans l'hydrogel neutre en fonction du temps

Ceci est observé particulièrement pour la variable temps (3^{er} et 4^{ème} jour) le taux de germination atteint une moyenne de 85%

Le milieu Hydrogel enrichi :

Le tableau8 ci-dessous présente les valeurs statistiques du taux de germination dans l'hydrogel enrichi en fonction du temps.

Tableau 8 . Valeurs statistiques du taux de germination dans le milieu enrichi

ANOVA						
Source	Variable dépendante	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Constante	<u>temps</u>	100,000	1	100,000	75,000	,000
	<u>milieu</u>	130387,794	1	130387,794	1347,270	,000

L'analyse des données montre une similitude avec les résultats obtenus dans le milieu de culture Hydrogel enrichi. En effet, la $P_{\text{valeur}} = 0.00$ pour la variable qualitative (temps). Comme précédemment, cette valeur est inférieure au seuil de risque 0.05, ce qui suggère que l'hypothèse de l'égalité est rejetée. Le graphique représentant la variance du taux de la germination en fonction du temps est présenté sur figure 15

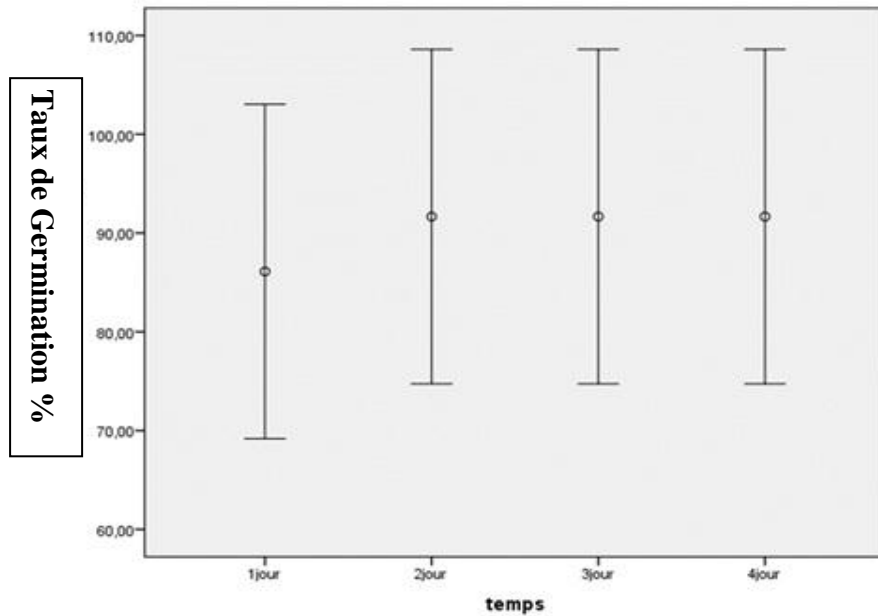


Figure 15: Représentation de la variance du taux de germination dans l'hydrogel enrichi en fonction du temps

Toutefois, il est à préciser que ces résultats sont en faveur de l'utilisation de l'hydrogel enrichi qui permet d'atteindre un taux de plus de 91% un intervalle de temps de 1 à 2 jours.

Le témoin (coton imbibe d'eau)

Le tableau 9 ci-dessous présente les valeurs statistiques du taux de germination dans le témoin en fonction du temps.

Tableau 9. Valeurs statistiques du taux de germination dans le témoin

ANOVA						
Source	Variable dépendante	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
<u>constante</u>	<u>temps</u>	100,000	1	100,000	75,000	,000
	<u>milieu</u>	140615,625	1	140615,625	1717,818	,000

L'analyse ANOVA donne une $P_{\text{valeur}} = 0.00$ comme précédemment pour les la variable quantitative (temps) Cela signifie que la différence de la moyenne est significative

Le graphique représentant la variance de la germination en fonction du temps à la figure 16

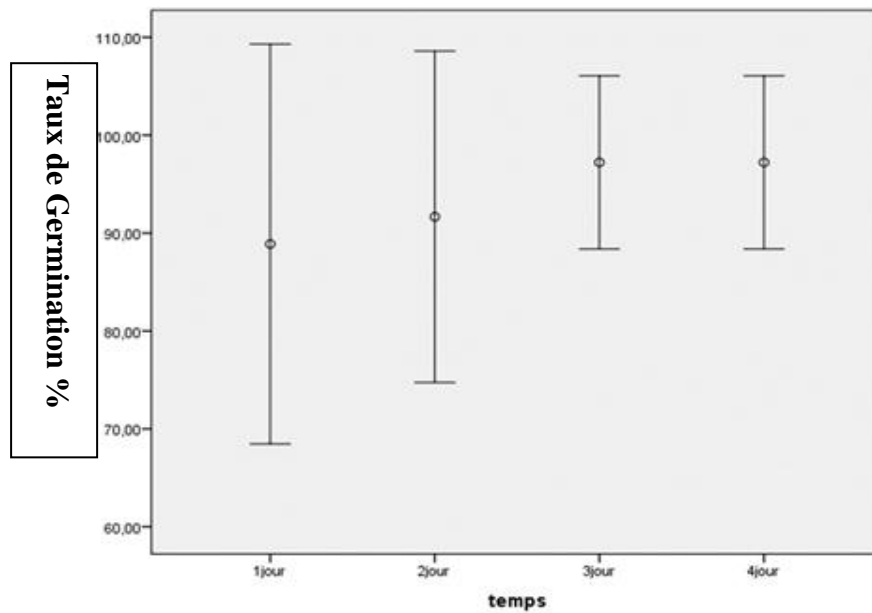


Figure 16: Représentation de la variance du taux de germination dans le témoin en fonction du temps

Ceci est observé particulièrement pour la variable temps (1^{er} et 2^{ème} jour) le taux de germination atteint une moyenne de 87%

III.2.3 Analyse de la variance de la longueur :

L'ANOVA a été effectuée pour étudier les écarts de la longueur des différentes parties de la plante dans le milieu de culture.

III.2.3.1 Longueur des racines :

La figure 17 montre l'évolution des moyennes des longueurs des racines qui suit une montée proportionnelle en fonction du temps jusqu'à 144h puis se stabilise, tandis que la figure 18 montre la moyenne de la longueur racinaire dans les deux milieux d'hydrogels et le témoin.

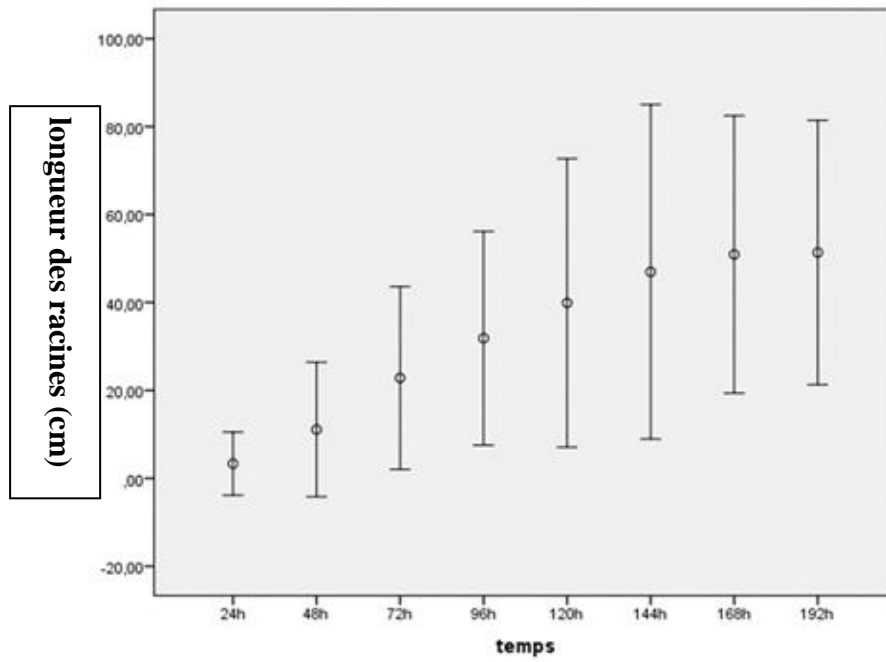


Figure 17. Evolution des écarts de la longueur des racines en fonction du temps

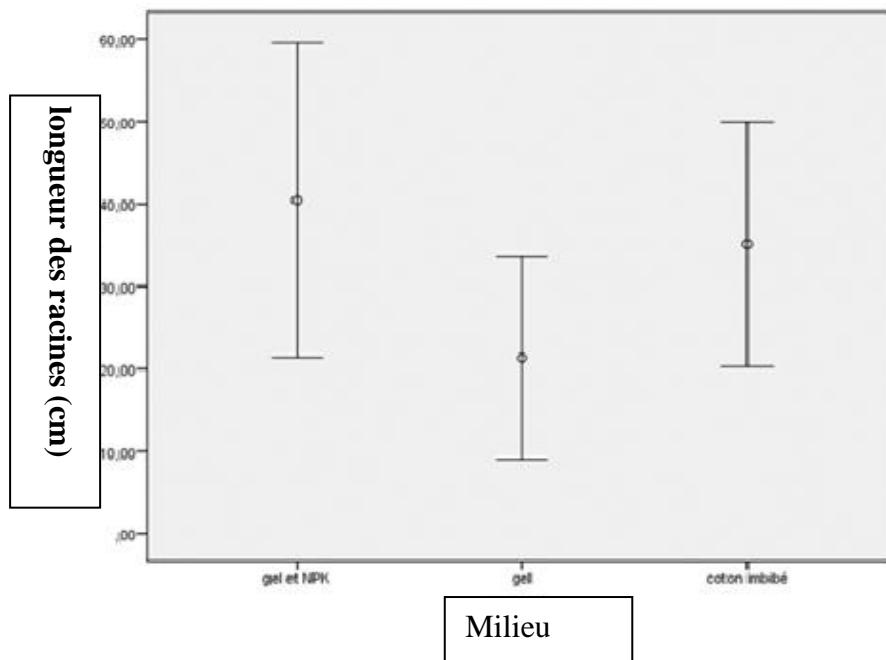


Figure 18. Ecarts de la longueur des racines dans les deux milieux de cultures et le Témoin

En fonction des milieux de cultures, les écarts sont très significatifs. La moyenne de la longueur des racines est classée comme suit :

$$L_{\text{racine}}(\text{enrichi}) > L_{\text{racine}}(\text{Témoin}) > L_{\text{racine}}(\text{Gel neutre})$$

III.2.3.2. Longueur des tiges :

L'évolution de la longueur des tiges a été suivie sur la figure 19. L'allongement des tiges semble progresser rapidement au cours des 120 premières heures pour évoluer plus lentement après jusqu'à s'estomper dès 168 heures, soit 7 jours. Il est à remarquer aussi que l'allongement des tiges est un peu plus lent que celui des racines.

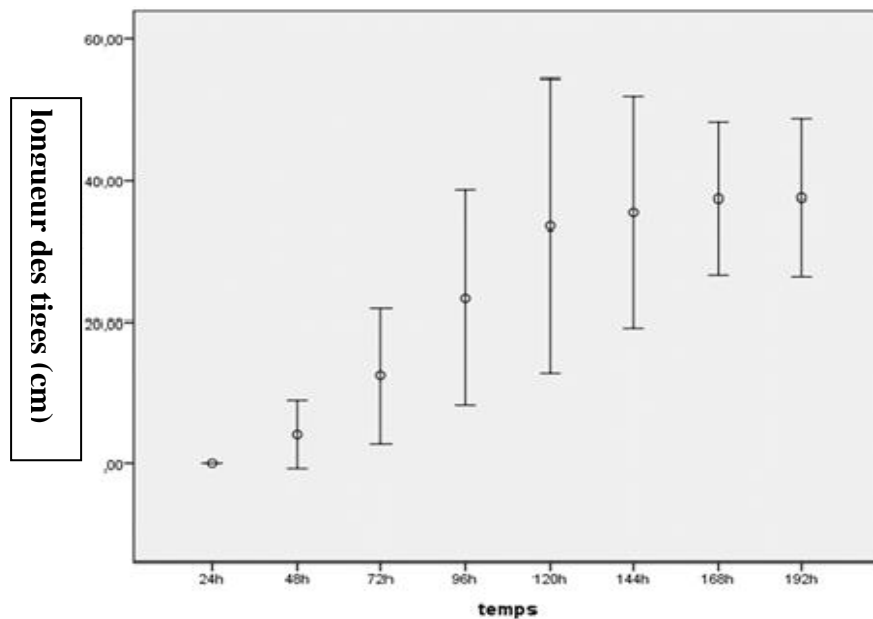


Figure 19. Evolution temporelle des moyennes de la longueur des tiges au cours de la germination

L'écart le plus important est observé pour les échantillons mesurés à 120h. Par ailleurs, la figure 20, montre le même comportement que celle représentant les écarts de la longueur des racines où le milieu enrichi semble le plus intéressant et devance le témoin puis le Gel neutre. A lui seul, l'écart est approximativement de 30mm .

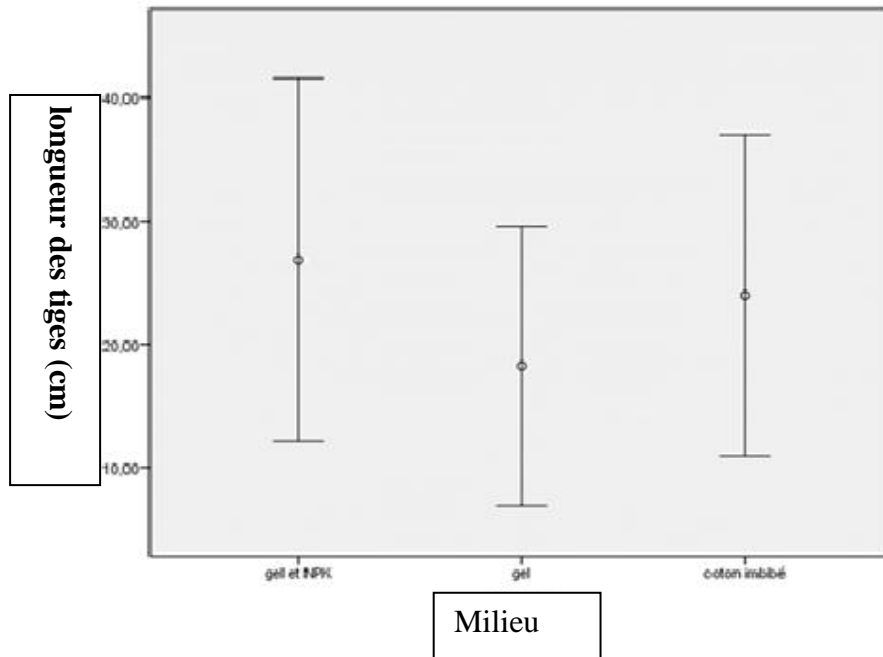


Figure 20. Ecart de la longueur des tiges dans les 2 milieux de cultures et le Témoin.

Quant au tableau 10, il présente les valeurs statistiques de la longueur des tiges lors de la germination où les variables dépendants sont le temps et les lots de graines de lentilles.

Tableau 10. Valeurs statistiques de la longueur des tiges dans le gel enrichi

ANOVA						
Source	Variable dépendante	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
<u>constante</u>	<u>milieu</u>	12677,607	1	12677,607	53,162	,000
	<u>temps</u>	486,000	1	486,000	88,714	,000

L'analyse de ce tableau montre que la $P_{\text{valeur}} = 0.00$ pour les deux variables qualitatives (temps et milieux). Etant donné que cette valeur est inférieure au seuil de risque 0.05, on peut dire que l'hypothèse de l'égalité est rejetée et les résultats sont significatifs.

III.2.3.3. Longueur totale :

Les figures 21 et 22 montrent respectivement l'évolution de la longueur des tiges en fonction du temps et en fonction du milieu de culture ou le témoin.

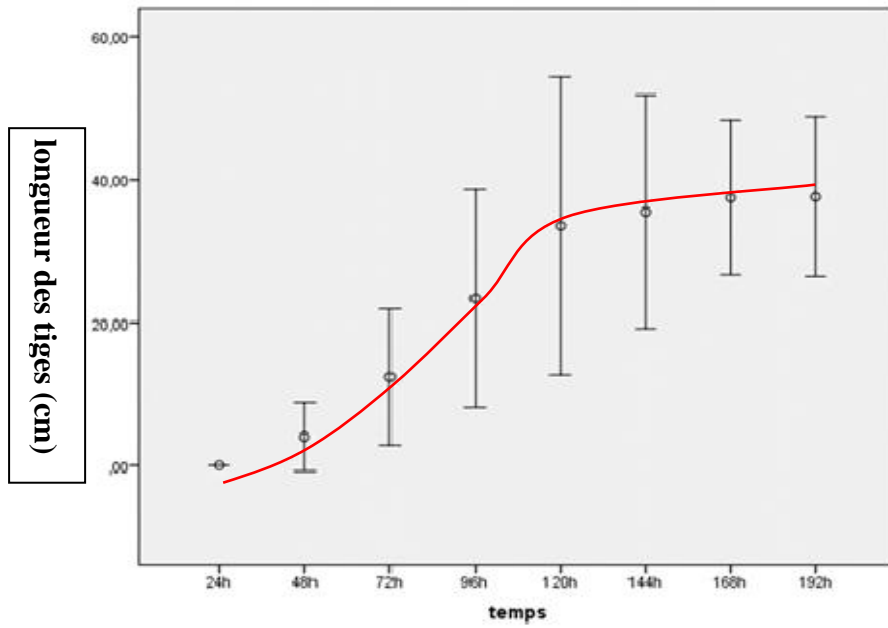


Figure 21. Evolution de la longueur des tiges en fonction du temps.

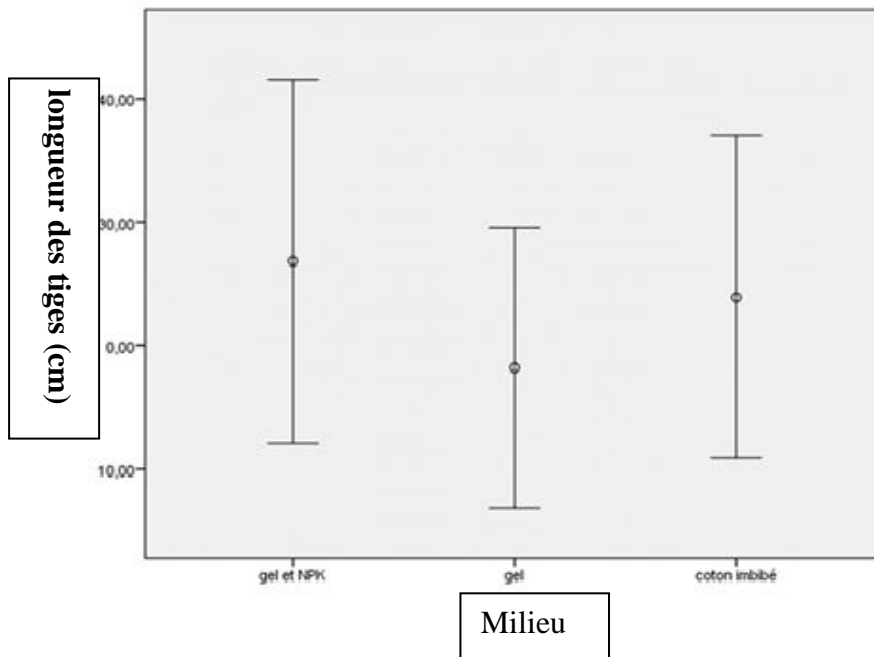


Figure 22. Evolution de la longueur des tiges en fonction de milieu de culture.

L'accroissement de la plante se fait rapidement jusqu'à 120 heures puis se redresse lentement pour atteindre le palier

III.3. Discussion générale

Le travail est porté sur l'utilisation de polymères hydro rétenteurs à base d'acrylamide de potassium neutre et enrichi en tant que supports germinatifs synthétiques.

L'hydrogel est décrit comme étant un polymère hydrophile ayant la capacité d'absorber 100– 300 fois leur poids en eau (**Kumaran et al., 2010**). Ils jouent un rôle vital dans les utilisations agricoles comme matériaux de construction pour créer un climat favorable à la croissance des plantes dans les régions arides et semi-arides (**Abobatta, 2018**) Certains auteurs recommandent des polymères hydrophiles pour la replantation dans le but de diminuer le stress hydrique (**Ruthrof et al., 2010**).

Des résultats obtenus, on constate que pour tous les paramètres étudiés dans le temps à savoir le taux de germination et la vitesse de germination, la longueur des racines et des tiges ainsi que la longueur totale, le gel d'acrylamide de potassium enrichi en NPK s'est montré le plus performant par rapport au gel neutre à base d'acrylamide de potassium seul et au témoin, ceci pourrait probablement revenir à l'interaction de l'engrais minéral avec le polymère constituant ainsi un milieu plus avantageux pour la germination et le développement des graines de lentilles

Cette hypothèse est confirmée par **El-Hady et al. (1981)** qui rapportent que les hydrogels réduisent le lessivage des engrais, ce qui semble se produire par interaction de l'engrais avec le polymère, également considéré comme un support potentiel pour un agent de protection comme pesticides et herbicides. Ces mêmes auteurs stipulent que les traitements supergel ont conduit à une augmentation du pourcentage et du taux de germination, de la hauteur de la plante, de la production de matière sèche, de l'activité de l'uréase et de la phosphatase dans le sol ainsi que de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et de l'absorption de N, P, K, Mn et Zn

Par ailleurs, ce polymère est aussi capable d'améliorer les propriétés physiques, meilleure aération, amélioration de la germination de la graine, création de système racinaire dans un sol plus lourd, et augmentation de la rétention d'eau dans les sols plus légers (**Borowski et al., 1998**).

Olszewski et al.(2012) estiment que l'utilisation de matières hydrophiles pourrait limiter l'impact négatif du déficit hydrique dans la production des légumineuses, ce qui réduit par conséquent l'impact du stress environnemental sur la physiologie des plantes. Un effet similaire dans la régulation du potentiel hydrique est utilisé pour le traitement d'hydratation avant la semence (amorçage, osmoconditionnement)

Les résultats obtenus sur le taux de germination in vitro ont révélé que l'hydrogel enrichi affiche un taux de germination de 92%. Selon **Wang et al. (2009)** les hydrogels améliorent la rétention des nutriments en raison de la libération de soluté de particules de polymère d'hydrogel et retardent la dissolution des engrais. De même, l'effet combiné de l'hydrogel avec différents types d'engrais à base de NPK traditionnel, de superphosphate et de chlorure de potassium sur semis de *Mimosa scabrella* a montré que leur croissance était favorisée en raison de l'augmentation de la rétention d'eau et de l'absorption des nutriments. (**Konzen et al.,2017**)

Aussi, Il a été reporté que les procédures d'hydratation-déshydratation-réhydratation et osmoconditionnement des semences dans l'hydrogel de polyacrylamide stimule l'activité de protéolyse dans les graines pendant la germination (**Alexeychuk et al.,1999**). Ce phénomène est probablement causé par la relation entre les conditions de stress et le gonflement des graines indiquant une contribution de l'amorçage des semences par augmentation du taux de germination dans les conditions semi-arides.

Concernant la croissance totale, notre hydrogel a enregistré un développement d'une longueur totale de 72,8cm, soit 43,6% plus grande que celle développée dans le témoin. Nos résultats sont confirmés par des études antérieurs qui indiquent la bonne capacité du polymère hydrogel pour augmenter la rétention d'eau, l'absorption d'eau et l'efficacité de l'utilisation de l'eau qui aident à réduire le stress hydrique des plantes et à mettre en œuvre des plantes performance résultant en une croissance accrue (**Belen-Hinojosa et al., 2004**)

De même pour le développement des racines, les graines de lentilles ont montré qu'au bout du 8^{ème} jour, une longueur racinaire d'une valeur maximale de 42,2 mm est atteinte dans le support à base d'hydrogel enrichi. Cette longueur est de 13,1% et 27,2% plus importante que celles obtenues dans le témoin et dans le gel neutre respectivement. Ces résultats corroborent avec ceux de **Helalia et al. (1989)** qui rapportent que l'utilisation d'hydrogels améliorent la viabilité des plantes, semences germination, ventilation et développement racinaire principalement en milieu aride

Quant au développement des tiges, le support germinatif à base d'hydrogel enrichi se révèle le plus intéressant avec une longueur d'une valeur de 63,6cm dépassant celle du témoin et du gel neutre avec des valeurs de 51,1cm et 39,4cm respectivement. Selon **Yazdani et al. (2007)**, il a été remarqué qu'il y a une augmentation significative de la croissance des plantes lors de l'utilisation des l'hydrogels.

De même, pour la vitesse de germination nos résultats prouvent que l'hydrogel enrichi est plus rapide en affichant une valeur de 40% qui reste supérieure à celle de l'hydrogel neutre et du témoin avec un pourcentage de 35% et 38% respectivement. Cependant, il a été noté que les hydrogels qui contiennent des engrais ont une libération d'eau contrôlée afin que la dose de l'engrais soit réglable dans le temps (**Ni B et al., 2009**). Le nutriment est disponible pour le plante sur une plus longue période de temps plutôt qu'une disponibilité rapide (**Rahman et al., 2001**) De plus, le superabsorbant hydrophile a un effet stimulant sur la croissance des plantes et sur le rendement (**EI-hady et al.,1990**).

Conclusion

Conclusion

Le travail a traité la synthèse physique d'un polymère hydrophile et du test de ses performances dans l'amélioration de la germination des graines de lentilles.

Les expériences menées ont montré que l'hydrogel synthétisé a un taux important de gonflement dans l'eau. Il a par ailleurs, une influence significative sur la germination et la croissance des graines de lentilles démontré par la valeur de P qui inférieure à 0,05 comparé l'évolution des graines dans le témoin. Il est à préciser que l'association d'un engrais minéral à cet hydrogel favorise d'une manière importante l'évolution de la germination. La croissance de quelques millimètres dès les premiers quatre jours en est une bonne preuve de l'efficacité de l'hydrogel en particulier de celui associé à l'engrais.

Concernant la croissance totale, notre hydrogel enrichi a enregistré un développement d'une longueur totale de 72,8cm, soit 43,6% plus grande que celle développée dans le témoin et un taux de germination plus élevé avec une différence de 5%. Ceci laisse suggérer une nette amélioration de la germination si le suivi avait duré plus longtemps

En perspectives et pour la suite de ce travail, nous recommandons les points suivants :

- 1- L'utilisation d'un nombre plus important de graines des légumineuses pour une meilleure estimation statistique ;
- 2- Le suivi de la germination et la croissance dans les conditions in vivo en poussant le milieu à des conditions plus sévères (stress hydrique) ;
- 3- Tester les performances de ces hydrogels sur d'autres espèces végétales ;
- 4- La formulation et la synthèse d'un bio-hydrogel biodégradable

Références Bibliographiques

1. **Abdelguerfi A.,2003-** “ Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture”. Rapport de Synthèse (Tome 5).Affiliation: Rapport de Consultation dans le cadre du Projet PNUD-FEM-MATE, ALG97/G31 “Plan d'Action et Stratégie Nationale sur la Biodiversité”.94p.
2. **Alexeychuk, G. N., Domash, V. I., Zabrejko, S. A., (1999)** swelling conditions on activity Effect of planting date and ha resting stage on seed quality of 'SC 701' maize under small-scale farming conditions, Akinnuoye-Adelabu, D.B.; Modi, A.T.,Volume 45, Number 2, July 2017, pp. 368-382(15)
3. **Amir Y., Haennib A.L., et Anon, A., 2016-** “Physical and biochemical differences in the composition of the seeds of Algerian leguminous crops“. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 466–471.
4. **Ammari S., (2011)** - Contribution à l'étude de germination des graines des plantes sahariennes broutées par le dromadaire. Mémoire Ingéniorat, univ Tlemcen 46p
5. **Baba-Aissa F., 2000-** “Encyclopedie des plantes utiles”. Ed. Librairie Moderne- Rouiba, 256-323.
6. **Bar-Cohen Y., 2001-** Electroactive polymer (EAP) actuators as artificial muscles-reality potential and challenges, DOI:[10.2514/6.2001-1492](https://doi.org/10.2514/6.2001-1492)
7. **Barrow G.M., 1979-** *Physical chemistry*, 4th Ed. McGraw-Hill, 832p.
8. **Baskin C.C et Baskin J.M., 1998-** Seeds: Ecology.biogeography and evolution of dormancy and germination . Academic Press, San Dieg .C A. 666p.
9. **Borowskil E., Michalek S., 1998-** *Effect of state produced hydrogel addition to peat substrate on yield and quality of lettuce fed with N-NO3 or N-NH4. Part I. Yield and gas exchange of plants.* Annales UMCS Sec. EEE *Horticultura*, 1998: 6: 43–50. ISSN (Online) 2083-6058.
10. **Bruneton, J.,(2005).** *les bases de la production végétale* tome 3, la plante .ED. Collection science et technique agricole paris, 304p
11. **Chaussant R. et Le Deunff Y., 1975A-** *La germination des semences.* Ed. Bordas, Paris, 232p.

Références Bibliographiques

12. **Chaussat R, Le Deunff Y., 1975B-***Microflora and seed deterioration in viability of seed*. Ed. Chapman and Hall Londres, 59-93.119P
13. **Cherfaoui. A., 1987-** Contribution à l'étude comparative de germination des semences de quelques Atriplex de provenance Djelfa. Thèse de magistère, université Kasdi Merbah, Ouargla, 65 p.
14. **Côme D., 1970-** Les obstacles à la germination (monographie et physiologie végétale). Ed. Masson et Cie, Paris, 162p.
15. **Côme D.,(1982)** - Les bases de l'agriculture biologique définitions, réglementations, histoire et état des lieux. IRD ED, 39 p.
16. **Direction des Services Agricole(D.S.A),.(2018)** Biostimulants de la plante et du sol. L'Union des Industries de la Fertilisation, Ferti-pratiques n°40 ,4p.
17. **El-hady O. A et Pieh, S. H., 1990-** Modified ed polyacrilamide hydrogel as conditioners sor sandy soils. Influence of growth. Egyptian journal of soil science, 30, 3: 423-432. ISSN 0302-6701.
18. **Escobosa Garcia M.I. et Bali K., 2014-** effect of the use of potassium polyacrylate clay soils for optimization of irrigation water in the valley of mexicali, baja california, mexico *International Journal of Current Research*, 6(11):9808-9809
19. **FAO., 2006-** Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques, INRAA. FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture).84p.
20. **FAO., 2016-** "Légumineuses Des graines nutritives pour un avenir durable".13-22,36-37, 51-52.
21. **Gordon, B., 2002-** "Protéines végétales" .Ed.Tech et Doc., Lavoisier, Paris, 298p.
22. **Hadj Sadok A., Nadji Moulai M. et Bouddah A., 2013-** Etude de l'influence des facteurs de formulation sur les propriétés viscoélastiques d'un gel à base de Carbopol, , Etude comparative d'efficacité de prétraitement des effluents d'une laiterie industrielle par coagulation-floculation et électrocoagulation en dynamique.25p
23. **Heller R., 1990-** *Physiologie végétale*. T.2: Développement. 4^{ème} E. Masson,Paris, 266p.

Références Bibliographiques

24. **Hilhorst, H.W., 2007-** Definitions and hypotheses of seed dormancy. In Seed development, dormancy and germination, K.Bradford and H.Nonogaki, Ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing), 392 p.
25. **Icarda,(2001).** Annual Report of International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo, Syria. 112 pp
26. **ITGC, 2013-** Culture de lentille. Disponible sur le web : www.itgc.dz
27. **Krug H., Liebig H. P. A. et Stutzel H., 2002-** *Gemüseproduktion*. Ulmer Verlag, Stuttgart, 217 p. ISBN 3-8001-3584-1.
28. **Kumaran S.S., Sathiyamurthy V. A. et Muthuvel I., 2010-** Efficacy of hydrophilic polymers on growth, yield and quality of tomato grown under water stress conditions. *Journal of Agricultural Sciences*, (3): 12–27. ISSN 0309-877X.
29. **Maly I., Bartos J., Hlusek J., Kopec K. et Petrikova K., 1998-** *Polni zelinařstvi*. Praha: Agrospoj. ISBN 8023942328,35P
30. **Mazliak P., 1982 –** *Croissance et développement. Physiologie végétale II*. Ed. Hermann, Coll. Méthodes, Paris, 465p
31. **Mazoyer M., 2002-** “ Larousse Agricole :le Monde agricole au XXIe siècle”. Ed. Mathilde majorel assistéede Nora Schott Thierry olivaux : dossiers : Institutions, t organisme et données économiques, pp.316-320
32. **Meyer S., Reeb C. et Bosdeveix R., 2004 -** *Botanique, biologie et physiologie végétale*. Ed. Moline, Paris, 461p.
33. **Michel V., 1997-** *La production végétale, les composantes de la production*. Ed. Danger, Paris,478p.
34. **Nagasawa, M., Murase, T., & Kondo, K.,(1965).** *Botanique, biologie et physiologie végétale The Journal of Physical Chemistry*, 69(11): 4005-4012. 0002-354X.
35. **Olszewski M. W., Goldsmith R. S., Guthrie E. K. et Young C. A., 2012-** Use of Sieved Compost Plus Hydrogel for Solid Matrix Priming of Carrot Seeds. *Compost Science & Utilization*, 20, 1: 5–10. ISSN 1065-657X.
36. **Osada Y. et Gong J.P., 1998-** Wet materials: Polymer gels. *Advanced materials* (10): 827 – 837.
37. **Penfield S .(2017).** Seed dormancy and germination. *Current Biology*. 2017;27(17):R874-R8. doi:10.1016/j.cub.2017.05.050

Références Bibliographiques

38. **Rehman A., Ahmad R. et Safdar M., 2011-** Effect of hydrogel on the performance of aerobic rice sown under different techniques. *Plant Soil and Environment*, 57, 7: 321–325. ISSN 1214-1178.
39. **Roudaut H. et Lefrancq E., 2005-** “Les légumes et fruits” *In* Alimentation theorique. Ed:Amazon, pp.149-151
40. **Ruthrof K. X, Douglas T. K., Calver M. C., Barber P. A., Dell B., et Hardy G. E. S., 2010-** Restoration treatments improve seedling establishment in a degraded Mediterranean-type Eucalyptus ecosystem. *Australian Journal of Botany*, 58, 8: 646–655. ISSN 00671924.
41. **Sanz-Gomez J., 2016-** Characterization and effects of cross-linked potassium polyacrylate as soil amendment. (Doctoral dissertation). Retrieved from idUS database, University of Seville, Spain. 234p.
42. **Schneider A. et Huyghe C., 2015-** *Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables*. Ed.Quae, Paris, 515p.
43. **Šebanek J., Grec L., Javor A., Švihra J., Kupka J., et Prochazka S., 1983-** *Fyziologie rostlin*. Praha: SZN. č. 3584, 07-067-83 03/15. 6p.
44. **Siegel A. et Fawcett B.,1978-** Transformation et utilisation des légumineuses alimentaires. Edition sur microfiche : S 1 Ottawa, CRDI ,1978.48-63.220P
45. **Sotner D., 2001 -** Les bases de la production végétale. Tome III : la plante et son amélioration, 3ème édition La boutique Science et Techniques Agricole, Paris, 189p.
46. **Strauss U. P., Gershfeld N. L. et Crook E. H.,1996-***The Journal of Physical Chemistry*, 60(5), 577-584.