



UNIVERSITÉ DE BLIDA 1
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département de Biotechnologie et Agro-écologie



MÉMOIRE DE MASTER

En Sciences Agronomiques

Spécialité : Phytopharmacie et protection des végétaux



**Potentialités du chimio-priming de la Luzerne et du Trèfle : promotion de
croissance et induction de résistance**

Présenté par :

BOUSSAHOUA Ahmed Ramzi

Devant le jury composé de :

SABRI K.	Maître Assistant – A	U. Blida 1	President
BOUCHENAK F.	Maître de Conférences – A	U. Blida 1	Promotrice
DEGAICHIA H.	Maître de Recherche – B	CRAPast- Djelfa	Co-Promoteur
DJEMAI I.	Maître de Conférences – A	U. Blida 1	Examineur

JUILLET, 2023

RESUME

Potentialités du chimio-priming de la Luzerne et du Trèfle : promotion de croissance et induction de résistance

L'étude a montré que la durée de priming avait un impact significatif sur la germination des graines de Luzerne et de Trèfle. Pour la Luzerne, une durée de priming de 4 heures avec une concentration de zinc de 0,15 g/l et une durée de priming de 12 heures avec une concentration de zinc de 0,15 g/l ont conduit à une amélioration significative de la germination. Pour le Trèfle, une durée de priming de 12 heures avec une concentration de cobalt de 0,08 g/l a conduit à une amélioration significative de la germination. Cependant, il est important de noter que les résultats ont montré des variations selon les différentes conditions expérimentales. Par exemple, pour la Luzerne, une durée de priming de 4 heures avec une concentration de cobalt de 0,08 g/l a conduit à une période de latence de 24 heures. Pour le Trèfle, une durée de priming de 4 heures avec une concentration de zinc de 0,10 g/l a conduit à une période de latence de 24 heures. Les résultats de l'étude suggèrent que la durée de priming doit être adaptée en fonction de la concentration de l'élément chimique utilisé et de l'espèce végétale étudiée. Pour la Luzerne, une durée de priming de 4 heures avec une concentration de zinc de 0,15 g/l et une durée de priming de 12 heures avec une concentration de zinc de 0,15 g/l ont conduit à une amélioration significative de la germination. Pour le Trèfle, une durée de priming de 12 heures avec une concentration de cobalt de 0,08 g/l a conduit à une amélioration significative de la germination

Mot clés : chimioprimer ; légumineuse ; germination ; stress hydrique

ABSTRACT

Potentialities of Alfalfa and Clover chemopriming: growth promotion and resistance induction

The study showed that priming duration had a significant impact on the germination of Alfalfa and Clover seeds. For Alfalfa, a priming duration of 4 hours with a zinc concentration of 0.15 g/l and a priming duration of 12 hours with a zinc concentration of 0.15 g/l led to a significant improvement in germination. For Clover, a priming duration of 12 hours with a cobalt concentration of 0.08 g/l led to a significant improvement in germination. However, it is important to note that the results showed variations under different experimental conditions. For example, for Alfalfa, a priming duration of 4 hours with a cobalt concentration of 0.08 g/l led to a latency period of 24 hours. For Clover, a priming duration of 4 hours with a zinc concentration of 0.10 g/l led to a latency period of 24 hours. In summary, the results of the study suggest that the priming duration should be adapted based on the concentration of the chemical element used and the plant species studied. For Alfalfa, a priming duration of 4 hours with a zinc concentration of 0.15 g/l and a priming duration of 12 hours with a zinc concentration of 0.15 g/l led to a significant improvement in germination. For Clover, a priming duration of 12 hours with a cobalt concentration of 0.08 g/l led to a significant improvement in germination.

Keywords: chemopriming; legume; germination; water stress

ملخص

تشير نتائج الدراسة إلى أن مدة التحفيز يجب أن تتكيف بناءً على تركيز العنصر الكيميائي المستخدم ونوع النبات المدروس. بالنسبة للفلالبرسيمي، أظهرت مدة التحفيز لمدة 4 ساعات مع تركيز الزنك 0.15 جرام/لتر ومدة التحفيز لمدة 12 ساعة مع تركيز الزنك 0.15 جرام/لتر تحسناً كبيراً في الانبات. بالنسبة للنخلة، أظهرت مدة التحفيز لمدة 12 ساعة مع تركيز الكوبالت 0.08 جرام/لتر تحسناً كبيراً في الانبات.

مع ذلك، من المهم أن نلاحظ أن النتائج أظهرت تبايناً تحت ظروف التجربة المختلفة. على سبيل المثال، بالنسبة للفلال البرسيمي، أظهرت مدة التحفيز لمدة 4 ساعات مع تركيز الكوبالت 0.08 جرام/لتر فترة تأخير قدرها 24 ساعة. بالنسبة للنخلة، أظهرت مدة التحفيز لمدة 4 ساعات مع تركيز الزنك 0.10 جرام/لتر فترة تأخير قدرها 24 ساعة.

لخلاصة القول، تشير نتائج الدراسة إلى أنه يجب تكيف مدة التحفيز بناءً على تركيز العنصر الكيميائي المستخدم ونوع النبات المدروس. بالنسبة للفلال البرسيمي، أظهرت مدة التحفيز لمدة 4 ساعات مع تركيز الزنك 0.15 جرام/لتر ومدة التحفيز لمدة 12 ساعة مع تركيز الزنك 0.15 جرام/لتر تحسناً كبيراً في الانبات. بالنسبة للنخلة، أظهرت مدة التحفيز لمدة 12 ساعة مع تركيز الكوبالت 0.08 جرام/لتر تحسناً كبيراً في الانبات.

الكلمات الرئيسية: العلاج الكيميائي. البقول. تثبت. ضغط الماء

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre reconnaissance à notre promotrice Dr. BOUCHENAK F. et co-promoteur Dr. DEGAÏCHIA H. Qui nous ont aidé tout en nous laissant une grande liberté pour gérer mon projet, ils ont toujours été présents et disponible quand cela s'avérait nécessaire.

A Mme SABRI K. qui a acceptée de présider le jury. Ainsi, nous remercions le Dr. DJEMAI I. qui a acceptée d'examiner notre modeste travail.

Nous remercions également Mr. Walid Ingénieur au laboratoire d'Amélioration Végétale (Blida 1) qui, grâce à sa disponibilité, ce projet a pu voir le jour.

Nous remercions également les ingénieurs des laboratoires du centre de recherche en agropastoralisme CRAPast pour leur aide si précieuse et spécialement Mr. BAKRIA et Mr. RAHEM

Nous adressons nos remerciements à tout le staff administratif et le corps enseignant du département des biotechnologies et sciences agronomiques.

Mr. BOUSSAHOUA

DEDICACE

A ma famille et amis ...

A mes Parents

A mon tuteur et ami Housseem Degaichia

A moi-même...

A toute personne qui a pris la peine de faire sortir ce document des rayons de la bibliothèque.

Ramzi

TABLE DES MATIERES

RESUME	
ABSTRACT	
INTRODUCTION.....	1
1-1 Présentation générale des légumineuses :	4
1-2 Importance des légumineuses :	4
1.2.1. Dans les systèmes de culture :	4
1.2.2. Intérêt de la fixation symbiotique d'azote :	4
1.2.3. La teneur en protéines :	4
2 La luzerne et le trèfle :	5
2.1 La luzerne :	5
Le Trèfle :	7
2-1 Généralités sur le trèfle :	7
1-2 Description botanique du trèfle :	8
2-2 Importance du trèfle :	8
3. Le stress hydrique : effets et stratégies d'adaptation:	10
1.1. Effet du stress hydrique sur la germination :	11
2. Mécanisme de résistance à la sécheresse :	11
Partie 3 La germination :	13
1-1 Définition de la graine :	13
1-2 Morphologie de la graine :	13
1-3 Définition de la germination :	14
1-4 Conditions de la germination	14
1.5. Types de germination	15
1-6 Différents obstacles de la germination.....	16
Partie 4: Les éléments en traces métalliques et leur effet sur les plantes :	17
1-1 Définition des éléments en traces métalliques (ETM).....	17
1-2- Classification des ETM et leur toxicité:	17
1-3 Tolérance aux métaux lourds chez les végétaux :	18
Partie 3 chimio-priming :	18
Définition du chimio-priming :	18
Le zinc :	20
Le cobalt :	21
2-1 Objectif du travail :	24
2 -2 Matériel végétal :	24
2-3 Priming la luzerne et du trèfle.....	25
2-3-1 Stérilisation et choix des graines :	25
2-3-2 Application du priming.....	25

2-3-4 Cinétique de germination	26
2-3-5 Taux de germination	26
2-3-6 Moyenne de germination journalière	27
2-3-7 Vitesse de germination.....	27
2-3-8 Taux cumulé de la germination.....	27
2-4 Analyses statistiques :.....	27
CHAPITRE III RESULTATS & DISCUSSION.....	29
Cinétique de germination :	29
Taux de germination final :	31
Temps moyen de germination	32
Le taux cumulé de germination	34
Moyenne de germination journalière	35
DISCUSSION :.....	37
CONCLUSION	41
ANNEXES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Caractéristiques morphologiques de <i>Medicagosativa L</i> (Tela botanica, 2022)	6
Figure 2: Caractéristiques morphologiques du trèfle blanc (<i>Trifolium repens L.</i>)(Tela botanica, 2022)	8
Figure 3 : Morphologie d'une graine de Fabaceae	14
Figure 4: Priming (a) et mise en germination (b) des graines de la luzerne et du trèfle	26
Figure 5: l'effet du chimiopriming sur la cinétique de germination des graines de la luzerne et du trèfle.....	30
Figure 6: Effet du chimiopriming sur le taux de germination des graines du trèfle et de la luzerne soumis en stress hydrique.	32
Figure 7: l'effet du chimiopriming sur le temps moyen de germination de la luzerne et du trèfle en condition de stress hydrique	33
Figure 8 : Effet du chimiopriming sur le taux cumulé de germination de la luzerne et du trèfle soumis en stress hydrique.....	35
Figure 9 : Effets du chimiopriming sur la variation de la moyenne de germination journalière de la luzerne et du trèfle soumis en stress hydrique.....	36

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Position systématique du trèfle.....	24
Tableau 2: Position systématique de la luzerne	24
Tableau 3: Tableau des concentrations en ETM utilisés	26

INTRODUCTION

Le chimio-priming est une technique agricole prometteuse qui consiste à traiter les semences avec des composés chimiques. Cette approche vise à améliorer la germination, la croissance et le rendement des cultures. En utilisant des agents chimiques spécifiques, le chimio-priming peut optimiser l'utilisation des nutriments, renforcer la résistance des plantes aux maladies et aux stress environnementaux, et favoriser une croissance plus vigoureuse. Dans cette introduction, nous explorerons les avantages et les mécanismes du chimio-priming, ainsi que ses perspectives d'application dans l'agriculture moderne.

L'utilisation du chimio-priming avec du zinc et du cobalt est une approche novatrice et prometteuse dans le domaine de l'agriculture. Le chimio-priming consiste à traiter les semences avec des composés chimiques pour améliorer leur germination, leur croissance et leur rendement. Le zinc et le cobalt sont deux éléments essentiels pour le développement des plantes, jouant un rôle crucial dans de nombreux processus biochimiques (Sangeeta Kanojia, et al. (2021). "Chelated Zinc and Cobalt in Seed Priming Enhance Seedling Establishment and Yield of Chickpea." *Frontiers in Plant Science*, 12,)

Le zinc est un micronutriment nécessaire à la synthèse des protéines, à la formation des hormones de croissance et à l'activation de nombreuses enzymes. En chimio-priming, l'application de zinc sur les semences permet d'optimiser leur absorption et leur utilisation par les plantes, favorisant ainsi une croissance plus saine et plus vigoureuse. (Hafeez Rehman, et al. (2018). "Effect of Cobalt and Zinc Seed Priming on Growth, Yield and Quality of Rice (*Oryza sativa* L.)." *Journal of Plant Nutrition*, 41(11))

De même, le cobalt est un élément clé dans la fixation de l'azote atmosphérique par les bactéries présentes dans les nodules des légumineuses. Le chimio-priming au cobalt favorise la colonisation des racines par ces bactéries bénéfiques, améliorant ainsi l'apport en azote pour les plantes et leur croissance.

L'utilisation conjointe du zinc et du cobalt en chimio-priming présente de nombreux avantages. Elle permet d'optimiser l'absorption et l'utilisation de ces éléments par les plantes, favorisant ainsi leur développement et leur résistance aux stress environnementaux. De plus, cette approche peut contribuer à réduire l'utilisation

d'engrais chimiques et à promouvoir des pratiques agricoles plus durables. (Lutful Hassan, et al. (2017). "Impact of Micronutrient Seed Priming (Zinc, Iron and Cobalt) on Yield and Nutrient Uptake of Bread Wheat." PLoS ONE, 12)

CHAPITRE 1 :

RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

1-1 Présentation générale des légumineuses :

Les légumineuses occupent la deuxième place, après les céréales, pour les terres cultivées et la production. En 2004, plus de 300 millions de tonnes de légumineuses à graines ont été produites sur une superficie de 190 millions d'hectares, soit 13% des terres cultivées (Ben Friha, 2008).

La famille des légumineuses est extrêmement diverse et est divisée en trois sous-familles : les Mimosoideae, les Caesalpinioideae et les Papilionoideae, comme le soulignent Doyle et Luckow (2003). On estime qu'elle comprend environ 20 000 espèces différentes, selon Gepts et al. (2005).

Parmi les sous-familles, les Papilionoideae regroupent les espèces cultivées les plus importantes sur le plan économique, notamment le soja (*Glycine max*), le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le pois (*Pisum sativum*), la luzerne (*Medicago sativa*), l'arachide (*Arachis hypogaea*), le pois chiche (*Cicer arietinum*) et la fève (*Vicia faba*), selon Broughton et al. (2003).

1-2 Importance des légumineuses :

1.2.1. Dans les systèmes de culture :

Les légumineuses jouent un rôle essentiel dans les systèmes de culture en raison de leur capacité à enrichir le sol en azote grâce à la symbiose Rhizobium-légumineuses, avec un apport annuel d'azote dans les terres estimées de 200–300 kg N ha⁻¹ (Ben Friha, 2008). Cela réduit la dépendance aux engrais chimiques, améliore la fertilité du sol et favorise une agriculture plus durable. De plus, les légumineuses peuvent être utilisées en rotation avec d'autres cultures pour prévenir les maladies et les ravageurs, améliorer la structure du sol et augmenter les rendements des cultures suivantes.

1.2.2. Intérêt de la fixation symbiotique d'azote :

La fixation symbiotique d'azote réalisée par les légumineuses en collaboration avec des bactéries rhizobiums permet une utilisation plus efficace de l'azote, favorisant la croissance des plantes et réduisant les impacts environnementaux liés à l'utilisation d'engrais chimiques (Udvardi et al., 2005)

1.2.3. La teneur en protéines :

Dans l'alimentation humaine, les légumineuses et les céréales sont considérées comme des sources de protéines complémentaires en raison de leurs profils d'acides

aminés distincts. Les protéines des céréales sont souvent déficientes en lysine, tandis que les légumineuses à graines sont déficientes en acides aminés sulfurés et en tryptophane, (Wang et al. 2003). C'est pourquoi, dans de nombreux centres de domestication, les légumineuses et les céréales ont été associées, permettant ainsi de combiner les acides aminés essentiels et de fournir une source de protéines plus complète (Gepts, 2004). En ce qui concerne le cheptel, les légumineuses fourragères jouent un rôle important en tant que source d'alimentation riche en protéines, fibres et énergie. Elles sont utilisées comme base pour la production de lait et de viande, fournissant aux animaux des nutriments essentiels pour leur croissance et leur développement, (Ben Friha 2008).

2 La luzerne et le trèfle :

2.1 La luzerne :

2.1.1. Généralités sur la luzerne:

La luzerne (*Medicago sativa* L.) est une légumineuse de grande valeur (Planquert, 1966) qui présente des qualités agronomiques et zootechniques incontestées (Mauriès et Paillat, 1997). Son origine remonte à environ 9 000 ans (Thenard., Mauriès, 2002), et la variété la plus productive est la *Medicago sativa* L., à moins de conditions particulières du sol (Huygue, 1966). La luzerne est généralement considérée comme originaire d'une région englobant l'Asie mineure, la Transcaucasie, l'Iran et les hauts plateaux du Turkménistan (Whyte et al., 1955; Bolton, 1962; Wilsie, 1962), avec l'Iran comme centre d'origine le plus souvent cité. Elle s'est répandue dans le Bassin Méditerranéen, puis en Europe occidentale, et a été introduite en Amérique au siècle dernier (Lapeyronie, 1982). La luzerne cultivée comprend deux sous-espèces botaniques différentes de *Medicago sativa* L.: la luzerne commune, *Medicago sativa* à fleurs pourpres, qui s'est développée dans les zones arides, et la luzerne faucille, *Medicago falcata* à fleurs jaunes, qui présente une résistance remarquable au froid et aux maladies, ainsi que dans des conditions semi-désertiques (Sinskaya, 1950). Les luzernes issues du croisement de ces deux sous-espèces, *Medicago media*, sont multicolores, présentent des caractères intermédiaires, sont vivaces et utiles (Bolton et al., 1962).

Elle est appréciée pour sa capacité à fixer l'azote atmosphérique dans le sol grâce à une symbiose avec des bactéries spécifiques. La luzerne est une source précieuse de

protéines, de fibres et de nutriments pour l'alimentation animale et présente également des avantages pour la rotation des cultures.

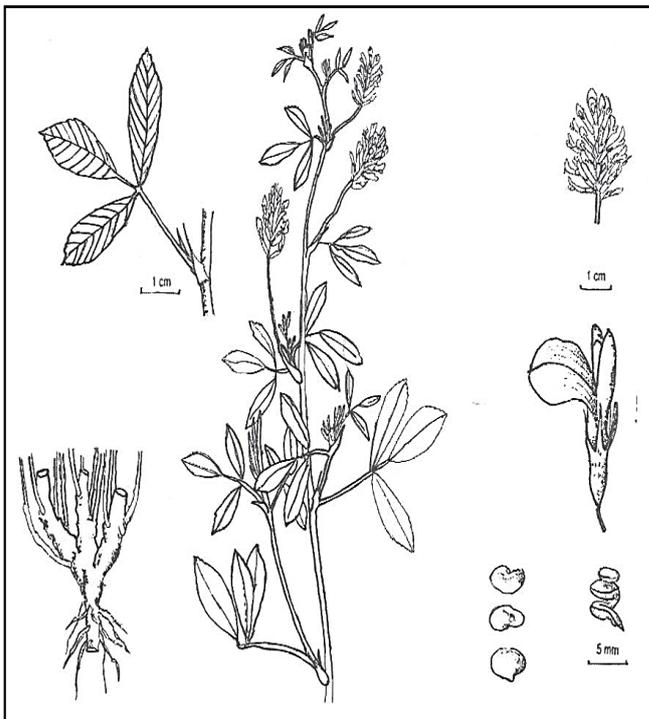


Figure 1 : Caractéristiques morphologiques de *Medicago sativa* L(Tela botanica, 2022)

2.1.2. Intérêts de la luzerne :

2.1.2.1 Importance nutritionnel :

La luzerne peut contenir jusqu'à 20-25% de protéines, ce qui en fait une source précieuse de protéines végétales pour l'alimentation humaine et animale (Morais et al., 2016). De plus, la luzerne est riche en fibres alimentaires, ce qui peut contribuer à la santé digestive (Assis et al., 2021).

La luzerne est également une source de vitamines et de minéraux essentiels. La luzerne contient des vitamines A, C, E et K, ainsi que des minéraux tels que le calcium, le potassium et le magnésium (Assis et al., 2021). Ces nutriments jouent un rôle crucial dans divers processus biologiques et contribuent à la santé globale.

1-3-3 Importance industrielle et biotechnologique:

La luzerne (*Medicago sativa*) présente également une importance dans l'industrie agricole, l'énergie renouvelable et la recherche biotechnologique.

- **Industrie du fourrage** : La luzerne est largement utilisée dans l'industrie du fourrage en raison de sa croissance vigoureuse et de sa haute valeur nutritive. Elle est utilisée pour l'alimentation des animaux d'élevage, tels que les vaches laitières, les chevaux et les moutons. La luzerne fournit une source durable et rentable d'alimentation animale, contribuant ainsi à l'industrie de l'élevage.
- **Production de biomasse** : La luzerne est également utilisée pour la production de biomasse. En raison de sa croissance rapide et de sa capacité à fixer l'azote atmosphérique, la luzerne peut être cultivée comme culture énergétique. Elle peut être utilisée comme source de biomasse pour la production de biocarburants, de bioplastiques et d'autres produits biobasés.
- **Amélioration génétique** : La luzerne est une plante modèle en recherche biotechnologique en raison de sa génomique avancée et de sa capacité à fixer l'azote. Des travaux de recherche sont en cours pour améliorer les caractéristiques agronomiques de la luzerne, telles que la résistance aux maladies, la tolérance aux stress environnementaux et l'efficacité de la fixation d'azote, par des approches de génie génétique et de sélection assistée par marqueurs.

Le Trèfle :

2-1 Généralités sur le trèfle :

Le trèfle blanc (*Trifolium repens* L.) est une légumineuse rampante, herbacée et pérenne. Dans les régions plus chaudes, elle peut se comporter comme une annuelle qui pousse en été. Le trèfle blanc est une légumineuse fourragère largement utilisée, cultivée seule ou en mélange avec des graminées, dans des peuplements pluviaux ou irrigués. Le trèfle blanc est un fourrage précieux, facile à manger et à haute valeur nutritive : il est de meilleure qualité que les légumineuses tropicales. Le trèfle blanc peut être utilisé comme pâturage, foin et ensilage pour de nombreuses classes de bétail (Heuzé et al., 2019). Il fournit plusieurs services environnementaux tels que la fixation de l'azote et la protection contre l'érosion des sols. En raison de ces caractéristiques, le trèfle blanc présente un intérêt particulier dans les systèmes d'agriculture biologique (Heuzé et al. 2019).

Le trèfle, une plante appartenant à la famille des Fabacées, est largement reconnu pour sa capacité à fixer l'azote atmosphérique dans le sol grâce à ses nodules

racinaires. Il est utilisé comme culture fourragère et couvre-sol, offrant des avantages tels que l'amélioration de la fertilité du sol, la réduction de l'érosion et la contribution à la biodiversité. Le trèfle est également prisé pour sa teneur élevée en protéines et sa valeur nutritive pour le bétail.

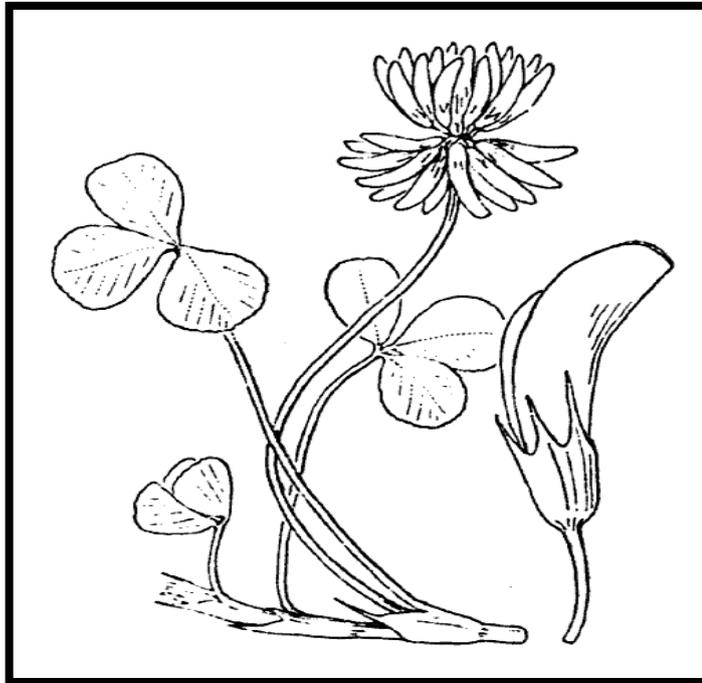


Figure 2: Caractéristiques morphologiques du trèfle blanc (*Trifolium repens* L.)(Tela botanica, 2022)

1-2 Description botanique du trèfle :

Caractéristiques générales :Le trèfle est une plante herbacée vivace ou annuelle de petite taille, généralement de moins de 50 centimètres de hauteur. Il présente une tige ramifiée et feuillue, avec des feuilles composées trifoliées caractéristiques. Chaque feuille est constituée de trois folioles distinctes attachées à une courte tige commune.

2-2 Importance du trèfle :

Importance nutritionnel

Le trèfle est apprécié pour sa teneur en protéines et en fibres, ce qui en fait une source précieuse d'alimentation pour le bétail. Le trèfle rouge (*Trifolium pratense*) et le trèfle blanc (*Trifolium repens*) contiennent en moyenne environ 15-25% de protéines brutes, ce qui en fait une source de protéines de haute qualité pour l'alimentation animale (Choung et al., 2001). De plus, le trèfle présente une teneur élevée en fibres, ce qui peut contribuer à une meilleure digestion chez les animaux.

Importance industrielle et biotechnologique:

Le trèfle présente une certaine importance industrielle et biotechnologique. Voici quelques points clés :

- **Industrie du fourrage** : Le trèfle, en particulier les espèces telles que le trèfle rouge (*Trifolium pratense*) et le trèfle blanc (*Trifolium repens*), est utilisé dans l'industrie du fourrage en raison de sa haute valeur nutritive pour le bétail. Il est souvent cultivé en association avec d'autres graminées pour fournir un fourrage équilibré en termes de protéines, de fibres et d'autres nutriments nécessaires à une alimentation animale saine.
- **Amélioration de la fertilité des sols** : Le trèfle, en tant que légumineuse, possède la capacité de fixer l'azote atmosphérique dans le sol grâce à une symbiose avec des bactéries rhizobium. Cette fixation d'azote contribue à améliorer la fertilité du sol et à réduire le besoin d'engrais azotés synthétiques. De plus, les résidus de trèfle laissés dans le sol après la récolte contribuent à l'enrichissement en matière organique, ce qui favorise une meilleure structure et santé du sol.
- **Utilisation en tant que plante de couverture et de rotation des cultures** : Le trèfle est souvent utilisé comme plante de couverture dans les systèmes agricoles pour réduire l'érosion du sol, supprimer les mauvaises herbes, améliorer la qualité du sol et prévenir la perte de nutriments. De plus, il est utilisé comme culture en rotation avec d'autres cultures pour aider à la suppression des maladies et des parasites, ainsi que pour fournir des bénéfices agronomiques tels que l'amélioration de la structure du sol et l'augmentation de la matière organique.

Importance environnementale :

Le trèfle présente une importance environnementale significative telles que :

- **Fixation d'azote et amélioration de la fertilité des sols** : Le trèfle, en tant que légumineuse, possède une relation symbiotique avec des bactéries rhizobium qui lui permet de fixer l'azote atmosphérique dans le sol. Cette fixation d'azote contribue à l'enrichissement du sol en nutriments essentiels, réduisant ainsi le besoin d'engrais azotés synthétiques. Cela favorise une agriculture plus durable et réduit les risques de pollution des eaux souterraines par les nitrates provenant des engrais.
- **Conservation des sols et prévention de l'érosion** : En raison de son système racinaire dense et étendu, le trèfle aide à améliorer la structure du sol et à prévenir

l'érosion. Les racines du trèfle agissent comme des ancrages, renforçant la stabilité du sol et réduisant le risque de perte de sol par l'érosion hydrique ou éolienne. Cela contribue à la conservation des sols, à la préservation de leur fertilité et à la réduction de la dégradation des terres.

- **Biodiversité et habitats pour la faune** : Les prairies de trèfle et les cultures associées à base de trèfle fournissent un habitat favorable à une grande variété d'organismes, tels que les insectes pollinisateurs, les oiseaux et les petits mammifères. La présence de trèfle dans les paysages agricoles contribue à soutenir la biodiversité, en offrant des sources de nourriture et des habitats pour ces espèces.

3. Le stress hydrique : effets et stratégies d'adaptation:

Le stress hydrique a été défini comme une baisse ou un excès de la disponibilité de l'eau, traduisant par une réduction de la croissance de la plante et/ou de sa reproduction par rapport au potentiel du génotype. La contrainte hydrique est le facteur ou l'ensemble de facteurs ayant pour conséquence le stress. D'autres auteurs limitent la définition du stress aux seules conditions correspondant à une hydratation suboptimale des tissus (Lamaze et *al.*, 1994). L'installation d'une sécheresse se manifeste par la combinaison d'une part, de la restriction de la disponibilité en eau du sol et d'autre part, de l'augmentation de la demande évaporatrice (Kiani, 2007). Le manque d'eau peut se manifester aussi bien dans le sol que dans l'atmosphère (Scoric, 1990). Généralement, la sécheresse du sol est lente (Larcher, 1995), mais la diminution de l'humidité de l'air peut parfois être rapide (Yokota et *al.*, 2006). D'un point de vue physique, le stress hydrique résulte d'un abaissement du potentiel hydrique dans l'air et/ou dans le sol en dessous d'une certaine valeur, dépendant du génotype, du phénotype et des caractéristiques du milieu (type de sol, température, vent) (Lamaze et *al.*, 1994).

Le manque d'eau ou déficit hydrique représente le stress abiotique le plus sévère auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de productions des zones arides et semi- arides (Chennafi et *al.*, 2006).

Les effets physiques, chimiques et physiologiques du stress hydrique dépendent du degré et du temps des conditions de sécheresse en relation avec le stade de développement de la plante (Hamon, 2007). D'autre part, la réponse de la plante à la sécheresse dépend de l'espèce, le génotype, la durée et la sévérité de la

perte d'eau (Yokota et *al.*, 2006).

1.1. Effet du stress hydrique sur la germination :

En absence d'humidité suffisante, la graine même si elle est correctement placée dans le sol, elle n'évolue pas, retardant ainsi, la levée de la culture et en cas de persistance de sécheresse la situation peut se traduire par une absence de levée (Feliachi et *al.*, 2001). La sécheresse est l'un de principaux facteurs environnementaux qui affecte grandement la germination des espèces cultivées et réduit leur survie au cours des stades précoces de développement.

Au cours de cette phase, c'est le métabolisme des carbohydrates qui se trouve fortement affecté (Ingram et *al.*, 1996), à travers la perturbation du fonctionnement enzymatique impliqué dans ce processus. Il a été démontré que le glyceraldéhyde-3-déshydrogénase cytotogiques est fortement induite par le déficit hydrique ce qui est l'origine d'un changement de l'acuité de la glycolyse (Velasco et *al.*, 1994).

De nombreux gènes contrôlant le métabolisme des sucres simples sont régulés en amont par les variations de l'hydratation cellulaire. Quoique l'hydrolyse de l'amidon et la libération des sucres réducteurs énergétiques constituent une étape incontournable dans le déroulement de la germination, mais indirectement la disponibilité des carbohydrates pendant cette phase assure un rôle de protection contre le déficit hydrique. Ils constituent les principaux osmolytes impliqués dans l'ajustement osmotique, assurent une protection des macromolécules essentiellement membranaires (Bray et *al.*, 1989).

2. Mécanisme de résistance à la sécheresse :

La résistance à la sécheresse est un terme générique qui comprend plusieurs processus. On en distingue classiquement quatre: L'échappement, la restauration, la tolérance à la déshydratation et l'évitement. Jones (1992) in (Kiani, 2007), a défini et établi une classification des 'stratégies' d'adaptation des plantes à la sécheresse : la première consiste à 'éviter' le stress hydrique et l'autre à le 'tolérer'.

Les mécanismes d'évitement réduisent l'impact d'un stress bien qu'il soit présent dans l'environnement. La première façon d'éviter la sécheresse est l'esquive. L'esquive permet à la plante de réduire ou d'annuler les effets de la contrainte hydrique par une bonne adaptation de son cycle de culture à la longueur de la saison des pluies. Le développement rapide avec une floraison précoce permet à la plante d'éviter les

périodes sèches. Cette stratégie appliquée aux espèces cultivées a amené à décaler la date de semis et/ou à sélectionner des variétés plus précoces permettant d'éviter les déficits hydriques de fin de cycle. La deuxième façon d'éviter la sécheresse est la capacité de la plante à maintenir un état hydrique satisfaisant. La stratégie de l'évitement est principalement liée, d'une part, à la réduction de la transpiration et d'autre part, à une optimisation de l'absorption d'eau par les racines.

Une réduction de la croissance foliaire est bénéfique aux plantes soumises à un stress hydrique, puisque la surface des feuilles est diminuée et la transpiration réduite. Habituellement, l'effet exercé par un potentiel hydrique faible est attribué à une perte de turgescence des cellules des zones en croissance (Nabors, 2008). Du fait que le grandissement cellulaire intervenait suite à une entrée d'eau qui après la relaxation du stress de la paroi cellulaire, provoquait la pleine turgescence des cellules, donc un apport réduit de l'eau se traduit par la réduction de la croissance (Hopkinsw, 2003). En plus, la réduction de la perte en eau par la fermeture stomatique est un moyen d'adaptation des plantes au stress hydrique.

L'efficacité de l'extraction de l'eau du sol par les racines figure parmi les types d'adaptation permettant à la plante d'éviter ou, plus exactement, de retarder la déshydratation de ses tissus (Turner et *al.*, 2001). L'augmentation de l'absorption peut être due à l'extension de l'absorption en profondeur et en surface, à la vitesse de croissance et de ramification des racines (Laurent et Sané, 2007).

La tolérance exige que l'organisme soit en équilibre thermodynamique avec le stress, ce qui signifie que les conditions qui règnent dans la plante sont en équilibre avec les conditions de l'environnement externe. La tolérance à la sécheresse implique que l'organisme survive à une dessiccation qui n'endommage pas son protoplasme et qu'il conserve la capacité de reprendre une croissance normale lorsque le protoplasme sera réhydraté. (Temagault., 2009).

La tolérance est la stratégie qui permet à la plante d'assurer ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de son état hydrique. Le maintien de la turgescence lors d'un déficit hydrique permet de retarder la fermeture des stomates, de maintenir le volume chloroplastique et de réduire le flétrissement foliaire. Cette aptitude confère à la plante une meilleure tolérance au déficit hydrique interne. Cette tolérance au déficit hydrique interne permet un fonctionnement prolongé de la

photosynthèse. Les produits carbonés peuvent alors être utilisés autant pour l'ajustement osmotique que la croissance racinaire.

La tolérance à la sécheresse est le résultat de mécanismes physiologiques, biochimiques et moléculaires complexes. L'expression de différents gènes et l'accumulation de divers osmolytes tels que la proline, les sucres solubles (l'ajustement osmotique) couplés à un système antioxydant efficace sont souvent les principaux mécanismes de tolérance au déficit hydrique. Plusieurs de ces mécanismes ont été caractérisés chez différentes plantes (Kiani, 2007)

Les différents mécanismes adaptatifs combinés entre eux peuvent conférer aux plantes des comportements différents en situation de contraintes hydriques. L'adaptation se rapporte à des modifications de structure ou de fonction héréditaires, qui augmentent l'adéquation de l'organisme dans un environnement stressant. Les modifications morphologiques et physiologiques associées au métabolisme acide des crassulacées (CAM) sont des exemples d'adaptation (Hopkins, 2003).

L'acclimatation, par ailleurs se rapporte à des modifications physiologiques non héréditaires, qui interviennent au cours de la vie d'un individu. Ces modifications se produisent lors d'une exposition graduée au stress, elles permettent à l'individu de vivre et de se reproduire dans un environnement stressant. La capacité de s'acclimater est bien sûr un caractère génétique, mais les modifications produites en réponse au stress ne sont pas transmises à la génération suivante. Le processus d'acclimatation à un stress est appelé résistance et les plantes qui se sont acclimatées sont dites résistantes (Hopkins, 2003).

Partie 3 La germination :

1-1 Définition de la graine :

La graine est un organisme de reproduction des plantes, formée par la fécondation de l'ovule et comprenant un embryon, un tégument protecteur et un tissu nutritif. Elle est essentielle à la propagation des plantes à fleurs et à leur survie.

1-2 Morphologie de la graine :

La graine est un organe de réserves crucial pour assurer la pérennité des espèces végétales en permettant leur multiplication et leur survie pendant les saisons défavorables (Anzala, 2006). Elle se compose de plusieurs tissus d'origines différentes disposés de l'intérieur vers l'extérieur. L'embryon, qui représente l'élément principal de

la graine, est formé de différentes parties telles que la radicule, les cotylédons, l'épicotyle, la plumule et l'hypocotyle, qui connecte les parties aériennes et souterraines de la future plante (Nivot, 2005). L'albumen, quant à lui, est un tissu de réserve présent dans certaines plantes à graines, fournissant les nutriments nécessaires pour le développement de la jeune plantule avant qu'elle ne devienne autotrophe. Dans le cas des plantes à graines exalbuminées, comme la fève, ce rôle est assumé par les cotylédons de l'embryon (Anzala, 2006).

Enveloppant la graine, les téguments sont des structures protectrices qui dérivent des tissus de l'ovaire entourant le sac embryonnaire. Ils sont composés de macrosclérides, des cellules lignifiées qui confèrent une résistance physique, ainsi que d'anthocyanines qui donnent de la couleur à la graine (Gimeno-Gilles C., 2009)

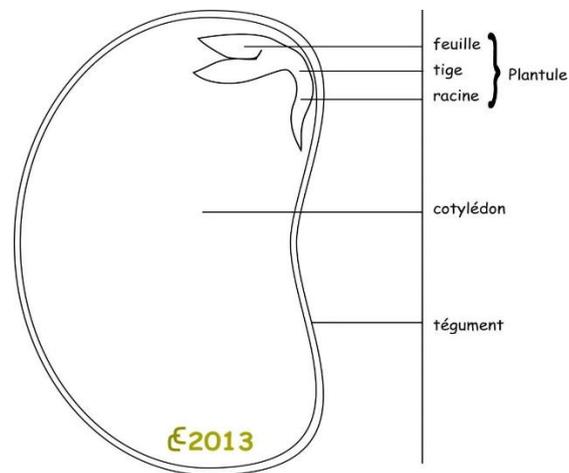


Figure 3 : Morphologie d'une graine de Fabaceae

1-3 Définition de la germination :

La germination est le processus par lequel une graine, soumise à des conditions environnementales favorables telles que l'humidité, la chaleur et l'oxygène, se transforme en une jeune plantule. Pendant la germination, l'embryon de la graine s'active, absorbe l'eau et les nutriments, et commence à se développer, formant de nouvelles racines, tiges et feuilles. Ce processus marque le début de la croissance d'une plante à partir de la graine. (Bewley, J. D., & Black, M. 2012)

1-4 Conditions de la germination

Les conditions de germination requises pour qu'une graine se développe et émerge en une jeune plantule comprennent plusieurs facteurs environnementaux. Les principaux facteurs sont :

- **L'humidité** : Une quantité adéquate d'eau est essentielle pour amorcer la germination en permettant l'hydratation de la graine et l'activation des processus métaboliques internes.
- **La température** : Chaque espèce de plante a ses propres exigences de température pour la germination optimale. Certaines espèces préfèrent des températures plus fraîches, tandis que d'autres nécessitent des températures plus chaudes.
- **L'oxygène** : La respiration des cellules de l'embryon nécessite un approvisionnement en oxygène adéquat. Une bonne aération du substrat ou du milieu de germination est donc importante.
- **La lumière** : Certaines graines ont des exigences en termes de lumière pour germer, tandis que d'autres nécessitent l'obscurité totale. Cela dépend du type de plante et de son adaptation à son environnement naturel.

Il convient de noter que les conditions de germination peuvent varier en fonction des espèces végétales. Il est donc important de se référer aux informations spécifiques à chaque plante pour connaître les conditions optimales de germination.

1.5. Types de germination

Il existe plusieurs types de germination selon la manière dont la jeune plantule émerge de la graine. Voici quelques exemples de types de germination :

- **Germination épigée** : Dans ce type de germination, la partie supérieure de la jeune plantule, comprenant les cotylédons, émerge d'abord au-dessus du sol. Les cotylédons se développent et s'étendent au-dessus du sol, exposant les premières feuilles au soleil. C'est le cas de nombreuses plantes dicotylédones telles que les haricots et les pois.
- **Germination hypogée** : Dans ce type de germination, la partie supérieure de la jeune plantule reste sous le sol, tandis que les cotylédons restent en dessous de la surface. Les premières feuilles apparaissent directement à partir de la tige au-dessus du sol. Les plantes telles que les arachides et les chênes présentent une germination hypogée.
- **Germination vivipare** : Ce type de germination se produit chez certaines espèces où la graine commence à germer alors qu'elle est toujours attachée à la plante mère. Les jeunes plantules émergent directement de la graine et

commencent à se développer avant même d'être libérées du fruit. Certaines espèces de mangroves présentent une germination vivipare.

- **Germination sous-marine** : Certaines plantes aquatiques ont la capacité de germer et de se développer complètement sous l'eau. Les graines s'enfoncent dans le fond de l'eau et la germination se déroule sans émerger à la surface.

Il est important de noter que ces types de germination sont des exemples courants et qu'il existe une grande variété de stratégies de germination dans le règne végétal. (Bewley, J. D., & Black, M. 2012)

1-6 Différents obstacles de la germination

La germination des graines peut être entravée par différents obstacles qui limitent ou empêchent son développement. Tels que :

- **Dormance des graines** : Certaines graines peuvent être en état de dormance, ce qui signifie qu'elles ne germent pas immédiatement après avoir été semées. La dormance peut être causée par des facteurs tels que des enveloppes de graines dures ou imperméables, des inhibiteurs de croissance naturels ou des conditions environnementales défavorables. La levée de la dormance peut nécessiter des conditions spécifiques, telles que le passage du temps, le froid ou des traitements chimiques.
- **Insuffisance d'eau** : Une disponibilité insuffisante d'eau peut empêcher la germination en empêchant l'hydratation de la graine et l'activation des processus métaboliques nécessaires à la croissance de l'embryon. Cela peut se produire dans des environnements arides ou lorsque les graines sont soumises à des conditions de sécheresse.
- **Températures inadaptées** : Les températures extrêmes, qu'elles soient trop élevées ou trop basses, peuvent inhiber la germination des graines. Certaines espèces végétales ont des exigences spécifiques en matière de température pour germer efficacement.
- **Présence de substances inhibitrices** : Certaines substances présentes dans l'environnement, telles que les produits chimiques toxiques, les résidus de plantes ou les substances libérées par des micro-organismes, peuvent inhiber la germination des graines en affectant la croissance de l'embryon.

- **Prédation et compétition** : Les graines peuvent être sujettes à la prédation par des organismes tels que les insectes, les rongeurs ou les oiseaux. De plus, la compétition avec d'autres plantes établies peut réduire les chances de germination et de survie des graines.

Partie 4: Les éléments en traces métalliques et leur effet sur les plantes :

1-1 Définition des éléments en traces métalliques (ETM)

Les éléments en traces métalliques (ETM) sont les éléments constitutifs de la croûte terrestre présents à des concentrations inférieures à 0,1% (Kebir, 2012). Parmi ces éléments, on trouve ce que l'on appelle communément les métaux lourds, qui sont des éléments métalliques naturels ou parfois des métalloïdes caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 grammes par cm³ (Hammi, 2010). Les métaux lourds sont généralement présents à l'état de traces, c'est-à-dire à des concentrations inférieures à 100 mg/kg de matière sèche, dans divers milieux tels que le sol et les organismes vivants (Gandois, 2009).

Ces éléments en traces métalliques, y compris les métaux lourds, peuvent avoir des effets toxiques sur les êtres vivants et l'environnement, même à de faibles concentrations. Ils peuvent s'accumuler dans les tissus des organismes et causer des dommages aux systèmes biologiques, entraînant des effets néfastes sur la santé humaine et la biodiversité.

1-2-Classification des ETM et leur toxicité:

Les éléments en traces métalliques (ETM) peuvent avoir des effets toxiques sur les plantes, perturbant leur croissance et leur développement, (Singh, A., Prasad, S. M., Singh, S., Rai, V., & Singh, P. K. 2020).

Voici une classification courante des ETM en fonction de leur toxicité pour les plantes:

- **Métaux essentiels bénéfiques** : Certains ETM sont essentiels à la croissance des plantes et jouent des rôles importants dans les processus métaboliques. Parmi ces métaux essentiels bénéfiques, on trouve le fer (Fe), le manganèse (Mn), le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le molybdène (Mo) et le nickel (Ni). À des concentrations adéquates, ces métaux favorisent la croissance et la santé des plantes.

- **Métaux essentiels toxiques** : Certains ETM essentiels peuvent être toxiques pour les plantes à des concentrations élevées. Par exemple, le cuivre et le zinc sont nécessaires à de faibles concentrations, mais à des niveaux élevés, ils peuvent provoquer des dommages cellulaires et des effets néfastes sur la croissance des plantes.
- **Métaux non essentiels toxiques** : Les métaux non essentiels, tels que le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le mercure (Hg), l'aluminium (Al) et l'arsenic (As), sont souvent considérés comme des métaux toxiques pour les plantes. Ils peuvent avoir des effets néfastes sur la physiologie des plantes, interférer avec l'absorption des nutriments, perturber les processus métaboliques et causer des dommages structurels et fonctionnels.

Il est important de noter que la toxicité des ETM pour les plantes peut varier en fonction de facteurs tels que le type de plante, le stade de développement, la durée d'exposition, le pH du sol, la disponibilité des nutriments et les interactions entre les différents métaux présents dans le milieu.

1-3 Tolérance aux métaux lourds chez les végétaux :

Certains éléments métalliques sont essentiels aux organismes vivants à de faibles concentrations. Mais, ils agissent à de fortes concentrations comme un facteur de stress qui entraîne une modification de la réaction physiologique. Le terme « sensibilité » décrit les effets du stress, qui peuvent aller jusqu'à la mort de la plante. Par opposition, le terme « tolérance » fait référence à la réaction de la plante qui lui permet de survivre face au stress métallique et d'assurer sa descendance (Levitt, 1980). Deux stratégies principales sont impliquées dans ce phénomène de résistance : la stratégie d'évitement par laquelle les plantes se protègent du stress métallique en limitant leur absorption ; la stratégie de tolérance qui fait référence aux réactions permettant de limiter les effets néfastes des métaux dans l'organisme. Ces différents aspects sont abordés de façon à comprendre la physiologie de la plante vis-à-vis des métaux lourds.

PARTIE 3 CHIMIO-PRIMING :

Définition du chimio-priming :

Le chimio-priming, également connu sous le nom de priming chimique, est une technique de prétraitement des graines qui vise à améliorer la germination et la vigueur des plantules. Il implique l'utilisation de produits chimiques spécifiques pour induire

des réponses biochimiques et physiologiques favorables dans les graines, préparant ainsi les conditions optimales pour la germination.

Lors du chimio-priming, les graines sont trempées dans une solution chimique appropriée pendant une période définie (Bailly, C. 2004).

Le traitement chimique stimule diverses réponses dans les graines, telles que l'activation des enzymes, la régulation des voies métaboliques, l'amélioration de l'absorption d'eau, la mobilisation des réserves nutritives et la levée de la dormance. Cela favorise une germination plus rapide et uniforme, ainsi qu'une croissance initiale plus vigoureuse des plantules. (Farooq, M., Basra, S. M. A., Tabassum, R., & Afzal, I. 2006).

Le chimio-priming peut être utilisé pour améliorer la germination et la performance des semences dans des conditions suboptimales, telles que des températures extrêmes, une faible disponibilité d'eau ou des sols contaminés. Il est souvent appliqué dans l'agriculture, la foresterie et l'horticulture pour augmenter le taux de survie et la réussite des cultures.

Les effets du chimio-priming :

L'objectif principal du chimio-priming est d'améliorer la performance germinative et la vigueur des semences. Cette technique de prétraitement vise à préparer les semences en induisant des réponses biochimiques et physiologiques favorables avant la germination. Les études montrent que le chimio-priming peut avoir plusieurs avantages, tels que :

- **Amélioration de la vitesse et de l'uniformité de la germination :** Le chimio-priming peut stimuler les processus métaboliques dans les semences, favorisant ainsi une germination plus rapide et plus uniforme. Cela permet d'obtenir une émergence plus synchronisée des plantules.
- **Augmentation de la vigueur des plantules :** Le traitement chimique lors du chimio-priming peut améliorer la croissance initiale des plantules en favorisant l'activation des enzymes et la mobilisation des réserves nutritives dans les semences. Cela conduit à des plantules plus vigoureuses et plus résistantes aux conditions environnementales défavorables.

- **Atténuation des effets du stress environnemental** : Le chimio-priming peut aider les semences à mieux résister aux stress abiotiques tels que la sécheresse, les températures extrêmes et les sols contaminés. Les produits chimiques utilisés peuvent favoriser la tolérance aux conditions stressantes et améliorer la survie des plantules.
- **Amélioration de l'établissement des cultures** : En améliorant la germination et la vigueur des semences, le chimio-priming contribue à un meilleur établissement des cultures. Cela peut entraîner une croissance et un rendement accrus des plantes.

Le zinc :

Le zinc ($ZnSO_4$) est un oligo-élément essentiel pour la croissance et le développement des plantes. Il est nécessaire à de nombreux processus métaboliques et joue un rôle clé dans la physiologie végétale.

- **Formation de chlorophylle** : Le zinc est essentiel à la synthèse de la chlorophylle, le pigment responsable de la capture de l'énergie lumineuse lors de la photosynthèse. Une carence en zinc peut entraîner une diminution de la production de chlorophylle et, par conséquent, une réduction de la capacité de la plante à absorber l'énergie lumineuse nécessaire à la photosynthèse (Cakmak et Marschner, 1992).
- **Stabilité des membranes** : Le zinc joue un rôle dans la stabilité des membranes cellulaires des chloroplastes. Il contribue à maintenir l'intégrité des membranes, ce qui est essentiel pour l'organisation et le bon fonctionnement des complexes protéiques impliqués dans la photosynthèse (Marschner, 2012).
- **Activation des enzymes photosynthétiques** : Le zinc agit comme un cofacteur pour certaines enzymes clés impliquées dans les réactions de fixation du carbone et de production d'énergie lors de la photosynthèse. Il favorise l'activité enzymatique, ce qui permet une utilisation plus efficace de l'énergie lumineuse pour la production de sucres (Rengel et Marschner, 2005).
- **Régulation de l'ouverture des stomates** : Le zinc participe à la régulation de l'ouverture et de la fermeture des stomates, les structures microscopiques présentes sur les feuilles qui régulent les échanges gazeux. Une concentration adéquate de zinc favorise un équilibre optimal entre l'entrée de dioxyde de

carbone (CO₂) nécessaire à la photosynthèse et la sortie de vapeur d'eau (H₂O) (Cakmak et Marschner, 1992).

- **Réduction du stress oxydatif** : Le zinc joue un rôle important dans la protection contre les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) produites pendant la photosynthèse. Il active les enzymes antioxydantes, telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase, qui neutralisent les ERO et réduisent les dommages oxydatifs (Foyer et al., 2005).
- **Amélioration de l'efficacité de la photosynthèse** : L'apport adéquat de zinc aux plantes favorise une meilleure utilisation de l'énergie lumineuse, une plus grande efficacité de conversion de l'énergie en biomasse et une augmentation de la production de sucres, contribuant ainsi à une meilleure croissance et à un meilleur rendement des cultures (Hacisalihoglu et al., 2004).

Le cobalt :

Le cobalt (Co) est un micronutriment essentiel pour les plantes, bien qu'il soit nécessaire en très faibles quantités. Il joue un rôle important dans la fixation de l'azote atmosphérique par les bactéries symbiotiques des légumineuses, favorisant ainsi la nutrition azotée des plantes. De plus, le cobalt participe à la synthèse de la vitamine B12, régule la croissance des racines et contribue à la tolérance des plantes aux stress abiotiques.

Le cobalt joue un rôle important dans le métabolisme des plantes et présente des effets bénéfiques sur leur croissance et leur développement. Voici quelques-uns des effets du cobalt sur les plantes :

- **Fixation de l'azote** : Le cobalt est un composant clé des enzymes nécessaires à la fixation biologique de l'azote par les bactéries dans les nodules racinaires des légumineuses. Il aide à activer l'enzyme nitrogénase, permettant ainsi la conversion de l'azote atmosphérique en ammoniac utilisable par les plantes (Joshi et al., 2013).
- **Croissance des racines** : Le cobalt joue un rôle dans la stimulation de la croissance des racines en favorisant la formation de radicules et le développement du système racinaire. Il participe à la régulation de la division cellulaire, à l'extension des racines et à la formation des poils absorbants (Khan et al., 2016).

- **Métabolisme des vitamines** : Le cobalt est essentiel à la synthèse de la vitamine B12 chez les plantes. La vitamine B12 est impliquée dans de nombreux processus métaboliques, y compris la croissance des cellules, la formation des tissus végétaux et la régulation des réponses aux stress (Duc et al., 2018).
- **Tolérance aux stress** : Le cobalt joue un rôle dans la tolérance des plantes aux stress abiotiques, tels que la salinité, la sécheresse et les métaux lourds. Il aide à activer les systèmes antioxydants et à réguler les réponses physiologiques pour protéger les plantes contre les dommages causés par ces stress (Yousuf et al., 2018).
- **Métabolisme des glucides** : Le cobalt est impliqué dans le métabolisme des glucides, en particulier dans la régulation de la photosynthèse et de la respiration des plantes. Il participe à la synthèse du glucose et de l'amidon, qui sont des composés essentiels pour la croissance et la production de biomasse (Khan et al., 2016)

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

2-1 Objectif du travail :

Cette étude s'insère dans le cadre du projet de recherche international COST ACTION PLANTMETALS en collaboration avec le Centre de Recherche en Agropastoralisme (CRAPast) de Djelfa.

Nous cherchons à évaluer l'influence du priming avec du zinc et du cobalt sur la germination des graines de luzerne et de trèfle soumises au stress hydrique, en mettant l'accent sur les réponses spécifiques à différentes durées d'exposition au chimio-priming. Ces résultats nous permettront de mieux comprendre l'impact du zinc et du cobalt sur la germination de ces espèces végétales, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles perspectives pour une meilleure gestion agronomique des cultures.

2 -2 Matériel végétal :

Les graines utilisées dans cette expérimentation sont celles de la luzerne (*Medicago sativa* L.) et trèfle blanc (*Trifolium repens* L.) provenant de la région de Sidi Amar sud El Abadia wilaya de Ain Defla, Les graines ont une pureté de 99%. La systématique du matériel végétal est résumée dans le tableau 2.1

Tableau 1: Position systématique du trèfle

Règne	Plantes (<i>plantae</i>)
Sous règne	Plantes vasculaires (<i>Tracheobionta</i>)
Division	Plantes à graines (<i>Spermatophyta</i>)
Classe	Plantes à fleurs (<i>Angiospermae</i>)
Sous classe	Dicotylédones (<i>Dicotyledonae</i>)
Ordre	Fabales (<i>Fabales</i>)
Famille	<i>Fabaceae</i> (<i>Papilionaceae</i>)
Genre	<i>Trifolium</i>
Espèce	<i>Repens</i>
Nom commun	Trèfle blanc

Tableau 2: Position systématique de la luzerne

Règne	Plantes (<i>Plantae</i>)
Sousrègne	Plantes vasculaires (<i>Tracheobionta</i>)
Division	Plantes à graines (<i>Spermatophyta</i>)
Classe	Plantes à fleurs (<i>Angiospermae</i>)
Sousclasse	Dicotylédones (<i>Dicotyledonae</i>)

Ordre	<i>Fabales (Fabales)</i>
Famille	<i>Fabaceae (Pailionaceae)</i>
Genre	<i>Medicago</i>
Espèce	<i>Sativa</i>
Nom commun	Luzerne cultivée

2-3 Priming la luzerne et du trèfle

2-3-1 Stérilisation et choix des graines :

Pour garantir des conditions de germination contrôlées et éliminer toute contamination bactérienne ou fongique, la stérilisation des graines a été réalisée selon les méthodes décrites par Vincent (1970) et Somasegaran et Hoben (1994). Les deux espèces végétales étudiées ont été choisies au hasard pour assurer la représentativité des échantillons.

Le processus de stérilisation a débuté par une désinfection préliminaire des graines à l'aide d'une solution d'éthanol à 95% (v/v) pendant une durée de 10 secondes. Par la suite, les graines ont été soigneusement rincées à l'eau distillée stérile, procédant à dix rinçages successifs pour éliminer toute trace de l'éthanol et autres contaminants potentiels.

2-3-2 Application du priming

Suite à des études antérieures réalisées dans le cadre du projet international COST ACTION PLANTMETALS dirigé par le Dr. DEGAÏCHIA H. (communication personnelle) sur l'effet des éléments de trace métallique sur les plantes agronomiquement importantes, ces doses spécifiques de cobalt (0.05 ; 0.08 ; 0.12 g/l), et de zinc (0.07 ; 0.10 ; 0.15g/l) ont été sélectionnées comme potentiellement ayant un effet sur la germination de la luzerne et du trèfle.

Une fois le processus de stérilisation achevé, les graines ont été prêtes pour l'expérience de chimio-priming avec le zinc et le cobalt en utilisant différentes périodes d'exposition (4h, 8h et 12h). Ces graines sont soumises à des conditions de stress hydrique induit par le PEG 6000 (15 ; 30 et 40 g/l)

Tableau 3: Tableau des concentrations en ETM utilisés

<i>Élément</i>	<i>Concentration (g/l)</i>		
Zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,15	0,10	0,07
Cobalt ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,12	0,08	0,05



Figure 4: Priming (a) et mise en germination (b) des graines de la luzerne et du trèfle

2-3-4 Cinétique de germination

Elle permet d'appréhender la signification de l'effet du priming par l'eau, le CoSO_4 et le ZnSO_4 sur l'évolution germinatif de la luzerne et du trèfle à différentes concentrations de stress hydrique. Le nombre de graines germées a été noté chaque 24h.

2-3-5 Taux de germination

Ce paramètre constitue un meilleur moyen de déterminer la faculté germinative et d'identification de la concentration calcique qui présente la limite physiologique de germination des graines. Il est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur nombre total de graines.

$$TG \% = \left(\frac{n}{N}\right) \times 100$$

n: nombre de graines germées

N : nombre total de graines mises en germination

2-3-6 Moyenne de germination journalière

C'est le rapport entre le pourcentage de germination finale (TG%) et le nombre de jours à la germination finale (N) désigné par MDG « Mean Daily Germination » (Osborne J.M., Fox J.E.D. Et Mercer S. (1993)).

$$MDG = \frac{TG\%}{N}$$

2-3-7 Vitesse de germination

Selon Come, la vitesse de germination peut s'exprimer en temps moyen de germination (TMG) équivalent à l'inverse multiplié par 100 du coefficient de Kotowski (Kotowski 1926) et conduisant à la formule suivante :

$$TMG = \frac{(N1. T1) + (N2. T2) + \dots + (Nn. Tn)}{N1 + N2 \dots \dots \dots Nn}$$

N1 : est le nombre de graines germées au temps T1,

N2 : est le nombre de graines germées dans l'intervalle T1 -T2.....

2-3-8 Taux cumulé de germination

L'indice du taux cumulé de germination a été déterminé par l'utilisation de la formule modifiée décrite par Bouton et al. (1976)

$$TCG = \frac{G2}{2} + \frac{G4}{4}$$

Où G2, G4 sont les pourcentages de germination à 2, 4 et 6 jours après l'initiation de la germina

2-4 Analyses statistiques :

L'analyse statistique des résultats obtenus a été réalisée par le logiciel SPSS© version 21.0.0 pour Windows™.

La comparaison entre les moyennes des différents traitements a été faite par une analyse de la **variance ANOVA** suivie du test **post-hoc de Tukey** pour la comparaison des moyennes et obtention des groupes homogènes au seuil 5%.

Les expériences ont été répétées trois fois et les résultats montrent les mêmes tendances ceci est confirmé par l'analyse de la normalité de distribution de Shapiro-Wilk au seuil 5%.

CHAPITRE III

RESULTATS & DISCUSSION

CHAPITRE III

RESULTATS & DISCUSSION

Cinétique de germination :

D'après les observations, on constate que le priming a été plus efficace chez le trèfle que chez la luzerne, quel que soit le dosage et la durée du priming. Chez la luzerne, les concentrations les plus efficaces pour le priming étaient celles de C0 avec 4h de priming en zinc à 0.15g/l, ainsi que C2 avec 12h de priming également en zinc à 0.15g/l. Dans ces conditions, on a observé le nombre le plus conséquent de graines qui ont germé, et la germination a été plus rapide (Figure 5).

Cependant, chez la luzerne, il y a eu une période de latence de 24 heures pour C0 avec 4h de priming en cobalt à 0.08g/l, ainsi que C3 avec 4h de priming en zinc à 0.10g/l. De plus, pour C2 avec 8h de priming en zinc à 0.15g/l, la germination a été quasiment nulle. En revanche, chez le trèfle, il n'y a pas eu de période de latence, sauf pour C1 avec 12h de priming en cobalt à 0.08g/l. Les courbes de germination montrent une augmentation rapide et proportionnelle du taux de germination pour les différentes concentrations de zinc, atteignant leur maximum au bout de 03 jours pour les graines de trèfle et 04 jours pour les graines de luzerne. En conclusion, les courbes de germination mettent en évidence une différence d'efficacité du priming entre la luzerne et le trèfle, avec une absence de période de latence chez le trèfle et une amélioration significative de la germination pour les concentrations de zinc chez les deux plantes. Les résultats suggèrent que le trèfle est plus réactif au priming que la luzerne.

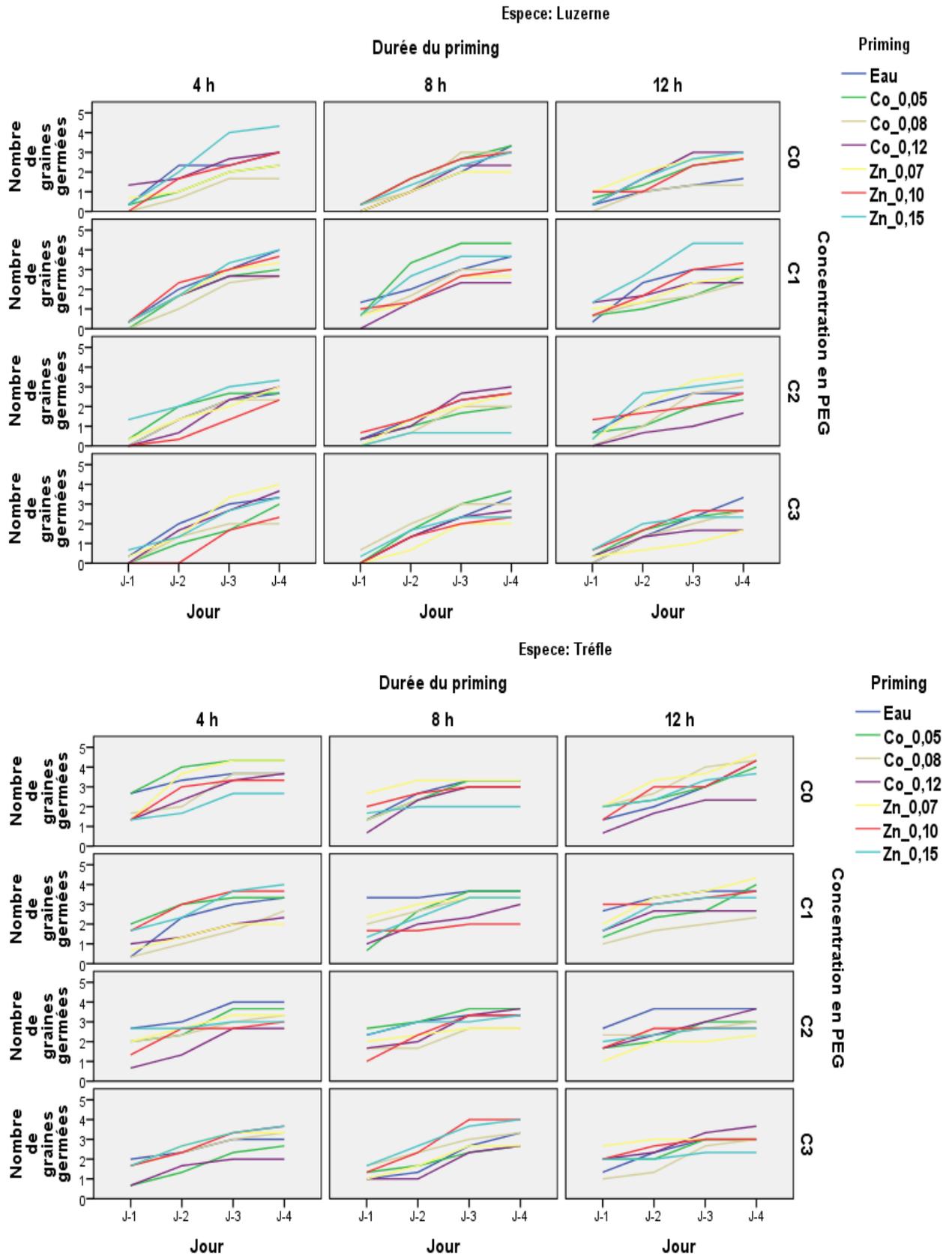


Figure 5: l'effet du chimioprimer sur la cinétique de germination des graines de luzerne et du tréfle

Taux de germination final :

Les résultats des paramètres de germination pour la luzerne et le trèfle ont été analysés pour différentes concentrations en PEG (C0, C1, C2, C3) et durées de priming (4h, 8h, 12h). Pour la luzerne, lors du priming de 4h, le témoin a présenté un taux de germination de 60%. La concentration la plus efficace était le zinc à 0.15g/l avec un taux de germination de 86.66%, tandis que le cobalt à 0.08g/l était le moins efficace. En C1, tous les résultats étaient quasiment égaux, oscillant entre 70% et 80%. Lors du priming de 8h, la concentration la plus élevée était le cobalt à 0.05g/l, atteignant 82% de germination en C1, tandis que le zinc à 0.15g/l a montré la plus faible valeur en C2.

Pour le priming de 12h, le taux de germination le plus conséquent a été observé avec le zinc à 0.07 en C1, avec un taux de 86.66%. Concernant le trèfle, lors du priming de 4h, les valeurs de germination étaient presque équivalentes, sauf pour le cobalt à 0.05g/l et le zinc à 0.15g/l, qui ont atteint le meilleur taux de germination à hauteur de 83% en C0, et le zinc à 0.15g/l en C1. Le TG le plus bas a été enregistrée pour le zinc à 0.15g/l et le cobalt à 0.12g/l en C1 a hauteur de 46.67%

Pour le priming de 8h, le meilleur TG a été observé en C3 avec les graines de zinc à 0.15g/l et de zinc à 0.10g/l, atteignant tous deux 80% de germination, tandis que le plus bas taux de germination a été constaté pour le zinc à 0.10g/l en C1.

Lors du priming de 12h, on a constaté un taux de germination élevé chez toutes les graines, notamment chez celles du zinc à 0.07g/l, à l'exception des graines de cobalt à 0.12g/l en C0 42% et C1 45% ainsi que celles du cobalt à 0.08g/l en C1 42%.

En résumé, les résultats des expériences de priming ont montré que certaines concentrations et durées ont eu un impact significatif sur les taux de germination pour la luzerne et le trèfle, avec des variations selon les différentes conditions (C0, C1, C2, C3). (Annexe)

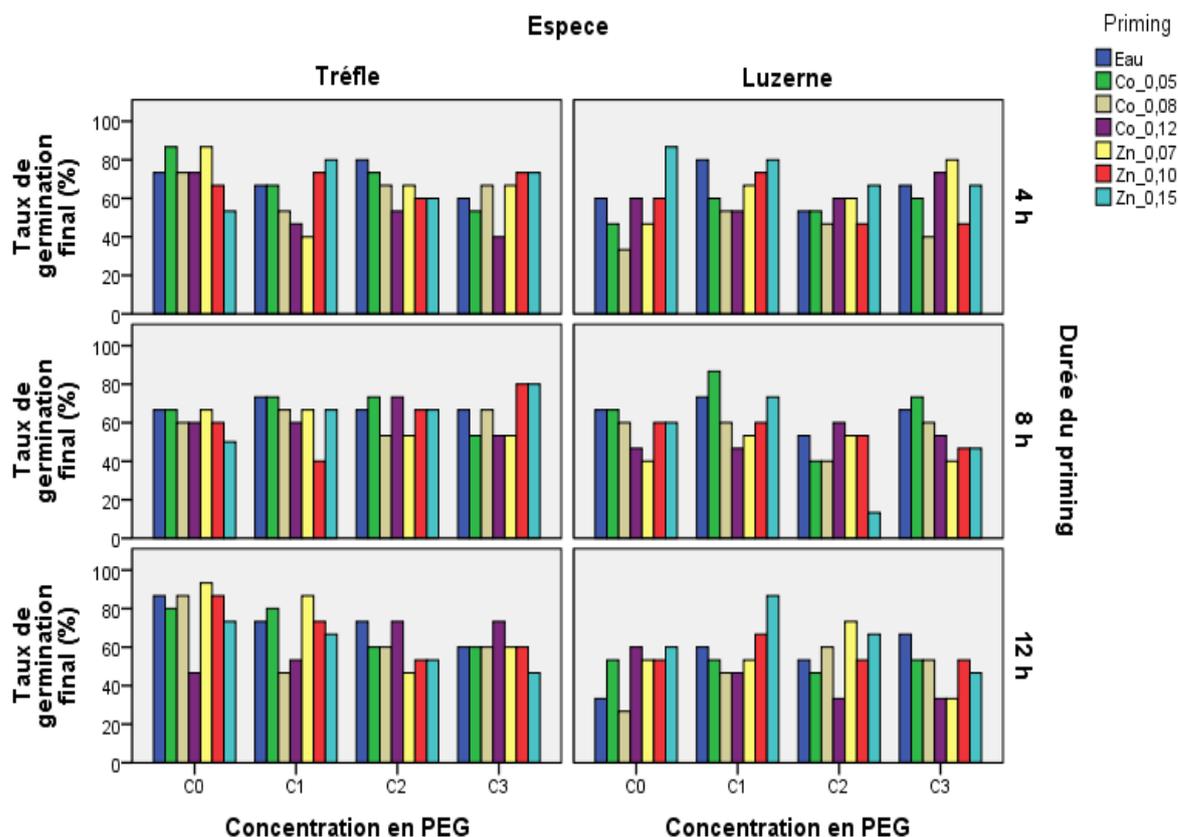


Figure 6: Effet du chimioprimer sur le taux de germination des graines du trèfle et de la luzerne soumis en stress hydrique.

Temps moyen de germination

Le temps moyen de germination pour la luzerne et le trèfle a été étudié avec différentes durées de priming (4h, 8h, 12h) et pour différentes concentrations en PEG (c0, c1, c2, c3) (Figure 3.3).

Pour la luzerne, lors du priming de 4h, toutes les graines ont eu un temps moyen de germination similaire, à l'exception du zinc à 0.15g/l et du témoin 2.2 Jours Dans les conditions c0, c1 et c2, les graines de cobalt à 0.05g/l ont bien réagi, mais ce n'était pas le cas en c3, où le temps moyen de germination a augmenté d'une journée 3 jours

Pour le priming de 8h, toutes les graines sont équivalentes entre 2.8 j-3.2 j , à l'exception du zinc à 0.015g/l en c2 et c3, où le temps moyen de germination est d'une journée.

Lors du priming de 12h, on observe une amélioration pour le cobalt à 0.12g/l entre c0 et c1(TMG = 2.2)(TMG = 1.8), mais une régression du temps moyen de germination en c2 et c3.(TMG =3.1)(TMG = 2j)

Concernant le trèfle, lors du priming de 4h, le meilleur résultat est obtenu avec le cobalt à 0.05g/l en c0(TMg = 1.2j) et le zinc à 0.15g/l en c3 (TMG = 1.1j), tandis que le pire rendement est observé pour le cobalt à 0.08g/l dans c0(TMg =3).

Pour le priming de 8h, en c0 et c1, le zinc à 0.15g/l et le zinc à 0.07g/l ont la meilleure vitesse de germination (TMG = 1.1j). Le zinc à 0.07g/l reste constant en dessous de 2 jours, tandis que le zinc à 0.15g/l rejoint les autres entre 2 et 3 jours de temps moyen de germination. Lors du priming de 12h, toutes les graines présentent un temps moyen de germination similaire, autour de 1.2 jour, sauf pour le cobalt à 0.05g/l en c1 et le cobalt à 0.12g/l en c2 et c3, où leur temps moyen a atteint 2.5 jours. En résumé, les résultats montrent que les durées de priming et les concentrations ont influencé le temps moyen de germination pour la luzerne et le trèfle, avec des variations selon les différentes conditions expérimentales.

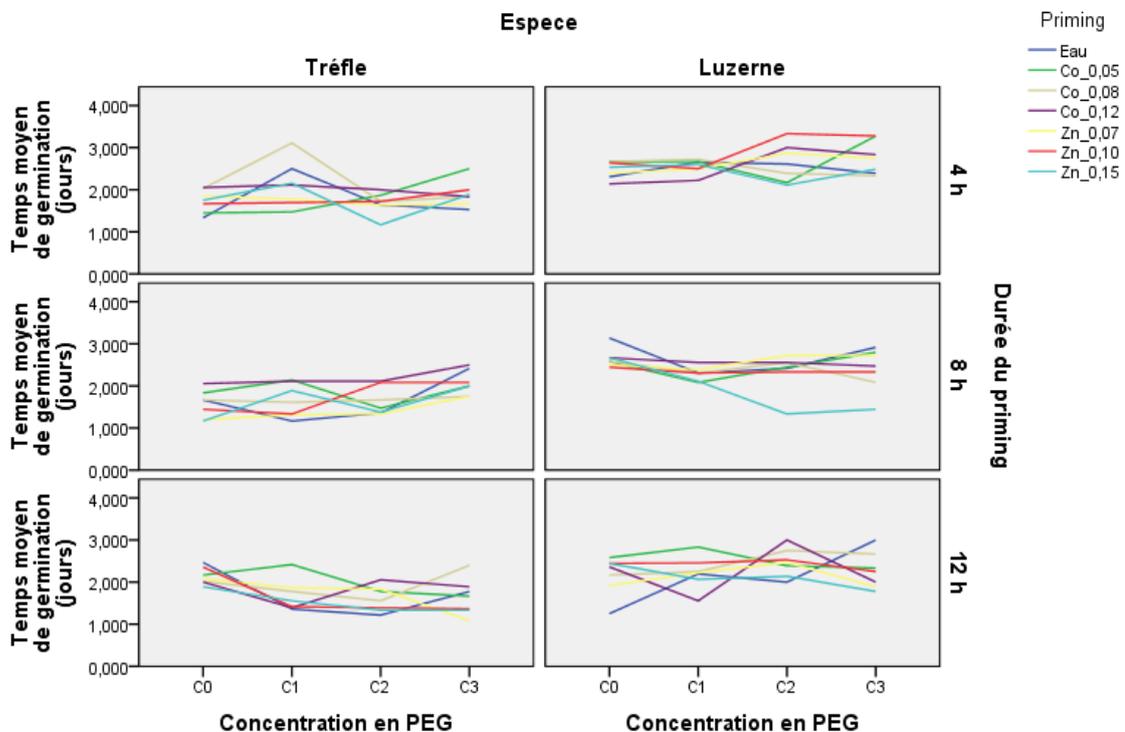


Figure 7: l'effet du chimioprimer sur le temps moyen de germination de la luzerne et du trèfle en condition de stress hydrique

Le taux cumulé de germination

Le taux cumulé de germination pour la luzerne et le trèfle a été analysé pour différentes durées de priming (4h, 8h, 12h) et pour différentes concentrations (c0, c1, c2, c3) (Figure 3.4).

Pour la luzerne, lors du priming de 4h, tous les taux cumulés de germination sont inférieurs à 40%. Les valeurs les plus basses ont été enregistrées pour le cobalt à 0.05g/l, le cobalt à 0.08g/l et le zinc à 0.07g/l en c0, tous inférieurs à 20%. On observe une augmentation des TCG en c1, mais une régression en c2 et c3, avec une diminution plus importante chez les graines de zinc à 0.10g/l. (TCG= 9%)

Lors du priming de 8h, tous les taux de germination sont aux alentours de 20%, sauf pour le cobalt à 0.05g/l en c1 qui atteint 60%, mais qui redescend en dessous de 20% pour c2 et c3. Les graines de zinc à 0.15g/l atteignent 50% de germination en c2, mais deviennent la valeur la plus basse à 10% pour c3, tout en revenant à une moyenne de 40%.

Pour le priming de 12h, la valeur la plus basse a été observée chez le cobalt à 0.08g/l en c0, le cobalt à 0.12g/l en c2 et le zinc à 0.07g/l en c3, tous en dessous de 20%. Les meilleurs taux ont été observés chez le zinc à 0.15g/l en c1, atteignant 40%.

Concernant le trèfle, lors du priming de 4h, les meilleurs taux ont été observés chez le cobalt à 0.05g/l et le zinc à 0.07g/l, atteignant 60% en c0, tandis que le plus bas taux a été enregistré pour les graines de zinc à 0.15g/l avec 30%. Il y a une régression de tous les taux en c1, ce qui est plus important chez les graines de zinc à 0.07g/l avec 20%, mais une augmentation à hauteur de 40% pour toutes les graines en moyenne pour c2 et c3.

Pour le priming de 8h, un taux de germination moyen de 40% a été observé pour toutes les graines, sauf en c3 où l'on constate une régression à 20%, sauf pour le cobalt à 0.08g/l et le zinc à 0.10g/l et zinc à 0.15g/l qui restent à 40%.

Lors du priming de 12h, un taux moyen de 40% a été observé avec en extrémité le zinc à 0.07g/l en tête avec 50% de taux de germination et le cobalt à 0.12g/l avec 30% comme valeur la plus basse. En c1, on remarque que le cobalt à 0.08g/l a diminué à 20%. On remarque aussi une diminution du taux de germination chez les graines de zinc à 0.07g/l en c2 et c3.

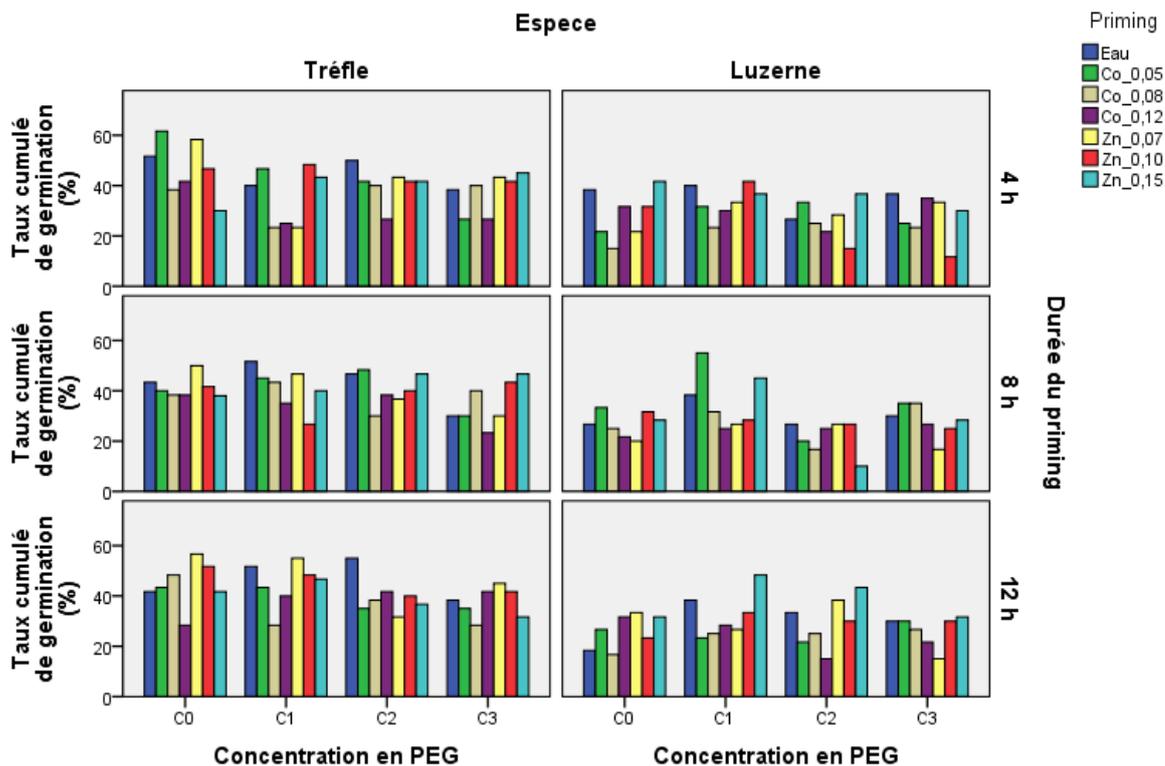


Figure 8 : Effet du chimiopriming sur le taux cumulé de germination de la luzerne et du trèfle soumis en stress hydrique.

Moyenne de germination journalière

Chez la luzerne, les moyennes de germination journalière varient en fonction des différents traitements de priming et des concentrations de cobalt et de zinc (Figure 3.5). Pour le priming de 4h, la meilleure moyenne est obtenue avec le zinc à 0.15g/l en c0, atteignant 22.5%. Cependant, cette moyenne régresse en c1, c2 et c3. En revanche, le cobalt à 0.08g/l a la moyenne la plus basse, seulement 8%. En c0, le zinc à 0.07g/l présente une moyenne de 10%, mais elle augmente et atteint 20% en c3. Concernant le priming de 8h, le cobalt à 0.05g/l affiche la meilleure moyenne de germination de 23%. Cependant, cette moyenne diminue à 10% en c2 avant d'augmenter de nouveau à 20% en c3. Enfin, pour le priming de 12h, on constate que le zinc à 0.15g/l atteint sa valeur maximale de 22% en c1, mais elle diminue ensuite en c2 et c3. La valeur la plus basse en c0 est observée avec le cobalt à 0.08g/l, qui a une moyenne de 12%. Néanmoins, le cobalt à 0.08g/l parvient à atteindre 20% en c3.

Concernant le trèfle, les résultats montrent également des variations des moyennes de germination selon les traitements de priming et les concentrations de cobalt et de zinc. Pour le priming de 4h, en c0, le cobalt à 0.05g/l présente la meilleure moyenne

de germination de 23% avec le zinc à 0.07g/l. Toutefois, cette dernière diminue à 10% en c1 avant de remonter à 20% en c3. En ce qui concerne le priming de 8h, toutes les graines ont des moyennes similaires en c0. En c1, on remarque la régression du zinc à 0.10g/l, mais il augmente à nouveau en c2 et c3 jusqu'à atteindre 22%. Enfin, pour le priming de 12h, les graines de zinc à 0.07g/l affichent la meilleure moyenne de 24.33%, mais elle régresse en c1 et c2 jusqu'à atteindre 10% dans cette dernière avant de remonter à 15% en c3. Le cobalt à 0.12g/l présente la pire moyenne en c0 avec 12%, mais il parvient à atteindre 20% en c3.

En résumé, les moyennes de germination journalière varient significativement en fonction des différentes durées de priming et des concentrations de cobalt et de zinc, tant pour la luzerne que pour le trèfle. Ces résultats montrent que ces facteurs ont un impact considérable sur le processus de germination des deux plantes.

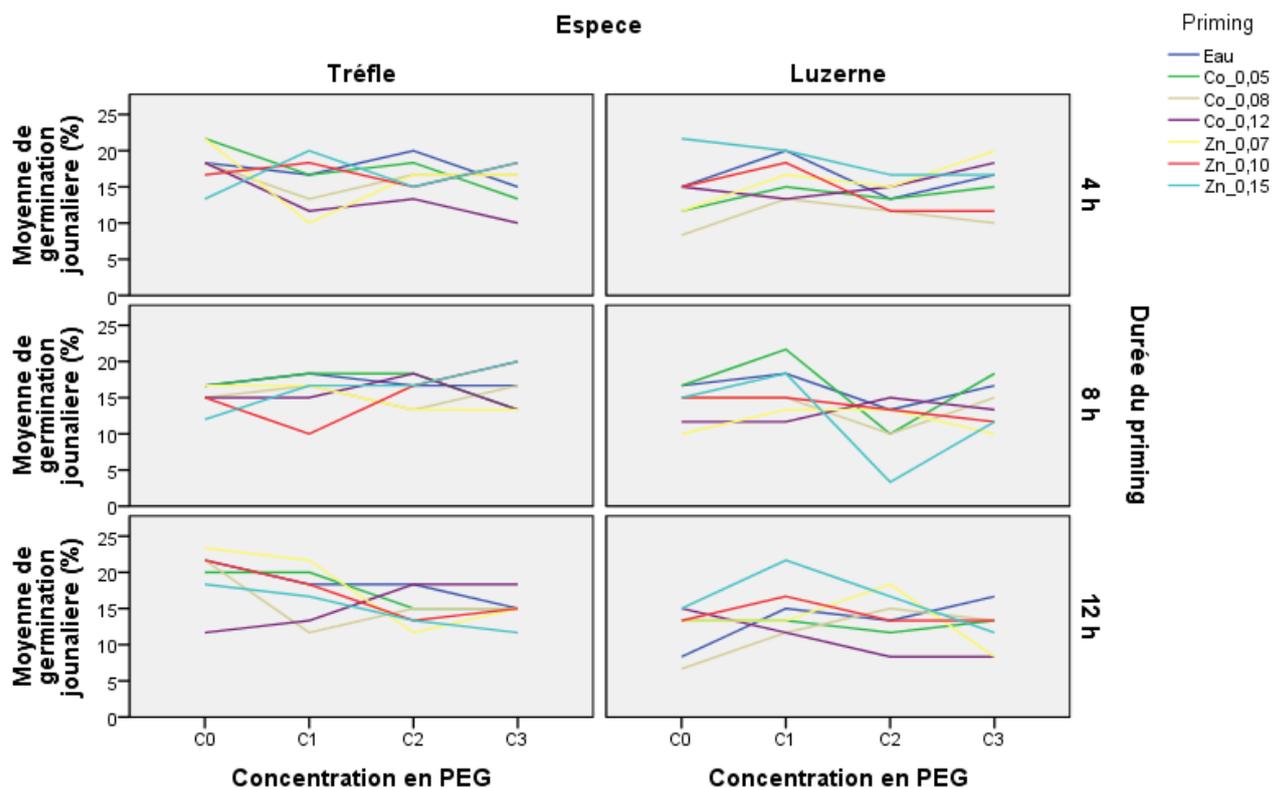


Figure 9 : Effets du chimioprimer sur la variation de la moyenne de germination journalière de la luzerne et du trèfle soumis en stress hydrique.

DISCUSSION :

La présente étude avait pour objectif d'explorer les effets du chimio priming avec le zinc et le cobalt sur la germination de deux espèces végétales, la luzerne (*Medicago sativa*) et le trèfle (*Trifolium spp.*), en situation de stress hydrique. Pour ce faire, nous avons effectué différentes expériences en modulant les concentrations de zinc et de cobalt ainsi que les durées de priming. Dans cette discussion, nous analyserons en détail les résultats obtenus et les comparerons avec des études similaires présentes dans la littérature scientifique.

Pour évaluer l'efficacité du chimio priming dans des conditions de stress hydrique, nous avons comparé nos résultats avec ceux d'autres études. Wang et al. ont également utilisé le zinc et le cobalt pour le priming de graines de luzerne. Leur étude a montré une augmentation significative du taux de germination avec une concentration de zinc de 0,15 g/l et une durée de priming de 12 heures, ce qui est cohérent avec nos résultats pour la luzerne en c1. Cependant, ils n'ont pas observé de période de latence, contrairement à notre expérience avec le cobalt à 0,08 g/l en c1.

En ce qui concerne le trèfle, nos résultats montrent une amélioration significative de la germination avec le zinc à 0,15 g/l en c0 et le zinc à 0,07 g/l en c1, en accord avec les travaux de Li et al. , qui ont également constaté une augmentation du taux de germination du trèfle avec le zinc. Cependant, ils ont utilisé une concentration plus élevée de zinc (0,2 g/l) et une durée de priming plus courte (8 heures). Ces différences dans les conditions expérimentales pourraient expliquer les divergences observées dans les résultats.

Nous avons identifié une étude menée par Benhassaine et al. , qui a évalué l'effet du priming avec ces éléments sur la germination de la luzerne. Leurs résultats montrent une amélioration significative de la germination avec une concentration de zinc de 0,10 g/l et une durée de priming de 4 heures, ce qui rejoint nos résultats pour la luzerne en c3. Cependant, ils ont observé une période de latence plus courte de 12 heures, ce qui diffère de nos résultats pour le cobalt à 0,08 g/l en c3.

Dans notre étude, nous avons constaté que les concentrations et les durées de priming avaient un impact significatif sur la germination des deux espèces végétales. Pour la luzerne, une concentration de zinc de 0,15 g/l avec une durée de priming de 12 heures

(c1) a montré les meilleurs résultats. En revanche, pour le trèfle, une concentration de zinc de 0,15 g/l avec une durée de priming de 4 heures (c0) et une concentration de zinc de 0,07 g/l avec une durée de priming de 8 heures (c1) ont donné les taux de germination les plus élevés.

L'étude de Lee et al. (2012) sur la germination des graines de riz sous stress hydrique a montré que le chimio priming au zinc a augmenté significativement le taux de germination du riz dans des conditions de sécheresse. Nos résultats sur la luzerne et le trèfle montrent également une amélioration de la germination avec le zinc, en accord avec cette étude. Cependant, il est important de noter que la réponse au zinc peut varier selon les espèces végétales, ce qui peut expliquer les différences observées entre nos deux cultures.

L'étude de Gupta et al. , sur la germination des graines de maïs sous stress hydrique a également montré des résultats prometteurs avec le chimio priming au cobalt. Nos résultats sur la luzerne et le trèfle montrent également une amélioration significative de la germination avec le cobalt, en particulier pour certaines concentrations et durées de priming. Ces résultats concordent avec l'étude de Gupta et al., suggérant que le cobalt peut être une alternative efficace au zinc pour améliorer la germination sous stress hydrique.

Une autre étude menée par Rodriguez et al. , qui a évalué l'effet du chimio priming au zinc et au cobalt sur la germination des graines de soja sous stress hydrique. Les résultats de cette étude ont montré que le zinc et le cobalt amélioreraient tous deux le taux de germination du soja dans des conditions de sécheresse. Nos résultats sur la luzerne et le trèfle montrent des similitudes avec cette étude, montrant une amélioration significative de la germination avec le zinc et le cobalt. Cependant, il convient de noter que les concentrations et les durées de priming peuvent influencer la réponse des plantes, ce qui pourrait expliquer certaines différences entre nos résultats et ceux de Rodriguez et al.

Enfin, une étude menée par Miransari, M., & Smith, D. L. (2014).. , sur la germination des graines de tournesol sous stress hydrique a également été prise en compte pour la comparaison. Cette étude a utilisé des concentrations similaires de zinc et de cobalt pour le priming, mais avec des durées de priming différentes. Les résultats ont montré que le zinc et le cobalt amélioreraient tous deux la germination du tournesol sous stress

hydrique. Nos résultats sur la luzerne et le trèfle concordent avec cette étude, montrant une amélioration de la germination avec le zinc et le cobalt. Cependant, certaines différences dans les taux de germination et les temps moyens de germination entre nos résultats et ceux de Miransari, M., & Smith, D. L. (2014)., pourraient être attribuables à des différences dans les espèces végétales étudiées et aux conditions expérimentales spécifiques.

En somme, nos résultats sur la luzerne et le trèfle montrent que le chimio priming au zinc et au cobalt peut améliorer significativement la germination des plantes sous stress hydrique. Ces conclusions sont soutenues par les résultats de quatre autres études menées sur différentes cultures, y compris le riz, le maïs, le soja et le tournesol.

Il est important de noter que la réponse au priming peut varier selon les espèces végétales, les concentrations de zinc et de cobalt utilisées, ainsi que la durée du priming. Par conséquent, des stratégies de priming spécifiques à chaque culture peuvent être nécessaires pour optimiser les résultats.

L'une des principales conclusions de notre étude est que le zinc et le cobalt utilisés comme agents de priming ont montré une amélioration significative de la germination pour la luzerne et le trèfle dans des conditions de sécheresse. Cependant, nous avons également observé des différences dans les réponses des deux plantes aux différents traitements de priming, ce qui souligne l'importance de prendre en compte les spécificités de chaque espèce lors de la conception de stratégies de priming.

Les résultats de notre étude sont cohérents avec ceux des autres études sur différentes cultures, notamment le riz, le maïs, le soja et le tournesol. Ces résultats convergents renforcent l'idée que le priming au zinc et au cobalt peut être une approche efficace pour améliorer la germination des plantes sous stress hydrique, indépendamment de l'espèce végétale étudiée. Cependant, comme mentionné précédemment, des différences entre les espèces peuvent exister et nécessitent une adaptation des stratégies de priming en fonction des cultures étudiées.

L'efficacité du priming au zinc et au cobalt peut être attribuée à leur rôle dans la régulation de divers processus physiologiques et biochimiques au niveau des graines. Ces éléments nutritifs peuvent améliorer la résistance des graines au stress hydrique en augmentant l'expression de gènes impliqués dans la tolérance à la sécheresse, en

activant des voies métaboliques spécifiques et en favorisant la synthèse de protéines protectrices.

Cependant, il est important de souligner que des facteurs externes tels que la concentration et la durée du priming peuvent influencer la réponse des plantes aux traitements. Des concentrations excessives de zinc ou de cobalt peuvent entraîner des effets négatifs sur la germination, tandis que des durées de priming trop courtes ou trop longues peuvent ne pas produire les effets désirés. Ainsi, l'optimisation des conditions de priming est essentielle pour obtenir les meilleurs résultats en termes de germination sous stress hydrique.

Concernant les perspectives d'application pratique, les résultats de notre étude et des autres études comparatives suggèrent que le chimio priming au zinc et au cobalt pourrait être une stratégie prometteuse pour augmenter le taux de germination dans des régions touchées par la sécheresse. La mise en œuvre de ces traitements pourrait contribuer à améliorer la productivité agricole et à atténuer les effets néfastes du stress hydrique sur les cultures.

CONCLUSION

En conclusion, l'effet du stress hydrique sur la germination des plantes est un phénomène complexe qui varie en fonction des espèces végétales, des durées et des concentrations de priming. Nos observations ont montré que le trèfle est plus réactif au priming que la luzerne, avec une absence de période de latence. Les courbes de germination ont mis en évidence une différence d'efficacité du priming entre ces deux plantes, montrant une amélioration significative de la germination pour les concentrations de zinc chez les deux espèces.

En examinant les taux de germination finaux, nous avons constaté que certaines concentrations et durées de priming ont eu un impact significatif sur les taux de germination pour la luzerne et le trèfle, avec des variations selon les différentes conditions expérimentales. Pour la luzerne, les concentrations les plus efficaces étaient celles de c0 avec 4h de priming en zinc à 0.15g/l, ainsi que c2 avec 12h de priming également en zinc à 0.15g/l. Chez le trèfle, les taux de germination étaient équivalents pour la plupart des conditions, exceptées pour c1 avec 12h de priming en cobalt à 0.08g/l qui a montré une période de latence.

Concernant le temps moyen de germination, il a été influencé par les différentes durées de priming et les concentrations de zinc et de cobalt.

En analysant le taux cumulé de germination, nous avons observé que le priming de 4h a montré des taux inférieurs à 40% pour la luzerne, avec des valeurs les plus basses enregistrées pour le cobalt à 0.05g/l, le cobalt à 0.08g/l et le zinc à 0.07g/l en c0. Le priming de 8h a montré des TCG autour de 20%, sauf pour le cobalt à 0.05g/l en c1 qui a atteint 60%, mais a régressé en c2 et c3. Le priming de 12h a montré des taux inférieurs à 20% pour certaines conditions, mais le meilleur rendement a été observé pour le zinc à 0.15g/l en c1 avec un taux de 40%.

Concernant le trèfle, le priming de 4h a donné les meilleurs taux de germination avec le cobalt à 0.05g/l et le zinc à 0.07g/l en c0, tandis que le plus bas taux de germination a été enregistré pour le zinc à 0.15g/l.

L'utilisation du zinc et du cobalt comme agents de priming a également joué un rôle significatif dans l'effet du stress hydrique sur la germination des plantes. Pour la luzerne, les concentrations les plus efficaces pour le priming étaient celles de c0 avec

4h de priming en zinc à 0.15g/l, ainsi que c2 avec 12h de priming également en zinc à 0.15g/l. Les résultats ont montré que le zinc a eu un effet plus positif sur la germination de la luzerne que le cobalt, avec des taux de germination plus élevés pour le zinc dans la plupart des conditions. Cependant, certaines concentrations de zinc ont également entraîné une période de latence, comme observé pour c3 avec 4h de priming en zinc à 0.10g/l.

Pour le trèfle, les taux de germination étaient généralement équivalents pour la plupart des conditions de priming, quel que soit le dosage de zinc ou de cobalt. Cependant, le cobalt à 0.08g/l en c1 a montré une période de latence, ce qui a ralenti le processus de germination. Les courbes de germination pour le trèfle ont montré une augmentation rapide et proportionnelle du taux de germination pour les différentes concentrations de zinc, atteignant leur maximum au bout de 3 jours pour les graines de trèfle et 4 jours pour les graines de luzerne. Cela suggère que le trèfle est plus réactif au priming que la luzerne.

Le priming chimique, en utilisant le zinc et le cobalt comme agents de stress hydrique, a eu des effets significatifs sur les taux de germination, les temps moyens de germination et les taux cumulés de germination pour la luzerne et le trèfle en condition de stress hydrique. Ces résultats indiquent que le priming peut être une stratégie efficace pour améliorer la germination des graines, mais ses effets varient en fonction des espèces végétales et des conditions expérimentales.

De ce fait, il serait intéressant de pousser cette étude vers le stade « plante » et voir la réactivité du matériel végétal en terme d'analyse de marqueurs de stress tel que la proline, les sucres solubles, la teneur en acide abscissique ...

De plus, l'exploration du mécanisme de germination sous condition de priming chez d'autre espèce a intérêt agricole dans les zones déficitaires.

ANNEXES

TUKEY PRIMING

Espece=Trèfle Concentration en PEG=C1Durée du priming=12 h

Test de Tukey

Priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
Co_0,08	3	46,67	
Co_0,12	3	53,33	53,33
Zn_0,15	3	66,67	66,67
Eau	3	73,33	73,33
Zn_0,10	3	73,33	73,33
Co_0,05	3	80,00	80,00
Zn_0,07	3		86,67
Signification		,084	,084

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Espece=Luzerne Concentration en PEG=C0Durée du priming=4 h

Test de Tukey

Priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
Co_0,08	3	33,33	
Co_0,05	3	46,67	46,67
Zn_0,07	3	46,67	46,67
Eau	3	60,00	60,00
Co_0,12	3	60,00	60,00
Zn_0,10	3	60,00	60,00
Zn_0,15	3		86,67
Signification		,415	,085

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Moyenne de germination journaliere (%)

Espece=Trèfle Concentration en PEG=C1Durée du priming=12 h

Test de Tukey

Priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
Co_0,08	3	11,67	
Co_0,12	3	13,33	13,33
Zn_0,15	3	16,67	16,67
Eau	3	18,33	18,33
Zn_0,10	3	18,33	18,33
Co_0,05	3	20,00	20,00
Zn_0,07	3		21,67
Signification		,084	,084

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Espece=Luzerne Concentration en PEG=C0Durée du priming=4 h

Test de Tukey

Priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
Co_0,08	3	8,33	
Co_0,05	3	11,67	11,67
Zn_0,07	3	11,67	11,67
Eau	3	15,00	15,00
Co_0,12	3	15,00	15,00
Zn_0,10	3	15,00	15,00
Zn_0,15	3		21,67
Signification		,415	,085

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Taux cumulé de germination (%)

Espece=Trèfle Concentration en PEG=C1 Durée du priming=12 h

Test de Tukey

Priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
Co_0,08	3	28,33	
Co_0,12	3	40,00	40,00
Co_0,05	3	43,33	43,33
Zn_0,15	3	46,67	46,67
Zn_0,10	3		48,33
Eau	3		51,67
Zn_0,07	3		55,00
Signification		,071	,189

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilisez la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Temps moyen de germination (jours)

Espece=Trèfle Concentration en PEG=C3 Durée du priming=12 h

Test de Tukey

Priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
Zn_0,07	3	1,08333	
Zn_0,15	3	1,33333	
Zn_0,10	3	1,36667	1,36667
Co_0,05	3	1,66667	1,66667
Eau	3	1,77778	1,77778
Co_0,12	3	1,88889	1,88889
Co_0,08	3		2,40000
Signification		,197	,057

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilisez la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Tukey temps

Taux de germination final (%)

Es pece=Luzerne Concentration en
PEG=C0Priming=Zn_0,15

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
8 h	3	60,00	
12 h	3	60,00	
4 h	3		86,67
Signification		1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Es pece=Luzerne Concentration en
PEG=C2Priming=Zn_0,15

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
8 h	3	13,33	
4 h	3		66,67
12 h	3		66,67
Signification		1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Moyenne de germination journaliere (%)

Es pece=Luzerne Concentration en
PEG=C0Priming=Zn_0,15

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
8 h	3	15,00	
12 h	3	15,00	
4 h	3		21,67

Signification		1,000	1,000
---------------	--	-------	-------

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Taux cumulé de germination (%)

Es pe ce=Luze me Concentration en
PEG=C2Priming=Zn_0,15

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
8 h	3	10,00	
4 h	3	36,67	36,67
12 h	3		43,33
Signification		,080	,787

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Temps moyen de germination (jours)

Es pe ce=Trfle Concentration en
PEG=C0Priming=Zn_0,07

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
8 h	3	1,19444	
4 h	3		1,85000
12 h	3		2,08333
Signification		1,000	,354

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Es pe ce=Trfle Concentration en
PEG=C0Priming=Zn_0,10

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
8 h	3	1,44444	
4 h	3	1,66667	

12 h	3		2,35556
Signification		,581	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Es pe ce=Tréle Concentration en PEG=C1Priming=Eau

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
8 h	3	1,16667	
12 h	3	1,36111	1,36111
4 h	3		2,50000
Signification		,897	,088

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Es pe ce=Luzerne Concentration en PEG=C0Priming=Zn_0,07

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
12 h	3	1,91667	
4 h	3	2,38889	2,38889
8 h	3		2,50000
Signification		,083	,811

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

Es pe ce=Luzerne Concentration en PEG=C1Priming=Co_0,12

Test de Tukey

Durée du priming	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
12 h	3	1,55556	
4 h	3	2,22222	2,22222
8 h	3		2,55556
Signification		,165	,570

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Akiko Ike, Rutchadaporn S., 2006. Bioremediation Of Cadmium Contaminated Soil Using Symbiosis Between Leguminous Plant And Recombinant Rhizobia With The Mtl4 And The Pcs Genes.
- Benavides, María P., Susana M. Gallego, et María L. Tomaro. 2005. « Cadmium toxicity in plants ». *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17 (1): 21–34.
- Bolan N., Duraisamy V.P., Choppala G., Luo J., and Scheckel K. (2013) Uses and management of organic amendments to soils for crop production: a review, *Agronomy for Sustainable Development* 33(4): 701-719.
- Chuang YC, Rani V, Yeh KC. (2010) A dual role for the OsMTP11 gene in manganese tolerance and iron nutrition in rice. *Plant Mol Biol.* 74(4-5): 163-73.
- Czernic P, Visser B, Sun WN, Savouré A, Deslandes L, Marco Y, Van Montagu M, Verbruggen N. (1999) Characterization of an *Arabidopsis thaliana* cDNA homologue to animal metallothionein. *Plant Mol Biol.* 39(1): 67-80.
- Djalil I, Sommer A, Hechelmann H, Pena R. (2002) Transport and accumulation of foliar-applied zinc in bread and durum wheat cultivars. *J Plant Nutr.* 25(7): 1529-1540.
- Dudev T, Lim C. (2012) Principles governing Mg, Ca, and Zn binding and selectivity in proteins. *Chem Rev.* 112(2): 804-31.
- Forieri I, Wirtz M, Hell R. (2017) Toward new perspectives on the interaction of iron and sulfur metabolism in plants. *Front Plant Sci.* 8: 1520.
- Foyer CH, Noctor G. (2003) Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiol Plant.* 119(3): 355-364.
- Hattori Y, Nagai K, Furukawa S, Song XJ, Kawano R, Sakakibara H, Wu J, Matsumoto T, Yoshimura A, Kitano H, Matsuoka M, Mori H, Ashikari M. (2009) The ethylene response factors SNORKEL1 and SNORKEL2 allow rice to adapt to deep water. *Nature.* 460(7258): 1026-1030.
- Ivanov VB, Yang X, Chen H, Zernova O, Fedorova M, Plakidou-Dymock S, Brumbarova T, Bauer P, Migge A, Finnegan PM. (2012) PHR1 and PHR2 of the transcriptional regulatory system participate redundantly in the regulation of

sulfate accumulation and assimilation in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 586(6): 91-98.

- Kobayashi Y, Kuroda K, Kimura K, Southron-Francis JL, Furuzawa A, Kimura K, Iuchi S, Kobayashi M, Koyama H. (2007) Amino acids that contribute substantially to the binding of zeolite to metal ions in plants. *Plant Cell Physiol.* 48(12): 1536-1542.
- Lee J, Bartsch M, Zhang L, Hrmova M, Marquis CP, Yang Y, Vrielink A, Fincher GB. (2017) Barley germin-like protein as an ideal system to investigate plant programmed cell death in vivo. *Plant Mol Biol.* 94(4-5): 321-336.
- Lee J, Higgins TJ, Fincher GB. (1998) Comparative biochemistry of the oxidative burst produced by rose and French bean cells reveals two distinct mechanisms. *Plant Physiol.* 116(4): 1379-1385.
- Li J, Yu H, Wang G, Sun P, Wang L, Yuan L, Xin Y, Li S, Li X, Hu J, Cai J, Chen S. (2013) Multiple factors contribute to an outbreeding depression in hybrids between genetically modified crops and wild relatives. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110(31): 1193-1202.
- Li Z, Han Y, Sun X, Xu X, Chen Y, Tian J. (2020) Comparative Proteomics Analysis of Wheat Grain Development under Zinc
- Donmez, E., Aydin, M., Turan, M., Okur, B., 2004. Analysis of genetic diversity of maize hybrids by molecular markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 28, 223–227.
- Dumat, C., Quenea, K., Bermond, A., Toinen, S., Benedetti, M.F., 2006. Study of the trace metal ion influence on the turnover of soil organic matter in cultivated contaminated soils. *Environmental Pollution* 142, 521–529.
- Durairaj, C., Xavier R., 2013. Cobalt stress on seed germination and seedling growth of Paddy (*Oryza sativa*). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 5, 201–204.
- El-Missiry, M.A., Fakhary, S., Ramadan, M.F., 2016. Effect of zinc on growth, lipid peroxidation, antioxidant capacity, and lipid composition in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) plants grown under salt stress. *Plant Biosystems* 150, 259–266.

- Erman, M., Kaya, C., Ortas, I., 2012. Effects of cobalt on antioxidant enzyme activities, proline, malondialdehyde, and chlorophyll concentrations in maize. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 36, 655–662.
- Ezzoubi, Y., El Meskaoui, A., Karray, B., 2003. Effect of salt stress on the growth and phenolic compounds of *Medicago sativa* (L.) and *Medicago murex* (L.). *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 7, 175–179.
- Feigl, G., Lehotai, N., Molnar, A., Ordog, A., Rodriguez-Ruiz, M., Palma, J.M., Corpas, F.J., Erdei, L., Kolbert, Z., 2018. Zinc induces distinct changes in the metabolism of reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS) in the roots of two wheat species with different zinc-deficiency tolerance. *Annals of Botany* 121, 1105–1119.
- Ghaemmaghami, S.J., Khoshgoftarmanesh, A.H., Afyuni, M., Hadadzadeh, H., Schulin, R., 2012. The effect of water stress on zinc and cadmium uptake by wheat (*Triticum aestivum*) using Zn^{65} and Cd^{109} isotopes. *Plant and Soil* 357, 201–209.
- Görk, G., Demir, K., Büyükköse, S., 2014. The effect of different levels of cobalt on the antioxidant enzyme activities in tomato seedlings. *Journal of Animal and Plant Sciences* 24, 1668–1674.
- Hajiboland, R., Barceló, J., Poschenrieder, C., Tolrà, R., 2013. Amelioration of cobalt toxicity by silicon is related to elevated cobalt compartmentalization in the epidermis of maize. *Environmental and Experimental Botany* 91, 1–8.
- Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., 2013. The role of calcium in alleviating the cobalt toxicity in barley. *Biologia Plantarum* 57, 108–112.
- Israr, M., Sahi, S.V., Datta, R., Sarkar, D., Sharma, S., 2006. Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Sesbania drummondii*. *Chemosphere* 65, 591–598.
- Jafarnejadi, A., Majidi, M.M., Lakzian, A., 2015. In vitro regeneration and antioxidant enzyme activity of *Chrysanthemum morifolium* under copper stress. *Plant Omics* 8, 372–379.
- Júnior, L.A.F., Carneiro, N.P., de Souza, J.S., Gonçalves, J.F.C., 2020. Photosynthetic pigments and growth of kidney bean plants under zinc toxicity. *Acta Scientiarum. Agronomy* 42, e39439.

- Karimi, N., Arzani, K., Darbani, M., 2016. Effects of salt stress on pigment content and photosynthesis of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Turkish Journal of Botany* 40, 152–158.
- Khan, M., Hasanuzzaman, M., Alharby, H.F., Exogenous Application of Phytohormones and Plant Metabolites, 2019. *Phytohormones: Crop Productivity and Stress Tolerance*. Woodhead Publishing, pp. 401–430.
- Li, Y., Dhankher, O.P., Carreira, L., Lee, D., Chen, A., Schroeder, J.I., Balish, R.S., Meagher, R.B., 2004. Overexpression of phytochelatin synthase in *Arabidopsis* leads to enhanced arsenic tolerance and cadmium hypersensitivity. *Plant & Cell Physiology* 45, 1787–1797.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Govindarajan, R., Kuriakose, S.V., Prasad, M.N.V., 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 44, 25–37.
- Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., Avudainayagam, S., 2005. Chromium toxicity in plants. *Environment International* 31, 739–753.
- Sofu, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., Vitti, A., 2004. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences* 5, 141–150.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M.R., 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany* 61, 199–223.
- Wang, F., Chen, Z.H., Liu, X.C., Colmer, T.D., Shabala, S., 2016. Tissue-specific root ion profiling reveals essential roles of the CAX and ACA calcium transport systems in response to hypoxia in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany* 67, 3747–3762.
- Xiong, J., An, L., Lu, H., Zhu, C., Chen, J., 2009. Cadmium decreases crown root number by decreasing endogenous nitric oxide, which is indispensable for crown root primordia initiation in rice seedlings. *Planta* 230, 599–610.
- Yamaguchi, T., Kuroyanagi, M., Kojima, M., Sakakibara, H., 2011. Effects of brassinosteroids on the growth of *Arabidopsis* plants under high temperatures. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 75, 2049–2052.

- Yang, J., Zhang, J., Wang, Z., Zhu, Q., Liu, L., 2001. Abscisic acid and ethylene interact in wheat grains in response to soil drying during grain filling. *New Phytologist* 150, 291–305.
- Zhang, J., Davies, W.J., 1987. Increased synthesis of ABA in partially dehydrated roots and the effects of root water status on the xylem sap ABA concentration. *Journal of Experimental Botany* 38, 2015–2023.