

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Blida 1

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Biotechnologies**



MÉMOIRE

**Pour l'obtention du diplôme de Master
En Biotechnologie Végétale
Option : Amélioration des plantes**

Thème :

**Micropropagation in vitro de la Sauge
Officinale
(*Salvia officinalis* L.)**

Présenté par :

MELLAS Sara

BERRIM Meroua

Président : Snoussi SA Professeur (Université de Blida 1.)

Examineur : Benmoussa M Professeur (Université de Blida 1.)

Promotrice : Kebour Dj Professeur (Université de Blida 1.)

Juin 2020

Remerciement

Notre première gratitude va au tout puissant (Allah), le créateur de tout, pour nous donner la vie, la bénédiction et la force pour accomplir ce travail.

*Nous tenons vivement à exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude à notre encadreur **Mme Kebour Djamila**, qui a bien voulu, par son aimable bienveillance, diriger cette étude, qui a fait preuve d'une grande patience.*

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans ses conseils, son aide, son appui et son encouragement ... MERCI.

Nous voulons adresser notre profonde reconnaissances aux membres du jury pour avoir accepté de consacré leurs temps à l'examen de ce travail :

*Nos remerciements s'adressent également au professeur **SNOUSSI Sid Ahmed** qui nous fait l'honneur d'être le président de jury de ce mémoire.*

*Nos reconnaissances également au professeur **BENMOUSSA M** en tant qu'examineur, nous sommes très honorées de sa présence.*

*Nous adressons nos remerciements à **Mme Karima** ingénieure de laboratoire d'amélioration des plantes, elle était toujours prête à nous aider au laboratoire.*

Nos remerciements spécifiques de profond de notre cœur vont à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la finalisation de ce modeste travail, pour leur aide, leur disponibilité et le bon accueil.

SARA et MEROUA

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes parents :

Mon père qui m'a tout donné, qui s'est battu pour que je puisse étudier dans très bonnes conditions.

Ma mère qui m'a donnée la vie et cette éducation que j'avais tant besoin qui est toujours présente pour moi.

A mon cher frère Chakib qui m'a aidé et m'a permis d'en m'arrivé là.

Mes frères Lotfi et Younes.

Mon grand père et ma grande mère de me soutenir et m'encouragé par leurs prières.

Mes chères sœurs Amira et Chaima.

A mes tantes et mes oncles.

Tous mes cousins et cousines.

A toute la famille Mellas et Benzeghimi qui m'ont encouragé à finir mes études et aller jusqu'au bout, à qui je souhait tout le bonheur du monde.

A mes amies Marwa , Wissem , Hadjer, Rofia.

A Mon fiancé qui m'a toujours encouragé, soutenu et incité à faire de mon mieux, il m'a permis de réalisé mon rêve.

Je le dédie également à toute la promotion des biotechnologies 2020.

Sara

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents

Ma mère qui m'a donné la vie et cette éducation que j'avais tant besoin qui a été toujours présente à mes côtés.

Mon père qui m'a tout donné qui s'est battu pour que je puisse étudier dans de très bonnes conditions.

Mes frères Mourad et Mohamed Rédha et Hani qui étaient toujours à mes côtés et m'ont beaucoup aidé pour y arriver.

Mes sœurs Bahia, Fella, Samah et Houda.

Mes grands-parents qui m'ont soutenu et encouragé par leurs prières.

Mes tantes Dounia, Khadidja et Hellala.

Mes cousines et mes cousins.

Ma voisine tante Zineb.

A toute la famille Berrim et Zahi.

Mes 2 chats Leo et Léa qui m'ont tenu compagnie.

Mes amies Sara, Rofia, Hadjer, Wissem et Samira.

Je la dédie également à toute la promotion des biotechnologies 2020.

Meroua

Résumé

La plante sur laquelle est porté notre choix d'étude est une espèce de plante phyto thérapeutique méditerranéenne de la famille des lamiacées la sauge officinale L (*Salvia officinalis* L). Bien que relativement abondante et largement utilisée et ce malgré sa teneur et son rendement en huile essentielle, cette espèce a été peu étudiée et point développée en Algérie. A présent, l'utilisation de la technique de culture in vitro se justifie par son efficacité dans la production végétative qui ne présente pas ces capacités en conditions classiques dans le but d'améliorer la rusticité, l'homogénéité et le potentiel qualitatif d'une bonne variété en un temps largement plus réduit.

En effet, Le travail que nous espérons réaliser a pour but d'étudier l'effet de la micropropagation in vitro sur le génotype variétal de la sauge officinale L. Dans cette optique, nous avons étudié les paramètres morphologiques suivants : nombre de feuilles, longueur de la tige, nombre de racines, longueurs de racines et la ramification de la tige de la sauge officinale ramené de campus d'université.

Enfin, les résultats de ces paramètres sur la plante médicinale qu'ont souhaités évaluer et découvrir dans le présent travail n'ont pas été malheureusement menés à terme pour cause de pandémie.

Les mots clés

Salvia officinalis L, culture in vitro, micropropagation, milieu standard

Murashige et Skoog, huiles essentielles, phyto thérapeutique, plante médicinale

Abstract

The plant on which we have chosen to study is a species of Mediterranean phyto- therapeutic plant of the Lamiacea family, sage officinalis L (Salvia officinalis L).

Although it is relatively abundant and widely used, despite its content and yield of essential oil (HE), this species has been little studied and not developed in Algeria.

At present, the use of the in vitro cultivation technique is justified by its efficiency in vegetative production which does not have these capacities in classical conditions, with the aim of improving the hardiness, homogeneity and quality potential of a good variety in a much shorter time.

Indeed, the work we were hoping to carry out is aimed at studying the effect of in vitro micropropagation on the varietal genotype of common sage officinalis L. With this in mind, we studied the following morphological parameters: number of leaves, stem length, number of roots, root lengths and stem branching of officinal sage brought back from a nursery.

Finally, the results of these parameters that we wished to evaluate and discover in the present work have unfortunately not been completed due to the pandemic.

The key words:

Salvia officinalis L, in vitro culture, micro propagation, MS Murshige and Skoog, essential oils, medicinal plant, phyto-therapeutic,.

ملخص

النبتة التي وقع اختيار دراستنا عليها هي نوع من النباتات العلاجية المتوسطة من عائلة les lamiacées و هي la sauge officinale L (salvia officinalis L) . على الرغم من محتواها و محصولها من الزيت العطري و وفرتها نسبيًا و استعمالها الواسعة في العديد من المجالات ، لم تتم دراسة هذا النوع أو تطويره في الجزائر .
حاليًا يتم استخدام تقنية الزراعة المخبرية لفعاليتها في الانتاج النباتي ، حيث لا تمتلك هذه القدرات في ظل الظروف التقليدية بهدف تحسين قدرة التحمل ، التجانس و الامكانيات النوعية لمجموعة جيدة في وقت اقصر بكثير .

في الواقع ، العمل الذي كنا نأمل القيام به هو لغرض دراسة تأثير الزراعة المجهريّة في المخبر حول النمط الجينيّ للنوع Salvia officinalis.

في هذا المنظور قمنا بدراسة الخصائص المورفولوجية التالية : (عدد الاوراق ، طول الساق ، طول الجذور و عدد تفرعات الجزء الهوائي ل Sauge officinale الذي جلبناها من الحرم الجامعي .
في الاخير ، و للأسف لم نتمكن من إنهاء عملنا بسبب وباء كوفيد-19 و بالتالي لم نتمكن من الحصول على نتائج هذه الخصائص على النبتة الطبية التي اردنا التعرف عليها و تقييمها في عملنا الحالي .

الكلمات المفتاحية:

, Salvia officinalis L, الزراعة المخبرية MS , وسط أساسي ,العلاج بالنباتات, نبات طبي

LISTE DES ABREVIATIONS

- **FerEDTA** : Fer Ethylène Diamine Tétra-acétique Acide
- **MS** : Murashige et Skoog (milieu standard)
- **Ppm** : Partie par million
- **Lux** : Unité d'éclairement lumineux

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE 1 :

- **Figure 1** : salvia officinalis morphologie8
- **Figure 2** : aspect de la plante salvia officinalis8
- **Figure 3** : les feuilles de salvia officinalis8
- **Figure 4** : les fleurs de salvia officinalis 8
- **Figure 5** : les graines de salvia officinalis 8
- **Figure 6** : plants de sauge attaqués par le mildiou14
- **Figure 7** : face supérieure de sauge officinale14
- **Figure 8** : feuilles de sauge attaquées par l'oïdium.....16

CHAPITRE 2 :

- **Figure 9** : influence des équilibres hormonaux sur l'organogénèse 21
- **Figure 10** : voies de la culture in vitro 22
- **Figure 11** : Méristème de tige et de racine 22
- **Figure 12** : Schéma de la régénération d'une plante 23

CHAPITRE 3 :

- **Figure 13** : Schématisation du microbouturage 34
- **Figure 14** : Représentation schématique des principales phases du développement d'embryon somatique 36

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 1 :

- **Tableau 1 :** Dénomination de la sauge06
- **Tableau 2 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L11
- **Tableau 3 :** Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de *Salvia Officinalis* L.....12

CHAPITRE 2 :

- **Tableau 4 :** les principaux constituants du milieu de culture de Murashige et Skoog (MS).....28

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
Résumé en arabe	
Liste des abréviations.	
Liste des figures.	
Liste des tableaux	

Table des matières

Introduction générale	4
------------------------------------	----------

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : Matière Végétale	5
▪ 1.1 Famille des Lamiacées.....	5
▪ 1.2 Le genre Salvia	5
▪ 1.3 Historique	5
▪ 1.4 Classification.....	6
▪ 1.5 Description morphologique.....	7
▪ 1.6 Habitat.....	9
▪ 1.7 Répartition géographique	9
▪ 1.8 Irrigation	9
▪ 1.9 Plantation	9
▪ 1.10 Récoltes et rendements	9
▪ 1.11 Principaux pays producteurs	10
➤ 1.11.1 Production en France	10
➤ 1.11.2 Production en Languedoc-Roussillon	10
▪ 1.12 Propriétés de la sauge et ses utilisations traditionnelles	10
▪ 1.13 Composition chimique	11
➤ 1.13.1 Huiles essentielles	11
➤ 1.13.2 Composés phénoliques	12
▪ 1.14 Formes galéniques disponibles	12
▪ 1.15 Dosage usuels	13

▪ 1.16 Composition	13
➤ 1.16.1 Composants principaux de la plante	13
➤ 1.16.2 Composants principaux de l'huile essentielle	13
▪ 1.17 Maladies et ravageurs	14
➤ 1.17.1 Le mildiou de la sauge officinale	14
• Symptômes	
• Conditions favorables à son apparition	
• Cycle biologique du stramenopile ¹	
• Incidences économiques	
• Méthodes de lutttes	
➤ 1.17.2 Oïdium (maladie du blanc)	16
• Symptômes	
• Action préventive	
• Traitement au soufre	

CHAPITRE 2 : Culture in vitro 18

▪ 2.1 Définition de la culture in vitro	18
▪ 2.2 La totipotence	18
▪ 2.3 La différenciation	19
▪ 2.4 La dédifférenciation	19
▪ 2.5 Historique	19
▪ 2.6 Les applications de la culture in vitro	20
▪ 2.7 Culture de méristèmes	21
▪ 2.8 Embryogénèse somatique	23
▪ 2.9 Organogénèse	23
▪ 2.10 Caulogénèse	24
▪ 2.11 Rhizogénèse	24
▪ 2.12 Facteurs de la régénération	25
▪ 2.13 Effet de l'explant	25
▪ 2.14 L'âge physiologique et ontogénique de l'organe	25
▪ 2.15 L'époque du prélèvement ²	25
▪ 2.16 La taille de l'explant	26
▪ 2.17 Influence du génotype	26
▪ 2.18 Effet du milieu de culture	26
▪ 2.19 Les régulateurs de croissance	28
▪ 2.20 Influence de la source carbonée	29

▪ 2.21 Les vitamines	29
▪ 2.22 La lumière et la photopériode	30
▪ 2.23 La température	30
CHAPITRE 3 : Micropropagation in vitro	31
▪ 3.1 La multiplication des végétaux	31
➤ 3.1.1 La multiplication sexuée	31
➤ 3.1.2 La multiplication végétative	31
▪ 3.2 La multiplication végétative naturelle	31
➤ 3.2.1 Le marcottage naturel	31
➤ 3.2.2 Le bouturage naturel	32
▪ 3.3 La multiplication végétale artificielle	32
▪ 3.3.1 Les anciennes méthodes	32
• Bouturage	
• Marcottage	
• Greffage	
• Drageonnage	
▪ 3.4 La Micropropagation in vitro	33
▪ 3.4.1 L'embryogène Somatique	34
▪ 3.4.2 La culture de protoplastes	36

Partie II- Partie expérimentale

I Matériels et Méthodes

▪ 1.1 Matériel végétal	37
▪ 1.2. Milieu de culture	37
➤ 1.2.1 Solution mère des milieux de culture	38
• Préparation de la solution mère de macroélément	
• Préparation de solution mère de microéléments	
• Préparation de solution mère des vitamines	
• Préparation de solution mère de Fer EDTA	
➤ 1.2.2 Composition du milieu de culture	39
▪ 1.3 La stérilisation	40
➤ 1.3.1. Stérilisation des milieux de culture	40
➤ 1.3.2 Stérilisation des instruments de travail	40
II Conclusion	41

Introduction

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tel que les animaux aussi bien les êtres humains (Madi, 2011). En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**Benkhniq, 2010**).

Le recours aux plantes médicinales pour se guérir a pris naissance depuis bien longtemps en médecine traditionnelle grec, romaine, indienne, chinoise et arabo-musulmane. Au niveau national et d'après une enquête réalisée dans le cadre d'une étude sur l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle, 71% des personnes interrogées utilisent les plantes médicinales et aromatiques pour se faire soigner. De nombreuses formes médicamenteuses à base de plantes ou de substances végétales ne cessent de croître à l'échelle mondiale (**Wichtel Anton, 2003**).

En Afrique, où les médicaments à base de plantes sont toujours utilisés par de nombreuses populations pour des soins sanitaires, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu de façon empirique (**Koffi et al., 2009**).

La flore algérienne, avec ses différentes espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan photochimique que sur le plan pharmacologique (**Merzoug, 2009**).

Il est actuellement prouvé qu'environ 20% des espèces végétales poussant dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans divers domaines (médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture, etc.) (**Suffredini et al., 2004**).

Le genre *Salvia*, de la famille des labiées ou lamiacées, font partie de la gamme variée des plantes médicinales et aromatiques spontanées caractérisant la flore Algérienne. Le genre en question compte, à lui seul, plus de 900 espèces, (**Bektas et al., 2005; Kivrak et al., 2009**). Les espèces décrites en Algérie sont au nombre de vingt-trois (**Quezelet Santa, 1963**).

Revue bibliographique

Chapitre 1 : Matière végétale

1.1 Famille des Lamiacées

La famille des lamiacées (labiées) comprend près de 200 genres et 4000 espèces dont la plupart ont une importance économique due à leur production d'huiles essentielles. Des études biologiques d'huiles essentielles des espèces *salvia spp* ont montrées des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, en plus de leurs utilisations en cosmétique et agroalimentaire. Un très grand nombre de genres de la famille des lamiacées sont des sources riches en terpénoides, flavonoïdes et iridiodes glycosylés (TEPE et al ., 2006) in ZERROUKI , 2017.

Le genre *salvia* (sauge) contient près de 900 espèces majoritairement riches en diterpénoides (HOHMANN et al ., 2003 et . KAMATOU et al ., 2005 et RABBANIET, 2005)

1.2 Le genre Salvia

D'après la préhistoire, une variété de sauge appelait « Chia » était cultivée par les mexicains. Les grecs, les romains et les arabes ont utilisé la sauge comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpents. Au 18^{ème} siècle, les feuilles de la sauge ont été roulées comme des cigarettes pour les fumer contre l'asthme et surtout au printemps (Anonyme 3).

1.3 Historique

La sauge était très appréciée des anciens. Et devient une véritable panacée au moyen âge, elle fut protégée par les capitulaires de Charlemagne. On la distillait déjà au 15^{ème} et 16^{ème} siècle, exportée en Chine en échange de cette autre panacée qui est encore le ginseng, elle ne résiste pas comme lui à l'épreuve des siècles. La légende disait que quiconque possédait la sauge dans son jardin n'aurait aucune raison de mourir (Perrot, 1944).

1.4 Classification

La sauge officinale : Salvia officinalis, du latin : Salvare = Sauver, on lui attribuait la propriété de guérir plusieurs maladies.

Tableau 1 : Dénomination de la sauge

Nom scientifique	Salvia officinalis
Synonyme	Herbe sacrée, thé de l'Europe, thé de la Grèce, thé de la France, thé de Provence, grande sauge, sauge franche.
Nom vernaculaire arabe	Souaq en nebi, Hondbiques Sedr, kheyat ledjrouh, salma, mofaça, Naama.
Nom targui ou berbère	Agourim Imeksaouen Tazzourt
Nom allemand	Salbei, garten-salbei
Nom anglais	Sage
Nom grec	Sphakos, Elelisphakon

Selon **Cronquist (1968)**, cité par **Malos (1979)**, la sauge appartient au :

Règne : Végétal

Embranchement : Cormophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Magnoliatae (dicotyledones)

Sous classe : Asteridae

Famille : Labiaceae

Genre : Salvia

Espèce : Salvia officinalis

D'autres espèces du genre *Salvia* ont été identifiées comme étant :

Salvia jasminiana

Salvia lavandulaefolia

Salvia sclarea

Salvia selvestris

Salvia triloba

Salvia verbenaca

(Quezel et Santa, 1963)

1.5 Description morphologique

D'après **TEUSCHER et al. , (2005)**, La sauge est un sous-arbrisseau buissonnant et persistant, formant une touffe ligneuse pouvant atteindre jusqu'à 80 cm de haut et dont les tiges émettent de nombreux rameaux dressés, quadrangulaires et laineux, présentant des nœuds saillant sur lesquels sont insérées les feuilles. Celles-ci sont opposées, pétiolées à la base (mais sessiles pour la paire placée au voisinage des fleurs), oblongues ou lancéolées et ovales, parfois auriculées à la base ; elles sont de couleur vert grisâtre et d'aspect velouté par la présence d'un revêtement laineux visible sur les deux faces, plus abondant au niveau inférieur ; les bords du limbe sont légèrement enroulés et très finement crénelés ; le limbe est épais et chagriné en raison d'un réseau de nervures très marquées , saillantes à la face inférieure.

Les fleurs sont groupées par 4 à 12 en une inflorescence située à l'extrémité des rameaux et constituant une cyme unipare (simulant un faux verticille lâche) ; elles sont zygomorphes, faiblement pédicelles et d'assez grande taille (3cm) ; leur calice est pubescent, persistant et ponctué de glandes sécrétrices ; en formes de clochette ovale de 10 à 14mm de long, il comprend 5 sépales soudées à la base puis divisées en 2 lèvres, la lèvre inférieure n'est que bidentée ; de 35mm de long (donc deux fois plus longue que la calice) , la corolle bilabiée comprend 5 pétales soudées, couleur violet clair, parfois rose ou moins blanchâtre ; la lèvre supérieure est forme de casque ou marginé, formé par la soudure des deux pétales dorsaux ; l'androcée ne comporte que 2 étamines dont la base du connectif qui unit les deux loges de l'anthere est divisée en deux branches inégales : la plus longue portant la loge fertile est située sous la lèvre supérieure de la corolle , alors que la partie (**TEUSCHER et al.,2005**)



Figure 1 : *Salvia officinalis* morphologie
(Wikipedia 2018)



Figure 2 : Aspect de la plante *Salvia officinalis*
(Wikipedia 2018)



Figure 3 : Les feuilles de *Salvia officinalis*
(Wikipedia 2018)



Figure 4 : les fleurs de *Salvia officinalis*
(wikipedia 2018)



Figure 5 : les graines de *Salvia officinalis*
(Wikipedia 2018)

1.6 Habitat

Très belle plante répandue dans le bassin méditerranéen, spontanée dans les lieux arides, elle pousse sur les terrains les plus pauvres, même s'ils sont pierreux, car elle est peu exigeante et très généreuse, elle aime l'ensoleillement, on la cultive dans n'importe quel potager comme plante aromatique et culinaire (**Cretti, 1981**)

1.7 Répartition géographique

Cette plante vivace est originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle croit de manière spontanée et en culture de long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie, et dans le nord de l'Afrique. Cette plante est assez commune en Algérie (**BABA, 2000**)

C'est une plante cultivée un peu partout en Algérie ; sa floraison elle est au mois de Mars-Mai

1.8 Irrigation

En principe la Sauge fait partie des plantes non irriguées. Lors de sécheresse exceptionnelle et en première année il est cependant conseillé d'assurer un apport supplémentaire en eau. (**anonyme 6**)

1.9 Plantation

La plantation a lieu de Novembre à mars pour les racines nues et d'avril à mai pour les minimottes. Les espacements sont de 0,50 sur le rang et 1,50 à 2 m entre les rangs selon les largeurs d'outils tracteur. Soit une densité d'environ 12 000 plants /ha. (**anonyme 6**)

1.10 Récoltes et rendements

Traditionnellement on coupe la Sauge lors de la Saint Jean. La deuxième coupe aura lieu en septembre. Il est possible également de récolter directement et régulièrement les feuilles. Le tri est alors superflu. (**anonyme 6**)

1.11 Principaux pays producteurs

Il est difficile d'avoir des données chiffrées précises sur cet atelier. Les principaux pays producteurs de Sauge sont l'Espagne, la Pologne et le Maroc. Ces pays pratiquent des prix plus faibles qu'en France, d'où une bonne pénétration du marché français. **(anonyme 1)**

1.11.1 Production en France

Les départements de la Drôme et des Alpes-de-Haute-Provence sont les plus grands producteurs avec près de 900 ha de plantes aromatiques chacun. Cependant, la production de la sauge se trouve disséminée dans les départements du sud-est sur de petites surfaces. **(anonyme 1)**

1.11.2 Production en Languedoc-Roussillon

Les plantes aromatiques en général représentaient 413 ha en 2000. Tous les départements contribuent à plus ou moins grande échelle, à la production régionale de plantes aromatiques. La sauge est surtout présente dans le Gard, l'Hérault et l'Aude à travers de petites structures. Elle est également très présente naturellement dans l'arrière-pays ce qui permet des cueillettes ponctuelles. **(anonyme 1)**

1.12 Propriétés de la sauge et ses utilisations traditionnelles

La sauge est utilisée depuis l'antiquité, elle possède des propriétés : stimulant, tonique, digestive, fébrifuge et vulnéraire. C'est donc un remède à un haut degré. La tisane de sauge est efficace pour faciliter la digestion, relever les forces de l'estomac et de l'intestin, calme les vomissements spasmodiques, elle active les fonctions circulatoires et cutanées. On l'emploie avantageusement contre la diarrhée, les ballonnements, la transpiration nocturne. On la prépare en infusion à la dose de 10g par litre d'eau, laisser infuser 10min ; prendre une tasse après chaque repas. La sauge se montre également fortifiante, réparatrice des troubles circulatoires.

Les feuilles fraîches ou la poudre des feuilles séchées en friction, préservent les dents de la carie. En bain de bouche et gargarisme l'infusion vineuse fait périr le champignon du muguet, fait disparaître les aphtes, les engorgements ulcéreux et scorbutiques des gencives. Les feuilles sont utilisées couramment en guise de thé. **(BELOUED 2007).**

1.13 Composition chimique

1.13.1 Huiles essentielles

La sauge contient 5% de tanin , un principe amer , 5,60 % de Résine , 6 % de gommes , du mucilage ,des acides phosphoriques ,oxalique ,des nitrates , 9 % de pentosane , des traces d'asparagine et 1,5 à 2,5% d'huile essentielles dite huile de sauge , renfermant de la thuyone ,du bornéol , du cinéol , du camphre , des terpènes et picrosalvine (BELOUED, 2007).

L'analyse des extraits de Salvia officinalis a montré que cette espèce contient environ

1.0 à 2.8% d'huile essentielle (RADULESCU et al., 2004 et KENNEDY et SCHOLEY, 2005).

Les principaux constituants identifiés dans cette huile, par la GC-MS, sont illustrés dans le tableau suivant

Tableau 2 : Composition chimique de l'huile essentielle de Salvia officinalis L. (Miladinovic, 2000)

Constituant	Quantité (%)	Constituant	Quantité (%)
Thuyéne	0,10	-thuyone	24,88
α -pinène	3,5	β -thuyone	8,08
camphène	3,14	camphre	16,03
2- β -pinène	0,58	1-bornéole	4,31
β -myrcène	0,59	1,4-terpeniole	0,81
α -terpinène	0,89	Acetate	2,68
1,8-cinéole	9,79	d'endobornyl Caryophyllène	0,82
γ -terpinène veridiflorol	0,15	β -selinène	3,9
	7,87	manool	3,22

1.13.2 Composés phénoliques

La plante contient de l'huile essentielle (les cétones monoterpénique sont considérées commendes constituantes principales), des tanins catéchiques, des acides polyphénols carboxyliques (rosmarinique, caféique, chlorogénique, ρ -coumarique et férulique), des principes amers diterpéniques, des triterpène pentacycliques (acides ursolique, cratègolique, oléanolique etc.), des phytostérols et des flavones (Said et al., 2002).

Tableau 3 : Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de Salvia Officinalis L. (Miladinovic, 2000)

Classe	Composé
Acides Phénoliques	Acide gallique, Acide 3-O-caffeoylquinique, Acide 5-O-caffeoylquinique, Acide caféique, Acide rosmarinique, Acide salvianolique et dérivée, Melitrate A méthyl saugecoumarine, Acide saugerinique, Tanshinone II A, Acide lithospermique, Acide yunnanéiques, Acide A melitrique, Acide royleanonique et Acide oléanolique.
Diterpènes Phénoliques	Acide carnosolique, Rosmadials, Carnosote de méthyl, Carnosol, Epirosmanol, Epiisorosmanol methyl ether et Epiisorosmanol ethyl ether
Flavonoïdes et dérivés	Hesperidine, Apigénine, Hispiduline, Cirsimaritine, Genkwanine, Lutéoline et Luteoline 7- glucoside.
Tannins	Catéchine et Salvia tannins.

1.14 Formes galéniques disponibles

- Tisane de feuilles
- Teinture-mère de parties aériennes
- Extraits secs
- Extrait fluide
- Huile essentielle de plante fleurie (à proscrire du fait de la présence de thuyone) (**anonyme 2**)

1.15 Dosages usuels

- 1,5 gramme de drogue finement coupée, en infusion, répétée 3 à 4 fois par jour
- TM Salvia officinalis 50 gouttes matin et soir (**anonyme 2**)

1.16 Composition

1.16.1 Composants principaux de la plante

- Huile essentielle (1 - 2,5 %) contenant 35 à 60 % de thuyone
- Tanins (3 - 7 %) et composés phénoliques dont acide rosmarinique (appelé "tanin des labiées" ou Lamiaceae)
- Diterpènes : acide carnosique et carnosol (= picrosalvine), rosmanol, safficinolide
- Flavonoïdes (1 - 3 %) : lutéoline, 5-méthoxysalvigénine
- Triterpènes : très riche en acide oléanolique (400 ppm) et dérivés, acide ursolique

Composants principaux des bourgeons ou jeunes pousses

1.16.2 Composants principaux de l'huile essentielle

- Cétones : thuyone 35 à 70 % (mélange d'alpha-thuyone et bêta thuyone), camphre 8-37 %
- Monoterpènes : limonène
- Sesquiterpènes 8 - 15 %
- 1,8-cinéole 8-24 %, bornéol
- Salviol (diterpénol) (**anonyme 2**)

1.17 Maladies et ravageurs :

La Sauge peut souffrir de champignons. La plante se dessèche et meurt. Prélever les plantes atteintes et brûler. Jaunissement ou décoloration blanchâtre des feuilles puis mort de la plante : il peut s'agir de cicadelles. Des punaises, pyrales, tordeuses, noctuelles, géométridés avec leurs chenilles, chrysomèles pouvant provoquer de sérieux dégâts, et autres insectes peuvent attaquer les feuilles de sauge et laissent alors des trous au milieu et aux bords. Comme toutes les labiées elle craint les larves d'Arima marginata. (anonyme 6)

1.17 .1 Le mildiou de la sauge officinale

Nom de l'agent pathogène : Peronospora lamii A.



Figure 6 : Plants de sauge atteints par le mildiou
(Anonyme 4, 2011)



Figure 7 : Face supérieure de sauge officinale
(Agroscope ACW ,2011)

➤ Symptômes

Le mildiou affecte essentiellement les parties aériennes de la plante. Des taches chlorotiques apparaissent à la face supérieure des feuilles. Par la suite, ces taches délimitées par les nervures principales prennent une couleur noire. On peut également en observer sur les tiges. Les feuilles les plus touchées noircissent presque complètement et se nécrosent. En effet, les tissus perdent de leur turgescence et les feuilles fanent complètement, mais ne se détachent que rarement de la plante. La face inférieure du limbe est couverte d'un duvet de couleur grise.

Lors de graves épidémies de mildiou, en plus des feuilles, les jeunes pousses peuvent être affectées. Les jeunes feuilles se nécrosent alors rapidement, puis les plantes meurent. Soulignons que cette maladie se manifeste surtout à la fin du printemps (mi-mai) et qu'elle disparaît pratiquement en été.

➤ **Conditions favorables à son apparition**

Le développement et la sporulation du mildiou sont favorisés par des conditions climatiques fraîches et humides et notamment par la présence de fortes humidités relatives. Cette maladie est notamment grave sur les cultures à forte végétation et/ou implantées dans des zones humides et insuffisamment exposées au vent.

➤ **Cycle biologique du stramenopile**

Il produit des sporangiophores émergeant des tissus de la plante par les stomates. Arrivés à maturité, des sporanges se forment à leurs extrémités. La présence de ces structures à la face inférieure des feuilles est matérialisée par l'apparition d'un duvet gris tapissant le limbe. Les sporanges sont produits en présence de fortes humidités relatives et sont libérés en grand nombre dans le courant de la matinée lorsque l'humidité relative baisse. Ils sont disséminés grâce aux courants d'air et au vent. Arrivés sur leur hôte, ils germent en produisant un tube germinatif et assurent des contaminations secondaires

➤ **Incidences économiques**

En conditions favorables le mildiou peut occasionner des pertes importantes, ceci durant un court laps de temps. Par exemple en plein champ, il peut détruire de 40 à 90 % des jeunes plantes. Le niveau des pertes dépendra souvent de la durée de la présence d'humidité, et des températures. Par temps humide et frais Peronospora lamii est souvent incontrôlable, il sporule beaucoup, s'étend rapidement et tue les jeunes tissus succulents. Il engendre aussi de nombreuses nouvelles infections. Son extension s'estompe et s'arrête seulement quand le temps devient chaud et sec.

➤ Méthodes de luttés

- Variétés résistantes : Il n'y a à l'heure actuelle pas de variété résistante connue.
- Mesures prophylactiques : Afin d'éviter l'apparition du mildiou de la sauge, les mesures préventives suivantes peuvent être mises en place :
 - éviter de planter les cultures en zone ombragée et/ou humide
 - planter dans des zones bien ventilées
 - ne pas planter les sauges de façon trop dense
 - détruire les plantes ou parties de plantes malades
- Méthodes biologiques : Il n'existe pas à l'heure actuelle de moyen de lutte biologique pour contrôler le mildiou de la sauge.
- Lutte chimique : Les produits autorisés sur la sauge officinale contre le mildiou sont référencés sur le site de l'iteipmai. Des mots de passe sont mis à la disposition des adhérents de l'iteipmai. (**anonyme 4**)

1.17.2_ Oïdium (maladie du blanc)



Figure 8 : feuilles de sauge attaquées par l'oïdium (**anonyme 5 , 3 mai 2019**)

La "maladie du blanc" est un champignon qui attaque nombre de cultures, aussi bien au jardin d'ornement qu'au verger ou au potager... L'humidité et les écarts de température importants entre la nuit et le jour favorisent son apparition; d'où une présence accrue en mai et en septembre. Comment lutter ?

➤ **Symptômes**

- L'oïdium fait partie des maladies cryptogamiques bien connues des jardiniers. Tout commence par l'apparition d'un feutrage blanc d'aspect farineux sur les feuilles, les tiges et parfois les fleurs. Souvent, l'oïdium provoque une déformation des feuilles, qui se gondolent et se boursouflent : l'horreur !
- Action préventive
- Comme souvent au jardin, dans le double but d'une meilleure efficacité et d'une moindre pollution chimique, on tâchera de mener une action préventive.

➤ **Dans le cas de l'oïdium, celle-ci est multiple :**

- **espacer suffisamment les plants**, nettoyer régulièrement autour des plantations, dégager le centre des rosiers pour que l'humidité ne persiste pas longtemps (un facteur favorable à l'apparition de la maladie),
- **supprimer** rapidement les parties ou sujets atteints afin que la maladie ne se propage pas trop vite,
- lorsqu'il fait chaud, veiller à **ne pas arroser le feuillage**,
- **traiter préventivement** les sujets sensibles.

➤ **Traitement au soufre**

Généralement appliqué en pulvérisation, le soufre s'achète sous forme de "poudre à mouiller" que l'on dilue donc dans l'eau. Respectez les doses indiquées sur l'emballage; les augmenter n'améliore pas l'efficacité du traitement. A noter: comme tout **traitement pulvérisé sur les feuilles**, ne pas traiter par forte chaleur.

(anonyme 5)

Chapitre 2 : Culture in vitro

2.1 Définition de la culture in vitro

La multiplication végétative in vitro est un mode de reproduction asexué artificielle, elle comprend un ensemble de méthodes faisant intervenir, d'une part des éléments d'asepsie, et d'autre part la mise en place d'un environnement parfaitement contrôlé: milieu défini pour chaque végétale, condition optimale de température, photopériode, l'humidité....etc.

Ces méthodes s'appliquent autant à des fragments des plantes [tissus ou organes], qu'à des cellules isolées ou à des protoplastes (**Dutuit et gorenflot, 2008**).

La culture in vitro doit toute son extension à la **totipotence** cellulaire des végétaux. Toute cellule d'une plante peut, dans certaine condition se dédifférencier pour devenir une cellule œuf, appelé cellule embryogène, capable de générer un nouvel individu. Ainsi peut-on obtenir à partir d'un fragment végétal plusieurs dizaines de milliers de plantules (**Guyot et al., 2003**)

Chez la pomme de terre on peut repiquer des fragments de germes comportant un nœud, qu'en appel explants, muni d'une petite feuille d'un bourgeon adventif. La plante issue, appelé vitro plant, peut être à son tour fragmenté et conduire a d'autre vitro plant. Un seul bourgeon permet de produire en moins d'un an, deux millions de plants, toutes identiques à la plante mère sur des milieux nutritives artificiels (**Cevie, 1997**)

Cette méthode repose sur trois aspects fondamentaux spécifiques aux plantes.

2.2 La totipotence

C'est la capacité de n'importe quelle cellule végétale différenciée possédant la formation nécessaire a réorienté son développement succède ensuite la dédifférenciation puis la croissance et la division cellulaire pour reconstituer toute les parties d'une plante (**Ducreux, 2002 Robert, et al , 1998**)

2.3 La différenciation

C'est le processus de transformation d'une cellule méristématique en une cellule spécialisée pour assurer les fonctions permettant la vie de la plante (**Ducreux , 2002**)

La différenciation est placée sous le contrôle de signaux de position venant, au cours du développement des cellules voisines provoquant la perte progressive des caractères cytologiques et physiologique des cellules embryonnaires et l'acquisition des caractéristiques des cellules adultes (**peyecru et al ., 2007**)

2.4 La dédifférenciation

Les cellules végétales capable de se dédifférencier en cellule méristématique à condition qu'elles conservent l'intégrité de leur machine cellulaire. la dédifférenciation va se traduire par la réacquisition des différentes caractéristiques des cellules indifférenciées c'est à dire la reprise de l'activité mitotique qui va permettre le reclonement de la cellule de départ puis le retour à l'État méristématique (**Ducreux , 2002**).

2.5 Historique

En 1878, il y a donc plus de 140 ans. Claud Bernnard formulait les principes théoriques de la création d'un système artificiel dans lequel les organes pourraient survivre hors de l'influence de l'organisme entier. Depuis cette orientation de recherche lentement d'abord, d'une manière plus rapide ensuite, a permis de grands développements à la biologie (**Nozron et banchon,1972**).

En effet le botaniste Haberlandt fut le premier, en 1902, à définir exactement le problème de la culture des tissus et l'a tenté avec des fragments de plantes très diverses il obtenait une survie des cellules de quelque mois mais jamais de multiplication (**Schmid et Keller, 1981**).

En 1934 Gauthereteut l'idée d'utiliser le tissu cambial des arbres. Il avait aussi trouvé le matériel idéal mais pas encore le milieu nutritif optimal. Ce n'est qu'en 1932 que White, à l'état unis, obtint des cultures indéfinies de cellules de tabac. Au même moment Gautheretet Nobecourt publiaient leur résultats sur la culture indéfinie de tissus de carotte (**toute, 1998**).

Le succès fut assuré lorsque, on commença à ajouter au milieu de culture de l'auxine. En 1946, partant d'apex, Balaux USA obtient quelque plantes de lupin. Tandis que Wetmoreet Morel régénèrent des fougères en 1949. A la même époque de Limassetet Cornueten France démontrent l'absence de particules virales dans les apex de tabac (**Zryd, 1988**).

Ces dernières observations ont été mises a profile vers les années 1952, par Morelet Martinqui ont réussi à obtenir, par culture in vitro de méristèmes, des plantes saines [indemnes de viroses] à partir de dahlia (**chèvre, 1985**).

L'année 1955 été marqué par la découverte de la Kinétine par Skoog (substance dotée d'un grand pouvoir caulogène a permis de provoquer, presque à volonté, la néoformation de bourgeons adventifs qui, traités par de l'acide gibbérellique et des auxines, s'enracinaient pour donner des plantes entières (**Toute, 1998**).

En 1958, Steward et son équipe régénèrent les premiers embryons dits somatiques à partir de cellules de carotte et confirment que certaines plantes développées à partir de culture de cellules sont issues d'embryogenèse asexuée. Dès lors, les expériences s'accumulèrent avec des plantes aussi diverses que le tabac, la carotte, le trèfle, le pois, le soja etc. (**Schmid et Keller, 1981; Margara, 1989; Toute, 1998**).

Cette multiplication végétative in vitro fut enfin facilitée par la mise au point à partir de 1962 de solutions minérales particulièrement appropriées (**Margara, 1989**).

En 1975, Pandey utilise du pollen irradié de tabac pour réaliser des croisements interspécifiques. Et en 1976, San Nœud et l'équipe du professeur Demarly à Orsay réussit la première culture d'ovaire d'orge non fécondé. Pendant la même année Seibert réussit à initier des pousses d'oreillettes à partir d'apex conservés par cryoconservation (**Pouect, 2007**).

En 1983, Van Montaigne *et al* créent en Belgique les premières plantes transgéniques transformées par *Agrobacterium tumefaciens*. Il s'agit d'un plant de tabac résistant à la kanamycine (Anonyme, 1996).

2.6 Les applications de la culture in vitro

Les applications sont nombreuses aujourd'hui tant dans le domaine de l'horticulture que dans celui de la recherche (notamment en amélioration des plantes), ou encore pour conserver la diversité variétale (conservatoires) pour sauvegarder des espèces menacées (conservation *ex-situ*). Ces techniques exigent la connaissance des facteurs de l'environnement (température, lumière, composition du milieu...) du fragment de plante mis en culture afin de l'orienter vers un programme d'évolution déterminé (**Dellaa, 2013**).

La culture in vitro, peut être utilisée pour :

Reproduire de façon identique, une espèce et la multiplier en grande quantité, et à moindre coût pour la mettre sur le marché dans les plus courts délais. On parle d'une micro propagation rapide ;

- Préserver des espèces anciennes et menacées, pour conserver la biodiversité ;
- Elaborer de nouvelles variétés de plantes plus rapidement ;
- Assainir des plantes virolées et conserver des plantes saines (Agnès et al, 2013).

Principe et bases biologiques de la culture in vitro.

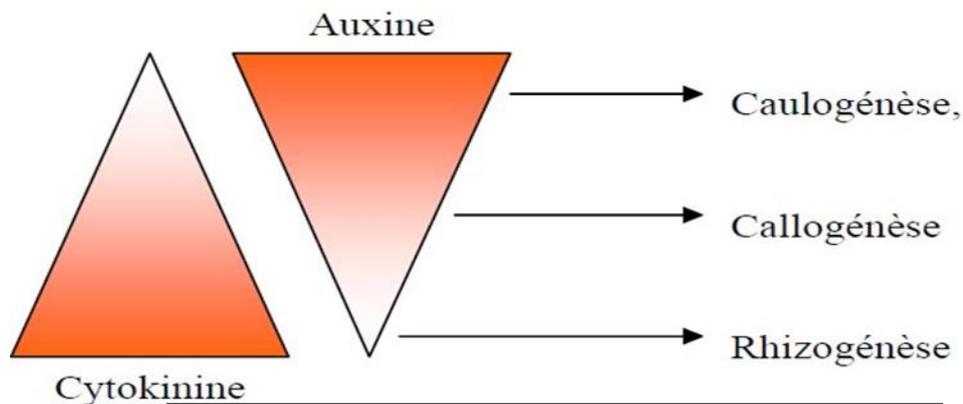


Figure 9 : influence des équilibres hormonaux sur l'organogénèse

(Dal vesco et guerra, 2001)

2.7 Culture de méristèmes

Les méristèmes qui sont des tissus de formation, en expansion continue, confèrent à la plante une organogénèse permanente chez les végétaux supérieurs. Ils représentent des petits massifs de cellules indifférenciées (0.1mm à 0,5 mm) et, conservent la capacité de se diviser activement. Ces zones méristématiques gardent jusqu'à leur mort le caractère juvénile. Elles jouent un rôle capital dans le développement végétal puisqu'elles édifient tous les organes (Camefort, 1977; Margara, 1989).

La culture de méristèmes est la méthode la plus généralisable et la plus sûre pour éviter l'apparition de plantes non conformes à la plante mère ou variant (Saadi, 1991). En multipliant le méristème prélevé au sommet d'une plante ou dans le bourgeon axillaire, le plus souvent indemne de maladies. On pourra très rapidement obtenir de vue génétique et débarrassées de maladies dont elles étaient affectées (Sama et al., 1998).

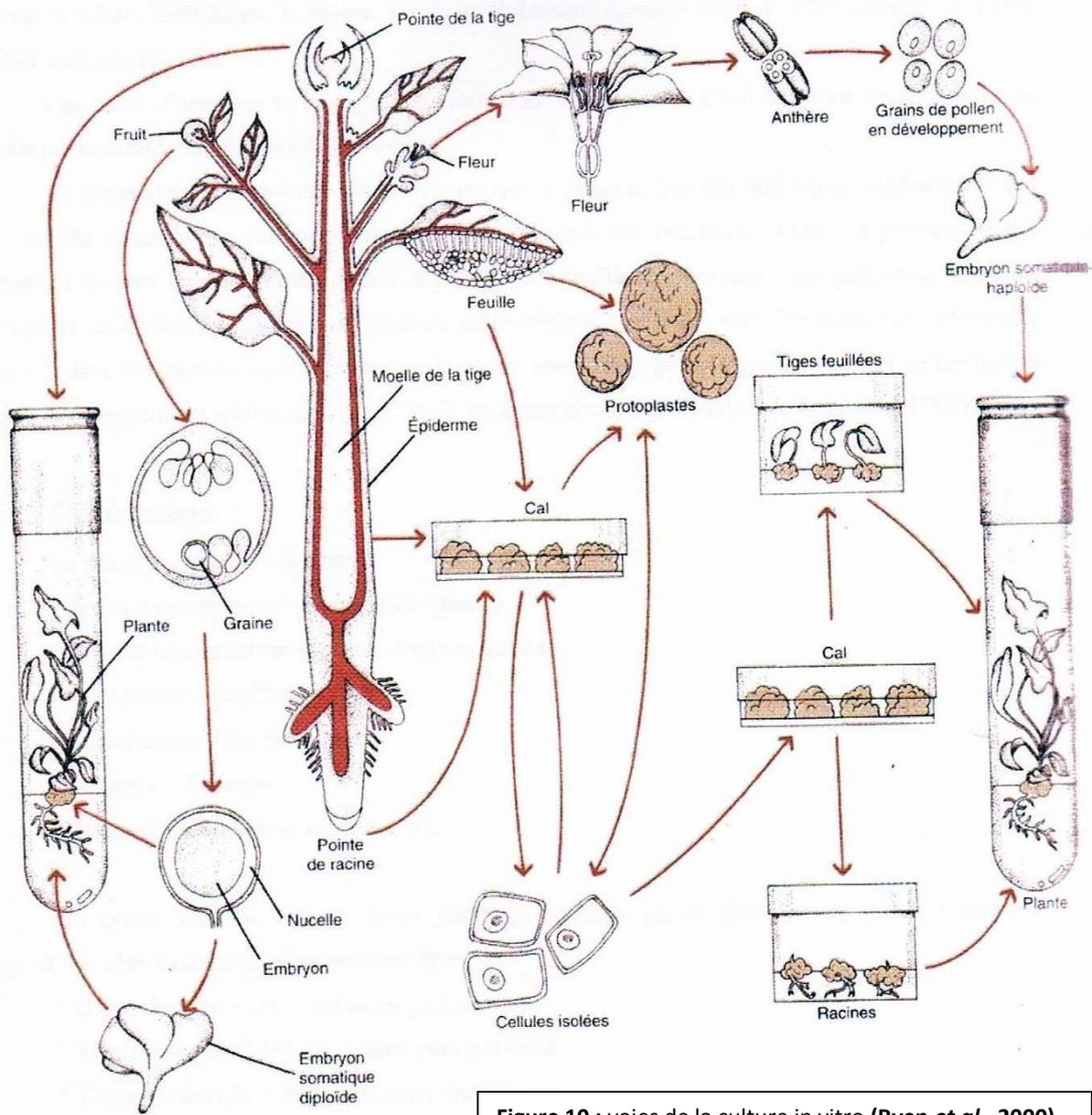


Figure 10 : voies de la culture in vitro (Rven et al., 2000)

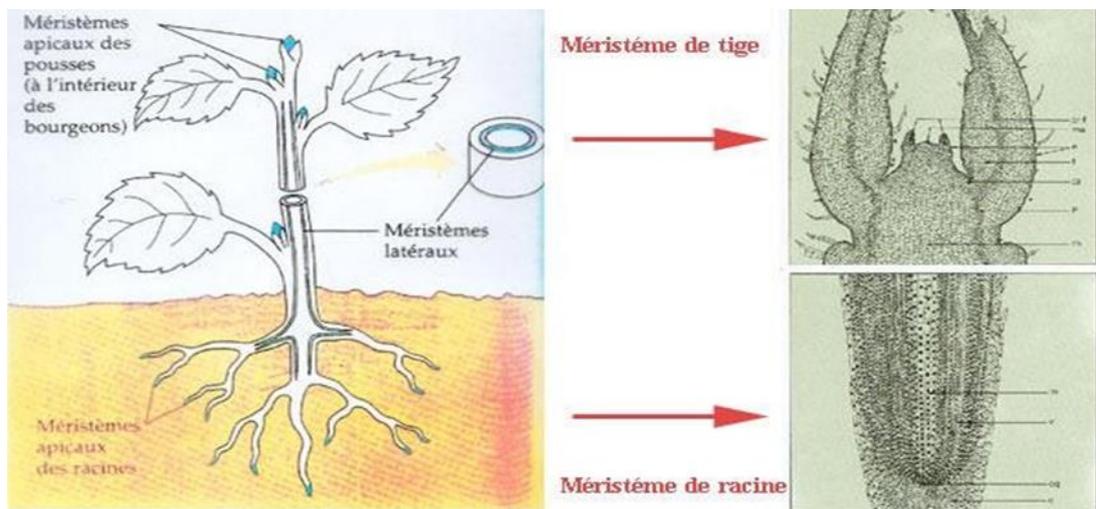


Figure 11 : Méristème de tige et de racine (Sama et al, 1998)

2.8 Embryogénèse somatique

L'embryogénèse somatique est une forme de multiplication végétative permettant d'obtenir des plantules génétiquement identiques à la plante mère. Dans une graine, on trouve la future plante sous forme d'embryon (embryon zygotique) qui résulte de la reproduction sexuée. Cette technique consiste alors à provoquer l'apparition d'embryons à partir des tissus végétaux mis en culture *in vitro* qui provoquent de nombreuses divisions cellulaires. Cette embryogénèse somatique génère alors des embryons dans ces divisions cellulaires ou dans les cal, c'est-à-dire un amas de cellules indifférenciées (qui ont été dédifférenciées sur l'explant de la plante mère avec le phénomène de **totipotence** végétale). Sous certaines conditions, les cultures cellulaires s'organisent ensuite en nombreux petits massifs à structure bipolaire nommés embryons somatiques (avec un méristème de tige et un méristème de racine). Comme les embryons zygotiques (présents dans les graines), les embryons somatiques, obtenus à partir de cellules non sexuées (sans fécondation), se développent en un nombre illimité de plantes génétiquement identiques. C'est actuellement la technique la plus performante pour la multiplication végétative des conifères (Agnès *et al.*, 2013).

2.9 Organogénèse

L'organogénèse est la base fondamentale de la multiplication végétative, laquelle s'appuie toujours sur la formation de méristèmes nouveaux (Margara, 1989). En partant d'un explant, elle aboutit à la formation d'un nouvel individu par l'élaboration de bourgeons (caulogénèse) et de racine (rhizogénèse).

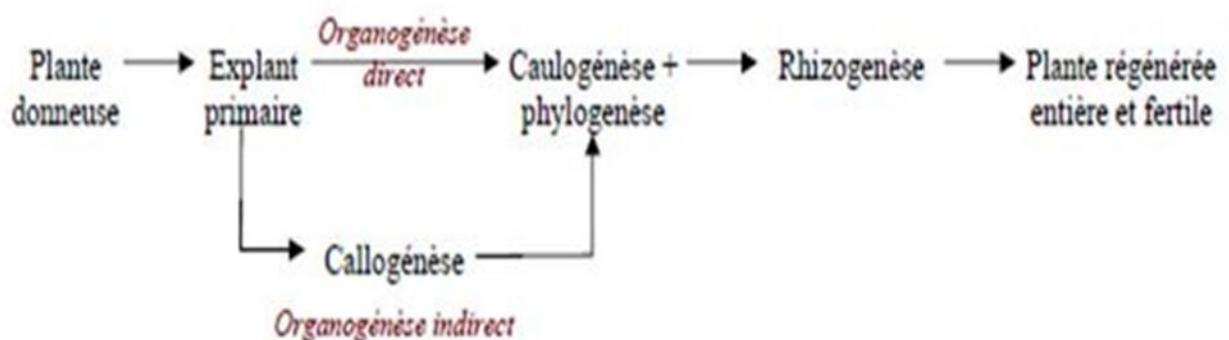


Figure 12 : Schéma de la régénération d'une plante
(margara, 1989)

2.10 Caulogenèse

La caulogenèse désigne à la fois l'initiation et le développement des bourgeons terminaux, axillaires, adventifs ou néoformés sur un cal. Les bourgeons terminaux dérivent de la gemmule de l'embryon. Les bourgeons axillaires sont produits généralement par les deux ou trois assises cellulaires superficielles de la tige. Les bourgeons adventifs à partir d'organes différenciés de la plantes (entre nœuds, tubercules, racines). Ils peuvent avoir pour origine des massifs cellulaires restés méristématiques ou bien provenir d'une différenciation de certaines cellules (**Caraglio, 2012**).

Les bourgeons néoformés *in vitro* peuvent apparaître sur l'explant initial ou sur un cal, ils peuvent être considérés comme un cas particulier de bourgeons adventifs (**Boxus, 1995**). Ils sont induits sur tout type d'organe ou de tissu y compris sur ceux qui ne les produisent pas dans les conditions naturelles (**Margara, 1989**).

2.11 Rhizogenèse

La rhizogenèse désigne la néoformation et la croissance de racines. Les méristèmes de racines se répartissent en plusieurs catégories selon leurs origines. En culture *in vitro*, de fortes concentrations en auxines accompagnées ou non à de faibles concentrations en cytokinines, nous permettent d'obtenir l'enracinement des tiges feuillées (**Cedevit, 2013**).

La rhizogenèse est un phénomène complexe, il comporte différentes phases : la dédifférenciation, formation d'amas de cellules méristématiques, différenciation et organisation des amas méristématiques en primordium racinaire qui se développeront en jeunes racines (**Margara, 1989 ; Boxus, 1995**).

L'assise génératrice libéro-ligneuse (cambium) donne des tissus de bonne aptitude callogène. Le cal est formé essentiellement de cellules de type méristématique secondaire, qui incorporent certaines cellules voisines parenchymateuses. Les cellules méristématique se différencient par la suite et s'organisent pour donner naissance à une nouvelle racine (**Boxus, 1995**).

2.12 Facteurs de la régénération

Les facteurs influant sur la régénération *in vitro* peuvent être répartis en 2 groupes :

1-Les facteurs internes, liés à la plante, et concerne, et d'une part, le génotype, la nature et l'âge ontogénique de l'explant, et d'autre part, l'état physiologique de la plante mère sur laquelle, l'explant a été prélevé ;

2-Les facteurs externes qui englobent, les milieux de cultures (notamment leur composition en régulateurs de croissance et les sucres) et les conditions de la mise en cultures.

2.13 Effet de l'explant

Un des atouts majeurs de la culture *in vitro* est de montrer que, les cals pouvaient produire soit des embryons somatiques, soit à des bourgeons et dont le développement permet de régénérer des plantes conformes à la plante mère. Pratiquement, n'importe quel organe (bourgeon, racine, feuille, anthère, etc.) ou fragment d'organe (explant), prélevé sur celle-ci, peut être cultivé isolément sur milieu nutritif synthétique, mais le choix de celui-ci est d'une importance primordiale. On retiendra cependant que la réponse *in vitro* est sous la dépendance de nombreux facteurs (Saadi et Hamdani, 2007).

2.14 L'âge physiologique et ontogénique de l'organe

Généralement dans les cultures *in vitro*, les explants les plus jeunes (embryons immatures, jeunes feuilles, méristèmes etc.) sont les plus privilégiés. Leur état juvénile favorise plus de possibilités de régénération (Vidalis *et al.*, 1989). Souvent, ce sont les tissus provenant d'embryons qui expriment le plus souvent, d'une manière nette et reproductible, l'aptitude à la régénération, suivis de loin par les cotylédons (Saadi et Hamdani, 2007).

2.15 L'époque du prélèvement

Ce problème se pose surtout pour les espèces vivaces, on peut distinguer un stade de vie active et un stade de vie ralentie de la plante ce qui conduit les explants à développer des réactions différentes en culture *in vitro*. Cette différence peut être expliquée par la modification des équilibres internes des régulateurs de croissance (auxines, cytokinines, gibbérellines ...) lors des différentes saisons (Vidalis *et al.*, 1989).

2.16 La taille de l'explant

Plus la taille est importante et plus les équilibres endogènes sont déterminants et les conditions extérieures seront influentes. La taille choisie variera selon la nature de l'explant. Si l'explant est de nature reproducteur, le prélèvement devrait engendrer l'organe en sa totalité (un nœud, un apex, ou un bourgeon entier) mais dans le cas d'un tissu différencié (feuilles, tige, racines, inflorescence..) des fragments de 5 à 10 mm suffiront (**Vidalis et al., 1989 ;Saadi et Hamdani, 2007**).

D'une manière générale, il existe des tissus privilégiés appelés «tissus cibles » qui répondent à un stimulus indicateur qui orientera son programme morphogénétique vers une voie particulière de développement, contrairement à certains tissus récalcitrants aux manipulations *in vitro*, dues essentiellement à un manque de compétence cellulaire (**Webb et al., 1989 ; Wheeler et al., 1985**)

2.17 Influence du génotype

La plupart des plantes montrent une régénération génotypique spécifique liée à l'espèce. A l'intérieur d'une même espèce, un génotype donne des bourgeons tandis qu'un autre ne peut fournir que des embryons (**Boxus, 1989**).

Cependant, plusieurs auteurs mentionnent que seulement certains génotypes paraissent posséder la capacité d'induire une embryogenèse somatique. Cette capacité, chez beaucoup d'espèce semble être génotypiquement contrôlé (**Isac et al., 1994 ;Vidalis et al., 1985 ; Caraglio, 2012**) .

2.18 Effet du milieu de culture

Avec le développement des cultures de tissus, divers milieux de base comprenant des sels inorganiques, des composés organiques (sucres, vitamines et régulateurs de croissance) ont été progressivement utilisés. Les milieux de culture sélectionnés doivent être adaptés aux besoins nutritifs de la plante soumise à l'étude, afin de laisser s'exprimer pleinement son potentiel génétique.

Les principaux constituants d'un milieu de culture sont généralement représentés par : les macro et les microéléments, source carbonée et azotée, vitamines et des régulateurs de croissance (**Vidalis et al., 1989**).

Dans 70% des cultures, le milieu Murashigue et Skoog (MS) est utilisé comme milieu de base pour tous types de culture *in vitro*. Ce milieu est essentiellement conseillé pour le déclenchement de l'organogenèse, en particulier pour la néoformation de bourgeons, il s'est révélé nettement supérieur à d'autres milieux (**Margara, 1989**).

Le milieu de Murashigue et Skoog est caractérisé principalement par une très forte teneur en sels minéraux, en particulier en potassium et par une concentration élevée en azote (sous forme de nitrate et d'ammonium) dont 1/3 apporté sous forme réduite (ions NH_4^+). Le rapport nitrate/ammonium, dans ce milieu est très favorable à l'induction de l'embryogenèse somatique (**Del Vesco et Guerra, 2001**).

Les milieux de culture doivent être constitués en général de sels minéraux de substances organiques de phytohormones et d'extraits naturels :

➤ Les éléments minéraux

Pour la plupart des plantes supérieures, les sels minéraux sont de 2 types :

- ✓ Les macroéléments (N, P, K, S, Mg et Ca) qui sont absorbés sous forme d'ions.
- ✓ Les microéléments ou oligo-éléments (B, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Mo, Al, I, Fe), bien qu'ils ne soient nécessaires à la plante qu'en faibles concentrations, leur rôle est essentiel.
- ✓ Les éléments organiques
- ✓ Le saccharose:

Le saccharose permet assurer la survie et le développement de l'explant il est indispensable d'ajouter une source d'énergie

- ✓ Les vitamines:

L'emploi de diverses vitamines tels que : la thiamine, l'acide nicotinique, la pyridoxine, favorise fréquemment la croissance des tissus des cultures in vitro.

- ✓ Les phytohormones:

Ce sont des substances indispensables au bon démarrage et à l'entretien des tissus végétaux des cultures in vitro, les régulateurs naturels de croissance des végétaux, appelés aussi hormones de croissance, se répartissent actuellement en cinq groupes : Auxines, Cytokinines, Gibbérellines, Acides abscissiques, Ethylènes. Ces substances de croissance peuvent agir en synergie ou en antagonisme.

Tableau 4 : les principaux constituants du milieu de culture de Murashige et Skoog (MS). (murashige et skoog, 1962)

Éléments	Ingredients	Solution mère Mg/100ml
Macro éléments	NH ₄ NO ₃	1650
	KNO ₃	1900
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
	KH ₂ PO ₄	170
Micro éléments	MnSO ₄ .H ₂ O	22.3
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
Fe R EDTA	Na ₂ EDTA	37.3
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Vitamines et acides amines	Glycine	0.2
	Acides Nicotinique	0.5
	Pyridoxine.HCl	0.5
	Thiamine HCl	0.1
	Myo-inositol	100
Sucre	Saccharose	30000Mg/L
Agar	Agar	8g/l

2.19 Les régulateurs de croissance

Un régulateur de croissance, appelé également «phytohormone », est défini comme étant, une substance qui, suivant sa concentration absolue ou relative dans le milieu, peut supprimer, permettre ou modifier sous certaines conditions les processus de différenciations (Vidalis *et al.*, 1989).

L'influence de ce rapport hormonal n'est, cependant, pas une règle générale pour toutes les espèces végétales. En effet, il suffit, dans certains cas, d'ajouter au milieu de culture l'un ou l'autre des deux régulateurs précités pour parvenir à une réponse morphogénétique (Dal Vesco et Guerra, 2001).

2.20 Influence de la source carbonée

Les tissus en cultures *in-vitro* sont largement hétérotrophes vis à vis du carbone en raison de l'absence ou de l'insuffisance de l'assimilation chlorophyllienne. Il est donc indispensable d'ajouter une source carbonée (des glucides) au milieu de culture. Les glucides remplissent deux fonctions principales dans les milieux de culture ; ils fournissent de l'énergie nécessaire pour la croissance des tissus et maintiennent une pression osmotique donnée du milieu de culture (**Zryd, 1988**). Cette pression osmotique, appelée aussi effet osmoticum, peut avoir diverses actions sur les tissus. Elle agit, dans certains cas, sur l'orientation ou l'expression morphogénétique des tissus (**Belaizi et Boxus, 1995; Charniere et al., 1999**), dans d'autres, sur la maturation des embryons somatiques produits (**walker et Parrott, 2001**).

Les glucides, les plus généralement utilisés sont le saccharose et le glucose (**Margara, 1989; Druart et Samyn, 1995**).

Selon certains auteurs, le maltose peut constituer une bonne source carbonée puisqu'il permet, dans certains travaux portant sur l'embryogenèse, d'améliorer à la fois, et la qualité et la quantité des embryons somatiques produits (**Saadi, 1991**).

L'organogenèse ou l'embryogenèse somatique ne semblent pas être influencées uniquement par la nature des sucres mais aussi, et pour un même sucre, par sa concentration dans le milieu de culture. Généralement, selon Piatti, 1988, les doses employées oscillent entre 2 et 12 %.

L'effet dose peut avoir, comme nous l'avons signalé ultérieurement, une grande influence sur le devenir morphogénétique des cultures. Dans ce cas, l'exemple du tournesol est très significatif, l'usage d'une concentration de 12% en saccharose peut orienter le processus vers la voie de l'embryogenèse somatique, alors qu'une concentration de 3% conduirait vers la néoformation de bourgeons (**Charnière, 1999**).

2.21 Les vitamines

En culture *in vitro* certaines vitamines sont favorables aux croissances des tissus, parmi les principales, citons : la thiamine, l'acide nicotinique, la pyridoxine, leurs concentrations sont fréquemment de l'ordre de 1mg/l (**Teoule, 1999**).

2.22 La photopériode

La lumière est un facteur déterminant pour la culture in vitro des plantes. Elle a une grande influence de par la durée d'exposition (photopériode), selon Hussey et Stacey, (1981). D'autre part la longueur de jour qui affecte la vigueur et le développement des proliférations et la croissance des cals, cette dernière pourrait aussi contribuer à la formation des cals (**Briggs, 1964**), de façon générale le début de croissance nécessite une faible intensité lumineuse (500 à 1000 lux) avec 12 à 16 heures de photopériodes (**Bommeneni et Jauhar, 2003**).

Lorsqu'il s'agit de préparer la plantule au repotage en serre, il apparaît souvent préférable d'augmenter l'intensité de l'éclairage (par exemple 10000 lux) (**Margara, 1984**).

2.23 La température:

La température dans les chambres à culture est constante de l'ordre de 22 à 25°C (Margara, 1989) mais selon (Le, 1994) des faibles températures de 15 à 20°C stimulant la microtubérisation chez la pomme de terre, (**Walali, 1993**).

Chapitre 3 : Micropropagation des végétaux

3.1 La multiplication des végétaux

3.1.1 La multiplication sexuée

Pour (Maarouf, 2000) la multiplication sexuée est une expression incorrecte, pour lui le terme exacte c'est la reproduction ; et selon (Tourte *et al.*, 2005)

Tous les événements qui concernent cette première modalité de reproduction se réalisent au niveau d'un organe, souvent éphémère mise en place au début de ce que l'on considère comme l'état adulte : La fleur, celle-ci porte souvent les deux types d'organes reproducteurs, mâle et femelle et est par conséquent bisexuée.

3.1.2 La multiplication végétative

La multiplication végétative est un mode de reproduction qui se déroule en dehors des phénomènes de sexualité et qui permet la propagation d'individus génétiquement identiques (Robert *et al.*, 1998).

Ce phénomène ne fait pas intervenir la méiose, mais un autre processus très strict de division cellulaire, sans remaniement du nombre de chromosomes : la mitose (Maarouf,2000).

La multiplication végétative est commune chez les végétaux supérieurs, elle s'effectue naturellement et artificiellement (Camble *et al.*.,2004).

3.2 La multiplication végétative naturelle

3.2.1 Le marcottage naturel

C'est la multiplication végétative à partir d'organes spécialisés (Robert *et al.*., 1998). Dans ce type de multiplication des nouveaux individus sont formés à partir de portions d'un végétale, qu'au moment de leur séparation de la plante mère possèdent déjà tous les organes nécessaires à une vie autonome de ces individus (tiges, racines, feuilles...).Ce marcottage est très rare chez les espèces arborescentes (Maarouf ,2000).

3.2.2 Le bouturage naturel

Dans ce cas un rameau se détache de la plante puis s'enracine, la formation des racines succède à l'isolement nouvel individu comme dans le cas des *Opuntia* (**Camefort et Boué ., 1979 ; Robert et al ., 1998**).

Pour améliorer les plantes propagées, les arbres fruitiers et les plantes ornementales, l'homme a mis au point diverses méthodes de multiplications végétatives artificielles, La plupart se fondent sur la capacité des plantes de former des racines et des pousses adventives (**Peyeru et al., 2007**).

3.3 La multiplication végétale artificielle

3.3.1 Les anciennes méthodes

- **Bouturage** : Consiste à mettre en terre un fragment de plante dépourvu de racines, la bouture est capable de régénérer une plante entière par la formation des racines adventives (**Robert et al. 1998**), Selon **Peyeru et al., (2007)**, le bouturage consiste à couper un fragment ou bouture d'une pousse ou d'une tige, une masse cellulaire indifférenciée, appelée cal se forme sur la cicatrice, émet des racines adventives et produit des pousses.
- **Marcottage** : C'est un type particulier de bouturage dans lequel la bouture reste reliée à la plante mère jusqu'à la formation de ses propres racines comme les fraisiers (**Robert et al ., 1998**).
- **Le greffage** : C'est une pratique agronomique qui consiste à implanter dans les tissus d'un végétale un greffon, dans lequel le porte greffe fournit les racines et le greffon donne le système aérien (**Robert et al. 1998**).
- **Le drageonnage** : Est un procédé de multiplication végétative permettant à certaines espèces, arborescentes ou non, de se propager, voire de coloniser le milieu par la formation des tiges adventives à partir du système racinaire. Cette néoformation de pousses à partir de racines, généralement traçantes ou superficielles, différencie le drageon du rejet de souche. Ce dernier se développe sur une structure anatomique de tige. Ce peut être la partie aérienne, voire souterraine du tronc, en étant conscient de l'ambiguïté qui peut subsister pour les pousses apparaissant au niveau du collet. A l'inverse du drageon, la marcotte provient de la néoformation de racines à partir de tiges au contact du sol, voire de branches encore reliées au pied-mère, et dont la fonction première n'est pas d'assurer la multiplication végétative, contrairement aux stolons. (**Bellfontain et Monteus, 2006**).

3.4 La micropropagation in vitro

Les plantes se multiplient par semi ou par multiplication végétative, cette dernière est indispensable quand on veut conserver les caractères d'une variété donnée.

La micropropagation in vitro apporte un progrès considérable par rapport aux méthodes traditionnelles avec un taux de multiplication de 100 à 1000 fois plus élevé (**Ochatte et al., 2005**).

La micropropagation consiste en une prolifération des bourgeons axillaires préexistants sur l'explant mère. Ceci offre une bonne garantie de conformité génétique et une bonne stabilité des caractères au cours de repiquages successifs (**Zhyd, 1988**).

L'application de la technique de la micropropagation des plantes ligneuses, fruitiers forestiers, permet l'amélioration de leurs capacités d'enracinement notamment sur le porte greffe reconnue difficile (**LÊ et al., 2005**).

Cette technique permet la multiplication végétative de plusieurs plantes alimentaires, médicinales, horticoles, agroforesteries,..... (**Bretau, 2006**).

Microbouturage

➤ Définition

Le micro bouturage est la technique la plus répandue pour produire en un minimum de temps un maximum de plantes. L'explant sera repiqué sur un milieu permettant son développement en nouvelle plante qui se sera enracinée. Cette technique passe cependant par plusieurs étapes qui doivent être réalisées de manière la plus stérile possible

Le microbouturage est un mode de multiplication conforme qui accélère le fonctionnement normal des bourgeons formés sur une plante (**Montes, 2009**). La prolifération des méristèmes préexistants peut être réalisée en utilisant trois types d'explants: méristème, apex ou nœuds (unique ou multiple) (Gonçalves et Romano, 2012). Ils sont cultivés pour régénérer des pousses multiples sans passer par une phase cal (**Pati et al., 2006**). De nombreuses espèces ont été régénérées via le micro bouturage.

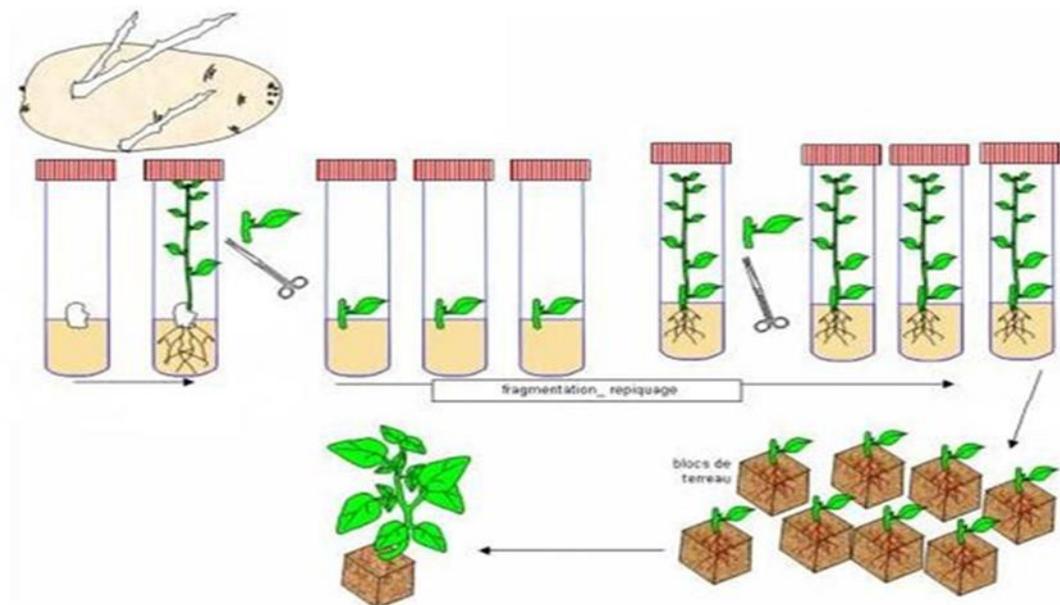


Figure 13 : Schématisation du microbouturage (monte,2009)

➤ Principales étapes de microbouturage

- ✓ L'établissement de la culture aseptique
- ✓ La multiplication : on cherche le maximum d'unités de propagation dans un minimum de temps.
- ✓ Le changement de milieu de la plante : apport de nouvel élément indispensable au développement de la plante fille
- ✓ L'enracinement : c'est l'étape la plus délicate. On cherche à différencier des initiaux racinaires et provoquer leur développement
- ✓ L'acclimatation en serre (10 à 60 jours) : on maintien une humidité très élevée au début, qu'on baisse progressivement jusqu'à atteindre l'humidité ambiante

3.4.1 L'embryogène Somatique

Un apport important de la technique de culture in vitro à la biologie a montré que des cellules somatiques pouvaient produire des structures comparables à des embryons méritant l'appellation d'embryons somatiques (Margara ,1989 ; Boccon RGibod et Jalouzot ,1989 ; Gray et al .,1995).

Une revue fait mention d'une vingtaine d'espèces ligneuses capables de révéler une potentialité embryogène souvent décelée à partir d'embryons zygotique (Williams et Maheshwarm, 1986).

Types d'embryogenèse somatique

- Il y'a deux types de l'embryogenèse somatique :
 - ✓ Embryogenèse somatique directe : dans ce processus, les embryons somatiques se développent directement à partir des explants initiaux mis en culture sans qu'il y ait formation de cal. Ce processus est cependant rarement observé (**Guedira, 1989**).
 - ✓ Embryogenèse somatique indirecte : c'est un processus beaucoup plus fréquent et au cours duquel la formation d'embryons nécessite une calogénèse caractérisée par une activité cellulaire élevée. Dans ce modèle, la formation d'embryons se fait à partir de cal.

➤ Principales étapes de l'embryogénèse somatique

- ✓ Initiation des cultures embryogénies par culture de l'explant initial sur un milieu contenant des régulateurs de croissance surtout l'auxine avec souvent des cytokinines.
- ✓ Prolifération des cultures embryogénèse sur milieu solide contenant une composition en régulateurs de croissance similaire à celle de l'étape précédente. Pour La propagation à grande échelle, il est souvent préférable d'établir des suspensions cellulaires (**Von Arnold et al ., 2002**).
- ✓ Prématuration des embryons somatiques sur milieu généralement dépourvu de régulateurs de croissance ce qui inhibe la prolifération cellulaire mais stimule la formation des embryons et le début du développement (**Von Arnold et al., 2002**).
- ✓ Maturation des embryons somatiques par culture sur un milieu contenant de MS.
- ✓ Développement de plants sur milieu dépourvu de régulateurs de croissance.

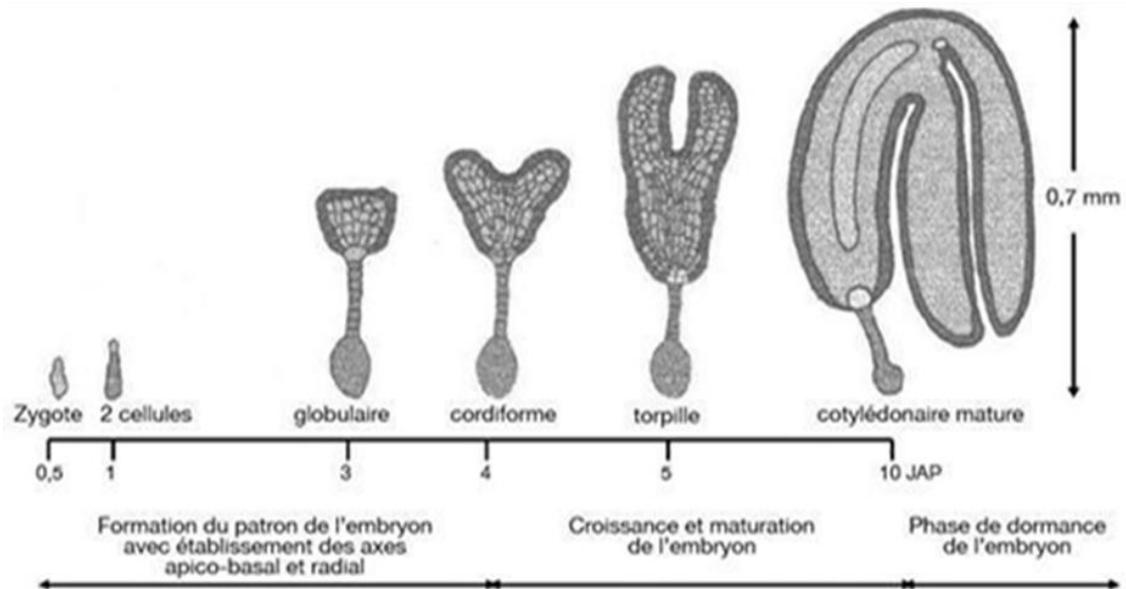


Figure 14 : Représentation schématique des principales phases du développement d'embryon somatique (Silué et al., 2010).

3.4.2 La culture de protoplastes

Ces cellules végétales dépourvues de paroi peuvent être obtenues soit à partir d'organes de plantes, soit à partir de suspensions cellulaires (Robert et al., 1998).

Les exigences nutritionnelles des protoplastes nécessitent une composition minérale adaptée, notamment pour le calcium qui joue un rôle important par son influence sur les divisions (Karp et al., 1982).

La technique de culture de protoplastes est très fortement inductrice de variabilité porte souvent sur le nombre chromosomique; cela a été montré chez la pomme de terre (Sheparid, 1982 ; Karp et al., 1982).

Partie II- Partie expérimentale

1. Matériels et Méthodes :

1.1 Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans notre expérimentation repose sur une plante aromatique à savoir Salvia officinalis L. Récoltée du campus de l'université de Blida 1

1.2. Milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé dans notre travail est le milieu de base MS (Murashigue et Skoog, 1962).

Tableau 5 : constituants du milieu MS (Murashigue et Skoog 1962)

	Ingrédients	Solution mère Mg/l	Volume de prélèvement	
Macroéléments	NH ₄ NO ₃ KNO ₃ CaCl ₂ .2H ₂ O MgSO ₄ .7H ₂ O KH ₂ PO ₄	1650 1900 440 370 170	50ml	A
Micro-éléments	MnSO ₄ .H ₂ O ZnSO ₄ .7H ₂ O H ₃ BO ₃ KI Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O CuSO ₄ .5H ₂ O CoCl ₂ .6H ₂ O	22.3 8.6 6.2 0.83 0.25 0.025 0.025	10ml	B
Fer-EDTA	Na ₂ -EDTA FeSO ₄ .7H ₂ O	37.3 27.8	10ml	C
Vitamines et acides amines	Glycine Nicotinique Thiamine-Hcl Myo-inositol	0.2 0.5 0.1 100	10ml	D
Sucre	Saccharose	30000 Mg/l	30000mg	E
Agar	Agar	7g/l	7g	F

1.2.1 Solution mère des milieux de culture

Les solutions mères des macroéléments, micro-éléments, fer et vitamines sont préparées comme indiqué dans le tableau N°4, servant pour la préparation du milieu nutritif. Lors de la préparation des solutions mères, les différents éléments sont apportés dans l'ordre décroissant de leur concentration afin d'éviter tout risque de précipitation. Ensuite, toutes les solutions mères sont étiquetées, puis conservées au froid (4 °C) et à l'abri de la lumière.

➤ Préparation de la solution mère de macroélément

Elle consiste à :

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

➤ Préparation de la solution mère de micro-éléments

La préparation de la solution mère consiste à :

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

➤ Préparation de la solution mère des vitamines

Préparation de la solution mère consiste à :

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

➤ Préparation de la solution mère de FerEDTA

Elle consiste à :

- Verser 600ml d'eau distillé dans un bécher de 1 litre.
- Ajouter quelques gouttes de NaOH et chauffer jusqu'à ébullition
- Couper la source de chaleur
- Ajouter le Na₂EDTA et mélanger jusqu'à dissolution
- Ajouter Fe SO₄-7H₂O.
- Transférer la solution dans un flacon de 1 litre et compléter à 1 litre avec l'eau distillé.
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

1.2.2 Composition du milieu de culture

Le milieu de culture est préparé dans un bécher de 1 litre en agitation continue. Il consiste à mettre 500 ml d'eau distillé. Ensuite on ajoute dans l'ordre les éléments suivants :

- 50 ml de Macro-éléments.
- 10 ml de Micro-éléments.
- 10 ml de Fer.
- 10 ml de Vitamines.

Le PH du milieu est ajusté à $5,7 \pm 0,1$ avec du NaOH (base) ou du HCL (acide). Le milieu est ensuite complété avec de l'eau distillée à 1 litre sous agitation continue. Puis, on rajoute 30g du saccharose et 7g d'agar pour solidifier le milieu de culture. Le mélange est ensuite porté à ébullition jusqu'à dissolution de toutes les particules d'agar. En fin, le milieu ainsi préparé est transféré dans des tubes de 25x 75 mm à l'aide d'un distributeur automatique, à raison de 10 ml par tube tout en fermant hermétiquement les tubes avec des bouchons.

1.3 La stérilisation

La réussite de la culture in vitro repose en grande partie sur les conditions strictes d'asepsie.

1.3.1. Stérilisation des milieux de culture

L'étape de stérilisation des milieux de culture de micropropagation ainsi préparés est indispensable. Elle consiste à l'autoclavage des tubes à 120 ° C avec une pression de 1 bar pendant 20 minutes afin de s'assurer de la destruction des bactéries. En raison de leur sensibilité à la chaleur, les vitamines peuvent être ajoutées en conditions aseptiques au reste du milieu MS autoclavé et cela après leur stérilisation à l'aide de filtre micropore (des pièces de filtration avec un papier filtre 0.22micromètre stérile.). Cependant, concernant les vitamines du milieu MS après leur décomposition à l'autoclave, il a été observé que leurs produits de dégradation sont aussi actifs sur la croissance que les vitamines elles-mêmes (**Boccongibod et Jalouzot , 1989**).

1.3.2 Stérilisation des instruments de travail

Avant chaque manipulation, il faut que tout le matériel de travail soit stérilisé par étuvage à une température de 170°C à 200°C pendant au moins deux heures.

Ce matériel comporte des boites de pétri comprenant du papier buvard, des pinces de 20 à 25 cm, des scalpels, des béchers et des erlènes. Tous ces instruments seront couverts avant leur utilisation. On les stérilise sous la hotte avec de l'éthanol

(70%).

Au cours des manipulations les instruments métalliques sont plongés dans l'alcool (70%), puis passés au stérilisateur à billes afin de brûler l'alcool.

II Conclusion

Si la médecine ne peut pas se limiter au seul domaine de la phytothérapie, il apparaît cependant, indispensable d'en reconnaître les qualités, les vertus, les utilisations possibles et ainsi optimiser les bénéfices pour le soulagement des patients.

La famille des Lamiacée met à l'honneur cette optimisation de par sa diversité, et donc de sa richesse tant au niveau des divers domaines de soins médicaux, de l'utilisation en cosmétique et de l'utilisation en alimentaire pour certaines .

Les Lamiacée constituent l'une des plus grandes familles du règne végétal avec plus de 7000 espèces différentes réparties sur toute la surface du globe auquel appartient la sauge officinale originaire d'Asie occidentale, d'Europe méridionale et centrale et le pourtour méditerranéen.

Il va sans dire que nous tenons à souligné l'importance du caractère original du thème présenté dans ce mémoire.

Références bibliographiques :

- **BABA AISSA F., 2000** : Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouiba
- **BELOUED A., 2001** : Plantes Médicinales D'Algérie. Ed 2. Office des Publications universitaires, BEN- AKNOUN (Alger). Belaiche, p1979, L'aromatogramme, Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, M.S.A .Editeur, Paris, Tome 1, p : 204..
- **Bommineni U.R. et P.P. Jauhar. 2003.** Regeneration of plant through isolated scirtelum.
- **Boxus P. 1995** : multiplication végétative: micropropagation et embryogenèse somatique dans les biotechnologies Végétales. BV 93, Ed CNED.AUPELF-UREF 191p.
- **Bretauudeau A. 2006.** Les techniques de culture *in vitro* et la micropropagation des espèces végétales, IPR/Kolibougou Koulikoro B P 06.
- **Cevie. 1997.** Review on the many applications of plant tissue culture research centre d'étude des végétaux d'intérêt économique et écologique plant science : institut Belgique P : 17.
- **Dalvesco L.L et P.M. Guerra. 2001.** The effectiveness of nitrogen sources in Feijoa somatic *embryogenesis*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 64:19 – 25.
- **Dutuit P. et R. Gorenflot. 2008.** Glossaire pour le développement durable : des mots pour les maux de la planète, Ed des archives contemporaines, p182
- **Guyot M.J., Segulier-Guis M. et D. Duris. 2003.** Terre des cafés, Ed CIRAD, p 141.
- **HOHMANNJ., REDEID., MATHEA I.and BLUNDEN G., 2003** :Phenylpropanoid glycosidesan diterpenoidsfromSalviaofficinalis. BiochemicalSystematics and Ecology2003 ; 3 : p 427 – 429
- **KAMATOUG. P. P., VILJOENA. M., GONO-BWALYAA. B., VAN ZYL R. L., VUUREN V. S.F., LOURENS A. C. U., BASER K H. C., DEMIRCI B., LINDSEY K. L., STADEN V. J.and STEENKAMP P., 2005** : The In vitro pharmacologicalactivities and a chemical investigation of three outh AfricanSalviaspecies. Journal of Ethnopharmacology2005 ;102 :p 382 -390.
- **KENNEDY D. O.and SCHOLEYA. B., 2005** : Sage and brain function. Nutrition Abstract And Reviews: Serie A 2005; 75(8):p 25 - 31. 145.
- **- Karp A., Nelson R S., Thomas E., Bright S W J., 1982.** Chromosome variation protoplast derived potato plants .Theor .Appl.Génét .,63,265-272.
- **Lepoivre P.2003.**Phytopathologie : Bases moléculaires etbiologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte, Ed De Boeck, p 432

- **MILADINOVIC D. and MILADINOVIC L J., 2000:** Antimicrobial activity of essential oil of sage from Serbia. Series: Physics, Chemistry and Technology 2000; 2(2): p 97 - 100.
- **Maarouf A., 2000.** Dictionnaire de botanique .54 p.
- **Margara J., 1984.** Base de la multiplication végétatives .Les méristèmes et l'organogénèse. Institut National de la recherche Agronomique(INRA), 262p.
- **Margara F. 1989** Bases de la multiplication végétative: les méristèmes et l'organogénèse. Ed INRA Paris 262p.
- **Murashige T. et F. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.*, 15, 473–497.
- **Ochatte C. 2005.** Growth, quality and biotechnology, WFP publisher.finland.
- **QUENZEL P. et SANTA S., 1963 :** Nouvelles flores d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. CNRS Paris p 1963-1170.
- **QUEZEL P. et SANTA S., 1963 :** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Paris, France : éd CNRS, p 603.
- **RABBANIM., SAJJADIS. E., JAFARIAN A.and VASEGHIG., 2005** :AnxiolyticeffectsofSalviareuterana boisson the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Journal of Ethnopharmacology*2005 ; 101:p 100 - 103.
- **RADULESCU V., CHILIMENTS.and OPREAE., 2004** Capillarygaschromatography-massspectrometry of volatile and semi-volatile compound of *Salvia officinalis*. *Journal of Chromatography A* 2004; 1027:p121 - 126.
- **Robert D, Dumas C, Bayon C., 1998.** La reproduction .Edt .Doun initiatives santé pp 373
- **Saadi A. 1991.** Régénération de plantes de pois *Pisum sativum* L par embryogénèse somatique. Thèse de doctorat. Paris Grignon 162p
- **SAIDO., KHALIL K., FULDER S .and AZAIZELS H.,2002:** Ethnopharmacologicalsurvey of medicinal herbs in israil, the golenheight and the wastbankregion, *Journal of Ethnopharmacological*, p 83 : 251-263.
- **Sama A.E., Simon Z., Nyochembeng L., Tambong T.A., Nezana X. et J.G Wutah. 1998 :** Culture *in-vitro* et multiplication rapide de plante à tubercules et racines au Caméroune. *Cahier Agriculture*. 7 : 63-66. *In* : Hamdani F.Z. 2001. Régénération via l'organogénèse Ou L'embryogénèse somatique chez le *Scorpiurus*. Univeristé Hassiba Ben Bouali de Chlef - Magister.
- **Schmid J. et E. Keller. 1981.** Nouvelles possibilités pour l'amélioration et la multiplication des plantes : les cultures de tissus et de cellules. *Revue Suisse*

Agriculture. 13(6): 265-272. *In* : Hamdani F.Z. 2001. Régénération via l'organogénèse Ou L'embryogénèse somatique chez le *Scorpiurus*. Univeristé Hassiba Ben Bouali de Chlef - Magister.

- **Soltener D. 2005.** Les grandes productions végétales. Collection Scientifique des technologies agricoles 20^{ème} édition, p 472.
- **TEPE B., SOKMEN M., AKPULAT H. A.andSOKMENA., 2006** : Screening of the antioxidantpotentials of six SalviaspeciesfromTurkey. Food Chemistry 2006 ; 95 : p 200 - 204.
- **TEUSCHERE.,ANTONR. et LOBSTEINA.,2005** : Plante aromatiques. Epices, Aromates, condiment et huiles essentielles .Ed. TED & DOC. Lavoisier. p 444.
- **Téoulé E ., 1999.** Biotechnologie et Amélioration des plantes in Biotechnologie Seriban R. EdT TEC &DOC p 565-589.
- **Vidalis H., Augé R., Beauchesne G., et al. 1989.** La culture *in vitro* et ses applications horticoles. Lavoisier, Tec et Doc (ed). 7- 24.
- **Webb K.J., Osifo O.E. et G.G. Henshaw. 1983,** Shoot regeneration from leafl et discs of six cultivars of potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*). Plant Sci. Lett. 30, 33- 47. 26.
- **Wheeler V.A, Evans N.E., Foulger D., Webb K.J., Karp A., Franklin J. et S.W.J. Bright. 1985,** Shoot formation from explant cultures of fourteen potato cultivars and studies of the cytology and morphology of regenerated plants. Ann. Bot. 55, 309- 312.
- **ZERROUKIK., 2017** : l'effet antioxydant de quelques plantes médicinales sur la neurotoxicité et les maladies Neurodégénératives dues aux métaux lourds (aluminium et plomb) : « étude expérimentale chez la souris », Thèse de Doctorat en Sciences,Univ. Mostaganem, p 196.
- **Zrÿd J.P., Brettel R., Derreudre J., et al. 1988.** Cultured de cellules, tissus et organogénèse végétaux : fondement théorique et utilisations pratiques. Press polytechniques Romandes.

Les liens/sites Internet :

- ANONYME 1 : http://www.bio-aude.com/images/imagesFCK/file/espace_produceurs/ppam/fiche_sauge.pdf
- ANONYME 2 : http://www.wikiphyto.org/wiki/Sauge_officinale
- ANONYME 3 : http://fr.wikipedia.org/wiki/Salvia_officinalis1
- ANONYME 4 :
<https://www.iteipmai.fr/images/stories/Fichismaladies/FMmildiousaugeoff.pdf>
- ANONYME 5 : https://www.gerbeaud.com/jardin/fiches/fp_oidium.php3
- ANONYME6:http://www.biotop-aromatiques.com/pages/fiche.php?ref=42&fbclid=IwAR3vE08gMTrNOxcFc0-S6_Efjp9QZA6S_XZj_dcXySOUldpBqPl_LIwYNls
- Agnès B., Hélène R. et F. Louise. 2013. La culture *in vitro* en TPE. <http://culture-in-vitro-tpe.e-monsite.com/>.
- **Caraglio Y. 2012.** L'organogènesè. UMR Cirad/Inra de Modélisation des plantes (AMAP). Programme modélisation des plantes du Cirad-amis <http://amap.cirad.fr/architecture/organo/organo.html#introduction>
- **Cedevit. 2013.** La culture *in vitro*. <http://www2.ulg.ac.be/cedevit/french/Index-invitro-fr.htm>
- **Dellaa A. 2013.** La culture *in vitro*. <http://fr.slideshare.net/AhmedDellaa/culture-in-vitro-des-plantes>
- **Saadi A. et F. Hamdani. 2007.** Régénération *in vitro* du *Scorpiurus muricatus* ssp. *subvillosus* via la caulogènes. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, **Volume 11 (2007) – numéro 3.**<http://popups.ulg.ac.be/Base/document.php?id=815>