

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique



Université Larbi Tebessi

Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie

Département de biologie des être vivants

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Ecophysiologie végétale

Thème

Etude de la germination *in vitro* des graines de quelques plantes médicinales de la région semi aride de l'Algérie: *Peganum harmala* L. et *Datura stramonium* L.

Présenté par :

Abd Ellatif Zaineb

Toumi Ilhem

Devant le jury

Souad Mehalaine

MCA Université de Tebessa

Encadreur

Ahmed Dekek

MCA Université de Tebessa

Président

Hindel Fatmi

MCB Université de Tebessa

Examineur

Date de Soutenance : 15 Juin 2022

Résumé

Datura stramonium L. et *Peganum harmala* L. sont deux plantes médicinales riches en principes actifs, dont les alcaloïdes qui sont doués de propriétés pharmacologiques importantes. Ces deux plantes poussent spontanément dans la région semi aride algérienne et sont largement utilisées dans la médecine populaire.

L'objectif de ce travail est l'étude de la capacité germinative de *Datura stramonium* et *Peganum harmala* et l'effet des régulateurs de croissance sur la germination.

Les deux plantes médicinales ont été collectées de la région semi-aride algérienne : la région de Ain Beida, dans le Nord-est algérien. Les graines des deux plantes ont été stérilisées et testées préliminairement pour leur pouvoir germinatif. Des graines stériles ont été aussi traitées par des doses croissantes de l'acide gibbérellique (GA₃), l'auxine (AIA) et la kinétine (Kin). Ensuite, les graines traitées ont été incubées à l'obscurité à 30°C dans l'étuve.

Les résultats obtenus ont montré que le test préliminaire a donné un taux de germination très élevé (96.7%) chez *P. harmala* alors que les graines de *D. stramonium* n'ont pas germé. Le traitement des graines de *P. harmala* par la GA₃, l'AIA et la Kin n'a présenté aucun effet significatif ; le taux de germination était très élevé entre 96.7% et 100% chez les trois phytohormones appliquées. Le traitement des graines de *D. stramonium* par les régulateurs de croissance n'a présenté aucun effet significatif et n'a induit aucune germination.

Mots clés : Plantes médicinales, germination *in vitro*, acide gibbérellique, auxine, kinétine.

Abstract

Datura stramonium L. and *Peganum harmala* L. are two medicinal plants rich in active principles, including alkaloids which are endowed with important pharmacological properties. These two plants grow spontaneously in semi-arid region of Algeria and are widely used in folk medicine.

The objective of this work is the study of germination capacity of *Datura stramonium* and *Peganum harmala* and the effect of growth regulators on their germination. The two medicinal plants were collected from Algerian semi-arid region: the region of Ain Beida, in North-East of Algeria. The seeds of both plants were sterilized and pre-tested for germination. Sterile seeds were also treated with increasing doses of gibberellic acid (GA₃), auxin (IAA) and kinetin (Kin). Then, the treated seeds were incubated in the dark at 30°C in the oven.

The results obtained showed that the preliminary test gave a very high germination rate (96.7%) in *P. harmala* while the seeds of *D. stramonium* did not germinate. The treatment of *P. harmala* seeds with GA₃, IAA and Kin showed no significant effect; the germination rate was very high between 96.7% and 100% with the three phytohormones applied. The treatment of *D. stramonium* seeds with growth regulators showed no significant effect and did not induce any germination.

Keywords: Medicinal plants, *in vitro* germination, gibberellic acid, auxin, kinetin.

الملخص

يعتبر نبات الداتورة ونبات الحرمل من النباتات الطبية الغنية بالقلويدات ذات الأهمية الدوائية البالغة. ينمو هذان النباتان تلقائيا في المنطقة شبه الجافة الجزائرية، ويستعملان بشكل واسع في الطب التقليدي.

ان الهدف من هذه الدراسة هو فحص القدرة الإنباتية لنبات الداتورة ونبات الحرمل واختبار تأثير هرمونات النمو على الانبات لديهما.

تم قطف بذور النباتين من المنطقة شبه الجافة الجزائرية : منطقة عين البيضاء، شمال شرق الجزائر. في المختبر تم تعقيم البذور وفحص قدرتها الإنباتية، كما تمت معالجة البذور المعقمة بتراكيز متزايدة من حامض الجبريليك، الأكسين والكينيتين، بعد ذلك تم حضن البذور المعالجة تحت درجة حرارة 30° م في الظلام داخل الحاضنة.

بينت النتائج المحصل عليها أن الاختبار الأولي أعطى نسبة انبات عالية (96.7%) لنبات الحرمل، بينما بذور الداتورة لم تنبت. لم تظهر معالجة بذور الحرمل بحامض الجبريليك والأكسين والكينيتين أي تأثير معنوي، حيث كانت نسبة الإنبات عالية جدا بين 96.7% و 100% لكل الهرمونات المطبقة. في حين أن معالجة بذور الداتورة بمنظمات النمو لم تظهر أي تأثير معنوي حيث لم تحت على انبات البذور.

الكلمات المفتاحية : نباتات طبية، الإنبات الزجاجي، حامض الجبريليك، الأكسين، الكينيتين.

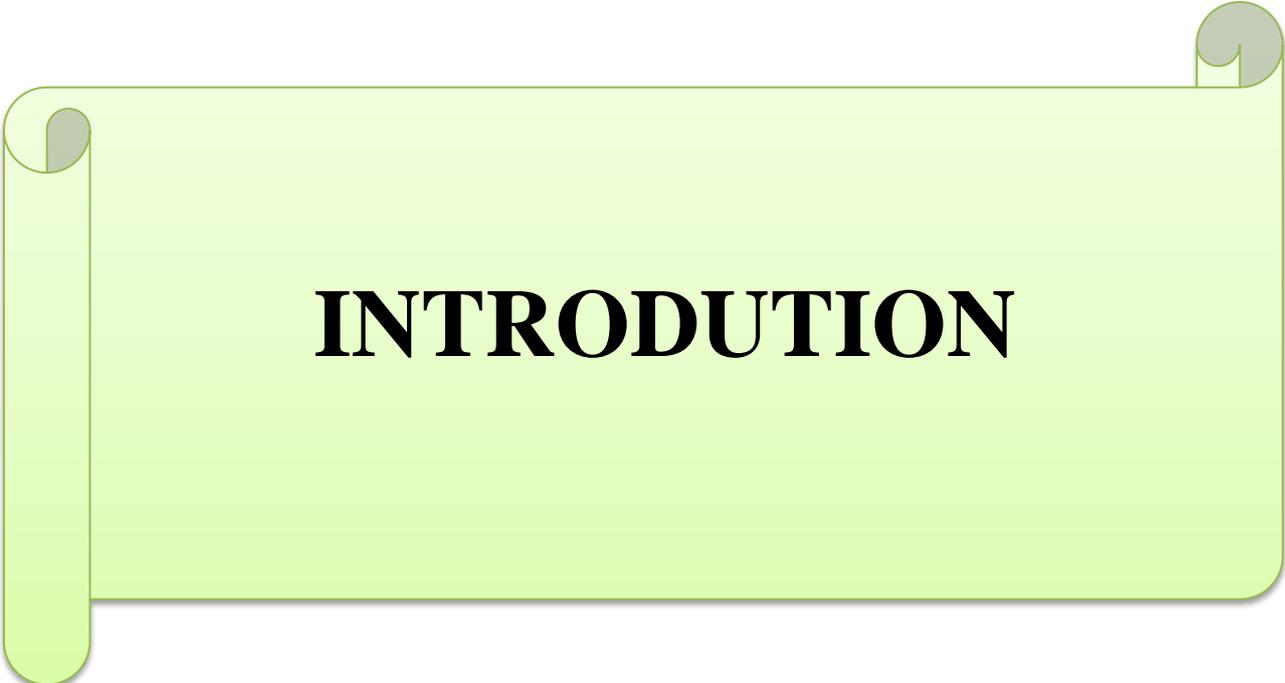
Liste des figures

Figure 01 :	Test préliminaire de germination chez <i>P. harmala</i> et <i>D. stramonium</i>)	13
Figure 02 :	Effet de l'acide gibbérellique sur la germination des graines de <i>P. harmala</i>	13
Figure 03 :	Effet de l'auxine sur la germination des graines de <i>P. harmala</i>	14
Figure 04 :	Effet de la kinétine sur la germination des graines de <i>P. harmala</i>	15
Figure 05 :	Granes de <i>D.stramonium</i> et <i>P. harmala</i> (Photo)	16

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I : Partie Bibliographique	03
1. Les plantes étudiée	03
1.1. <i>Datura stramonium</i> L	03
1.1.1. Classification	03
1.1.2. Description botanique	03
1.1.3. Répartition géographique	04
1.1.4. Composition chimique	04
1.1.5 Les alcaloïdes de <i>Datura Stramonium</i>	05
1.1.6. Propriétés Médicinales	05
1.2. <i>Peganum harmala</i> L.	05
1.2.1. Classification	05
1.2.2. Description botanique	05
1.2.3. Répartition géographique	06
1.2.4. Composition chimique	06
1.2.5 Les alcaloïdes de <i>Peganum harmala</i>	06
1.2.6. Propriétés médicinales	06
2. Germination des graines de plantes	07
2.1. Définition	07
2.2. Conditions de la germination	07
2.2.1. Conditions externes	07
2.2.2. Conditions internes	08
Chapitre II: Matériel et méthodes	11
1. Matériel végétal	11
2. Tests de germination <i>in vitro</i>	11
2.1. Stérilisation des graines	11
2.2. Test 01 : Test préliminaire de germination	11
2.3. Test 02 : Application de l'acide gibbérellique, l'auxine et la kinétine	11
3. Analyse statistique	12
Chapitre III: Résultats et discussion	13
1. Test préliminaire de germination	13
2. Effet de l'acide gibbérellique sur la germination	13

3. Effet de l'auxine sur la germination	14
4. Effet de la kinétine sur la germination	14
Conclusion	17
Références bibliographiques	18



INTRODUCTION

Introduction

Les plantes sont indispensables à l'homme. Elles n'entrent pas seulement dans sa nourriture, mais aussi bien dans ses plaisirs et sa santé car les effets curatifs des plantes médicinales sont connus depuis les temps les plus reculés. Toutes les plantes qui entretiennent notre corps ou maintiennent l'équilibre de notre santé peuvent être considérées comme plantes médicinales. L'utilisation des plantes médicinales a commencé depuis les civilisations de l'antiquité pour des usages religieux, cosmétiques et aussi thérapeutiques (Haberkoin, 2007). Dans les anciens manuscrits, on a cité le ricin, l'anis, le blé, le lotus, et on a utilisé des centaines de drogues dont la majorité était d'origine végétale.

Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (Tabuti et al., 2003). En Afrique et en Asie, il semble y avoir une grande dépendance des plantes médicinales, en particulier chez les personnes à faible revenu, outre le coût souvent inaccessible des médicaments chimiques et l'indisponibilité des établissements de santé modernes (Ross et Maxwell, 2012).

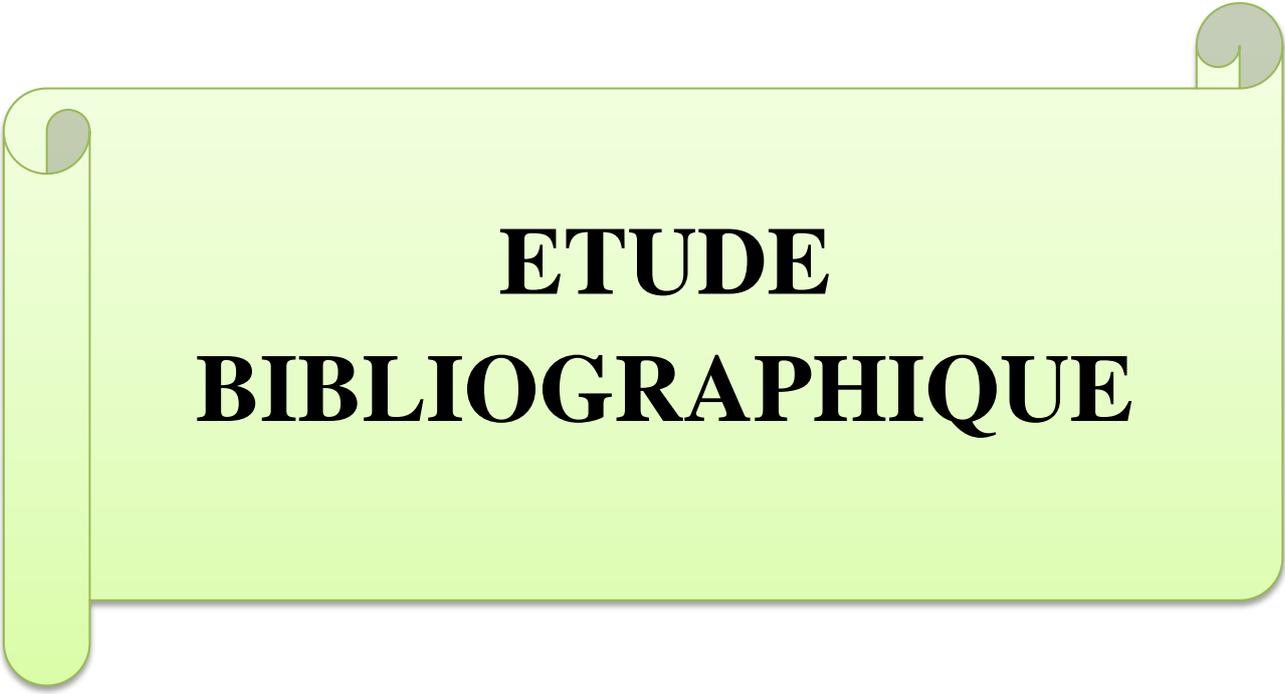
En agriculture, la plupart des espèces végétales cultivées sont conservées par des moyens *ex situ* : banques de semences, collections et dans certains cas la culture *in vitro* (Yeatman, 1987). L'utilisation d'un segment de la plante pour produire un individu comme dans le bouturage et le greffage, fait partie des biotechnologies anciennes. De nos jours il existe des techniques qui sont des méthodes plus fines, partant d'explants de plus en plus réduits (micro- bouture, bourgeon, méristème, tissu) jusqu'à la cellule isolée (Tabti, 2009). Les applications de la culture *in vitro* sont nombreuses aujourd'hui tant dans le domaine de l'horticulture que dans celui de la recherche notamment la production de molécules bioactives ou encore pour conserver la diversité génétique pour les espèces menacées (Dellaa, 2013). Parmi les approches biotechnologiques appliquées dans la régénération, la production et l'amélioration des plantes, la culture de tissus végétaux qui est largement utilisée pour la multiplication des plantes médicinales (George et Sherrington, 1984 ; Shimomura et al., 1997). La germination *in vitro* des graines est également appliquée pour de nombreuses espèces médicinales et aromatiques.

Dans ce contexte, notre travail consiste à étudier la capacité germinative des graines de deux plantes médicinales qui poussent spontanément dans la région semi aride algérienne : *Datura stramonium* L. et *Peganum harmala* L. pour objectif de multiplication en nombre et

conservation, car ces plantes sont très utilisées dans la médecine traditionnelle et dans les industries pharmaceutiques en Algérie.

Ce document contient trois chapitres :

- Le premier chapitre concerne une synthèse bibliographique sur les deux espèces étudiées : leur description botanique, composition chimique et utilisation.
- Le deuxième chapitre concerne les méthodes expérimentales appliquées et les moyens utilisés dans le laboratoire pour étudier le processus de la germination *in vitro*.
- Le dernier chapitre est consacré aux résultats obtenus et leurs discussions.



**ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE**

1. Les plantes étudiées

1.1. *Datura Stramonium* L

1.1.1. Classification

Règne : Planta

Embranchement : Spermatophyta.

Sous-embranchement : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Sous-classe : Asteridae.

Super-ordre : Euasteridées

Ordre : Solanales

Famille : Solanacées

Genre : *Datura*

Espèce : *Datura stramonium* L. (Benoit, 2010).

Noms vernaculaires français

Datura, stramoine, pomme épineuse (Bruneton, 2001, Benoit, 2010), pomme du diable (Lonchamp, 2000).

I.1.2. Description Botanique

Datura stramonium est une plante annuelle herbacée, pousse jusqu'à plus de un mètre de haut, dans les sols riches, généralement glabre, avec une odeur désagréable (Mirzamatov et al., 1972 ; Aliasgharpour et al., 2000 ; Geeta et Gharaibeh, 2007). Les racines ne sont pas très développées, épaisses et de couleur blanchâtre (Jouve, 2009). La tige est bien développée, de couleur verdâtre, ronde, lisse et avec des ramifications dichotomiques (Hall et al., 2009).

Les feuilles sont grandes et angulaires, inégales à la base ou alterne, plus ou moins ovales, irrégulières sinuées-dentées, à dents acuminées, avec une couleur vert foncée, plus ou moins brillantes à la face supérieur et avec des nervures saillantes en dessous, de 7-20 cm de long et de 6-15 cm de large (Shu, 1994 ; Lonchamp, 2000 ; Marwat et al., 2005).

Les fleurs sont blanches ou violacées, ayant une forme d'entonnoir allongées de 6-10 cm, solitaires à l'aisselle des feuilles supérieures, avec des corolles pliées et seulement à moitié ouvert, avec six nervures en avant tubuleuse et à 5 lobes acuminé, le calice contient 5 sépales plissées, tubuleux vert pale, à lobe lancéolés dentés (Aliasgharpour et al., 2000 ; Marwat et al., 2005). Le fruit est une capsule dressée de forme ovoïde, d'une couleur verte et couverte de nombreux épines, quand elle est mure, la capsule s'ouvre au sommet par 4 valves, laissant une longue centrale structure, pouvant contenir jusqu'à 500 graines. Les graines sont rugueuses,

piquées sur la surface et de couleur brune foncée, plates et réniformes de 2-4 mm de long et 1.5 mm de large (Artaud et Langdon, 1977 ; Marwat et al., 2005).

I.1.3. Répartition géographique

Le *Datura stramonium* est une plante annuelle autogame (Weaver et al., 1985). C'est une espèce cosmopolite que l'on rencontre dans de nombreuses régions du globe (Mairura et Setshog, 2008). L'origine de la stramoine est américain et/ou d'Asie tropicale (Bruneton, 2001 ; Taiwo et al., 2006). *Datura* est rencontré dans le bassin méditerranéen, en Afrique, en Amérique, en Asie, ainsi que dans tous les régions tempérés et tropicales du monde.

I.1.4. Composition chimique

Les parties aériennes de la stramoine contiennent l'acide chlorogénique. Dans la graine, ont été mises en évidence des lectines. Dans la feuille et d'autres parties de la plante, ont été isolés des glucosides cardiotoniques, des sucres, du carotène, de la vitamine C, des tanins et des lipides (Hegnauer, 1962 ; Pinkas, 1986). Les feuilles contiennent des traces d'huile essentielle (Topolov, 1983).

Les feuilles de *Datura stramonium* contiennent :

- 8 % d'eau
- 15 à 18 % de matière minérale.
- Des traces de coumarines (scopolétole).
- Des pigments flavonoïques comme l'anthocyanoside qui donne la coloration violette des nervures chez certaines variétés de *Datura stramonium*.
- Des alcaloïdes tropaniques : hyoscyamine et scopolamine dont la teneur en alcaloïdes totaux est comprise entre 0.2 et 0.5 %. Les proportions hyoscyamine/scopolamine sont très variables généralement voisines de 2/3- 1/3 à 3/4-1/4 (Bruneton, 2009).

Les graines renferment:

- 8 à 9 % d'eau.
- Phosphore.
- 15 à 30 % d'huile, l'acide daturique qui est un mélange d'acide palmitique et stéarique.
- 0.2 à 0.3 % d'alcaloïdes totaux avec une proportion de scopolamine moins de 0.2 à 0.3 % (Evan, 1996).

1.1.5 Les alcaloïdes de *Datura Stramonium*

La plante entière contient des alcaloïdes (0.06 à 0.50 %) dérivés du tropane, dont les principaux sont l'hyoscyamine, l'atropine et la scopolamine.

L'hyoscyamine est l'alcaloïde majeur de la feuille adulte, tandis que la scopolamine domine dans la feuille jeune. La scopolamine est un déprimeur du système nerveux central, l'atropine produit une légère excitation vagale (système nerveux) et les centres respiratoires, augmentant la fréquence et la profondeur de la respiration. L'hyoscyamine est un parasympholytique bronchodilatateur, un antispasmodique et un stimulant des centres cérébraux (Goodman et Gilman, 1991).

1.1.6. Propriétés Médicinales

La stramoine a des propriétés médicinales appréciées depuis longtemps. A partir d'une certaine dose, l'ingestion de la plante provoque des hallucinations. Bien qu'elle soit hallucinogène, la stramoine était employée pour soigner la folie.

Les alcaloïdes dérivés de tropanes diminuent les sécrétions et décontractent les muscles lisses. A faibles doses, la stramoine traite l'asthme, les quintes de toux, la coqueluche, les symptômes de la maladie de Parkinson. Elle décontracte les muscles du tube digestif, ceux des parois des bronches et ceux de la vessie et régularise les sécrétions digestives. La stramoine peut être appliquée sur la peau pour soulager les douleurs rhumatismales et les névralgies (Paul, 2001).

1.2. *Peganum harmala* L.

1.2.1. Classification

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : Zygophyllaceae

Genre : *Peganum*

Espèce : *Peganum harmala* L.

Nom vernaculaire : Harmel

1.2.2. Description botanique

Peganum harmala est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur, à rhizome épais, à odeur forte, désagréable.

1.2.3. Répartition géographique

En Algérie, *Peganum harmala* est commun aux hauts plateaux, au Sahara septentrional et méridional. Il est réputé dans les terrains sableux, dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations (Chopra et al., 1960 ; Ozenda, 1991 ; Maire, 1933).

1.2.4. Composition chimique

Peganum harmala renferme des acides aminés (phénylalanine, valine, proline, thréonine, histidine, acide glutamique), flavonoïdes, coumarines, tanins, stérols et/ ou triterpènes et des alcaloïdes (Al Yahya, 1986). Le taux des alcaloïdes est beaucoup plus élevé dans la graine que dans la racine, la tige et la feuille (Tahrouch et al., 2002). La plupart de ces alcaloïdes sont des alcaloïdes indoliques (Mahmoudian et al., 2002). *P. harmala* contient environ 4% d'alcaloïdes indoliques dont l'harmine, l'harmaline et l'harmalol (Iserin et al., 2007).

1.2.5. Les alcaloïdes de *Peganum harmala*

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques produites essentiellement par les plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique. Ils sont synthétisés à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane (Bhat et al., 2005). Ils possèdent des structures relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes. L'espèce *Peganum harmala* est très riche en alcaloïdes indoliques (dérivés de l'acide aminé tryptophane). Les plus importants sont l'harmaline, l'harmane, l'harmine et la Tetrahydroxyharmine (Kartal et al., 2003). Les alcaloïdes de *Peganum harmala* sont doués de propriétés toxiques ; ils peuvent provoquer une hypothermie permanente, des troubles respiratoires, des vomissements, des maux de ventre, des hallucinations et des convulsions (Mahmoudian et al., 2002 ; Frison et al., 2008).

1.2.6. Propriétés médicinales

L'Harmel est utilisé dans le domaine thérapeutique et parfois en gastronomie comme épice (Bakiri et al., 2016). Cette espèce est l'une des plantes médicinales les plus utilisées en médecine traditionnelle (Bellakhdar, 1997 ; Hammiche et al., 2013). Les graines de *Peganum harmala* sont utilisées depuis longtemps comme narcotiques, antihelminthiques, antispasmodiques et dans certains cas contre les rhumatismes et l'asthme (Bellakhdar, 1997 ; Siddiqui et al., 1988). La plante est traditionnellement employée pour traiter certains troubles du système nerveux tels que la maladie de Parkinson (Leporatti, 2009), et contre la nervosité

(González et al., 2010). l'Harmel est également employé pour traiter le diabète (Bnouham et al., 2002). Il est utilisé dans la coloration des tapis et aussi dans la teinture de la laine par un colorant rougeâtre extrait de ses graines ; cette technique a été largement répandue en Turquie et en Iran (Baytop, 1999).

2. Germination des graines de plantes

2.1. Définition

La germination est une étape physiologique du développement au cours de laquelle l'embryon, inclus dans la graine, cesse son état de vie ralentie et devient capable à se développer pour donner naissance à une nouvelle plante. Du point de vue physiologique, la germination est terminée lorsque la radicule perce les téguments ; elle se limite alors à l'arrêt de la vie ralentie et aux remaniements biochimiques et physiologiques qui vont permettre la croissance de l'embryon (Jean, 1998).

2.2. Condition de la germination

2.2.1. Conditions externes

Température

La graine d'une espèce végétale ne germe sauf si la température du milieu où elle se trouve est comprise entre deux termes extrêmes. La température la plus favorable est de l'ordre de 15 à 25°C. Les températures extrêmes sont différentes suivant les espèces végétales (Théron, 1964).

L'oxygène

Une graine peut très bien conserver son pouvoir germinatif en l'absence d'air, Mais pour germer, elle a absolument besoin d'oxygène pour accomplir les réactions biochimiques qui transforment les réserves. Les phénomènes respiratoires s'intensifient au fur et à mesure que la plantule se développe. Ce qui explique que les graines germent mal si elles sont enfouies trop profondément dans le sol (Théron, 1964).

L'eau

L'eau est indispensable au gonflement de la graine qui fera éclater les téguments. La pénétration de l'eau est facile et longue. Chez certaines graines, elle n'a lieu que lorsque les téguments ont été détruits partiellement ou ont subi un prétraitement. L'eau est indispensable aussi à l'imbibition des cellules. Le cytoplasme reprend sa consistance normale, les réserves sont ramollies, les vacuoles se reforment et les grains d'aleurone se dissolvent peu à peu. Dès

que la plantule aura commencé son développement, elle absorbera une grande quantité d'eau qui transportera les aliments (Théron,1964).

2.2.2. Conditions internes

Parmi les facteurs internes qui affectent la germination de la graine, son état physiologique ; pour qu'une graine germe, elle doit être mûre, tous les phénomènes morphologiques (structure de la graine) et toutes les réactions biochimiques qui conduisent à la déshydratation de réserves soient accomplis. Pour certaines graines, une période de basses températures, réalisé pendant l'hiver, est indispensable. Bien que les graines puissent conserver, pendant assez longtemps leur pouvoir germinatif, il est préférable de semer des graines venant d'arriver à maturité. En effet, le pouvoir germinatif est parfois détruit par des réactions chimiques notamment au niveau des réserves par exemple, les graines oléagineuses peuvent rancir et n'être plus utilisables (Théron,1964).

3. Effets des phytohormones sur la croissance des plantes

3.1. La gibbérelline

3.1.1. Définition

Les gibbérellines sont produits à la fois par les champignons et les plantes supérieures. Les gibbérellines sont également très impliquées dans la germination des graines et dans la mobilisation des réserves de l'albumen lors des stades précoces de la germination ainsi que dans le développement des fleurs et des fruits. Les gibbérellines sont des diterpénoïdes acides (C₂₀) dérivent de la voie de l'acide mévalonique (Hopkins,2003).

3.1.2. Rôle physiologique des gibbérellines

- Favorisent la germination des graines et la croissance des bourgeons.
- Favorisent l'élongation des tiges et la croissance des feuilles.
- Stimulent la floraison et le développement des fruits (Nabors, 2009).

3.2. L'auxine

3.2.1. Définition

Les auxines sont les premiers hormones végétales à avoir été découvertes. L'auxine est synthétisée dans les apex caulinaire et racinaire et transportée dans l'axe de la plante. Leur principale caractéristique est de provoquer l'élongation cellulaire dans des fragments excisés de tige et de coléoptile, cependant elle sont capables d'influencer de nombreuses autres réponses comme l'initiation de racine, la différenciation de tissus conducteur, les réponses

tropiques ainsi que le développement de bourgeons axillaires, de fleurs et de fruits (Hopkins, 2003).

La principale auxine est l'acide indole-3-acétique (AIA). En plus de l'AIA, plusieurs autres dérivés indoliques naturels possèdent une activité auxinique parmi lesquels, l'indole-3-éthanol, l'indole-3-acétaldéhyde et l'indole-3-acétonitrile. Cependant, tous ces composés sont des précurseurs de l'AIA et leurs activités sont vraisemblablement liées à leur conversion en AIA dans le tissu.

La découverte de l'AIA chez les plantes et la connaissance de son rôle dans la croissance ont stimulé la recherche sur des composés présentant une activité identique à l'auxine. Les recherches ont conduit à la découverte d'un ensemble de composés de synthèse qui possèdent des propriétés similaires aux auxines : l'acide indole butyrique (AIB), l'acide 4-chloro-indol acétique (4-chloro AIA) (Engvild, 1986 ; Epstein et al., 1989). Il a récemment été montré qu'un acide aromatique naturel, l'acide phenylacétique (APA) possède également une activité auxinique (Leuba et le toureau, 1990).

3.2.2. Rôle physiologique de L'auxine

- Stimule la croissance des tiges et des Racines.
- Induit la différenciation cellulaire dans la culture *in vitro* de tissus.
- Régule le développement des fruits.
- Intervient dans la dominance apicale.
- Contrôle le phototropisme et le géotropisme (Nabors, 2009).

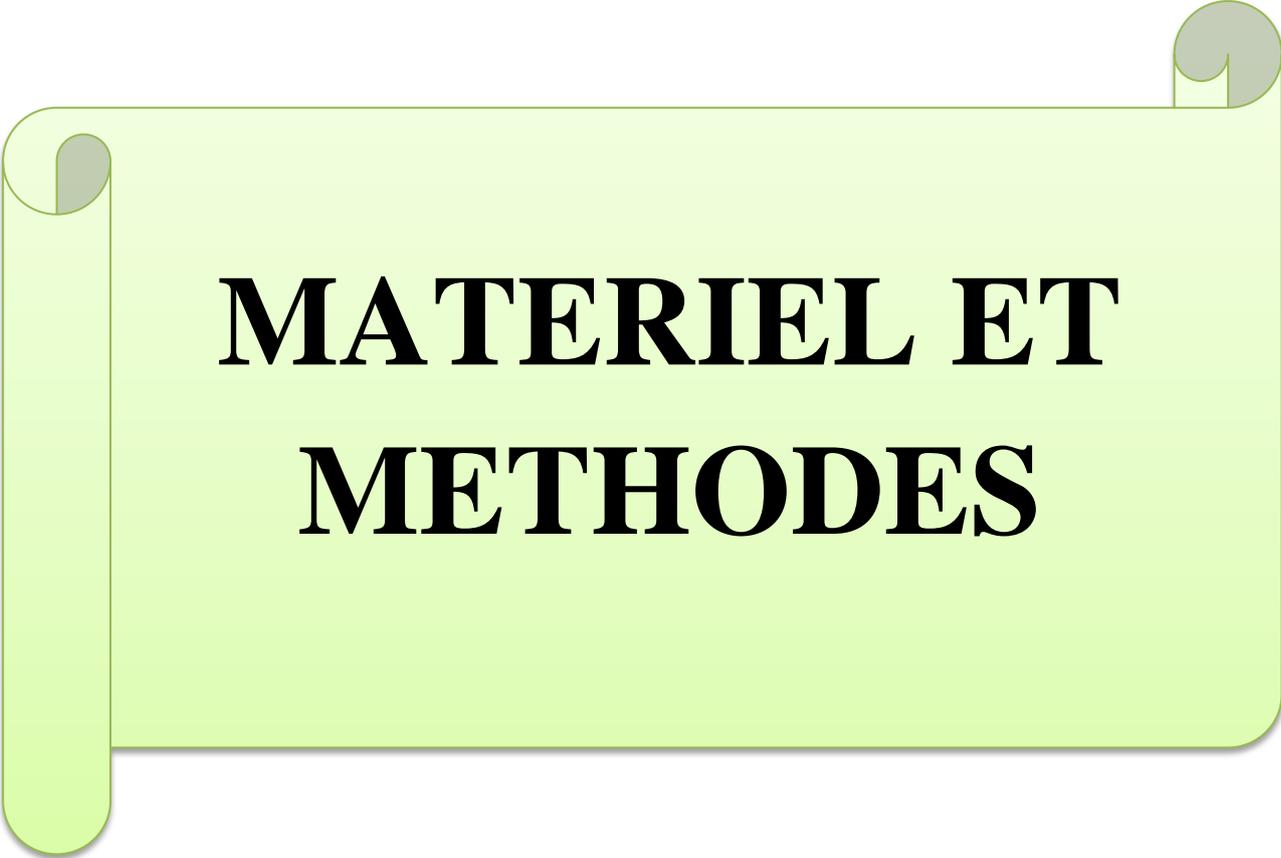
3.3. Les Cytokinines (CKs)

Les cytokinines (CKs) sont impliquées chez les plantes dans divers processus physiologiques et en adaptation aux conditions de l'environnement.

3.3.1. Rôle physiologique des cytokines

- Les CKs ont été initialement identifiées comme favorisant la division cellulaire (Skoog et Armstrong, 1970).
- Avec l'auxine, elles contribuent à la croissance et à la différenciation des tissus aériens et racinaires (Werner et Schmülling, 2009).
- Les CKs modulent la répartition des nutriments dans la plante et sont étroitement liées aux métabolismes carboné et azoté (Sakakibara et al., 2006; Peleg et al., 2011).
- Les CKs sont impliquées dans la réponse au stress hydrique (Alvarez et al., 2008).

- Elles semblent accroître la tolérance des plantes à la sécheresse (Peleg et al., 2011).
- Les CKs induisent la différenciation des chloroplastes, la synthèse de chlorophylle et de la RUBISCO, stimulant ainsi l'activité photosynthétique et la production de carbohydrates (Fletcher et McCullagh, 1971; Seyer et al., 1975; Ohya et Suzuki, 1991).
- Les CKs retardent la senescence chez les plantes (Elliott, 1983; Huang et al., 1997).



**MATERIEL ET
METHODES**

1. Matériel végétal

1.1. Collecte des graines

Les graines des deux plantes : *Datura stramonium* et *Peganum harmala* ont été collectées au stade fructification de la région de Ain Beida dans la wilaya de Oum El Bouaghi dans le Nord-est de l'Algérie. Les graines collectées ont été conservées dans des flacons en verre jusqu'à leur utilisation dans notre expérimentation.

2. Tests de germination *in vitro*

2.1. Stérilisation des graines

Les graines ont été lavées dans l'eau de robinet pendant quelques minutes, puis stérilisées par l'éthanol (70%) pendant 1 minute suivie d'une immersion dans une solution de chlorure de mercure (0.1%) pendant 2 minutes. Par la suite, les graines stérilisées ont été rincées par l'eau distillée stérile trois fois (Haïcour, 2002).

2.2. Test 01 : Test préliminaire de germination

Les graines stérilisées des deux plantes ont été imbibées pendant 2 heures dans l'eau distillée stérile et puis placées sur du papier filtre stérile dans des boîtes de Pétri stériles et incubées à l'obscurité et à une température 30°C dans une étuve. Les graines ont été imbibées quotidiennement avec de l'eau distillée stérile (Prat, 2007).

2.3. Test 02 : Application de l'acide gibbéréllique, l'auxine et la kinétine

Les graines stérilisées ont été destinées à trois tests indépendants : dans le premier test, les graines ont été émergées dans trois doses de l'acide gibbéréllique (0, 400, 600 mg/L) pendant 2 heures. Le deuxième test consiste à émerger les graines dans trois doses de l'auxine (0, 1, 2 mg/L) pendant 2 heures. Le troisième test consiste à émerger les graines dans trois doses de la kinétine ((0, 1, 2 mg/L) pendant 2 heures à la température du laboratoire. Les graines traitées par les trois phytohormones, ont été ensuite placées sur agar stérile dans des boîtes de Pétri stériles et incubées à l'obscurité et à une température 30°C dans une étuve. Toutes les manipulations ont été effectuées devant le bec Bunsen. La vérification des graines germées a été effectuée chaque jours. En outre, tous les tests de germination ont été réalisés en quatre répétitions avec 10 graines dans chaque répétition, et le taux de germination a été calculé à la fin de l'expérimentation comme suit :

Nombre de graines germées / Nombre de graines testées \times 100

3. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été traités par une analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur pour tester l'effet de l'acide gibbérellique (GA₃), l'auxine (AIA) et la kinétine (Kin) sur la capacité germinative des graines pour chaque espèce étudiée indépendamment.



RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Test préliminaire de germination

Les deux espèces ont montré une différence très hautement significative ($P < 0.001$).

P. harmala a présenté un nombre de graines germées très élevé 9.67 ± 0.58 correspondant à un taux de germination de 96.7%. Les graines de *D. stramonium* n'ont pas germé (Figure 1).

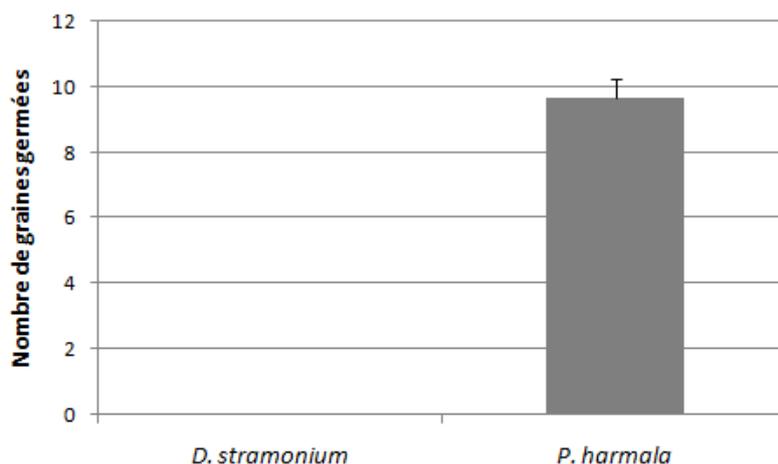


Figure 1 : Test préliminaire de germination chez *P. harmala* et *D. stramonium*

2. Effet de l'acide gibbérellique sur la germination

L'analyse de la variance a montré que le traitement des graines de *P. harmala* par la gibbérelline (GA_3) n'a pas présenté un effet significatif ($P > 0.05$). Le nombre de graines germées est élevé 10 ± 0.00 chez le témoin et 9.67 ± 0.58 chez les deux doses appliquées, ce qui correspond à un taux de germination de 100% et 96.7% (Figure 2).

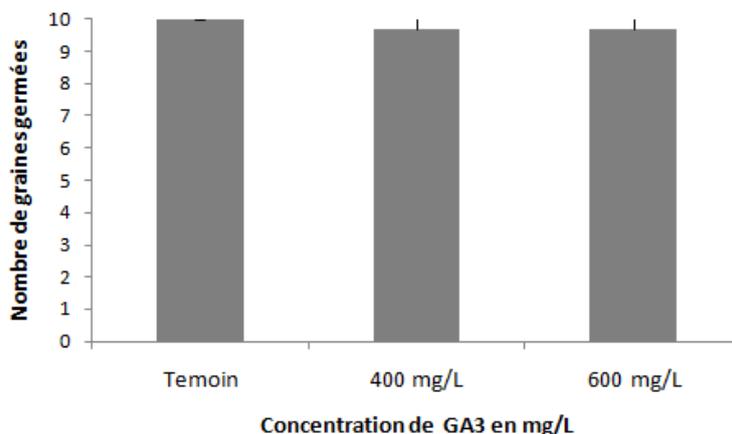


Figure 2 : Effet de l'acide gibbérellique sur la germination des graines de *P. harmala*

3. Effet de l'auxine sur la germination

L'analyse de la variance a montré que le traitement des graines de *P. harmala* par l'auxine (AIA) n'a présenté aucun effet significatif ($P > 0.05$). Le nombre de graines germées est élevé : 10 ± 0.00 graines germées chez le témoin et la dose 2 mg/L et 9.67 ± 0.58 chez la dose 1 mg/L, ce qui correspond à un taux de germination de 100% et 96.7% respectivement (Figure 3).

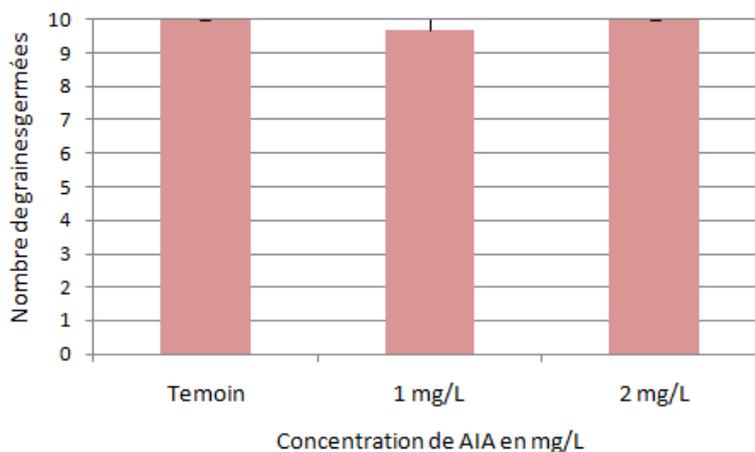


Figure 3 : Effet de l'auxine sur la germination des graines de *P. harmala*

4. Effet de la kinétine sur la germination

Le traitement des graines par la kinétine n'a présenté aucune différence significative sur la germination des graines de *P. harmala* ; le nombre de graines germées est élevé avec ou sans traitement : 10 ± 0.00 graines germées chez le témoin, la dose 1 mg/L et 2 mg/L, ce qui correspond à un taux de germination de 100% (Figure 4).

Les graines de *D. stramonium* traitées par l'auxine, la gibbérelline et la kinétine n'ont pas germé.

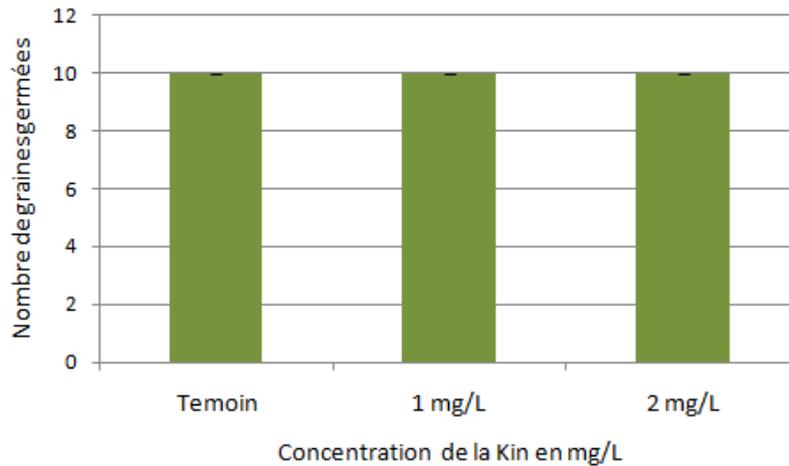


Figure 4 : Effet de la kinétine sur la germination des graines de *P. harmala*

Les graines de *P. harmala* ont présenté des taux de germination très élevés ; cela peut être expliqué par des quantités suffisantes de la GA₃ dans ces graines.

Chakraborty et al. (2003) ont montré que la GA₃ affecte les processus physiologiques dans la graine en affectant la membrane cellulaire, et les graines qui ont des sources suffisantes de gibbérelline ou de composés azotés solubles peuvent germer dans des conditions appropriées.

La gibbérelline conduit à la germination des graines en libérant l'enzyme α -amylase et en hydrolysant l'amidon (Cruz et al., 2007). En outre, les quantités endogènes de l'auxine et la cytokinine apparaissent suffisantes pour induire la germination chez les graines de *P. harmala*. Les cytokinines stimulent la croissance, le développement et la germination des graines et la formation de pousses (Fazeli-nasab et Fooladvand, 2016).

De plus, la température 30°C appliquée dans notre expérimentation apparaît favorable pour la germination des graines de *P. harmala*. Selon Hussain et Nasrin (1985), *P. harmala* présente 40%, 80%, 90% de germination des graines à 25 et 30°C.

Les graines de *D. stramonium* n'ont présenté aucune germination, cela peut être due aux quantités non suffisantes de la GA₃ appliquées et au caractéristique des téguments qui empêchent l'entrée de l'hormone végétale. Une étude sur la germination de *Datura* a montré que 38% des graines grattées ont germé à 200 ppm de GA (Ghadamyari et al., 2011).

Selon Chakraborty et al. (2003) l'absence de germination des graines de *Datura* n'est pas seulement liés à la dureté des téguments, mais aussi aux inhibiteurs physiologiques internes et les traitements par la GA₃ et l'acide sulfurique éliminent leur effet et induisent la germination.

Il existe différents types de dormance des graines chez les plantes parmi lesquels : la dormance physique où l'embryon est complètement développé (Baskin et Baskin, 2014), mais il y a des couches imperméables à l'eau autour de la graine qui empêchent la pénétration de l'eau et par conséquent la germination de la graine (Jangjou et Tavakoli, 2008).

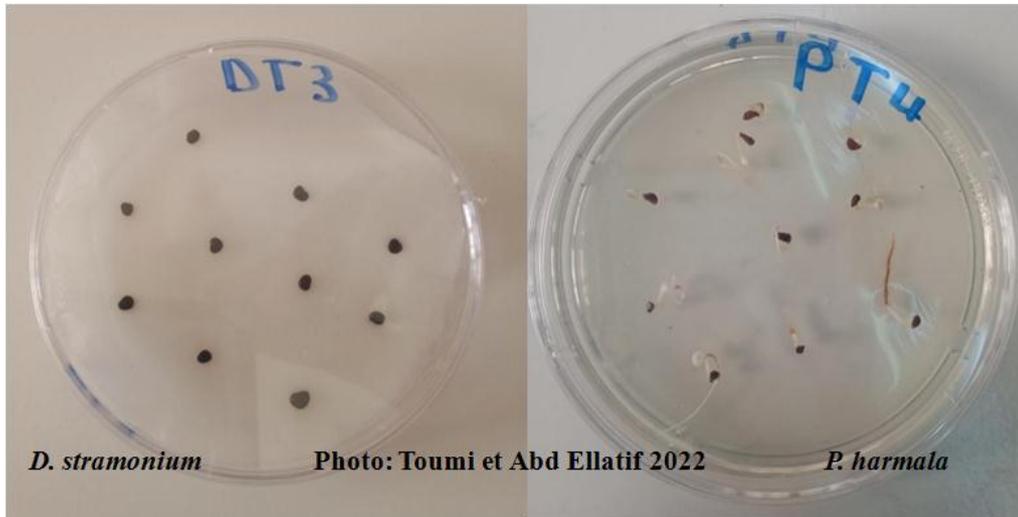
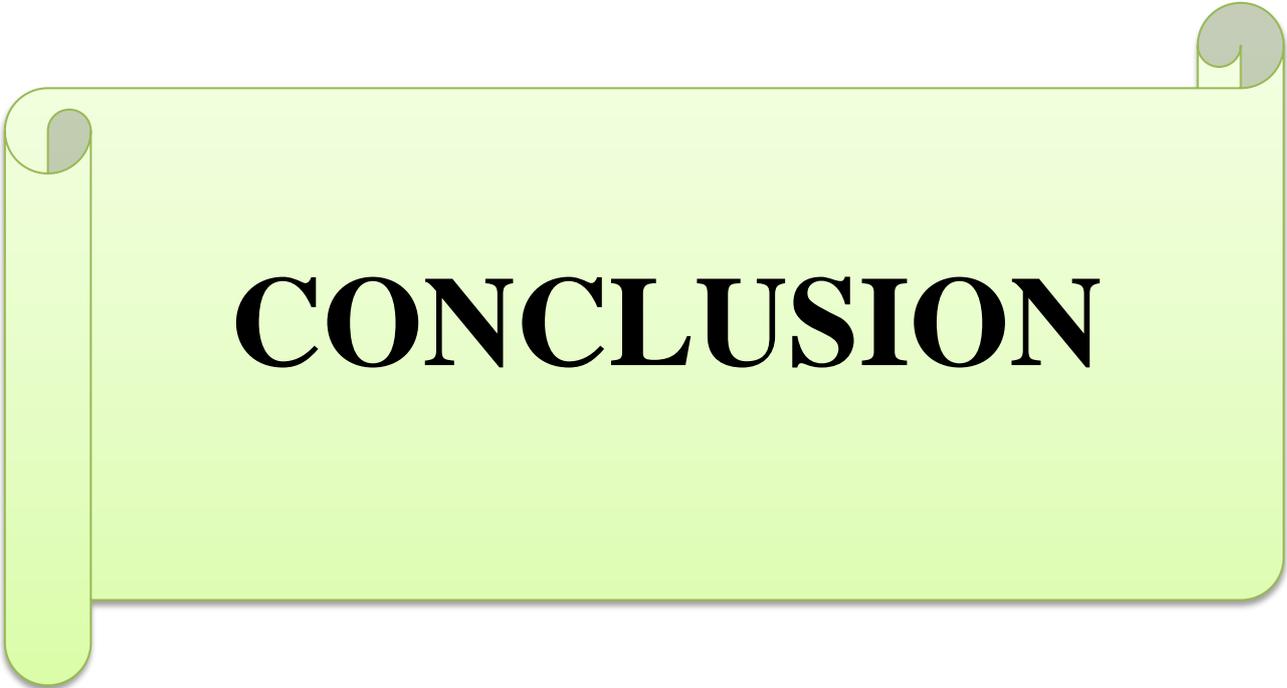


Photo 1. Graines de *D. stramonium* et *P. harmala*



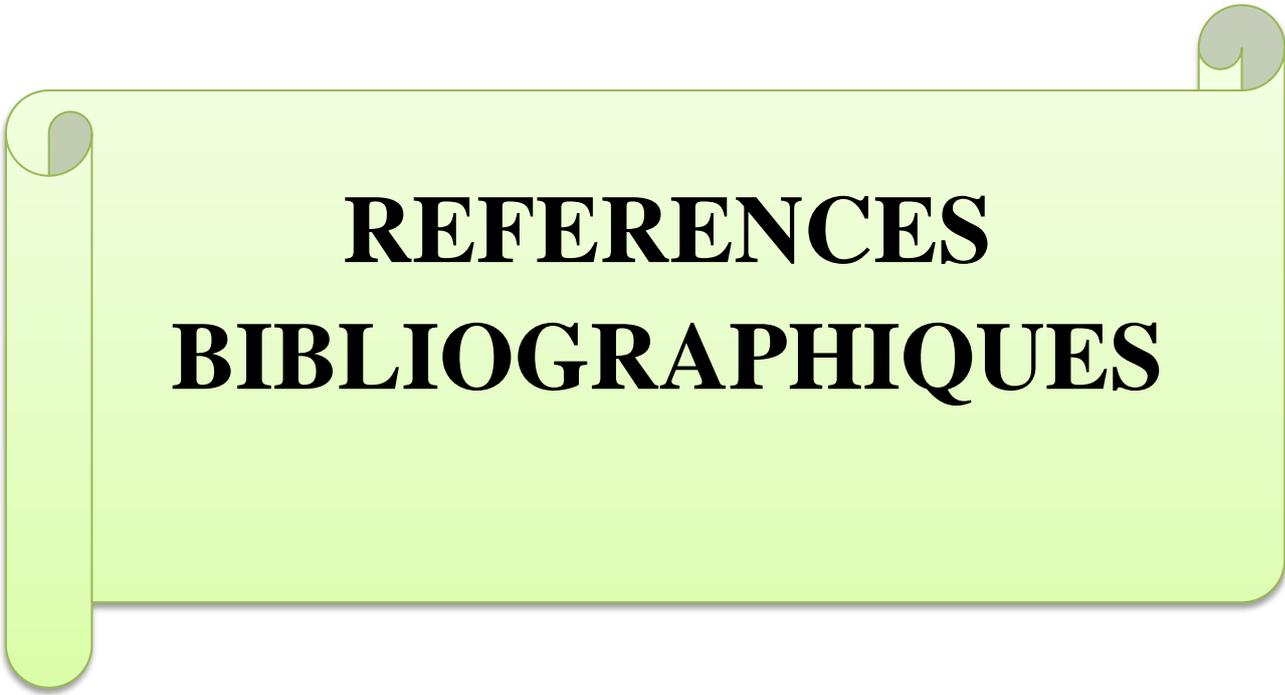
CONCLUSION

Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié la capacité germinative de deux plantes médicinales qui poussent spontanément dans la région semi aride algérienne : *Datura stramonium* L. et *Peganum harmala* L. et l'effet des régulateurs de croissance sur leur germination.

Les résultats obtenus ont montré que :

- Le test préliminaire a présenté un taux de germination très élevé (96.7%) chez *P. harmala* mais les graines de *D. stramonium* n'ont pas germé.
- Le traitement des graines de *P. harmala* par la GA₃, l'AIA et la Kin n'a présenté aucun effet significatif ; le taux de germination était très élevé entre 96.7% et 100% chez les trois hormones végétales.
- Le traitement des graines de *D. stramonium* par les régulateurs de croissance n'a présenté aucun effet significatif et les graines n'ont pas germé.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

(A)

Aliasgharpour, M ., Hekmet Shoar, H ., Hosseyni, M.S. (2000). Stigma of *Datura Stramonium* L. (Solanaceae): Histogenesis, morphology and developmental anatomy. *J.Sci. Iran.* 11, N°. 4.

Alvarez, S ., Marsh, E.L ., Schroeder, S.G., Schachtman, D.P. (2008). Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. *Plant, Cell Environ* 31: 325–340.

Al Yahya, A. (1986). Phytochemical studies of the plants used in traditional medicine Arabia. *Fitoterapia Of saudi* 52, 179-182.

Artaud, C.R ., Langdon, K.R . (1977). *Datura stramonium* L : weed, ornamental, drug, poison ;with a bizzare medical history. *Nematology (botany) circular* N° : 25.

(B)

Bakiri, N ., Bezzi, M ., Khelifi, L., Khelifi-Slaoui M. (2016). *Revue Agriculture*. Numéro spécial 1, 38- 42.

Baskin, J. M ., Baskin, C.C . (2014). What kind of seed dormancy might palms have? *Seed Science Research*, 24(1).

Baytop, T. (1999). *Herbal treatments in Turkey, (Past and Present)* . Baski, [Tükiye'de Bitkilerle Tedavi (Gecmiste ve Bugün)] Nobel Tip Kitapevleri Ltd. Sti., Istanbul Turkey, (In Turkish), 35-90.

Bellakhdar, J., (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. Ibis Press, Saint Etienne, p 764.

Benoit, B .(2000). *Tela botanica ; base de données, nomenclature de la flore de France*.

Bhat, S.V ., Nagasampagi, B.A, Sivakumar M. (2005). Chemistry of Natural Products. Narosa, New Delhi, India 4, 237.

Bnouham, M ., Mekhfi H ., Legssye,r A ., Ziyyat, A . (2002). Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. Int. J. Diabetes. Metab, 10 , 33-50. 8,39-45.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition.Paris, pp. 647-673.

Bruneton, J .(2005). Plantes toxiques: Végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux (3 ème éd).Paris : Lavoisier , Cachan . (Éd). Médicales internationales.

(C)

Chakraborty, D ., Bhattacharya, K., Bandyopadhyay, A ., Gupta, K . (2003). Studies on the germination behavior of Basilicum polystachyon-an ethnobotanically important medicinal plant. Journal of Médicinal and Aromatic Plants, 25,58-62.

Chopra, I.C ., Abrol, B.K ., Handa, K.L. (1960). La plante médicinale des regions arides , Considérées sur tout de point de de vue botanique , 11-56.

Cruz, E.D ., Carvalho, J. E. U. d., Queiroz, R. J. B. (2007). Scarification with sulphuric acid of Schizolobium amazonicum Huber ex Ducke seeds-Fabaceae. Scientia agricola, 64,308-313.

(D)

- Dellaa, A. (2013). La culture in vitro: <http://fr.slideshare.net/AhmedDellaa/culture-in-vitro-des-plantes>.

(E)

Elliott, D.C. (1983). Inhibition of Cytokinin-Regulated Responses by Calmodulin- Binding Compounds , 215–218.

Evan, W.C. (1996). Trease and Evans' pharmacognosy. 14 ed. London: WB Saunders.

(F)

Fletcher, R.A . McCullough, D. (1971). Cytokinin-induced chlorophyll formation in cucumber cotyledons. *Planta (Berl.)* 101, 88–90.

Frison, G., Favretto, D., Zancanaro, F., Fazzin, G., Ferrara, S.D. (2008). A case of β -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic. Sci. Int.* 179, 37–43.

(G)

George, E.F ., Sherrington, P.D . (1984). *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd., Eversley, England,39–71.

Ghadamyari, S., Mozafari, J., Sokhandan, B.N., Mosavi, L., Rakhshandehro, F. (2011). Synergistic effects of mechanical and chemical treatments on seed germination of Jimsonweed (*Datura stramonium* L.). *Iranian Journal of Biology*, 24(6), 809-817.

González, D., Ancín-Azpilicueta, C., Arán, V.J., Guillén, H., (2010). Bêta-Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food. Chemical.*

Goodman et Gilman, A, (1991) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8° ed. Ed. Méd. Panamericana, p 1751.

(H)

Hall david, W., Vernon, V., Jason, A. F. (2009). jimson weed, *Datura stramonium* L.

Haïcour, R (2002). Biotechnologies végétales, techniques de laboratoire. Edition Tec & Doc Lavoisier Paris.

Hammiche, R., Merad, M., Azzouz. (2013) plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, springer.

Hegnauer, R. (1962) Hemotaxonomy derpflanzen. bâle & Stuttgart: Birkhauser verlag, 6, 517-540-743-551-506-882.

Hmamouchi, M. (1989). Plantes alimentaires, aromatiques, condimentales, médicinales et toxiques au Maroc.p37.

(I)

Isirin, P., Michel, M. (2007). Larousse des plantes médicinales. Edition 2. Rue du Montparnasse, Paris cedex.

(J)

Jangjou, B.M ., Tavakoli, M . (2008). Investigating seed germination of 10 arid-land plant species. Iranian Journal of Range and Desert Research, 15(2), 215-226.

Jouve, C. (2009). Contribution à l'élaboration d'un site internet de Toxicologie végétale chez les ruminants : Monographie des principales plantes incriminées d'après les données du CNITV. Thèse de Doctorat, p 100-105.

(K)

Kartal, M ., Altun, M.L ., Kurucu, S. (2003). HPLC Method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis*, 31, 263-269.

(L)

Lanchamp, J. P.(2000). *Unité de Malherbologie et agronomie, JNRA-Dijon.*

Leporatti, M, Ghedira k . (2009): Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisi.

(M)

Mahmoudian, M., Jalipour, H., Dardashti, P.S. (2002). Toxicity of *Peganum harmala* : review and a case report. *Iran, J. Pharmacol, Ther* 1, 1- 4.

Mairura, F., Setshogo, M . (2008). *Datura stramonium* L in : G.H. Schmelzer et A.Gurib-Fakim. (ed). *Medicinal plants/plantes médicinales, prota Wageningen, pays Bas.*

Marwat, S ., Urrehman, F., Khan, S. (2005). Germination of seeds of *Datura stramonium* L. under different condition (Temperature and Soil). 21, 45-49.

Mirzamatov, R.T., Malikov, V. M ., Lutfullin, K. L ., Yunusov, S. Y., Soedin Khim. (1972). Dynamics of the accumulation of alkaloids in *Datuar stramonium* L, p 493.

(N)

Nabors, M . (2009). *Biologie végétale .structures, fonctionnement écologie et biotechnologies ;georges, S , Paris.*

(O)

Ohya, T., Suzuki, H. (1991). The effects of benzyladenine on the accumulation of messenger RNAs that encode the large and small subunits of ribulose- 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and light-harvesting chlorophyll a/b protein in excised cucumber cotyledons. *Plant Cell Physiol.* 32, 577–580.

Ozenda, P . (2004). Flore et végétation de Sahara. 3 éme édition CNRS , Paris p 660.

(P)

Peleg, Z., Reguera, M., Tumimbang, E., Walia, H., and Blumwald, E. (2011). Cytokinin-mediated source/sink modifications improve drought tolerance and increase grain yield in rice under water-stress. *Plant Biotechnol. J.* 9,747–758.

Pinkas, M., Bezanger-Beauquesne , L . (1986). *Les plantes dans la thérapeutique moderne.*

(Q)

Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris.

(S)

Sakakibara, H., Takei, K., and Hirose, N. (2006). Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends Plant Sci.* 11, 440–8.

Shu Man Tuo, L. (1994). *Datura Linnaeus, sp. PLL,179-1753, Flora of China, 17,330.*

Siddiqui, S., Khan, O.Y ., Faizi, S ., Siddiqui, B. S., (1988). Studies in the chemical constituents of the seeds of *Peganum harmala*: Isolation and structure elucidation of two β -carboline lactams, harmalanine and harmalacidine. *Heterocycles*, 27, 1401-1410.

(T)

Tabuti, J.R.S., Lye, K.A., Dhillion, S.S. (2003). Traditional herbal drugs of bulamogi, Uganda: plants use and administration, *J. Ethnopharmacol.* 88, 19-44.

Tahrouch, S., Rapior, S., Mondolot-Cosson, S., Idrissi-Hassani, L.A., Bessière, J.M., Andary, C.(2002) *Peganum harmala* : source combinée d'arômes et de colorants. *Rev. Biol. Biotech* 2, 33.

Taiwo, M., Hughes, J., Akonah, A. (2006). Natural Infection of *Datura stramonium L* by an unusual strain of pepper veinal mottle virus Genus Potyvirus in Nigeria, 401-404.

Topolov, v., Gabrolov, M., Yankolov, J. (1983). *Plantas Medicinales et Fitoterapia (Bilki et Bilcosvirane)*. Plovdiv. Edition. Jristo, G. Danov.

(W)

Weaver, S., Dirks, V., Warwick, S. (1985). Variation and climatic adaptation in northern populations of *Datura stramonium* . *Can. J. Bot.* 63,1303-1308.

(Y)

Yeatman, C.W. (1987). Conservation of genetic resources within managed natural and man-made forests. *Malays. Forester* 50, 1-8.

