

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES



FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT ENVIRONNEMENT

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : sciences biologiques

Spécialité : Biologie de la conservation

Intitulé du thème :

Contribution à l'étude de l'effet de la conservation
au froid sur la viabilité des graines de *Marrubium*
vulgare L. et de *Retama monosperma* (L.) Boiss.
de l'ouest Algérien

Présenté par : Melle AKKAL Fatima Zohra

Mr BENDIMERED Mustapha Abd El-Hadi Oussama

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury	: Mme MAHROUG Samira	professeur	UDL Sidi Bel Abbés
Examineur	: Mr MEHDADI Zoheir	professeur	UDL Sidi Bel Abbés
Promoteur	: Mme BENDIMERED Fatima Zohra	MCA	UDL Sidi Bel Abbés
Co-Promoteur	: Mme TABTI Souad	Doctorante	UDL Sidi Bel Abbés

Année universitaire 2019- 2020

Session : « septembre »



Dédicace

C'est avec grande joie, que j'exprime ma gratitude et mes sentiments les plus nobles, en dédiant ce Modest travail en souhaitant :

A ma mère

Très chère mère, voici le fruit de la belle éducation que tu as eu à nous procurer. Tous tes enfants à travers ma voix sont très fiers de toi. Ta rigueur et ton honnêteté nous ont toujours été un exemple à suivre. Tu as su nous montrer les règles de bonnes conduites et tu t'es sacrement battu pour que nous puissions réussir. Voici enfin un résultat de tes nombreuses prières et de tes multiples sacrifices. Tes encouragements et tes bénédictions ne m'ont jamais fait défaut. Ce travail est le témoignage de toute mon affection et de mon profond respect envers toi. Que le Tout Puissant te garde aussi longtemps parmi nous. Amen !

A mon père

Très cher père AKKAL Yahia, j'aurais tellement voulu que tu sois là parmi nous afin de savourer ce moment solennel. Le Tout Puissant t'a vite arraché à notre affection, mais sache papa que tes souvenirs restent vivants dans nos esprits. Je suis persuadé qu'en aucun moment, tu n'as cessé de nous accompagner avec tes bénédictions. Papa, je te dédie ce modeste travail qui s'est toujours réalisé avec une affectueuse pensée à toi. Saches que tu nous manques énormément.

Reposes en paix chère papa et que le Tout Puissant t'accorde le Paradis. Amen !

A mes frères

Khaled, Imene et Hiba

En dernier, je n'oublie pas de remercier toutes mes amies et toutes les personnes qui m'aide du pré ou du loin à l'élaboration de ce mémoire.

AKKAL Fatima zohra





Dédicace

Je dédie ce travail

A mes parents BENDIMERED Mohammed Yassine & KEDIR Adiba, qui je dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de leur éducation, qui je suis très reconnaissant, et qui je partage tous mes exploits.

A mes grands-parents maternels KEDIR Boumediene et El-Hassar Khwira et qui Repose en paix et que le Tout Puissant t'accorde le Paradis. Amen !

À mes grands-parents paternels BENDIMERED Mustapha et EL-Hassar Fadèla qui me soutiennent dans ma vie.

À mes frères et sœurs Fayçal, Sofiane, Imene et Kamila qui m'ont soutenu à la dernière minute.

À mon binôme, ma sœur et mon amie AKKAL Fatima-Zohra, qui a continué le chemin final et avec qui j'ai passé du bon temps et le plaisir de mettre au point ce mémoire, et je souhaite qu'elle réussisse tout ce qu'elle entreprend dans sa vie.

À ma collègue de travail au club, skills school et CHAKL EL-MESTARI Faïza, qui m'a énormément aidés.

À ma Bestie DADDOUCHE Nour Elyakine Ikram, qui a cru en moi et qui me pousse à faire plus.

Et aux personnes qui sont chères à mon cœur est que je n'ai pas pu les citer.

BENDIMERED Mustapha



Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu d'avoir donné à l'homme le pouvoir de raisonner, d'exploiter et d'expliquer les vérités de l'univers.

J'adresse mes sincères gratitudee et mes plus profonds remerciements à :

Notre encadreure Mme Bendimered Fatima Zohra, maître conférences à la faculté des sciences de la nature et de vie à l'université Djilali Liabès de Sidi Bel Abbès, d'avoir eu l'amabilité de diriger ce travail. Qu'elle trouve ici, l'expression de ma profonde et sincère reconnaissance pour tous ses efforts, sa générosité, son savoir, ses critiques constructives et sa confiance.

Monsieur Latreche Ali, professeur à la faculté des sciences de la nature et de vie à l'université Djilali Liabès de Sidi Bel Abbès, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury et pour son aide et ses conseils tout le long de la réalisation de ce travail.

Monsieur MEHDADI ZOHIR, professeur à la faculté des sciences de la nature et de vie à l'Université DJILALI LIABES DE SIDI BEL ABBES, d'avoir accepté de participer à ce jury, en examinant ce mémoire. Nous remercions également l'ensemble des enseignants du département d'Environnement.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de biologie de faculté science de la matière Université Djilali Liabès de Sidi Bel Abbès.

Je remercie également toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

AKKAL fatima Zohra & BENDIMERED Mustapha

Contribution à l'étude de l'effet de la conservation au froid sur la viabilité des graines de *Marrubium vulgare* L. et de *Retama monosperma* (L.) Boiss. de L'ouest Algérien

Résumé

Marrubium vulgare L. (le Marrube blanc) est une plante herbacée vivace méditerranéenne appartenant à la famille *Lamiaceae* et qui est fréquemment utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie qui sont utilisées pour les cheveux et pour traiter les fièvres. Ces feuilles sont utilisées dans des toniques, bonbons expectorants et antiseptiques pour la toux. L'infusion, digestive, laxative, relâche les muscles, contribue à l'expulsion du mucus et combat bronchite, croup ou asthme ; c'est un tonique du foie. Elle détruit les vers intestinaux et a servi, en usage externe, et interne, contre l'eczéma et zona...

Retama monosperma L. (le Retam blanc) est un arbuste appartenant à la famille *Fabaceae* pouvant former d'épais buissons. Les *retames* jouent un rôle très important dans le maintien de l'équilibre des milieux naturels et les écosystèmes, ils sont considérés comme un excellent fourrage, de plus leur bois est utilisé en chauffage. Ils sont riches en fibre. En médecine traditionnelle, *Retama monosperma* est utilisée comme vomitif, purgatif, vermifuge, cicatrisant, vulnéraire, sédatif, antihelminthique et antiseptique.

Le but de cette étude est de déterminer l'effet de la conservation de courtes durées au froid sur la viabilité des graines de ces espèces, deux températures ont été choisies : 5 °C et -20 °C pendant 2 durées : 30 et 45 jours. L'évaluation de la viabilité des graines a été effectuée des essais de germination dans des conditions suivante : température optimale de 20 °C, dans l'obscurité.

Les résultats obtenus à travers les paramètres de germination pris en considération à savoir le temps de latence, la vitesse de germination, le temps moyen de germination et la capacité de germination ont révélé que :

- Concernant les graines de *Retama monosperma*, elles étaient viables mais dormantes prouvé par le test au tétrazolium, la conservation au froid n'as pas été effectuée sur ces graines pour cause le problème sanitaire
- Concernant les graines de *Marrubium vulgare*, leur viabilité a été affectée négativement par la température de 5 °C et -20 °C pour les deux durées de conservation, une diminution de la capacité de germination avec la vitesse de germination et une augmentation du temps de latence avec le temps moyen de germination.

Des techniques de conservation des graines deux ces espèces ont été développé afin de continuer d'enrichir la banque de semences des espèces caractéristique de la région ouest de l'Algérie

Mots clés : conservation, froid, germination, *Marrubium vulgare* (L), *Retama monosperma* (L), viabilité.

**Contribution to the study of the effect of cold storage on viability seeds of *Marrubium vulgare* L.
and *Retama monosperma* (L.) Boiss. From western Algeria**

abstract

Marrubium vulgare L. (White Horehound) is a Mediterranean herbaceous perennial belonging to the Lamiaceae family and which is frequently used in traditional medicine in Algeria which are used for hair and to treat fevers. These leaves are used in tonics, expectorant sweets and cough antiseptics. The infusion, digestive, laxative, relaxes muscles, helps expel mucus and fights bronchitis, croup or asthma; it is a liver tonic. It destroys intestinal worms and has been used, both externally and internally, against eczema and shingles ...

Retama monosperma L. (the white Retam) is a shrub belonging to the Fabaceae family that can form thick bushes. Retames play a very important role in maintaining the balance of natural environments and ecosystems, they are considered excellent fodder, and their wood is used for heating. They are rich in fiber. In traditional medicine, *Retama monosperma* is used as an emetic, purgative, dewormer, healing, vulnerary, sedative, entihelminthic and antiseptic.

The aim of this study is to determine the effect of storage for short periods in the cold on the viability of the seeds of these species, two temperatures were chosen: 5 ° C and -20 ° C for 2 periods: 30 and 45 days . The seed viability assessment was carried out in germination tests under the following conditions: optimum temperature of 20 ° C, in the dark.

The results obtained through the germination parameters taken into consideration, namely the latency time, the germination speed, the average germination time and the germination capacity, revealed that:

- Regarding the seeds of *Retama monosperma*, they were viable but dormant, proven by the tetrazolium test, cold storage was not carried out on these seeds due to the health problem
- Concerning the seeds of *Marrubium vulgare*, their viability was positively affected by the temperature of (5 ° C) for the two storage times, an increase in the germination capacity with the speed of germination and a decrease in the latency time with the average germination time.
- On the other hand, storage at a temperature of -20 ° C had a negative effect by reducing the germination capacity of these seeds.

Seed conservation techniques for two of these species have been developed in order to continue to enrich the seed bank of species characteristic of the western region of Algeria.

Key words: storage, cold, germination, *Marrubium vulgare* (L), *Retama monosperma* (L), viability.

المساهمة في دراسة تأثير التخزين البارد على الصلاحية بذور *Marrubium vulgare* L. و *Retama monosperma* (L.) Boiss من غرب الجزائر.

ملخص

المريوى *Marrubium vulgare* L. (حشيشة الكلب البيضاء) هي نبات عشبي معمر متوسطي ينتمي إلى عائلة *Lamiaceae* ويستخدم بشكل متكرر في الطب التقليدي في الجزائر الذي يستخدم للشعر وعلاج الحمى. تستخدم هذه الأوراق في المقويات والحلويات مقشع ومطهرات السعال. الحقن، الهضم، ملين، يريح العضلات، يساعد على طرد المخاط ويحارب التهاب الشعب الهوائية، الخناق أو الربو، إنه منشط للكبد، يقضي على الديدان المعوية وقد استخدم في الاستعمالات الخارجية والداخلية ضد الاكزيما والقوباء المنطقية ...

الرتم *Retama monosperma* L. (White Retam) هي شجيرة تنتمي إلى عائلة *Fabaceae* التي يمكن أن تشكل شجيرات كثيفة. تلعب إعادة التسمية دوراً مهماً للغاية في الحفاظ على توازن البيئات الطبيعية والنظم البيئية، فهي تعتبر علفاً ممتازاً، ويتم استخدام أخشابها للتدفئة. فهي غنية بالألياف. في الطب التقليدي، يستخدم *Retama monosperma* كمقيئ، مسهل، مضاد للديدان، شفاء، ضعيف، مهدئ، مطهر ومعقم للديدان.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تأثير التخزين لفترات قصيرة في البرد على قابلية بقاء بذور هذه الأنواع ، تم اختيار درجتين حرارة: 5 درجات مئوية و -20 درجة مئوية لفترتين: 30 و 45 يوماً . تم إجراء تقييم صلاحية البذور في اختبارات الإنبات في ظل الظروف التالية: درجة الحرارة المثلى 20 درجة مئوية ، في الظلام.

النتائج التي تم الحصول عليها من خلال معايير الإنبات التي تم أخذها في الاعتبار، وهي وقت الكمون، وسرعة الإنبات، ومتوسط وقت الإنبات، وقدرة الإنبات، أظهرت ما يلي :

- فيما يتعلق ببذور *Retama monosperma* ، فقد كانت قابلة للحياة ولكنها نائمة ، وثبت من خلال اختبار *tétrazolium* ، ولم يتم التخزين البارد على هذه البذور بسبب المشكلة الصحية.

- بالنسبة لبذور *Marrubium vulgare* ، فقد تأثرت قابليتها للنمو إيجابياً بدرجة حرارة (5 °C) لمرتين التخزين ، وزيادة في القدرة على الإنبات مع سرعة الإنبات وتقليل زمن الكمون مع متوسط وقت الإنبات.

- من ناحية أخرى ، كان للتخزين عند درجة حرارة -20 درجة مئوية تأثير سلبي من خلال تقليل قدرة إنبات هذه البذور.

تم تطوير تقنيات حفظ البذور لاثنتين من هذه الأنواع من أجل الاستمرار في إثراء بنك البذور للأنواع المميزة للمنطقة الغربية من الجزائر

الكلمات المفتاحية : التخزين، البرودة، الإنبات، *Marrubium vulgare* (L) ، *Retama monosperma* (L)، الصلاحية.

Liste des figures

Figure 1 : 1. <i>Retama raetam</i> (Forssk.) 2. <i>Retama monosperma</i> (L.) Boiss 3. <i>Retama sphaerocarpa</i> (L.) Boiss (site web 6).....	4
Figure 2 : <i>Retama retam</i> (site web 7).....	4
Figure 3 : <i>Retama monosperma</i> (site web 7).....	4
Figure 4 : <i>Retama sphaerocarpa</i> (site web 7).....	5
Figure 5 : <i>Retama monosperma</i> (site web 7).....	7
Figure 6 : <i>Retama monosperma</i> (site web 7).....	8
Figure 7 : Racines de <i>Retama monosperma</i> (Cheikh, 2010).....	9
Figure 8 : Fruits de <i>Retama monosperma</i> (site web 7).....	9
Figure 9 : Caractéristiques climatiques (site web 9).....	11
Figure 10 : Caractéristiques du sol (site web 9).....	12
Figure 11 : Carte de répartition géographique de la famille des <i>Lamiacées</i> (Stevens, 2010).	15
Figure 12 : <i>Marrubium vulgare</i> (site web 10).....	17
Figure 13 : Tige de <i>Marrubium vulgare</i> (site web 10).....	18
Figure 14 : La fleur de <i>Marrubium</i> (site web 10).....	19
Figure 15 : Calice cantinant le fruit de <i>Marrubium</i> (site web 10).....	19
Figure 16 : Caractéristiques climatiques de <i>Marrubium vulgare</i> L (site web 12).....	20
Figure 17 : Caractéristiques du sol de <i>Marrubium vulgare</i> L (site web 12).....	21
Figure 18 : Complémentarité des approches de la conservation <i>in situ</i> et <i>ex situ</i> (Dadach, 2016).....	26
Figure 19 : Catégories de la liste rouge de l’UICN.....	27
Figure 20 : Schéma des opérations de constitution des banques de semences d'espèces végétales sauvages (Gomez-Campo, 1985).....	29
Figure 21 : Aperçu simplifié d'un protocole pour déterminer le comportement de conservation des graines (Hong et Ellis, 1996).....	31
Figure 22 : L’embryon qui est une plantule pluricellulaire, différenciée en une racicule (première racine), une gemmule (bourgeon apical), une tigelle (première tige) et le ou les cotylédon(s) (première(s) feuille(s) assurant la nutrition de la plante).	37
Figure 23 : Schéma d’organisation des graines théoriques albuminées et exalbuminées d’Angiosperme dicotylédone.....	39
Figure 24 : graine de <i>M. vulgare</i>	41
Figure 25 : les Graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. (Cliché : AKKAL Fatima Zohra et BENDIMERED Mustapha, 2019).....	50
Figure 26 : Graines de <i>Retama monosperma</i> (L.) Boiss. (Cliché : AKKAL Fatima Zohra et BENDIMERED Mustapha, 2019).....	50
Figure 27 : Appareils utilisés pour la conservation des graines, A : Réfrigérateur utilisé pour la conservation à sec au froid (5 °C), B : congélateur utilisé pour la conservation a -20 °C.....	51
Figure 28 : Schéma du protocole expérimental (R : répétition).....	52
Figure 29 : La mise à germer des graines de <i>M. vulgare</i>	53
Figure 30 : Morphologie de la graine <i>R. monosperma</i>	56
Figure 31 : Anatomie de la graine <i>Retama monosperma</i>	56
Figure 32 : La germination des graines et le début de la croissance de l’embryon <i>Retama monosperma</i>	57
Figure 33 : Pré-trempage des graine <i>R. monosperma</i> dans de l’acide sulfurique.....	57
Figure 34 : La mise à germé des graines de <i>R. monosperma</i> au laboratoire.....	58
Figure 35 : Résultat des graines testées au tétrazolium.....	58
Figure 36 : Morphologie de la graine de <i>M. vulgare</i>	59
Figure 37 : Anatomie d’une graine de <i>M. vulgare</i> vue en coupe longitudinale à la loupe (Gr : x10).....	60
Figure 38 : Suivie de la germination des graines et le début de la croissance de l’embryon A : graine de <i>M. vulgare</i> avant la mise en germination ; B : imbibition et gonflement de la graine (1 ^{er} jour après mise en germination) ; C : la percer de la racicule et sa sortie (début de la croissance).....	60
Figure 39 : Graine germée <i>Marrubium vulgare</i> (Cliché : AKKAL Fatima Zohra et BENDIMERED Mustapha, 2019).....	61

Figure 40 : Moyenne de 3 répétitions de Temps de latence (TL) des graines du témoin, et celle des graines conservées au froid (5 °C, -20 °C) de <i>M. vulgare</i> pendant 30 et 45 jours	62
Figure 41 : Moyenne de 3 répétitions du Capacité de la germination du temoins et des graines conservées au froid (5 °C, -20 °C) de <i>M. vulgare</i> pendant 30 et 45 jours après 6 jours d'observation....	62
Figure 42 : Moyenne de 3 répétitions du Capacité de la germination du témoin et des graines conservées au froid (5 °C) de <i>M. vulgare</i> pendant 30 jours à 21jours d'observation.....	63
Figure 43 : Cinétique de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> après une conservation au froid à 5°C de 30 jours et 45 jours	63
Figure 44 : Cinétique de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> après une conservation au froid à (-20 °C) de 30 jours et 45 jours	64
Figure 45 : Moyenne de 3 répétitions du coefficient de vélocité (CV) a 6 jours d'observation, des graines du témoin et celle des graines conservées au froid (5 °C, -20 °C) de <i>M. vulgare</i> pendant 30 et 45 jours	65
Figure 46 : Moyenne de 3 répétitions du coefficient de vélocité (CV) a 21 jours d'observation, des graines du témoin et celle des graines conservées au froid (5 °C, -20 °C) de <i>M. vulgare</i> pendant 30 jours	65

Liste des tableaux

Tableau 1 :Tableau récapitulatif des paramètres de distinction entre les trois espèces du genre <i>Retama</i> (<i>R. monosperma</i> , <i>R. raetam</i> , <i>R. sphaerocarpa</i>)	6
Tableau 2 : Caractéristiques botanique <i>Retama monosperma</i> (site web 9).....	7
Tableau 3 : Classification de l'espèce <i>Retama monosperma</i>	10
Tableau 4 : Classification de l'espèce <i>Marrubium vulgare</i>	20
Tableau 5 : Distribution du genre <i>Marrubium</i> en Algérie (Quezel et Santa., 1962 <i>in</i> Dadach 2016)....	22

Liste des abréviations

TL : Temps de latence

CG : Capacité de germination

CV : Coefficient de vélocité

TMG : Temps Moyen de Germination

J : jours

R. monosperma : *Retama monosperma*

M. vulgare : *Marrubium vulgare*

NaClO : l'hypochlorite de sodium (eau de javel)

T : température en °C.

UICN : union international pour la conservation de la nature

h : Heure

Subsp : sous-espèces

% : pourcentage

TABLE DES MATIERES

Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I. GÉNÉRALITES SUR *RETAMA MONOSPERMA* (L.) BOISS., 18402

I.1	DEFINITION DE LA FAMILLE <i>FABACEAE</i>	2
I.2	DISTRIBUTION	2
I.3	INTERET ÉCONOMIQUE	2
I.4	GENRE <i>RETAMA</i>	2
I.4.1	Les différentes espèces du genre <i>Retama</i>	2
1.	<i>Retama sphaerocarpa</i> (L.) Boiss.....	3
2.	<i>Retama raetam</i> (Forssk.) Webb.....	3
3.	<i>Retama dasycarpa</i> Coss.....	3
4.	<i>Retama monosperma</i> (L.) Boiss.	3
I.5	<i>RETAMA MONOSPERMA</i> (L.) BOISS. 1840	3
I.5.1	Description.....	3
1.	Biologique	5
2.	Botanique.....	7
I.5.2	Morphologie	8
1.	Les tiges	8
2.	Les feuilles.....	8
3.	Les racines.....	8
4.	Les fleurs.....	9
5.	Les fruits.....	9
6.	Les graines	10
I.5.3	Nomenclatures	10
1.	Scientifique	10
2.	Vernaculaire.....	10
I.5.4	Classification	10
I.5.5	Climat	11
1.	Températures	11
2.	Lumière	11
I.5.6	Sol	12
I.5.7	Aire de répartition	12
1.	Dans le monde	12
2.	En Algérie.....	12
I.5.8	Utilisation.....	13
I.5.9	Intérêt	13
1.	Intérêt pharmacologique	13
2.	Intérêt écologique.....	14
3.	Intérêt industriel et économique.....	14

CHAPITRE II. GÉNÉRALITÉS SUR *MARRUBIUM VULGARE*..... 15

II.1	DEFINITION DE LA FAMILLE <i>LAMIACEAE</i>	15
II.1.1	Distribution.....	15
II.1.2	Intérêt Économique	16
II.2	GENRE.....	16
II.3	L'ESPECE.....	16
II.3.1	Description.....	16
1.	Biologique	17
2.	Botanique.....	17
II.3.2	Morphologique	18
1.	Les racines.....	18
2.	Les tiges	18
3.	Les feuilles.....	18
4.	La fleur	18

5.	Les fruits.....	19
6.	L'inflorescence.....	19
II.3.3	Nomenclatures.....	19
1.	Scientifique.....	19
2.	Vernaculaire.....	19
II.3.4	Classification.....	20
II.3.5	Climat.....	20
II.3.6	Sol.....	21
II.3.7	Aire de répartition.....	21
1.	Dans le monde.....	21
2.	En Algérie.....	21
II.3.8	Importance de l'espèce.....	22
1.	Historique.....	22
2.	Usage médicale.....	22
3.	Usage traditionnel.....	23
II.4	INTERET ECONOMIQUE.....	23

CHAPITRE III. BIOLOGIE DE LA CONSERVATION 25

III.1	DEFINITION DE LA CONSERVATION.....	25
III.2	LES TECHNIQUES ET METHODES DE LA CONSERVATION.....	25
III.2.1	Conservation <i>In situ</i>	25
III.2.2	Conservation <i>Ex situ</i>	26
1.	Les jardins botaniques.....	27
2.	Banque de semences.....	28
III.2.3	Fonctionnement.....	29
III.2.4	Elaboration.....	30
III.2.5	Méthodes de conservation.....	30
1.	Les étapes de la conservation <i>ex-situ</i>	30
a.	La récolte et la collecte de fruits ou de graines.....	30
b.	Quantité initiale de la semence.....	30
c.	Le transport.....	32
d.	Extraction des graines.....	32
e.	Séchage.....	32
f.	Détermination de la teneur en eau des graines.....	32
g.	Humidification des graines et essais de germination.....	33
h.	Protocoles classiques.....	33
i.	Nouvelles techniques.....	33
o	L'encapsulation-déshydratation.....	34
o	La vitrification.....	34
o	L'encapsulation-vitrification.....	34
o	La dessiccation.....	34
o	La préculture.....	35
o	La congélation en gouttes.....	35
III.2.6	La cryoconservation.....	35
a.	Protocoles de cryoconservation.....	36

CHAPITRE IV. GERMINATION 37

IV.1	LA SEMENCE.....	37
IV.1.1	Définition.....	37
IV.1.2	Qualité.....	37
IV.1.3	Constitution.....	37
IV.1.4	Types.....	38
IV.2	LA VIABILITE.....	39
IV.2.1	Définition.....	39
IV.2.2	L'importance de la viabilité des semences.....	39
IV.2.3	Déterminé.....	39
IV.2.4	Testes de viabilité.....	40
IV.3	LA GERMINATION.....	40
IV.3.1	Généralité sur la germination.....	40
1.	La germination épigée.....	41
2.	La germination hypogée.....	41
IV.3.2	Critères de la germination.....	41
IV.3.3	Condition.....	42
1.	Interne.....	42

a.	La maturité	42
o	La maturation morphologique.....	42
o	La maturation physiologique	42
b.	La longévité.....	42
2.	Externe.....	42
a.	L'eau	42
b.	L'oxygène.....	42
c.	La température	43
d.	La lumière	43
IV.3.4	Les phases de germination	43
1.	Phase d'imbibition	43
2.	La phase de germination sensu stricto (sens strict).....	43
3.	Phase de croissance.....	43
IV.3.5	Capacité de germination.....	44
IV.3.6	Vitesse de germination	44
1.	Le temps de latence.....	44
2.	Le coefficient de vélocité (Cv), proposé par Kotowski (1962).....	44
IV.4	DORMANCE	45
IV.4.1	Définition	45
IV.4.2	Type	45
1.	Dormance tégumentaire.....	45
a.	L'imperméabilité à l'eau	45
b.	L'imperméabilité à l'oxygène.....	45
2.	Dormance embryonnaire.....	46
a.	La dormance embryonnaire primaire	46
b.	La dormance embryonnaire secondaire	46
3.	Levée de dormance.....	46
4.	Traitements levant les dormances embryonnaires.....	46
a.	Gibbérellines.....	46
b.	Ethylène	47
c.	Stratification	47
d.	Anoxie et les températures élevées	47
e.	Conservation au sec.....	47
5.	Traitements levant les inhibitions tégumentaires	47
a.	La scarification	47
b.	Lixiviation.....	47
c.	Traitements oxydants	48

CHAPITRE V. MATERIEL ET METHODES 49

V.1	OBJECTIFS DE L'ETUDE	49
V.2	LIEUX DE LA REALISATION DE L'EXPERIMENTATION	49
V.3	MATERIEL	49
V.3.1	Matériel de laboratoire	49
1.	Pour la réalisation de l'expérimentation, le matériel et les produits suivants :.....	49
V.3.2	Matériel végétal.....	49
1.	Description du fruit.....	50
a.	Marrubium vulgare.....	50
b.	Retama monosperma	50
V.4	METHODOLOGIE.....	51
V.4.1	Description des graines.....	51
V.4.2	Préparation des graines à la conservation.....	51
V.4.3	Technique de conservation appliquée aux graines	51
V.5	TECHNIQUES DE MISE A GERMER DES GRAINES	51
V.6	TEST DE LA VIABILITE.....	53
V.6.1	Par la germination	53
V.6.2	Protocole de tétrazolium.....	53
a.	Pré-conditionnement.....	53
b.	Préparation de la solution de chlorure de tétrazolium.....	53
V.7	SUIVIE DE LA GERMINATION	54
V.8	EXPRESSION DES RESULTATS	54
V.8.1	Le temps de latence (TL).....	54
V.8.2	Le coefficient de vélocité (Cv).....	54
V.8.3	Le temps moyen de germination (Tmg).....	54
V.8.4	La capacité de la germination (CG).....	55

CHAPITRE VI. RESULTATS ET DISCUSSION.....	56
VI.1 RESULTATS	56
VI.1.1 <i>Retama monosperma</i>	56
2. Description des graines.....	56
c. Morphologie	56
d. Anatomie	56
e. Type de graine	56
f. Description de la germination	57
g. Type de germination des graines <i>Retama monosperma</i>	57
h. Levée de dormance	57
i. Teste de viabilité.....	57
o Teste via la germination	57
o Teste de tétrazolium.....	58
VI.1.2 <i>Marrubium vulgare</i>	59
1. Description de graines	59
a. Morphologie	59
b. Anatomie	59
c. Type de graine	60
d. Description de la germination	60
e. Type de germination des graines <i>Marrubium vulgare</i>	60
2. Critère de germination.....	61
1. Temps de latence (TL).....	62
2. La Capacité de germination de l'espèce <i>Marrubium Vulgare</i> (CG)	62
3. Evolution de la capacité de germination en fonction du temps	63
a. Conservation à 5 °C.....	63
b. Conservation à -20 °C	64
4. Le coefficient de vélocité (CV).....	65
5. Temps moyen de germination (TMG).....	66
VI.2 DISCUSSION DES RESULTATS	67
CONCLUSION	70
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	71

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les ressources phytogénétiques sont constituées de la diversité de l'espèce cultivée ou des groupes d'espèces cultivées, mais aussi des espèces sauvages apparentées, dont certaines peuvent être utilisées en sélection par croisement. Il est important de conserver la diversité des combinaisons génétiques, créées ou apparues au cours du temps, dans une grande variété d'environnements, car c'est un vivier dans lequel puiser pour créer de nouvelles variétés (site web 1).

Le présent travail a concerné les graines de *Marrubium vulgare* et *Retama monosperma*. Le choix a porté de ces espèces, car les travaux sur la valorisation physiologique sont rares, surtout concernant la physiologie de la germination à travers le monde et dont notre pays.

Retama monosperma (L.) Boiss. ou Retame blanc fait partie de la famille *Fabaceae*, est une arbustive qui colonise les sables dunaires. Elle est aussi connue pour ses fleurs ornementales et son rôle dans la fixation des dunes, elle est commune dans les vallées, les régions sableuses des hauts plateaux et sur les versants des zones internes du grand Atlas, là où le climat est semi-aride. C'est une espèce très utilisée en médecine populaire (site web 2)

Marrubium vulgare (L.) ou marrube blanc, appartient à la famille *Lamiaceae*, est une plante vivace qui tolère à la sécheresse et se trouve donc dans toutes les zones avec un minimum de 200 mm de pluie par an (Turnbull, 1996). En outre, cette espèce a très peu d'exigences en termes de types de sol, de sorte qu'elle est souvent trouvée parmi les premiers colonisateurs des zones érodées (Parsons et Cuthbertson, 1992). En raison de sa capacité d'adaptation à différentes conditions environnementales, le marrube blanc peut facilement devenir une mauvaise herbe gênante (Benvenuti, 2001). Cette plante est utilisée pour le traitement de divers maux : sifflements respiratoires, maladies urinaires, otites et ophtalmies (Bouterfas *et al.*, 2014).

Pour toutes les espèces végétales, la température de conservation des graines reste un problème à résoudre, car pour chaque espèce, les graines se comportent différemment vis-à-vis de la température. C'est dans ce contexte et à cause de l'absence de travaux sur la physiologie de la germination des graines de *Marrubium vulgare* et *Retama monosperma* que nous avons mené cette étude qui consiste à tester l'influence de la conservation de courte durée au froid 5 °C -20 °C pendant 30 et 45 jours sur la viabilité des graines, et voir si la conservation dans ces conditions a un rôle sur l'amélioration du taux et de la vitesse de germination.

Ce travail se scinde en deux parties : la première partie comporte les données bibliographiques, des généralités sur l'importance de la conservation et la viabilité des semences ainsi que sur la germination.

La seconde partie est consacrée à l'étude expérimentale, une conclusion et les perspectives clôtureront ce document.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :
Généralités sur *Retama monosperma*
(L.)

CHAPITRE I. GÉNÉRALITES SUR *RETAMA MONOSPERMA* (L.) Boiss., 1840

Retama monosperma une des 18 000 espèces de la famille des Fabacée qui est importante dans notre écosystème méditerranéen.

I.1 Définition de la famille *Fabaceae*

La famille *Fabaceae* est l'une des plus importantes parmi la classe des dicotylédones, c'est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales.

C'est une famille exceptionnellement homogène, facilement reconnaissable à l'aspect de ses feuilles alternes composées imparipennées (Ozenda, 1982).

La famille des fabacées comprend différentes formes biologiques : des herbacées (*terfolium*), des arbustes (*Genista*), arbrisseaux (*lupinus*) et des arbres (*Acacia*). Les formes arborescentes prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées (Ismaili, 1994).

I.2 Distribution

La famille est cosmopolite. Elle est particulièrement concentrée dans les régions subtropicales et tempérées chaudes, comme en Afrique du sud ou sur le pourtour méditerranéen. Les régions tropicales abritent essentiellement des espèces ligneuses, tandis que les régions tempérées regorgent d'espèces herbacées (site web 3).

I.3 Intérêt Économique

Sur le plan économique, *Fabaceae* sont la deuxième famille en importance après les *Poaceae* et constituent une source de protéines végétales très appréciable pour l'alimentation humaine (site web 4).

I.4 Genre *Retama*

Les *retames* sont des Légumineuses arbustives, occupant les zones arides, semi-arides et côtières, qualifiées de plantes fixatrices de dunes, leur nom dérive du nom biblique (ROTEM) qui fut changé par les arabes en (R'tem) ou (*retam*) (Zohary, 1962 ; Shallaby *et al.*, 1972).

Le genre *Retama* fut depuis longtemps confondu avec les genres *Genista* et *Spartium* (Brongniart *et al.*, 1843) on les désigna par *Genista retam* (Forkel, 1775), ensuite on utilisa le *Spartium* pour désigner les deux espèces : *Spartium sphaerocarpa* et *Spartium monosperma*, la nomination a ensuite été changé, et le nom de *Retama* a été considéré comme un genre regroupant ces deux espèces (Boissier, 1939).

I.4.1 Les différentes espèces du genre *Retama*

Il existe quatre espèces du *Retam* en trouve :

1. *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss.

Arbrisseaux de 1 à 2 m à rameaux pubescents plus ou moins dressés, caractérisés par de petites fleurs jaunes (5-6 mm), situées en grappes latérales sur les rameaux âgés, feuilles très petites, gousse globuleuse, jaune brun de 7-13 mm pâturage rocailleux (Quezel et Santa, 1962).

2. *Retama raetam* (Forssk.) Webb.

Retama raetam est un arbuste saharien de 1 à 3,5 m de hauteur à rameaux veloutés, fleurs blanches de 8-10 mm, étendard égalant la crène ou plus long, gousse non dilatée sur sa nature ventrale contenant une petite graine (Quezel et Santa, 1962).

3. *Retama dasycarpa* Coss.

Retama dasycarpa est une espèce d'arbustes de la famille *Fabaceae*, endémique du Maroc. C'est une plante adaptée au climat des montagnes de l'Atlas (site web 5).

4. *Retama monosperma* (L.) Boiss.**I.5 *Retama monosperma* (L.) Boiss. 1840****I.5.1 Description**

Retama est un arbuste ou arbrisseau de un à quatre mètres de hauteur, portant de longs rameaux "joncailles" dépourvus ou avec peu de feuilles dans le but de s'adapter au milieu désertique où l'eau est rare. La chlorophylle se trouve dans l'écorce des rameaux qu'ils sont donc verts et remplacent les feuilles dans le phénomène d'assimilation chlorophyllienne. Les stomates sont rares et sont confinés dans des cryptes revêtues entourées de poils où l'air y est toujours humide et l'évaporation est fortement réduite. Les tiges sont rigides et leurs parois externes sont épaisses et l'épiderme est recouvert d'une épaisse cuticule (Shalaby *et al.*, 1972). Les fleurs sont en grappe de couleur blanche ou jaune selon les espèces (Shalaby *et al.*, 1972) (fig. 01). Les gousses sont sub-globuleuses ou ovoïdes et indéhiscences (Maire, 1952-1987). Les racines sont profondes et touchent en permanence les couches humides du sol.

Elles peuvent accéder dix mètres (Zohary, 1962) et même vingt-cinq mètres de longueur pour les trois espèces ; *R. raetam*, *R. monosperma* et *R. sphaerocarpa* (Haase *et al.*, 1996).



Figure 1: 1. *Retama raetam* (Forssk.) 2. *Retama monosperma* (L.) Boiss 3. *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss (site web 6).



Figure 2 : *Retama raetam* (site web 7)



Figure 3 : *Retama monosperma* (site web 7)



Figure 4 : *Retama sphaerocarpa* (site web 7)

1. Biologique

L'espèce *Retama monosperma* se divise en trois sous-espèces ou Taxon infraspécifique :

Retama monosperma subsp. *bovei*

Retama monosperma subsp. *monosperma*

Retama monosperma subsp. *rhodorrhizoides* Webb & Berthel (site web 8).

Au stade végétatif, ces trois espèces ne présentent pas de différence morphologique importante. Au stade reproducteur, elles se distinguent aux moments de floraison et de fructification. Les principaux paramètres de distinction entre les trois espèces sont récapitulés dans le tableau 01 (Belmokhtar, 2005).

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des paramètres de distinction entre les trois espèces du genre *Retama* (*R. monosperma*, *R. raetam*, *R. sphaerocarpa*)

	<i>R. monosperma</i>	<i>R. raetam</i>	<i>R. sphaerocarpa</i>
Tige	Arbuste de 2 à 4 m de haut, à port retombant et des rameaux flexibles qui s'abaissent avec des tiges grises vertes, au reflet argenté.	Arbre ou arbuste de 1 à 3,5 m de haut avec des rameaux dressés et des tiges grises vertes, au reflet argenté.	Arbuste de 1 à 2 m de haut à rameaux flexibles avec des tiges toujours vertes.
	Rameaux et tiges fortement sillonnés. Portent des feuilles très réduites durant toute l'année.	Rameaux et tiges peu sillonnés. Aphyllé presque durant toute l'année.	Rameaux et tiges non creusés de sillons. Aphyllé presque durant toute l'année.
Fleur	Couleur blanche de 14 à 15mm. Etendard légèrement veiné de pourpre, plus court que la carène. Très odorante. Floraison de janvier Jusqu'à mai.	Couleur blanche de 8 à 10 mm. Etendard légèrement veiné de pourpre, égalant la carène ou légèrement plus long. Peu odorante. Floraison entre avril et mai.	Couleur jaune Très petite de 5 à 6 mm. Peu odorante. Début de floraison en mi-juin. Perd facilement leurs fleurs.
	Gousse	Couleur jaune paille, ovoïde avec une extrémité aigue, structure ventrale Dilatée. 12 à 15mm de long	Couleur jaune paille de forme ovoïde aigue non dilatée sur structure ventrale. 8mm à 15mm de long
Graine	Couleur marron ou vert olive. 5mm de long. 1 à 4 graines par gousse.	Couleur marron, jaune. 3 à 6 mm de long. 1 à 3 graines par gousse.	Couleur noire, verte olive. 4 à 5mm de long. 1 à 2 graines par gousse.
Répartition	Dunes littorales. Oran (Cap façon, Genet, Kristel et Bousfer). Mostaganem (Sidi khatab, El-mactaâ) Ain timouchent (Terga).	Haut plateaux et Atlas saharien. Ain es-safra. (sfessefa, tiout). Bayadh. (chellala, Bougtob et khaiter). Djelfa. Naâma. Ghardaia (Metlili) et Laghouat (Aflou).	Haut plateaux et Atlas saharien. Uniquement dans les lits des oueds. Ain es-safra (Oued benhandjir, Oued chellala, Sidi bendhan). Laghouat (Aflou), Djelfa, Bayedh(Oued es-sefi), et une population qui s'étend de Bouira jusqu'à Borj bouriridj en passant par les village de Beni mensour, Biban elhadid et Elmahri.
Rôle	Fixation des dunes littorales.	Fixation des dunes sahariennes.	Fixation des dunes sahariennes.

2. Botanique

Retama monosperma est un arbuste au port buissonnant et retombant et au feuillage caduc. D'une croissance moyenne, il mesure 1,50 à 4 m de hauteur, pour une Largeur de 1,50 m.



Figure 5 : *Retama monosperma* (site web 7)

Tableau 2 : Caractéristiques botanique *Retama monosperma* (site web 9).

Port	buissonnant
Feuillage	caduc
Exposition	ensoleillée ou mi-ombragée
Floraison	hiver / printemps
Couleur	blanc
Rusticité	moyennement
Rustique	-10°C
Arbre fruitier	non

Elle peut produire de 335 à 2800 de fruits par m² et par pied, de mai à septembre (Munoz-Vallés *et al.*, 2013). L'expansion rapide de l'espèce a été améliorée principalement par une amélioration du taux de germination des semences de 13 % à 24 % qui se produit après le passage de graines dans l'intestin de lapin sauvage (*Oryctolagus Cuniculus*) (Dellafiore *et al.*, 2010).

Le système racinaire est bien développé, peut dépasser 25 m de profondeur en direction des eaux profondes (Haase *et al.*, 1996).

Retama monosperma est une espèce ondulante, capable de produire des associations symbiotiques avec des bactéries du genre *Bradyrhizobium*. Ces nodosités sont de type indéterminé (Selami *et al.*, 2014).

I.5.2 Morphologie

1. Les tiges

On reconnaît *Retama monosperma* facilement à leurs tiges dressées, striées légèrement inclinées, et de ramification en manière de balai (B.Wejbb, 2012). Très ramifié à la base, émettant des rameaux raides, épais, souple, arqués et retombant, formé par des nœuds. Ils sont vaguement, anguleux dans leur longueur, terminée par des bouts marron, aux branches flexibles de couleur vert argenté, vert foncé à marron brun et vert claire, luisant aux stries longitudinale.



Figure 6 : *Retama monosperma* (site web 7)

2. Les feuilles

Les feuilles sont simples et minuscules ; qui peuvent être opposées ou alternes, et persistantes, d'une couleur vert argenté, vert clair à gris luisantes. Les feuilles sont rapidement caduques, leur durée de vie est brève quelques jours à quelques semaines, ce qui constitue une bonne adaptation à la sécheresse estivale, elles ont une forme étroites, allongées, et linéaires (Hadj Brahim, 2003). (fig.3)

3. Les racines

Retama monosperma possède un système racinaire de type pivotant pouvant atteindre plusieurs mètres de profondeur (Stocker, 1974).

Dans les plantes adultes, le système racinaire est généralement formé par une racine principale, pivoté dure et rigide avec des racines secondaires de la même longueur, de fois plus longue que la racine principale, dès qu'elles sortent plusieurs racines tertiaires, qui déforment un réseau dense susceptible d'agréger le sol et de le rendre résistant à l'érosion et fixant la couche supérieure du sol et il peut être utilisé comme un moyen de lutte contre la désertification (Maghraoui, 2016).



Figure 7 : Racines de *Retama monosperma* (Cheikh, 2010)

4. *Les fleurs*

Les fleurs sont minuscules, papilionacées, semblables blanches en grappes et avec peu de fleurs 5 à 10 fleurs. Les fleurs de 9 à 12 mm de longueur. Les petites fleurs sont des couleurs blanches avec des petites taches violettes en dessous des pétales, odorantes, zygomorphe, réunies en un épi allongée, elle comporte un calice vert, à lèvres à peu près égales, l'une divisée jusqu'à la base en deux lobes et l'autre entière ou tempérée par des dents. La corolle blanche se compose de 5 pétales, deux entre elles forment un étendard, plus court que la carène et porte dix étamines (Somon, 1987).

5. *Les fruits*

Les fruits en gousse de 14 à 18 mm ovale et arrondie, issu d'un seul carpelle, presque rond, terminé en pointes, de couleur marron jaunâtre qui contient 1 à 2 graines. La gousse présente une couleur jaune vert, ovoïde avec une extrémité aigüe et une structure ventrale portant une seule graine de couleur vert olive (Salah, 2005 ; Quezel et Santa., 1962).



Figure 8 : Fruits de *Retama monosperma* (site web 7)

6. Les graines

R. monosperma possède une seule petite graine de couleur jaune citron, réniforme, toxique. À l'œil nu, les graines de *R. monosperma* apparaissent sous forme ovoïde, elles sont lisses. Les graines contiennent des lécithines, protéines allergènes elles sont riche en amidon dans leur cotylédon, et d'une taille allant de 5 à 8 mm de longueur, de couleur brun jaune. Les graines sont utilisées dans les mécanismes de défense contre les insectes, ce qui pourrait donc être valorisé dans l'industrie du bio insecticide. Les graines sont affectées d'une inhibition tégumentaire qui empêche leur germination dans les conditions naturelles. Au laboratoire, cette germination est déclenchée après Scarification chimique des graines par l'acide sulfurique pur (Bouredja *et al.*, 2011).

I.5.3 Nomenclatures

1. Scientifique

Le nom scientifique de l'espèce *Retama monosperma* (L.) Boiss.

2. Vernaculaire

En Français le Genêt blanc Ou Retam blanc.

En arabe : رتم Rtem

I.5.4 Classification

Selon Quezel et Santa., 1962 la position systématique de l'espèce *Retama monosperma* est identifiée dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Classification de l'espèce *Retama monosperma*

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyt</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous-famille	<i>Fabiodeae</i>
Tribu	<i>Genisteeae</i>
Genre	<i>Retama</i>
espèce	<i>Retama monosperma</i> (L.) Boiss 1840

I.5.5 Climat

Le climat méditerranéen est un type de climat tempéré qu'on rencontre sur les régions côtières de la méditerranée. Il est caractérisé par une quasi-absence de gel en hiver et des étés chauds et secs. *R. monosperma* s'adapte très bien aux climats méditerranéens, et aux climats d'influence océanique, climat humide (Emberger, 1939), de l'étage pré-steppique (Barbaro *et al.*, 1990).

Il constitue une très bonne adaptation à la sécheresse estivale, c'est une plante de soleil, voire de mi-ombre, cette plante ne tolère pas le gel, sauf de courtes expositions ne dépassant pas -6°C . (Hadj Brahim, 2013).

R. monosperma requiert les expositions suivantes : lumière, soleil. Le *R. monosperma* est une plante qui présente des caractères morphologiques et physiologiques lui permettant de tolérer les conditions climatiques des zones arides et semi-arides :

1. Températures

Pour ses exigences en températures, il peut résister à des températures très basses (-6 à -8°C) et supporte la sécheresse, même plusieurs années.

2. Lumière

Pour ce qui est de la lumière, *Retama monosperma* est une plante héliophile qui fleurit abondamment si elle est bien exposée au soleil.

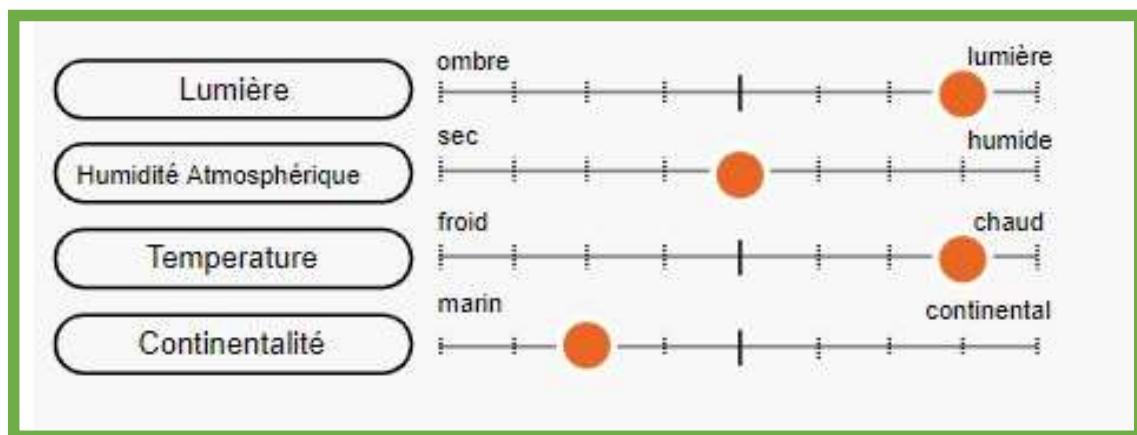


Figure 9 : Caractéristiques climatiques (site web 9)

I.5.6 Sol

Retama monosperma affectionne les sols pauvres, légers et perméables, comme beaucoup de légumineuses grâce aux nodosités à rhizobium, il synthétise des composés azotés. L'espèce exige un sol surtout très bien drainé même sec sableux à forte salinité (Ighil Hariz, 1990).

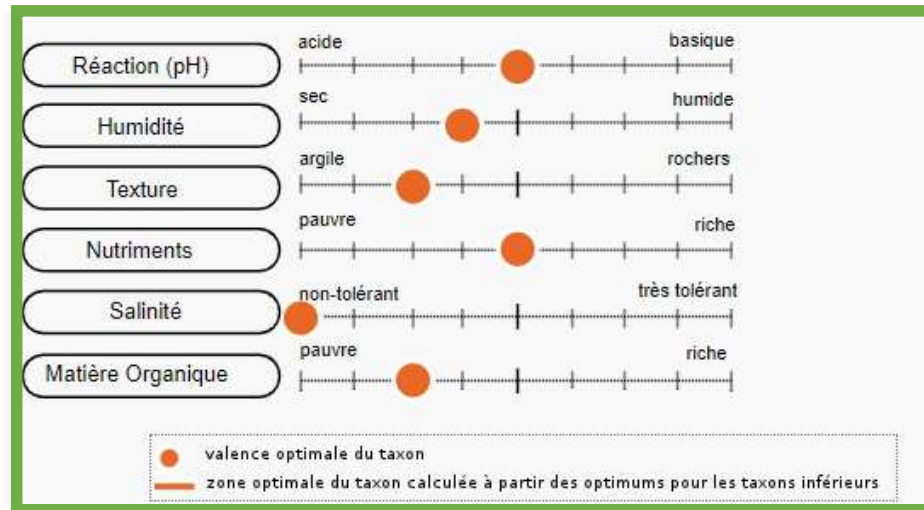


Figure 10 : Caractéristiques du sol (site web 9)

I.5.7 Aire de répartition

1. Dans le monde

Retama monosperma se localise au sud de l'Europe, sur le pourtour méditerranéen, le long de la côte d'Algérie, Égypte, Maroc, l'île Djerba, aux Canaries, au sud-est de l'Espagne (Andalousie), Portugal, Italie, et dans le désert sud asiatique (Zohary, 1959, Beniston, 1985, Quezel et Santa, 1962).

Les Retames en général sont caractérisés par une large distribution géographique, originaire du Nord-ouest Africain et probablement des îles Canaries (Zohary, 1962).

Au Maroc, on le trouve sur les dunes de sable du littoral, exposées aux embruns marins de l'océan atlantique, il est en association avec le genévrier rouge (Hadj Brahim, 2013).

2. En Algérie

En Algérie les retames occupent une surface considérable du Nord vers le Sud (Thomas, 1968 et Stocker, 1974). Sur les littoraux les hauts plateaux, et dans le Sahara central, occupant une place considérable dans le climat aride et semi-aride.

Elle colonise de larges étendues sur le littoral oranais (Meliani, 1993), le littoral algérois (Megdad, 1988), et le long du littoral de la région de Jijel.

Elle est reportée sur les cordons littoraux de la mer méditerranée à l'ouest surtout en oranais (Cheikh, 2010).

Retama raetam est localisé dans le sud oranais, sud de Djelfa, Ain Safra, au centre de la Kabylie, à l'est de Biskra, également à Ouargla (Benfakih, 2006).

C'est une plante C3 commune des écosystèmes arides qui entourent la méditerranée, cette plante utilise comme stratégie une dormance partielle pour résister aux longues périodes de sécheresse (Mittler *et al.*, 2002).

Retama sphaerocarpa se trouve principalement en petite Kabylie, Ghardaïa, Djebel Amour et les plaines de Batna (Zohary, 1962).

I.5.8 Utilisation

Ses belles fleurs blanches en ont fait un arbre recherché par les fleuristes. Il faut chercher là l'origine de sa dispersion mondiale et de son introduction comme plante d'ornement.

Au village Mezraya à l'île Djerba, le genêt blanc est l'une des espèces utilisées pour former les haies (*Tabia*) qui séparent les Menzels.

C'est un végétal couramment utilisé pour fixer les dunes, mais il faut savoir que dans certains pays, c'est un « alien » avec d'autres genres qui figurent sur la liste des plantes envahissantes, sa culture et sa commercialisation est strictement interdite en Australie et aux États-Unis (Californie en particulier), (site web 11).

En médecine traditionnelle, *Retama monosperma* (L.) Boiss est utilisée comme vomitif, purgatif, vermifuge, cicatrisant, vulnéraire, sédatif (Bellakhdar, 1997), antihelminthique et antiseptique (Benrahmoune, 2003).

I.5.9 Intérêt

Le genre *Retama* regroupe des espèces très intéressantes, du point de vue biochimique, moléculaire et écologique.

1. Intérêt pharmacologique

Retama monosperma est une plante au multiple usage, bien que toxique, utilisée à petite dose, en lavement, comme purgatif et vermifuge. Le Rtem est une plante arbustive. Les tiges les feuilles, mélangées à du miel, servent de vomitif. Les racines sont employées contre les diarrhées et les crises de

sciatique. A Marrakech, la flagellation avec les tiges est préconisée contre les enflures. Selon (Unesco, 1995), *Retama* a été répertorié comme étant plante médicinale des régions arides. En médecine traditionnelle, *Retama raetam* est utilisé dans le traitement de plusieurs maladies comme l'eczéma, elle est utilisée dans le sud dans les soins en cas de morsures de serpents (El Hamrouni, 2001).

Le pouvoir pharmacologique des retames est dû à la présence de certains alcaloïdes, dans *Retama sphaerocarpa* Battandier et *Malosse* avaient séparé dès 1897 la retamine, ils ont aussi isolé la d-spartéine et la cytosine qui se trouve dans le fruit de cette espèce (Unesco, 1995). La retamine possède une activité ocytocique près de deux fois plus grande que la spartéine de *Retama monosperma*. Vazques et Ribas (1897) ont également isolé un certain nombre de mêmes alcaloïdes (retamine, anagryne, cytosine, lupanine et la sphérocarpine) (Unesco, 1995). Des recherches entreprises sur le genre *Retama*, ont montré que l'extrait aqueux de *Retama Raetam* avait un effet diurétique (Maghrani *et al.*, 2005).

2. Intérêt écologique

Les *retames* jouent un rôle très important dans le maintien de l'équilibre des milieux naturels et les écosystèmes, reconnus comme étant des plantes des zones arides et semi-arides. Les *retame* s'adaptent aux conditions les plus extrêmes de sécheresse et a la salinité grâce à leurs morphologies et leurs structures exomorphiques. Selon (Mittler *et al.*, 2000), *Retama monosperma* s'adapte bien aux conditions les plus extrêmes, elle développe un mécanisme moléculaire qui lui permet de résister aux changements climatiques (manque de nutriments et stress hydrique) et cela en entrant dans une phase de dormance partielle, en supprimant l'expression de certains gènes.

D'après (Farchichi, 1997), *Retama monosperma* grâce à son potentiel. Germinatif élevé, sa tolérance au stress hydrique et son mode de ramification radicaire, peut être considéré comme une espace pionnière apte à coloniser les cordons dunaires son utilisation dans les opérations de végétation de ces milieux fragiles et recommandable.

3. Intérêt industriel et économique

Les Retames sont considérés comme un excellent fourrage, de plus leur bois est utilisé en chauffage. Ils sont riches en fibres, dont la longueur moyenne atteint 1,93 mm (Bahi, 1991), ils pourraient donc être valorisés dans l'industrie papetière.

Chapitre II :
Généralités sur *Marrubium*
vulgare

CHAPITRE II. GÉNÉRALITÉS SUR *MARRUBIUM VULGARE*

II.1 Définition de la famille Lamiaceae

Les Labiées ou Lamiacées constituent une importante famille de plantes angiospermes Dicotylédones, herbacées ou légèrement ligneuses. (Isren *et al.*, 2001).

Lamiacées comprennent de 233 à 263 genres et de 6 900 à 7 200 espèces dont la plupart ont une importance économique due à la production des huiles essentielles et des miels (les miels de lavande et de romarin sont réputés) (Bonnier, 1909).

La famille *Lamiaceae* possède des sources riches en gamme de composés comme, les flavonoïdes, les iridoïdes, les composés phénoliques et les courtes chaînes terpénoïdes qui sont les responsables de l'odeur et de la saveur caractéristique des plantes. Bruneton (2001) montre que le genre *Phlomis* comprend près de 100 espèces. Il est particulièrement riche en flavonoïdes, phénylethanoides, phenylpropanoides et en iridoïdesglycosilés. Le genre *Salvia* comprend près de 900 espèces majoritairement riches en diterpénoïdes et le genre *Marrubium* avec environ 40 espèces qui particulièrement riche en flavonoïdes, tanins et les coumarines.

II.1.1 Distribution

Selon Judd *et al.*, (2002), la distribution géographique des *lamiacées* est cosmopolite (fig. 11). Les *Lamiacées* sont rencontrées sous tous les climats, à toutes altitudes. Certains des 200 genres que compte la famille sont quasiment cosmopolites, d'autres ont une distribution plus restreinte. Rare dans le milieu forestier tropical, les Lamiacées se concentrent dans la région méditerranéenne (Bruneton, 2001). Les *Lamiacées* comprennent environ 2500 espèces dont l'aire de disposition est extrêmement étendue, elles sont particulièrement abondantes dans la région méditerranéenne (Crété, 1965). Les labiées sont par contre très rares dans les régions arctiques et en hautes montagnes (Dupont et Guignard, 2007). Ce sont généralement des plantes des milieux ouverts (Spichiger *et al.*, 2004).

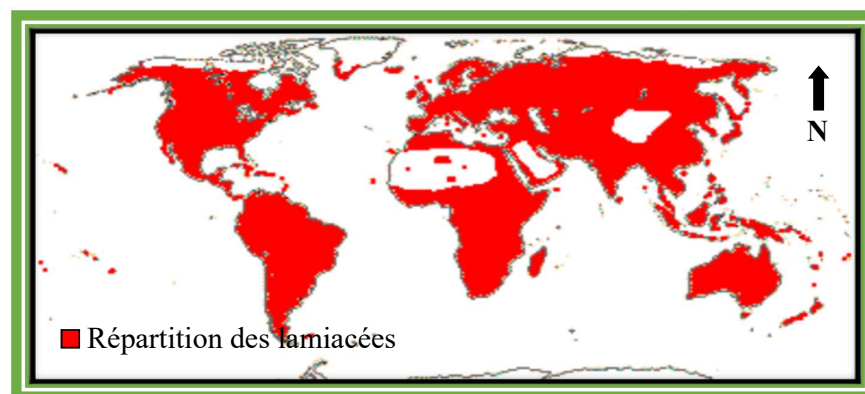


Figure 11 : Carte de répartition géographique de la famille des *Lamiacées* (Stevens, 2010).

II.1.2 Intérêt Économique

La famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire. Les espèces appartiennent aux genres *Mentha* (la Menthe), *Lavandula* (la Lavande), *Marrubium* (le Marrube), *Nepeta* (L'Herbe aux chats), *Ocimum* (le Basilic), *Origanum* (l'Origan), *Rosmarinus* (le Romarin), *Salvia* (la Sauge), *Satureja* (la Sarriette) et *Thymus* (le Thym). Les tubercules de quelques espèces *Stachys* sont comestibles. *Tectona* (le Tek) fournit un bois d'œuvre important. De nombreux genres contiennent des espèces ornementales : on peut citer parmi eux *Ajuga*, *Callicarpa*, *Clerodendrum*, *Monarda*, *Salvia*, *Scutellaire* et *Vitex* (Judd *et al.*, 2002).

Un très grand nombre de genres de la famille *Lamiaceae* sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes et iridoïdes glycosylés. Le genre *Phlomis* comprend près de 100 espèces est particulièrement riche en flavonoïdes, phényléthanoïdes, phénylpropanoïdes et en iridoïdes glycosylés. Le genre *Salvia*, comprenant près de 900 espèces majoritairement riche en diterpénoïdes et le genre *Marrubium* avec environ 30 espèces sont réparties dans un grand nombre de pays du globe (Bonnier, 1909).

II.2 Genre

Le nom *Marrubium* dérive du mot hébreu marrob (jus amer), en anglais horehound (Bonnier, 1909). Ce genre *Marrubium* comprend environ 40 espèces répandues dans une grande partie du globe : principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine (Meyre *et al.*, 2005 ; Rigano *et al.*, 2006).

II.3 L'espèce

Le marrube blanc (*Marrubium vulgare*) est une espèce de la famille des Lamiacées qui est connue depuis la haute antiquité (Kaabeche, 1990).

Selon Dahra *et al.*, (2013), *Marrubium vulgare* est très répandu sur tout le bassin méditerranéen ainsi que le centre et le Sud-Ouest de l'Asie.

II.3.1 Description

Le nom *Marrubium* dérive du mot hébreu marrob (jus amer), en anglais horehound, en italien Marrubio (Bonnier, 1909). Ce genre comporte quelque 40 espèces, répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine (Meyre, 2005; Rigano, 2006).

1. *Biologique*

L'aspect général de la plante est tomenteux, laineux (Coste, 1998). Les feuilles sont crénelées et dentelées. Les fleurs sont blanches, petites, disposées en verticilles axillaires et munies de bractéoles (Bonnier, 1909).

Le genre *Marrubium* est muni d'un calice à 10 dents, dont les 5 commissurales plus courtes, toutes terminées en pointe épineuse. C'est un Arbuste à tiges et face inférieure des feuilles blanches tomenteuses. Les inflorescences sont en glomérules verticillés. Les bractées sont linéaires aigues. Les fleurs sont blanches (Quezel et Santa, 1963).

2. *Botanique*

Le marrube blanc est une plante herbacée vivace à odeur forte et désagréable. Il a une couleur grisâtre et peut atteindre de 30 à 80 cm de hauteur. Il est composé de tiges épaisses, cotonneuses, très feuillées qui se perpétuent et se propage par des bourgeons nés sur la tige souterraine (Kaabeche, 1990).

Les feuilles sont pétiolées (fig.14), les fleurs sont petites, blanches avec un calice à 10 dents courtes crochues sont groupées en verticille globuleux à l'aisselle des feuilles supérieures. Quatre étamines sont cachées dans le tube de la corolle et le fruit est un titra-akène cachés à la base du calice persistant (une des particularités de la famille *Lamiaceae*) (Boukef, 1986).

- **Type** : plante herbacée vivace
- **Taille** : 40 cm de haut pour 30 cm de large en moyenne
- **Port** : dressé
- **Utilisations** : en massif ou en pot
- **Feuillage** : vert blanchâtre, duveteux, caduc
- **Fleurs** : blanches, entre mai et septembre



Figure 12 : *Marrubium vulgare* (site web 10)

II.3.2 Morphologique

1. Les racines

Sont secondaires par rhizome (Rhizome peut également être robuste).

2. Les tiges

Sont rameuses et mesurent 30 à 80 cm de long ; elles sont dites tétragones ou quadrangulaires, cotonneuses, blanches et tomenteuses (fig.13).

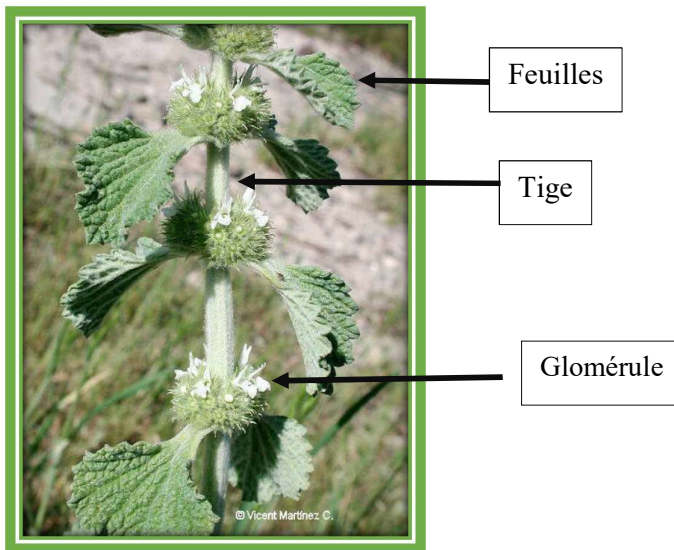


Figure 13 : Tige de *Marrubium vulgare* (site web 10)

3. Les feuilles

Sont opposées et sont pétiolées ; elles sont entières et un peu cordées à la base ; leur forme générale est ovale ou arrondie, dite "suborbiculaire" ; elles sont feutrées, cotonneuses et de couleur blanchâtre à leur face inférieure ; leur face supérieure est de couleur vert clair ; elles sont gaufrées, leur nervation est réticulée et leur bordure est crénelée. Les feuilles du haut de la plante dépassent largement l'inflorescence sur les côtés (fig 13).

4. La fleur

Est blanche. Son calice est velu et laineux, possède dix dents inégales et crochues dont cinq, dites "commissurales", sont un peu plus courtes (de 6 à 7 mm de long) et toujours terminées en pointe épineuse. (fig.14).



Figure 14 : La fleur de *Marrubium* (site web 10)

5. *Les fruits*

Sont des akènes durs visible au fond du calice persistant, est divisé en quatre parties (fig.15).



Figure 15 : Calice contenant le fruit de *Marrubium* (site web 10)

6. *L'inflorescence*

Est faite en glomérules compacts verticillés (disposés en anneau sur la tige). On voit à la base des glomérules des bractéoles, petites bractées linéaires, aiguës et à sommet crochu (fig.14).

II.3.3 Nomenclatures

1. *Scientifique*

Le nom scientifique de l'espèce *Marrubium vulgare* L., 1753.

2. *Vernaculaire*

Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Algérie est connue par le nom Marriouth (Quezel et Santa, 1963), Merrîwt au Maroc (Bellakhdar, 1997), Marroubia en Tunisie (Boukef, 1986).

En France Marrube, Marrube blanc, Herbe vierge, au Angleterre White Horehound ou Wild Horehound (Ait Youssef, 2006), en Italien : Marrubbio (Bonnier, 1909).

II.3.4 Classification

Selon Judd *et al.*, (2002), la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* est identifiée dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Classification de l'espèce *Marrubium vulgare*

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Marrubium</i>
Espèce	<i>Marrubium vulgare</i> L., 1753

II.3.5 Climat

Selon Judd *et al.*, (2002), Les Lamiacées sont rencontrées sous tous les climats, à tout altitudes.

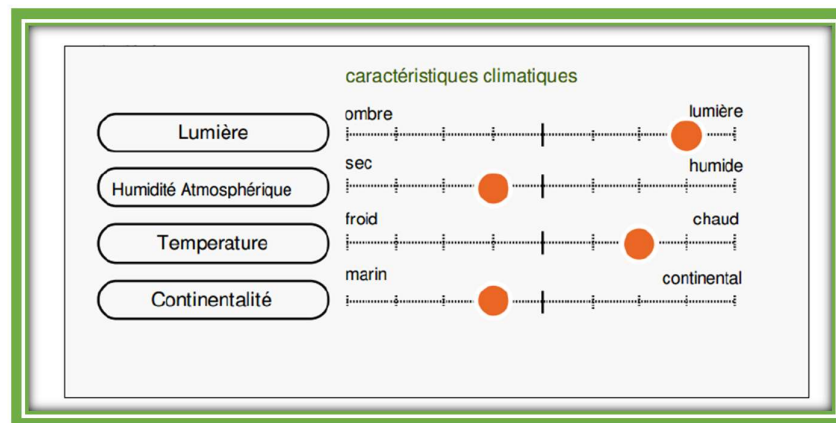


Figure 16 : Caractéristiques climatiques de *Marrubium vulgare* L (site web 12)

Comme toutes les espèces de la famille de Lamiacées, *Marrubium vulgare* L. peut s'adapter à tous les climats, mais elle a des conditions climatiques optimales qu'elle préfère. Cette espèce préfère de la lumière intense plus que l'ombre, d'humide atmosphérique un peu sec que trop humide, une température beaucoup plus chaude que froide et elle se développe plus dans de zones un peu proches de mer que les autres zones (site web 12).

II.3.6 Sol

Concernant les paramètres édaphiques, *Marrubium vulgare* L. est lié à des sols légers, moyennement et fortement riches en matières organiques, peu humides, à pH légèrement alcalin, fortement calcaires, il se développe surtout sur des terrains faiblement pentus (Bouterfas, 2010).

Le Marrube préfère les endroits ensoleillés, croissant sur les champs secs et arénacés, et les bords des routes. Cette plante pousse naturellement dans les garrigues, les djebels et les friches sur des sols secs et alcalins (Damerdji et Chekrouni, 2013).

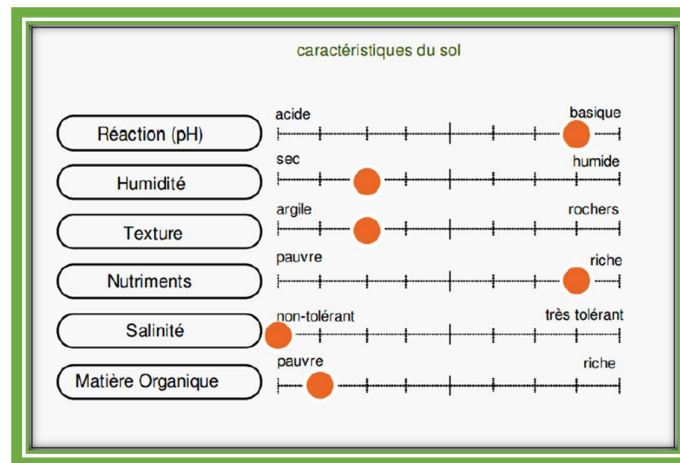


Figure 17 : Caractéristiques du sol de *Marrubium vulgare* L (site web 12)

Marrubium vulgare L. est lié à des sols légers, moyennement et fortement riches en matière organique (Bouterfas, 2010).

II.3.7 Aire de répartition

1. Dans le monde

Cette espèce est cosmopolite : elle est répartie dans toute l'aire méditerranéenne : en Afrique du Nord en Algérie (Quezel et Santa, 1963), au Maroc, en Tunisie, en Libye et en Egypte comme en Asie, et dans presque toute l'Europe, surtout dans ses régions méditerranéennes (Ait Youssef, 2006).

2. En Algérie

Marrubium vulgare est commune dans toute l'Algérie (Quezel et Santa, 1963), et est répéteur, rependu surtout au nord du pays (site web 13).

D'après Leutrech *et al.*, (2009), *M. vulgare* est commune de l'ensemble du territoire Algérien (abondance globale) et présente au niveau des 15 secteurs phytogéographie que de l'Algérie du Nord, tandis qu'elle est quasiment absente au Sud de l'Algérie.

Tableau 5 : Distribution du genre *Marrubium* en Algérie (Quezel et Santa., 1962 in Dadach 2016)

Espèces	Distribution en Algérie	Principaux caractères
<i>M. Vulgare</i>	Dans toute l'Algérie	Arbuste à tiges et face inférieure des feuilles blanches tomenteuses. Inflorescences en glomérules verticillés. Calice à 10 dents.
<i>M. supinum</i>	Atlas Saharien oranais et Algérois, hauts Plateaux Algérois et Oranais	Fleurs roses. Tiges, feuilles et calices pubescents laineux. Feuilles orbiculaires Cunéiformes.
<i>M. peregrinum</i>	Atlas Tellien	Feuilles florales très différentes des autres. Tiges ± dressées. Inflorescences lâches, ramifiées
<i>M. Alysson</i>	Partout sauf sur le littoral Algéro Constantinois	Sous-arbrisseau à feuilles cunéiformes, arrondies crénelées en haut. Calice à 5 grosses nervures et à lobes indurés terminés en pointe aiguë vulnérante.
<i>M. Alyssoides</i> Pomel	Plaines littorale et Atlas Tellien	Tiges et feuilles densément laineuses. Epis florifères denses, larges de 2 cm. Calices longs de 7-8 mm.
<i>M. Deserti De Noé</i>	Sahara septentrionale et Central	Tiges et feuilles blanchâtres à pilosité apprimée très courte. Epis grêles et lâches, interrompus.

II.3.8 Importance de l'espèce

1. Historique

Connus depuis la plus haute antiquité, les Egyptiens l'utilisèrent, comme principal ingrédient, dans un antidote des poisons végétaux. Elle était déjà considérée comme le spécifique des affections de l'appareil respiratoire dans l'Égypte et la Grèce anciennes. Le moyen Age, qui l'employait couramment dans le traitement des mêmes maux, l'a de surcroît reconnu tonique, cholagogue et diurétique. Elle est considérée par Gilibert (1798) comme "l'une des meilleures plantes d'Europe" (Schlempher *et al.*, 1996).

2. Usage médicale

Les feuilles sont utilisées dans des toniques, bonbons expectorants et antiseptiques pour la toux. L'infusion, digestive, laxative, relâche les muscles, contribue à l'expulsion du mucus et combat bronchite,

croup ou asthme ; c'est un tonique du foie. Elle détruit les vers intestinaux et a servi, en usage externe, et interne, contre l'eczéma et zona. Grace à son action sédative, de faibles quantités permettent de régulariser tachycardie et arythmie cardiaque. L'infusion chaude aide à faire tomber la fièvre ; elle est proposée contre la malaria quand la quinine ne donne pas de résultat. C'est aussi un adjuvant de la cicatrisation des lésions. Les Navajos donnaient aux mères une décoction de racines avant et après l'accouchement (Lesley, 2011).

Un demi-verre d'une décoction des feuilles de marrube blanc (*Marrubium vulgare*) est indiqué contre le diabète, à raison de prendre 3 verres par jour, en dehors des repas, jusqu'à la guérison. Une association à base des feuilles de *Marrubium vulgare*, *Artemisia herba-alba* et de *Thymus satureioides* en décoction dans le lait est indiquée contre le diabète. Il est conseillé aux personnes diabétiques de mettre la tige feuillée de *Marrubium vulgare* dans les chaussettes avant de portée les chaussures (Ben khniguet *et al.*, 2014).

3. Usage traditionnel

Depuis, la plante n'a jamais cessé d'être considérée comme un excellent médicament des affections pulmonaires (DeBuigne, 1984). La drogue passe pour expectorante et cholérétique, mais est très mal connue sur le plan pharmacologique (Bruneton, 2003).

Au Maroc, *Marrubium vulgare* est utilisé pour les cheveux et pour traiter les fièvres (Gattefossé, 1921 In : Nunez and Castro, 1992). En Afrique du Nord, une infusion est recommandée pour traiter le diabète (Boulos, 1983).

Les parties utilisées en thérapeutique sont les parties aériennes (les feuilles, les sommités fleuries, et même les tiges) et les racines (Simon *et al.*, 1984b ; Mahmoudi, 1990).

Par voie externe, la plante sert aussi pour traiter les ulcérations dermiques, les plaies et l'eczéma. En outre, elle possède des propriétés antifongiques (Boulos, 1983 ; Wichtl et Anton, 1999).

Des études *in-vitro* sur l'interaction de l'extrait hydro-alcoolique des racines et des parties aériennes de *M. vulgare* sur des préparations de muscles lisses, ont montré qu'il exerce une activité antispasmodique significative, en inhibant l'action de certains neurotransmetteurs tels que l'acétylcholine, bradykinine, prostaglandine E2 et l'histamine (Schlemper *et al.*, 1996).

II.4 Intérêt économique

La famille des lamiacées renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, elle renferme les genres *Mentha* (la Menthe), *Lavandula* (la Lavande), *Marrubium* (le Marrube) (Judd *et al.*, 2002). En Europe, cette espèce est toujours inscrite dans les pharmacopées nationales : on y fabrique nombre de sirops et de pastilles qui en

renferment. Ces produits se retrouvent d'ailleurs sur les étagères des pharmacies et des magasins de produits naturels aux Etats-Unis et au Canada (Dahra, 2014). Le jus de marrube est difficile à trouver en Amérique du Nord. On trouve dans le commerce des sirops et des pastilles de fabrication européenne à base de Marrube (site web 13).

Chapitre III

Biologie de la conservation

CHAPITRE III. BIOLOGIE DE LA CONSERVATION

III.1 Définition de la conservation

Nombreux sont ceux qui se sentent impuissants face à l'actuelle destruction massive d'habitats et à l'imminence d'une cascade d'extinction. Il est cependant possible, et même nécessaire d'évaluer l'importance du challenge que constitue l'arrêt de cette destruction (Stearns et Stearns, 2010). Les actions engagées ou non durant les prochaines décennies détermineront combien d'espèces, de communautés et d'espaces naturels survivront à l'échelle mondiale. La biologie de la conservation est un champ de recherches multidisciplinaires et intégrées qui s'est développé en réponse aux enjeux de préservation des espèces et des écosystèmes (Robertson, 2006).

Elle s'appuie sur trois démarches principales :

- Documenter la gamme complète de la diversité biologique
- Etudier les impacts des activités humaines sur les espèces, les communautés et les écosystèmes
- Développer des approches pratiques pour prévenir l'extinction des espèces, maintenir la diversité génétique au sein des espèces, protéger et restaurer les communautés et la fonction écosystémique associée.

Les deux premiers objectifs impliquent une quête de connaissances factuelles typiques de la recherche scientifique. Le troisième objectif définit la biologie de la conservation comme une discipline normative. En ce sens, elle embrasse certaines valeurs et essaye d'appliquer des méthodes scientifiques pour atteindre des objectifs en phase avec ces valeurs. De même que les médecins appliquent des connaissances issues de la physiologie, de l'anatomie, de la biochimie et de la génétique afin d'améliorer la santé humaine et éliminer les maladies, les biologistes de la conservation interviennent pour éviter une perte de biodiversité d'origine anthropique parce qu'ils conçoivent la préservation des espèces et des communautés naturelles comme un bien ultime (Nelson et Vucetich, 2009).

III.2 Les techniques et méthodes de la conservation

III.2.1 Conservation *In situ*

La conservation *in situ* se définit comme étant le maintien permanent d'une population dans la communauté sauvage dont elle fait partie, dans le milieu auquel elle est adaptée. En effet, à défaut de connaissances suffisantes sur les caractéristiques biologiques et physiologiques des espèces végétales qui pourraient exister, en raison de la méconnaissance du mode de multiplication surtout, il importe en premier lieu, de laisser régénérer dans leur habitat naturel les essences notamment celles faisant partie d'écosystèmes climatiques complexes, ou celles possédant des graines à pouvoir germinatif très fugace

ou des graines présentant des phénomènes de dormance ou encore les essences tributaires de conditions de régénération spéciales (A.N.N, 2001).

III.2.2 Conservation *Ex situ*

La meilleure stratégie pour la protection à long terme de la biodiversité consiste à préserver des écosystèmes existants et des populations à l'état sauvage, stratégie connue sous le nom de conservation *in situ* ou sur site. Toutefois, si les dernières populations d'une espèce rare et en danger sont trop faibles pour maintenir l'espèce, si elles sont en déclin malgré les efforts de conservation ou si les individus restants se trouvent en dehors d'espaces protégées et sont vulnérables, alors la conservation *in situ* peut s'avérer inefficace. Il est probable que, dans de telles circonstances, la seule façon d'empêcher l'espèce d'aller à l'extinction est d'en maintenir des individus dans des conditions artificielles sous la supervision de l'homme. Cette stratégie est connue sous le nom de conservation *ex situ* ou hors site (fig. 18). Les conservations *ex situ* et *in situ* constituent des stratégies complémentaires (Zimmermann *et al.*, 2008).

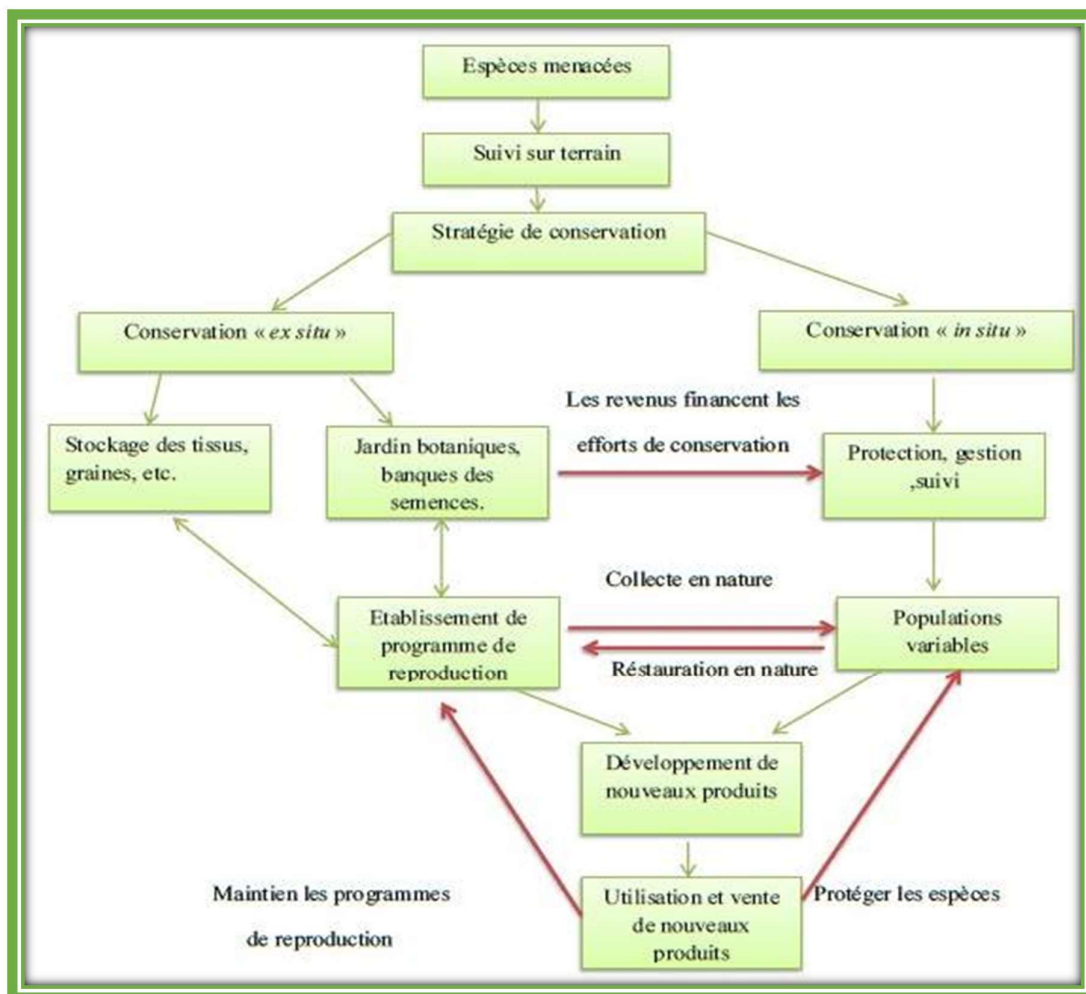


Figure 18 : Complémentarité des approches de la conservation *in situ* et *ex situ* (Dadach, 2016)

1. Les jardins botaniques

Les 1775 jardins botaniques mondiaux contiennent d'importantes collections de plantes vivantes et sont une ressource cruciale pour la conservation des plantes. Ils contiennent actuellement environ 4 millions de plantes vivantes, ce qui représente 80.000 espèces, soit environ 30 % de la flore mondiale (Guerrant *et al.*, 2004). Lorsque l'on ajoute les espèces cultivées dans les serres, les jardins de subsistance, les jardins potagers et d'agrément, ces chiffres augmentent. Le plus grand jardin botanique, les Royal Botanic Gardens, situés à Kew, en Angleterre, contient environ 30.000 espèces de plantes cultivées, soit environ 10 % du total mondial, 2.700 d'entre elles étant considérées comme menacées suivant les catégories de l'Union International de la Conservation de la Nature (UICN) (fig. 19).

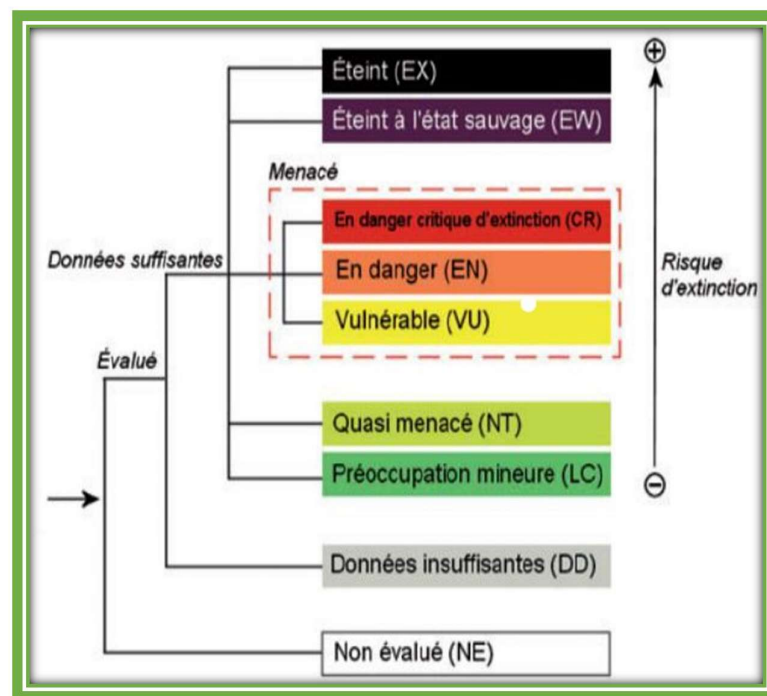


Figure 19 : Catégories de la liste rouge de l'UICN

Les catégories de la liste rouge de l'UICN permettent de classer les taxons (le plus souvent les espèces) en fonction de leur état de conservation. Tous les taxons peuvent être placés dans ces catégories en fonction du fait que (1) le taxon a été évalué et (2) la quantité d'information disponible pour le taxon considéré. Si les données sont disponibles, les taxons peuvent être classés en trois grands types de catégories : éteintes, menacées ou préoccupation mineure (UICN France et MNHN, 2009). Les personnels de ces jardins botaniques sont souvent reconnus comme des experts de l'identification des plantes, de leur distribution et de leur état de conservation. En outre, les jardins botaniques sont en mesure de contribuer à la sensibilisation et l'éducation aux questions de conservation de près de 200 millions de visiteurs par an. Au niveau international, Botanical Gardens Conservation International (BGCI) coordonne les efforts de plus de 700 jardins botaniques et conservatoires dans 118 pays. Ses priorités pour la conservation

consistent à créer une base de données mondiale afin de coordonner l'activité de collecte et d'identification des espèces importantes qui sont sous-représentées ou absentes des collections vivantes. En outre, puisque la plupart des jardins botaniques existants sont situés dans la zone tempérée, l'établissement des jardins botaniques dans les zones tropicales est un objectif primordial de la communauté internationale des botanistes. Les jardins botaniques et les conservatoires botaniques se complètent pour la conservation *in situ* et *ex situ* de la flore et de diffusion des connaissances (Primack *et al.*, 2012).

2. Banque de semences

En plus de la culture de plantes, les jardins botaniques et les instituts de recherche ont développé des collections de graines, parfois connues sous le nom de banques de graines ou des semences. Ces graines sont recueillies dans la nature ou à partir de plantes cultivées et constituent une contribution essentielle aux collections vivantes (Johnson, 2008). Les graines de près de 10 % de la flore mondiale et de 70 % des espèces de plantes en Europe, sont conservées dans des banques de graines (Godefroid *et al.*, 2011). Des efforts sont mis en œuvre pour étendre la couverture de ces banques de graines, notamment pour inclure du pollen de plante à graines et des spores de fougères, de mousses, de champignons et de micro-organismes. Lorsque les graines sont récoltées, des efforts sont alloués à l'échantillonnage de populations représentatives de la distribution de cette espèce afin d'accéder à la gamme de sa variabilité génétique (Guerrant *et al.*, 2004). Les graines de la plupart des espèces végétales peuvent être stockées dans des conditions froides et sèches dans ces banques pour de longues périodes de temps et ensuite mises à germer. La capacité des graines à rester en dormance est extrêmement précieuse pour la conservation *ex situ* car elle permet aux graines d'un grand nombre d'espèces rares d'être congelées et conservées dans un petit espace, avec un minimum de supervision et à faible coût (fig. 20).

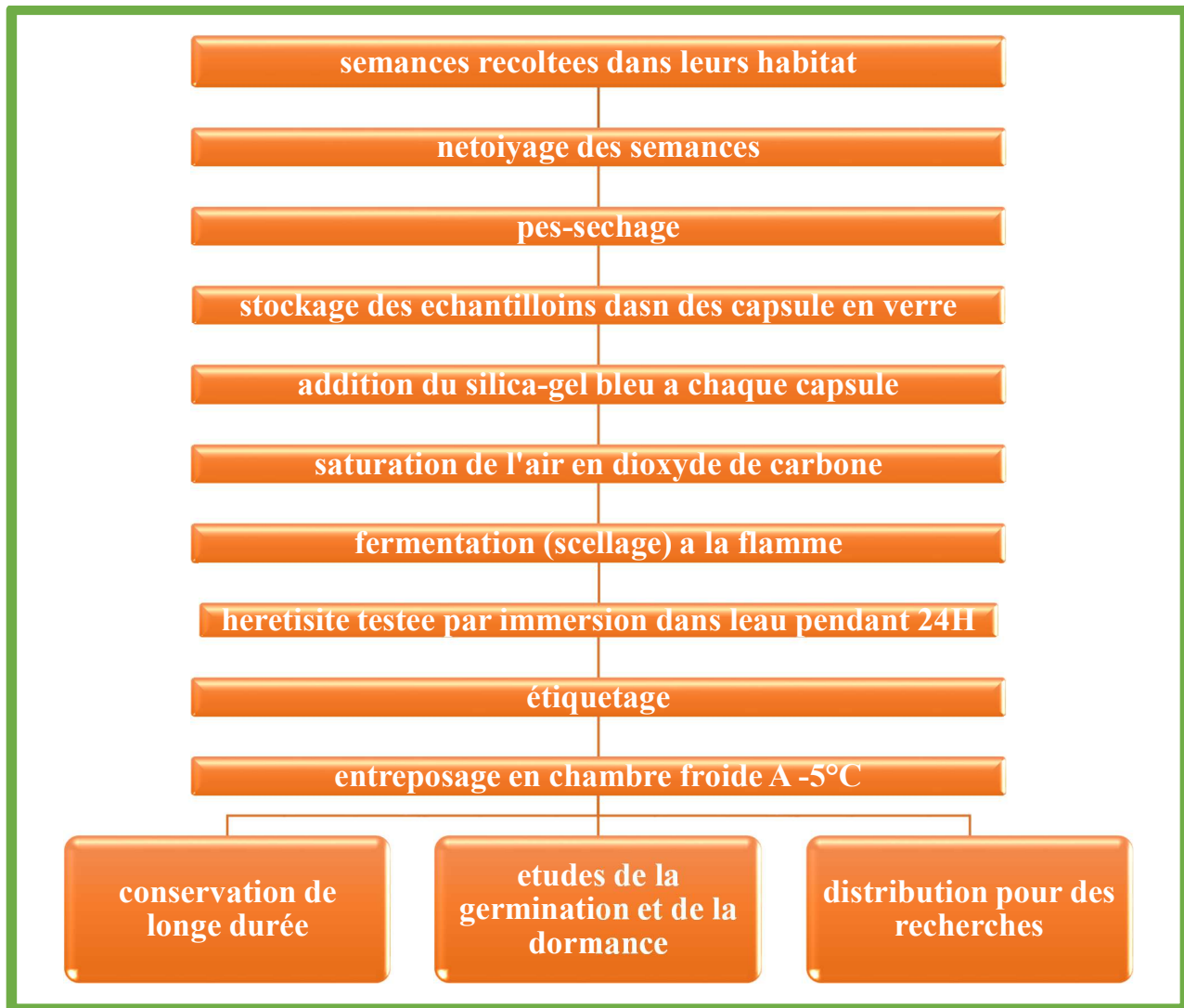


Figure 20 : Schéma des opérations de constitution des banques de semences d'espèces végétales sauvages (Gomez-Campo, 1985)

III.2.3 Fonctionnement

Les banques de semences sont une méthode d'urgence pour la conservation des plantes et assurent deux fonctions majeures (Meddour et Derridj, 2007) :

- ✓ Préserver à long terme les semences des espèces végétales rares ou endémiques, et ainsi éviter d'éventuelles extinctions d'espèces vulnérables ou en danger dans un futur proche.
- ✓ Améliorer la disponibilité du matériel végétal difficile à obtenir pour des objectifs de recherches appliquées en phytotaxonomie, stimulant ainsi la connaissance de ce matériel.

En outre, en tant que réservoir de matériel génétique végétal, elles peuvent constituer un complément important pour la protection des aires, en fournissant des graines pour la régénération des taxa ou des populations (meddour et derridj, 2007).

III.2.4 Elaboration

L'idée générale est que toutes les banques de semences sont nécessairement des installations coûteuses, nécessitant une technologie avancée, un large investissement et des équipements spéciaux (Meddour et Derridj, 2007). Ce qui a probablement retardé l'initiation de programmes de préservation de la flore endémique et rare dans de nombreux pays, alors que l'établissement des banques de semences de plantes cultivées a démarré dans les années 60. En réalité, la banque de semences des plantes sauvages n'est ni chère, ni difficile à créer, spécialement en comparaison avec les banques de semences des plantes cultivées, plus élaborées et plus grandes. En effet, les espèces sauvages ont des graines beaucoup plus petites, aussi les échantillons à conserver sont de même plus petits et en nombre plus réduit, en général, car elles se réfèrent essentiellement aux espèces et sous-espèces, alors que le nombre des plantes cultivées peut atteindre plusieurs milliers en prenant en considération les nombreuses variétés, cultivars, génotypes, populations. Aussi, emmagasiner des échantillons de graines de plantes endémiques nécessite beaucoup moins d'espace et des installations nettement moins chères (Campo, 1979). Par exemple, les graines de toute la flore endémique d'un pays (avec 200 plantes) peuvent être contenues dans un réfrigérateur domestique standard et la banque de semences des plantes endémiques ibériques et macaronésiennes comptant plus de 1000 échantillons, correspondant à environ 900 taxa différents, occupe seulement près de 2.5 m² dans la chambre froide (Campo, 1985).

III.2.5 Méthodes de conservation

1. Les étapes de la conservation *ex-situ*

a. La récolte et la collecte de fruits ou de graines

Fruits ou graines doivent normalement être récoltés à maturité, quand ils sont prêts à se disperser naturellement. Les critères de maturité pour les semences d'arbres et d'arbustes sont un problème particulier, qui a été décrits dans les travaux de Willan (1985) et Bonner *et al.*, (1994). Le suivi de la teneur en humidité et le poids sec des graines au cours de leur développement peut souvent être utile pour aider à décider à quel moment la récolte peut être effectuée. Dans le cas des arbres et arbustes, les graines devraient idéalement être collectées à partir d'une seule plante. Si cela ne donne pas suffisamment d'échantillons, les graines au même stade de maturité doivent être prélevées sur les plantes voisines du même âge. Graines de maturité différente ou ceux de différents endroits ne devraient pas être mélangés ; ces échantillons doivent être traités comme des différentes accessions (Hong et Ellis, 1996).

b. Quantité initiale de la semence

Afin d'assurer aux semences conservées des différentes catégories la plus longue durée de vie possible, l'un des problèmes associés à la constitution de banques de gènes est la quantité initiale des semences au moment du stockage (Conseil International des Ressources Phyto-génétiques, IBPGR, 1982).

Toutes les semences récoltées de populations sélectionnées doivent être soumises à un contrôle rigoureux de leurs qualités génétiques et physiologiques originales pendant toute la durée des étapes de récolte, de manutention, de traitement, de test et de stockage. Les conséquences néfastes de la récolte de semences viables mais immatures sur leur viabilité en cours de stockage ont été abondamment décrites et expliquées (Wang, 1974). Par exemple, dans le cas des graines de type récalcitrant de *Shorea roxburghii*, les trois dernières semaines qu'elles passent dans l'arbre sont essentielles pour leur permettre d'atteindre leur faculté germinative maximale (Sasaki, 1980). Même si Berjak *et al.*, (1990) ont affirmé que les semences de type récalcitrant ne se dessèchent pas avant d'arriver à maturité, comme le font les semences de type orthodoxe (fig. 21).

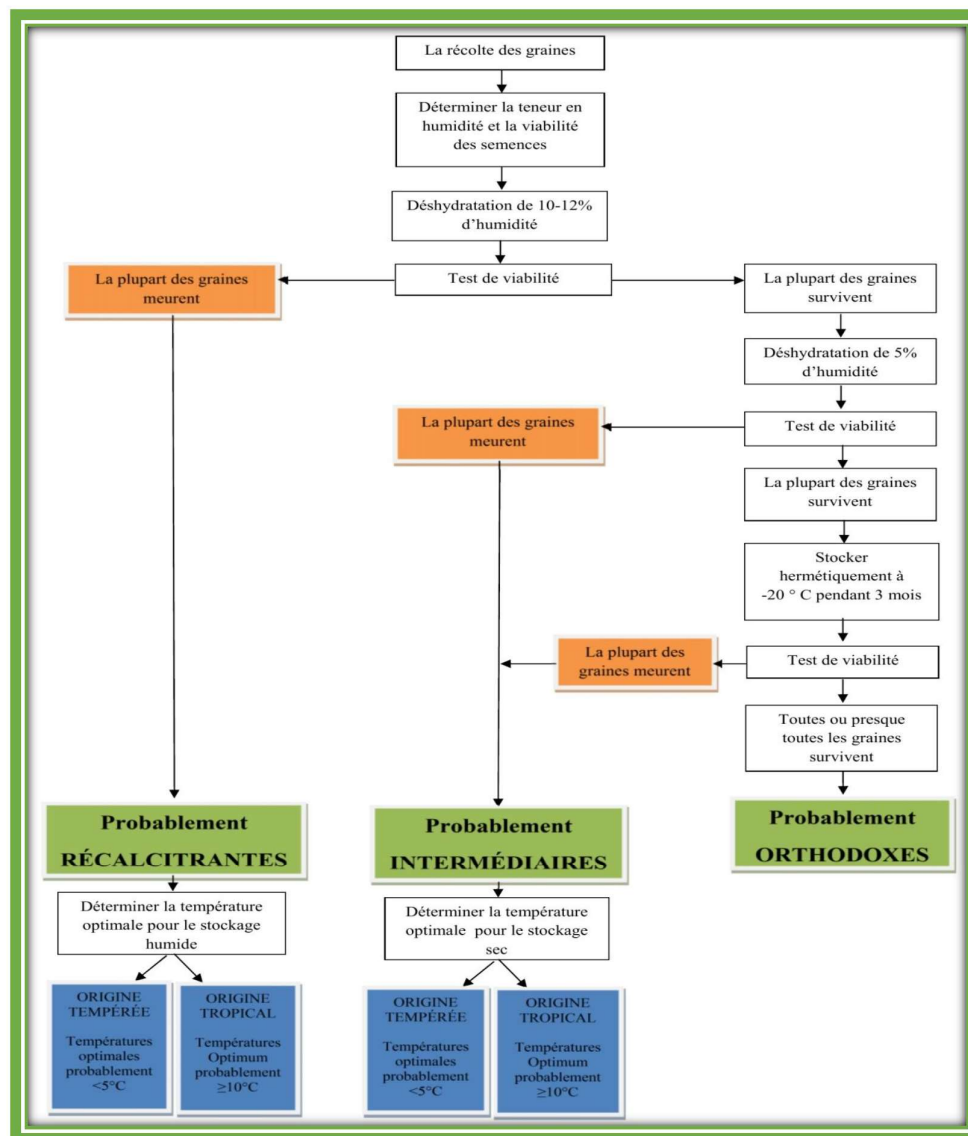


Figure 21 : Aperçu simplifié d'un protocole pour déterminer le comportement de conservation des graines (Hong et Ellis, 1996)

c. Le transport

Les graines extraites humides peuvent germer, ou de commencer à germer, pendant le transport. En outre, les graines extraites peuvent perdre rapidement l'humidité, ce qui peut être néfaste pour ceux qui ont un comportement de stockage des graines récalcitrantes, ou elles peuvent pourrir. Pour cela des récipients en plastique perforés ou en bambou (ou des récipients non étanches similaires) sont généralement souhaitables pour le transport. Les semences d'espèces dont le comportement de stockage est inconnu, elles doivent être conservées à 15-20 °C dans des sacs en polyéthylène perforés pour une période aussi courte que possible avant le début du protocole (Hong et Ellis, 1996).

d. Extraction des graines

Etant donné que des quantités relativement faibles de graines sont nécessaires pour la recherche, l'extraction des graines de fruits à la main est possible, et souvent souhaitable. Essayez d'éviter d'utiliser des machines (mixeur, broyeurs), le trempage dans l'eau, les traitements de fermentation et les traitements chimiques (tels que l'acide chlorhydrique, le carbonate de sodium, ou les enzymes de digestions, etc.). Laver et nettoyer les graines avec de l'eau courante sous pression, après extraction sont normalement suffisant pour éliminer les revêtements gélatineux des graines (Hong et Ellis, 1996).

e. Séchage

Les graines doivent être séchées (afin de déterminer la tolérance à la dessiccation) immédiatement après l'extraction à partir de fruits. Une déshydratation faible devrait être relativement rapide, mais à une température fraîche, afin de minimiser la détérioration des semences au cours du séchage. A cet effet, l'atmosphère de séchage doit être sèche, avec une humidité relative idéalement inférieure à 10 % (ce qui permettra une dessiccation d'environ 3 % d'humidité pour les graines oléagineuses et à environ 4-6 % d'humidité pour la plupart des semences féculentes). Une température d'environ 15 °C est sans danger pour la plupart des espèces. Les graines doivent être placées dans une couche mince au-dessus d'un grillage métallique pour optimiser la circulation de l'air. Les détails de techniques de séchage des graines ont été décrits dans les travaux de (Cromarty 1984).

f. Détermination de la teneur en eau des graines

Les procédures prescrites par International Seed Testing Association (ISTA) (1993a,b) doivent être suivies. Les informations sur la détermination de la teneur en eau des graines des ont été réalisées par beaucoup des travaux (Krishnapillay *et al.*, 1991 ; Bonnier *et al.*, 1994). La détermination séparée de la teneur en eau de l'embryon, de l'axe embryonnaire, des cotylédons, de l'endosperme et des structures de recouvrement des semences peut également être utile dans l'interprétation des résultats (Hong et Ellis, 1996).

g. Humidification des graines et essais de germination

Pour éviter les blessures d'imbibition, les graines à des teneurs en humidité inférieure à environ 8-12 % (selon les espèces et accession) doivent être humidifiées jusqu'à ce que leur teneur en eau augmente à environ 15-17 % (estimation en poids). L'objectif est d'augmenter la teneur en eau des semences, tout en évitant un contact avec de l'eau liquide. Ces traitements peuvent généralement être achevés dans les 12-48 heures à 20 °C, selon les espèces. Les graines en germination sont comptées à intervalles au cours des essais. Le critère de la germination devrait être le développement des semis normal (Ista, 1993 a,b).

h. Protocoles classiques

Au cours d'un protocole classique de cryoconservation, les échantillons subissent d'abord une préculture de quelques heures ou jours en présence d'osmoticums tels que le mannitol ou le sorbitol pour provoquer une légère déshydratation. Ils sont ensuite soumis à un traitement cryoprotecteur avec des substances variées (sucres, polyols, diméthylsulfoxyde, etc.). La congélation est réalisée en deux étapes : un refroidissement lent jusqu'à une température donnée, dite de pré-refroidissement, suivi d'une immersion rapide des échantillons dans l'azote liquide. Les vitesses de refroidissement généralement employées varient entre 0,5 et quelques °C/min jusqu'à des températures de pré-refroidissement aux alentours de -40 °C (Karthä et Engelmann, 1994). Les techniques classiques nécessitent l'utilisation de congélateurs programmables sophistiqués et coûteux. Dans certains cas, leur emploi peut être évité en utilisant un congélateur ménager ou de laboratoire pour réaliser le pré-refroidissement (Engelmann, 1997a).

Après le réchauffement, les agents cryoprotecteur sont éliminés en transférant les échantillons sur des milieux neufs à intervalles rapprochés. Pour stimuler la reprise de croissance, les conditions standards de culture sont parfois transitoirement modifiées, par exemple en diminuant l'intensité lumineuse ou en changeant la composition hormonale ou minérale du milieu de culture (Karthä et Engelmann, 1994 ; Engelmann, 1997a). Les techniques classiques de cryoconservation sont depuis longtemps utilisées avec succès pour la congélation de suspensions cellulaires et de cals, qui sont composés de petites unités relativement uniformes au niveau histologique (Withers, 1985 ; Seitz, 1987). Elles sont également applicables pour la congélation d'apex de certaines espèces tolérantes au froid, mais non pour celle d'espèces tropicales ou sub-tropicales (Reed et Chang, 1997).

i. Nouvelles techniques

Les nouvelles techniques de cryoconservation présentent des avantages par rapport aux techniques classiques. En évitant la formation de glace cristalline dans les échantillons, elles sont plus appropriées pour la congélation d'organes complexes tels que les apex et les embryons, composés de types cellulaires différents qui nécessiteraient chacun des conditions particulières de déshydratation induite par la congélation. Elles ne requièrent pas l'utilisation de congélateurs programmables et ont une large

applicabilité, ne nécessitant que des modifications mineures pour leur adaptation à des matériels et types cellulaires différents. Une caractéristique commune des nouveaux protocoles est que l'étape critique pour obtenir la survie est la déshydratation et non la congélation, comme dans les protocoles classiques. Ainsi, si les échantillons à congeler peuvent être rendus tolérants à une dessiccation jusqu'à des teneurs en eau suffisamment basses, sans ou avec une diminution limitée de la survie par rapport aux témoins non déshydratés, des pourcentages de survie similaires sont généralement observés (Engelmann, 1997). On distingue six procédures différentes : l'encapsulation-déshydratation, la vitrification, l'encapsulation-vitrification, la dessiccation, la préculture et la congélation en gouttes.

- **L'encapsulation-déshydratation**

Elle est fondée sur la technologie développée pour la production des semences artificielles. Les explants sont encapsulés dans des billes d'alginate de calcium, précultivés en milieu liquide enrichi en sucre pendant 7 à 10 jours, partiellement déshydratés sous la hotte à flux laminaire ou avec du silicagel jusqu'à une teneur en eau d'environ 20 % par rapport à la masse de matière sèche, puis refroidis rapidement. Les pourcentages de survie sont généralement élevés et la reprise de croissance est rapide et directe, sans formation de cal. Cette technique, mise au point sur le poirier (Dereuddre, 1990), a été appliquée avec succès aux apex de nombreuses espèces tempérées et tropicales (Engelmann, 1997 ; Withers et Engelmann, 1998), ainsi qu'à des suspensions cellulaires et des embryons somatiques (Tessereau *et al.*, 1994 ; Bachiri *et al.*, 1995).

- **La vitrification**

Elle comprend un traitement des échantillons de courte durée avec des cryoprotecteur à concentration intermédiaire (appelé Loading treatment), une déshydratation avec des solutions de vitrification extrêmement concentrées en cryoprotecteur, suivie d'un refroidissement ultra-rapide. Cette technique a été appliquée aux apex, suspensions cellulaires et embryons somatiques de nombreuses espèces (Sakai, 1997).

- **L'encapsulation-vitrification**

C'est une combinaison des deux techniques précédentes, dans laquelle les échantillons sont encapsulés dans des billes d'alginate puis déshydratés en utilisant des solutions de dévitrification. Cette technique a été appliquée aux apex d'un nombre encore limité d'espèces (Sakai, 1997).

- **La dessiccation**

C'est la procédure la plus simple puisqu'elle consiste à déshydrater les explants, puis à les congeler rapidement par immersion directe dans l'azote liquide. Cette technique est principalement utilisée pour les embryons zygotiques et axes embryonnaires d'espèces à semences récalcitrantes (Engelmann, 1997a). La dessiccation est généralement effectuée sous la hotte à flux laminaire, mais des conditions de déshydratation plus précises et reproductibles sont obtenues en utilisant un flux d'air comprimé stérile ou

du silica-gel. Une déshydratation ultra-rapide dans un flux d'air comprimé sec (procédé appelé flash-drying) permet décongeler des explants avec une teneur en eau relativement élevée, ce qui réduit ainsi les dommages liés à la dessiccation (Wesley-Smith, 1992). La survie est généralement optimale pour des teneurs en eau de l'ordre de 10-20 % matière fraîche.

- **La préculture**

Elle consiste à cultiver les échantillons en présence de cryoprotecteur, puis à les congeler par immersion directe dans l'azote liquide. Cette procédure a été développée pour cryoconserver des massifs méristématiques de bananier (Panis, 1995).

Dans un protocole de préculture déshydratation, les explants sont précultivés en présence de cryoprotecteur, en général des sucres, déshydratés sous la hotte à flux laminaire ou avec du silica-gel et congelés rapidement. Cette méthode a été appliquée à des segments de tige d'asperges, des embryons somatiques de palmier à huile et des embryons zygotiques de cocotier (Dumet *et al.*, 1993).

- **La congélation en gouttes**

Cette technique a été développée pour les apex de pomme de terre (Schäfer-Menuhr *et al.*, 1997). Les apex sont prétraités dans un milieu cryoprotecteur liquide, puis placés sur des bandes de papier aluminium dans des microgouttes de cryoprotecteur et congelés par immersion directe dans l'azote liquide.

III.2.6 La cryoconservation

Certains organes végétaux, tels que les semences orthodoxes et les bourgeons dormants résistants au froid, contiennent des quantités d'eau très faibles et peuvent ainsi être congelés directement, sans traitement préalable. Cependant, la plupart des systèmes employés en cryoconservation (suspensions cellulaires, cals, apex, embryons) sont cultivés *in vitro* et contiennent des quantités d'eau très élevées. C'est également le cas des semences non orthodoxes et de leurs embryons zygotiques. Pour tous ces types de matériel qui ne sont pas intrinsèquement tolérant à la congélation, les cellules doivent être déshydratées artificiellement pour les protéger des dommages causés par la cristallisation de l'eau intracellulaire (Mazur, 1984). On peut distinguer deux types de techniques en fonction des mécanismes physiques sur lesquels elles reposent : les techniques classiques et les nouvelles techniques de cryoconservation (Withers et Engelmann, 1998). Les techniques classiques comprennent une déshydratation induite par la congélation visant à réduire le nombre et la taille des cristaux de glace intracellulaire, alors que les nouvelles techniques sont fondées sur la vitrification, qui peut être définie comme la transition de l'eau directement de la phase liquide en une phase vitreuse amorphe, évitant ainsi la formation de glace cristalline dans les cellules (Fahy *et al.*, 1984).

Les techniques classiques de cryoconservation comprennent un refroidissement lent jusqu'à une température de pré-refroidissement définie, suivi par une immersion directe dans l'azote liquide. Avec l'abaissement de la température au cours du refroidissement lent, les cellules et le milieu externe sont d'abord en surfusion, puis le milieu externe prend en glace le premier. La membrane cellulaire agit alors comme une barrière physique et empêche la cristallisation du milieu interne ; les cellules restent ainsi en surfusion. Leur pression de vapeur aqueuse est plus élevée que celle du compartiment externe, ce qui induit un flux d'eau intracellulaire vers le compartiment extracellulaire et ainsi la concentration des solutés intracellulaires. L'eau intracellulaire qui sort des cellules est immédiatement convertie en glace dans le compartiment extracellulaire, ce qui accélère le phénomène. En conditions optimales, la majeure partie ou la totalité de l'eau intracellulaire cristallisable est extraite des cellules, ce qui réduit ou supprime la formation dommageable de glace intracellulaire lors de l'immersion des échantillons dans l'azote liquide. Cependant, une déshydratation trop intense peut induire différents dommages liés à l'augmentation de la concentration des sels intracellulaires et à des changements dans la conformation de la membrane cellulaire. Le réchauffement doit être aussi rapide que possible pour éviter le phénomène de recristallisation, au cours duquel les cristaux de glace formés pendant le refroidissement fusionnent pour donner des cristaux de taille plus importante, thermodynamiquement plus favorable, mais également plus dommageable pour l'intégrité cellulaire (Mazur, 1984).

Dans les nouvelles techniques de cryoconservation, fondées sur la vitrification, la déshydratation cellulaire est réalisée avant la congélation en exposant les échantillons à des solutions cryoprotectrices extrêmement concentrées et/ou en les soumettant à une dessiccation physique, ce qui a pour effet d'extraire l'eau cristallisable des cellules. Les échantillons sont ensuite refroidis rapidement. La formation de glace intracellulaire est ainsi évitée. Des transitions vitreuses (changements dans la conformation structurale du verre) ont été enregistrées au cours de la congélation de différents matériels végétaux en utilisant la technique de microcalorimétrie différentielle à balayage (Sakai *et al.*, 1990 ; Nino *et al.*, 1992).

a. Protocoles de cryoconservation

Pour chaque nouveau matériel à cryoconserver, les conditions de chacune des étapes successives du protocole doivent être optimisées. Un protocole de cryoconservation comprend les étapes suivantes : sélection du matériel végétal, pré-culture, traitement cryoprotecteur, congélation, réchauffement et post-traitement (Engelmann et Dussert, 2000).

Chapitre IV
Germination

CHAPITRE IV. GERMINATION

IV.1 La semence

IV.1.1 Définition

La graine est un organe de la plante issu de la fécondation de l'ovule et capable d'assurer la reproduction après l'évolution physiologico-chimique qui caractérise la germination. La graine est en tout point comparable à un œuf et présente comme lui sa propre vie. Il s'agit donc là d'un organisme vivant dont la durée végétative latente est variable avec les différentes espèces. Les graines sont contenues dans des fruits qui résultent eux-mêmes du grossissement de l'ovaire (Laumonier, 1978).

IV.1.2 Qualité

Pour conduire aux meilleurs résultats en culture, un lot de semence doit être :

- "Propre" : on parle de "pureté spécifique" (propreté au regard de la présence de matières inertes de graines étrangères).

- "Conforme à la variété retenue" : on parle de "pureté variétale", c'est le degré de conformité d'un lot à une variété, définie par un ensemble de caractères morphologique et, éventuellement physiologiques.

- "Doué d'une bonne vitalité" ou "faculté germinative", c'est le pourcentage de semences capables de produire des germes normaux (Chaux et Foury, 1994).

IV.1.3 Constitution

Les graines conservent la forme générale de l'ovule, mais leurs dimensions sont tout autres. Elles sont beaucoup plus grosses et contiennent :

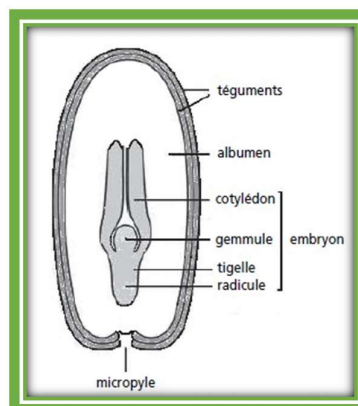


Figure 22 : L'embryon qui est une plantule pluricellulaire, différenciée en une radicule (première racine), une gemmule (bourgeon apical), une tigelle (première tige) et le ou les cotylédon(s) (première(s) feuille(s) assurant la nutrition de la plante).

1. Les téguments plus ou moins durs et coriaces qui résultent de la transformation des téguments de l'ovule. A leur surface, il est possible de reconnaître l'emplacement du hile (lieu de fixation de l'ovule dans le carpelle) et le micropyle (espace entre les téguments ovulaires permettant le passage du tube pollinique lors de la fécondation).
2. Les substances de réserve qui entourent l'embryon. Chez les plantes à fleurs le tissu de réserve est essentiellement l'albumen. Cependant, c'est un tissu transitoire formé aux dépens de nucelle. Chez certaines plantes cette digestion est incomplète et le nucelle s'enrichit alors de réserves pour former un tissu nourricier original, le périsperme. Cet albumen, lui aussi peut se résorber ; les glucides passent alors dans le ou les cotylédons et forment de l'amidon (Laberche, 2001).

IV.1.4 Types

Grace à ces différents tissus de réserves permettent de différencier trois types de graines :

- Les graines à périsperme chez lesquelles le nucelle s'enrichit en totalité ou en partie de réserves (cas du canna ou du nénuphar).
- Les graines albuminées, où l'albumen constitue le tissu de réserve. Dans ce cas les plantules sont minces et fines car noyées littéralement dans l'albumen qui s'est substitué au nucelle pendant le grossissement de la graine. La graine de ricin (fig.23) est la plus connue des graines albuminées.
- Les graines exalbuminées où l'albumen a été digéré. Les glucides ont migré vers les cotylédons pour former de l'amidon. Les cotylédons occupent tout l'espace entre les téguments. Les graines de pois, de haricot (fig. 23) ou de trèfle sont des graines exalbuminées (Laberche, 2001).

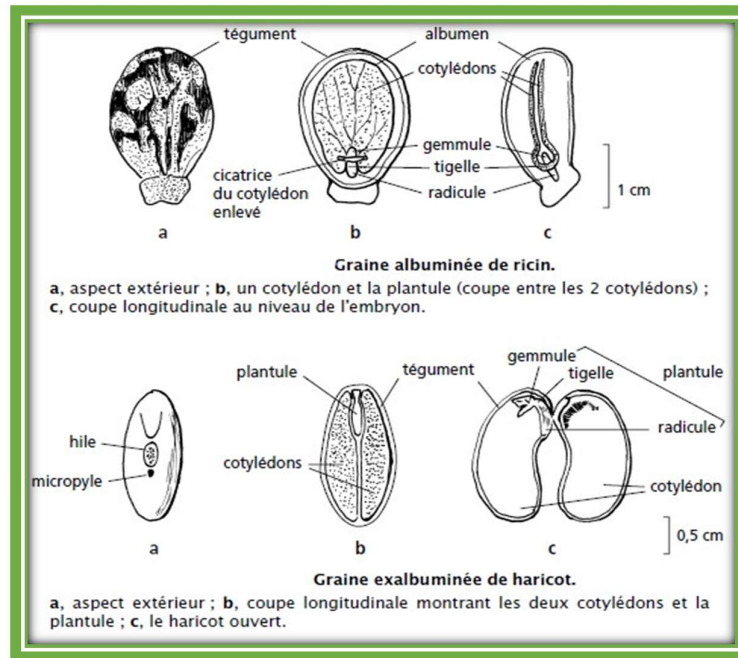


Figure 23 : Schéma d'organisation des graines théoriques albuminées et exalbuminées d'Angiosperme dicotylédone

IV.2 La viabilité

IV.2.1 Définition

La viabilité des semences est la mesure du nombre de semences dans un lot de semences qui sont vivantes et peuvent se développer en plantes qui vont se reproduire dans les conditions appropriées au champ (Kameswara Rao *et al.*, 2006).

IV.2.2 L'importance de la viabilité des semences

Il est très important que les semences stockées dans une banque de gènes soient capables de produire des plantes lorsqu'elles sont semées au champ. Les semences avec une viabilité initiale élevée survivront également plus longtemps au stockage. La viabilité des semences décline lentement au début, puis plus rapidement au fur et à mesure que les semences vieillissent. Il est important de savoir quand ce déclin se produit afin d'agir pour régénérer l'accession (Kameswara Rao *et al.*, 2006).

IV.2.3 Déterminé

La viabilité des accessions doit être déterminée :

- Avant que les semences soient empaquetées et placées dans la banque de gènes.
- A intervalles réguliers pendant le stockage.

De nombreuses méthodes différentes existent pour tester la viabilité des semences. La méthode la plus précise et fiable est le test de germination. Il existe aussi des tests biochimiques, qui ont l'avantage d'être plus rapides, mais qui ne sont pas aussi précis que le test de germination. Ils demandent également des connaissances particulières pour être réalisés et interprétés (Kameswara Rao *et al.*, 2006).

IV.2.4 Testes de viabilité

Le test de germination est communément fait pour déterminer la viabilité de la semence, ce test est devenu tellement universellement accepté que la germination et la viabilité sont probablement considérées comme étant une seule idée par la plupart des scientifiques (Copeland, 1976). Dans de nombreux cas, ce test a été montré pour être un test de vigueur fiable dans des conditions optimales. Il est rapide, peu coûteux, ne requiert aucun équipement spécialisé et ne nécessite pas de formation supplémentaire pour les travailleurs. Les principales critiques sont : la difficulté de standardiser les variables telles que l'humidité et la température, puisque le manque de la normalisation affecte la comparaison des résultats entre les laboratoires. En outre, le test de germination repose sur la capacité de l'analyse des semences pour interpréter les résultats et cette capacité varie d'une personne à l'autre (Kameswara Rao *et al.*, 2006).

IV.3 La germination

IV.3.1 Généralité sur la germination

Chez les Spermaphytes (plantes à graines), la propagation de l'espèce est réalisée grâce à la graine, qui provient de la transformation de l'ovule après la fécondation. A un stade plus ou moins précoce de son développement, l'embryon cesse sa croissance et entre dans un état de vie ralentie. Cette phase de repos (diapause) s'accompagne d'une déshydratation importante qui permet à l'embryon, d'une part, de pouvoir attendre très longtemps les conditions favorables à la reprise de son activité (germination) et, d'autre part, de résister aux agressions extérieures (Côme, 1970).

La germination est le passage de la vie latente de la graine à la vie active, sous l'effet de facteurs favorables (Heller, 1990). Selon (Mazliak, 1982), c'est un processus physiologique dont les limites sont le début de l'hydratation de la semence et le tout début de la croissance de la radicule. Une semence a germé, lorsque la radicule a percé les enveloppes ou elle est visiblement allongée (Côme, 1970). La germination comprend plusieurs phases physiologiques successives, dont la plus importante est appelée germination sensu stricto, qui s'achève juste avant la croissance de la radicule (Mazliak, 1982). La germination des graines après la phase de quiescence, voire de dormance, et lorsque les conditions de l'environnement sont favorables, le développement de l'embryon reprend. L'axe embryonnaire s'allonge alors dans les deux sens. L'hypo cotyle, qui présente un gravi tropisme négatif, amène le méristème apical et les cotylédons hors de terre ; les cotylédons fournissent les réserves énergétiques qui sont alors

mobilisées pour la croissance. Ils verdissent, signifiant l'acquisition de l'activité photosynthétique avant la mise en place des premières feuilles à partir du méristème apical. La racicule possède un gravi tropisme positif et permet au méristème racinaire de s'enfoncer pour développer des racines. Elle est la première à se développer au cours de la germination chez les Angiospermes (Gimeno-Gilles, 2009). Entre le stade de graine sèche quiescente et le développement de la plantule existe une phase transitoire qui se termine lorsque la racicule perce les téguments. A ce moment, la graine est considérée comme germée. La germination donc est définie comme la somme des événements qui vont de la graine sèche à la percée de la radulaire : cela commence par la prise d'eau ou imbibition (gonflement de la graine) qui permet l'activation métabolique et se termine par la sortie de la racicule hors des téguments de la graine (Morot-Gaudry *et al.*, 2009).

1. La germination épigée

Comme chez le haricot par exemple, la graine est soulevée hors du sol par accroissement rapide de la tigelle qui donne l'axe hypo cotyle qui soulève les deux cotylédons hors du sol. La gemmule se développe (après la radicule) et donne une tige feuillée au-dessus des deux cotylédons. Le premier entrenœud donne l'épi cotyle. Les premières feuilles, au-dessus des cotylédons sont les feuilles primordiales (elles sont plus simples que les futures feuilles).

2. La germination hypogée

Comme chez le maïs, la graine reste dans le sol, la tigelle ne se développe pas et les cotylédons restent dans le sol.

IV.3.2 Critères de la germination

Il est signalé qu'ont adoptés la définition de Côme (1970) qui considère qu'une graine est germée lorsque la racicule arrive à percer le Tégument (figure 24) et devient visible à l'œil nu.

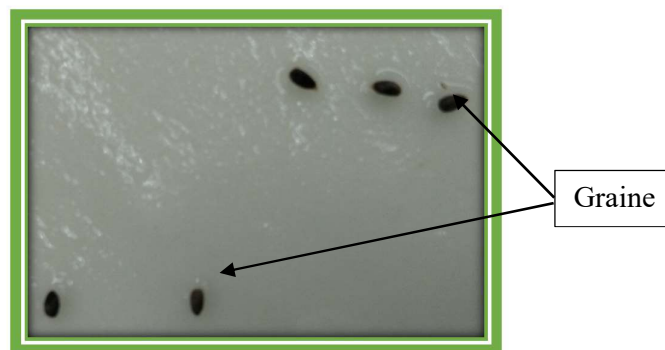


Figure 24 : graine de *M. vulgare*

IV.3.3 Condition

La germination des graines exige des conditions favorables : externes qui sont la disponibilité en eau, en oxygène et une température compatible avec un métabolisme cellulaire actif et internes (la levée de la dormance).

1. Interne

a. La maturité

Pour qu'une semence germe, il faut qu'elle soit mature et toutes les parties constitutives soient complètement différenciées morphologiquement (Heller *et al.*, 1990).

o La maturation morphologique

La maturation morphologique correspond à l'élaboration des éléments constitutifs de la semence. Elle est caractérisée par une déshydratation très poussée (teneur moyenne en eau environ 10 %). La déshydratation a pour conséquence de réduire considérablement le métabolisme de la semence et ses échanges avec le milieu extérieur (Côme, 1970).

o La maturation physiologique

Il s'agit de modifications physiologiques subtiles qui ne se manifestent par aucune transformation morphologique et la semence devient apte à germer dans les conditions convenables (Côme, 1970).

b. La longévité

C'est la durée pendant laquelle les semences restent vivantes et gardent leur pouvoir germinatif. La longévité varie selon les espèces et elle dépend des conditions de conservation, d'humidité et de température (Heller *et al.*, 1990).

2. Externe

a. L'eau

C'est indispensable dans le milieu extérieur en quantité suffisante pour que la graine puisse l'absorber. La quantité de l'eau dépend de la nature spécifique de la graine et de la température. En général, le besoin en eau augmente avec la température (Binet et Brunel, 1968). Un excès d'eau est souvent néfaste à la germination, c'est la raison pour laquelle les semences ne germent généralement pas quand elles sont complètement immergées (Mazliak, 1982).

b. L'oxygène

La germination exige de l'oxygène. Les besoins en oxygène de l'atmosphère sont très variables d'une espèce à une autre (Ammari, 2011). Une faible quantité d'oxygène peut être suffisante pour permettre la germination (Mazliak, 1982). D'une façon générale, la germination exige en effet assez peu d'oxygène (Mazliak, 1982).

c. La température

Elle stimule les activités enzymatiques et la vitesse de germination. Elle règle aussi l'apport d'oxygène à l'embryon, car toute élévation de température est en face d'une demande élevée en oxygène (Lafon, 1998). La température influe sur les activités enzymatiques, la perméabilité des membranes et l'entrée d'oxygène.

d. La lumière

Selon (Heller *et al.*, 1990), 70 % des graines ont une photosensibilité positive, 25 % sont à photosensibilité négative et 5 % sont indifférentes.

IV.3.4 Les phases de germination

La germination comprend trois phases successives : la phase d'imbibition, la phase de germination stricto sensu et la phase de croissance (Côme, 1982).

1. Phase d'imbibition

Cette phase correspond à une absorption d'eau, principalement par imbibition, qui provoque un gonflement de la graine et une rupture éventuelle du tégument. L'imbibition est, dans un premier temps, passive et mécanique. Elle ne devient physiologique (absorption d'eau par un organisme vivant) qu'au bout de quelques jours quand la vie active reprend (Heller *et al.*, 1990).

2. La phase de germination sensu stricto (sens strict)

La semence n'absorbe pratiquement plus d'eau et ne manifeste aucune évolution morphologique, elle représente le véritable processus de la germination (Evenari, 1957 ; Come, 1967). Lors des tests de germination, il est néanmoins difficile de savoir à quel moment cette phase est terminée. C'est pourquoi la percée des enveloppes par la radicule ou l'allongement de celle-ci sont couramment utilisés pour déterminer que la semence a germé (Côme, 1982). Jordan et Haferkamp (1989). Considèrent, par exemple, que la semence a germé lorsque la radicule fait au moins 1 mm de long.

3. Phase de croissance

Cette phase correspond à une augmentation de taille et une division des cellules entraînant l'élongation de la radicule. Lorsque des semences placées dans des conditions favorables ne germent pas immédiatement, on dit qu'elles présentent « un délai de germination », qui peut être seulement différé. Cette germination peut également être impossible sans un traitement préalable des semences. Cette impossibilité réside soit dans l'embryon qui est dormant, soit dans les enveloppes qui inhibent la germination de l'embryon (Come, 1974).

Au cours de la formation de l'embryon, les cytokinines stimulent l'activité mitotique des cellules puis leurs concentrations diminuent. Les teneurs en auxine et gibbérellines augmentent à leur tour et stimulent l'élongation cellulaire (Meyer *et al.*, 2008).

IV.3.5 Capacité de germination

Elle représente le pourcentage de germination maximal, ou taux de germination maximal, obtenu dans des conditions expérimentales bien définies. Sa valeur dépend des conditions expérimentales et des traitements préalablement subis par les semences. En fait, le pouvoir germinatif et la capacité de germination ne donnent qu'une idée très imparfaite de l'aptitude à la germination d'un lot de semences, car ils ne tiennent pas compte de la vitesse de germination (Heller *et al.*, 1990).

IV.3.6 Vitesse de germination

Diverses grandeurs faciles à déterminer peuvent être choisies pour exprimer la vitesse de germination :

1. *Le temps de latence*

Le temps au bout duquel est amorcée la germination. Pour mieux décrire le déroulement de la germination, plusieurs formules simples ont été établies et sont couramment utilisées.

2. *Le coefficient de vélocité (Cv), proposé par Kotowski (1962)*

$$Cv = (N_1 + N_2 + N_3 \dots + N_n) * 100 / (N_1T_1 + N_2T_2 + N_3T_3 \dots + N_nT_n)$$

Ou le temps moyen de germination (T_m) qui représente l'inverse x 100 de Cv :

$$T_m = (N_1T_1 + N_2T_2 + N_3T_3 \dots + N_nT_n) / (N_1 + N_2 + N_3 \dots + N_n) = (1 / Cv) * 100$$

N_n = nombre de semences germées entre le temps T_{n-1} et le temps T_n .

Timson (1965) a proposé d'exprimer la vitesse de germination par la somme (Σ_n) des pourcentages de germination obtenus pendant les n premiers jours :

$$\Sigma_n = N_1 + N_2 + N_3 \dots + N_n$$

N_n = pourcentage de semences germées après n jours, selon la rapidité de la germination, n peut varier (5 jours, 10 jours....).

IV.4 Dormance

IV.4.1 Définition

La dormance est une caractéristique spécifique des graines qui peut se définir comme le blocage de la germination d'une graine intacte et viable malgré des conditions environnementales favorables. Ceci représente une adaptation empêchant la germination spontanée qui pourrait survenir trop précocement. Par exemple, le blocage de la germination des graines d'arbres durant un automne doux évite la mortalité des plantes durant l'hiver trop froid. La dormance peut prendre différents aspects selon les espèces : physiologiques, morphologiques, morpho-physiologiques, physiques et combinés physiologique/physiques (Lafon *et al.*, ; 1998 in Mogharbi et Cheikh, 2013).

IV.4.2 Type

1. *Dormance tégumentaire*

Les enveloppes séminales qui entourent l'embryon constituent des obstacles plus ou moins efficaces au passage de l'eau ou de l'oxygène et leur action sur la germination peut être très importante.

a. **L'imperméabilité à l'eau**

Il existe des semences qui ne peuvent pas germer parce que leurs enveloppes ne laissent absolument pas passer l'eau. En milieu humide, ces semences ne gonflent pas, restent sèches et résistent à l'écrasement. C'est pourquoi elles sont appelées semences dures. Les espèces à semences dures sont couramment rencontrées chez les Légumineuses (Césalpiniées, Mimosacées et Papilionacées). Cette dureté est à l'origine des récoltes et des conditions de maturation des semences qui peuvent résulter le non germination des semences. La cause de cette imperméabilité à l'eau réside dans la structure même des enveloppes séminales (Côme, 1970).

b. **L'imperméabilité à l'oxygène**

Le plus souvent, les enveloppes séminales constituent un obstacle au passage de l'oxygène à l'embryon au moment de la germination des semences. En effet, les embryons isolés exigent moins d'oxygène pour germer que les semences intactes. Ces enveloppes sont constituées par des cellules mortes qui laissent entre elles de nombreux espaces libres sous forme de méats et de lacunes. Lorsque ces enveloppes séminales deviennent de plus en plus minces, l'embryon reçoit de l'oxygène et il aura donc des chances de germer facilement (Mazliak, 1998).

2. Dormance embryonnaire

Nous rappelons ici quelques généralités sur ce cas, où l'embryon mature n'est pas capable de germer même débarrassé des structures qui l'entourent. Ce phénomène est caractéristique de la famille des Rosacées, mais se rencontre chez beaucoup d'autres espèces.

En trouve deux types de dormance embryonnaire :

a. La dormance embryonnaire primaire

Qui s'installe au cours du développement de la semence.

b. La dormance embryonnaire secondaire

Qui correspond à la perte de l'aptitude à germer lorsque l'embryon, à l'état imbibé, est placé dans des conditions incompatibles avec sa germination (températures trop élevées, manque d'oxygène, présence de lumière). L'induction de la dormance secondaire, qui se met en place chez les embryons qui, au départ, ne sont pas dormants, s'intensifie à l'approche de la saison froide pour *Scabiosa atropurpurea* L. (Mineau, 1987) et protège les semences d'une reprise de l'activité métabolique au moment où les conditions climatiques ne sont pas favorables au développement des plantules. Les semences nécessiteront alors un traitement permettant de lever cette dormance secondaire avant de pouvoir de nouveau germer.

3. Levée de dormance

Les périodes de dormance correspondent à des moments où les semences sont incapables de germer quelles que soient les conditions externes. Ces périodes de dormance prennent fin (levée), ou encore ces semences deviennent aptes à germer lorsque celles-ci ont subi l'action de divers facteurs externes pendant une durée convenable (Binnet et Brunel, 1968). Divers traitements sont mis en place afin d'améliorer la germination des semences qui présentent une dormance embryonnaire ou une inhibition tégumentaire. La nature du traitement dépend du type d'inaptitude à la germination (Mazliak, 1998).

4. Traitements levant les dormances embryonnaires

Dans la nature, c'est le froid de l'hiver qui lève la dormance embryonnaire des graines. Dans le cas des semences cultivées, différents traitements lèvent les dormances (primaires ou secondaires) (Lafon *et al.*, 1998).

a. Gibbérellines

Les gibbérellines stimulent la germination de nombreuses semences dormantes, qu'ils s'agissent d'une dormance embryonnaire ou d'une inhibition tégumentaire. Elles permettent la germination à

l'obscurité des semences à photosensibilité positive et améliorent la germination à la lumière de celles qui présentent une photosensibilité négative (Mazliak, 1998).

b. Ethylène

L'éthylène a un rôle important dans la germination de certaines semences. Il est naturellement présent dans le sol sous forme de gaz à faibles concentrations. Il agit comme une hormone et peut intervenir dans la germination à faibles teneurs (Hermann *et al.*, 1998).

c. Stratification

Ce traitement utilisé depuis longtemps, consiste à placer les semences au froid, dans un milieu humide (terre, sable, tourbe). La période du froid (0 à 5 °C) doit être suffisamment longue, elle varie selon les espèces d'un à plusieurs mois (Lafon *et al.* ; 1998).

d. Anoxie et les températures élevées

Des semences placées en milieu humide, dans l'azote pur ou à 30 à 35 °C (ce qui indirectement place l'embryon en condition d'anoxie), retrouvent leur aptitude à germer encore plus vite que par stratification (Herman *et al.*, 1998).

e. Conservation au sec

La dormance embryonnaire s'élimine naturellement pendant la conservation au sec des semences, plus cette conservation est prolongée, plus les semences germent facilement dans des températures fraîches (Mazliak, 1998).

5. Traitements levant les inhibitions tégumentaires

Naturellement s'effectue par l'altération des enveloppes, sous l'effet de la sécheresse, qui fait craqueler les téguments, ou celui des alternances de sécheresse et d'humidité, plus efficace encore, ou des alternances de gel de réchauffement, ainsi que sous l'action des bactéries et des champignons du sol. L'inhibition volatile s'évapore avec le temps et les autres sont peu à peu lessivés par la pluie. Artificiellement, on peut pratiquer :

a. La scarification

Terme qui désigne, par extension du sens propre (griffure) tout traitement, mécanique ou autre, qui brise ou affaiblit les téguments : décortication, trituration, battage, procédés chimiques (à manière avec discernement pour ne pas léser l'embryon : deux bains de quelque instant dans l'éther, l'acide sulfurique, l'alcool ou l'eau bouillante sont parfois utilisés) (Heller *et al.* ; 1998).

b. Lixiviation

Le trempage ou le lavage à l'eau élimine des inhibiteurs hydrosolubles (cas des phénols) (Heller *et al.*, 1998).

c. Traitements oxydants

Le traitement des semences par de puissants oxydants (eau oxygénée, hypochlorite) permet d'oxyder brutalement les composées phénoliques et donc d'empêcher qu'ils interviennent ensuite comme piège à l'oxygène. La stérilisation de la surface des enveloppes par l'eau de javel conduit également souvent à une meilleure germination à cause de l'effet de ce composé sur l'oxydation des phénols (Heller *et al.*, 1998).

Partie expérimentale

Chapitre V

Matériel et méthode

Chapitre V. MATERIEL ET METHODES

V.1 Objectifs de l'étude

Des tests de conservation appliquée aux graines de *Marrubium vulgare* et *Retama monosperma* a deux températures différentes, on était réalisés dans le but de faire ressortir l'effet de la conservation au froid (5 °C) et (-20 °C) sur leur viabilité. Cette étude nous permet aussi de comparer le pouvoir germinatif des graines traitées et non-traitées, ainsi que le rôle de la conservation sur l'amélioration de la capacité et de la vitesse de taux de germination.

V.2 Lieux de la réalisation de l'expérimentation

Le travail expérimental a été effectué est divisé en deux étapes dans deux laboratoires différents. L'étape ou en a procéder à la détermination de la viabilité des deux espèces puis procéder à la partie conservation a été réalisée au laboratoire de recherche de « biodiversité végétale : conservation et valorisation » durant la période du 22/12/2019 au 13/01/2020 pour *Marrubium vulgare* et pour *Retama monosperma* de 13/01/2020 au 18/02/2020. La seconde étape à savoir les essais de la germination, a été conduite au niveau du même laboratoire, durant la période du 13/02/2020 au 15/03/2020 pour l'espèce *Marrubium vulgare* les expérimentations ont été stoppées à cause de la maladie COVID-19.

V.3 Matériel

V.3.1 Matériel de laboratoire

1. Pour la réalisation de l'expérimentation, le matériel et les produits suivants :

Du papier filtre et une étuve réglait sur 20 °C pour les essais de germination, réfrigérateur réglé sur (5 °C) et congélateur réglais sur (-20 °C) pour la conservation, des pinces, du papier d'aluminium, des boites de pétri pour la réalisation des essais de germination, de l'eau distillée stérilisée pour l'arrosage, une pissette, une loupe et un pied à coulisse, des lame de rasoir. Du tétrazolium [préparés à partir des produits suivent : phosphate de potassium dihydrogène (KH_2PO_4), phosphate d'hydrogène disode ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 2, 3,5-clorure de triphenol tétrazolium ($\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_4$)] pour le test de viabilité, acide sulfurique (H_2SO_4) pour fragiliser le tégument du *Retama monosperma*.

V.3.2 Matériel végétal

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la conservation d'une espèce faisant partie du cortège floristique de la région West algérien (wilaya de Sidi Bel Abbés et ORAN). Le matériel végétal utilisé les graines de *Marrubium vulgare* (fig. 15) ont était récoltées dans le Djebel de Tessala le 25/07/2016 et le *Retama monosperma* au mois d'juillet 2019 Aïn El Türk, Oran (fig. 17).

Les itinéraires pour la collecte ont été minutieusement planifiés, en déterminant d'avance les stations qui abritent un maximum d'individus et le moment favorable pour la collection (à maturité).

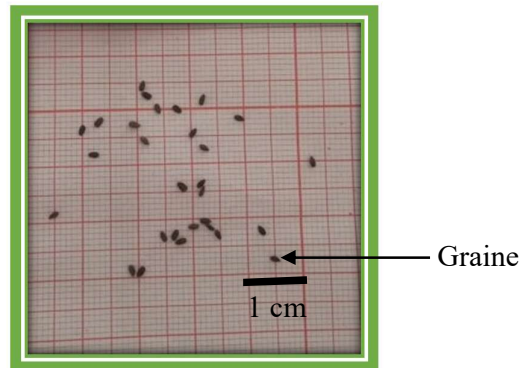


Figure 25 : les Graines de *Marrubium vulgare* L. (Cliché : AKKAL Fatima Zohra et BENDIMERED Mustapha, 2019)

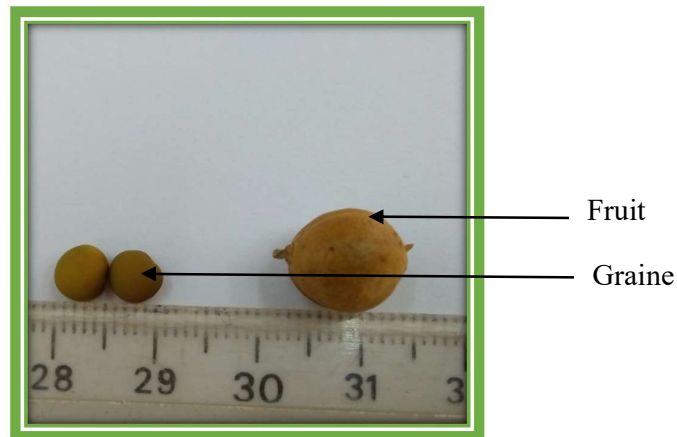


Figure 26 : Graines de *Retama monosperma* (L.) Boiss. (Cliché : AKKAL Fatima Zohra et BENDIMERED Mustapha, 2019)

1. *Description du fruit*

a. *Marrubium vulgare*

Elles sont des akènes durs visible au fond du calice persistant, est divisé en quatre parties.

b. *Retama monosperma*

Le fruit est une gousse indéhiscente (fig. 26) acuminée et velue à suture ventrale dilatée contenant une graine lisse réniforme, de couleur ocre jaune (Quezel et Santa, 1962).

V.4 Méthodologie

V.4.1 Description des graines

Avant le début de l'expérimentation, une description des caractéristiques morphologiques, anatomiques ainsi que les dimensions moyennes sur 10 fruits et 10 graines de *Marrubium. Vulgare* et *Retama monosperma* ont été réalisés.

V.4.2 Préparation des graines à la conservation

Les essais de germination ont été effectués sur des graines intactes. Nous avons débarrassé manuellement les graines. Les graines morphologiquement anormales ou visiblement attaquées par les insectes et les champignons, ont été éliminées.

V.4.3 Technique de conservation appliquée aux graines

Les graines ont été enveloppées dans du papier d'aluminium. Deux températures de conservation, 5 °C et -20 °C, ont été testés : 5 °C, -20 °C (fig. 27a et 27b). Pour chaque température, nous avons divisé les graines en trois lots relatifs à 3 durées de conservation différentes, 30 et 45 jours. Chaque lot de 10 graines est répété 3 fois, qui est par la suite étiqueté par la date et la durée de conservation.



Figure 27 : Appareils utilisés pour la conservation des graines, **A** : Réfrigérateur utilisé pour la conservation à sec au froid (5 °C), **B** : congélateur utilisé pour la conservation à -20 °C

V.5 Techniques de mise à germer des graines

Les graines sont préalablement désinfectées avec de l'hypochlorite de sodium (NaClO) dilué à 10 % pendant 5 minutes puis rincées abondamment trois fois à l'eau distillée pour éliminer toute trace de chlore. Pour chaque lot, 30 graines sont réparties en trois répétitions de 10 graines (fig. 28). Les graines sont mises à germer dans des boîtes de Pétri stérile de 9 cm de diamètre et 1 cm de hauteur, contenant deux couches de papier filtre, imbibées avec 5 ml d'eau distillée. Une fois les graines placées, les boîtes sont recouvertes avec du papier d'aluminium complètement troué pour assurer une bonne aération des

graines pendant la germination (fig. 29). Les boîtes ainsi préparées sont placées dans une étuve réglée à -20 °C pour la réalisation des essais de germination.

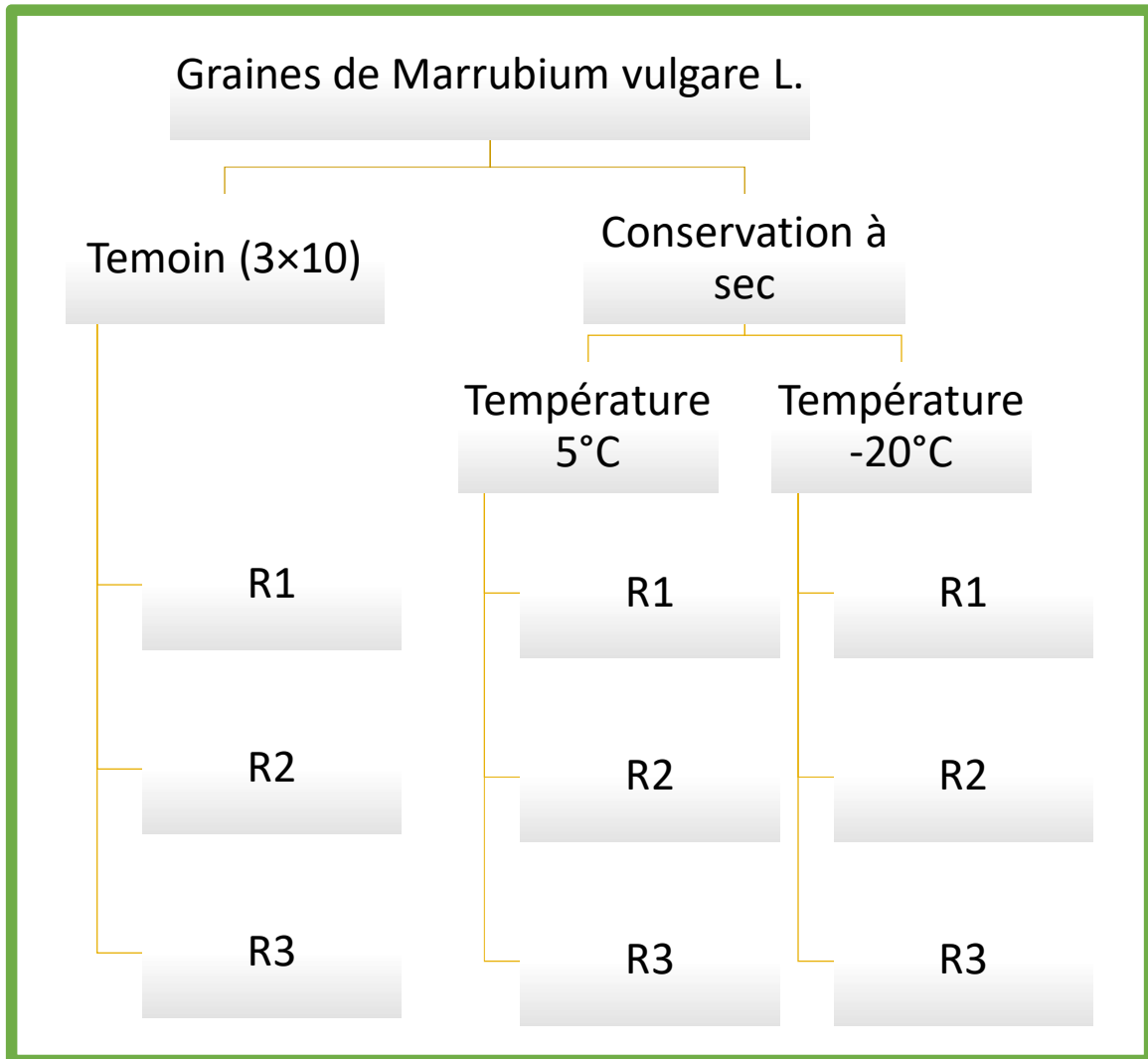


Figure 28 : Schéma du protocole expérimental (**R** : répétition)

V.6 Test de la viabilité**V.6.1 Par la germination**

Après chaque période de conservation (30 jours, 45 jours) et pour chaque température de conservation (5 et -20 °C) des tests de germination ont été réalisés à la température optimale (20 °C) dans une étuve (fig. 29).

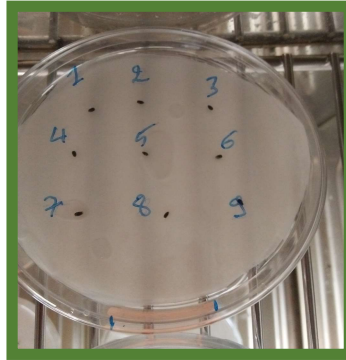


Figure 29 : La mise à germer des graines de *M. vulgare*

V.6.2 Protocole de tétrazolium

Le test au tétrazolium peut être utilisé comme une procédure de secours pour identifier des semences viables mais dormantes, qui n'ont pas germé à la fin d'un test de germination.

La procédure pour réaliser ce test est indiquée ci-dessous.

a. Pré-conditionnement

- 1- enlever les structures qui recouvrent les graines (glumes, etc.).
- 2- pré-conditionné les semences en les trempant dans de l'eau ou en les plaçant en milieu humide à 30°C pendant 24 h.

b. Préparation de la solution de chlorure de tétrazolium

La solution de tétrazolium doit avoir un pH compris entre 6 et 8 pour obtenir les meilleurs résultats.

Pour préparer 1 litre de solution tamponné de chlorure de tétrazolium :

- 1- Dissoudre 3,631 g de phosphate de potassium dihydrogène (KH_2PO_4) dans 400 ml d'eau distillé.
- 2- Dissoudre 7,126 g de phosphate d'hydrogéné ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans 600 ml d'eau distillée.
- 3- Mélanger les deux solutions pour préparer le tampon.
- 4- Dissoudre 10g de 2,3,5,-chlorure de triphenyl tétrazolium dans 1 litre de solution tampon.

Pour obtenir une solution de tétrazolium à 0.5% mélanger une partie de la solution stock avec une partie d'eau distillée. Le chlorure de tétrazolium doit être stocké à l'obscurité et au froid pour de courtes durées.

V.7 Suivi de la germination

Quotidiennement, les graines observées à la loupe, et les graines germées ont été comptées jusqu'à une durée de 21 jours pour les graines conservées sur une période 30 jours, et 6 jours pour les graines conservées sur une période de 45 jours.

V.8 Expression des résultats

La germination des graines est appréciée à travers de calcul à l'aide des paramètres traduisant la vitesse de germination qui sont :

La précocité de germination ou le temps de latence (LT) qui signifie le début de la germination, est exprimé en jours, le Coefficient de vélocité (Cv), le temps moyen de germination (TMG) évaluée en jours et taux final des graines germées ou capacité de germination (Cg) exprimée en pourcentage.

V.8.1 Le temps de latence (TL)

Le temps de latence qui correspond au temps compris entre le début du test de germination et le moment où la première semence a germé

V.8.2 Le coefficient de vélocité (Cv)

Proposé par Kotowski (1926), calculé avec le rapport ci-dessous :

$$CV(\%) = \frac{N_1 + N_2 + N_3 \dots \dots + N_n}{N_1 T_1 + N_2 T_2 \dots \dots + N_n T_n} \times 100$$

V.8.3 Le temps moyen de germination (Tmg)

C'est un mode d'expression de la vitesse de germination d'une population de semence mises à germer dans des conditions parfaitement contrôlées. Le temps moyen de germination (TMG) se calcule de la façon suivante. Selon Corbineau et Côme (2006) :

$$TMG(\text{jours}) = \frac{N_1 T_1 + N_2 T_2 + N_3 T_3 \dots \dots + N_n T_n}{N_1 + N_2 + N_3 \dots \dots + N_n}$$

N1 : Nombre des graines germées au temps T1.

N2 : Nombre des graines germées entre T1 et T2.

Nn : Nombre des graines germées entre temps Tn-1 et Tn.

V.8.4 La capacité de la germination (CG)

La capacité de germination est le pourcentage maximum de germination obtenu dans les conditions choisies par l'expérimentateur (Mazliak, 1982).

$$CG(\%) = \frac{n}{N} \times 100$$

CG : capacité de germination en (%).

n : le nombre de graines germées.

N : nombre total des graines mises à germer.

Chapitre VI :

Résultats et discussion

Chapitre VI. RESULTATS ET DISCUSSION

VI.1 Résultats

VI.1.1 *Retama monosperma*

2. Description des graines

c. Morphologie

À l'œil nu, les graines de *Retama monosperma* apparaissent sous forme ovoïde, lisses de couleur brun jaune, et d'une taille allant de 5 à 8 mm (fig. 30).

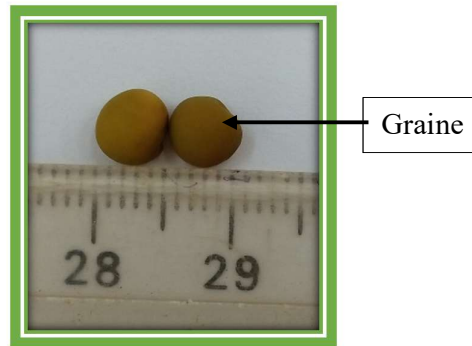


Figure 30 : Morphologie de la graine *R. monosperma*

d. Anatomie

À l'œil nu, les graines de *Retama monosperma* apparaissent sous forme ovoïde, lisses de couleur brun jaune, et d'une taille allant de 5 à 8 mm (fig. 31).

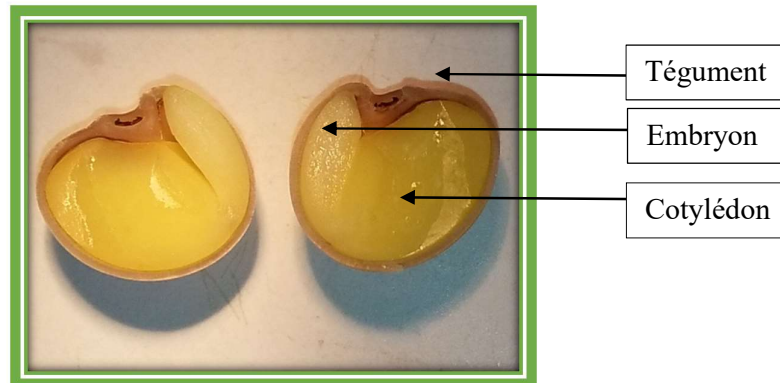


Figure 31 : Anatomie de la graine *Retama monosperma*

e. Type de graine

Alors qu'une graine exalbuminée se dit des graines ou des embryons dépourvus d'albumen, les réserves alimentaires étant contenues dans les cotylédons. Selon (fig. 31) nous avons observé la présence des cotylédons de la graine et les réserves nutritifs sont stockées dans les cotylédons.

f. Description de la germination

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

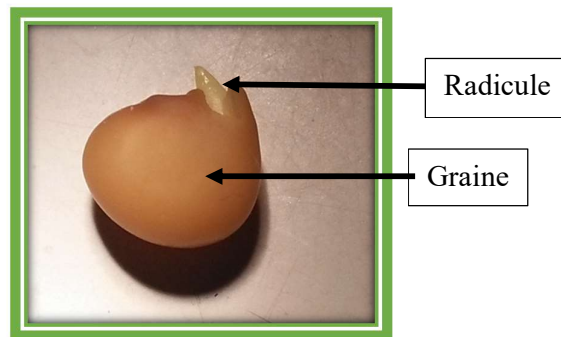


Figure 32 : La germination des graines et le début de la croissance de l'embryon *Retama monosperma*

g. Type de germination des graines *Retama monosperma*

Après un suivi de la germination nous avons remarqué que notre espèce a une germination de type épigée.

h. Levée de dormance

Afin d'effectuer une levée de dormance tégumentaire, on a suivi la procédure de scarification chimique et ramollir le tégument par l'acide sulfurique pur (fig. 33).

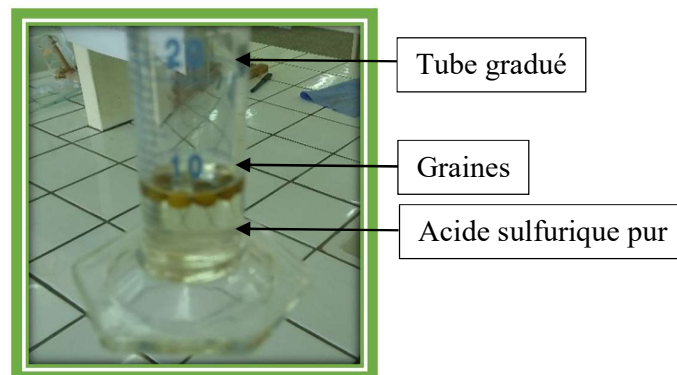


Figure 33 : Pré-trempage des graine *R. monosperma* dans de l'acide sulfurique

i. Teste de viabilité**o. Teste via la germination**

Après avoir constaté une dormance tégumentaire chez le *R. monosperma*, et a fin s'assurer que nos graines sont bien des graines viables, avant la mise à conservation, on a prélevé dix graines comme échenillions, on a appliqué une levée de dormance à l'acide sulfurique (fig. 33). Puis en a procéder au test de la germination (fig. 34).

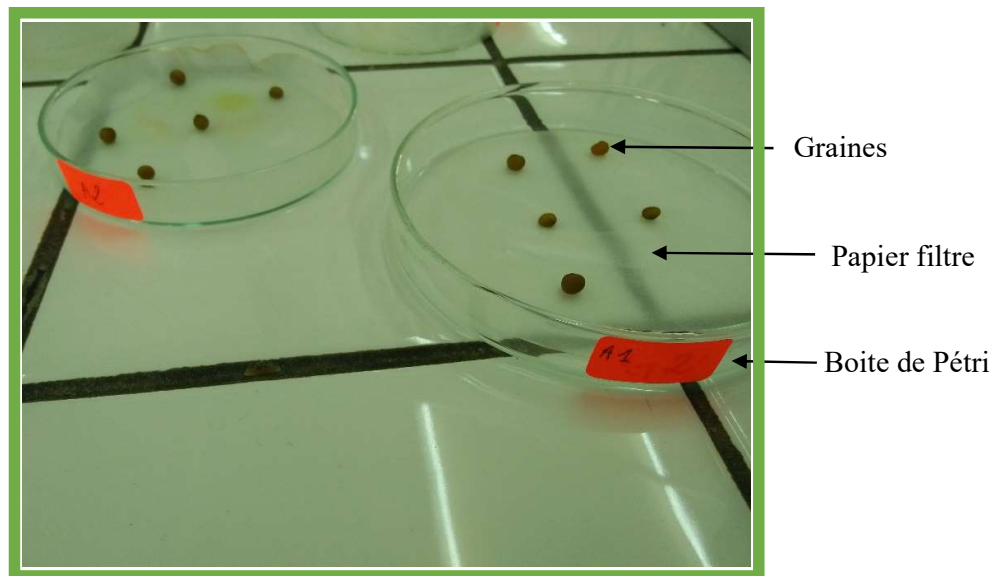


Figure 34 : La mise à germé des graines de *R. monosperma* au laboratoire

○ **Teste de tétrazolium**

Pour s'assurer la viabilité de nos graines avant la conservation au froid on a effectué le teste de tétrazolium a une concentration de 0.5 % pendant 24 h à 30 °C dans un milieu humide nous a donner le résultat suivant là (fig. 35).

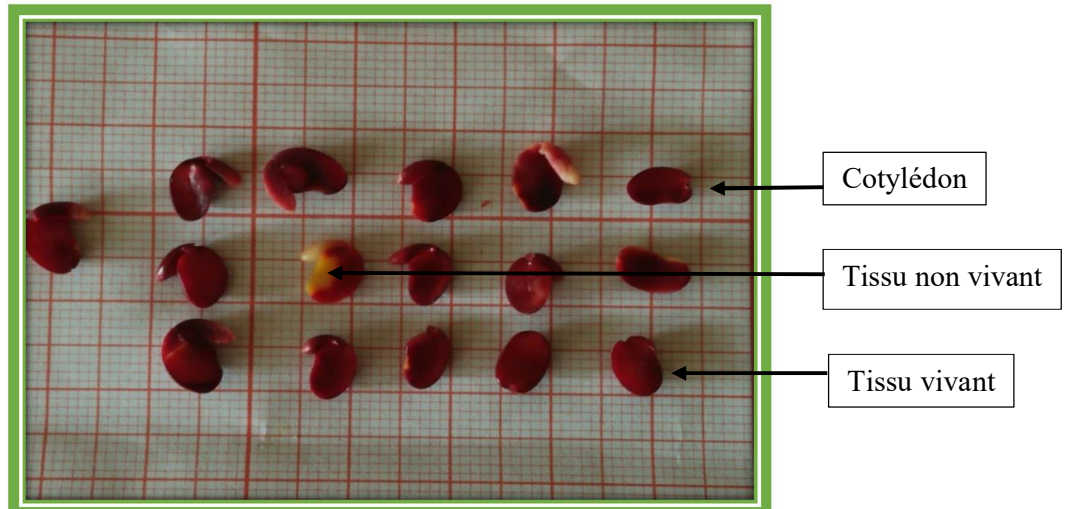


Figure 35 : Résultat des graines testées au tétrazolium

Les essais de germination effectués sur les graines de *Retama monosperma* aux différentes températures ont fait ressortir une absence de germination chez les graines témoins n'ayant subi aucun traitement préalable.

Selon les résultats observés dans la (fig. 35) que les graines se sont colorées en rouge ce qui indique que les cellules sont vivantes et viables, donc le test de viabilité au tétrazolium montre que les graines

Retama monosperma sont viables à 99 % et prête à été conservés, par manque de temps à cause de la crise sanitaire les essais de germination après la conservation n'ont pas été réalisés.

Le résultat, c'est que les graines viables sont en dormance. Nous n'avons pas fait les travaux pour identifier le type de dormance.

Le test topographique au tétrazolium est un essai biochimique reconnu comme un moyen d'estimation précis de la viabilité des semences (Copeland et McDonald 1995).

VI.1.2 Marrubium vulgare

1. Description de graines

a. Morphologie

La forme générale des graines est très similaire, étant elliptique à oblongue qui contient trois faces et avec un hile visible et un sillon plus ou moins perceptible, la structure externe est caroncule, la couleur de la graine est noire (fig. 36). Les graines ont une longueur moyenne de 2,1 mm, une largeur moyenne de 1,1 mm et une épaisseur moyenne de 0,8 mm.

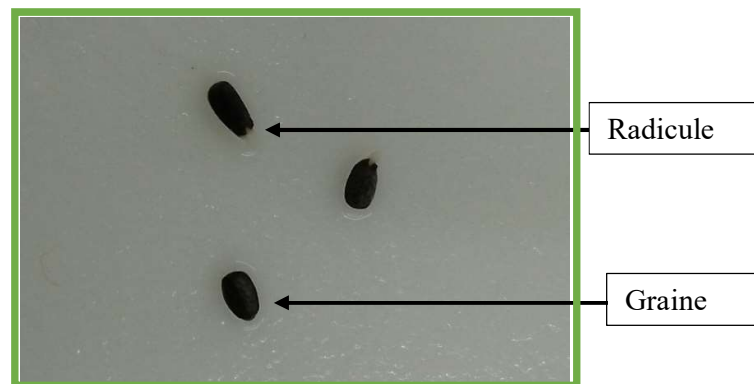


Figure 36 : Morphologie de la graine de *M. vulgare*

b. Anatomie

Une coupe longitudinale ou niveau de la graine de *M. vulgare* nous a permis de distinguer de l'extérieur vers l'intérieur : un tégument externe épais, un tégument interne mince et membraneux, l'albumen et l'embryon (fig. 37).

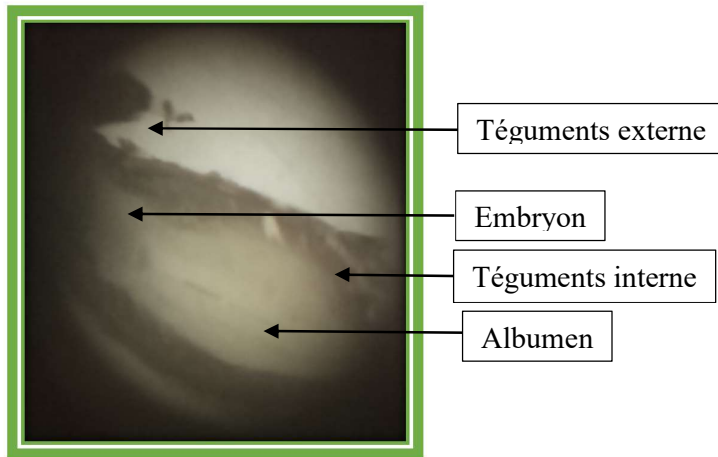


Figure 37 : Anatomie d'une graine de *M. vulgare* vue en coupe longitudinale à la loupe (Gr : x10)

c. Type de graine

Une graine albuminée qualifie une graine dans laquelle l'albumen est développé en structure de réserve. Se dit d'une graine dont la plantule est entourée de l'albumen chez les angiospermes ou de l'endosperme chez les gymnospermes. Selon (fig. 37) nous avons constaté que l'albumen représente une mince couche dans la périphérie de la graine et les réserves nutritifs sont stockés dans les cotylédons, alors la graine du *M. vulgare* est considérée comme ex albuminée.

d. Description de la germination

La germination est la reprise du métabolisme d'un embryon, jusqu'à ce qu'il devienne une jeune plante autotrophe. Elle est exprimée d'abord par le gonflement des graines jusqu'elles deviennent de jeunes plantules (fig. 38).

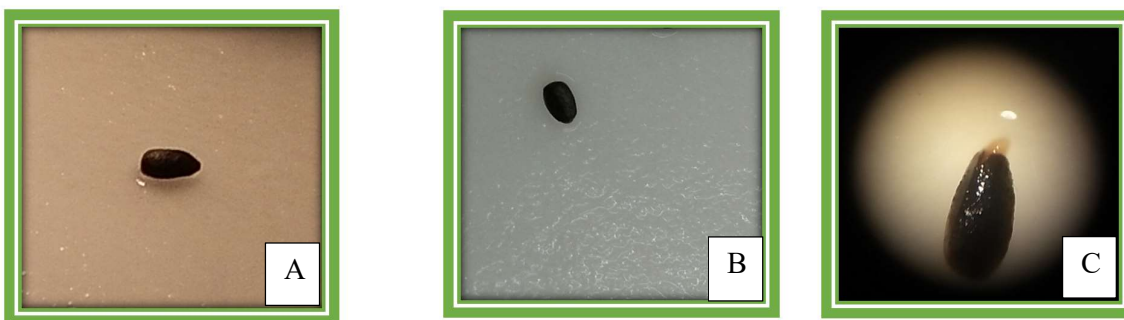


Figure 38 : Suivi de la germination des graines et le début de la croissance de l'embryon **A** : graine de *M. vulgare* avant la mise en germination ; **B** : imbibition et gonflement de la graine (1^{er} jour après mise en germination) ; **C** : la percer de la radicule et sa sortie (début de la croissance)

e. Type de germination des graines *Marrubium vulgare*

Après un suivi de la germination nous avons remarqué que notre espèce à une germination de type épigée.

Le suivi de la germination des graines après une conservation à 5 °C et -20 °C pendant deux durées nous a permis d'enregistrer des valeurs de chaque paramètre et de les comparer avec les lots témoins afin d'évaluer la viabilité des graines conservées.

2. Critère de germination

Nous avons adopté la définition de Côme (1970) qui considère qu'une graine est germée lorsque la radicule arrive à percer les enveloppes (téguments) et devient visible à l'œil nu.

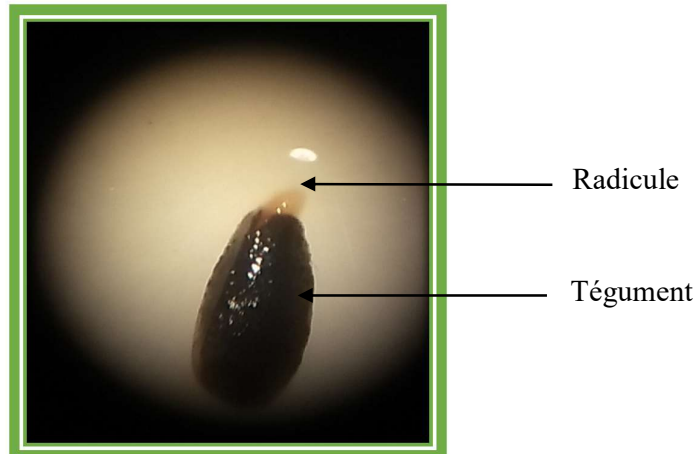


Figure 39 : Graine germée *Marrubium vulgare* (Cliché : AKKAL Fatima Zohra et BENDIMERED Mustapha, 2019)

Le suivi de la germination des graines, a été effectué sur une période de 21 jours d'observation pour les graines conservées a 30 jours, pour les deux températures (5 et -20 °C), et pour la période de conservation a 45 jours le suivi est arrêter le 6ème jour de l'observation, les résultats de 45 jour sont comparer avec les résultats de 30 jours de conservation à 6 jour du suivi.

Le suivi de 21 jours est montré apparts, il n'e pas comparer avec aucun des résultats de la conservation a 45 jours.

1. Temps de latence (TL)

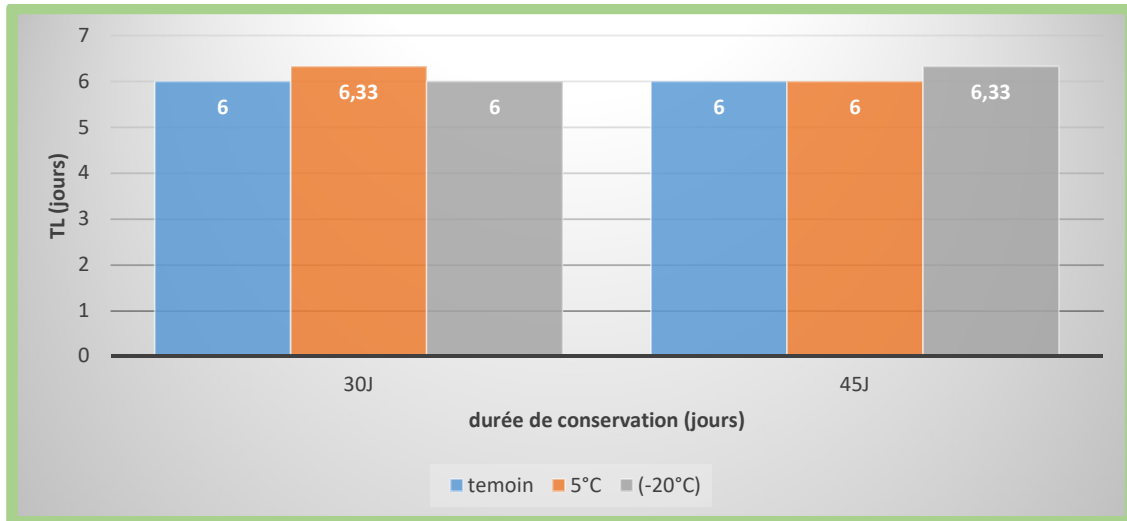


Figure 40 : Moyenne de 3 répétitions de Temps de latence (TL) des graines du témoin, et celle des graines conservées au froid (5 °C, -20 °C) de *M. vulgare* pendant 30 et 45 jours

Selon la (fig. 40) le temps de latence le plus long a été noté 6.33 % chez les graines conservées dans les températures (5 °C) de 30 jours et (-20 °C) de 45 jours par rapport au témoin, mais pour les autres le TL est le même.

2. La Capacité de germination de l'espèce *Marrubium Vulgare* (CG)

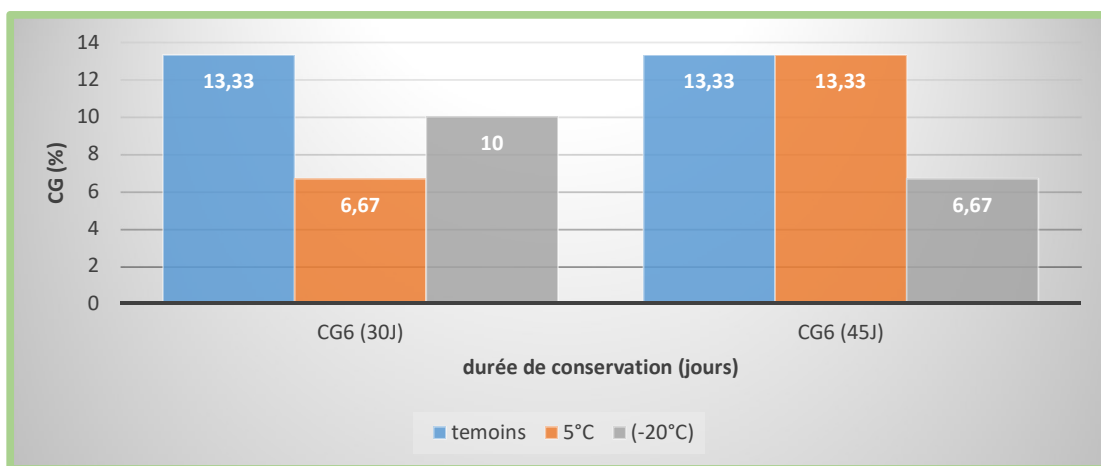


Figure 41 : Moyenne de 3 répétitions du Capacité de la germination du témoins et des graines conservées au froid (5 °C, -20 °C) de *M. vulgare* pendant 30 et 45 jours après 6 jours d'observation

Une diminution de la capacité de germination après 6 jours d'observation des graines de *Marrubium vulgare* qui sont conservées à deux températures (5 °C, -20 °C) de 30 jours et (-20 °C) de 45 jours de conservation par rapport au témoin.

Mais la capacité de germination des graines conservées pendant 45 jours à la température (5 °C) a été constante.

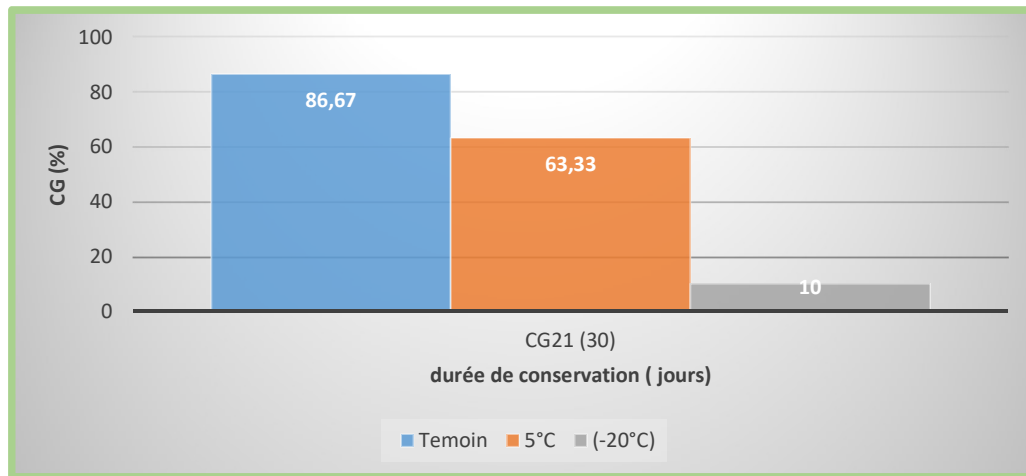


Figure 42 : Moyenne de 3 répétitions du Capacité de la germination du témoin et des graines conservées au froid (5 °C) de *M. vulgare* pendant 30 jours à 21jours d’observation

La capacité de germination après 21 jours d’observation a enregistré une régression pour la température de (5 °C) de la période 30 jours de conservation.

3. Evolution de la capacité de germination en fonction du temps

a. Conservation à 5 °C

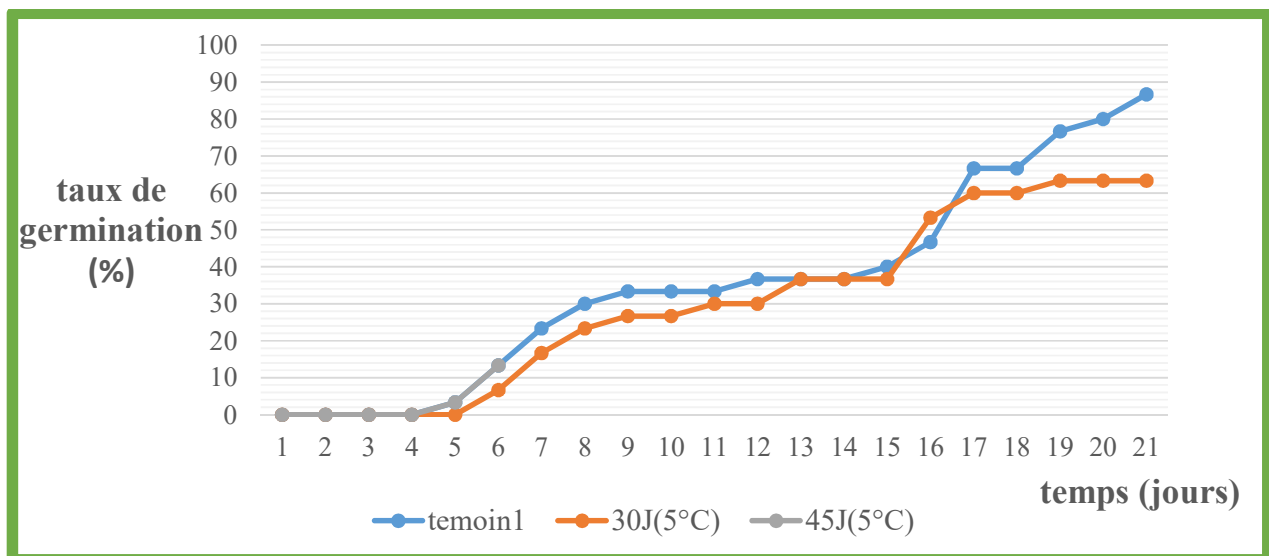


Figure 43 : Cinétique de la germination des graines de *Marrubium vulgare* après une conservation au froid à 5°C de 30 jours et 45 jours

Les courbes de germination représentées par la (fig. 43) montrent que quelle que soit la durée à (5 °C), la germination ne s’est déclenchée qu’à partir du 5ème jour pour 30 jours de conservation et son témoin et atteint un maximum de 65 % le 21ème jours pour 30 jours et 90 % pour le témoin. La

germination des graine conservées pendant la durée 45 jours elle débute le 4^{ème} jour est atteint le maximum de 15 % le 6^{ème} jours comparativement au témoin de 45 jours, le 4^{ème} elle débute de germer jusqu'à le 6^{ème} jour qui a atteint 20 %

b. Conservation à -20 °C

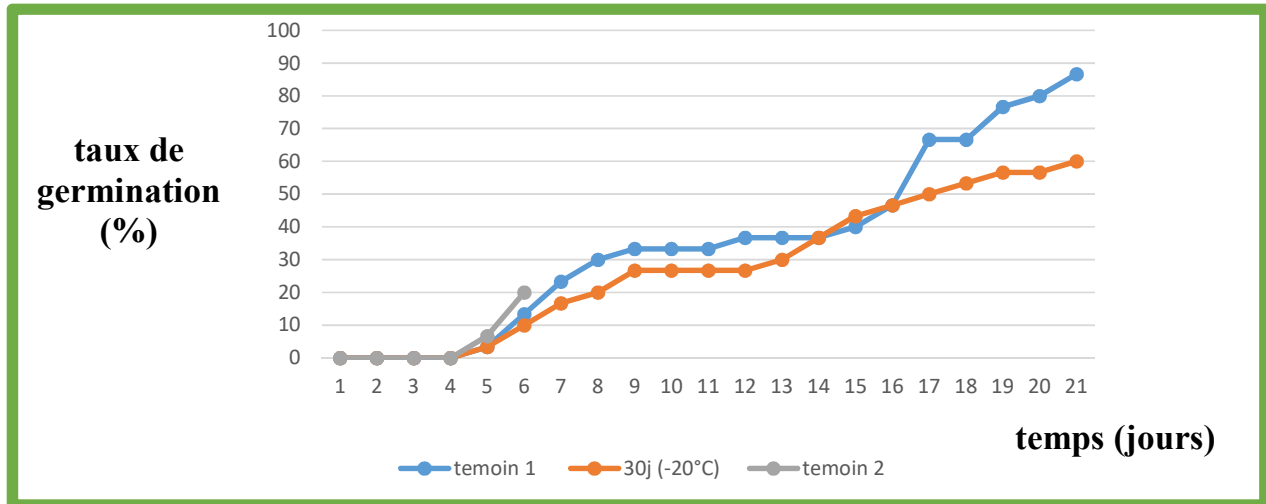


Figure 44 : Cinétique de la germination des graines de *Marrubium vulgare* après une conservation au froid à (-20 °C) de 30 jours et 45 jours

Les courbes de germination représentées par la (fig. 44) montrent que le taux de germination des graines varie selon la durée de la conservation à (-20 °C) pour les graines conservées pendant la durée de 30 jours et le témoin correspondant à ce mois il débute le 4^{ème} jour pour attendre le 21^{ème} jour par un pourcentage de 60 % pour 30 jours et 90 % pour le témoin. La germination des graines conservées pendant 45 jours commence au 4^{ème} jour et le témoin aussi et les deux atteint au 6^{ème} jour par un pourcentage de 20 % pour les deux.

4. Le coefficient de vélocité (CV)

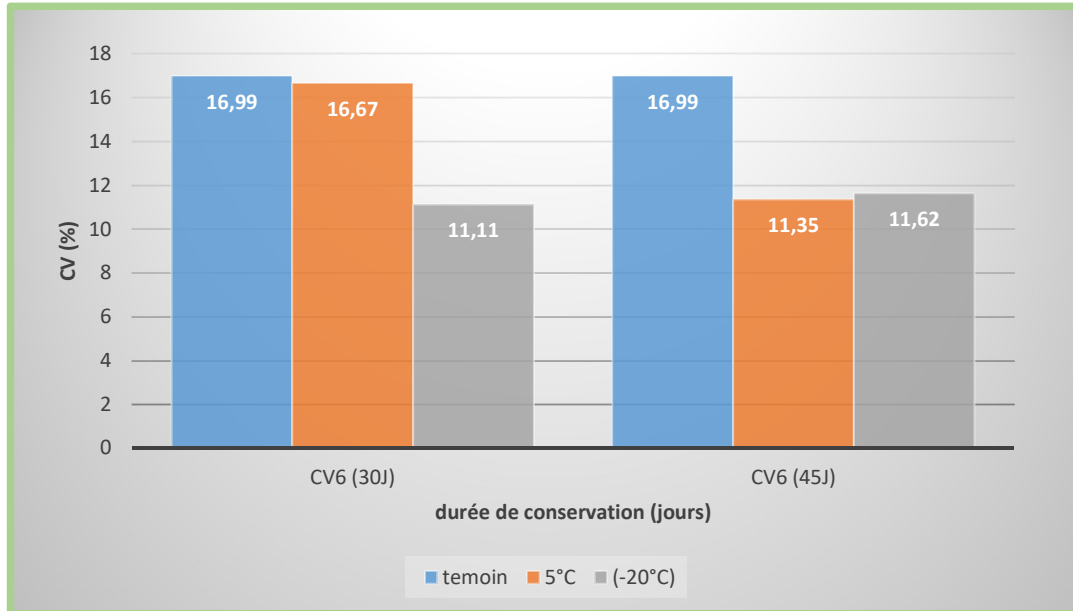


Figure 45 : Moyenne de 3 répétitions du coefficient de vélocité (CV) a 6 jours d'observation, des graines du témoin et celle des graines conservées au froid (5 °C, -20 °C) de *M. vulgare* pendant 30 et 45 jours

On observe une diminution de la vitesse de germination (CV), après 6 jours d'observation des graines de *Marrubium vulgare* qui sont conservées à deux températures (5 °C, -20 °C) de deux durées 30 et 45 jours par rapport au témoin (16.99 %).

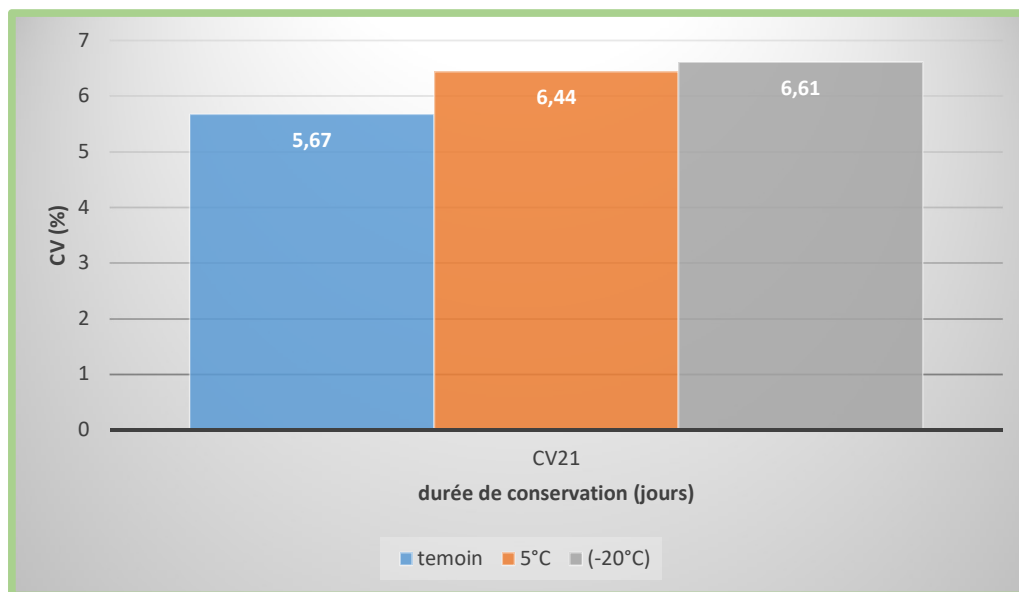


Figure 46 : Moyenne de 3 répétitions du coefficient de vélocité (CV) a 21 jours d'observation, des graines du témoin et celle des graines conservées au froid (5 °C, -20 °C) de *M. vulgare* pendant 30 jours

On remarque une augmentation du coefficient de vélocité (CV), après 21 jours d'observation pour la durée de conservation de 30 jours à la température de (5 °C) par rapport au témoin.

5. Temps moyen de germination (TMG)

Vu que la vitesse de germination augmente, et on sachant que le temps moyen de germination est égale à $\frac{1}{cv}$ et en suivant nos calculs on a observé une augmentation du temps moyen de germination des graines de *Marrubium vulgare* conservées après 6 jours d'observation à deux températures (5 °C, -20 °C) de deux durées 30 et 45 jours par rapport au témoin.

Par contre l'observation à 21 jours on a remarqué une diminution de TMG à la température de (5 °C) de 30 jours de conservation.

VI.2 Discussion des résultats

L'absence de germination est également notée chez les graines pré-trempées pendant 24 h à l'eau distillée à 20 °C, prétraités au froid à 5 °C pendant 24, 48 et 72 h, aux températures élevées (60 °C, 80 °C, 100 °C) pendant 1, 24 et 48 heures. Ces prétraitements réputés dans l'élimination des inhibitions chimiques tégumentaires et des dormances embryonnaires (Come, 1982 ; Heller *et al.*, 1990 ; Macheix *et al.*, 2005).

Les graines sont affectées d'une inhibition tégumentaire qui empêche leur germination dans les conditions naturelles. Au laboratoire, cette germination est déclenchée après scarification chimique des graines par l'acide sulfurique pur (Bouredja *et al* 2011).

Dans le cas des graines à téguments durs (dont la dormance est d'origine tégumentaire), une scarification mécanique ou un traitement chimique avec de l'acide sulfurique peuvent être suffisants pour faciliter la levée de dormance (Gomez-Campo, 1985). L'immersion des semences dans l'azote liquide est également un procédé très efficace, car la différence de température qu'elles subissent lors du trempage et au moment de leur retour à l'air provoque de fines craquelures dans les enveloppes qui deviennent alors perméables à l'eau (Côme, 1982).

Donc notre résultat montre que les graines dormantes de *Retama monosperma* sont parfaitement viables, mais elles sont affectées par certains facteurs inhibiteurs qui empêchent la germination, en suivant le protocole de scarification chimique à l'acide sulfurique pendant 4 h pour faire ramollir le tégument (fig. 33).

Les graines de la plupart des espèces végétales peuvent être stockées dans des conditions froides et sèches dans des banques pour de longues périodes de temps et ensuite mises à germer. La capacité des graines à rester en dormance est extrêmement précieuse pour la conservation *ex situ*, car elle permet aux graines d'un grand nombre d'espèces rares d'être congelées et conservées dans un petit espace, avec un minimum de supervision et à faible coût (Primack *et al.*, 2012).

Selon Meddour et Derridj (2007), les trois facteurs qui montrent une influence positive sur la longévité des semences conservées sont : les basses températures, les basses humidités et les faibles teneurs en oxygène. Au lieu de garder leur aptitude à germer pour 5-25 ans ou plus, la plupart des semences, si elles sont correctement conservées dans des conditions de basse température et de faible humidité, peut rester viable durant des centaines d'années. Ainsi que, pour chaque diminution de 1 % de la teneur en eau des graines, la durée de vie est doublée. D'après les travaux de Roberts et Ellis (1977), le doublement de la durée de vie serait en fait obtenu pour une diminution de la teneur en eau de 2.5 % ou pour un abaissement de température de 6 °C. La méthode la plus précise et fiable pour tester la viabilité

des semences est le test de germination. Tandis que de nombreuses méthodes différentes existent pour tester la viabilité des semences ont proposé d'autres tests de viabilité, tel que le test au tétrazolium largement employé pour déterminer la viabilité des semences, est basé sur la réduction des sels de tétrazolium et la formation de formazan rouge par les déshydrogénases des embryons imbibés. Seules les parties vivantes se colorent intensément. L'analyse aux rayons x, également utilisée pour déterminer la viabilité des semences, est basée sur l'imprégnation des téguments et des tissus par une solution de chlorure de baryum suivie d'une radiographie. Elle présente l'avantage de mettre en évidence les parties mortes, imprégnées par le chlorure de baryum qui sont plus contrastées que les parties vivantes non imprégnées (Meddour et Derridj, 2007).

Pour notre cas le test au tétrazolium suffit pour savoir que nos graines sont viables car on a obtenu un résultat à 99 % de pourcentage qui a été montré dans la (fig. 35).

La viabilité des semences est la mesure du nombre de semences dans un lot de semences qui sont vivantes et peuvent se développer en plantes qui vont se reproduire dans les conditions appropriées (Rao *et al.*, 2006).

Pour toutes les espèces végétales, la température de conservation des graines reste un problème à résoudre, car pour chaque espèce, les graines se comportent différemment vis-à-vis de la température. C'est dans ce contexte qu'on a mené une étude de l'influence du froid (5 °C) et (-20 °C) sur la viabilité à courte durée (30 et 45 jours) des graines de cette espèce.

Dans notre étude, nous avons utilisé le test de germination pour déterminer quelle proportion de semences va germer dans des conditions contrôlées (température et obscurité).

Park (2013), dans ses travaux sur la conservation de quelques espèces menacées de la Nouvelle-Zélande, a indiqué qu'aucune perte de viabilité des semences n'a été détectée à toute combinaison de (20 °C), (5 °C) ou (-20 °C). Les graines de *Clanthus maximus* gardent une viabilité de 99 % après 210 jours de stockage, même pour *Mysotidium hortensium* conservée à la même température, garde leur pourcentage de germination initial de 85,5 %, mais la viabilité a diminué progressivement après 30 mois de stockage et pour toutes les températures de conservation. Mineau et Puech (1985) ont montré qu'après 30 jours de stockage, tous les lots de *Bromus erectus* Huds récoltés germent à plus de 90 % à la lumière comme à l'obscurité.

Les taux métaboliques de stockage peuvent également être réduits au minimum avec des températures basses, à la fois pour les orthodoxes et pour les semences récalcitrantes. La teneur en humidité détermine à quel point les températures basses peuvent être réglées pour le stockage des

semences de congélation à (-15 °C), 20 % est la limite d'humidité supérieure approximative, au-dessous de (-15 °C), la limite est d'environ 15 % (Bonnier, 2008).

Nous n'avons pas conservé les graines de *Marrubium vulgare* durant une longue période pour cela, on n'a pas pu finir les travaux après la conservation. Donc nous allons ouvrir les portes aux chercheurs pour terminer notre expérience et afin de trouver de meilleurs résultats.

Dans d'autres travaux sur des graines de plantes de montagne, qui sont naturellement sujettes à une saison froide, un traitement par le froid est nécessaire. La dormance embryonnaire s'élimine habituellement par stratification, en plaçant les semences dans un milieu humide, à des températures basses mais positives. Il est important de noter que le froid doit être appliqué aux graines imbibées. Un traitement d'un ou quelques mois à une température de l'ordre de 5 °C suffit dans la plupart des cas (Côme, 1982).

Dans nos résultats d'essais de test de germination des graines *Marrubium vulgare* à 100 % sont des graines germées et sont toutes viables.

Selon la (fig. 40) du temps de latence, et d'après les résultats on est arrivé à dire que le froid a ralenti l'enclenchement de la germination.

Dans nos résultats obtenus qui mettent en évidence l'influence de la conservation au froid sur le pouvoir germinatif des semences *M. vulgare* sachant qu'une diminution de la capacité de germination après 6 jours d'observation à deux températures (5 °C, -20 °C) de 30 jours et (-20 °C) de 45 jours et de (5 °C) pour la période 30 jours après 21 jours d'observation par rapport au témoin. Mais la capacité de germination des graines conservées pendant 45 jours à la température (5 °C) a été constante.

Nos résultats montrent que la vitesse de germination après la conservation des graines de *M. vulgare* a diminué après 6 jours d'observation à deux températures (5 °C, -20 °C) de deux durées 30 et 45 jours par rapport au témoin (16.99 %), donc il est possible que les cellules embryonnaires ont été endommagées.

On remarque que la vitesse des germinations des graines de *Marrubium vulgare* conservé à 5 °C de 30 jours après une observation de 21 jours, cela veut dire que le froid a affecté positivement les graines de *Marrubium vulgare*.

La conservation des graines *Marrubium vulgare* au froid (5 °C, -20 °C) a un effet négatif sur la viabilité des graines.

Conclusion

Conclusion

Une banque de semences, stocke les graines afin de préserver la diversité génétique ; par conséquent, c'est un type de banque de gènes .

Il y a plusieurs raisons pour stocker les graines : avoir à disposition les gènes dont les phytogénéticiens ont besoin pour augmenter le rendement, la résistance aux maladies, tolérance à la sécheresse, la qualité nutritionnelle des cultures, le goût, etc.

Une autre consiste à prévenir la perte de la diversité génétique des espèces végétales rares ou en péril dans le but de conserver la biodiversité ex situ. De nombreuses plantes qui ont été utilisés par les humains depuis des siècles sont moins fréquemment utilisées maintenant.

Les banques de semences offrent un moyen de préservation de la valeur historique et culturelle des collections de graines stockées à basse température constante et une faible humidité sont protégées contre la perte des ressources génétiques qui sont par ailleurs maintenues in situ ou dans les collections de terrain.

L'objectif fixé dans le présent travail est de connaître l'influence de la conservation au froid sur la viabilité des graines de ces espèces.

Les résultats ont montré que les graines de *Retama monosperma* sont dormantes ce qui nécessite des techniques de lever de dormance.

Marrubium vulgare est affectée négativement par une conservation de faible durée au froid 5 °C et à la congélation -20 °C.

Il serait souhaitable de poursuivre cette étude et de compléter ces résultats en utilisant des graines fraîchement récoltées ; multiplier les répétitions et augmenter le temps d'observation.

Enfin, la création de ces banques de semences pour les plantes rares ou endémiques en Algérie est plus que souhaitable.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- A.N.N., 2001.** Agence Nationale pour la Conservation de la Nature, Connaissance, Valorisation et Contrôle de l'Utilisation de la Flore Sauvage en Médecine Traditionnelle (Plantes Médicinales). 21p.
- ALLAL-BENFAKIH I., 2006 .**Recherche quantitatives sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* (Orth.Oedipodinae) dans le Sahara algérien. Perspectives de lutte biologique à l'aide de microorganismes pathogènes et de peptides synthétiques .thèse de doctorat N°17-2006.UNIV de limoge. Laboratoire UMR INRA 1061 Institut National Agronomique d'El Harrach.p27.
- ALLEN O.N. & E.K. ALLEN., (1981).** *The leguminosae a source book of characteristics uses and nodulation.* 806p.
- AMMARI S., 2011.** Contribution à l'étude de germination des graines des plantes sahariennes broutées par le dromadaire. Thèse de master 46p.
- ANONYME., 2012.** B.wjebb ; 2012.66
- BACHIRI Y., GAZEAU C., HANSZ J., et al. 1995.** Successful cryopreservation of suspension cells by encapsulation-dehydration. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 43: 241-8pp.
- BAHI, K., 1991.** contribution à l'étude de la feuille de palmier de la tige de *Retama* (*Retam* et *Retama monosperma*) anatomie, histologie et biométrie des fibres. 200p
- BELLAKHDAR J., 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. (Paris, France : Ibis Press), p. 676.
- BELMOKHTAR Z., 2005.** Analyse qualitative et quantitative des protéines totales du genre *Retama* : *R. monosperma*, *R. raetam* et *R. sphaerocarpa*. Thèse de magister (Université des Sciences et de la Technologie d'Oran : Mohamed Boudiaf (USTOMB)).
- BENISTON NT-WS., 1985.** fleurs d'Algérie. Entreprise nationale des arts graphiques. Éd, Reghaia. Algérie. 112p.
- BENRAHMOUNE I Z., 2003.** Invitation à l'Amour des plantes – Réserve biologique de Sidi-Boughaba. Éd. Scriptr. Al maarif al Jadida, Rabat, 318p.
- BONNER F.T., VOZZO J.A., ELAM W.W., LAND S.B., 1994.** Tree Seed Technology Training Course. Instructor's Manual. General Technical Report SO-106, Southern Forest Experiment Station, New Orleans, Louisiana.
- BONNIER G., 1909.** La Végétation de la France, Flore Complète, Tome 09, Ed : Suisse et Belgique, Paris. 25-26pp.
- BOUATTOURA N., 1988.** Les Ressources Phytogenétiques, Importance, Presentation, Utilisation, Programme En Cours, Annales de l'Institut national agronomique El Harrach Volume 12, Numéro 1., Pages 43-69.

- BOUKEF M. K., 1986.** Médecine Traditionnelle et Pharmacopée, Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France. Volume 1, 163-164pp.
- BOUREDJA N., 2013.** Effets de quelques prétraitements physico—chimiques sur la levée de l'inhibition tégumentaire des graines de *Retama monosperma* Boiss. et recherches des conditions thermiques optimales de germination. 12p.
- BOUTERFAS K., MEHDADI Z., LATRECHE A et AOUAD L., 2014.** Pouvoir antimicrobien des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* (L.) en provenance du mont de Tessala (Algérie occidentale). Phytothérapie. 12. 6-14pp.
- BRONGNIART AD, DECAISNE J., 1843.** Annales des sciences naturelles. Seconde série. Tomme xx-botanique. Paris. Fortin, Masson ans C libraire. Ed : place de l'école de médecine, N.11843Pb : S. n ; 1843 copies de l'exemplaire de l'université Compétence de Madrid. Numérisé le 02/06/2008.
- BRUNETON J., 2001.** Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 2ème Ed : TEC et DOC, Paris. 337p.
- CHEIKH S., 2010.** contribution à l'étude du *Retama monosperma* (L) boiss. Sur le littoral Ouest de Mostaganem. Faculté de science de la nature et de la vie. Département de sciences agronomiques. Année universitaire : 2009/2010.
- COME D., 1982.** Les semences, organes de survie, In « Conservation et stockage des graines.
- COME D., 1970.** Les obstacles à la germination. Masson & Cie ed. 135 p.
- COSTE H., 1998.** Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes, Librairiescientifique et technique Albert Blanchard, Paris.
- CRETE P., 1965.** Précis de Botanique : Systématique des Angiospermes, Tome II, 2e Ed : Masson, Paris. 368-371pp.
- CROMARTY A., 1984.** Techniques for drying seeds. pp. 88-125 in Seed Management Techniques for Genebanks (J.B. Dickie, S. Linington and J.T. Williams, eds.). International Board for Plant Genetic Resources, Rome.
- DAMERDJI A et CHEKROUNI I., 2013.** L'Arthropodofaune du *Marrube* (*Marrubium vulgare* L.) (Lamiaceae) dans la région de Tlemcen : Diversité et aperçu bioécologique.
- DELLAFIORE, C M., GALLEGGO-FERNANDEZ, J B., MUNOZ-VALLES, S., 2010.** The rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) as a seed disperser in a coastal dune system. *Plant Ecol.* 206,251–261pp.
- DEREUDDRE J., SCOTTEZ C., ARNAUD Y., DURON M., 1990.** Résistance d'apex caulinaires de vitroplants de poirier (*Pyrus communis* L. cv. Beurré Hardy), enrobés dans l'alginat, à une déshydratation puis à une congélation dans l'azote liquide : effet d'un endurcissement préalable au froid. CR Acad. SCI Paris, Sera 111 ; 310: 317-23pp.
- DAHRA A. B., 2014.** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydant, anti hépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L, Thèse de Doctorat, Université Badri Mokhtar – Annaba. 200p.

- DUET D., ENGELMANN F., CHABRILLANGE N., et al., 1993.** Importance of sucrose for the acquisition of tolerance to desiccation and cryopreservation of oil palm somatic embryos. *Cryo-Letters* 14: 243-250pp.
- DUPONT F et GUIGNARD J. L., 2007.** Abrégés botanique systématique moléculaire. 14^{ème} édition révisée, Masson.
- EL-HAMROUNI A., 2001.** Végétation forestier et pré forestier de la Tunisie 220p.
- EMBERGER L., 1936-1955.** Remarques critiques sur les étages de végétation dans les montagnes marocaines. *Bull. Soc. Bot. Suisse*, vol. jub. Inst. Rubel 46: 614-631pp.
- ENGELMANN F., 1997.** Importance of desiccation for the cryopreservation of recalcitrant seed and vegetatively propagated species. *Plant Genet ResNews*, pp. 112: 9-18.
- ENGELMANN F., 1997.** In vitro conservation methods. In : Ford-Lloyd BV, Newbury JH, Callow JA, eds. *Biotechnology and plant genetic resources : conservation and use*. Wellingford : CABI, pp. 119-162.
- ENGELMANN F., DUSSERT S., 2000.** Développement de la cryoconservation pour la conservation des ressources génétiques végétales. *Cahier Agricultures* 9: 237-245pp.
- FAHY G.M., MACFARLANE D.R., ANGELL C.A., et al., 1984.** Verification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology* 21: 407-26pp.
- FARCHICHI A., 1997 :** la lutte contre l'ensablement et pour la stabilisation des dunes : Essai de la fixation biologique des dunes en Tunisie présaharienne. *Recherches sur la désertification dans la Jeffara*. *Rev. Tunis. Geogr.* 12 : 49-102pp.
- FORKEL., 1775. BOURDJA N., 2005 :** étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foiaires de *Retama monosperma* (boiss) : mémoire de magister UNVI. Des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf (U.S.T.O) Oran.
- GATTEFOSSE J., 1957.** Végétaux spontanés marocains : commerce, industrie. C. R. Séances société des sciences naturelles et physiques, Maroc.
- GILIBERT J. E., 1798.** Histoire des plantes d'Europe, Lyon, t. I.
- GIMENO-GILLES C., 2009.** Etude cellulaire et moléculaire de la germination chez *Medicago truncatula*, Thèse de doctorat, Université d'Angers. 175p.
- GODEFROID S., PIAZZ C., Rossi G., et al. 2011.** How successful are plant species reintroductions. *Biological Conservation* 144: 672–82pp.
- GOMEZ-CAMPO C. 1985.** Seed banks as an emergency conservation strategy. In Gomez-Campo C. (ed.), "Plant conservation in the mediterranean area". Dr. W. Junk Publ., Dordrecht, pp : 237-247.
- GUERRANT E.O. et al., 2004.** Ex situ conservation supporting species survival in the wild. Island press. Washington.
- HAASE, P., PUGNAIRE, F I., FERNANDEZ, E M., PUIGDEFA-BREGAS, J., CLAK, S C., INCOLL, L D., (1996).** Investigation of rooting depth in the semi-arid shrub *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss by labelling of ground water with a chemical trace. *Hydrol.* (177) 23-31pp.

- HADJ BRAHIM H., 2013** : approche phytoécologique du *Retama monosperma* (L) boiss pour la fixation des dunes de sable : cordon dunaire de Mostaganem. Faculté de science de la nature et de la vie. Département de sciences agronomiques. Année universitaire : 2012/2013.
- HELLER R., 1990.** Physiologie végétale développement, Paris : Masson. 266p.
- HONG T.D., ELLIS R.H., 1996.** A protocol to determine seed storage behaviour. IPGRI technical bulletin n°1. International Plant Genetic Resources Institute, UK, 61 p.
- IBPGR., 1982.** Report of the first meeting of the IBPGR ad hoc advisory committee on seed storage. Intl. Board for Plant Genet. Resources Secretariat, Rome.
- IGHILHARIZ ; 1990** : étude du comportement physiologique, biochimique et structurale du rotama retam vis-à-vis du NaCl. Thèse de Magister université d'Oran Algérie, 120p.
- JOHNSON R.C., 2008.** Gene Banks Pay Big Dividends to Agriculture, the Environment, and Human Welfare Plos biology 6: e148.
- JUDD W. S., CAMPBELL C. S., KELLOGG E. A et STEVEN P., 2002.** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique, Paris et Bruxelles. 369-384pp.
- KARTHA K.K., ENGELMANN F., 1994.** Cryopreservation and germplasm storage. In : Vasil IK, Thorpe TA, eds. Plant cell and tissue culture. Dordrecht : Kluwer, pp. 195-230pp.
- KRISHNAPILLAY B., MANSOR M., Yap S.K., CHUA L.S.L., ANG K.C., BAKAR S.A.A., SALLEH Z., 1991.** Determination of seed testing standards - moisture content of *Hopea odorata* seeds. *J. Tropical For. Sci.* 4 : 170-178pp.
- LABERCHE J.-C., 2001.** BIOLOGIE VÉGÉTALE. (3. édition, Éd.) Paris: Dunod. 305p. Consulté le 08/08/2020.
- LAFON J., 1998.** Biologie des plantes cultivées « Physiologie du développement, génétique et amélioration », 2^{ème} édition. Tome 2. Lavoisier. Tec et Doc, Paris.
- LAUMONNIER R., 1978.** Cultures légumières et maraichères. Ed J-B. Baillière. Paris. 246p.
- LESLEY B., 2011.** Plantes aromatiques et médicinales, Paris : Larousse. 304p.
- MAGHRANI M et al., 2005.** Acute diuretic effect of aqueous extract of *Retama raetam* in normal rats. Journal of ethnopharmacology. Science direct. Volume 99, issue1 p31-35.
- Maghraoui E., 2016.** Contribution à l'étude du *Retama monosperma* L. Boiss. Dans le littoral de Mostaganem. Faculté de science de la nature et de la vie. Département de sciences agronomiques. Année universitaire : 2015/2016.
- MAIRE, R., 1987.** Flore de l'Afrique du nord. Encyclopédie biologique L. Éd : de CHEVALIER. Paris. Volume XVI.300p.
- MAZLIAK P., 1982.** Croissance et développement, Physiologie végétale, T2.Harmann, Paris. 465p.
- MAZUR P., 1984.** Freezing of living cells : mechanisms and applications. Am. J. Physiol. 247p.
- MEDDOUR R., Derridj A., 2007.** Les banques de semences : une stratégie de conservation EX SITU des plantes et endémiques. Revue Campus (5) : 71-79pp.

- MEDDOUR R., Derridj A., 2007.** Les banques de semences : une stratégie de conservation EX SITU des plantes et endémiques. *Revue Campus* (5) : 71-79pp.
- MEGDAD N., 1988 :** initiation à la microscopie photonique et électronique et leur application sur quelque plantes des haut plateaux Algérienne : *Lygeum, Stipa, Retama*.
- MELIANI S., 1993 :** contribution à la recherche de nodosité dans le système racinaire de *Retama monosperma*.
- MEYRE S. C., YUNES R. A., SCHLEMPER V., CAMPOS-BUZZI F et CECHINEL-FILHO V., 2005.** Analgesic potential of *Marrubium* derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae), *Il Farmaco*. 321–326pp.
- MITTLER R., et al., 2000.** Living under a dormant canopy: a molecular acclimation mechanism of the desert plant *Retama retam*. *The plant journal*. Blackwell ScienceLtd. (2001) **25**(4), 407-416pp.
- MOROT-GAUDRY J.F., MOREAU F., Prat R., MAUREL C., SENTENAC H., 2009.** Biologie végétale, Nutrition et métabolisme. Paris, France Duno (éd.).
- MUNOZ-VALLES, S., JUAN, B., GALLEGO, F., CLAUDIA, D., JESUS., C. 2013.** Long-term spatio-temporal expansion of the native-invasive *Retama monosperma* on coastal dunes: Importance of land-use and natural dispersal vectors. *Flora* (4) 259–267pp.
- N. Kameswara Rao et al., 2006.** *Manuels pour les banques de gènes* No. 8, Rome, Italie. 165.
- NAUROY J., 1954.** *Contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine traditionnelle (drogues végétales)*, th. doct. Univ. Paris (pharmacie), Paris, Jouve, *In Unesco. Recherche sur la zone aride – XIII – Les plantes médicinales des régions arides*, sur le site unesdoc.unesco.org/images/0006/000681/068198fo. Pdf. document consulté : 15/032013
- NELSON M. P et VUCETICH J. A., 2009.** *Conservation biology*. 65-73pp.
- NINO T., SAKAI A., YAKUWA H., et al. 1992.** Cryopreservation of in vitro-grown shoot tips of apple and pear by vitrification. *Plant Cell Tissue Org. cult.* 28: 261-266pp.
- OZENDA ., 1982 IN BOUREDJA.N., 2005 :** étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de *Retama monosperma* (boiss) : mémoire de magistère. Univ (U.S.T.O) Oran.
- OZENDA P., 1982 –** les végétaux dans la biosphère. Ed. Doin. ISBN 2-7040-0399-8.Paris.
- PANIS B., 1995.** Cryopreservation of banana (*Musa* spp.) germplasm. *Dissertationes de Agricultura*, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium, 205 p.
- PARK M.J., 2013.** Seed storage behaviour of New Zealand's threatened vascular plants, Doctoral thesis, Massey University, New Zealand. 195 p.
- PRIMACK R.B., SARRAZIN F., LECOMTE J., 2012.** *Biologie de la conservation*. (ed.) DUNOD. Paris. 359p.
- QUEZEL ET SANTA ., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie. Tome I.P156-162pp.
- QUEZEL P et SANTA S., 1963.** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Paris : CNRS. 360-361pp.

- RAO N.R., HANSON J., DULLOO, M.E., GHOSH K., DAVID N.D., LARINDE M., 2006.** Manuel de manipulation des semences dans les banques de gènes, Bioversity International. 181p.
- REED B.M., CHANG Y., 1997.** Medium- and long-term storage of in vitro cultures of temperate fruit and nut crops. In: Razdan MK, Cocking EC, eds. Conservation of plant genetic resources in vitro. Vol. 1: General aspects. Enfield: Science Publishers Inc.: pp. 67-105.
- RIGANO D., APOSTOLIDES A. N., BRUN M., FORMISANO C., GRASSIA A., PIACENTE S., PIOZZI F et SENATORE F., 2006.** Phenolic compounds of *Marrubium globosum ssp, libanoticum* from Lebanon, Biochemical Systematics and Ecology. 256-260pp.
- ROBERTSON M. M., 2006.** Frontiers in ecology and the environment. 297-302pp.
- SASAKI S. 1980.** Storage and germination of dipterocarp seeds. Malays. Forester 43:290-308pp.
- SCHÄFER-MENUHR A., MIX-WAGNER G., SCHUMACHER H.M. 1997.,** Cryopreservation of potato cultivars - design of a method for routine application in genebanks. Acta Hort. 447 : 477-82pp.
- SCHLEMPHER V., 1996.** Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues, phytomedicine. 211-216pp.
- SEITZ U. 1987.** Cryopreservation of plant cell cultures. Planta Medica, 4 : 31 1-4.
- SELAMI, N., AURIAC, M C., CATRICE, O., CAPELA, D., KAID-HARCHE, M., TIMMERS, T., (2014).** Morphology and anatomy of root nodules of *Retama monosperma* (L.)Boiss. Plant Soil 379:109–119pp
- SHALABY, A. F., MONAYERI, M. O., ETMAN, M. N., EL HABIBI, A. M., YUCEF, N. M., (1972).** Germination of some desert medicinal plant under different condition. Desert. Inst. Bull., A. R. E., 22(2): 433-444pp.
- SHALLABY A, MONAYER I M, ETMAN MA, EL HABIBI AM, YOUSSEF MP., 1972.** Germination of somme désert médicinal plante une der diffèrent condition. Inst. Bull, ARE, 22N2, 433p.
- SPICHIGER R. E., SAVOLAINEN U. V., FIGEAT M et JEAN-MONOD D. B., 2004.** Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelles des angiosperms des regions tempérés et tropicales, Paris : 3éme édition, Presse polytechnique et universitaire ramande. 413p.
- STEARNS B. P ET STEARNS C. S., 2010.** Bio Science. 141-146pp.
- STEVENS P.F., 2010.** *Angiosperm Phylogeny Website*.
- STOCKER., 1974 :** cours des sylvicultures INA, El Harrach Alger 74p.
- TESSEREAU H., FLORIN B., MESCHINE M.C., THIERRY C., PETIARD V., 1994.** Cryopreservation of somatic embryos: a tool for germplasm storage and commercial delivery of selected plants. Ann. Bot. 74: 547-55pp.
- THOMAS., 1968** Thomas, J.P., 1969.-Ecologie et dynamique de la végétation de la dune littorale dans la région de Djidjelli. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. nord*, 59: 37-98pp.
- UICN France et MNHN., 2009.** La liste rouges des espèces menacées en France – ontexote, enjeux et démarche d’élaboration. Paris. France.

- VASQUEZ, G., RIBAS-MARQUES, I., 1955.** Alcaloïdes de Papilionaceas. Alcaloïdes de la *Genista monosperma* Lam. (*Retama monosperma*), XXVIII Congreso intern. de Quim. ind.. In Unesco. Recherche sur la zone aride – XIII – Les plantes médicinales des régions arides, document consulté sur le site unesdoc.unesco.org/images/0006/000681/068198fo. Pdf. Le 1503/2013
- WANG B.S.P., 1974.** Tree seed storage. Dept. Environ., Can. For. Serv. Publ. No.1335.
- WESLEY-SMITH J., VERTUCCI C.W., BERJAK P., et al., 1992.** Cryopreservation of desiccation-sensitive axes of *Camellia sinensis* in relation to dehydration, freezing rate and the thermal properties of tissue water. *J. Plant Physiol.* 140: 596-604pp.
- WILLAN R.L., 1985.** A Guide to Forest Seed Handling. FAO Forestry Paper 20/2. DANIDA, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- WITHERS L.A., 1985.** Cryopreservation of cultured plant cells and protoplasts. In: Kartha KK, (ed.) Cryopreservation of plant cells and organs. Boca Raton: CRC Press: 243-67pp.
- WITHERS L.A., ENGELMANN F. 1998.** In vitro conservation of plant genetic resources. In: Altman A, ed. Biotechnology in agriculture. New York: Marcel Dekker Inc. 57-88pp.
- ZIMMERMANN A., et al., 2008.** Zoos in the 21st century: catalysts for conservation. Cambridge University press, Cambridge.
- ZOHARY., 1962.** Plant life of Palestine, Israel, and Jordan, Michael Zohary. Ronald, New York.

Les site web

Site web 1 :

<https://www.gnis-pedagogie.org/sujet/conservation-des-ressources-genetiques?fbclid=IwAR24MBKHvt1t7mPy3E1UsVdgkVkJ2WzzpefDzzaxrJgJAuSz0AhSTAYVRbE>, consulté le 20 09 2020

Site web 2 :

https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000068198_fre?fbclid=IwAR2hInNLjbMlohmsBOQXHMELpMK74pF3wQ47c3GsbChvRSMdGXtNNIJq3iE, Consulté le 20 09 2020

Site web 3 : https://www.plantes-botanique.org/famille_fabaceae, Mise en ligne (2012, janvier 29), Consulté le juin 14, 2020.

Site web 4 : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Fabaceae>, Mise en ligne (2020, 05 23), Consulté le 06 20, 2020.

Site web 5 : https://fr.wikipedia.org/wiki/Retama_dasycarpa, Mise en ligne (2019, 02 07). Consulté le 06 20, 2020.

Site web 6 : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Retama>, Mise en ligne (2018, 10 1), Consulté le 06 19, 2020.

Site web 7 :

[https://www.google.com/search?q=Retama+sphaerocarpa+\(L.\)+Boiss&tbm=isch&ved=2ahUKEwiH1v714bvrAhVP4oUKHRL8BJUQ2-cCegQIABAA&oq=Retama+sphaerocarpa+\(L.\)+Boiss&gs_lcp=CgNpbWcQA1CJhAFYiYQBYIaPAWgAcAB4AIABYYgBYZIBATGYAQCgAQGqAQtnD3Mtd2l6LWltZ8ABAQ&scient=img&e](https://www.google.com/search?q=Retama+sphaerocarpa+(L.)+Boiss&tbm=isch&ved=2ahUKEwiH1v714bvrAhVP4oUKHRL8BJUQ2-cCegQIABAA&oq=Retama+sphaerocarpa+(L.)+Boiss&gs_lcp=CgNpbWcQA1CJhAFYiYQBYIaPAWgAcAB4AIABYYgBYZIBATGYAQCgAQGqAQtnD3Mtd2l6LWltZ8ABAQ&scient=img&e),

Site web 8 : <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2013/details/reference/species/11492202>, (S. V.-9. Islands., Éditeur) Consulté le 08 23, 2020.

Consulté le 08 27, 2020,

Site web 9 : <https://www.tela-botanica.org/isfan-nn-147814-synthese> , Consulté le 08 31, 2020

Site web 10 :

https://www.google.com/search?q=marrubium+vulgare&tbm=isch&ved=2ahUKEwjSteH9jKXsAhUQ-YUKHV0_BTEQ2-cCegQIABAA&oq=marru&gs_lcp=CgNpbWcQARgAMgQIIxAnMgIIADICCAAYAggAMgIIADICCAAYAggAMgIIADICCAAYAggAOgUIABCxAzoECAAQQzoICAAQsQMqgwFQv-6PA1jN-I8DYISEkANoAHAAeACAAaUBiAHNBZIBAZAuNZgBAKABAaoBC2d3cy13aXotaW1nwAEB&scient=img&ei=DRR_X5L7E5DylwTd_pSIAw&bih=648&biw=1517&safe=strict,

Site web 11 :

http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=marrube_ps, Consulté le 05 08 2020

Site web 12 : <https://www.tela-botanica.org/bdftx-nn-40975-synthese>, Consulté le 08 31, 2020

Site web 13 : <https://www.djazairss.com/fr/search/marrubium>, Consulté le 08 31, 2020,