



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Evaluation des conditions de germination des noyaux de *Grewia coriacea* Mast. (Malvaceae)

Alain Mercier BITA¹, Joseph MPIKA¹, Rachel Aubin SAYA², Léon NGANTSOUE¹ et ATTIBAYEBA^{1*}

¹Laboratoire de Physiologie et Production Végétales, Université Marien NGOUABI, Faculté des Sciences et Techniques, BP.69. Brazzaville, République du Congo.

²Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et Forestière, Université Marien NGOUABI, BP. 69. Brazzaville, République du Congo.

* Auteur correspondant ; E-mail : pattibayeba@gmail.com

RESUME

Grewia coriacea, un arbre fruitier de la flore spontanée, est en voie d'extinction par la rareté des jeunes pousses dans les forêts naturelles. Cette étude a été initiée pour évaluer des méthodes de prétraitements de graines de *G.coriaceae* afin de parvenir à un meilleur taux de germination naturellement médiocre. Les fruits récoltés et les noyaux issus de la décortication ont été semés dans les pots contenant du sable et du terreau. Ces noyaux semés ont été prétraités dans l'eau bouillante, dans l'acide nitrique et leurs téguments scarifiés avec du papier abrasif. Les taux de germination de 5 et 6% ont été obtenus pour les fruits entiers. Pour les noyaux entiers, ces taux ont été de 93,12% dans le terreau et 94,43% dans le sable. Les taux de 85,12 % et 82,46% ont été enregistré, respectivement, dans le sable et dans le terreau, pour les noyaux scarifiés. Dans ces deux substrats, le taux de 77,33% a été obtenu des noyaux immergés pendant 15 min dans l'acide nitrique à 65%. Les noyaux traités par immersion dans l'eau bouillante, n'ont pas germé. Le prétraitement des noyaux a amélioré le taux de germination, la vitesse et le délai de germination comparés aux fruits entiers.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots Cles: Fruit, prétraitement, germination, *Grewia coriacea* Mast., noyaux, Congo.

Assessment of stones germination conditions of *Grewia coriacea* Mast. (Malvaceae)

ABSTRACT

Grewia coriacea, a fruit tree of spontaneous flora, is becoming extinct by the rarity of young shoots in natural forests. This study was initiated to evaluate pretreatment methods of *G. coriaceae* seeds in order to achieve a better germination rate naturally mediocre. Harvested fruits and stones from decortication were sown in pots containing sand and loam. These sown stones were pretreated in boiling water, nitric acid and their scarified teguments with abrasive paper. Germination rates of 5 and 6% were obtained for whole fruits. For whole stones, these rates were 93.12% in the soil and 94.43% in the sand. The percentage of 85.12% and 82.46% were recorded in sand and loam, for scarified stones respectively. In these two substrates, the rate of 77.33% was obtained from the stones immersed for 15 min in 65% nitric acid. Stones treated by immersion in

boiling water, did not germinate. Pretreatment of the stones improved germination percentage, speed and delay germination compared with whole fruits.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Fruit, pretreatment, germination, *Grewia coriacea* Mast, stone, Congo.

INTRODUCTION

Le *Grewia* (*Grewia coriacea*) est une espèce non ligneuse indigène des pays de l'Afrique centrale et de l'Afrique de l'Ouest, présente dans les forêts guinéo-équatoriales. Cette espèce est un arbre fruitier de la flore spontanée congolaise qui pousse dans le bassin de la Léfini. Dans cette zone, les fruits de cette espèce font l'objet d'une forte pression anthropique et d'un commerce intensif à Brazzaville au Congo car ses fruits sont comestibles. Les fruits de *Grewia coriacea* ont des potentialités nutritionnelles élevées et leur capacité d'accumuler des niveaux relativement élevés d'acide ascorbique pourrait en faire une source de vitamine C ; la graine étant plus riche en protéines solubles que la pulpe (Attibayeba et al., 2007). Ces mêmes auteurs révèlent que les teneurs en sucres solubles et en saccharose, bien que faibles pendant la période de croissance, augmentent considérablement au cours de la maturation. L'amande de *Grewia coriacea*, très oléagineuse, contient environ trois fois plus d'acides gras insaturés que saturés. La présence des acides arachidique, stéarique et palmitique, offre à cette huile des potentialités alimentaires voire cosmétiques réelles (Attibayeba et al., 2010). Au niveau de ce fruit, il est révélé la présence des polyphénols, des flavonoïdes totaux en milieu aqueux, des anthocyanes, qui est un signe de la présence des activités antioxydantes (Muganza et al., 2014 ; Madiélé et al., 2015). Son bois est utilisé dans la fabrication des ustensiles de cuisine (assiettes, cuillères, fourchettes) et comme matériau de construction, bois de chauffe et de carbonisation. Son écorce, ses racines et ses feuilles sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour soigner les algies pelviennes et la syphilis (Assen, 2002). Cette

écorce est noirâtre, glabre, elle est aussi utilisée dans la corderie (lanière, corde, fibre) et ses feuilles servent à emballer le pain de manioc. Cependant, le mode de cueillette des fruits de *Grewia coriacea* qui se fait par ébranchage ou par abattage pur et simple de l'arbre entier a fortement réduit son peuplement dans le bassin de la Léfini. Sa disparition est encore aggravée par la culture itinérante sur brûlis pratiquée en forêt par les populations rurales. En outre, Ngantsoue et al. (2005), signalent la rareté des jeunes pousses dans les forêts du bassin de la Léfini ; ce qui pose d'emblée le problème de l'état physiologique des graines de cette espèce au moment de leur dissémination. Pour endiguer aux difficultés de germination des graines de *Grewia coriacea* dans le sous-bois, la régénération par bouturage et marcottage aérien est entreprise afin de les domestiquer (Attibayeba et al., 2006 ; Bitá et al., 2016). Etant donné la très faible régénération naturelle, la rareté des arbres pour prélever les boutures et poser de marcottes aériennes, la forte pression anthropique exercée sur *Grewia coriacea* et le risque de son extinction dans le bassin de la Léfini au Congo, il est nécessaire d'envisager une alternative de rares arbres existants en vue de sa domestication. L'alternative est la maîtrise de sa reproduction sexuée qui cernerait la rareté des jeunes pousses dans les forêts du bassin de la Léfini. Sur un seul arbre de *Grewia*, on y distingue trois périodes de récolte des fruits qui sont : une période précoce (d'avril à mai), une période de pleine saison (de juin à septembre) et une période tardive (d'octobre à novembre). La présente étude est initiée pour déterminer les conditions de germination des graines de *Grewia coriacea* sur le sol du sous-bois de la forêt de l'ex-ORSTOM et en pépinière.

MATERIEL ET METHODES

Site de l'étude

Les fruits ayant servi à l'expérimentation sont provenus des forêts de la localité de Bandaka situé à 137 km de Brazzaville sur la route nationale n°2 dans le département du Pool et le district de Ngabé. Ce district fait partie du bassin de la Léfini. Cette zone est localisée entre 4°27'772'' de latitude Nord et 15°23'949'' longitude Ouest. Cette zone présente un microclimat de type guinéen forestier caractérisé par deux saisons, une saison de pluies longue de 10 mois et une saison sèche de 2 mois. Les précipitations moyennes annuelles sont autour de 2100 mm. La température moyenne annuelle est inférieure à 23 °C.

Des tests de germination de fruits entiers ou de noyaux sont menés à Brazzaville, dans le site de la forêt de la cité scientifique (ex ORSTOM). Ce site a pour altitude 321 m et pour coordonnées 15°14'23.6'' Est et 4°16'42.4'' Sud. L'îlot forestier de l'ORSTOM est mésophile. Il appartient, du point de vue phytogéographique à la région naturelle de la Léfini. Le climat de cet îlot fait partie du climat de Brazzaville dit «équatorial de transition», il appartient au type bas-congolais dont les températures moyennes mensuelles sont comprises entre 21 °C et 27 °C environ. On note deux types de saisons : une saison sèche de juin à septembre et une saison de pluie, d'octobre à mai, coupée par une petite saison sèche de décembre à février marquant un léger ralentissement des pluies. Les pluies sont de l'ordre de 1200 mm à 1500 mm. L'humidité relative est élevée dans la région de Brazzaville où elle est toujours supérieure à 70%.

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des fruits matures de *Grewia coriacea* provenant du bassin de la Léfini au Congo. Les fruits matures sont de couleur rouge sombre (Figure 1), récoltés sur 5 arbres sélectionnés en début de floraison.

Méthodes

Traitements des fruits et substrats de germination

Sur chaque arbre *G.coriacea* sélectionné en début de floraison, plusieurs grappes de fruits avec pédoncules sont récoltées manuellement. Puis, les fruits sont détachés de leurs pédoncules en utilisant un sécateur. Afin d'éviter l'effet de provenance, 3850 fruits matures récoltés sont brassés dans des sacs à jutes avant le transport sur le site des essais. Après le brassage dans des sacs à jutes, un premier lot de 200 fruits est constitué, dont 100 sont pesés en forêt pour déterminer le poids de matière fraîche (Pf). Les 100 autres sont décortiqués pour déterminer la teneur en eau de leurs noyaux. Sur le site expérimental, un second lot de 1650 fruits est formé, dont 150 sont étalés sur le sol du sous-bois de la forêt de l'ex-ORSTOM pour déterminer leur capacité germinative. Les 1500 autres fruits sont étalés sur la paille à la température ambiante du laboratoire en vue de déterminer leur viabilité au cours de la durée de l'entreposage. Un troisième lot de 2000 fruits est déposé dans un seau contenant de l'eau du robinet. Les fruits immergés sont considérés comme viables et les surnageants non viables (Ossere-Nyanga, 1996 ; Ngaka et al., 2006). Les fruits non viables sont éliminés. Les fruits viables sont répartis en deux sous-lots : (1) fruits entiers, c'est-à-dire avec épicarpe, mésocarpe et endocarpe et (2) fruits débarrassés de leurs épicarpes et de leurs mésocarpes à l'aide d'un scalpel pour obtenir les noyaux (Figure 2).

Les noyaux obtenus des fruits viables de 2000 immergés dans l'eau sont répartis en quatre sous-lots :

- noyaux témoins non traités ;
- noyaux traités à l'eau bouillante ;
- noyaux traités à l'acide nitrique ;
- noyaux qui serviront à la scarification.

A l'eau bouillante, 600 noyaux viables sont répartis en quatre aliquotes de 150 noyaux. Chaque aliquote est entassée dans un tissu toilé puis trempé dans l'eau préalablement chauffée à 100 °C pendant 15, 30, 45 et 60 min afin de ramollir l'enveloppe

du noyau. Après chaque délai, les noyaux sont refroidis dans un seau contenant 10 litres d'eau de robinet.

A l'acide nitrique, 600 noyaux viables sont répartis dans 4 bocaux en verre à raison de 150 par bocal. L'acide nitrique à 65% est versé dans les bocaux jusqu'à l'immersion totale de noyaux, en vue de ramollir les téguments indurés. Les noyaux baignent dans cet acide pendant 15, 30, 45 et 60 minutes. Après chaque délai, les noyaux sont transvasés sur une passoire en fer et rincés abondamment avec l'eau de robinet pendant 10 minutes pour éliminer les traces d'acide nitrique. Pour les deux cas, ces noyaux sont égouttés avant leur mise en germination.

La scarification consiste à frotter manuellement l'endocarpe plusieurs fois au niveau la zone de déhiscence des noyaux, afin d'amincir les téguments. Cent cinquante (150) noyaux viables sont scarifiés.

Les noyaux prétraités sont semés dans du sable provenant du fleuve Congo réputé bon pour la pré-germination des graines (Ngaka et al., 2006 ; ISTA, 2009) et dans du terreau prélevé dans le sous-bois de la forêt de Bandaka.

Capacité germinative des fruits sur le sol du sous-bois de la forêt

Sur le sol du sous-bois de la forêt de l'ex-ORSTOM, les fruits entiers sont placés en deux endroits choisis en fonction de la nature du sol : sableux et terreau. Sur le sol sableux, 150 fruits sont étalés à trois endroits différents espacés de 5 mètres environ au mois de juin. A chaque endroit, 50 fruits sont étalés sur le sol, comme cela se ferait naturellement dans la forêt. Sur le terreau, 150 fruits sont placés dans les mêmes conditions que sur le sable. Chaque semaine et pendant quatre mois, on enregistre le nombre de fruits levés marqué par l'apparition d'un jeune plant viable.

Viabilité des fruits au cours de l'entreposage sur la paille

Les fruits récoltés sont étalés sur la paille à la température ambiante du

laboratoire afin de déterminer la viabilité des semences au cours de l'entreposage. Le jour même du début de l'entreposage, 300 fruits sont prélevés et repartis en 4 sous-lots :

- 100 fruits sont mis à germer dans 4 bacs contenant du sable, à raison de 25 fruits par bac. Les fruits sont enfouis à environ 3 cm du sol ;

-100 fruits sont débarrassés de leurs épicarpes et de leurs mésocarpes. Puis les noyaux sont mis à germer dans 4 bacs contenant du sable, à raison de 25 noyaux par bac. Les noyaux sont enfouis à environ 3 cm du sol ;

- 50 fruits permettent de déterminer la teneur en eau ;

-50 fruits sont débarrassés de leurs épicarpes et de leurs mésocarpes. Les noyaux ainsi obtenus servent pour déterminer leur teneur en eau.

Puis, toutes les semaines et pendant environ 1 mois, 300 fruits sont prélevés et traités comme indiqué ci-haut. Pour la teneur en eau au cours de l'entreposage, les semences sont pesées à l'aide d'une balance de marque OHAUS modèle CL501 de capacité 500 g et de précision 0,1 g, pour obtenir le poids frais (Pf). Celles-ci sont ensuite placées dans une étuve de marque THERMOSI SR 3000 à 80 °C pendant 72 heures. Après, elles sont refroidies, puis pesées pour obtenir le poids sec (Ps). La teneur (Te) en eau est déterminée par la formule suivante :

$$Te = (Pf-PS)/Pf * 100$$

Après la mise en germination des fruits entiers et des noyaux, le nombre de fruits ou de noyaux ayant germé est dénombré toutes les semaines pendant environ 1 mois. Pour cette expérimentation, un fruit ou un noyau est considéré comme ayant germé, lorsque la racine a percé le tégument du fruit ou du noyau, et est visible à l'œil nu.

Pouvoir germinatif et capacité germinative des noyaux

Au laboratoire, 150 noyaux sont mis à germer dans les boîtes de pétri dont le fond est garni d'un papier filtre imbibé d'eau pendant

toute la durée de l'expérience. Chaque semaine, Il est noté le nombre de noyaux (n) qui ont germé parmi le nombre total de noyaux mis à germer (N). Pour la présente étude, un noyau est considéré comme ayant germé, lorsque la radicule perce l'endocarpe et est visible à l'œil nu. Le pourcentage de germination est calculé par la relation suivante :

$$\text{Pourcentage de germination} = (n/N) * 100$$

En serre, 150 noyaux traités pendant 15, 30, 45 et 60 minutes à l'eau bouillante et pendant 15, 30, 45 et 60 minutes à l'acide nitrique ainsi que ceux scarifiés avec du papier de verre sont mis germer dans les vases de végétation de 125 ml contenant soit environ 100 g de sable ou le terreau. Avant le semis, ces vases remplis au $\frac{3}{4}$ de substrat sont arrosés abondamment avec de l'eau de robinet. Un noyau traité est semé par vase, à environ 3 cm de profondeur. Deux témoins sont utilisés, à savoir : 150 fruits entiers viables et n'ayant subi aucun traitement et 150 noyaux viables et n'ayant subi aucun traitement. Après la mise en germination des noyaux, on compte toutes les semaines le nombre de noyaux levé (soit n) parmi le nombre total des noyaux mis à germer (soit N). Une semence est considérée comme germée, lorsqu'il émerge sur le pot un jeune plant. Le pourcentage des noyaux germés est calculé de la façon suivante :

$$\text{Pourcentage de germination} = (n/N) * 100$$

Pour les noyaux traités, il est comparé la vitesse, le délai et la durée de germination dans le sable et le terreau. La vitesse de germination est quantifiée soit par le temps nécessaire pour obtenir la germination de 50 % du pourcentage cumulé des graines, soit par la valeur de la pente de la courbe représentant le pourcentage de germination en fonction du temps. Le délai de germination est le temps qui s'écoule entre le semis et la première germination. Le temps nécessaire pour obtenir la germination de 50% et le délai de

germination ont permis d'exprimer la vitesse de germination.

Traitement et analyses statistiques

Le dispositif expérimental est en blocs complets randomisés à deux facteurs. Les facteurs sont le type de substrat (sable ou terreau) et le type de prétraitement des semences. Dans un bloc, l'unité expérimentale étant composée de 25 pots en polyester ou vases de végétation. Dans le sable ou dans le terreau, 50 pots ont été utilisés par bloc et par traitement. Chaque traitement est un type des graines prétraitées. Un traitement étudié est comparé à deux témoins constitués des fruits entiers non traités et noyaux non traités. Ainsi, 9 traitements sont effectués : noyaux immergés à l'eau bouillante pendant 15 mn ; noyaux immergés à l'eau bouillante pendant 30 mn; noyaux immergés à l'eau bouillante pendant 45 mn; noyaux immergés à l'eau bouillante pendant 60 mn; noyaux immergés à l'acide nitrique pendant 15 mn; noyaux immergés à l'acide nitrique pendant 30 mn; noyaux immergés à l'acide nitrique pendant 45 mn; noyaux immergés à l'acide nitrique pendant 60 mn et noyaux scarifiés avec du papier de verre. Par substrat et par traitement, les noyaux ayant germés sont dénombrés tous les jours par pot. Ainsi, pour l'étude de la germination, il est évalué le délai de germination, la vitesse de germination, la durée de germination et le taux de germination des fruits entiers et des noyaux. En vue de normaliser les distributions et égaliser les variances, cette variable ainsi que la teneur en eau des semences ont subi la transformation angulaire $\arcsin\sqrt{\cdot}$. Le logiciel XLSTAT version 7.5.3 est utilisé pour toutes les analyses statistiques. La comparaison des moyennes via l'ANOVA est faite selon le test Student Newman et Keuls au seuil de signification de 5%.

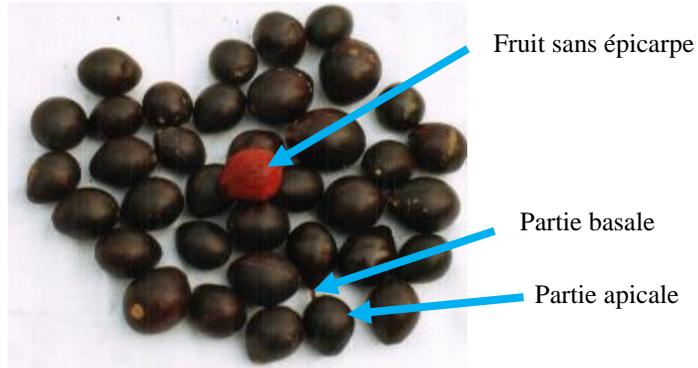


Figure 1 : Fruits et graines matures de *Grewia coriacea* récoltés dans la forêt de Bandaka.



Figure 2 : Noyaux de *Grewia coriacea* Mast.

RESULTATS

Germination des fruits sur le sol du sous-bois de la forêt de l'ex-orstom

Les taux de germination des fruits sur le couvert du sous-bois de la forêt sont illustrés dans la Figure 3. Il ressort un faible taux de germination au bout de 15 semaines de 150 fruits étalés sur le sable et terreau. Ce taux de 4% est enregistré sur le terreau et 6,67% sur le sable. Sur les deux substrats, la germination des fruits n'est pas uniforme sur toute la période d'observation présentant des courbes sigmoïdales avec trois phases distinctes. Les 15 premières semaines de semis sont caractérisées par des faibles taux de germination 6,67 % et 4 % respectivement pour le sable et le terreau. De 14^e à 16^e semaine est distinguée par des taux de germination élevés sur les deux substrats : 8% pour le sable et 6,67% pour le terreau. Après, la 16^e

semaine est caractérisée par la fin de germination des fruits de *Grewia coriacea* sur les deux substrats.

Test de viabilité des fruits et noyaux de *Grewia coriacea* Mast

La viabilité des semences de *Grewia* s'est traduite par leur taux de germination sur le sable et terreau. Les taux de germination des noyaux sont plus importants comparés aux fruits entiers (Tableau 1). Les taux de 80% sont enregistrés sur les noyaux contre 30% sur les fruits entiers à 1 semaine d'entreposage. Dans les deux cas, le taux de germination décroît en fonction du temps d'entreposage, puis s'annule à la 4^e et 5^e semaine après l'entreposage respectivement pour les fruits et les noyaux. Il est aussi noté une diminution des teneurs en eau des fruits. Elle est de 246% chez les fruits à la première semaine

avec le taux de germination de 30%. Ce taux de germination est nul avec des fruits ayant les teneurs en eau sont de l'ordre de 101%. Les teneurs en eau des noyaux sont presque constantes au cours de leur entreposage. Pour les teneurs en eau inférieures à 31%, aucune germination des noyaux n'est observée. Le délai de germination des fruits ou de noyaux est accru avec le temps d'entreposage plus important (Tableau 1). Le rapport établi entre le taux de germination et la durée d'entreposage indique que les corrélations sont négatives (Figure 4 a et b). Par contre, les corrélations positives sont enregistrées entre le taux de germination des fruits ou noyaux et la teneur en eau. Les taux de germination augmentent proportionnellement avec la teneur en eau (Figure 4 c et d)

Germination des noyaux au laboratoire

La germination des noyaux de *Grewia coriacea* commence au bout de trois semaines, avec 25% à partir de leur mise en boîte de Pétri (Figure 5). On observe une augmentation rapide du nombre de noyaux qui germent entre la 3^e et la 5^e semaine (25% à 72%), soit en moyenne 24% de noyaux germés par semaine. Le taux maximum de germination (81%) est atteint à partir de la 6^{ème} semaine. Au-delà, plus aucun noyau ne germe jusqu'à la 8^e semaine.

Germination des semences de *Grewia coriacea* immergées dans l'eau bouillante

Les fruits entiers non traités (témoin 1) et les noyaux traités par immersion dans l'eau bouillante pendant 15, 30, 45 et 60 minutes n'ont pas du tout germé, que ce soit dans les vases contenant du sable ou le terreau (Figure 6 a, c, d, e et f). Les noyaux non traités (témoin 2) ont germé et la germination n'est pas uniforme sur toute la période d'observation pour les deux substrats (Figure 6 b). Sur le sable et le terreau, les taux de germination sont nuls les 4 et 5 premières semaines. Les taux de germination maximum de 93,33% et 94,67% respectivement dans le terreau et le sable sont enregistrés aux intervalles allant de la 5^{ème} à la 14^e semaine.

Après la 14^e semaine aucune germination n'est obtenue suite à l'épuisement ou l'arrêt des levées dans le sable et le terreau (Figure 6b). L'analyse comparée des deux courbes indique qu'à chaque semaine d'observation, excepté la 14^e semaine, le taux de germination enregistré dans le terreau est toujours supérieur à celui observé dans le sable (Tableau 2). Ces résultats sont confirmés par l'analyse statistique qui indique l'existence constante d'une différence significative de germination entre les deux substrats pendant toute la période de germination. La plus grande signification est observée à la 6^e semaine (Tableau 2).

Germination des noyaux de *Grewia coriacea* immergées dans l'acide nitrique à 65%

Les noyaux immergés dans l'acide nitrique à 65% pendant 15 minutes, puis semés dans le sable et le terreau ont germé (Figure 7a). Pour les deux substrats, les 4 premières semaines, les taux de germination sont nuls, constituant le temps de latence. A la 5^e semaine, les taux de germination de 10,67% et de 16% sont obtenus respectivement dans le sable et le terreau. Sur les deux substrats, ces taux sont de plus de 77% à la 12^e semaine après le semis. A partir de la 12^e semaine dans le sable et le terreau, plus aucun autre noyau ne germe. Cependant, les noyaux de *Grewia coriacea* préalablement immergés dans l'acide nitrique à 65% pendant 30, 45 et 60 minutes n'ont pas germé quel que soit le substrat (Figure 7 b, c, d). La comparaison de taux de germination sur les deux substrats indique une différence significative en fonction de la durée de germination (Tableau 3). Pour la vitesse de germination, elle est de 9,42 et 7,98% par semaine respectivement sur le sable et le terreau pour les noyaux immergés pendant 15 min. Ces vitesses sont inférieures à 11,75 et 16,53% obtenues sur les noyaux non traités. Le délai de germination de ces noyaux est 34 et 43 j après le semis respectivement dans le sable et le terreau. Ce délai s'est révélé court comparé aux fruits entiers de 102 et 104 j après le semis. Pour les noyaux non traités et

les noyaux scarifiés, ces délais sont de 36 et 43 jours après le semis. La durée moyenne de germination des noyaux immergés dans l'acide nitrique à 65% est de 47 et 53 j, respectivement sur le terreau et sur le sable, supérieures à 14 et 16 j enregistrés chez les noyaux non traités.

Germination des noyaux de *Grewia coriacea* scarifiés au papier abrasif

Les noyaux scarifiés au papier abrasif et semés sur les deux substrats montrent une variabilité de taux de germination selon la période d'observation (Figure 8). Les 4 premières semaines, les taux de germination sont nuls dans le sable et le terreau. De la 5^e à la 14^e semaine, les taux de 6,67% et de 73,33% sont enregistrés sur le sable. Ces taux varient de 13,33% à 78,67% dans le terreau. A partir de la 14^e semaine après le semis, plus aucun autre noyau ne germe dans les deux substrats. L'analyse comparée des deux courbes indique qu'à chaque semaine d'observation, les taux cumulés de germination enregistrés dans le terreau sont toujours supérieurs à ceux observés dans le

sable (Tableau 4). Ces résultats sont confirmés par l'analyse statistique qui indique l'existence constante d'une différence significative de germination entre les deux substrats pendant toute la période de germination. La plus grande différence significative est observée à la 7^e semaine (Tableau 4). Sur le sable, la vitesse de germination des noyaux scarifiés est de 5,82 et 7,98% par semaine respectivement sur le sable et le terreau. Elle est de 11,71 et 16,53% par semaine avec les noyaux témoins (fruits décortiqués ou noyaux non traités) sur le sable et sur le terreau. Le délai de germination est de 43 jours après semis sur le sable et sur le terreau. Ce délai est proche de 36 j après semis de noyaux non traités mais inférieur à 103 j après semis enregistré chez les fruits entiers. Pour la durée de germination, il est observé 63, 67 et 60, 33 j, respectivement, sur le sable et sur le terreau, avec les noyaux scarifiés. Ces durées de germinations sont plus longues comparées à 47 et 53 j obtenue respectivement sur le sable et terreau au niveau des noyaux immergés dans l'acide nitrique à 65% pendant 15 min.

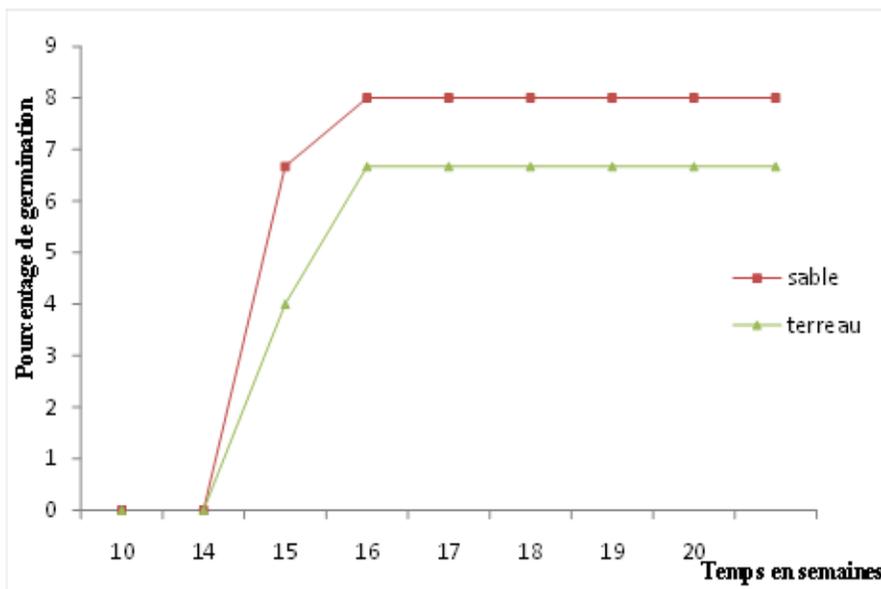


Figure 3: Germination des fruits de *Grewia coriacea* étalés dans le sol sur le couvert du sous-bois.

Tableau 1: Variation de la teneur en eau et du taux de germination (%) au cours de l'entreposage des fruits et noyaux de *Grewia coriacea*.

Jours d'entreposage	Teneurs en eau (%)		Taux de germination (%)		Délai de germination (jours)	
	Fruits entiers	Noyaux	Fruits entiers	Noyaux	Fruits entiers	Noyaux
1	246 ± 19	50 ± 4	30	80	60	45
7	180 ± 18	43 ± 6	12	60	60	45
14	132 ± 15	37 ± 3	10	48	120	110
21	101 ± 4	33 ± 2	0	21	120	110
28	69 ± 16	31 ± 4	0	0	120	110

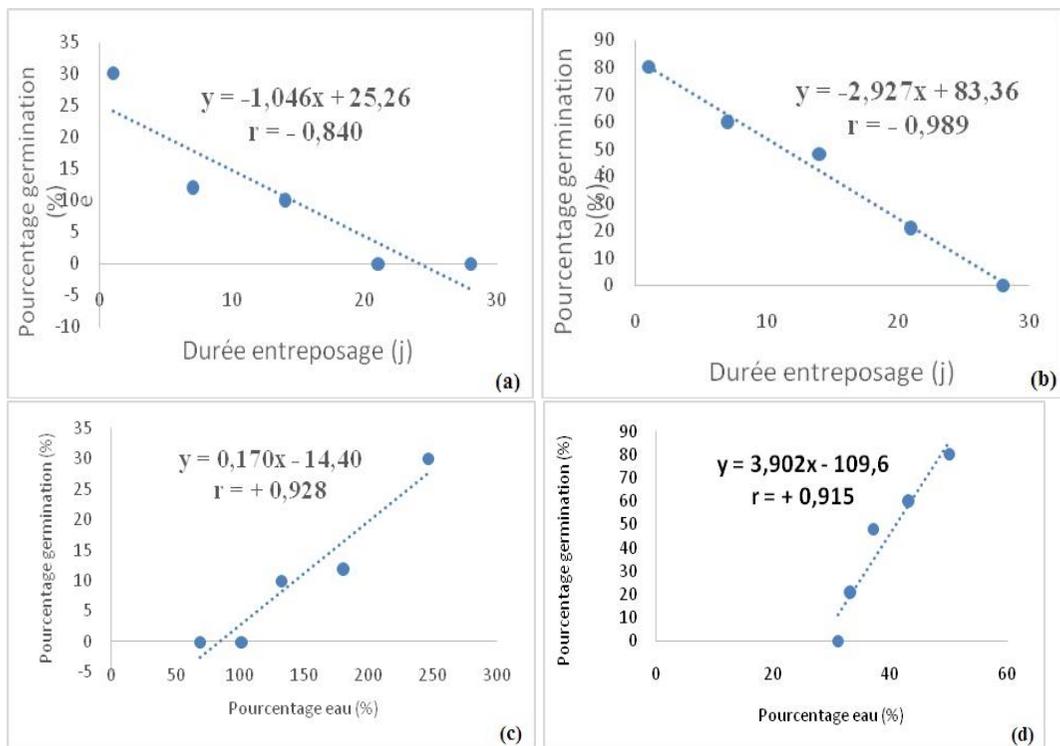


Figure 4: Corrélation entre la teneur en eau et le taux de germination des semences de *Grewia coriacea* en fonction de leur durée d'entreposage.

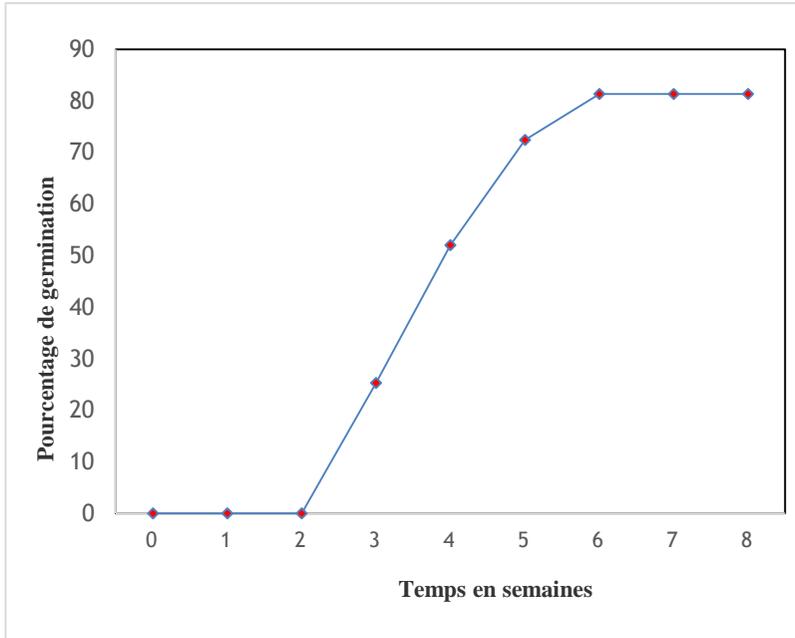
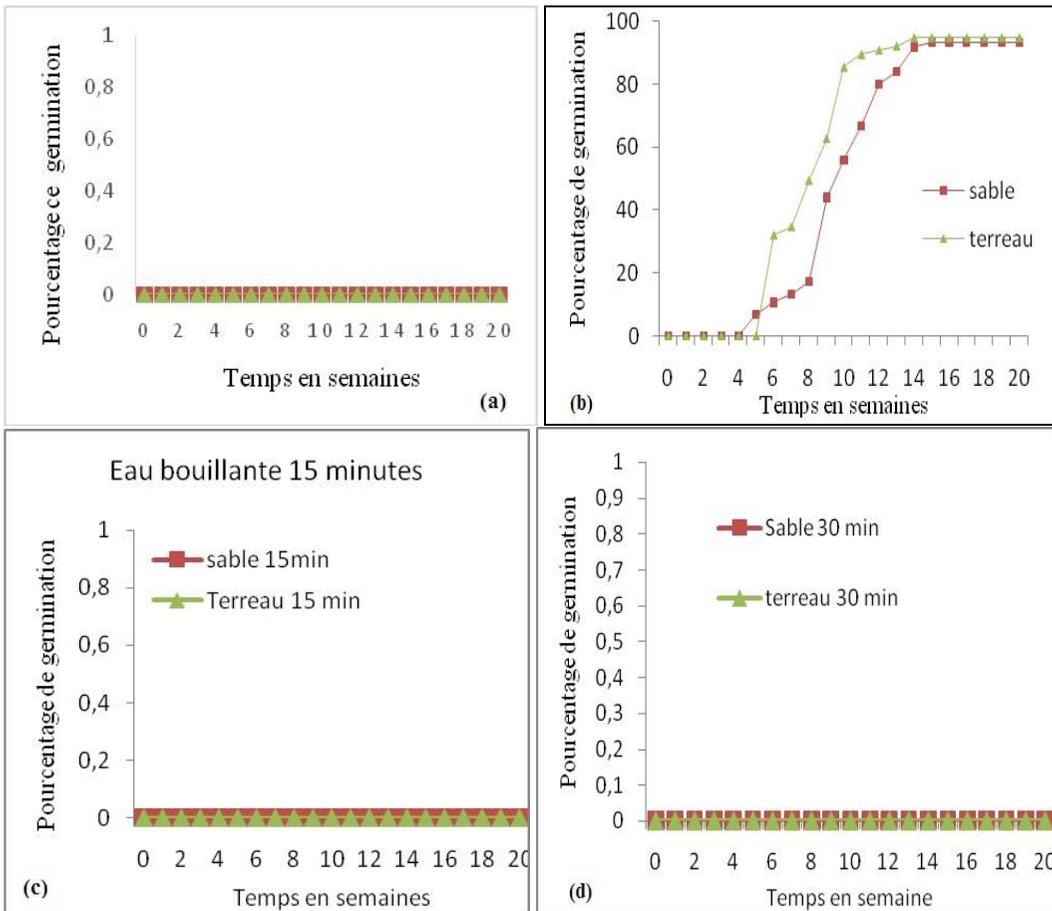


Figure 5 : Germination des noyaux de *Grewia coriacea* dans les boîtes de Pétri.



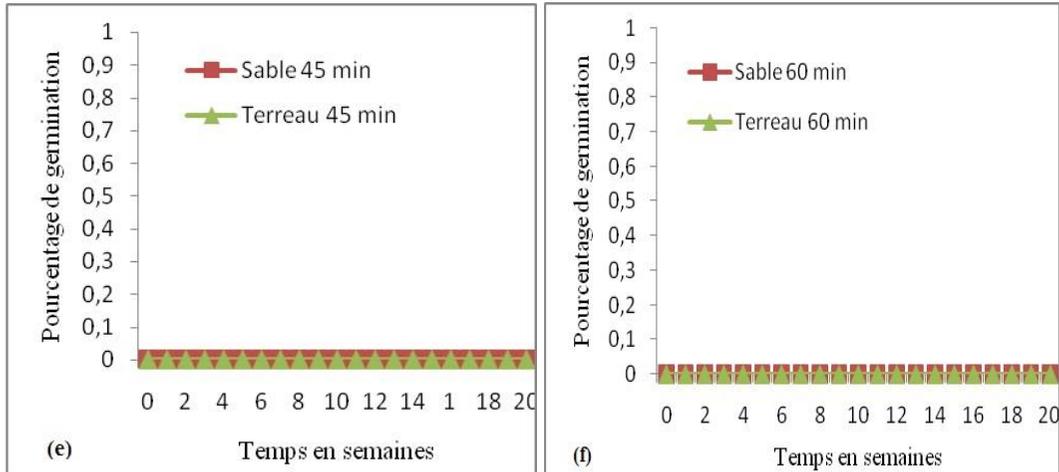
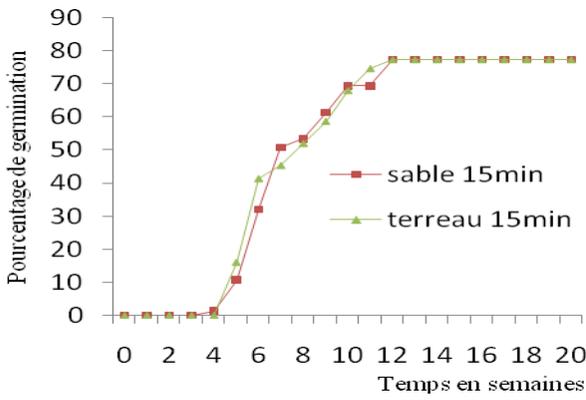


Figure 6 : Germination des noyaux de *Grewia coriacea* immergées ou non dans l’eau bouillante comparée aux fruits entiers semés dans le sable et dans le terreau. a: Fruits entiers (Témoin 1) ; b : noyaux non immergés dans l’eau bouillante (Témoin 2) ; c, d, e, f : noyaux immergés dans l’eau bouillante

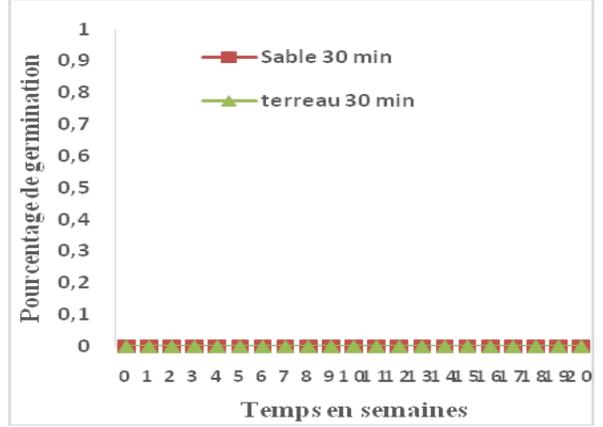
Tableau 2 : Taux de germination des noyaux de *Grewia coriacea* immergés dans l’eau bouillante en fonction du délai après semis dans le terreau et dans le sable.

Temps en semaines	% de germination		% cumulé	
	Sable	Terreau	Sable	Terreau
1-4	0,00	0,00	0,00	0,00
5	6,66 a	0,00 b	6,66 b	0,00 a
6	2,66 b	32,04 a	9,33 b	32,04 a
7	2,66 a	2,66 a	11,93 b	34,70 a
8	4,00 b	14,66 a	15,99 b	49,36 a
9	26,66 a	12,00 b	42,65 b	61,36 a
10	11,40 b	21,33 a	53,31 b	82,69 a
11	13,33 a	2,66 b	67,38 b	85,35 a
12	12,00 a	2,66 b	79,38 b	88,01 a
13	2,66 a	0,60 b	82,00 b	88,01
14	9,33 a	2,66 b	93,33 a	94,63 a

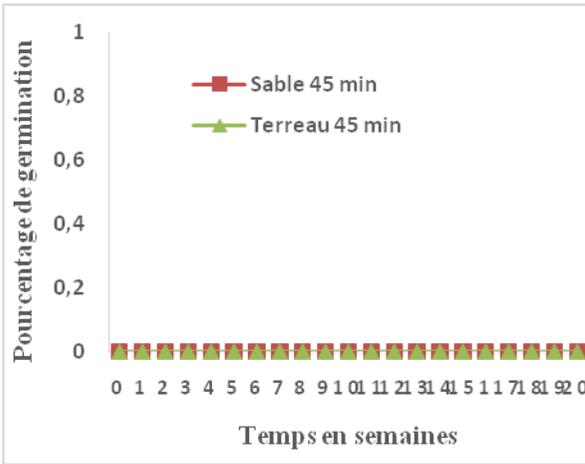
Les valeurs moyennes de la même ligne affectées des lettres différentes sont statistiquement différentes au seuil de 5% selon le test Student Newman et Keuls ($p < 0,05$).



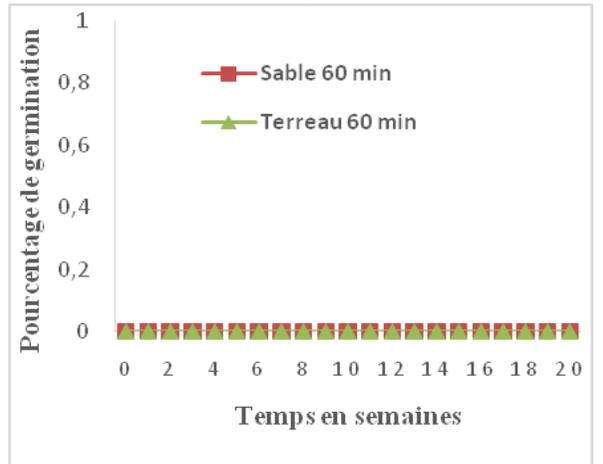
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 7 : Effet de l'acide nitrique sur la germination des noyaux de *Grewia coriacea* semés dans le sable et dans le terreau.

Tableau 3 : Taux de germination des noyaux de *Grewia coriacea* immergés dans l'acide nitrique à 65% en fonction du délai après semis dans le terreau et dans le sable.

Temps en semaines	% de germination		% cumulé de germination	
	Sable	Terreau	Sable	Terreau
1-3	0,000	0,000	0,000	0
4	1,333 a	0,000 b	1,333 a	0,000 b
5	9,333 b	16,000 a	10,666 b	16,000 a
6	21,333 b	25,333 a	31,999 b	41,333 a
7	18,667 a	4,000 b	50,666 a	45,333 a
8	2,666 b	6,666 a	53,333 a	52,000 b
9	8,000 a	6,667 b	61,332 a	58,667 b
10	8,000 b	9,333 b	69,332 a	68,000 b
11	0,000 b	6,667 a	69,332 b	74,667 a
12	8,000 a	2,667 b	77,333 a	77,332 a

Les valeurs moyennes de la même ligne affectées des lettres différentes sont statistiquement différentes au seuil de 5% selon le test Student Newman et Keuls.

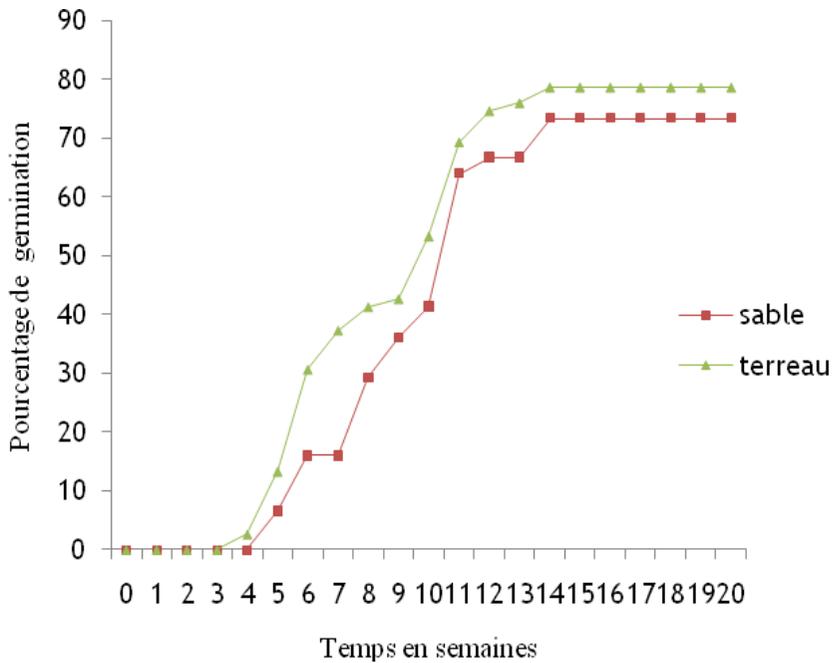


Figure 8 : Effet de la scarification sur la germination des noyaux de *Grewia coriacea* semés dans le sable et dans le terreau.

Tableau 4 : Taux (%) de germination des noyaux de *Grewia coriacea* scarifiés au papier abrasif en fonction du délai après semis dans le terreau et dans le sable.

Temps en semaines	% de germination		% cumulé de germination	
	Sable	Terreau	Sable	Terreau
1-3	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,000 b	2,667 a	0,000 b	2,667 a
5	6,667 b	10,667 a	6,667 b	13,333 a
6	9,333 b	17,333 a	16,000 b	30,666 a
7	0,000 b	6,667 a	16,000 b	37,333 a
8	13,333 a	3,947 b	29,333 b	41,280 a
9	8,000 a	1,333 b	37,333 b	42,613 a
10	5,333 b	10,667 a	42,666 b	53,280 a
11	7,929 a	16,000 b	65,333 b	69,280 a
12	2,667 b	5,39 a	66,663 b	74,67 a
13	0,000 b	1,333 a	66,663 b	76,003 a
14	6,667 a	2,667 b	73,33 b	78,67 a

Les valeurs moyennes de la même ligne affectées des lettres différentes sont statistiquement différentes au seuil de 5% selon le test Student Newman et Keuls ($p < 0,05$).

DISCUSSION

Les noyaux de *Grewia coriacea* mis à germer *in vitro* présentent un délai de germination de deux semaines. Contrairement aux graines de Poaceae et d'autres plantes cultivées qui germent rapidement, les graines des arbres prennent souvent plus de temps à germer, en raison de divers facteurs tels que la dormance tégumentaire ou physiologique (Niang et al., 2010 ; Alouani et al., 2014). Après ce délai de germination de deux semaines, les taux de germination observés, entre la 3^e et la 5^e semaine, sont accrus et cumulés à 81% à la 6^e semaine. Ces résultats traduiraient la reprise de l'activité mitotique et de l'activité métabolique au niveau de l'amande contenue dans le noyau. L'ensemble de ces phénomènes métaboliques est nécessaire au développement ultérieur du jeune plant (N'Dri et al., 2011).

Les tests de viabilité des noyaux de *Grewia coriacea* ont révélé un taux de germination de 80% après un jour d'entreposage. Des résultats similaires ont été obtenus par Quenzar et al. (2001) sur *Ricinodendron heudelotii*, espèce à graines à téguments indurés. Ce taux de 80% a été réduit à 60, 48, 24 et 0%, respectivement à une, deux, trois et quatre semaines après l'entreposage. Cette réduction de la viabilité peut être due à la perte d'eau par les noyaux au cours de l'entreposage. Ces résultats ont révélé le manque de tolérance à la dessiccation des semences de *Grewia coriacea*, d'où la probabilité que ces graines soient considérées comme « graines récalcitrantes » selon la qualification de Roberts (1973) cité par (N'Dri et al., 2011 ; Randrianavosoa et al., 2011). Au niveau des fruits entiers, les observations au cours de l'entreposage ont été identiques à celles du noyau. Cependant, les taux de germination des fruits entiers ont été inférieurs à ceux des noyaux. De plus, au cours de l'entreposage, le délai de germination des noyaux est plus court que celui des fruits entiers. Ce long délai de germination des fruits entiers s'expliquerait par la difficulté éprouvée par la radicule à percer les téguments coriaces (endocarpe,

mésocarpe et épicarpe) des graines de *Grewia coriacea*.

Dans le sol du sous-bois de la forêt de l'ex- ORSTOM, les taux de germination de 4% et 6,67% ont été enregistrés respectivement sur le terreau et le sable au bout de 15 semaines. Il a été observé une faible survie des plantules (après 3 mois de germination) sur les différents substrats. Les résultats obtenus confirment les difficultés de régénération naturelle de *Grewia coriacea* dans la forêt de Bandaka signalées par Ngantsoue et al. (2005). Dans les conditions naturelles, l'absence de jeunes plants dans le sous-bois pourrait être liée à une inhibition tégumentaire (Danthe et al., 2003 ; Niang et al., 2010) et une forte mortalité des semences due à la pourriture en l'absence des disséminateurs (Niang et al., 2010 ; Beugre et al., 2011 ; Alouani et Bani-Aameur, 2014). Le pourrissement des graines serait lié aux attaques de bactéries, de champignons et à d'autres facteurs tels que l'humidité et les températures excessives défavorables.

Les noyaux prétraités de *Grewia coriacea* par immersion dans l'acide nitrique à 65%, dans l'eau bouillante, par scarification à l'aide du papier abrasif, ainsi que la décortication des fruits ont amélioré le taux, la vitesse et le délai de germination comparé aux fruits entiers. Les noyaux de *Grewia coriacea* issus de décortication et soumis à des chocs thermiques (eau bouillante) n'ont pas été capables de germer. L'embryon a probablement été endommagé au cours de ce traitement. En effet, le trempage prolongé des noyaux à 15, 30, 45 et 60 minutes de *Grewia coriacea* dans l'eau bouillante aurait permis la pénétration de l'eau en excès à l'intérieur des noyaux à travers les fissures créées par le choc thermique. Cette pénétration de l'eau bouillante a réprimé l'expression de l'embryon expliquant ainsi l'inhibition de la germination. Des résultats similaires ont été obtenus par Dan guimbo et al. (2011) sur les graines de *Tecoma stans*, *Tipuona tipu*, *Phoenix canariensis* et *Neocarya macrophylla*. Par contre, les chocs thermiques par l'eau bouillante ont amélioré la germination des

semences chez *Pinus halepensis* et *Parkia biglobosa* (Dan guimbo et al., 2011 ; Abubakar et Maimuna, 2013). Cette différence de réaction de *Grewia coriacea* et de *Pinus halepensis* s'expliquerait par leur nature génétique.

Les noyaux prétraités à l'acide nitrique à 65% ont amélioré le taux de germination de 77% par rapport à 6% enregistré aux fruits entiers et réduit le délai de germination 34 et 43 j comparé à 102 et 104 j sur fruits entiers respectivement dans le sable et terreau. L'acide nitrique a eu un effet sur le ramollissement des téguments de *Grewia coriacea*, réputés être très indurés. Des résultats similaires ont été obtenus par Ahoton et al. (2009) avec les graines de *Terminalia superba* et caroubier. Cependant, aucune germination n'a été observée sur les noyaux immergés dans l'acide nitrique à 65% pendant 30, 45 et 60 min. Ce long séjour dans l'acide nitrique a provoqué la destruction des embryons entraînant l'inhibition de germination. Au-delà de 15 minutes de trempage, l'acide nitrique affecterait l'embryon à cause de son effet corrosif. Cet effet est plus marqué avec l'acide sulfurique à 98 % sur les graines de *Tamarindus indica* L., *Lippia multiflora* (Muhammad et Amusa, 2003 ; Soumahoro et al., 2014)

Sur les noyaux scarifiés, il a été enregistré un taux de germination de 78%. Les résultats similaires ont été obtenus par Danthu et al. (2003) et Ahoton et al. (2009) chez *Prosopis africana*. La scarification des graines de cette espèce permettrait l'imbibition et la germination des semences ayant les téguments imperméables à l'eau et à l'air. De même, la scarification manuelle des graines de *Parkia biglobosa* a permis d'obtenir 95% de germination (Abubakar et Maimuna, 2013). La scarification à l'acide gibbérélique et l'eau sur le genre *Linum*, *Sphaeralcea munroana*, *Koelreuteria paniculata* a permis d'enregistrer 93% de germination (Samadi et al., 2012 ; Rahman et Park, 2000). Pour les noyaux non prétraités, le taux de germination de 94,43% est supérieur à 81,32% obtenu par Ngantsoue et al. (2005) sur *Grewia*. Cette différence peut

s'expliquer par la qualité des semences utilisées.

Conclusion

Cette étude a permis de maîtriser les conditions de germination des noyaux et rend possible la domestication de *Grewia coriacea* par cette voie. Un fort taux de germination est obtenu après la décortication des fruits. La vitesse de germination est améliorée avec les noyaux immergés pendant 15 minutes dans l'acide nitrique. Les résultats de l'exploration des possibilités d'utilisation de divers modes de reproduction sexuée en pépinière ont montré que les noyaux de *Grewia coriacea* ont une aptitude à la germination. Le sable serait le substrat qui conviendrait pour la période prégerminative en pépinière ou d'élevage des plants jusqu'à 5 mois et au-delà, interviendrait le terreau. Les trois prétraitements (décortication, scarification et immersion des noyaux dans l'acide) testés dans le cadre de ce travail ont donné les meilleurs taux de germination (94,67%, 78,67% et 77,33%). L'eau bouillante induit des pertes de viabilité des semences à 100% quel que soit le temps d'immersion. Outre leur bonne aptitude à la germination, les noyaux de *Grewia coriacea* n'ont pas une bonne aptitude à la conservation ; ces noyaux ne germent plus au-delà de deux mois de conservation.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'ya aucun conflit d'intérêts pour cet article.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

JM a effectué les analyses statistiques et rédigé le premier draft du manuscrit. AMB a réalisé le protocole et conduit les essais. RAS a corrigé le protocole et effectué la recherche la bibliographie. LN a écrit le protocole. A a conçu cette étude. Tous les auteurs ont lu et approuvé le manuscrit final.

REFERENCES

Abubakar Z, Maimuna A. 2013. Effect of Hydrochloric Acid, Mechanical

- Scarification, Wet Heat Treatment on Germination of Seed of *Parkia Biglobosa* African Locust Bean (Daurawa) Case Study of Gombe Local Government Area. *J. Appl. Sci. Environ. Manage*, **17**(1) 119-123.
- Ahoton LE, Adjakpa JB, M'po Ifonti, Akpo EL. 2009. Effet des prétraitements des semences sur la germination de *Prosopis africana* (Guill., Perrot. et Rich.) Taub., (Césalpiniacées). *Tropicultura*, **27**(4): 233-238.
- Alouani M, Bani-aameur F. 2014. Viabilité et vieillissement des semences d'arganier (*Arganiaspinosa* (L.) Skeels). *Afrique Science*, **10**(1): 245 – 255.
- Assen BC. 2002. La vie des Ruraux. *Rev. Bim. Info Com. AGP*, **1**: 12p.
- Attibayeba, Ngantsoue L, Essamambo F, Nkourissa AC. 2007.Changes in the chemical composition of the fruits of *Grewia coriacea* Mast. during développement and ripening. *Fruits*, **62**(6): 369-374.
- Attibayeba, Ngantsoue L, Massamba D, Makoundou B. 2010. Variation des lipides dans les amandes au cours de la croissance et la maturation des fruits de *Grewia coriacea* Mast. (Tiliaceae). *Larivista Italiana Delle Sostan Zegrasse*, **37**: 58-62.
- Attibayeba, Ngantsoue L, Essamambo F, Bitá AM, Mialoundama F. 2006.Marcottage aérien de *Grewia coriaceae* Mast. *J. Rech. Sci. Univ.*, **8**(1): 83-89.
- Beugre MM, Konan KE, Kouame KR, Konem, Kouadjo YJ, Kouakou TH. 2011.Influence des conditions de stockage et de la durée de chauffage sur la capacité de germination des graines du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Journal of Applied Biosciences*, **41**: 2780-2787.
- Bitá AM, Attibayeba, Kampe JP, Ngantsoue L, Mialoundama F. 2016. Propagation by Cutting of *Grewia coriacea* Mast. (Malvaceae) ». *Pak. J. Biol. Sci.*, **19**: 36-42. DOI:10.3923/pjbs.2016.36.42
- Dan GI, Ambouta KJM, Mahamane A, Larwanou M. 2011.Germination and initial growth of *Neocaya macrophylla* (Sabine) Prance, a oleaginous Species of Niger. *Tropicultura*, **29**(2): 88-93
- Danthu P, Roussel J, Nefatti M. 2003. Graine et germination d'Acacia raddiana. *Technologie des Semences Sahel*, **10**: 265-283
- Enda. 1986. Encyclopedie médicale de l'Afrique. Tournai- Belgique; 1151p.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2009. *Seed Testing International News Bulletin*, **138**: 48.
- Madiele AB, Quio zhao JM, Thiery V, Agnanié H, Brunet C, Graber M, Ouamba JM. 2015. Caractérisations analytiques des extraits colorants des plantes tinctoriales d'Afrique Centrale unité de chimie du végétal et de la vie. *Congolebanese Science Journal*, **16**(1): 33p.
- Muhammad S, Amusa NA. 2003. Distribution and socio-economic of two leguminous tree species. *Glob. J. Agric. Sci.*, **2**: 122 - 126.
- Muganza MCD, Maloueki U, Kumugo NSP, Ikombe BN, Mukulire M J, Mbomba NB, Fruth B. 2013. Polyphénols et activités antioxydantes des fruits de *Grewia* spp. consommés par les bonobos à Luikotale, R.D. Congo. *Revue de Primatologie* [En ligne], document 3, mis en ligne le 31 janvier 2014, Consulté le 03 février 2016. URL : <http://primatologie.revues.org/1275> ;
- N'dri AAN, Vroh-bi I, Kouamé PL, Zoro bi IA. 2011. Bases génétiques et biochimiques de la capacité germinative des graines: implications pour les systèmes semenciers et la production

- alimentaire. *Sciences & Nature*, **8**(1): 119 – 137.
- Niang DF, Sambou B, Lykke MA. 2010. Contraintes de régénération naturelle de *Prosopis africana* : facteurs affectant la germination des graines. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **4**(5):1693-1705.
- Ngaka A, Moutsambote JM, Mialoundama F, Ossere I. 2006. Influence de l'acide gibbérellique et de l'auxine sur la germination des graines de *Heinsia crinita* (AFZ) G. Tayl., Rubiaceae d'origine tropicale. *Ann. M. Ngouabi*, **7**(3): 92-97.
- Ngantsoue L, Attibayeba F, EssamamboV, Kaboulou, Bolopo-Engangoye. 2005. Germination des graines et croissance des jeunes plants de *Grewia coriaceae* Mast. *Ann.Univ. M. Ngouabi*, **6**(1):140-147.
- Ossere-Nyanga I. 1996. Essai de domestication de *Heinsia crinita* (Afz.) G. Tayl. en vue de sa domestication. Mémoire I.D.R. Université Marien Ngouabi, 40p.
- Qenzar B, Bouachrine B, Hartmann C, Marrakchi M, Benslimane AA, Rode AA. 2001. Mitochondrial molecular marker of resistance to Bayoud disease in date palm. *Theor. Appl. Genet.*, **103**: 366-370.
- Rahman S, Park IH .2000. Effects of scarification GA3 and chilling on the germination of goldenrain-tree (*Koelreuteria Paniculata* Laxm.). *Seeds.Sci. Hortic.*, **85**: 319-324.
- Randrianavosoa H, Andrianoelina O, Ramamonjisoa L. 2011. Tolérance à la dessiccation des graines d'*Uapaca bojeri*, Euphorbiaceae. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **5**(1): 72-79.
- Samadi A, Carapetian J, Qadim ZM, Hassanzadeh GA. 2012. Comparison of two culture media for breaking seed dormancy and germination improvement in four species of *Linum* L. *African Journal of Biotechnology*, **11**(20): 4699-4705. DOI: 10.5897/AJB11.3125
- Soumahoro AB, Kone T, Kone M, Konate S, Kouadio JY, Zouzou M. 2014. Etablissement d'un protocole efficace de germination des graines du the de savane (*Lippia multiflora* Mold., verbenaceae). *Agronomie Africaine*, **26**(2):137 – 145.