

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE
LA NATURE ET DE LA VIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE
VEGETAL

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique
(En biotechnologie végétale)**

Par:

(SEDDIKI Boutheina et SALAH Chahrazed)

Intitulé

**Performances germinatives des graines (Etude
comparative sur 14 espèces de plantes
médicinales)**

Soutenu devant le jury composé de:

Dr. GHADBANE Mouloud	MCA	Université de M'Sila	Président.
Dr. BENDIF Hamdi	MCB	Université de M'Sila	Rapporteur.
Dr. HARIR Mohamed	MCB	Université de M'Sila	Examinateur.

Année universitaire : 2017 /2018.

Dédicace

Nous dédions ce travail à nos chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes nos études.

A nos frères

A nos sœurs

A nos familles

A nos amies et nos collègues

A tous ceux qui aiment la nature

Boutheina et Chahrazed

Remerciement

Avant tout, louange à Dieu tout puissant de nous avoir accordée la force, le courage et les moyens de pouvoir accomplir ce modeste travail.

C'est avec beaucoup de reconnaissance que nous adressons nos sincères remerciements à l'égard de notre promoteur **Dr. BENDIF HAMDI**, Maître de conférences au département des Sciences de la nature et de vie à L'université de M'SILA pour avoir proposé ce thème, suivi et dirigé ce travail, nous le remercions infiniment, pour son aide, ses conseils, ses orientations ainsi que, ses remarques et ses critiques qui nous ont été d'un apport précieux.

On veut exprimer nos vifs remerciements à **Dr. GHADBANE MOULOUD**, Maître de conférences au département des Sciences de la nature et de vie à L'université de M'SILA, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

On aimerait aussi remercier **Dr. HARIR MOHAMED**, Maître de conférences au département des Sciences de la nature et de vie à L'université de M'SILA, d'avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire.

On tient à exprimer nos sincères remerciements au chef des laboratoires de Sciences de la nature et de vie, Université de Msila, **Mr. SGHIRI Kamal**, pour nous avoir fournis tout le nécessaire.

Nos remerciements vont aussi au **Mr. LAALAOUI Mounir** le responsable du Laboratoire de Biotechnologies Végétales (BV) et tout le staff de laboratoire.

Pensée tous nos amis et toute la promotion du Master Biotechnologie végétal 2017/2018.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	
Table des matières	
Liste des figures et des tableaux	
Résumé	
Introduction.....	01
Chapitre I : Etude bibliographie	
1-Présentation des espèces étudiées.....	02
1-1- La plante <i>Lepidium sativum</i> (L.)	02
1-2- La plante <i>Ajuga iva</i> (L.)	02
1-3-La plante <i>Salvia hispanica</i> (L.)	03
1-4-la plante <i>Ricinus communis</i> (L.)	04
1-5-La plante <i>Anacyclus valentinus</i> (L.)	04
1-6-La plante <i>Nigella sativa</i> (L.)	05
1-7-La plante <i>Lupinus mutabilis</i> (L.)	05
1-8-La plante <i>Glycine max</i> (L.)	06
1-9-La plante <i>Peganum harmala</i> (L.)	06
1-10-La plante <i>Portulaca oleracea</i> (L.)	07
1-11-La plante <i>Hyosyamus muticus</i> (L.)	07
1-12-La plante <i>Sesamum indicum</i> (L.)	08
1-13-La plante <i>Eruca sativa</i> (L.)	08
1-14-La plante <i>Petroselinum crispum</i> (L.)	09
2-Généralité sur la germination et la culture <i>in vitro</i>	11
2-1- La germination	11
1. Définition.....	11
2. Morphologie et physiologie de la germination.....	11
3. Conditions de la germination	12
4. Différents obstacles de la germination.....	12
5-Techniques utilisées dans la levée des inhibiteurs de la germination.....	13
2.2. Généralité sur la culture <i>in vitro</i>	15
1. Définition	15
2. Historique	15
3. Etapes de la culture <i>in vitro</i>	16
4. Catégories de la culture <i>in vitro</i>	16
Chapitre II. Matériels et methods	
1-Matériel végétal.....	17
2. Méthodes	19
1. Germination dans le sol (les pots)	19
3-Test de germination.....	20
4- Mesures et notation effectuées.....	25
5- Analyses statistiques.....	25
Chapitre III. Résultats et discussion	
1. Germination dans le sol (les pots)	26
2. Germination des graines dans les boîtes pétries	28
3. Germination dans le milieu de culture (MS)	38
Conclusion générale et perspective.....	41
Références bibliographiques.....	42
Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure 01. Aspects morphologiques des espèces étudiées.....	10
Figure 02. a : Vitroplants en phase de multiplication (<i>Occimum gratissimum</i>) b et c : vitroplants de <i>Nauclea latifolia</i> en phase de multiplication (b) et en phase d'acclimatation (c)	16
Figure 03 : Germination des graines dans le sol (pots)	20
Figure 04: Etuve	25
Figure 05. Nombre des graines germées dans le sol des espèces étudiées après 60 jours	26
Figure 06. Délai de germination dans le sol des différentes espèces étudiées.....	26
Figure 07. Résultats de germination dans le sol des différentes espèces étudiées.....	27
Figure 08. Les résultats de la comparaison de taux de germination des graines dans les boîtes pétries pour les quatorze espèces.....	28
Figure 09. Résultats de la comparaison de tau de germination des graines dans les boîtes pétries pour les quatre prétraitements.....	30
Figure 10. Résultats de la germination des graines dans les boîtes pétries pour les quatre prétraitements des espèces étudiées.....	32
Figure 11. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour les témoins (sans traitements)	34
Figure 12. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour le trempage dans l'eau pendant 24 heures.....	34
Figure 13. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour les le trempage dans l'eau pendant 1 heure.....	35
Figure 14. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour le trempage dans l'acide sulfurique pendant 5minute.....	35
Figure 15. Résultats de tau de germination des graines dans le milieu de culture MS pour les espèces étudiées.....	38
Figure 16. Résultats de la germination des graines dans le milieu de culture MS pour les espèces étudiées.....	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Description des espèces étudiées (les graines)	17
Tableau 02 : Constituants du milieu Murashige et Skoog (MS, 1962).....	22
Tableau 03 : Prétraitement des graines avant la mise en culture en milieu MS.....	24

Introduction

D'après les estimations, 80 pour cent de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle pour le traitement des maux (**Cunningham, 1993**). La dépendance vis-à-vis de remèdes dérivés de plantes indigènes est particulièrement marquée dans les pays en développement, où la médecine occidentale souvent est absente ou simplement trop coûteuse.

La multiplication par graines est une méthode importante car elle permet la diversité génétique des espèces qui doivent être maintenue. Chez les plantes médicinales, la graine assure la reproduction, c'est le plus souvent un organe de résistance capable d'attendre très longtemps.

La production végétale et l'établissement de bonnes cultures agricoles dépendent étroitement de la germination des semences qui est une étape cruciale dans le cycle de vie des végétaux supérieurs (**Cheng et al., 1999**). Or, la germination peut être hétérogène vu que les semences ne germent pas toutes de la même manière ni en même temps.

Du point de vue physiologique, **Evenari (1957)** définit la germination comme étant « un processus dont les limites sont le début de l'hydratation de la semence et le tout début de la croissance de la racine. ». Considérant l'importance de plantes médicinales, il est primordial de développer des techniques permettant d'améliorer la germination des graines. L'augmentation de la performance germinative de graines des plantes médicinales permettrait de définir leur faculté germinative ainsi qu'un traitement pertinent pouvant être utilisé pour faciliter la germination des graines pendant la culture *in vitro*, tout en assurant une utilisation optimale des lots de graines disponibles. Les prétraitements sont des techniques de levée de dormance qui se fait naturellement ou artificiellement.

Compte tenu de l'importance de la phase germinative des semences dans le déroulement des stades ultérieurs du développement de toute espèce végétale, il s'avère indispensable d'étudier le comportement germinatif de ces espèces en phase germinative.

L'objectif dans ce contexte est la perspective d'avoir *in vitro*, les réponses face aux traitements préliminaires de graines de quatorze espèces de plantes médicinales : *Nigella sativa*, *Lupinus mutabilis*, *Ricinus communis*, *Glycine max*, *Peganum harmala*, *Lepidium sativum*, *Hyosyamus muticus*, *Petroselinum crispum*, *Anacyclus valentinus*, *Ajuga reptans*, *Salvia hispanica*, *Sesamum indicum*, *Eruca sativa* et *Portulaca oleracea*, en vue de définir les prétraitements adéquates pour les espèces étudiées et de réduire le temps de latence, d'optimiser le pourcentage et la vitesse de germination des graines.

Dédicace

Nous dédions ce travail à nos chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes nos études.

A nos frères

A nos sœurs

A nos familles

A nos amies et nos collègues

A tous ceux qui aiment la nature

Boutheina et Chahrazed

Remerciement

Avant tout, louange à Dieu tout puissant de nous avoir accordée la force, le courage et les moyens de pouvoir accomplir ce modeste travail.

C'est avec beaucoup de reconnaissance que nous adressons nos sincères remerciements à l'égard de notre promoteur **Dr. BENDIF HAMDI**, Maitre de conférences au département des Sciences de la nature et de vie à L'université de M'SILA pour avoir proposé ce thème, suivi et dirigé ce travail, nous le remercions infiniment, pour son aide, ses conseils, ses orientations ainsi que, ses remarques et ses critiques qui nous ont été d'un apport précieux.

On veut exprimer nos vifs remerciements à **Dr. GHADBANE MOULOUD**, Maitre de conférences au département des Sciences de la nature et de vie à L'université de M'SILA, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

On aimerait aussi remercier **Dr. HARIR MOHAMED**, Maitre de conférences au département des Sciences de la nature et de vie à L'université de M'SILA, d'avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire.

On tient à exprimer nos sincères remerciements au chef des laboratoires de Sciences de la nature et de vie, Université de Msila, **Mr. SGHIRI Kamal**, pour nous avoir fournis tout le nécessaire.

Nos remerciements vont aussi au **Mr. LAALAOUI Mounir** le responsable du Laboratoire de Biotechnologies Végétales (BV) et tout le staff de laboratoire.

Pensée tous nos amis et toute la promotion du Master Biotechnologie végétal 2017/2018.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	
Table des matières	
Liste des figures et des tableaux	
Résumé	
Introduction.....	01
Chapitre I : Etude bibliographie	
1-Présentation des espèces étudiées.....	02
1-1- La plante <i>Lepidium sativum</i> (L.)	02
1-2- La plante <i>Ajuga iva</i> (L.)	02
1-3-La plante <i>Salvia hispanica</i> (L.)	03
1-4-la plante <i>Ricinus communis</i> (L.)	04
1-5-La plante <i>Anacyclus valentinus</i> (L.)	04
1-6-La plante <i>Nigella sativa</i> (L.)	05
1-7-La plante <i>Lupinus mutabilis</i> (L.)	05
1-8-La plante <i>Glycine max</i> (L.)	06
1-9-La plante <i>Peganum harmala</i> (L.)	06
1-10-La plante <i>Portulaca oleracea</i> (L.)	07
1-11-La plante <i>Hyosyamus muticus</i> (L.)	07
1-12-La plante <i>Sesamum indicum</i> (L.)	08
1-13-La plante <i>Eruca sativa</i> (L.)	08
1-14-La plante <i>Petroselinum crispum</i> (L.)	09
2-Généralité sur la germination et la culture <i>in vitro</i>	11
2-1- La germination	11
1. Définition.....	11
2. Morphologie et physiologie de la germination.....	11
3. Conditions de la germination	12
4. Différents obstacles de la germination.....	12
5-Techniques utilisées dans la levée des inhibiteurs de la germination.....	13
2.2. Généralité sur la culture <i>in vitro</i>	15
1. Définition	15
2. Historique	15
3. Etapes de la culture <i>in vitro</i>	16
4. Catégories de la culture <i>in vitro</i>	16
Chapitre II. Matériels et methods	
1-Matériel végétal.....	17
2. Méthodes	19
1. Germination dans le sol (les pots)	19
3-Test de germination.....	20
4- Mesures et notation effectuées.....	25
5- Analyses statistiques.....	25
Chapitre III. Résultats et discussion	
1. Germination dans le sol (les pots)	26
2. Germination des graines dans les boîtes pétries	28
3. Germination dans le milieu de culture (MS)	38
Conclusion générale et perspective.....	41
Références bibliographiques.....	42
Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure 01. Aspects morphologiques des espèces étudiées.....	10
Figure 02. a : Vitroplants en phase de multiplication (<i>Occimum gratissimum</i>) b et c : vitroplants de <i>Nauclea latifolia</i> en phase de multiplication (b) et en phase d'acclimatation (c)	16
Figure 03 : Germination des graines dans le sol (pots)	20
Figure 04: Etuve	25
Figure 05. Nombre des graines germées dans le sol des espèces étudiées après 60 jours	26
Figure 06. Délai de germination dans le sol des différentes espèces étudiées.....	26
Figure 07. Résultats de germination dans le sol des différentes espèces étudiées.....	27
Figure 08. Les résultats de la comparaison de taux de germination des graines dans les boîtes pétries pour les quatorze espèces.....	28
Figure 09. Résultats de la comparaison de tau de germination des graines dans les boîtes pétries pour les quatre prétraitements.....	30
Figure 10. Résultats de la germination des graines dans les boîtes pétries pour les quatre prétraitements des espèces étudiées.....	32
Figure 11. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour les témoins (sans traitements)	34
Figure 12. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour le trempage dans l'eau pendant 24 heures.....	34
Figure 13. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour les le trempage dans l'eau pendant 1 heure.....	35
Figure 14. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour le trempage dans l'acide sulfurique pendant 5minute.....	35
Figure 15. Résultats de tau de germination des graines dans le milieu de culture MS pour les espèces étudiées.....	38
Figure 16. Résultats de la germination des graines dans le milieu de culture MS pour les espèces étudiées.....	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Description des espèces étudiées (les graines)	17
Tableau 02 : Constituants du milieu Murashige et Skoog (MS, 1962).....	22
Tableau 03 : Prétraitement des graines avant la mise en culture en milieu MS.....	24

Introduction

D'après les estimations, 80 pour cent de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle pour le traitement des maux (**Cunningham, 1993**). La dépendance vis-à-vis de remèdes dérivés de plantes indigènes est particulièrement marquée dans les pays en développement, où la médecine occidentale souvent est absente ou simplement trop coûteuse.

La multiplication par graines est une méthode importante car elle permet la diversité génétique des espèces qui doivent être maintenue. Chez les plantes médicinales, la graine assure la reproduction, c'est le plus souvent un organe de résistance capable d'attendre très longtemps.

La production végétale et l'établissement de bonnes cultures agricoles dépendent étroitement de la germination des semences qui est une étape cruciale dans le cycle de vie des végétaux supérieurs (**Cheng et al., 1999**). Or, la germination peut être hétérogène vu que les semences ne germent pas toutes de la même manière ni en même temps.

Du point de vue physiologique, **Evenari (1957)** définit la germination comme étant « un processus dont les limites sont le début de l'hydratation de la semence et le tout début de la croissance de la radicule. ». Considérant l'importance de plantes médicinales, il est primordial de développer des techniques permettant d'améliorer la germination des graines. L'augmentation de la performance germinative de graines des plantes médicinales permettrait à définir leur faculté germinative ainsi qu'un traitement pertinent pouvant être utilisé pour faciliter la germination des graines pendant la culture *in vitro*, tout en assurant une utilisation optimale des lots de graines disponibles. Les prétraitements sont des techniques de levée de dormance qui se fait naturellement ou artificiellement.

Compte tenu de l'importance de la phase germinative des semences dans le déroulement des stades ultérieurs du développement de toute espèce végétale, il s'avère indispensable d'étudier le comportement germinatif de ces espèces en phase germinative.

L'objectif dans ce contexte est la perspective d'avoir *in vitro*, les réponses face aux traitements préliminaires de graines de quatorze espèces de plantes médicinales : *Nigella sativa*, *Lupinus mutabilis*, *Ricinus communis*, *Glycine max*, *Peganum harmala*, *Lepidium sativum*, *Hyosyamus muticus*, *Petroselinum crispum*, *Anacyclus valentinus*, *Ajuga iva*, *Salvia hispanica*, *Sesamum indicum*, *Eruca sativa* et *Portulaca oleracea*, en vue de définir les prétraitements adéquates pour les espèces étudiées et de réduire le temps de latence, d'optimiser le pourcentage et la vitesse de germination des graines.

Chapitre I : Etude bibliographique

1-Présentation des espèces étudiées

1-1- La plante *Lepidium sativum* (L.)

1- Description botanique

Lepidium sativum (L.) est une plante herbacée annuelle dressée, atteignant 30 cm de hauteur, de croissance rapide (Eltayb et al., 2010). La tige est tendre et aux feuilles profondément découpées (Beloued, 2011). Les inflorescences sont apicales : quelques groupes de petites fleurs blanches à 4 pétales, sont fruit est une petit graine (Grubben et al., 2005) (Figure 1.1).

2- Usages thérapeutiques de *Lepidium sativum* (L.)

La plante *Lepiduum sativum* est un ingrédient important pour leurs propriétés médicinales. Les feuilles, étant légèrement stimulantes et diurétiques, elles sont utilisées pour traiter les maladies scorbutiques et les troubles hépatiques. Les racines ont été attribuées à la syphilis secondaire et au ténésme (Deepshikha et al., 2002). Les graines contiennent des huiles essentielles aromatiques volatiles, des huiles grasses, des hydrates de carbone, des protéines, des acides gras, de la vitamine C, de la vitamine B, des flavonoïdes et des isothiocyanates. Aussi sont diurétiques, toniques, carminatives. Ils ont été bouillis avec du lait et sont utilisés pour obtenir un avortement. Ceux-ci ont été utilisés comme un asperients et utilisés dans le traitement des infections bactériennes et fongiques (Pragya et al., 2015). Elles sont utilisées en Asie du Sud en médecine traditionnelle pour traiter la bronchite, l'asthme et la toux. Sont considéré comme expectorant, aphrodisiaque, antibactérien, stimulant gastro-intestinal, gastro-protecteur, laxatifet la graine stomatique. Crésson présente un potentiel antirhumatismal et bronchodilatateur (Doke et Guha, 2014).

1-2- La plante *Ajuga iva* (L.)

1-Description botanique d'*Ajuga iva* (L.)

Ajuga iva (L.) est une petite plante vivace à tiges rampantes et velues à feuilles linéaires et denses à fleurs jaunâtres ou blanches à bord rosé, violette (Beloued, 2011). A l'intérieur de la fleur il y a quatre étamines liées à quatre carpelles noirs, la lèvre supérieure de la corolle est réduite ou absente et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus. Les lobes

latéraux sont petits, alors que le lobe central est relativement plus large décoré dans sa base par un axe central jaunâtre (Halimi, 2004) (Figure 1.2).

2- Usages thérapeutiques

Ajuga iva est une plante médicinale ('chendgoura') utilisée par les détenus d'Afrique du Nord. Il présente plusieurs propriétés intéressantes (antifébriles...) et présente également des effets hypoglycémiques efficaces, trouvant une utilisation chez les diabétiques. Les espèces d'*Ajuga* sont utilisées dans la médecine traditionnelle dans le monde entier contre certaines maladies telles que la goutte, le rhumatisme, le paludisme, l'asthme et les maladies gastro-intestinales (Ben Jannet et al., 2006; Israili et Lyoussi ., 2009; Setif., 2011 ; Sivanesan et al., 2016).

I-3-La plante *Salvia hispanica* (L.)

1-Description botanique

Salvia hispanica (L.) est une herbacée annuelle (Marcon et al., 2013). Avec une tige à environ un mètre de haut, avec des feuilles opposées, pétiolées et dentelées de 4 à 8 cm de long et de 3 à 5 cm de large. Les fleurs sont hermaphrodites et poussent en de nombreuses grappes dans un épi protégé par de petites bractées avec des pointes longues et pointues. Les graines sont ovales, lisses et brillantes et sont de couleur marbrée avec du brun, du gris, du rouge foncé et du blanc, et sont généralement trouvées en groupes de quatre (Ayerza et Coates, 2005a, USDA, 2008) (Figure 1.3).

2- Usages thérapeutiques

Salvia hispanica (L.) présente des effets bénéfiques sur la santé. Il a été signalé que le régime à base de cette plante médicinale inhibe la croissance tumorale et métastases dans certains modèles de tumeurs murines, probablement en raison de son ω -3- gras polyinsaturé teneur en acide (Marconi et al., 2013). La graine de *Salvia* a stimulé les niveaux d'acides gras n-3 et réduit la quantité de cholestérol et riche en magnésium et en composés phénoliques (principalement la quercétine et le kaempférol), offre aussi une capacité antioxydante significative, tandis que son calcium et son potassium le contenu suggère qu'il peut être utile de contrôler haute tension artérielle (HBP) (Cynthia de Souza et al., 2015). *Salvia hispanica* elle a un rôle important dans la lutte contre le diabète, la dyslipidémie, l'hypertension, comme anti-inflammatoire, antioxydant, anti-coagulation du sang, laxative, antidépresseur, anxiolytique, analgésique (Rahman et al., 2016).

I-4-la plante *Ricinus communis* (L.)

1-Description botanique

Ricinus communis (L.) est un arbuste ramifié, pouvant atteindre 4 m de hauteur, ses larges feuilles découpées en 8 lobes avec un vert profond et brillant (Beloued, 2011). Leur tige est dressée, robuste, rameuse avec des branches à nœuds visibles et cicatrisés annulaires, généralement glauques, parfois vertes ou rouges, un peu fistuleux, bien unie, ronde, lisse, ramifiée seulement dans le haut (Couplan et Styner., 2000). Se termine par une grappe des fleurs orange qui donneront plus tard un fruit en fore de capsule couverte d'épines contenant de grande graines bariolées ressemblent au haricot (Djerroumi et Nacef., 1997) (Figure 1.4).

2- Usages thérapeutiques

L'huile du *ricin* a la réputation d'être puissamment laxative (et, à plus fortes doses, purgative), et de déclencher des spasmes intestinaux 3 à 5 heures environ après l'ingestion. L'huile de ricin est si efficace qu'on l'emploie aujourd'hui dans les cas d'empoisonnement pour purifier l'appareil digestif. Bien tolérée par la peau, elle entre dans la composition de préparations médicinales et cosmétiques. En Inde, l'huile de ricin sert à masser les seins des femmes ayant accouché pour stimuler la lactation. Les phytothérapeutes indiens la prescrivent en cataplasme sur les articulations enflammées (Paul et al., 2001).

I-5-La plante *Anacyclus valentinus* (L.)

1-Description botaniques

Est une plante annuelle, à tige de 10 à 40 cm de hauteur, dressée et plus ou moins velue. Cette dernière, en s'épaississant au sommet, porte un capitule hémisphérique à fleur jaune toute tubuleuse. Les feuilles de la plante sont bipennatiséquées à lobes étroits mucronulés et les fruits sont des akènes (Hamzi et Belhadj, 2008 ; Julve, 2015). La floraison est entre Juin – Août, La principale particularité du genre *Anacyclus* est la présence d'ailes aplaties entourant les fruits (Figure 1.5).

2- Usages thérapeutiques

Anacyclus valentinus (L.) est connue pour ses effets antidiabétiques et antifongiques anti-inflammatoires (Side Larbi et al., 2016). L'utilisation traditionnelle de cette plante dans le traitement de quelques maladies infectieuses et l'incidence des infections mycosiques par utilisation des feuilles (Harald, 1978). Chez la population autochtone, *A. valentinus* est

souvent utilisée pour les maux d'estomac (**Hamzi et Belhadj, 2008**). Beaucoup des travaux sont réalisés sur l'effet antibactérien contre « *Escherichia. coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* » et leur interaction synergique avec des médicaments antibiotiques (**Side Larbi et al., 2016**). La plante possède également le pouvoir de solubiliser le cholestérol (**Hacheimi et Kadi, 2009**).

I-6-La plante *Nigella sativa* (L.)

1-Description botanique

Nigella sativa (L.) est une plante annuelle herbacée à tiges dressées de 30 à 40 cm, ordinairement unicaule (**Beloued, 2009**). Les feuilles dentées (**Paul et al., 2001**), les inférieures pétiolées, les supérieures sessiles. les fleurs sans involucre, petites 2.5 cm de diamètre, 5 sépales ovales et acuminées au sommet .8 pétales ordinairement d'un blanc bleuté, assez longuement onguiculés, lâchement pubescents. Etamines nombreuses 5 à 6 graines noires, oblongue, anguleuses, irrégulièrement trigones de 3 mm de long granuleuse, papuleuses (**Beloued, 2009**) (**Figure 1.6**).

2- Usages thérapeutiques

Les graines du cumin noir favorisent la digestion, soulagent les douleurs gastriques et combattent flatulences, ballonnements et coliques. Antiseptique elle sont aussi utilisées pour expulser les vers intestinaux, notamment chez l'enfants (**Paul et al., 2001**). Elle utilisée pour traiter nombreuses affections, y compris la fièvre, rhume, maux de tête, l'asthme, les maladies rhumatismales et diverses infections microbiennes (**Aisha et al., 2014**). Ses graines ont une grande signification médicinale et ont été rapportées pour présenter de nombreux effets pharmacologiques qui incluent des activités anti-parasitaires, antibactériennes, antifongiques, antivirales, anti-inflammatoires anti-inflammatoires et des activités anti-stress (**Mohammad et al., 2013**).

I-7-La plante *Lupinus mutabilis* (L.)

1-Description botanique

Lipinus mutabilis (L.) est une plante annuelle de taille variable, de 0,4 à 2,5 m. Elle a une racine pivotante axe principal épais, atteignant jusqu'à 3 m. les racines secondaires ramifiées ont des nodules symbiotiques avec les bactéries du genre *Rhizobium*. Les tiges sont cylindriques et ligneuses, les feuilles sont palmées et digitées. Les inflorescences se présentent en grappes à plusieurs verticilles floraux, comportant chacun cinq, fleurs dont les

couleurs varient (bleu, violet, bleu clair, rose, blanc). L'androcée est formée de 10 étamines dorsifixes et cinq basifixes. Le fruit est constitué par un légume pubescent (FAO, 1994). Chaque graine a deux cotylédons, qui nourrissent l'embryon pendant la germination (Janet et al., 2011) (Figure 1.7).

2- Usages thérapeutiques

Lupinus mutabilis est une plante médicinale, a été utilisée pour le traitement des processus douloureux et inflammatoires à l'intérieur de ces plantes. Et des autres propriétés importantes de la plante qui nécessitent des études supérieures est le médicament. Par exemple, il présente des composés phytoestrogènes non stéroïdiens comme les isoflavones, cela aiderait à prévenir le cancer et les maladies cardiovasculaires, l'ostéoporose et les symptômes de la ménopause.

I-8-La plante *Glycine max* (L.)

1-Description botanique

Glycine max (L.) est une plante annuelle herbacée à feuilles composées trifoliées. Le fruit est une gousse déhiscence et les graines sont dépourvues d'albumen. Et à cosses de 2 à 4 fèves (2 mètre de haut) la plante est largement répandue dans les pays chauds (Hema et al., 2007) (Figure 1.8).

2- Usages thérapeutiques

Bien que leur valeur médicinale soit infime, les fèves et les produits du soja constituent d'importantes sources nutritionnelles en protéines, en lécithine et en acide gras essentiels. Les fèves joueraient un rôle appréciable contre le cancer, notamment celui du sein. Leur action dans la production d'œstrogène pour les femmes, au moment de la ménopause, en les aide à surmonter les symptômes comme les bouffées de chaleur, et à combattre l'ostéoporose. Pour les Chinoises, les germes aident à combattre la fièvre (Paul et al., 2001).

I-9-La plante *Peganum harmala* (L.)

1-Description botanique

Plante vivace commune dans les régions steppiques, sur les hauts plateaux et au Sahara. C'est un sous-arbrisseau rameaux à feuilles alternes et sessiles, aux fleurs blanches à 5 pétales ovales et à nombreuses étamines jaunes. Son fruit est capsulaire. Il est recommandé d'être très prudent dans son utilisation car c'est une plante toxique (Kaddem., 1990) (Figure 1.9).

2- Usages thérapeutiques

Malgré sa réputation de plante euphorisante et prétendument aphrodisiaque, l'harmel reste peu employé par la phytothérapie occidentale moderne car il présente des risques de toxicité. Les graines servent à soigner les troubles oculaires et à stimuler la lactation. En Asie centrale, la racine est fréquemment employée pour traiter les rhumatismes et les problèmes nerveux. *L'harmel* permet d'atténuer les tremblements de la maladie de Parkinson (Paul et al., 2001).

I-10-La plante *Portulaca oleracea* (L.)

1-Description botanique

Portulaca oleracea (L.) est une plante annuelle rampante, longue de 10 à 30 cm, pluricaule, à feuilles opposées ou les supérieures alternes, obovales-oblongues en coin à la base et sessile, épaisses, charnues et luisante, fleurs jaune, sessile, solitaire ou agglomérées à l'aisselle et au sommet des rameaux, involuquées par les feuilles supérieures, 2 sépales inégaux, obtus carénés sous le sommet et à la fin caduc, 5 pétales libres ou un peu soudés à la base, capsule ovoïde s'ouvrant circulairement en travers, à graines nombreuses, noires et luisantes de 1mm de diamètre (Beloued, 2009) (Figure 1.10).

2-Usages thérapeutiques

Le *Portulaca oleracea* est prescrit depuis longtemps contre les troubles urinaires ou digestifs. Préparé en jus, c'est un remède diurétique efficace pour favoriser le fonctionnement de la vessie et la fréquence des urines. La présence de mucilage dans ses composants le prédispose au traitement des troubles de l'appareil digestif comme la dysenterie et la diarrhée. En Chine, le pourpier est prescrit pour des pathologies identiques, mais aussi en cas d'appendicite. Les Chinois emploient également, cette plante pour soigner les piqûres de guêpe ou les morsures de serpent. Sous forme de JUS ou de décoction, le pourpier traite les pustules et les furoncles et combat la fièvre (Paul et al., 2001).

I-11-La plante *Hyosyamus muticus* (L.)

1- Description botanique

Hyosyamus muticus est une plante herbacée, 30-60 cm de hauteur, vivace, verte et charnue, tige épaisse, richement ramifiée du collet, feuilles succulentes, alternes, longues pétiolées en bas. Le limbe des feuilles est large, la feuille florale se développant sur le

pédoncule de forme oblongue. inflorescence en épi unilatéral ou en grappe avec des fleurs denses, fleurs bisexuées, blanc et vert ou violet, fruits relativement petits, broutage, et contenant de nombreuses graines (Kamal batanouny et al., 2005) (Figure 1.11).

2-Usages thérapeutiques

Hyosyamus muticus (L.) est utilisé dans le traitement des symptômes de sevrage dans la dépendance à la morphine. Démence chronique, convulsions, manie épileptique, palpitations fonctionnelles, le tractus gastro-intestinal et l'ulcère gastrique ou duodéna, l'excitation mentale et maniaque neurologie, paralysie agitante, la toux spasmodique et l'asthme. Elle est utilisée aussi comme un poison (Kamal batanouny et al., 2005).

I-12-La plante *Sesamum indicum* (L.)

1- Description botanique

Sesamum indicum (L.) est un plant annuel dressé (ou occasionnellement, vivace) à une hauteur de 0,5-1,5 m. Certaines variétés sont très ramifiées, tandis que d'autres ne sont pas ramifiées. Feuilles, 7,5-12,5 cm, simple ou, variable, avec ceux du haut étroitement oblongs, ceux du milieu ovale et denté et les inférieurs lobés ou pédatiser. Les fleurs sont blanches, roses, ou rose mauve avec des marques sombres, porté dans racèmes dans les aisselles de fuite. Le fruit est capsulaire, oblong-quadrangulaire, légèrement comprimé, profondément quatre cannelures, 1.5-5 cm de long. Les graines sont noires, brunes ou blanches, 2,5-3 mm long et environ 1,5 mm de large (Ross, 2005) (Figure 1.12).

2- Usages thérapeutiques

En Chine, le sésame est avant tout utilisé comme aliment et aromate, mais il sert aussi à rééquilibrer «les états de déficience», notamment hépatiques et rénaux. On prescrit les graines dans les troubles tels qu'étourdissements, bourdonnements d'oreilles ou vision trouble (provoquée par l'anémie), ainsi qu'en cas de constipation «sèche», en raison de leur pouvoir lubrifiant sur l'appareil digestif. Ces graines stimulent la lactation. L'huile de sésame entre, comme excipient, dans la fabrication de produits cosmétiques (Paul et al., 2001).

I-13-La plante *Eruca sativa* (L.)

1- Description botanique

Eruca sativa est une plante herbacée annuelle d'une hauteur allant jusqu'à 80 cm. Les feuilles basales sont en rosette, lyrées-pennatifides (celles qui sont consommées en salade), et

les feuilles caulinaires sont lobulées ou dentelées. Les fleurs ont des pétales blancs ou légèrement jaunes. Les siliques peuvent atteindre 40 mm, elles sont érigées, prenant sur la tige, avec une partie valvaire subcylindrique et une face ensiforme, aussi longue que les valves. Les graines, de 1,5 n. 2,5 mm, sont brunes (FAO, 1994) (Figure 1.13).

2- Usages thérapeutiques

Eruca sativa (L.) est considérée comme excellente pour l'estomac, comme stimulant et comme aphrodisiaque ; elle est également employée comme diurétique et antiscorbutique. Les feuilles ont une saveur amère qui s'adoucit lorsqu'on les fait bouillir ou frire. Les graines sont piquantes, mais un peu moins que celles de la moutarde. La roquette contient des glucosides comme le sulfocyanate d'allyle, des sels minéraux et de la vitamine C. L'huile de la graine contient de l'acide érucique. Cette plante a toujours été considérée comme un puissant aphrodisiaque. Dans l'Antiquité classique, elle était consacrée à Priape et plantée au pied des statues de ce dieu consacré au potentiel procréateur des males. Dioscoride précise que, mangée crue, elle stimule l'appétit sexuel et que les graines ont les mêmes vertus (FAO, 1994).

I-14-La plante *Petroselinum crispum* (L.)

1-Description botanique

Petroselinum crispum est une plante potagère bisannuelle d'origine méditerranéenne. Elle est dotée d'une racine blanche, conique comme une carotte. Ses feuilles sont finement découpées et ses fleurs jaunes se présentent sous l'aspect d'un parasol renversé. Toute la plante dégage un arôme très caractéristique. Les feuilles de persil sont généralement utilisées comme condiment pour la cuisine ; la médecine traditionnelle, quant à elle, a surtout recours au fruit et aux racines (Djerroumi et Nacef, 1997) (Figure 1.14).

2- Usages thérapeutiques

A petite doses, le *Petroselinum crispum* (L.) stimule l'appétit et la digestion, Il rétablit également les règles interrompues, les régularise et fait disparaître les douleurs de la dysménorrhée (troubles du flux menstruel) et un aliment tonique, antirachitique, antiscorbutique, et anti anémique. A fortes doses, les préparations à base de fleurs ou de graines de persil sont toxiques, les feuilles fraîches sont très nutritives et constituent un apport naturel en vitamines et en minéraux Les flavonoïdes sont anti-inflammatoires et antioxydants, mynstinine et l'apiol sont diurétiques. Les graines ont une action diurétique plus efficace que

les feuilles, dans le traitement de la goutte, des rhumatismes et de l'arthrite En effet, ces deux plantes facilitent l'évacuation des toxines présentes dans les articulations enflammées puis leur élimination par les reins (Paul et al., 2001).h



Figure 01. Aspects morphologiques des espèces étudiées

2-Généralité sur la germination et la culture *in vitro*

2-1- La germination

1. Définition

Une graine est l'organe de la plante constituée d'un embryon, de tissus de réserves (albumen ou endosperme) enfermés dans des enveloppes protectrices (téguments) de morphologies différentes selon l'espèce (**Fenner 2000**). L'embryon est constitué de trois parties : la radicule, l'hypocotyle et l'épicotyle. Le principal rôle des graines est de fournir une protection et des nutriments à l'embryon durant la germination (**Schmidt 2000**). La germination correspond au passage de l'état de vie ralentie à l'état de vie active, que les réserves qui jusque-là assuraient le métabolisme résiduel de l'embryon vont être activement métabolisées pour assurer la croissance de la plantule (**Jeam et al, 1998**). Le processus de germination se déroule de la manière suivante pour la majorité des angiospermes (**Bewley, 1997**) :

- L'eau est d'abord absorbée par les ouvertures naturelles de la graine, puis diffusée à travers ses tissus. Les cellules de la graine deviennent ensuite turgescentes.

- À la suite de l'hydratation, sous l'effet de la dilatation de la graine, les téguments s'ouvrent, et l'embryon subit des changements métaboliques qui réamorcent sa croissance.

- La synthèse de nouvelles molécules donne lieu à une augmentation en taille de l'embryon jusqu'à ce que ce dernier émerge de la graine. Le premier organe à émerger de la graine est généralement la radicule qui constitue la racine embryonnaire. L'émergence de la radicule constitue l'un des seuls signes visibles de la germination. En règle générale, les graines mûrissent, deviennent quiescentes, puis germeront dès que de l'eau, de l'oxygène et des conditions de températures adéquates leur seront fournies (**Srivastava, 2002 et al. 2010**).

Néanmoins, à la fin de la fructification, il n'arrive que chez beaucoup d'espèces, les graines ne germeront pas, bien qu'étant dans des conditions environnementales optimales (**Baskin et Baskin 2004**). Cette caractéristique biologique liée aux graines est appelée la dormance.

2. Morphologie et physiologie de la germination

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

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

3. Conditions de la germination

Durant les tests de germination en laboratoire, il est envisageable que lors de la levée d'un type de dormance, une autre apparaisse. Par ailleurs, les graines ne passent pas de l'état dormant à celui de "prêt à germer" de façon brutale. On pense plutôt que, progressivement, les graines d'une population deviennent davantage réceptives à la gamme de conditions environnementales auxquelles elles sont capables de germer et de moins en moins sensibles à la gamme de conditions qui entravent leur germination (**Foley, 2001**).

3.1. Conditions internes de la germination

Les conditions internes de la germination concernent la graine elle-même, qu'elle doit être vivante, mûre, apte à germer (non dormante) et saine (**Jeam et al, 1998**).

3.2. Conditions externes de la germination

Les facteurs de la germination, c'est à dire ceux qui interviennent au moment de la germination, sont nombreux. Les plus couramment étudiés sont la température, l'oxygène et la lumière. En fait, c'est l'influence combinée de ces différents facteurs qui rend possible ou non la germination. Ainsi, la présence d'eau est obligatoire, mais pas suffisante car il faut aussi que la température soit convenable et que l'embryon soit correctement oxygéné. Les inhibiteurs de germination, le substrat (profondeur du semis et granulométrie) et les conditions des tests au laboratoire (pH du milieu, densité de semences) sont aussi des facteurs qui peuvent influencer la qualité germinative des semences. La graine exige la réunion des conditions extérieures favorables à savoir l'eau, l'oxygène, la température et la lumière.

4. Différents obstacles de la germination

Ce sont tous les phénomènes qui empêchent la germination d'un embryon non dormant (c'est qui donne naissance à la nouvelle plante et constitue la partie vivante ; la partie active de la semence) placé dans des conditions convenables (**Mazliak, 1982**). L'inaptitude à la germination de certaines graines peut être d'origine tégumentaire, embryonnaire ou due à des substances chimiques associées aux graines, ou dormance complexe (**Bensaid, 1985**).

4.1. Dormance embryonnaire

Dans ce cas les inaptitudes à la germination résident dans l'embryon et constituent les véritables dormances. L'embryon peut être dormant au moment de la récolte des semences on appelle « dormance primaire ». Dans d'autre cas, l'embryon est capable de germer mais il perd cette aptitude sous l'influence de divers facteurs défavorables à la germination on parle alors de « dormance secondaire » (**Cherfaoui, 1987**). Selon **Baskin et Baskin (2004)** ont classifiées dormances des graines en 5 formes.

* La dormance physiologique est la forme la plus abondante et se retrouve dans les graines de la majorité des angiospermes (**Tab.1**). Elle met en cause un ou plusieurs mécanismes physiologiques qui proviennent de l'embryon et qui inhibent l'émergence de la racicule (**Baskin et Baskin, 2004**). Toutefois, les structures qui entourent l'embryon, telles l'albumen ou les téguments, ne sont pas à négliger comme cause potentielle de ce type de dormance.

* La dormance morphologique (**DM**) est due à la présence d'un embryon sous développé en termes de taille La germination ne peut avoir lieu tant que l'embryon n'est pas arrivé au terme de sa croissance.

* La dormance morpho-physiologique (**DMPg**) qui combine la dormance morphologique et physiologique (**Baskin et Baskin 2004**).

* La dormance physique qui est liée à une imperméabilité des graines (**Baskin & Baskin, 2004**) ou des fruits à l'eau causée par la présence du péricarpe et de l'endocarpe ;

* La dormance physique-physiologique (**DPqPg**) qui associe dormance tégumentaire et dormance physiologique. La germination ne peut se produire que si les deux types de dormance sont levés à la fois. Pour certaines espèces la dormance physique est levée avant la dormance physiologique et réciproquement pour d'autres ;

* La dormance chimique (**DC**) (non incluse dans la classification de **Baskin et Baskin 2004**) qui est provoquée par la présence dans le péricarpe d'inhibiteurs de la croissance de l'embryon. Le principal inhibiteur est l'acide abscissique (ABA) (**Foley 2001**).

4.2. Inhibitions tégumentaires

Les téguments des graines inhibent la germination avec des degrés divers, elles provoquent l'imperméabilité à l'eau et l'oxygène. La membrane dure et épaisse retarde l'absorption d'eau, par l'effet de leur cellules mortes ; et la présence d'une couche imperméable (mucilages), et par l'effet d'une couche à Cellules jointive, qui elles provoquent la diminution de la porosité donc la diminution de la perméabilité (**Chaussat et al, 1975**).

4.3. Inhibitions chimiques

Les inhibitions chimiques sont certainement plus rares dans les conditions naturelles, leurs nature exacte reste généralement inconnue, car elles n'ont pas souvent été isolées (**Mazliak, 1982**). La plante sécrète des substances chimiques qui s'opposent à la germination telle que : acide abscissique, acide caféique, ammoniac, éthylène...etc.

5-Techniques utilisées dans la levée des inhibiteurs de la germination

5-1-Naturellement

Par l'altération des enveloppes sous l'effet des alternances de sécheresse et d'humidité, de gel et de réchauffement (**Dominique, 2007**).

5-2- Artificiellement : par différentes méthodes, on peut citer :

1-Stratification: La Stratification est un traitement utilisé empiriquement depuis longtemps, consiste à placer les semences au froid dans un milieu humide (terre, sable, tourbe) en période déterminée selon l'espèce (**Jeamet al, 1998**).

2-Traitements oxydants : On a souvent préconisé l'emploi d'eau oxygénée pour améliorer la germination on pensant qu'elle fournit de l'oxygène à l'embryon (**Mazliak, 1982**).

3-Scarification : La scarification suffit souvent de blesser plus ou moins profondément les enveloppes pour faciliter la germination. Peut effectuer par des différentes méthodes, par de façon mécanique (coupe, pique, décortication, battage des enveloppes...), ou par voie chimique (immersion des semences dans l'acide sulfurique concentrée (H₂SO₄), ou par lyophilisation dans l'azote liquide...) ; (**Jeam et al, 1998**).

4- Froid : c'est une technique qui consiste à placer les semences au froid à des températures basses mais positives (**Mazliak, 1998**). La quantité de froid nécessaire pour obtenir un tel résultat, c'est-à-dire la température à appliquer et la durée du traitement dépend évidemment de l'espèce ou de la variété considéré (**Mazliak, 1998**).

5-Lixiviation : par le trempage ou le lavage à l'eau, pour éliminer les inhibiteurs hydrosolubles (**Jeam et al, 1998**)

2.2. Généralité sur la culture *in vitro*

1. Définition

La multiplication *in vitro* est la culture des cellules, tissus ou organes végétaux sur des milieux nutritifs artificiels appropriés sous des conditions contrôlées (espace réduit, à l'abri de toute contamination) pour régénérer une plante entière grâce à la totipotence cellulaire. Ce concept énoncé au début de siècle mentionne l'autonomie des cellules végétales et sa propriété à produire une plante entière (**Hopkins, 2003**).

2. Historique

En 1878, il y a donc plus de 130 ans. Cl **Bernard** formulait les principes théoriques de la création d'un système artificiel dans lequel les organes pourraient survivre hors de l'influence de l'organisme entier. Depuis cette orientation de recherche lentement d'abord, d'une manière plus rapide ensuite, a permis de grands développements à la biologie (**Nozeran et Bancilhon, 1972**).

La culture indéfinie des tissus des végétaux a été réalisée il y a 70 ans, c'est en effet au printemps 1937 qui fut isolée la première souche tissulaire dans l'activité c'est maintenue jusqu'à présent grâce à des repiquages réguliers; Dès, 1941 on savait obtenir des plantes entières à partir de petits fragments d'organes ou colonies tissulaires, leur enracinement ne posait aucun problème grâce aux auxines rhizogènes dont le maniement était connu depuis assez longtemps (**Margara, 1984**). En 1944, **Buvat** par les techniques de culture de tissus met en évidence le phénomène de dédifférenciation : la juvénalisation; et en 1949, **Limasset et Cornuet** notent l'absence de virus dans les méristèmes de tabacs viroses ; En 1955, la découverte de la kénétine, substance douée d'une puissante activité caulogène, puis d'autres cytokinines ont permis de provoquer presque à volonté la néoformation de bourgeons adventifs ;

Cette multiplication végétative *in vitro* fut enfin facilitée par la mise au point à partir de 1962 de solutions minérales particulièrement appropriées (**Margara, 1984**) ; En 1966, **Guha et Maheswari** en Inde obtenaient des plantes haploïdes de *Datura innoxia* M.LL à partir de culture d'anthères ; En 1971, au Japon, **Takebe et Col** régénéraient des plantes entières de *Nicotina tabacum* à partir de protoplaste.

3. Etapes de la culture *in vitro*

Quatre étapes principales sont nécessaires pour établir une espèce, un cultivar ou une variété *in vitro* :

- ✓ Initiation de la culture est nécessaire : c'est la phase la plus sensible qui consiste à désinfecter les boutures (racine, bourgeon, etc.) ou les graines afin de les rendre stériles;
- ✓ Etapes de multiplication (**Figure 1.a**);
- ✓ Etapes d'enracinement;
- ✓ Enfin de sevrage ou acclimatation (passage des conditions de laboratoire aux conditions de serre (**Figures 1. b et c**).

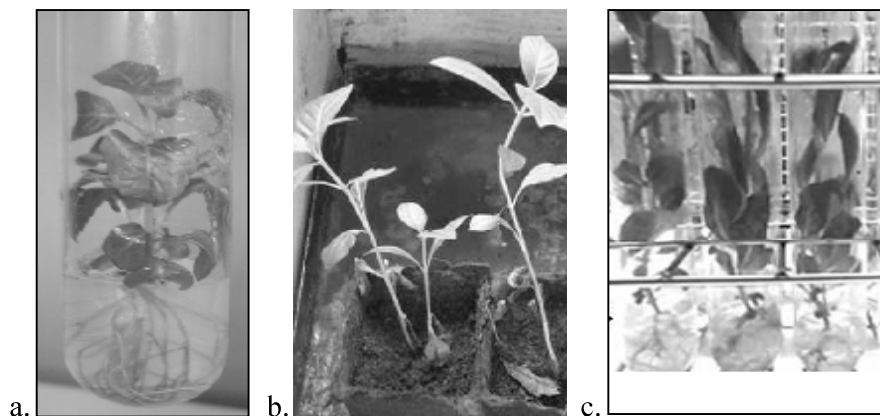


Figure 02. a : Vitroplants en phase de multiplication (*Occimum gratissimum*) (**Quashie et Kokou, 2009**). b et c : vitroplants de *Nauclea latifolia* en phase de multiplication (b) et en phase d'acclimatation (c) (**Quashie et Kokou, 2009**).

4. Catégories de la culture *in vitro*

1. Catégories de la culture *in vitro* Conforme

Le principe de la multiplication conforme consiste à prélever un fragment d'une plante, de la taille d'une bouture et d'optimiser les conditions qui rappellent à la cellule l'environnement de la plante mère (**Nozeran et al., 1982**).

2. Catégories de la culture *in vitro* non conforme

Les techniques de multiplication non conforme consistent à cultiver *in vitro* un petit élément de tissus, une cellule à la limite. Ce procédé utilise un matériel végétal peu régulé et le place en conditions déstabilisants les signaux, on voit alors apparaître une variabilité importante (**Demarly, 1985**). Comme : Variations somaclonales par la callogénèse, Culture et fusion de protoplastes.

Chapitre II. Matériels et méthodes




Le travail a été mené au niveau du laboratoire de Biotechnologies Végétales (BV) à l'Université Mohamed Boudiaf de M'Sila.



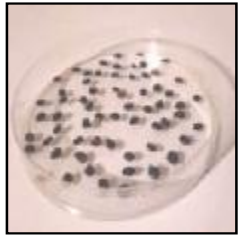



Notre travail consiste à étudier les performances germinatives des graines de 14 espèces de plantes médicinales.






1-Matériel végétal

Les semences utilisées dans nos tests sont des graines proviennent des herboristes de M'sila en janvier 2018 (**Tableau 01**). Elles ont été conservées dans des sacs en papier, munis d'une étiquette avec le nom de l'espèce.

Tableau 01 : Description des espèces étudiées (les graines)

Espèce	Nom vernaculaire	Famille	Description des graines	Photos des graines
<i>Lepidium sativum</i> (L.)	Arabe: حب الرشاد Français : Cresson alénois; Anglais : Garden cress,	Cruciferae	Sont petites, de forme ovale, pointues et triangulaires à une extrémité, lisses, d'environ 2-3 mm de long, de 1-1,5 mm de large, brun rougeâtre à presque noir (Falana et al., 2014)	
<i>Ajugaiva</i> (L.)	Arabe: الشندقورة Anglais : Herb ivy. Français: Ivette musquée	Ranunculacea (Kamal et Ahmad, 2014)	Marrons (Halimi, 2004).	
<i>Salvia hispanica</i> (L.)	Français: Chia	Lamiaceae (Zayova et al., 2016)	Sont ovales, lisses et brillantes et sont de couleur marbrée avec du brun, du gris, du rouge foncé et du blanc (Ayerza et Coates, 2005a, USDA, 2008)	

<i>Ricinus communis</i> (L.)	<p>Arabe : الخروع (Hammiche et Maiza, 2006) Anglais : Castor bean (Alam et al., 2010) Français: Ricin (Maroyi, 2007).</p>	<i>Euphorbiaceae</i> (Alam et al., 2010)	Sont contenues dans chacune des loges du péricarpe, à forme d'un haricot moyen, piriformes, ovoïdes, allongées ou plates, luisantes marbrées de gris rougeâtre et de blanc (Little et al., 1974)	
<i>Anacyclus valentinus</i> (L.)	<p>Arabe : القرطوفة Anglais : Valence anacycle Français : Valence d'anacycle</p>	<i>Asteraceae</i> (Sidelarbi et al., 2016).	Sont ovaires, avec de fines ailes membraneuse, ailes quelque peu hétéromorphes celles de la série externe avec ailes larges de 8 mm de large avec des oreillettes arrondies ou légèrement pointues (Christopher, 1979).	
<i>Nigella arvensis</i> (L.)	<p>Arabe : الحبة السوداء Anglais : Black cumin Français : Cumin noir</p>	<i>Ranunculaceae</i> (Aisha et Iffat, 2014)	Sont noires oblongues, anguleuses irrégulièrement trigones de 3 mm de long granuleuses papilleuses (Anonyme, 2009).	
<i>Lupinus mutabilis</i> (L.)	<p>Arabe : الترمس الحلو Anglais : Andean lupine Français : Lupin changeant</p>	<i>Fabacées</i> (FAO, 1994).	La graine est lenticulaire, de 8 à 10 mm de long et 6 à 8 mm de large, sa couleur noir au blanc en passant par le bai, le marron, le gris et le jaune-verdâtre, le tégument indure représente 10 pour cent de la graine (FAO, 1994).	
<i>Glycine max</i> (L.)	<p>Arabe : فول الصويا Anglais : Soybean Français : Le soja, Merrill,</p>	<i>Fabacées</i> (Zia et al., 2010).	Sont divisées en trois fractions : - Les cotylédons (90% de la masse de la graine) - Le tégument représente 8% de la graine. Sa couleur noire, brune, jaune ou verte et Le germe (Rasolohery, 2017).	
<i>Peganum harmala</i> (L.)	<p>Arabe : الحرمل Anglais : Rue Français : Rue de Syrie</p>	<i>Zygophyllaceae</i> (Raoufa et al., 2008).	Sont d'une couleur marron foncée, sont petites, anguleuses, subtriangulaires et ont un diamètre de 3 à 4 mm x 2 mm (Bruneton, 2001).	

<i>Portulacaoleracea</i> (L.)	Arabe : الرجيلة Anglais : Purslane Français: Pourpier	Portulacées. (FAO, 1994)	De 0,6 à 1 mm, sont réniformes, noires, elles conservent leur pouvoir germinatif pendant 8 à 10 ans (FAO, 1994)	
<i>Hyosyamusmuticus</i> (L.)	Arabic : السكران Anglais : Egyptianhenbane Français : Jusquiame d'egypte	Solanaceae (Abdelazeez et Bosila, 2016).	Sont réniformes ou cunéiformes d'environ 1 mm x 1.5 mm	
<i>Sesamumindicum</i> (L.)	Arabe : السمسم Anglais : Sesame Français : Sesame	Pedaliaceae (El mokni et El aouni, 2013).	Sont noires, brunes ou blanches, 2,5-3 mm long et environ 1,5 mm de large (Ross, 2005).	
<i>Erucasativa</i> (L.)	Arabe : الرجير Anglais : Rocket Français : Roquette.	Brassicaceae = Crucifères (FAO, 2001)	De 1,5 à 2,5 mm, sont brunes (FAO, 1994)	
<i>Petroelinumcrispum</i> (L.)	Arabe : المعدنوس Anglais : Parsley Français : Persil	Apiacées (Paul, 2001)	Les akènes (fruits/graines) sont de couleur vert puis virent brun clair	

2. Méthodes

1. Germination dans le sol (les pots)

Pour avoir une idée sur la faculté germinative des graines des espèces étudiées, un semis direct de graines dans le substrat (Terreau à type de meilleure croissance servant de germoirs comme Nitrogène (N) phosphate (P₂O₅) Potassium (K₂O) avec des déchets animaux et végétaux) a été également étudié. Les graines ont été semées à une profondeur égale à 1 à 2 fois leur diamètre. On utilise 14 pots en plastique pour chaque espèce (**Fig. 03**).

Le semis a été effectué dans des bacs plastiques (7 cm de largeur, 15 cm de longueur et 4cm de haut) ouverts, percés au fond et remplis de Terreau. Chaque bac est identifié avec une étiquette plastique portant la provenance des graines. Nous avons effectué tous les jours un comptage des plantules ayant levé. Les graines germées sont arrachées en vue d'éviter le double comptage. La levée correspond à l'apparition d'une plantule avec deux feuilles cotylédonaire. Le suivi de la croissance des jeunes plantules a duré 60 jours. Durant l'expérimentation, l'arrosage a été effectué chaque jour. Les variables observées ont été le délai de germination (Jours) et le nombre des graines germées (60jours).



Figure 03 : Germination des graines dans le sol (pots)

3-Test de germination

3-1-Germination en boîtes de pétri

1. Prétraitement des graines

Afin de comprendre l'aptitude germinative des graines des espèces étudiées présentent un certain degré de dormance, et si un prétraitement des graines peut influencer ou améliorer les aptitudes germinatives, nous leurs avons fait subir quatre prétraitement :

- Un lot de graines est mis à germer directement sans trempage (sans traitements).
- Le second lot de graines est mis à imbiber dans l'eau distillé pendant une heure à température ambiante.
- Le troisième lot séjourne pendant 24h dans l'eau distillé à température ambiante.
- Un quatrième traitement chimique pour les graines a été assuré par un trempage dans une solution concentrée d'acide sulfurique H_2SO_4 pendant 5 minutes.

Les graines sont ainsi rincées abondamment à l'eau distillée stérile.

Suite à cette opération, les graines sont mises à germer dans des boîtes de pétri tapissées de papier imbibé d'eau distillé à raison de 15 à 80 graines par boîte selon la taille des graines.

2. Mise en culture des graines

- Disposer une ou deux couches de papier buvard au fond des boîtes de pétri.
- Humidifier avec un vaporisateur ou une pipette. Attention de ne pas le détremper! Lorsqu'on le retourne, l'eau ne doit pas s'écouler, sous risque de pourriture des semences. (A partir du moment où il y a un milieu saturé en humidité, il y a risque de pourriture).
- Placer les graines à tester, dans des boîtes de Pétri, de 90 mm de diamètre, tapissées d'une double couche de papier absorbant imbibé de 20 ml d'eau distillée. Elles ne doivent pas se toucher (espace de trois fois la taille de la graine au minimum).
- Les boîtes sont déposées dans un incubateur réglé à $(25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C})$ de température (**Ben Khaled et al, 2003**).
- Hydrater le papier absorbant tous les deux jours environ (quand le papier commence à se dessécher) en prenant soin de ne pas le détremper.
- On considère qu'une semence a germé lorsque la radicule perce le tégument (**Come, 1970 et Bajji et al, 1998**)

3-2-Germination en milieu de culture

Étant donné que la jeune racine utilise seulement les réserves cotylédonaire, pour fournir des éléments minéraux au milieu de culture, nous avons utilisé le milieu nutritif de (**Murashige et Skoog, 1962**) (**Tab 02**).

1. Composition du milieu de culture

a)-Préparation de la solution mère de macroéléments du milieu MS

- Verser 600 ml d'eau d'ionisée dans un bécher de 1L ;
- Peser et dissoudre chacun des sels indiqués (A) en chauffant légèrement au besoin ;
- Transférer la solution dans un flacon de 1litre et compléter à 1litre avec l'eau distillée ;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

b)-Préparation de la solution mère de micro éléments du milieu MS

- Verser 600 ml d'eau dé ionisée dans un bécher de 1L ;
- Peser et dissoudre chacun des sels indiqués (B) en chauffant légèrement au besoin ;

- Transférer la solution dans un flacon de 1 litre et compléter à 1 litre avec l'eau distillée ;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

Tableau 02 : Constituants du milieu Murashige et Skoog (MS, 1962).

	Ingrédients	Solution mère mg/l	Volume de prélèvement	Solution finale mg/l
Macroéléments	NH ₄ NO ₃	33 000	50ml	1650
	KNO ₃	38 000		1900
	CaCl ₂ .2H ₂ O	6 600		440
	MgSO ₄ .7H ₂ O	7 400		370
	KH ₂ PO ₄	3 400		170
Microéléments	MnSO ₄ .H ₂ O	2 230	10ml	22.3
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	660		8.6
	H ₃ BO ₃	620		6.2
	KI	63		0.83
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	25		0.25
	CuSO ₄ .5H ₂ O	2,5		0.025
	CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5		0.025
Fe-EDTA	Na ₂ -EDTA	3 730	10ml	37.3
	FeSO ₄ .7H ₂ O	2 780		27.8
Vitamines et Acides aminés	Acide Nicotinique	1	05 ml	2.0
	Pyridoxine-HCl	1		0.5
	Thiamine-HCl	10		0.5
	Glycine	10		0.1
	Myo-Inositol	100		
Sucre	Saccharose	20000mg/l		20000mg
Agar	Agar	8g/l		8g

c)-Préparation de la solution mère de Fe-EDTA du milieu MS

- Verser 600 ml d'eau dé ionisée dans un bécher de 1L ;
- Ajouter quelques gouttes de NaOH et chauffer jusqu'à ébullition ;
- Couper la source de chaleur ;
- Ajouter le Na₂ EDTA et mélanger jusqu'à dissolution ;
- Ajouter FeSo₄-7H₂O ;
- Transférer la solution dans un flacon de 1 litre et compléter à 1 litre avec l'eau distillée ;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

d)-Préparation de la solution mère des vitamines du milieu MS

- Verser 70ml d'eau dé ionisée dans un bécher de 100ml ;
- Peser et dissoudre les vitamines indiquées (D) ;
- Transférer la solution dans un flacon de 100ml et compléter à 100ml avec l'eau distillée ;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

e)-Préparation de la solution mère des hormones

- Peser les phytohormones désirés et les dissoudre dans quelques gouttes de solvant approprié ;
- Étendre avec un peu d'eau, vérifier l'état de solution et ajouter un peu de solvant au besoin ;
- Transférer la solution dans un flacon de 100 ml et compléter à 100 ml avec l'eau distillée ;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur (**Himour, 2011**).

f)- Préparation et stérilisation de milieu de culture

A partir de la solution mère dont la préparation est citée ci-dessus, on a pu préparer la solution finale, avec les concentrations exigées, selon le protocole suivant :

- Verser approximativement 600 ml d'eau déionisée dans un bécher de 2 L ;
- Ajouter le volume nécessaire de macroéléments, microéléments, Fer-EDTA vitamines-régulateurs. (Ne pas chauffer) ;
- Pour meilleurs résultats, on attend la dissolution complète avant l'ajout du composé suivant ;
- Peser et dissoudre le saccharose (en chauffant légèrement au besoin) ;
- Ajuster le PH à 5.7 ± 0.1 avec HCl (1N) ou NaOH (1N) ;
- Compléter à 1 litre avec l'eau distillée ;
- Chauffer à l'aide de plaque chauffant puis ajouter l'Agar graduellement jusqu'à ce que le milieu devienne clair ;
- Verser dans des flacons pour faire la stérilisation. La stérilisation de milieu de culture, est assurée par l'autoclave à une température de 120° C, et une pression de 15 psi pendant 20 minutes, la technique de la culture *in vitro* exige cette température, afin de s'assurer de la destruction des bactéries.

2-Stérilisation

Tous les instruments métalliques (pinces, pointes, bistouris ...) ou verreries (Béchers, tubes de culture, boîtes de Pétris ...) sont enrobés avec du papier aluminium, et sont mis à l'étuve à une température de 170° à 200° C pendant 2 heures de temps.

Au cours des manipulations les instruments métalliques sont plongés dans l'alcool à 70%, puis passés aux flammes du bec Benzène afin de brûler l'alcool. Les manipulations sont réalisées sous hotte à flux laminaire horizontal. La hotte est nettoyée avec de l'alcool à 70°, stérilisée à l'aide d'une lampe UV située au plafond de la hotte.

Les graines sont stérilisées par trempage dans l'éthanol à 70% pendant 70 secondes puis transférées dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) 6% pendant 15 minutes

et rincer à l'eau distillée stérile trois fois successives pour une durée de 10 minutes chaque fois. Les graines sont ainsi mises dans une boîte de pétri dans une solution d'eau distillée stérile pour ensemencement.

3-Mise en culture des graines

En se référant sur les résultats obtenus lors de la première expérience (test de germination en boîte de pétri), on a choisi uniquement les prétraitements des graines convenable pour chaque espèce soumis à la culture dans le milieu MS (**Tab 03**). L'ensemencement de graines prétraité se fait dans le milieu MS coulés auparavant dans des flacons stériles (25ml de milieu de culture dans chaque boîte) à raison de 3 graines par flacon.

Tableau 03 : Prétraitement des graines avant la mise en culture en milieu MS.

Espèces	Prétraitement	Méthodes
1. <i>Anacyclus valentinus</i> 2. <i>Ajuga iva</i> 3. <i>Salvia hispanica</i> 4. <i>Sesamum indicum</i> 5. <i>Eruca sativa</i> 6. <i>Portulaca oleracea,</i>	Sans prétraitements (témoins)	
7. <i>Nigella sativa,</i> 8. <i>Lupinusm utabilis ,</i> 9. <i>Ricinuscom munis,</i> 10. <i>Glycine max</i>	Trempage dans l'eau distillée	pendant (24h)
11. <i>Peganum harmala</i> 12. <i>Lepidium sativum</i>		Pendant (1h)
13. <i>Hyosyamus muticus</i> 14. <i>Petroselinum crispum</i>	Tremper 5 min dans l'acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	

- On lave les mains avant de commencer la manipulation, par le savon puis l'éthanol à 70° ;
- L'expérimentation se fait sous hotte à flux laminaire, après mise en marche de la ventilation ;
- et laisser fonctionner pendant 30 minutes ;
- avant de commencer l'ensemencement puis on procède la stérilisation de la surface de travail Et des parois par l'eau de javel et l'éthanol, et pour plus d'asepsie on utilise généralement deux becs bunsen dont la zone médiane entre les deux sphères de flamme est la plus conseillée à utiliser pendant l'ensemencement ;
- Le repiquage des graines sur les milieux de culture est effectué à l'aide de pince stérilisée et près de la flamme du bec bunsen, tout en flambant l'ouverture du tube avant et après l'opération sous la hotte ;

-
- L'ensemencement des graines se fait dans le milieu MS coulés auparavant dans des flacons stériles (25ml de milieu de culture dans chaque flacon).

4-Conductions d'incubation

Les flacons ont été placés en étuve, à 25±1 °C, à l'obscurité (**Fig. 04**), après la reprise du développement (la radicule a percé la cuticule), les flacons seront transféré a la chambre de la culture (23±2 C°), 16/8 photopériode).



Figure 04: Etuve à température de 25°C±2.

4- Mesures et notation effectuées

Lors de la lecture des tests (Germination dans les pots, germination en boites pétri et germination en milieu MS), il faut compter séparément :

- Les graines germées** (représente le **taux de germination** durant 30jour). D'après **Come (1968)**, le taux de germination représente le pourcentage de semences capables de germer dans les conditions de l'expérimentation, Il est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur le nombre total de graines semis.

$$\text{Taux de germination} = \frac{\text{nombre des graines germées}}{\text{nombre total mis en germination}} \times 100$$

- Les graines non germées et les taux de contaminations.
- Vitesse de germination : nous avons représenté le nombre des graines germées chaque jour.
- Précocité de germination : les graines germées le premier jour (**Askri et al, 2007**).
- Période de germination : l'intervalle de temps enregistré entre le jour de semis des graines et la fin de la germination (**Askri et al, 2007**).

5- Analyses statistiques

Les résultats et présentations ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel 2007.

Chapitre III. Résultats et discussion

1. Germination dans le sol (les pots)

Les résultats obtenus pour le délai de germination et le nombre des graines germées après 60 jours apparaissent sur la (Fig. 05 et 06).

Les graines qui ont répondu positivement ont germés au minimum après un délai de 8 jours (*Eruca sativa*) et au maximum après un délai de 50 jours (*Ricinus communis*) et entre les deux temps pour *Portulaca oleracea*, *Salvia hispanica*, *Lépidium sativum*, *Petroselinum crispum* et *Peganum harmala*. Alors que les autres espèces n'ont pas germé dans le sol (Fig. 06, Annexe 01).

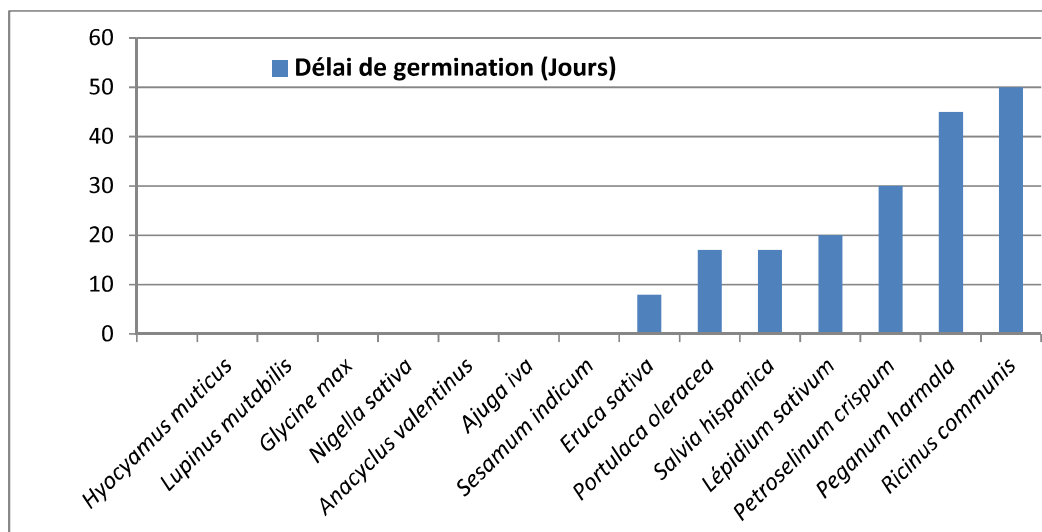


Figure 05. Nombre des graines germées dans le sol des espèces étudiées après 60 jours

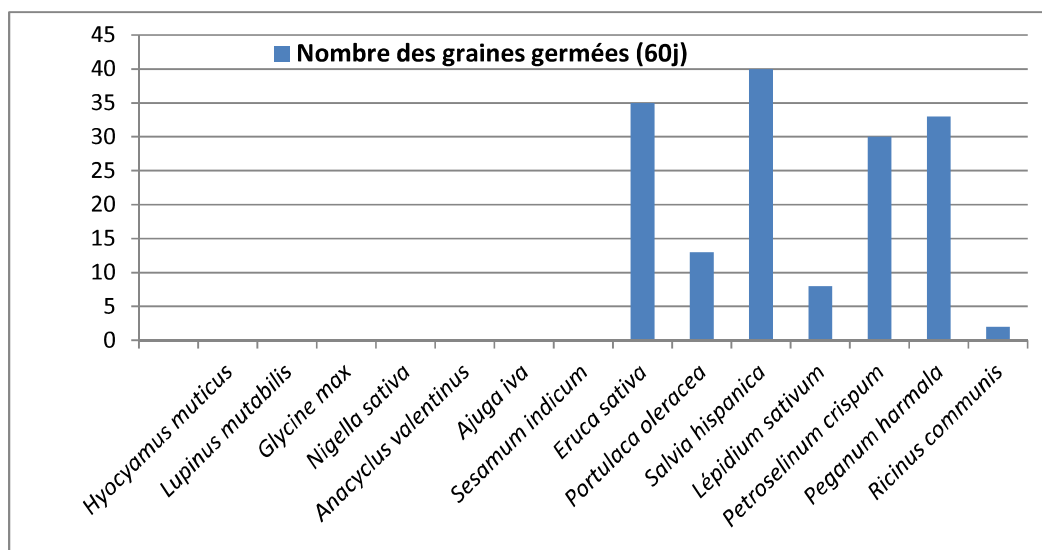


Figure 06. Délai de germination dans le sol des différentes espèces étudiées

On note que les meilleurs délais de germination dans le sol sont pour l'espèce *Eruca sativa*. Après 60 jours de germination, nous avons enregistré les données dans la (Fig. 06, Annexe 01). On note que les meilleurs taux de germination sont enregistrés pour l'espèce *Salvia hispanica*, et le faible taux était pour *Ricinus communis*. Tandis que les graines de *Hyoscyamus muticus*, *Ajuga iva*, *Sesamum indicum*, *Lupinus mutabilis*, *Anacyclus valentinus*, *Nigella sativa*, *Glycine max* qu'elles soumissent dans le sol n'enregistrent aucune germination durant l'essai (60 jours).



Figure 07. Résultats de germination dans le sol des différentes espèces étudiées

Conformément à nos observations et à celles faites par **Werker (1980-1981)**, pour les graines semis dans le sol (les pots qui contient le terreau) *A.valentinus*, *A.iva*, *S.indicum*, *N. sativa*, *L. mutabilis*, *G. max*, *H. muticus*. Nous avons remarquerons une absence de germination, qui peut s'expliquer par la dureté des téguments des graines qui non subi a aucun prétraitements cette performance a confirmé les résultats dans les autres essais (germination dans les boites pétries et dans le milieu MS) par contre, les graines de *S. hispanica*, *E. sativa*, *P. oleracea*, *R.communis*, *L. sativum*, *P. crispum*. *P. harmala* sont bien germées avec une longue durée de germination qui peut atteindre 50 jours par rapport la germination *in vitro*.

2. Germination des graines dans les boites pétries

2.1. Taux de germination

L'objectif de cette étape est de définir l'effet du traitement et de génotype sur la réponse des graines des espèces étudiées à la germination. Les résultats de la comparaison des taux de germination des graines pour les quatre traitements sont présentés dans la (**Fig. 08 et 10, Annexe 02**)

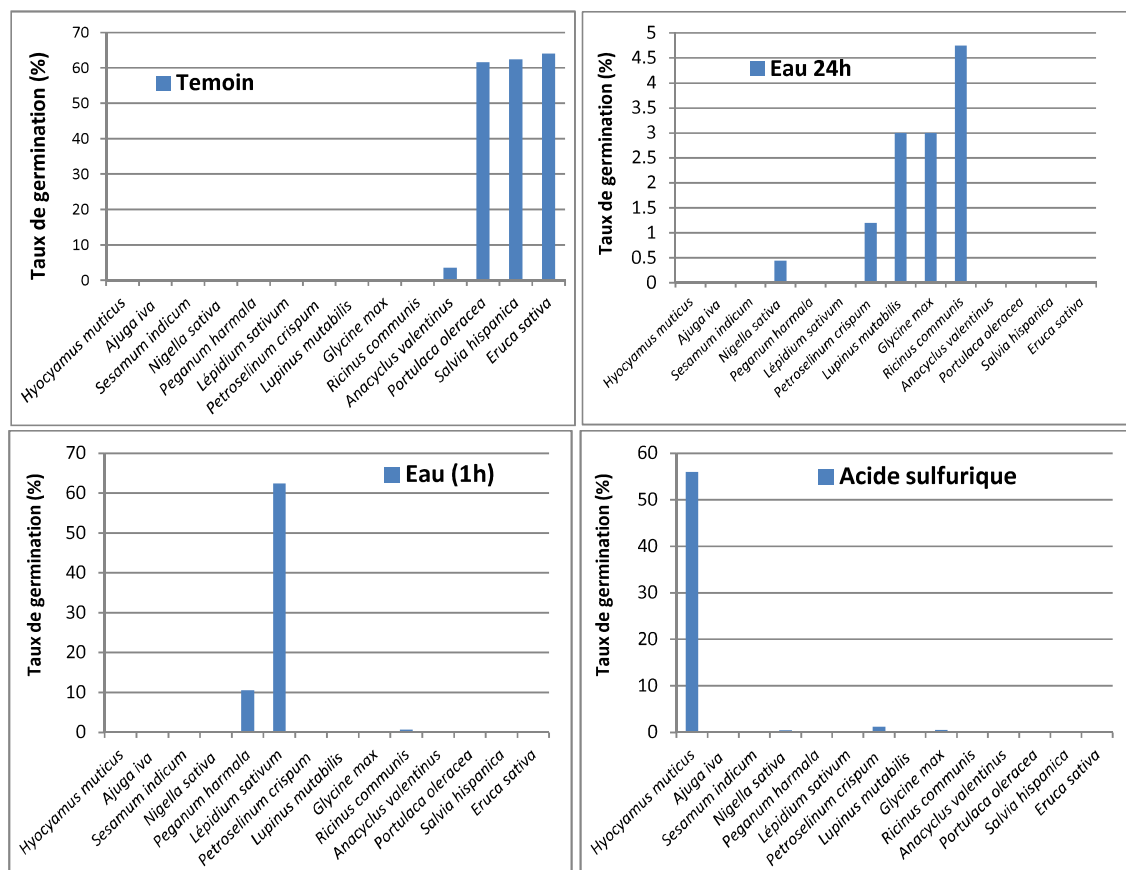
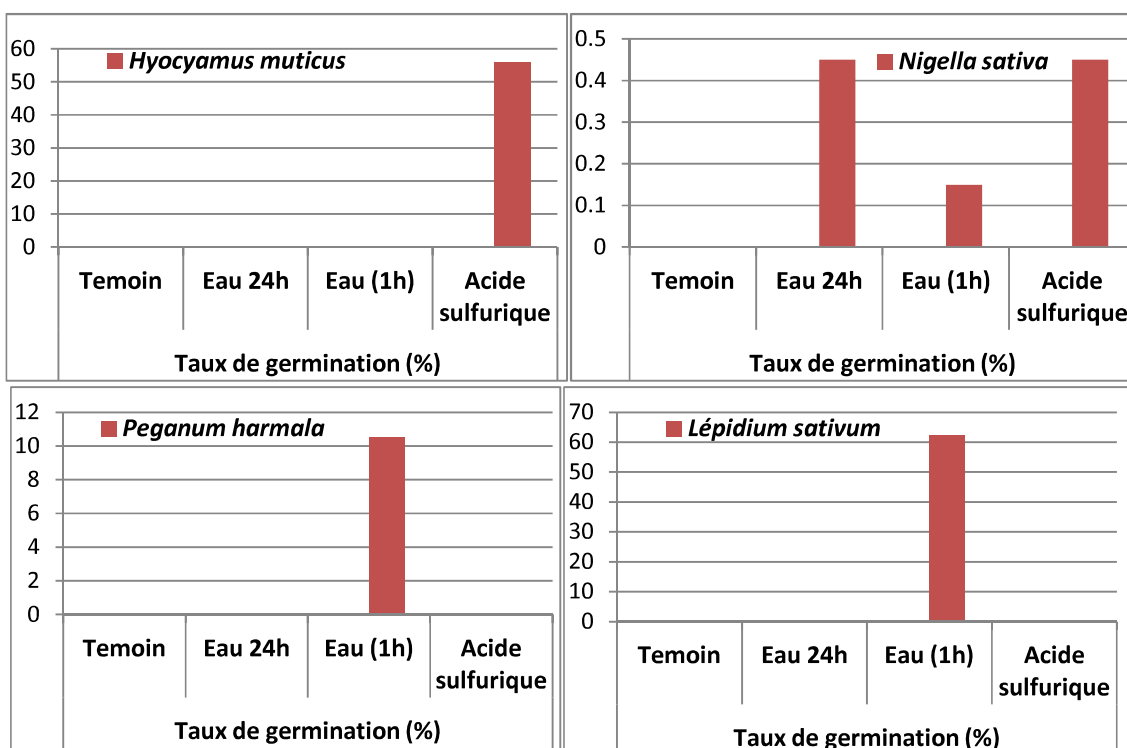


Figure 08. Les résultats de la comparaison de taux de germination des graines dans les boites pétries pour les quatorze espèces

La comparaison entre les 4 traitements et 14 espèces a révélé une différence pour la germination. *Portulacaboleracea*, *Salvia hispanica* et *Eruca sativa*, montrent le plus grand taux de germination des graines et cela sans traitement préliminaire des graines (témoin), avec un taux plus de 60 % et de 3.5% pour *Anacyclus valentinus* par rapport aux autres espèces qui n'ont pas germés (**Annexe 02 et Fig. 08**).

Pour le traitement préliminaire avec le trempage dans l'eau pendant 24 heures, sauf *Ricinus communis*, *Glycine max*, *Lupinus mutabilis*, *Nigella sativa*, *Petroselinum crispum* qui ont germés, mais avec des taux de germination faibles (entre 0.45 et 4.75%) (**Annexe 02 et Fig. 08**). Les graines des espèces de *Nigella sativa*, *Peganum harmala*, *Lépidium sativum*, *Ricinus communis* ont germés mais avec le traitement de trempage des graine dans l'eau pendant 1 heure, avec des taux de germination élevés pour *Lépidium sativum*, *Peganum harmala* (10.5 et 62.4%), et faibles pour *Ricinus communis* et *Nigella sativa* (0.15 et 0.75 %) (**Annexe 02 Fig. 08**).

Les espèces *Hyocyanus muticus*, *Nigellasativa*, *Petroselinum crispum* et *Glycine max* ont révélés un tau de germination après un traitement avec le trempage dans l'acide sulfurique. On remarque que *Hyocyanus muticus* montre le taux le plus élevé (56%) tandis que *Nigella sativa*, *Petroselinum crispum* et *Glycine max* montrent un tau faible (entre 0.45 et 1.2%) (**Annexe 02 et Fig. 08**). D'après les résultats obtenus, la comparaison de l'effet des traitements préliminaire des graines sur la faculté germinative montre que le trempage dans l'eau pendant 24 heures a une efficacité pour les espèces étudiées.



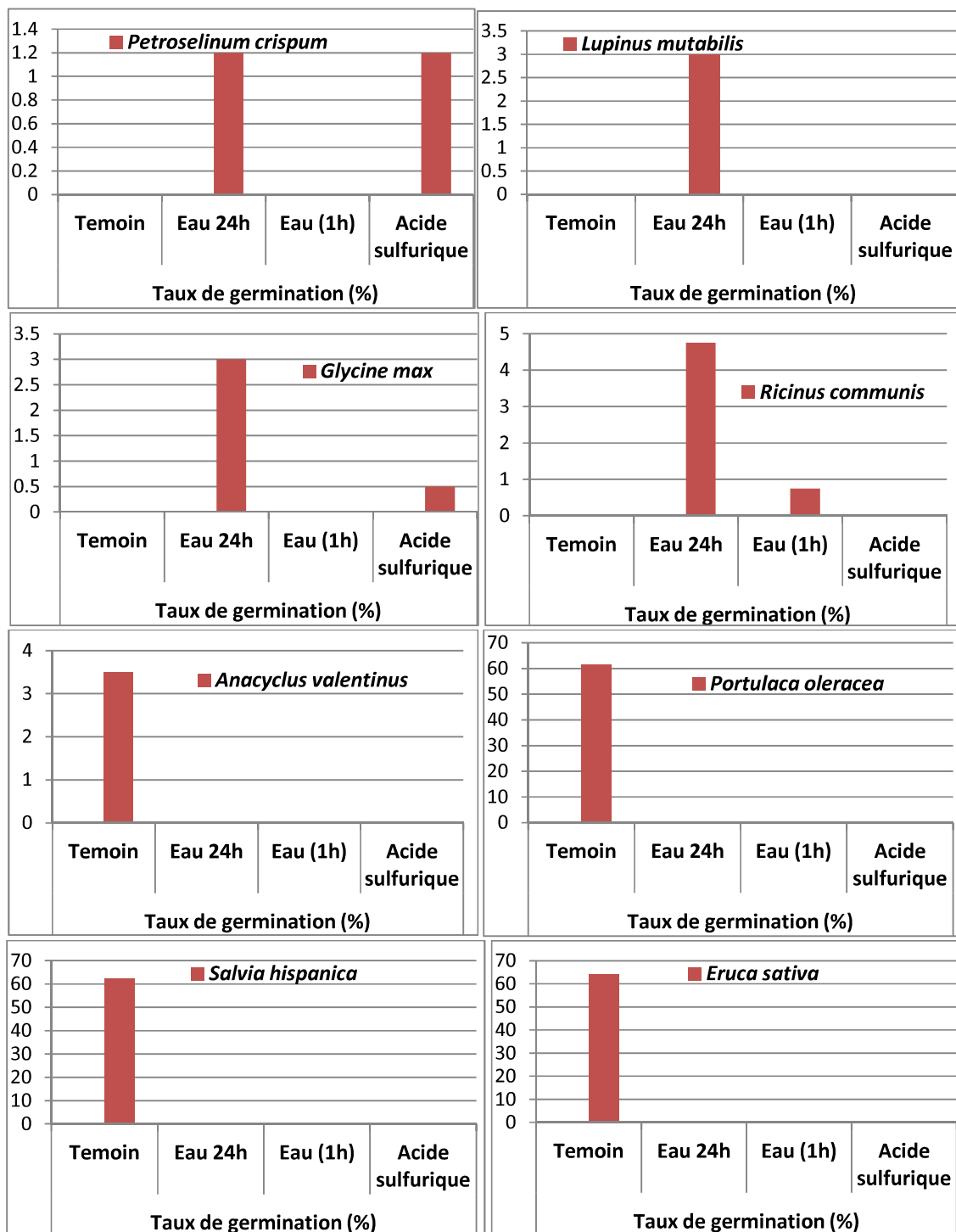


Figure 09. Résultats de la comparaison de tau de germination des graines dans les boites pétries pour les quatre prétraitements

























Aussi et d'après les résultats obtenus pour toutes les espèces concernant les taux de germination les plus élevés qui sont enregistré pour les lots imbibés pendant 24 heures, on peut discuter ce résultat par la définition de la phase d'imbibition par de l'eau selon **Come**,

(1970) et Verticci, (1989); qui correspond à une prise d'eau. Ce processus marque une période durant laquelle la graine passe d'un état déshydraté à un état hydraté qui entraîne une augmentation de l'activité respiratoire.

Les résultats de la comparaison de tau de germination pour les quatorze espèces sont présentés dans la (Annexe 03 et Fig. 09 et 10).

La comparaison entre les 14 espèces démontre que la plus grande faculté germinative est obtenue chez *Portulaca oleracea*, *Salvia hispanica* et *Eruca sativa* et *Anacyclus valentinus* qui sont montrés une aptitude pour la germination sans traitement préliminaire des graines.

Il faut remarquer qu'on enregistre des taux de contamination faible et cela seulement pour l'espèce *Sesamum indicum* qui peut être du à cause des fautes de manipulation.

	Sans trempage (témoin)	Trempage dans l'eau (24h)	Trempage dans l'eau (1h)	Trempage dans l'Acide sulfurique
<i>Portulaca oleracea</i>				
<i>Peganum harmala</i>				
<i>Ricinus communis</i>				
<i>Salvia hispanica</i>				
<i>Hyoscamum miticus</i>				
<i>Glycine max</i>				













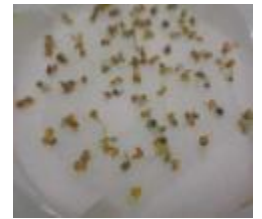








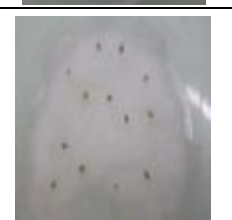










<i>Lupinus mutabilis</i>				
<i>Sesamum indicum</i>				
<i>Lepidium sativum</i>				
<i>Erica sativa</i>				
<i>Ajuga iva</i>				
<i>Petroselinum crispum</i>				
<i>Nigella sativa</i>				
<i>Anacyclis valentinus</i>				

Figure 10. Résultats de la germination des graines dans les boîtes pétries pour les quatre prétraitements des espèces étudiées

2.2. Vitesse de germination

La vitesse de germination calculée pour les quatre traitements (témoin, Trempage dans l'eau (24 h/1h), et par l'acide sulfurique), nous a permis de tracer les courbes de la vitesse de germination en fonction de temps (**Fig. 11**).

D'après la (**Fig.11**), la germination des graines d'*Eruca sativa* sans traitements (témoin) se manifeste durant le deuxième jour de semis avec une vitesse de 60 germée/jours et augmentée progressivement jusqu'à atteindre à 80 germée/jours dans le septième jour, et la même cinétique presque pour *Salvia hispanica* et *Portulaca oleracea*. Alors que pour *Anacyclus valentinus*, la germination des graines se manifeste durant le troisième jour et augmente pour atteindre au maximum 8 germée/jours au septième jour. Par contre aucune graine n'a germée pour les autres espèces.

Les résultats obtenus pour la vitesse de germination des graines des espèces étudiées en fonction de temps pour les lots prétraiter avec le trempage dans l'eau pendant 24 heures apparaissent dans la (**Fig. 12**).

Les graines de *Lupinus mutabilis* se manifeste au premier jour avec une vitesse de 1 germée/jours et augmenté rapidement jusqu'à 8 germée/jour au deuxième jour, par suite arrivent au 11 germées/jour au cinquième jour. La même cinétique était enregistrée pour l'espèce *Glycine max.* tandis que les graines de *Nigella sativa* enregistre une vitesse de 2 germée/jours dans le troisième jour qui a resté constante jusqu'à le cinquième jour puis augmente progressivement jusqu'a atteindre 3 germée/jours au septième jour. Pour la germination des graines de *Ricinus communis*, sont démarre a germer au deuxième jour de semis et augmentée brusquement à une vitesse de 10 germée/jours qu'arrive jusqu'à 18 germées/jours dans la fin de l'essai.

Pour *Petroselinum crispum* on a enregistré une germination retard au troisième jour avec un tau très faible au cinquième jour (2 germée/jours), ce pourcentage de germination reste variable en fonction du temps et arrive jusqu'à 8 germée/jours dans le septième jour.

Les autres graines imbibées par l'eau pendant 24h n'ont présentées aucune germination.

Les résultats relatifs à la vitesse de la germination des graines des espèces étudiées pour les lots prétraités avec le trempage dans l'eau pendant 1 heure apparaissent dans la (**Fig. 13**). Le traitement des graines de *Lépiduim sativum* par le trempage dans l'eau pendant 1h a donné un nombre de graines germées élevée (60) au deuxième jour jusqu'au quatrième jour avec 78 germées/graines, ces taux reste stable jusqu'à la fin de l'essai. Mais pour *Peganum*

harmala, aucune graine n'a germé durant les cinq premiers jours de germination et cela jusqu'à le septième jour où, nous remarquons 21 graines germées.

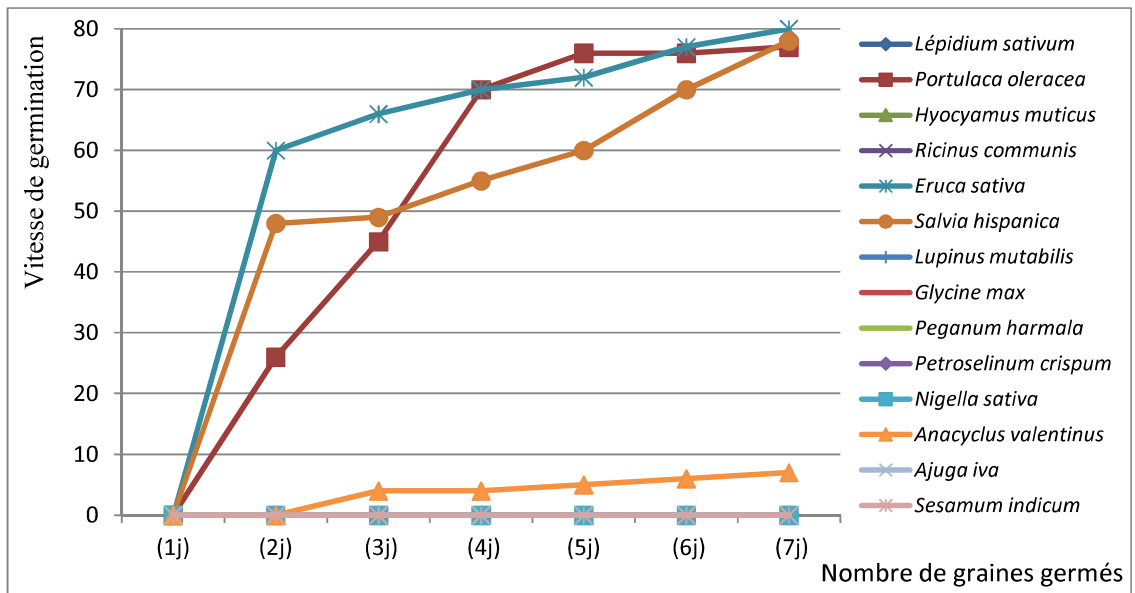


Figure 11. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour les témoins (sans traitements).

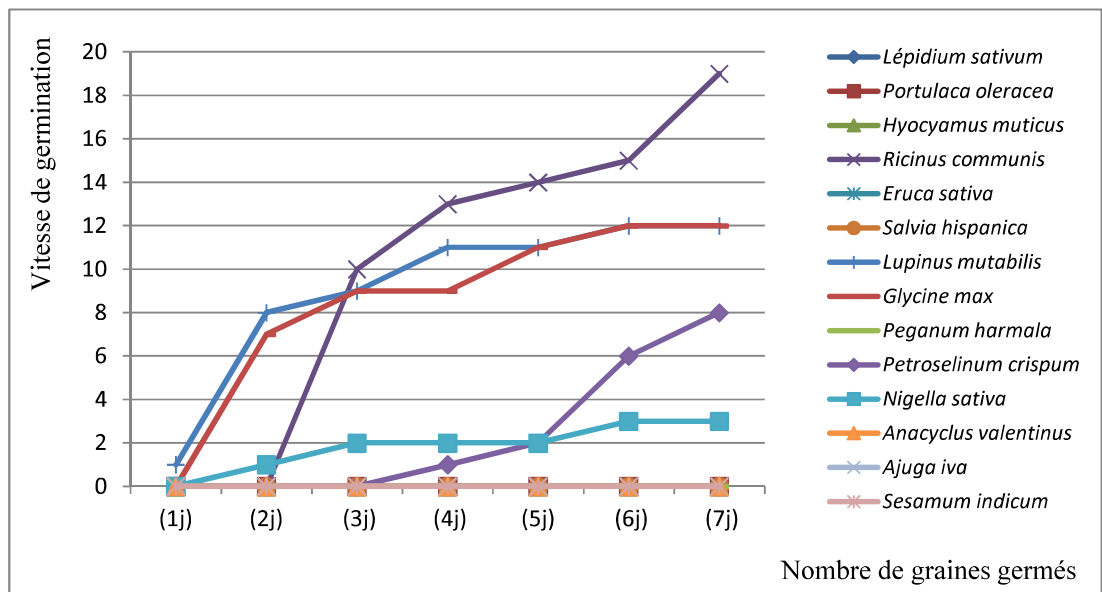


Figure 12. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour le trempage dans l'eau pendant 24 heures.

Aussi les graines *petroselinum crispum* présentent une faible vitesse de germination pour les quatre derniers jours (4 germée/jour). Et les mêmes résultats presque ont été enregistrés pour *Nigella sativa*. On n'a remarquée aucune graine germée durant tous les jours pour les graines d'autres espèces.

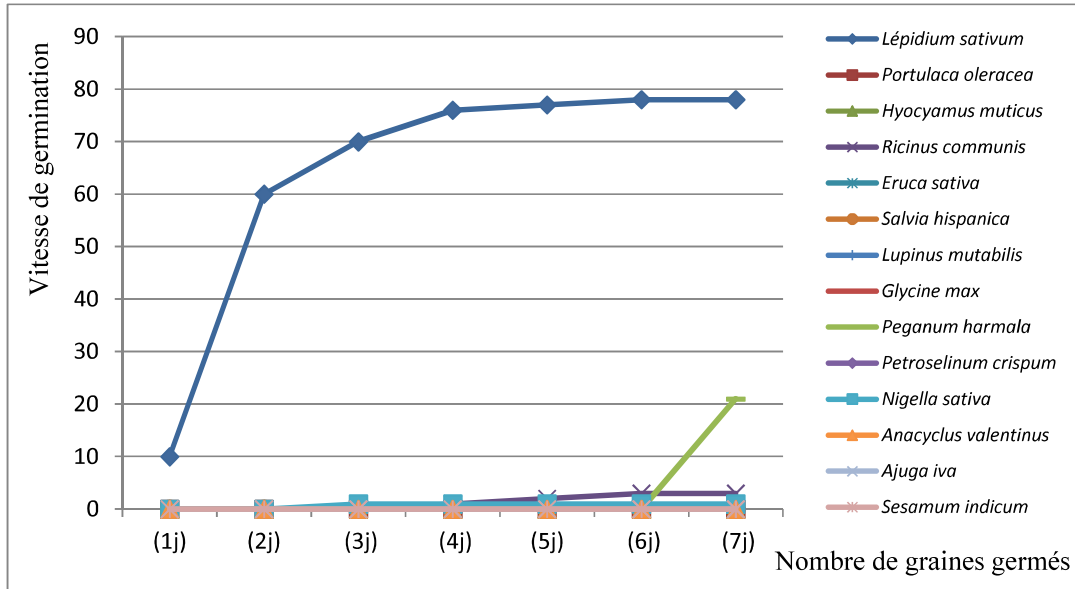


Figure 13. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour les le trempage dans l'eau pendant 1 heure.

La **figure 14** présente la vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour le trempage dans l'acide sulfurique pendant 5minute.

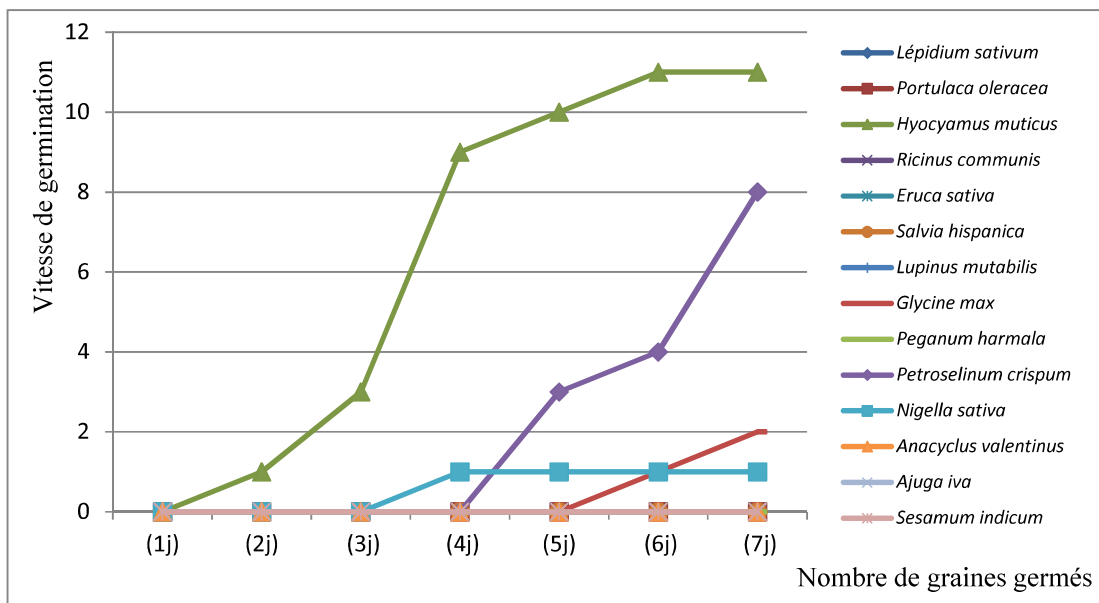


Figure 14. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour le trempage dans l'acide sulfurique pendant 5minute.

On remarque que la germination des graines de *Hyoscamus miticus* démarre au premier jour avec une faible vitesse, puis il augmente progressivement à environ 11

germée/jour a la fin de l'essai. Pour les graines de *Pertoselinum crispum*, la germination démarre après le quatrième jour et augmente jusqu'à 8 graines germées au septième jour. Alors que pour les graines de *Nigella sativa*, la vitesse de la germination est faible, moins de 1 gerinée/jours au quatrième jour et reste stable jusqu'à la fin de l'essai (1 graine germée). Tandis que pour *Glycine max*, la germination commence après cinquième jour et on voit 2 germées/jour à partir du septième jour.

Les graines d'autres espèces n'ont présentées aucune germination durant toute la période de l'essai.

2.3. Précocité de la germination

D'après les résultats de la vitesse de la germination, on voit une précocité de la germination qui a été enregistrés chez *Eruca sativa*, *Salvia hispanica* et *Portulaca oleracea* pour les témoins (sans traitements).

Aussi pour le trempage dans l'eau pendant 24 heures, on voit une précocité de la germination qui a été enregistrés chez *Lupinus mutabilis*, *Glycine max*, *Ricinus communis* et *Nigella sativa*.

Alors que pour le trempage dans l'eau pendant 1 heure, sauf l'espèce *Lépidium sativum* qui a une précocité de la germination. Même chose pour le trempage dans l'acide sulfurique pendant 5 minutes, sauf *Hyoscyamus muticus* qui a une précocité de la germination.

Les essais de germination effectués sur les graines des espèces étudiées sous différents prétraitements montrent une absence ou présence de germination, cette performance germinative est liée à l'expression des conditions optimales de la germination (Sakhrri et al., 2000).

Pour les deux espèces *Ajuga reptans*, *Sesamum indicum* montre une performance nulle de germination, cela pose des plusieurs hypothèses tel que : une faible viabilité des lots testés et cela peut être dû au problème de récolte (Come, 1993) ou cette absence de germination peut s'expliquer par la dureté des téguments des graines empêchant ainsi le développement de l'embryon et l'émergence de la radicule.

Le degré de dormance diffère d'une espèce à une autre (Nakashizuka, 2001), Pour l'ensemble des espèces étudiées pour lesquelles les dormances morphologiques avaient été supposées, c'est le cas d'*Anacyclus valentinus*, *Salvia hispanica*, *Eruca sativa*, *Portulaca oleracea* ce sont des plantes annuelles nous avons montré que pour avoir une germination rapide et homogène des graines d'*Anacyclus valentinus*, *Salvia hispanica*, *Eruca sativa*, *Portulaca oleracea* dans le cas de témoin (sans prétraitements). Ces graines ayant subi des

prétraitements avant leur semis ont des durées d'attente plus courtes que celles qui n'ont pas été traitées (**Annexe 02**). En ce qui concerne la durée de germination, l'étude a également montré que les courtes durées de germination sont obtenues avec les semences traitées (**Annexe 02**).

Nous avons soupçonné une dormance physiologique sur lesquelles *Nigella sativa*, *Lupinus mutabilis*, *Ricinus communis*, *Glycine max*, *Peganum harmala*, *Lepidium sativum*, La durée de trempage des graines dans l'eau dépend de l'épaisseur et de la dureté des téguments de la graine. En effet, l'utilisation de l'eau dans le cadre de cette étude a permis non seulement de réduire le délai entre le semis et la première germination, la durée de germination des graines mais a également augmente le tau de germination.

Pour les graines *Peganum harmala*, *Lepidium sativum* trempées dans l'eau pendant 1h possèdent une capacité de germination significativement supérieure aux graines non traitées. Ainsi le trempage des graines dans l'eau favorise la vitesse de germination et a permis d'extraire les inhibiteurs qui agissent sur le développement de la radicule. Au niveau de la graine, l'albumen et le tégument peuvent être la cause potentielle de ce type de dormance car ils peuvent stocker les inhibiteurs (**Nivot, 2005**).

Comme il a été indiqué, les graines non scarifiées de *Nigella sativa*, *Lupinus mutabilis* et *Ricinus communis* non traitées même à une longue période d'incubation allant de 7 jours n'ont pas germées, même résultat pour le traitement par l'acide sulfurique, indiquant l'effet inhibiteur du tégument qui les rend imperméable à l'eau, phénomène typique chez les espèces de légumineuses. Ceci corrobore les résultats de **Venier et al (2012b)** qui ont rapporté que les graines non scarifiées des arbres légumineux n'ont pas révélé d'imbibition ou de germination à cause de la dureté du tégument. Le traitement le plus efficace est l'immersion dans l'eau pendant 24h. Selon **Dracup et al., (1993)**, montre que l'eau est un facteur plus important pour la germination des graines de fabacées (*G. max*, *L. mutabilis*). L'eau est d'abord absorbée par les ouvertures naturelles de la graine, puis diffusée à travers ses tissus (**Young et Young, 1986**). Les cellules de la graine deviennent ensuite turgescentes.

La capacité, le temps et la vitesse de germination sont plus élevées lorsque les graines de *Hyosyamus muticus* et *Petroselinum crispum* sont scarifiées chimiquement par l'acide sulfurique pendant (5 min). Nous avons trouvé un même tau de germination pour les graines *Petroselinum crispum* 53% lorsque celles-ci sont traitées à l'acide sulfurique concentré pendant 5 min et trempées dans l'eau distillée pour une durée de 24 heures mais la précocité de germination est diffère et plus rapide pour l'acide sulfurique. Le comportement de germination de ces espèces en réponse à ces traitements indique donc qu'ils ont une dormance

physique. Ces graines possèdent un tégument très dur que l'acide sulfurique permet de ramollir et de le rendre perméable à l'eau montre par (Turner et al. 2009). Ce prétraitement réputé dans l'élimination des inhibitions chimiques tégumentaires et des dormances embryonnaires (Come, 1982 ; Heller et al., 1990 ; Macheix et al., 2005). Les travaux de Neffati et al. (1996) se rapportant à l'étude de la viabilité des semences de quelques espèces tunisiennes montrent que l'effet de ce prétraitement peut être positif ou négatif selon les espèces.

3. Germination dans le milieu de culture (MS)

3.1. Taux de germination

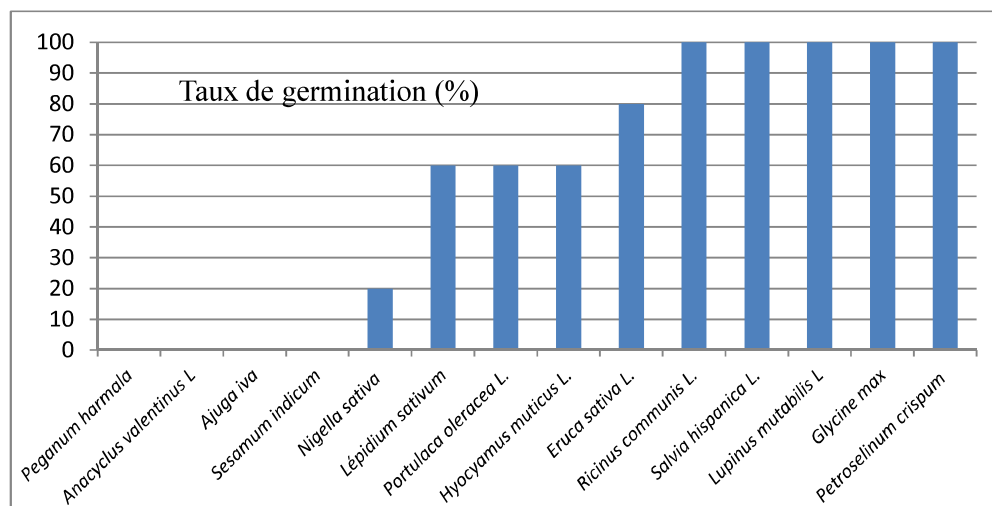


Figure 15. Résultats de tau de germination des graines dans le milieu de culture MS pour les espèces étudiées

Le taux germinatif le plus élevée (100%) qui est observé après 30 jours, a été enregistré chez les graines de *Glycine max*, *Petroselinum crispum*, *Lupinus mutabilis*, *Salvia hispanica* et *Ricinus communis*. Alors que chez *Eruca sativa*, le taux de germination des graines est moins important après 30 jours, aussi même chose pour *Lepidium sativum*, *Portulaca oleracea* et *Hyocymus muticus*, et *Nigella sativa* avec le plus faible tau germinatif avec seulement 20%. Les quatre autres espèces n'ont pas germées totalement (**Fig. 15 et 16**).

3.2. Précocité et Délai de germination dans le milieu de culture MS

Sauf l'espèce d'*Eruca sativa* qui a présenté une précocité de germination des graines soumis dans le milieu de culture MS. Alors que les autres espèces sont germées en générale après une durée de cinq et huit jours et quinze jours pour *Nigella sativa*. Aucune germination

a été enregistré pour les espèces de *Ajuga iva*, *Sesamum indicum*, *Peganum harmala* et *Anacyclus valentinus*.

			
<i>Eruca sativa</i>	<i>Glycine max</i>	<i>Petroselinum crispum</i>	<i>Lépiduim sativum</i>
			
<i>Lupinus mutabilis</i>	<i>Ricinus communis</i>	<i>Nigella sativa</i>	<i>Salvia hispanica</i>
			
<i>Portulaca oléacea</i>	<i>Hyoscamus miticus</i>	<i>Peganum harmala</i>	<i>Ajuga iva</i>
			
<i>Sesamum indicum</i>	<i>Anacyclus valentinus</i>		

Figure 16. Résultats de la germination des graines dans le milieu de culture MS pour les espèces étudiées

Les essais effectués ont aboutis à la détermination de la capacité de régénération des plantes entières à partir de graine dans le milieu de culture MS sans addition des régulateurs de croissance, et d'une méthodologie pour une meilleure amélioration des espèces. Concernant la micro-propagation à partir des graines semis, les résultats obtenus ont montré que les plupart des graines étudiées sont germée au temps réduit par rapport les essais traditionnels (le semis dans sol). Nous avons enregistré une croissance nulle dans toute la période de 30 jours pour les graines *A. iva*, *S. indicum*, *P. harmala*, *A. valentinus*. Pour les deux dernières espèces nous avons remarquerons leurs pouvoir germinative dans les boites pétries.

Abdellatef et al en (2010) montrent nos résultats pour les graines de *L. sativum* en culture sur le milieu MS sans l'addition des hormones, qui ont un taux et vitesse de germination élevé (60%). Ce résultat est le meilleur par rapport nos essais antérieurs dans le sol et dans les boites pétries.

Nous avons remarqué par ailleurs que le pourcentage du nombre graines germée était élevé après 7 jours dans le milieu de culture MS ce qui favorise la capacité germinative qui assure le bon développement des vitro plants, ce qui explique l'augmentation de la vitesse de croissance des hypocotyles et des racines des deux espèces *H. muticus* et *P. oleracea* dans la période de 30 jours.

La germination dans le milieu MS est très réussie, la majorité des graines ont marqué une reprise importante, surtout entre 1 à 15 jours, avec une bonne croissance pour les deux espèces *N. sativa* et *E. sativa*.

Les meilleures valeurs de la vitesse germinative d'*E. sativa* sont obtenues après 1 jour par contre les graines de *N. sativa* qui caractériser par germination lente ce dernier rejoint les résultats de **Hera et al, (2013)** qui ont montré que la germination complète avec les feuilles les hypocotyles et les racines durant 11-15 jours.

Les résultats ont montré que la germination des graines de *S. hispanica*, *P. crispum*, *G. max*, *L. mutabilis* et *R. communis* dépendaient de la composition du milieu nutritif. Le plus efficace s'est avéré être un milieu basal de MS sans l'addition des régulateurs de croissance, et qui assurant une germination des graines de 100% entre 5-8 jours après le semis. Pour les autres essais, le pourcentage de graines germées était de 3-64% après 7 jours de culture. Il pourrait suggérer que l'influence favorable des composants de milieu de culture MS a entraîné une meilleure germination des graines par rapport les autres essais. Cette combinaison était efficace pour augmenter la vitesse de germination et le bon développement des plantules (**Zayova., 2016**).

Conclusion générale et perspective

Nous avons entrepris ce travail expérimental sur la performance germinative des graines des plantes médicinales, dans le but de déterminer le prétraitement adéquate. L'étude effectuée au laboratoire montre un effet des prétraitements sur la germination de des graines des espèces étudiées. Les comparaisons permettent de classer comme suit les espèces étudiées :

- Espèces avec des meilleurs délais de germination dans le sol comme *Eruca sativa*.
- Espèces avec une grande faculté germinative : *Portulaca oleracea*, *Salvia hispanica*, *Eruca sativa* et *Anacyclus valentinus* qui sont montrés une aptitude pour la germination sans traitement préliminaire des graines.
- Espèces *nécessitent* un traitement préliminaire avec le trempage dans l'eau pour germer : *Glycine max* et *Petroselinum crispum*, *Nigella sativa*, *Peganum harmala*, *Lépidium sativum* et *Ricinus communis*.
- Espèces avec une précocité de la germination *Eruca sativa*, *Salvia hispanica* et *Portulaca oleracea* pour les graines non traitées (témoins). Aussi pour le trempage dans l'eau pendant 24 heures, une précocité de la germination a été enregistrés chez *Lupinus mutabilis*, *Glycine max*, *Ricinus communis* et *Nigella sativa*. Alors que pour le trempage dans l'eau pendant 1 heure, sauf l'espèce *Lépidium sativum* qui a une précocité de la germination. Et pour le trempage dans l'acide sulfurique, sauf *Hyoscamus miticus* qui a une précocité de la germination.

La germination dans le milieu de culture MS a donné la meilleure performance de croissance pour toutes les graines des espèces étudiées sauf les quatre espèces qui ont une difficulté germinatif : *Anacyclus valentinus*, *Ajuga iva*, *Peganum harmala* et *Sesamum indicum*.

On peut dire que les espèces étudiées présentent des comportements très variés vis-à-vis des prétraitements au moment de leur germination.

Notre travail n'est qu'une introduction à la recherche sur les facteurs de germination des graines des plantes médicinales. Mais, pour arriver à cet objectif il est indispensable de faire une étude plus complète. il sera donc, plus intéressant de l'étaler sur tous les paramètres influençant la germination à savoir intrinsèques et extrinsèques ainsi que l'influence des conditions de conservation des graines, en diminuant aussi le nombre d'espèces et de familles pour permettre une étude plus synthétique et complète, et mettre en évidence l'importance de l'augmentation du performance germinatives des graines des plantes médicinales, pour mieux les exploiter et préserver en même temps.

Références

1. Abdelfatah M.A., Matsumoto K. A.(1995). Watanabe H. Hypothermic effect of harmala alkaloids: Involvement serotonergic mechanism. *Pharmacology biochemistry and behaviour*. 52(2). 421-426.
2. Adama H., Elo P., Pierre D., Michel L., Mouhoussine N. (2007). Activités anti-radicalaires de trois anthocyanines monoglucosides isolées des graines de *glycine max*. 23. 61-66.
3. Aisha K., Zareen I.A. (2014). alteration in antibacterial potential of *Nigella sativa* L. seed during defferent phase of germination. 3(3). 268-288.
4. Askri H., Rejeb S., Jebari H., Nahdi H., Rejeb M.N. (2007). Effet du chlorure de sodium sur la germination des graines de trois variétés de pastèque (*Citrullus lanatus* L). Ed article scientifique de recherche, sécheresse.Tunisie. 51-55.
5. Ayerza R., Coates W. (2005). Chia seeds new source of omega-3 fatty acids, natural antioxidants, and dietetic fiber. Tucson, Arizona, USA, Southwest Center for Natural Products Research & Commercialization. Office of Arid Lands Studies.
6. Baba Aissa F. (2000). Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident. Ed. Librairie moderne Rouiba. 50.
6. Bajaj Y.S.P. (1987). Biotechnologie in agriculture and .forestry. In amélioration des espèces cultivées Gallais A., Bernneret D. (1992). 225.
7. Bajji M., Kinet J.M., Luttus S. (1998). Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L and their corresponding callus cultures. Ed Elsevier Plant Science (137). 131-142.
8. Baskin C.C., Baskin J.M. (1998). Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of dormancy and Germination.Academic Press. San Diego. USA. 1-666
9. Baskin C.C., Baskin J.M. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*. 14. 1-16.
10. Batanouny K., Farag A.R.(2005). A guide to medicinal plants in North Africa malaga Spain. 134-135.
11. Ben khaled D. (2003). Répons physiologique et biochimique du trèfle à la double association Mycorhizes Rhizobium sous une contrainte saline. Ed agro (23) Institut national de la recherche agronomique sciences. paris.
12. Benjannet H., Chaari A., Bakhrouf Amighri Z. (2006). Structure antibacterial activity relationship of secondary metabolits from *Ajuga psuedoiva* Rob. Leaves. *Naturel product research*. 203. 299-304.
13. Bensaid S. (1985). Contribution à la connaissance des espèces arborescentes, germe et croissance d'*acacia raddiana*, thèse de magister. Ed institut national agronomique (I.N.A) Elmarrache Algérie. 70.
14. Beloued A. (2011). Plante médicinales d'Algérie. 5 ème Ed. Masson Elsevier Masson. Alger. 174.

-
15. Bernard C.L. (1878). Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux. Vrin. Paris. 127-128.
 16. Bewley J.D. (1997). Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*. 9. 1055-1066.
 17. Bonnier G. (1990). La grande flore en couleur. Ed Belin. Paris.
 18. Bouderrah M. (1988). Comparaison de deux modes de vitropropagation à partir de vitrosemis d'*Eucalyptus camaldulensis* provenance lake albacutya « Micropropagation à partir de bourgeons axillaires, Micropropagation à partir de bourgeons adventifs » et étude de la variabilité du comportement de différents clones, 143.
 19. Bruneton J. (2001). Plantes toxiques Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Technique et documentation. Paris.
 20. Come D. (1970). Les obstacles de la germination. Ed Masson et Cie Paris. 162.
 21. Côme D. (1982). Influence de la réfrigération et de la congélation sur la qualité et l'aptitude à la germination des graines. *International Journal of Refrigeration* 5 (6). 333-336.
 22. Chaussat R., Ledeburff Y. (1975). La germination des semences. Ed Bordas. Paris. 232.
 23. Cheng Z., Bradford K.J. (1999). Hydrothermal time analysis of tomato seed germination responses to priming treatments. *Journal of Experimental Botany*.33. 89-99.
 24. Cherfaoui A. (1987). Contribution à l'étude comparative de germination des semences de quelque *Atriplex* de provenance Djelfa. Thèse de magistère. 65.
 25. Cherfaoui A. (1987). Contribution à l'étude comparative de la germination des graines de quelques *Atriplex* de provenance Djelfa, thèse de diplôme de magister en sciences agronomique. Ed institut national agronomique EL Harrach-Alger, 68.
 26. Christopher H. (1979). Les Fougères des Alpes maritimes. In : E. Burnat (éd.) : Matériaux pour servir à l'histoire de la flore des Alpes maritimes. 32.
 27. Couplan F, Styner E. (2000). Guides des plantes sauvages comestibles et toxiques. Paris. 367-368.
 28. Cunningham A.B. (1993). African medicinal plants: Setting priorities at the interface between conservation and primary healthcare. People and Plants Working Paper. UNESCO.
 29. Cynthia S.F., Gylze E.S., Lucilia F.S. (2015). effect of chia seed *salvia hispanica* consumption on cardiovasculair risk facteurs in humans : sistematic review. 32(5). 1909-1918.
 30. Deepshkha P., Sapna M., medhumati B., Serivastava P.S. (2002). protocol for in vitro micro propagation of *Lepidium sativum* L. and enhancement in the wild of lepidin. 38. 451-455.
 31. Demarly Y. (1985). L'épigénétique. *Bull. Soc. Bot. Fr.*132. Actual. Botany. (314). 79- 94.
 32. Djerroumi A., Nacef M. (1997). 100 plantes médicinales d'algerie. Alger. Houma. 134.
 33. Doke S., Guha M. (2010). Garden cress (*Lepidium sativum* L.) Seed - An Important Medicinal Source: A Review. *Plant Resour.* 4(1) 69-80.

-
34. Dominique S. (2007). Les bases de la production végétale tome III, la plante. Ed. Collection sciences et technique agricole paris. 304.
 35. Dracup M., Davies C., Tapscott H. (1993). Temperature and water requirements for germination and emergence of lupin. Australian journal of experimental agriculture 33. 759-766.
 36. Eltayeb A., Mutassim K. (2010). *In vitro* callogenesis and proliferation from different explants of garden cress (*Lepidium sativum*). 4. 91-93.
 37. Évenari M. (1957). Les problèmes physiologiques de la germination. Bulletin Société Française Physiologie Végétale. 3(4). 105-124.
 38. Falana H., Nofal W., Nakhleh H. (2014). A Review Article *Lepidium Sativum* (Garden cress). ResearchGate. 1-8.
 39. FAO. Foresterie en zones arides Guide à l'intention des techniciens de terrain Cahier FAO : Conservation 20. Rome, Italie. 144. 1992.
 40. Fenner M., Thompson K. (2000). The ecology of seeds. Cambridge University Press.
 41. Foley M.E. (2001). Review article Seed dormancy : an update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. Weed Science. 49. 305-317.
 42. Grubben G., Denton O., Messiaen M., Schippers R., Lemmens J. (2005). Vegetables Wageningen. Backhuys Publishers.
 43. Guha S., Maheshwari S.C. (1966). *In vitro* production of embryos from anthers in *Datura*. Nature. 204. 139-144.
 44. Hacheimi I., Kadi O. (2009). Effet de l'extrait aqueux de *L'Anacyclus Valentinus* L sur le cholestérol.
 45. Halimi A.K. (2004). Plantes médicinales en Algérie. 1ère édition. Alger. 156-157.
 46. Halimi A.K. (2004). Les plantes médicinales en Algérie. Editions BERTI. Alger. 156-157.
 47. Hamzi S., Belhadj K. (2008). Contribution à l'étude de l'activité antifongique des polyphénols extraits de deux plantes médicinales (*Anacyclusvalentinus* L et *Anacycluspyréthum*).
 48. Harald G. (1978). Comparative Phytochemistry and Systematics of *Anacyclus*. Biochemical Systematics and Ecology. 6. 11-17.
 49. Hayatulislam M., Zareen I.A., Salman M.T. (2013). in vivo evaluation of anti inflammatory and analgesic activities of *nigella sativa* seed during germination. 5(4). 451-454.
 50. Hema A., Fontes J., Guinko S. (2007). Contraintes liées à la production de la fumure organique dans la zone cotonnière ouest du Burkina Faso: cas des régions cotonnières de N'dorola, de Dédougou, de Houndé et de Banfora. Mémoire de fin d'étude, Bobo-Dioulasso. Burkina Faso.
 51. Hera C., Nida F., Roza Z.A. (2013). Effect, Establishment of callus and cell suspension cultures of *nigella sativa* L. for thymol production. 6(1). 788-794.

-
52. Himour S. (2011). Etude comparée de régénération de plants par voie végétative en culture *in vitro*. Thèse de magistère.univ. mentouri-constantine. 5. 24-29.
53. Hopkins W.E. (2003). Physiologie végétale. 1^{ère} édition. Ed. De Boeck & Larcier. Paris. 514.
54. Israili Z., Lyoussi B. (2009). Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*, Pak J Pharmaceutiques Sciences. 22. 425-462.
55. Ivan A. (2005). Medicinal plants of the world, chemical constituents, traditional and Modern Medicinal. 3. 488.
56. Janet w., kathi H., Paul P., Jan E. (2011). Procrop Lupin growth and development industry and investment New South Wales. 6.
57. Jean P., Catmrine T., Giues L. (1998). Biologie des plantes cultivées. Ed. L'Arpers, Paris. 47(150). 46.
58. Kaddem S.(1990). Les plants médicinales en Algérie. Oued zenati. 85.
59. Limasset P., Cornuet P. (1949). Recherche de la mosique de tabac (marmour tabacé holmes) dans les meristem des plantes effectees . Comptes Rendus mathématique Academie des Sciences.222. 1971-1972.
60. Little, E.L ., Woodbury, R.O ., Wadsworth, F.H. (1974). Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agriculture Handbook. 449. U.S. Departement Agriculture. Forest. Service Washington. 2
61. Maarouf A. (2000). Dictionnaire de botanique. 54.
62. Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux - Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes. Paris. 192 .
63. Marcon P., López M. , Meester J., Bovjin C., Alvarez M. (2013). *In vitro* establishment of *Salvia hispanica* L. plants and callus.Biotecnología Vegetal . 4. 203-207.
64. Margara J. (1978). Mise au point d'une gamme de milieux minéraux pour les conditions de la culture *in vitro*. 8. 654-661.
65. Margara J. (1989). Institut National de la recherche Agronomique. Base de la multiplication végétative. Les méristèmes et l'organogénèse.
66. Mazlaik P. (1982). Physiologie végétale, croissance et développement. Tome .2.Ed. Hermann éditeurs des sciences et des arts, collecte méthodes. Paris. 575.
67. Meyer S., Reeb C., Bosdeix R. (2004).Botanique, biologie et physiologie végétale. Ed. Moline. paris. 461.
68. Michel V. (1997). La production végétale, les composantes de la production. Ed. Danger. Paris. 478.

-
69. Mohammad H.I., Iffat Z.A., Mohammad T.S. (2013). *In-vitro* evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of *Nigella sativa* seed during germination. International journal of pharmacy and pharmaceutical science. 5(4). 451-454.
70. Murashige T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15. 473-497.
71. Nakashizuka T. (2001). Species coexistence in temperate, mixed deciduous forests. *Trends in Ecology and Evolution.* 16(4). 205-210.
72. Neffati M., T. Behaeghe., N Akrimi., Le floch. (1996). Viabilité des semences de quelques espèces pastorales steppiques tunisiennes en rapport avec les conditions de leur conservation. *Mediterranean Ecology.* 22. 39-50.
73. Nivot N. (2005). Essais de germination et de bouturage de six espèces indigènes sciaphytes du Canada. Thèse. Université Laval.
74. Nowbuth L., Agroscope C., Changines R. (2005). Teneur non-conforme en ADN comme indicateur de variation soma-clonale chez la pomme de terre. *Suisse Agriculture*, 3(76). 257-266.
75. Nozeran R., Bancelhon L. (1972). Les cultures *in vitro* en tant que technique pour l'approche de problèmes posés par l'amélioration des plantes, In *Ann. Amélioration. Plantes.* 22(2). 167-185.
76. Paul I. (2001). *Encyclopédie des Plantes Médicinales* (2nd Edition). Paris. 134-135
77. Pragma B., Dinesh B., Anita G., Anita R.S. (2015). Rapid micropropagation of *lepidium sativum* L. a medicinal herb for Folklor Remedies. 9(7). 480-483.
78. Quashie A.M.L., Kokou K. (2009). Culture *in vitro* et herbier *in vitro* culture and herbarium. Université. Lomé (Togo), série Sciences. Tome XVII. 49-58.
79. Rahman H., Vakati K., Chinna E. (2012). *In-vivo* and *in vitro* activity of *Aquilaria gallocha* Oil. *International Journal of Basic Medical Sciences and Pharmacy.* 2 (1). 7-10.
80. Rasolohery C.A. (2017). Étude des variations de la teneur en isoflavones et de leur composition dans le germe et le cotylédon de la graine de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Thèse, École doctorale des Sciences Écologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, Qualité et Sécurité des Aliments, Toulouse. 33-36.
81. Robert D., Dumas C., Bayon C. (1998). La reproduction, Edt. Doun initiatives santé. 373.
82. Rousselle P., Robert Y., Grossuer G.C. (1996). La pomme de terre production, Amélioration, Ennemis et Maladies Utilisation. édition Doun. 278.
83. Ross I.A. (2005) Medicinal plant of the world, Printed in the United States of America 3. 487.
84. Sakhrii H., Doue O., Hajilla F., Fetim B. (2000). Contribution à l'étude de la régénération naturelle de *Stipa tenacissima* L. dans les hautes plaines steppiques (Inde occidentale). *Cahiers Sécheresse*, 15 (2) . 167-171.

-
85. Schmidt L. (2000). Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed. Danida Forest Seed Centre Denmark. 1-511.
86. Schmelzer A., Guribfakim L. (2008) Caractérisation physiologique et biochimique du processus de vieillissement du tubercule de pomme de terre (*Hyoscyamus muticus L.*) (Thèse de doctorat). Gembloux, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, 171.
87. Setif A. (2011). Antibacteria activity of extract of *Ajuga iva* and *teucriempolium*. *Advens in enviromental. Biology journal.* 52. 491-495.
88. Sid larbi K., Meddah B., Tirtouil A., Sonnet P. (2016). Central Analgesic Property of Extracts and Essential Oils from *Inulaviscosa* And *Anacyclus valentinus*. *Sciences.* 6(9). 72-77.
89. Sivanesan I., Saini R.K., Noorzai R., Zamani A.G., Kim D.H. (2016). *In vitro* propagation, Karotenoide, fatiacide and tocopherol content of *Ajuga iva* multiflora bunge. *Biotechnologie.* 6(91).
90. Srivastava L.M. (2002). Plant Growth and Development. Hormones and Environment. Academic Press, San Diego (CA). 772.
91. Takebe I., col. (1971). régénèrent des plantes entières de *Nicotiana tabacum* à partir de protoplastes. Japon.
92. Venier P., Funes G., García C.C. (2012). a Physical dormancy and histological features of seeds of five *Acacia* species (Fabaceae) from xerophytic forests in central Argentina. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 207(1). 39-46.
93. Werker E. (1980). Seed dormancy as explained by the anatomy of embryo envelopes. *Israel Journal of Botany.* 29. 22-44.
94. Young J.A., Young C.G. (1986). Collecting, Processing and Germinating Seeds of Wildland Plants. Timber Press, Portland (OR). 236.
95. Zayova E., Nikolova M., Dimitrova L., Petrova M. (2016). Comparative study of *in vitro*, exvivo and in vivo propagated *Salvia hispanica* (chia) plants: morphologic analysis and antioxidant activity.
- Site web :**
96. <https://patents.google.com/patent/EP1171143A1/fr>
97. Anonyme, Kitchen culture, 1996, Kits: <http://www.kitchenculturekit.com>

Annexes

Annexe 01. Délai et nombre des graines germées après 60 jours dans le sol des différentes espèces étudiées

N	Espèce	Délai de germination(Jours)	Nombre des graines germées (60j)
1.	<i>Hyocymus muticus</i>	0	0
2.	<i>Lupinusmutabilis</i>	0	0
3.	<i>Glycine max</i>	0	0
4.	<i>Nigella sativa</i>	0	0
5.	<i>Anacyclusvalentinus</i>	0	0
6.	<i>Ajugaiva</i>	0	0
7.	<i>Sesamumindicum</i>	0	0
8.	<i>Eruca sativa</i>	8	35
9.	<i>Portulacaoleracea</i>	17	13
10.	<i>Salvia hispanica</i>	17	40
11.	<i>Lépidiumsativum</i>	20	8
12.	<i>Petroselinum crispum</i>	30	30
13.	<i>Peganumharmala</i>	45	33
14.	<i>Ricinuscommunis</i>	50	2

Annexe 02. Résultats de la comparaison de taux de germination des graines dans les boîtes pétries pour les quatre traitements et les taux de germination pour les quatorze espèces

Espèce	Nombre des graines cultivées	Nombre des graines germées (7j)				Nombre des graines contaminées (7j)				Taux de germination (%)				Taux de contamination			
		Témoins	Eau (24h)	Eau (1h)	Acide sulfurique	Témoins	Eau 24 h	Eau (1h)	Acide sulfurique	Témoins	Eau 24h	Eau (1h)	Acide sulfurique	Témoins	Eau 24h	Eau (1h)	Acide sulfurique
<i>Hyocymus muticus</i>	80	0	0	0	70	0	0	0	0	0	0	0	56	0	0	0	0
<i>Ajugaiva</i>	50	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

<i>Sesamum indicum</i>	50	0	0	0	0	1	8	10	4	0	0	0	0	0.5	4	5	2
<i>Nigella sativa</i>	15	0	3	1	3	0	0	0	0	0	0.45	0.15	0.45	0	0	0	0
<i>Peganum harmala</i>	50	0	0	21	0	0	0	0	0	0	0	10.5	0	0	0	0	0
<i>Lepidium sativum</i>	80	0	0	78	0	0	0	0	0	0	0	62.4	0	0	0	0	0
<i>Petroselinum crispum</i>	15	0	8	0	8	0	0	0	0	0	1.2	0	1.2	0	0	0	0
<i>Lupinus utabilis</i>	25	0	12	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
<i>Glycine max</i>	25	0	12	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0.5	0	0	0	0
<i>Ricinus communis</i>	25	0	19	3	0	0	0	0	0	0	4.75	0.75	0	0	0	0	0
<i>Anacyclus valentinus</i>	50	7	0	0	0	0	0	0	0	3.5	0	0	0	0	0	0	0
<i>Portulaca oleracea</i>	80	77	0	0	0	0	0	0	0	61.6	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salvia hispanica</i>	80	78	0	0	0	0	0	0	0	62.4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eruca sativa</i>	80	80	0	0	0	0	0	0	0	64	0	0	0	0	0	0	0

Annexe 03 : Vitesse de germination des graines des espèces étudiées en fonction de temps pour les témoins (sans traitements).

Espèce	Nombre des graines cultivées	(1j)	(2j)	(3j)	(4j)	(5j)	(6j)	(7j)
<i>Lépidiumsativum</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Portulacaoleracea</i>	80	0	26	45	70	76	76	77
<i>Hyocyamus muticus</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ricinuscommunis</i>	25	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eruca sativa</i>	80	0	60	66	70	72	77	80
<i>Salvia hispanica</i>	80	0	48	49	55	60	70	78
<i>Lupinusmutabilis</i>	25	0	0	0	0	0	0	0
<i>Glycine max</i>	25	0	0	0	0	0	0	0
<i>Peganumharmala</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Petroselinum crispum</i>	15	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nigella sativa</i>	15	0	0	0	0	0	0	0
<i>Anacyclusvalentinus</i>	50	0	0	4	4	5	6	7
<i>Ajugaiva</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sesamumindicum</i>	50	0	0	0	0	0	0	0

Annexe 04: Vitesse de germination des graines des espèces étudiées en fonction de temps pour le trempage dans l'eau pendant 24 heures.

Espèce	Nombre des graines cultivées	(1j)	(2j)	(3j)	(4j)	(5j)	(6j)	(7j)
<i>Lépidiumsativum</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Portulacaoleracea</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hyocyamus muticus</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ricinuscommunis</i>	25	0	0	10	13	14	15	19
<i>Eruca sativa</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salvia hispanica</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lupinusmutabilis</i>	25	1	8	9	11	11	12	12
<i>Glycine max</i>	25	0	7	9	9	11	12	12
<i>Peganumharmala</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Petroselinum crispum</i>	15	0	0	0	1	2	6	8
<i>Nigella sativa</i>	15	0	1	2	2	2	3	3
<i>Anacyclusvalentinus</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ajugaiva</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sesamumindicum</i>	50	0	0	0	0	0	0	0

Annexe 05 : Vitesse de germination des graines des espèces étudiées pour les le trempage dans l'eau pendant 1 heure.

Espèce	Nombre des graines cultivées	(1j)	(2j)	(3j)	(4j)	(5j)	(6j)	(7j)
<i>Lépidiumsativum</i>	80	10	60	70	76	77	78	78
<i>Portulacaoleracea</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hyocyamus muticus</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ricinuscommunis</i>	25	0	0	0	1	2	3	3
<i>Eruca sativa</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salvia hispanica</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lupinusmutabilis</i>	25	0	0	0	0	0	0	0
<i>Glycine max</i>	25	0	0	0	0	0	0	0
<i>Peganumharmala</i>	50	0	0	0	0	0	0	21
<i>Petroselinum crispum</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nigella sativa</i>	15	0	0	1	1	1	1	1
<i>Anacyclusvalentinus</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ajugaiva</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sesamumindicum</i>	50	0	0	0	0	0	0	0

Annexe 06. Vitesse de germination des graines des espèces étudiées en fonction de temps pour le trempage dans l'acide sulfurique pendant 5minute.

Espèce	Nombre des graines cultivées	(1j)	(2j)	(3j)	(4j)	(5j)	(6j)	(7j)
<i>Lépidiumsativum</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Portulacaoleracea</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hyocyamus muticus</i>	80	0	1	3	9	10	11	11
<i>Ricinuscommunis</i>	25	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eruca sativa</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salvia hispanica</i>	80	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lupinusmutabilis</i>	25	0	0	0	0	0	0	0
<i>Glycine max</i>	25	0	0	0	0	0	1	2
<i>Peganumharmala</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Petroselinum crispum</i>	15	0	0	0	0	3	4	8
<i>Nigella sativa</i>	15	0	0	0	1	1	1	1
<i>Anacyclusvalentinus</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ajugaiva</i>	50	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sesamumindicum</i>	50	0	0	0	0	0	0	0

Annexe 07 : Résultats de la comparaison de taux de germination des graines dans le milieu de culture MS pour les espèces étudiées

Espèce	Nbre graines cultivées	Traitements	Temps de germination (Jours)	Nbre graines germées après (30 jours)	N graines contaminées	Taux de germination	Taux de contamination
<i>Peganum harmala</i>	5	Dans l'eau 1h	0	0	0	0	0
<i>Anacyclus valentinus</i>	5	Sans trempage	0	0	0	0	0
<i>Ajuga iva</i>	5	Sans trempage	0	0	0	0	0
<i>Sesamum indicum</i>	5	Sans trempage	0	0	0	0	0
<i>Nigella sativa</i>	5	24h dans l'eau	15	1	4	20	80
<i>Lépidium sativum</i>	5	Dans l'eau 1h	7	3	0	60	0
<i>Portulaca oleracea</i>	5	Sans trempage	5	3	0	60	0
<i>Hyocyamus muticus</i>	5	Acide sulfurique	5	3	0	60	0
<i>Eruca sativa</i>	5	Sans trempage	1	4	0	80	0
<i>Ricinus communis</i>	3	24h dans l'eau	8	3	0	100	0
<i>Salvia hispanica</i>	5	Sans trempage	5	5	0	100	0
<i>Lupinus mutabilis L</i>	3	24h dans l'eau	5	3	3	100	100
<i>Glycine max</i>	3	24h dans l'eau	8	3	0	100	0
<i>Petroselinum crispum</i>	5	Acide sulfurique	7	5	0	100	0