

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques



MEMOIRE
MASTER ACADEMIQUE
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Présente par : Tabet Assia

Thème

**Effets des différentes doses d'extraits aqueux de la partie
aérienne de la luzerne (*Medicago sativa* L.) sur la germination
et post-germination de ses graines**

Soutenu publiquement

Le : 26/06/2018

Devant le jury :

Présidente	DJERROUDI Ouiza	MCB	U.K.M. Ouargla
Promoteur	CHAABENA Ahmed	MAA	U.K.M. Ouargla
Examinatrice	HANNANI Amina	MAA	U.K.M. Ouargla

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Je remercie Allah tout puissant de m'avoir donné le privilège et la Chance d'étudier et de suivre le chemin de Master Biotechnologie Végétale.

Tout d'abord un grand merci à Mr CHAABENA AHMED enseignant à l'université de Ouargla, au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université KASDI MERBAH-Ouargla, pour m'avoir donné la chance d'effectuer ce mémoire. Merci pour l'encadrement, votre présence et votre Disponibilité permanente, pour vos conseils et votre soutien. J'ai l'honneur de vous exprimer mes très profondes reconnaissances et mes sentiments les plus sincères.

Je remercie madame DJERROUDI Ouiza qui a accepté d'évaluer mon travail en tant que présidente de mon jury. Je tiens également à remercier madame HANNANI Amina qui a bien voulu être examinatrice de Ce travail.

On tient également à remercier Mlle. SALHI Nesrine

Pour son aide et son orientation.

En fin, j'agréable d'exprimer mon remerciement à tout mes amis Je dédie ce modeste travail à ma famille qu'ils reposent en paix, mes parent, source de tendresse et de courage, à mes frères, sœurs. A mes amis de spécialité de biotechnologie végétale qui font mon équilibre, pour leur présence dans ma vie .

TABET Assia

Table de matière

Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique.....	4
I.1. Généralités sur le phénomène d'allélopathie	4
I.1.1. Historique et définition de l'allélopathie.....	4
I.1.2. L'autotoxicité	5
I.1.3. Natures chimiques des substances allélopathiques	5
I.1.4. Voies de libération de substances allélochimiques	5
I.1.5 Modes d'action des composés allélopathiques	7
I.2. Présentation de la luzerne	8
I.2.1. Systématique	8
I.2.2. Caractères généraux	9
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	11
II.1. Matériel	11
II.1.1. Matériel végétal	11
II.1.2. Matériel de laboratoire.....	12
II.2. Méthodologie	12
II.2.1. Echantillonnage	12
II.2.2. Préparation des extraits aqueux	13
II.2.2.1. Le pesage.....	13
II.2.2.2. Broyage et filtration	13
II.2.3. Les tests de germination	14
II.2.4. Exploitation des résultats	16
II.2.4.1. Paramètres mesurés	16
II.2.4.2. Mesure des longueurs	17
II.2.4.3. Analyses statistiques	17
Chapitre III : Résultats et discussion.....	19
III.1. Résultats	19
III.1.1. Taux de germination.....	19
III.1.2 Les longueurs minimales	20
III.1.3 Les longueurs maximales	22

III.2. Discussion	24
Conclusion	27
Référence bibliographique	29

Liste des abréviations

TG : Taux de Germination

ANOVA :Analyse de variances

C : Concentration

LMP : Longueur Minimale de la Plantule

PA : Partie Aérienne

Liste des figures

Figure 1: Voies de libération des molécules allélopathiques (Regnault-Roger et al., 2008)..	7
Figure 2: Morphologie de la luzerne (<i>Medicago sativa</i> L.)(Childer.2008)	8
Figure 3 : La partie aérienne de <i>Medicago sativa</i> L	11
Figure 4 : Les graines de <i>Medicago sativa</i> L.....	11
Figure 5: partie aérienne de la luzerne après séparation au dessus du Colet	12
Figure 6 : Pesées de la partie aérienne	13
Figure 7 : Broyage et filtration de la matière végétale	14
Figure 8 : Extraits aqueux des différentes concentrations (10g/l, 20g/l, 30g/l, 40g/l et 50g/l)	14
Figure 9: Préparation des lots de traitements.....	15
Figure 10: Imbibition des graines de <i>Medicago sativa</i> L par les extraits aqueux	15
Figure 11 : Les boîtes de Petri dans le phytotron	16
Figure 12: Le taux de germination.....	17
Figure 13: La mesure des longueurs avec le pied à coulisse	17
Figure 14: Variation du taux de germination en fonction des différentes concentrations de la solution aqueuse de la partie aérienne	19
Figure 15: Variation de la longueur minimale de la plantule en fonction des différentes concentrations de la solution aqueuse de la partie aérienne.....	21
Figure 16: Variation de la longueur maximale de la plantule en fonction des différentes concentrations de la solution aqueuse de la partie aérienne.....	22

Liste des tableaux

Tableau 1: Matériel utilisé.....	12
Tableau 2: Analyse de la variance du Taux de germination (%)	20
Tableau 3: Test de Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%	20
Tableau 4: Analyse de la variable longueur minimale du la plantule (mm)	21
Tableau 5: Test de Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%	22
Tableau 6: Analyse de la variable longueur maximale du la plantule (mm).....	23
Tableau 7: Test de Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%	23

Introduction

Introduction

Les communautés végétales sont en partie régies par les interactions entre espèces. Il existe deux modalités d'interactions entre les plantes : les relations de facilitation représentant l'effet positif d'une espèce sur d'autres espèces, comme la protection contre l'herbivore et les associations symbiotiques et les interférences négatives, ces dernières peuvent être directes; c'est-à-dire, de plante à plante (compétition, allélopathie) ou indirectes (attraction ou entretien d'organismes comme les herbivores affectant les plantes voisines) (**Bouton, 2005**).

Le phénomène de l'allélopathie a été souvent considéré comme une part de la compétition ou complètement ignorée. Les effets de ces interactions dépendent des facteurs physiques environnementaux et de la combinaison entre la compétition pour les ressources, les composés allélopathiques émis dans l'environnement et les facteurs de facilitation (**Delabays, 2002**).

La libération de substances organiques par divers végétaux peut se révéler toxique (**Parry, 1982**). Les substances chimiques synthétisés par les plantes allélopathiques qui exercent des influences sur d'autres plantes sont appelées allélochimiques (Ang. allelochemicals ou allelochemicals).

La plupart des allélochimiques sont classés comme des métabolites secondaires et produits dérivés de la principale voie métabolique de la plante. Souvent, leur fonctionnement dans la plante est inconnu. Cependant, certains allélochimiques sont également connus pour leurs fonctions structurelles (par exemple, comme intermédiaires de lignification) ou de jouer un rôle dans la défense contre les herbivores et les agents pathogènes des plantes (**Corcuera, 1993 ; Niemeyer, 1988**).

L'autotoxicité est une forme spécifique d'allélopathie dans laquelle la plante donneuse et la plante réceptrice sont les mêmes espèces (**Chon et al., 2004**).

La luzerne est la plante fourragère la plus répandue dans le monde. Elle jouit d'un regain d'intérêt lié notamment à sa richesse en protéines. Elle offre ainsi le rendement en protéines le plus élevé des plantes fourragères. Comme toutes les légumineuses, elle possède cette formidable capacité à fixer l'azote de l'air. Elle offre dans l'alimentation animale une véritable alternative en substituant, grâce à sa valeur protéique, les farines animales, assurant

ainsi une sécurité alimentaire et sanitaire, comme c'est un atout environnemental et écologique considérable (**Boudour ,2012**).

Dans notre cas, nous nous proposons d'aborder l'effet de différentes doses d'extraits aqueux de la partie aérienne de la luzerne (*Medicago sativa* L) sur la germination de ses graines dans un objectif de déterminer la dose d'extrait aqueux qui inhiberait la germination et/ou la croissance(les premiers stades) de ses graines .

Le premier chapitre est consacré à une brève synthèse bibliographique. Cette synthèse rappelle la définition de l'allélopathie et son historique et des généralités sur la luzerne.

Dans le deuxième chapitre aborde le matériel et méthodes retenus pour cet essai. Et en fin résultats obtenus qui seront présentés est discutés dans le troisième et dernier chapitre.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur le phénomène d'allélopathie

I.1.1. Historique et définition de l'allélopathie

L'allélopathie est une interaction chimique à distance exercée entre plants d'espèces différentes par l'intermédiaire des substances, généralement toxiques (antibiotiques, toxines, inhibiteurs de germination et/ou de croissance), excrétées par leurs racines ou par leurs feuilles dans le milieu environnant (air, eau, sol) (**Foret, 2004**).

Dès l'antiquité, l'homme a observé que certains végétaux gênaient le développement d'autres espèces voisines: Théophraste remarquait que le pois-chiche détruisait les mauvaises herbes. En outre, il est constaté que le noyer ne laissait pousser aucune plante sous son feuillage (**Rizvi et Rizvi, 1991**). Au siècle dernier, De Candolle suggéra que la fatigue des sols pourrait être due à des exsudats des cultures. En **1937, Molisch (In Chadda, 2008)** précisa le phénomène et créa le terme d'allélopathie. En effet, à la fin de sa vie, **Hans Molisch (In Chadda, 2008)** publie son dernier livre, consacré aux interactions chimiques entre plantes, largement illustrées par les effets de l'éthylène sur la maturation des fruits. A cette occasion, il propose d'utiliser le terme d'allélopathie pour décrire ce type de relations interspécifiques faisant appel à des médiateurs chimiques.

En **1984**, l'allélopathie, définie par **Rice** comme étant tout effet direct ou indirect, positif ou négatif, d'une plante sur une autre à travers la production de composés chimiques libérés dans l'environnement (**Regnault-Roger et al., 2008**).

Beaucoup d'auteurs dont (**Caussanel, 1975**), (**Drapier, 1983**), (**Singh et al., 2001**), (**Raissac, 2002**), (**Lacroix, 2003**), (**Lelong et al., 2004**), (**Delabays, 2005**), s'accordent pour définir l'allélopathie comme l'ensemble des phénomènes qui sont dus à l'émission ou à la libération de substances organiques par divers organes végétaux, vivants ou morts et qui s'expriment par l'inhibition ou la stimulation de la croissance des plantes se développant au voisinage de ces espèces ou leur succédant sur le même terrain (**In Chadda, 2008**).

I.1.2. L'autotoxicité :

L'autotoxicité de la luzerne se produit lors de l'ensemencement de la luzerne après la luzerne (**Jennings et Nelson, 2002a**) et lors de l'inter-ensemencement pour épaissir un peuplement clairsemé (**Jennings et Nelson, 2002b**). De nombreux principes généraux ont été appris sur les réactions des semis à la toxine (**Chon et al., 2000**), son mouvement dans le sol (**Jennings et Nelson, 1998**), et comment l'autotoxicité est affectée par la gestion (**Tesar, 1993, Miller, 1996, Seguin et al., 2002**). Chez la luzerne et de nombreuses autres espèces, les effets sont habituellement étudiés en tant qu'essai biologique d'un extrait d'une plante donneuse mature sur la germination des graines ou la croissance des plantules, en particulier la croissance des racines.

I.1.3- Natures chimiques des substances allélopathiques :

La quasi- totalité des molécules caractérisées comme agents allélopathiques sont des métabolites secondaires végétaux, c'est-à-dire des composés qui n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétale (croissance, développements, reproduction.....) (**Chapusio et al., 1997**) .

Les plantes allélopathiques libèrent certains produits chimiques dans leur environnement qui sont disponibles dans la plupart des plantes en faible concentration.

Une variété d'allélochimiques a été identifiée, y compris les acides phénoliques (qui sont les plus importants) tels que les acides p-hydroxybenzoïque, vanillique, p-coumarique, férulique et chlorogénique, des coumarines, terpénoïdes, alcaloïdes, flavonoïdes, quinones, tannins, glycosides et glycosinolates (**Bagchi, 1997**). Ainsi que des acides gras et des acides aminés (**Inderjit, 1996**).

I.1.4- Voies de libération de substances allélochimiques :

Les allélochimiques sont libérés dans l'environnement au moyen de quatre processus écologiques:

- ❖ **Volatilisation:** la libération de substances toxiques volatiles par les plantes. Les substances émises par cette voie sont le plus souvent des mono terpènes. L'action

inhibitrice est exercée par ces plantes sur la croissance des herbes de leur voisinage (**Koitababashi, 1997**).

- ❖ **Exsudation racinaire:** on appelle exsudat racinaire toute substance organique soluble et insoluble libérée dans le sol par les racines saines ou lésées.

L'exsudation racinaire présente un intérêt particulier pour les phénomènes allélopathiques parce qu'il s'agit d'une voie de libération directe des toxines dans la rhizosphère, pouvant ainsi potentiellement influencer la composition de la flore microbienne (**Chiapasio et al., 2002**).

- ❖ **Le lessivage:** le lessivage de tissus végétaux, principalement de feuilles, par la pluie, le brouillard ou la neige conduit à la dissolution et au transport de constituants organiques. La grande majorité des substances allélopathiques peut être lessivée, y compris les terpènes, les alcaloïdes et les substances phénoliques (**Tukey, 1970**).
- ❖ **Décomposition des résidus végétaux:** les substances potentiellement allélopathiques étant présentes dans tous les tissus de plante, la décomposition de résidus végétaux entraîne leur libération dans le sol. Des extraits aqueux de litière de certains conifères (*Picea mariana*, *Pinus resinosa* et *Thuja occidentalis*) inhibent la germination et la croissance juvénile de diverses espèces colonisatrices des terres abandonnées par l'agriculture (**Jobidon , 1986**).

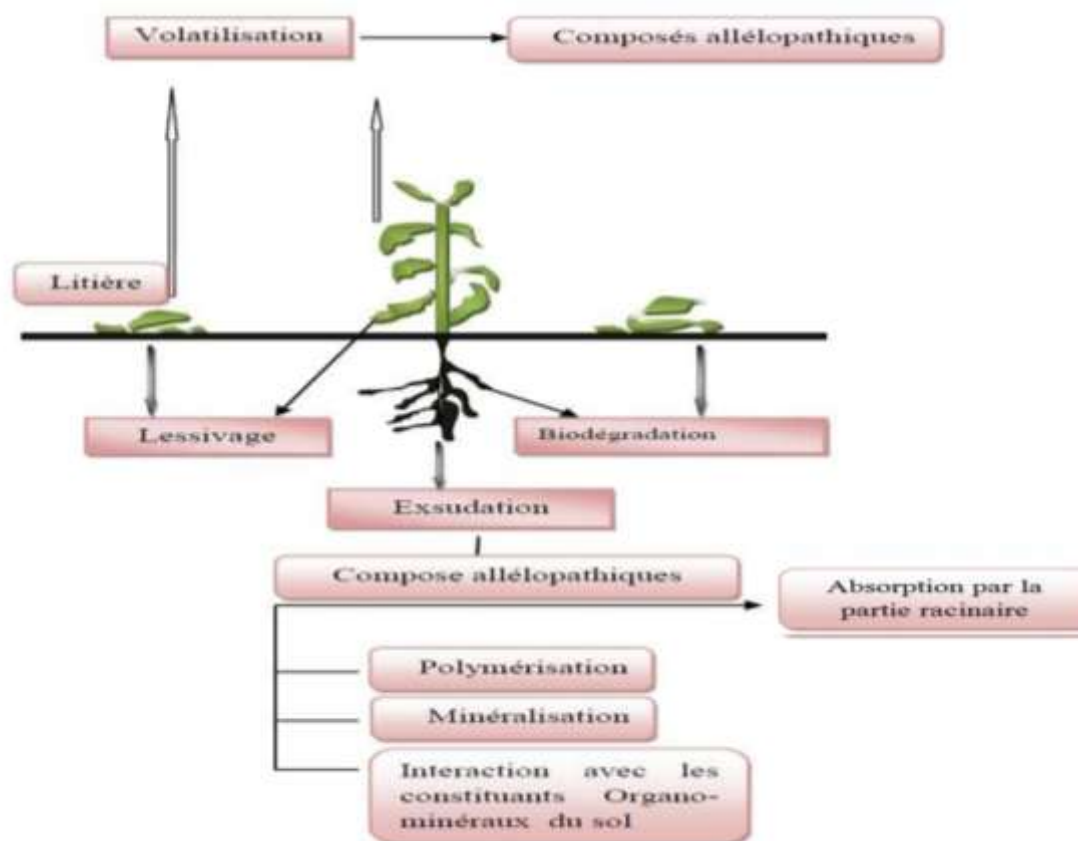


Figure 1: Voies de libération des molécules allélopathiques (Regnault-Roger et al., 2008).

I.1.5 Modes d'action des composés allélopathiques

Rice (1984) a indiqué que les effets des substances allélopathiques sur la germination ou sur la croissance des plantes cibles ne sont que les signes secondaires de modifications primaires. En fait, peu d'effets spécifiques sont attribuables à ces produits, qui ont aussi bien des actions inhibitrices que des actions stimulantes. Il est important de remarquer que les doses efficaces sont la plupart du temps très élevées et qu'on observe de fortes variations (inhibition ou stimulation) en fonction de la dose. Selon (Ferguson et al., 2003), les substances allélopathiques agissent sur:

- **La division cellulaire :** la coumarine inhibe la mitose dans les racines d'oignon
- **La croissance et synthèse :** les composés phénoliques ont une action sur la régulation des hormones de croissance
- **La photosynthèse et respiration :** la scopolétine réduit la photosynthèse chez le tournesol et le tabac par fermeture des stomates.

- **La perméabilité membranaire** : les composés phénoliques accroissent le flux de potassium hors des tissus racinaires
- **L'absorption minérale** : l'acide férulique inhibe l'absorption de potassium par les plantes (confusion avec les effets de la compétition).
- **Le cycle de l'azote** : fixation de l'azote et nitrification.

I.2. Présentation de la luzerne

La luzerne (*Medicago sativa* L.) représente actuellement dans le monde près de 32 millions d'hectares, dont 13 millions en Amérique du Nord et 500 000 en France. La luzerne est une plante fourragère principalement destinée à l'alimentation des ruminants (**Boutineau, 2010**).

La luzerne possède par ailleurs de nombreux avantages agronomiques (pérennité, rusticité, production estivale économie d'intrants) et zootechniques (richesse en protéines, richesse en substance minérales, forte ingestibilité). De plus dans un contexte socio-économique qui se caractérise par une préoccupation forte de la protection de l'environnement, et de la sécurité alimentaire, la luzerne produit beaucoup de protéines avec un impact faible sur l'environnement (**Hamom , 2001**).

I.2.1. Systématique

D'après (**Quezel et Santa, 1962**), l'espèce est classée comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Sous- embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

Sous- Classe : Dialipétales.

Ordre : Rosales.

Famille : Fabacées.

Sous-famille : Papilionacées.

Tribu: Trifoliées.

Genre: *Medicago*

Espèce: *Medicago sativa* L(Boudour ,2012).



Figure 2: Morphologie de la luzerne (*Medicago sativa* L.).(Childer.2008)

I.2.2. Caractères généraux

Plantes vivaces à fortes racines pivotantes ou à tendance fasciculée (luzerne faucille), leurs tiges portent des feuilles trifoliées à folioles finement dentées au sommet et à inflorescence en grappe de 10 à 20 fleurs.

Les fleurs sont violettes, pourpres ou bleuâtres chez la luzerne commune, jaunes chez la luzerne faucille et violettes bigarrées de jaune chez la luzerne intermédiaire.

La fécondation est allogame. Le fruit est une gousse plus ou moins enroulée, soit en forme de faucille pour *Medicago falcata*, soit spiralée (de 1 à 4 spires) pour *M. sativa*.

La graine plus ou moins réniforme est longue d'environ 2,5 mm (**Camille, 1980**).

Chapitre II :

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel :

II.1.1. Matériel végétal :

Les plants de luzerne (*Medicago sativa* L.) utilisées proviennent d'une luzernière âgée de plus de 3 années au niveau des périmètres agricoles de Hassi Ben Abdallah.

De même, les graines testées proviennent d'une culture précédente (2011) de luzerne au niveau de l'ITDAS à Hassi Ben Abdallah.

Partie aérienne de la luzerne

On a pris toute la partie aérienne (tige + feuille) pour l'extraction (Figure 3)

Les graines de la luzerne

On a utilisé les graines de la luzerne pour la réalisation de l'expérimentation (Figure 4)



Figure 3 : La partie aérienne de *Medicago sativa* L



Figure 4 : Les graines de *Medicago sativa* L

II.1.2. Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé est inventorié au niveau du tableau 01.

Tableau 1: Matériel utilisé

La verrerie	Les appareils	Les produits	Autres matériels
Boîte de Petri en plastique	Balance de précision	Eau distillée	Papier filtre
flacon en plastique	Broyeur électrique	Extraits aqueux préparés	Passoire
Eprouvette graduée	Phytotron	Partie aérienne de la luzerne	Coton
Erlenmeyer	Pied à coulisse	Graine de la luzerne	Entonnoir
Bêcher			Papier aluminium, pince

II.2.Méthodologie :

II.2.1. Echantillonnage :

Les plantes de la luzerne furent récupérées pendant le mois d'avril et la partie aérienne est séparée de la partie souterraine qui est retenue dans une autre expérience (Figure 5).



Figure 5: partie aérienne de la luzerne après séparation au dessus du Colet

II.2.2. Préparation des extraits aqueux

II.2.2.1. Le pesage

La partie aérienne (PA) fraîche de la plante est coupée en petits morceaux et pesée selon les besoins (10g/ 20g/ 30g/ 40g et 50g) à l'aide d'une balance de précision respectivement pour les cinq concentrations retenues) (Figure6).



Figure 6 : Pesées de la partie aérienne

II.2.2.2- Broyage et filtration :

Chaque poids (10g, 20g, 30g, 40g, 50g) de PA de luzerne est mixé avec une petite quantité d'eau distillée pour faciliter le broyage à l'aide d'un bras électrique après nous ajustons jusqu' à 1 litre de solution par l'eau distillée (Figure07).

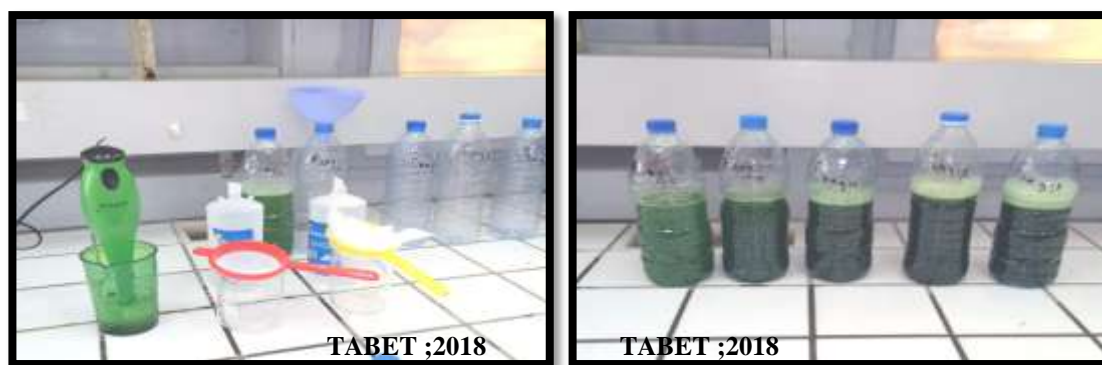


Figure 7 : Broyage et filtration de la matière végétale

Après filtration, le filtrat est conservé dans des flacons en plastique couvert par du papier aluminium pour éviter une possible photo-réaction des molécules (Figure 8).

On laisse les flacons 24 heures (pour macération à froid) dans des conditions du laboratoire avant l'imbibition des lots. Pour le témoin, il s'agit bien sûr d'eau distillée uniquement.



Figure 8 : Extraits aqueux des différentes concentrations (10g/l, 20g/l, 30g/l, 40g/l et 50g/l)

II.2.3- Les tests de germination

Nous avons utilisé 18 boîtes de Petri stériles en plastique pour tester l'effet de chaque extrait aqueux (les 6 différentes concentrations 0g/l, 10 g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40 g/l et 50 g/l) sur la germination des graines de la luzerne. Chaque traitement a été répété trois fois et les boîtes sont numérotées avec un marqueur permanent. Après nous avons mis 20 graines dans chaque

boîte de Petri tapissé par une couche de papier filtre Nous avons retenus des graines saines et qui ont presque la même taille (Figure 9), ensuite imbibé par quelques millilitres du traitement considéré dans chaque boîte de Petri (Figure 10), et l'incubation des boîtes a eu lieu dans un phytotron à la température de 25°C (Figure 11).

La durée d'observation et de suivi est 15 jours, durant laquelle, quotidiennement (sauf les week-ends), le nombre des graines germées et les longueurs des plantules maximale et minimale pour chaque boîte de Petri ont été notés.



Figure 9: Préparation des lots de traitements



Figure 10: Imbibition des graines de *Medicago sativa* L par les extraits aqueux



Figure 11 : Les boîtes de Petri dans le phytotron

II.2.4. Exploitation des résultats

II.2.4.1. Paramètres mesurés

Nous avons retenus trois paramètres à mesurer durant notre expérimentation :

- Le taux de germination (%).
- La longueur minimale de la plantule (mm).
- La longueur maximale de la plantule (mm).

Le taux de germination selon (**Côme, 1970**), correspond au pourcentage des grains germés par rapport au total des grains mis en germination. Il est estimé par la formule suivante:

$$\text{TG} = \text{nombre de graines germées} \times 100 / \text{nombre des graines semées}$$

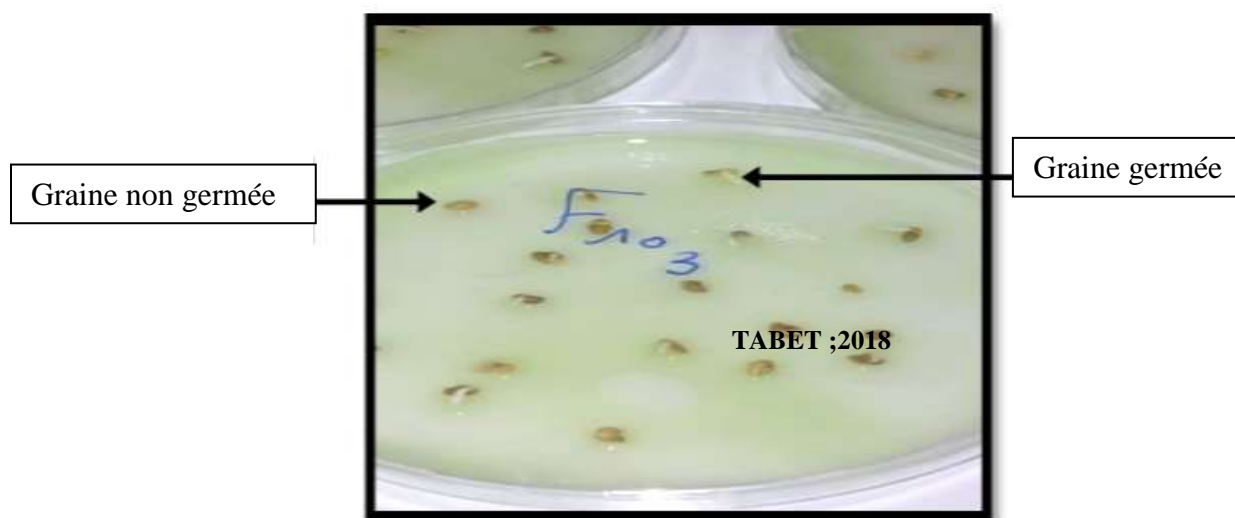


Figure 12: Le taux de germination

II.2.4.2- Mesure des longueurs :

Après avoir déterminé le nombre des graines qui ont germés dans chaque boîte, au niveau de chaque lot, nous avons mesuré la longueur minimale et maximale des plantules (la plus courte plantule et la plus longue plantule) avec le pied à coulisse (Figure 13).



Figure 13: La mesure des longueurs avec le pied à coulisse

II.2.4.3. Analyses statistiques

Après avoir réalisé les mesures, nous avons soumis nos résultats à une analyse de variance avec un intervalle de confiance de 95% avec le logiciel XLSTAT version 2009.6.01.

Chapitre III :

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

Pour déterminer l'effet de différentes doses d'extrait aqueux de la partie aérienne de la luzerne (*Medicago sativa* L.) sur la germination de ses graines, nous avons étudié des paramètres morpho physiologique de germination comme : le taux de germination, la longueur minimale de la plantule et la longueur maximale de la plantule.

III.1. Résultats

III.1.1. Taux de germination

Le taux de germination exprime le nombre des graines germées par rapport au nombre total des graines semées.

On remarque qu'au niveau des graines qui sont traitées par l'eau distillée (le témoin), le taux de germination atteint, au bout de 15 jours, la valeur la plus élevée de 98,33%, suivi par les graines qui sont traitées par la solution de la concentration 10g/l et 20 g/l qui ont la même valeur de taux de germination 91,66%. Ensuite une diminution du taux de germination dans les lots traités par l'extrait de concentration 30g/l permet d'avoir une valeur de 83,33% et 78,33% dans les lots traités par 40g/l et le plus faible pourcentage été enregistré dans les lots traités par la concentration 50g/l est égale à 75%. (Figure 14).

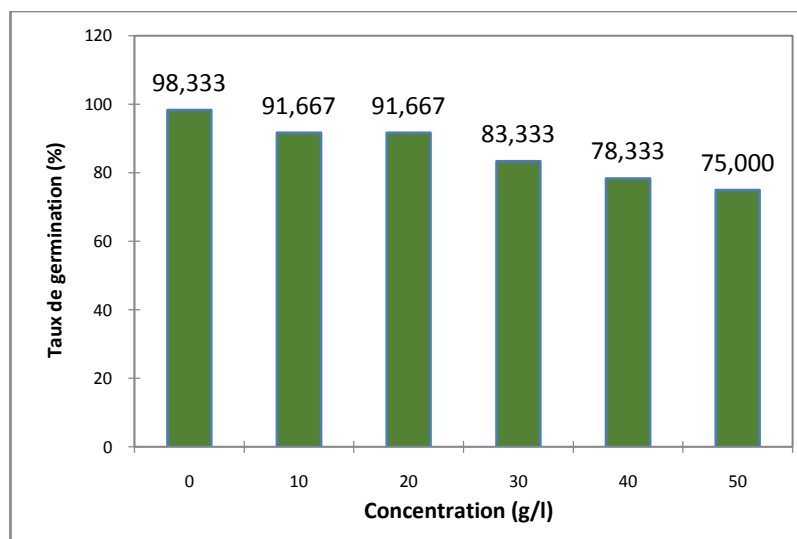


Figure 14: Variation du taux de germination en fonction des différentes concentrations de la solution aqueuse de la partie aérienne

L'analyse de variance (Tableaux 2 et 3) montre qu'il y a une différence significative entre les différents traitements. Et le test de Newman-Keuls les a regroupés en différents groupes homogènes.

Tableau 2: Analyse de la variance du Taux de germination (%)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	1206,944	241,389	10,224	0,001
Erreur	12	283,333	23,611		
Total corrigé	17	1490,278			

Tableau 3: Test de Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%

Concentration (g/l)	Moyenne	Groupes	
0	98,333	A	
10	91,667	A	B
20	91,667	A	B
30	83,333		B C
40	78,333		C
50	75,000		C

Au vu des résultats de la figure 14, il ressort un effet inhibiteur de la germination au niveau des différents lots traités par différentes concentrations de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Medicago sativa* L. qui se manifeste par une diminution du taux de germination des graines.

III.1.2 Les longueurs minimales

On observe après les traitements et la germination que la longueur minimale de la plantule (c'est-à-dire la longueur la plus courte de la plantule) varie d'une concentration à une autre (Figure 15).

Dans les lots de témoins la valeur de longueur minimale est de 02.33 mm, suivie par les graines qui sont traitées par la solution de 10g/l et 20g/l qui ont presque la même valeur de LMP 1,47mm chez les graines traitées par 10g/l et 1,43mm chez les graines qui sont traitées

par 20g/l. Après, une petite diminution de LMP dans les lots traités par l'extrait de 40g/l permet d'avoir une valeur de 1,18 mm et la plus faible longueur a été enregistrée dans les lots traités par la concentration 50g/l est égale à 1,09 mm. (Figure 15).

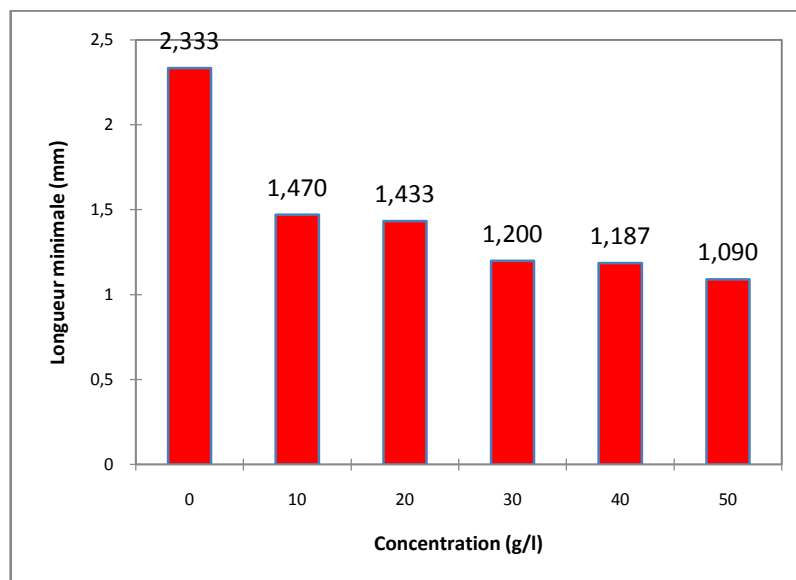


Figure 15: Variation de la longueur minimale de la plantule en fonction des différentes concentrations de la solution aqueuse de la partie aérienne

Au vu des résultats de la figure 15, il ressort un effet inhibiteur sur la croissance de LMP au niveau des différents lots traités par différentes concentrations de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Medicago sativa* L. provoque une diminution de LMP.

L'analyse de variance (Tableaux 4 et 5) montre qu'il y a une différence significative entre les différents traitements. Et le test de Newman-Keuls les a regroupés en deux groupes homogènes. Le groupe A pour le témoin et le groupe B pour toutes les autres concentrations.

Tableau 4: Analyse de la variable longueur minimale de la plantule (mm)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	3,127	0,625	3,972	0,023
Erreur	12	1,889	0,157		
Total corrigé	17	5,017			

Tableau 5: Test de Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%

Concentration (g/l)	Moyenne	Groupes
0	2,333	A
10	1,470	B
20	1,433	B
30	1,200	B
40	1,187	B
50	1,090	B

III.1.3 Les longueurs maximales

La longueur maximale de la plantule varie de manière similaire à celle du taux de germination (figure 16).

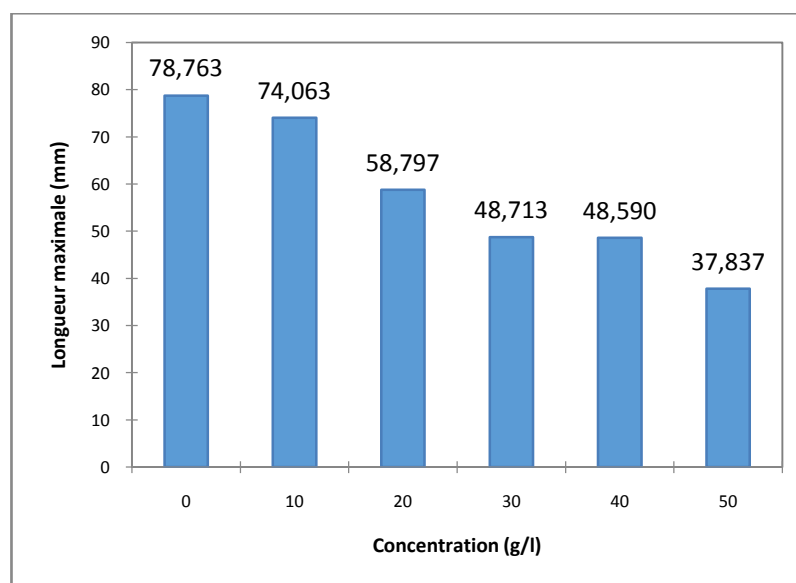


Figure 16: Variation de la longueur maximale de la plantule en fonction des différentes concentrations de la solution aqueuse de la partie aérienne

Pour ce paramètre, les résultats obtenus montrent que les lots de témoins présentent une valeur maximale de 78.76 mm et aussi que dans les lots de 10g/l très proches du témoin avec une longueur de 74,06 mm. Ensuite, on remarque qu'il y a une diminution dans les lots traités à 20g/l avec une valeur de 58.79 mm, alors que dans les lots de concentration 30g/l et 40g/l les deux valeurs sont très proches 48,71 mm et 48,59mm respectivement. Et la plus faible longueur est enregistrée pour 50g/l qui est de 37,83mm.

L'analyse de variance (Tableaux 6 et 7) montre qu'il y a une différence significative entre les différents traitements. Et le test de Newman-Keuls les a regroupés en différents groupes.

Tableau 6: Analyse de la variable longueur maximale du la plantule (mm)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	3812,630	762,526	25,898	< 0.0001
Erreur	12	353,327	29,444		
Total corrigé	17	4165,957			

Tableau 7: Test de Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%

Concentration (g/l)	Moyenne	Groupes
0	78,763	A
10	74,063	A
20	58,797	B
30	48,713	B C
40	48,590	B C
50	37,837	C

III.2. Discussion

Ces résultats font apparaître un effet inhibiteur de la germination de ces préparations vis-à-vis des graines traitées. Le taux de germination est total ou quasi-total, dans les lots témoins, et diminue progressivement au fur et à mesure de l'augmentation de la concentration au niveau des lots traités par les extraits aqueux ; et l'inhibition la plus élevée est notée à la concentration de 50g/l. donc le degré d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait comme l'mentionné (**Chon , 2001**).

Concernant le développement des plantules, on remarque qu'il y a une diminution de la longueur minimale ou maximale dans les lots traités par les extraits par rapport au lot témoin. L'allongement était plus sensible à l'autotoxine que le taux germination, comme relevé par (**Chon et al., 2000**) et (**Chung et Miller ,1995a**).

Cette action inhibitrice de germination est probablement liée à la concentration des extraits en molécules actives capables d'inhiber la germination des graines au niveau des lots traités par les extraits aqueux. Comme il est à signaler un taux d'inhibition de germination un peu faible et un retard dans la germination des graines traitées par rapport aux graines des lots témoins (**Regnault-Roger et al., 2008**) avancent qu'il est admis que dans les conditions naturelles, la germination des graines est un processus biochimique et physiologique où dès le premier contact de la graine avec le stimulus exogène (eau), une enzyme est synthétisée et sécrétée afin de dégrader les réserves afin de fournir à l'embryon l'énergie nécessaire à la germination. Une fois sécrétée, la croissance embryonnaire amorce et intervient par la suite par un autre processus physiologique où les acteurs sont les hormones de croissances végétales dont l'auxine (**Lesuffleur, 2007**).

De ce fait, la capacité d'inhiber la germination des graines, est un processus complexe, plusieurs hypothèses peuvent être posées, dont la capacité de certaines molécules, qui se trouvent dans les extraits, à inhiber l'action de l'enzyme ou bien d'occuper leurs sites membranaires, ou bien à l'action mimétiques ou antagonistes de ces molécules vis-à-vis des hormones de croissances ou à l'inhibition de leurs actions tissulaires (**Feeny , 1976**). Certains métabolites secondaires végétaux influent la germination ou la croissance des plantes par des mécanismes multiples (**Einhellig et al., 1985**). La division et l'élongation cellulaires, phases essentielles pour le développement, sont sensibles à la présence des composés allélopathiques (**Muller, 1965**). En effet, une inhibition de la synthèse d'ADN dans les noyaux du méristème

apical est soupçonnée (**Koitababashi et al., 1997 in Regnault-Roger et al., 2008**). La synthèse des protéines et des acides nucléiques peut aussi être effectuée par plusieurs composés phénoliques qui ralentissent l'incorporation des acides aminés (**Cameron et Julian, 1980 ; Baziramakenga et al., 1997**). Des composés phénoliques peuvent être impliqués dans le contrôle de l'activité des hormones végétales. La suppression de la dégradation de l'acide indole acétique (AIA) par différents phénol a ainsi été rapportée par **Lee et al. (1982)**. La synthèse ou le fonctionnement de plusieurs enzymes liés à la croissance sont aussi parfois perturbés (**Sato et al., 1982**).

Cette inhibition partielle pour les lots traités serait due à la présence considérable des molécules allélopathiques inhibitrices dans ces extraits, riches en métabolites secondaires tels que des composés phénoliques et les terpénoïdes (diterpènes et tetraterpènes).

Généralement, les phénomènes de la régulation de la croissance chez les végétaux supérieurs dont la germination, la croissance racinaire et caulinaire, sont assurés par les phytohormones. Les phytohormones, comme toutes les substances oligodynamiques, n'exercent une action positive que dans une certaine gamme de doses, dites doses physiologiques. Donc, lorsqu'il s'agit de substances solubles, dans une certaine gamme de concentrations. Cette gamme varie selon les hormones mais elle est toujours très large entre les seuils d'efficacité et de la toxicité (**Heller et al., 2000**).

Kruse et al., (2000) ont aussi montré que l'effet des substances allélochimiques se manifeste par des variations morphologiques qui sont observées le plus souvent aux premiers stades de développement (des effets sur l'allongement de la tigelle et de la radicule). C'est ce qui ressort dans les tests que nous avons réalisés où l'effet inhibiteur des extraits est plus important sur le développement des plantules (longueur de la plantule).

En général, nous avons trouvé que l'effet inhibiteur de l'extrait sur la germination des graines est faible. Le pouvoir inhibiteur de cet extrait se manifeste en particulier sur les longueurs. Ainsi, la croissance et le développement peuvent être affectés. Toutefois, l'allélopathie ne se manifeste que lorsqu'une quantité suffisante des substances allélopathiques atteint la graine cible.

Conclusion

Conclusion

L'étude de l'effet inhibiteur de la germination des extraits aqueux de la luzerne (*Medicago sativa* L.) sur la germination de ses graines a permis de mettre en exergue le pouvoir auto-allélopathique ou auto-toxique de ces extraits obtenus à partir des parties aériennes de cette plante.

Les différentes doses d'extraits aqueux retenues (10g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40 g/l et 50g/l en plus du témoin 0g/l) ont eu une action sur le taux de germination et sur le développement et la croissance des graines.

Nous retiendrons principalement que la germination des graines est maximale (presque totale) pour la concentration nulle (témoin), et pour les autres concentrations, le taux de germination diminue quant la concentration d'extrait augmente mais d'un taux faible.

Aussi, la longueur minimale au niveau des lot témoins est normale par rapport à celle au niveau des autres concentrations qui forment toutes un seul groupe distinct du témoin.

Concernant la longueur maximale de la plantule, nous relevons des différences beaucoup plus marquées aux fortes concentrations.

Ainsi, nous retiendrons que l'effet auto-allélopathique se manifeste aux fortes concentrations et d'autant plus que la plante croit et se développe.

L'étude de ces phénomènes nécessite la multiplication des efforts, et des études multidisciplinaires qui vont mettre en évidence les modalités d'action, les cibles des molécules secondaires et leurs possibilités d'utilisation aux champs et leur devenir dans l'environnement.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- Bagchi GD, Jaiind D.C et Kumar S., 1997.** Arteether : A potent plant growth inhibitor from *Artemisia annua*. *Phytochemistry*. Vol 45.No 6 :1131-1133.
- Boudour K. , 2012.** contribution à l'étude de la valeur alimentaire de quelque variété de luzerne pérenne cultivée dans le bas Chélif, Thèse Magister, UNIV Chlef , pp 3.
- Boutineau M.,2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris: Ed.Tech & Doc.
- Bouton F., 2005.** Mise en évidence du potentiel allélopathiques de la graminée *Festuca Panuculata* dans les prairies subalpine. Rapport de stage de master 01 sciences de la vivant-biodiversité écologie environnement, Univ. Joseph Fourier de biologie. PP:1- 18.
- Camille M. , 1980.** "Fourrages", ed. La maison rustique, Paris, 302 p.
- Camron H.J. et Julian J.R., 1980.** Inhibition of protein synthesis in lettuce (*Lactuca sativa* cultivar Black Seed Simpson) by allelopathic compounds.*J. Chem. Ecol.*, 6 :989-996.
- Chadda D., 2008.** Influence des matières organiques (feuilles, châtons et racines) du noyer (*Juglansregia* L.) sur le comportement de jeunes plants de pommier (*Malus domestica* Borkh) dans la région de R'haouat (Hidoussa) (Belezma). Thèse magister. Univ Batna, 08-28p.
- Chiapusio G., Gallet C., Dobremez J.F et Pellissier F., 2002.** Composées allélopathiques : herbicides de demain. In Regnault-Roger C., Philogène B J.R etVincent C. Biopesticides d'origines végétales. Ed Lavoisier. Paris.
- Chiapusio G., Sanchez A.M., Reigosa M.J., Gonzalez L. et Pellissier F., 1997.** Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process. *J.Chem. Ecol.*, 23 : 2445-2453.
- Childer W.R., 2008.** Encyclopédie Canadienne.
(<http://WWW.thecanadianencyclopedia.com>).
- Chon S.U., J.H. Coutts, et C.J. Nelson., 2004.** Osmotic and Autotoxic Effects of Leaf Extracts on Germination and Seedling Growth of Alfalfa . *Agronomy Journal*, Vol. 96, 1673-1679.
- Chon S.U., J.H. Coutts, et C.J. Nelson., 2000.** Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. *Agron. J.* 92:715–720.
- Come D., 1970.** Les obstacles à la germination (Monographie et physiologie végétale N°6) Edit. MASSON et CIE (Paris), pp : 24.

- Delabays N. et Mermillod G., 2004.** Phénomène d'allélopathie premières observations au champ, Revue Suisse Agric n°34.pp.213-237.
- Delabays N., 2005.** L'allélopathie et son utilisation en agriculture biologique. Journées techniques fruits et légumes et viticulture biologique pp.25-33. Parry, G. 1982. Le cotonnier et ses produits. Maisonneuve et Larose, Paris. P.88.
- Einhellig F.A., 1985.** Mechanisms and modes of action of allelochemicals .In“*The Science of Allelopathy*”(Eds.):A.P. Putnamand C.Teng. John Wiley and Sons Publishers.pp. 170-188.
- Feeny P., 1976.** Plant appetency and chemical defense. Ed. Plenum Press, New York.
- Ferguson J.J et Rathina sabathi., 2003.** Allelopathy: how plants suppress other plants. CoursD'université de Floride : 3.
- Foret R., 2004.** Dico de bio.Boeck, Bruxelles:28 p .
- Hamom S.,2001.** *Des modèles biologiques à l'amélioration des plantes.* Paris: Ed.IRD.
- Heller.R; Esnault .R Et Claude.L.,2000.**-Physiologie végétale. Dunod ,Paris.
- Inderjit., 1996.** Plant Phenolics in Allelopathy. *The Botanical Review*, 62(2): 186-202.
- Jennings, J.A., et C.J. Nelson., 1998.** Influence of soil texture on alfalfa autotoxicity. *Agron. J.* 90:54–58.
- Jennings, J.A., et C.J. Nelson., 2002a.** Rotation interval and pesticide effects on establishment of alfalfa after alfalfa. *Agron. J.* 94:786–791.
- Jennings, J.A., et C.J. Nelson. 2002b.** Zone of autotoxic influence around established alfalfa plants. *Agron. J.* 94:1104–1111.
- Jobidon R., Thibault J.R., Fortin J.A., 1986.** Phytotoxic effect of barley, oat and wheat mulches in eastern Quebec forest plantations. 1. Effects on red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *For. Ecol. Manage*, 29 : 277–294. Cité par Blanco, 2007.
- Koitababashi R., Suzuki T., Kawazu T., Sakai A., Kuroiwa T., 1997.** 1,8-cineole inhibits root growth and synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* L.*J.Plant.Res.*,110 :1-6.
- Kruse M. Strandberg And B. Strandberg., 2000.** Ecological Effects of Allelopathic Plants: a Review. NERI Technical Report No. 315. National Environmental Research Institute, Silkeborg, Denmark. 66 p.
- Lesuffleur F., 2007.** Rhizodéposition à court terme de l'azote et exsudation racinaire des acides aminés par le trèfle blanc (*Trifolium repense* L) 17-37p.
- Muller C.H.,1965.** Inhibitory terpenes volatilized from *Salvia shrubs*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 92: 38-45.

Regnault-Roger C., Philogene B. Jr et Vincent Ch., 2008. Bio Pesticides d'origine végétale .Ed. TEC &DOC, Paris : 51-60p.

Rice E. L ., 1984. Allelopathy , Ed 02, Academic Press.422p.

Rizvi S.J.H., Rizvi V.,1992. Allelopathy : Basic and Applied Aspects. Chapman & Hall, London, pp. 1–10.Cité par Blanco, 2007.

Tesar M.B.,1993. Delayed seeding of alfalfa avoids autotoxicity after plowing or glyphosate treatment of established stands. Agron. J. 85:256–263.

Tukey H.B., 1970. The leaching of substances from. Annu .Rev .Plant .Physiol., 21 :30.

Effets de différentes doses d'extraits aqueux de la partie aérienne de la luzerne (*Medicago sativa* L.) sur la germination de ses graines

Résumé

Le présent travail porte sur la recherche de quelques effets auto-allélopathiques de la plante *Medicago sativa* L. sur ses graines à travers trois paramètres qui sont le taux de germination de ces graines et les longueurs maximales et minimales des plantules en réponse à différentes concentrations d'extraits aqueux de la partie aérienne (10, 20, 30, 40 et 50 g/l) et un témoin (0g/l).

Les résultats montrent que le taux de germination et les deux longueurs minimale et maximale diminuent lorsque la concentration de l'extrait aqueux de la partie aérienne augmente.

La concentration 50g/l réduit le taux de germination alors que pour la concentration 10g/l, un taux de germination proche du témoin est enregistré. Et pour les longueurs, les résultats ont une allure similaire à celle de la germination.

Mots clés : Luzerne, Allélopathie , Extraits aqueux , Germination , Croissance

تأثيرات جرعات مختلفة من المستخلصات المائية للجزء الهوائي للفصة (*Medicago sativa* L.) على إنبات بذورها

ملخص

يتناول هذا العمل البحث عن بعض تأثيرات التضاد البيوكيميائي لنبات الفصة على بذورها من خلال ثلاثة معلمات وهي نسبة انتاش هذه البذور و الأطوال القصوى و الدنيا للشتلات استجابة لتركيزات مختلفة من المستخلصات المائية للجزء الهوائي (10 و 20 و 30 و 40 و 50 غم / لتر) والتحكم (0 غم / لتر).

أظهرت النتائج أن معدل الإنبات والحدان الأقصى و الأدنى ينخفضان مع زيادة تركيز المستخلص المائي للجزء الهوائي.

يقلل تركيز 50 جم / لتر من نسبة الإنبات بينما يتم تسجيل معدل إنبات قريب من الشاهد بالنسبة لتركيز 10 جم / لتر. وبالنسبة للأطوال فللنتائج مشابهة للانتاش .

الكلمات المفتاحية: الفصة ،تضاد بيوكيميائي ، مستخلصات مائية ، انتاش ، نمو.

Effects of different doses of aqueous extracts of the aerial part of alfalfa (*Medicago sativa* L.) on the germination of its seeds

Abstract

The present work deals with the search for some auto-allelopathic effects of *Medicago sativa* L. on its seeds through three parameters which are the germination rate of these seeds and the maximum and minimum lengths of the seedlings in response to different concentrations of aqueous extracts of the aerial part (10, 20, 30, 40 and 50 g / l) and a control (0g / l).

The results show that the germination rate and the two minimum and maximum lengths decrease as the concentration of the aqueous extract of the aerial part increases.

The 50 g/l concentration reduces the germination rate whereas for the 10 g/l concentration, a germination rate close to the control is recorded. And for the lengths the results have a look similar to that of the germination.

Key words: Alfalfa, Allelopathy , Aqueous extracts, Germination , Growth.