



Procédés de stratification pour la germination de la verveine officinale

C.-A. CARRON, C. A. BAROFFIO et J. F. VOUILLAMOZ, Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Centre de recherche Conthey, 1964 Conthey

@ E-mail: claire-alain.carron@acw.admin.ch
Tél. (+41) 27 34 53 539.

Introduction

Depuis une vingtaine d'années, la verveine officinale (*Verbena officinalis* L.) est cultivée dans les Alpes suisses, principalement pour l'industrie agro-alimentaire (fig. 1).

Cette espèce rudérale de la famille des Verbénacées est commune le long des chemins et dans les lieux incultes des zones tempérées d'Europe centrale. Il s'agit d'une archéophyte d'origine méditerranéenne (Hegi, 1981). Généralement décrite comme vivace, selon le climat, la verveine officinale adopte parfois un comportement annuel ou bisannuel (Lauber et Wagner, 2000). La verveine officinale, qui peut atteindre 30 à 80 cm de hauteur, possède des tiges quadrangulaires, raides et ligneuses à la base, à feuilles opposées et irrégulièrement crénelées. Elle s'orne de juin à septembre de petites fleurs lilas clair de 3-5 mm disposées en longs épis terminaux et latéraux, minces et lâches. Le fruit cylindrique est un tetrakène qui se sépare à maturité en quatre akènes, bruns sur leur face dorsale et blanchâtres sur leur face ventrale (fig. 2).

La plante tire son nom du latin *verbenare* (= frapper du sceau). Anciennement, cette espèce «sacrée» intervenait dans la signature de traités. Elle occupait également une place de choix dans la liturgie, en couronnant les victimes sacrifiées aux dieux païens. On lui prêtait des pouvoirs apotropaiques, notamment celui de chasser les mauvais esprits (Boullard, 2001).

Ses nombreux noms vernaculaires témoignent de sa popularité dans la médecine traditionnelle: herbe aux enchantements, herbe aux sorcières, herbe sacrée,

Résumé

La dormance des semences de la verveine officinale (*Verbena officinalis* L.) pose des problèmes récurrents aux producteurs de plantons. Des tests en boîtes de Petri ont permis de mieux définir les conditions optimales de stratification de la semence: à partir de deux semaines à 3 °C, le taux de germination a été deux à trois fois supérieur au témoin. Comme l'alternance des conditions de température joue un rôle déterminant pour la germination, une nouvelle méthode de stratification en étuve d'incubation a été développée: des cycles de cinq heures (17 °C à la lumière/2 °C à l'obscurité) ont permis de réduire de cinq fois la période de stratification. Cette technique permet un gain de temps important dans l'itinéraire cultural.



Fig. 1. Culture de verveine officinale (*Verbena officinalis* L.) à Orsières (VS) au stade de la récolte, à la floraison.



Fig. 2. Le semence est un akène de 0,6-0,8 mm × 1,5-2,5 mm de couleur brune sur la face dorsale et blanchâtre sur la face ventrale.

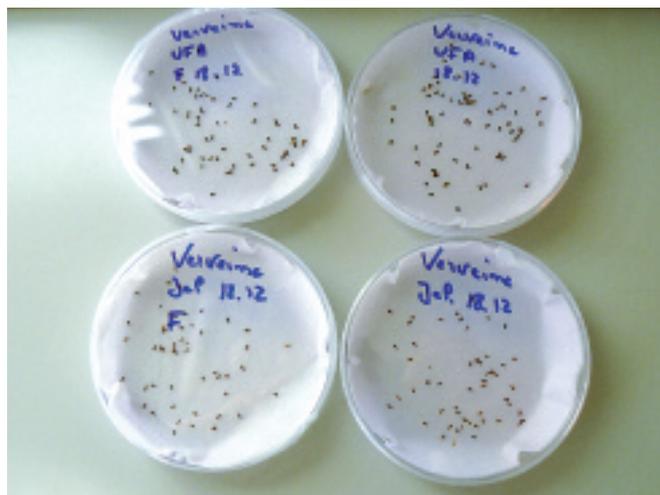


Fig. 3. Boîtes de Petri contenant 50 semences prêtes à être mises au germinateur.

herbe à tous les maux, guérit-tout. En allemand, le terme «Eisenkraut» est tiré de la croyance selon laquelle la verveine guérit les blessures causées par des objets en fer (Eisen = fer).

La verveine est utilisée de nos jours pour ses vertus diurétiques, galactagogues, antirhumatismales, emménagogues, abortives, antitussives et sécrétolytiques, même si peu d'investigations pharmacologiques confirment scientifiquement ces propriétés. En Allemagne, un médicament à base de verveine officinale est couramment utilisé en rhinologie (Wichtl et Anton, 2003). Son usage est déconseillé chez les femmes enceintes (Bruneton, 1999).

La Pharmacopée européenne définit la *Verbenae herba* comme suit: «Parties aériennes, entières ou fragmentées récoltées pendant la floraison. Teneur: au minimum 1,5% de verbénaline de la drogue desséchée» (Anonyme, 2007). Les cultures de cette espèce vivace sont habituellement renouvelées tous les trois à quatre ans, à partir de plantons mottés élevés chez des horticulteurs. La production de plantons est fortement compromise par la germination faible et irrégulière de la verveine, due principalement à la dormance saisonnière de la semence. Ce mécanisme biologique utile à la pérennité des espèces végétales dans un habitat donné complique le travail des jardiniers. Dans les régions soumises à des changements saisonniers de climats, la température est le principal facteur régulant la germination (Baskin & Baskin, 1998). Pour la verveine officinale, Brändel et Schütz (2003) ont mis en évidence les effets bénéfiques d'une période de stratification à basse température (3-12 °C durant quatre à vingt-huit semaines) et d'une alternance de la température entre le jour et la nuit (25/15 °C) pour lever

la dormance de la semence. Le rôle primordial de la lumière a également été démontré, la durée du jour devant être supérieure à celle de la nuit (Grime *et al.*, 1981).

Différentes variantes de stratification humide des semences en boîtes de Petri ont été effectuées en 2005 et en 2006, dans le but d'apporter aux praticiens une aide concrète pour la production des plantons. Afin de réduire la durée de stratification, l'alternance de température a été testée en cycles courts en diminuant le rythme circadien.

Matériel et méthodes

Modalités des essais en 2005 et 2006

Les essais de stratification humide ont été effectués en boîte de Petri de 9 cm. Pour chaque variante de stratification, quatre répétitions de cinquante graines de verveine officinale ont été disposées sur un papier buvard humidifié avec 5 ml d'eau désionisée. Les boîtes ont été étanchéifiées avec un parafilm (fig. 3). Quatre procédés ont été comparés au témoin sans stratification (tabl. 1).

Tableau 1. Modalités des conditions de stratification en 2005 et 2006.

Variantes	Températures	Durée de stratification
Témoin non stratifié	20 °C	sans stratification
Stratification en réfrigérateur	3 °C	14, 28, 56, 84 et 112 jours
Stratification en congélateur	-18 °C	14, 28, 56, 84 et 112 jours
Stratification en cycles courts froid/chaud	17 °C/2 °C	14, 28, 56, 84 et 112 cycles de 5 h
Acide gibbérellique (GA ₃)*/2000 ppm	20 °C	trempage 2 h

*Procédé non autorisé en agriculture biologique.

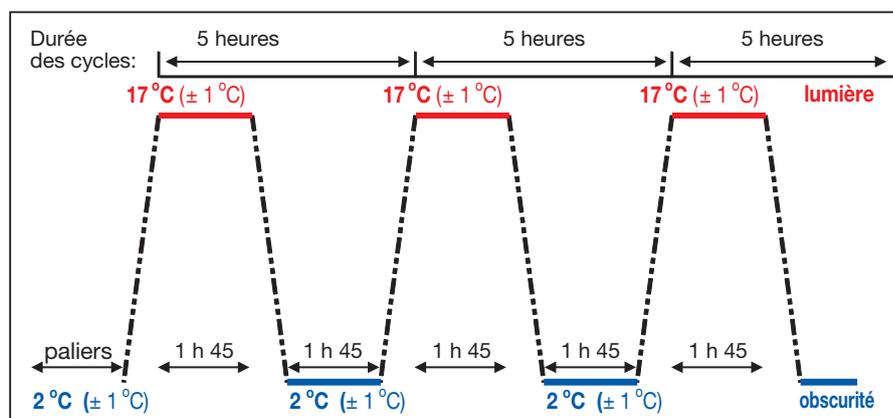


Fig. 4. Schéma des cycles courts d'alternance des températures en étuve d'incubation réfrigérée Friocell.

Un réfrigérateur/congélateur Electrolux ER 7625 B a été utilisé pour la stratification. La stratification à cycles courts (fig. 4) a été effectuée en étuve d'incubation réfrigérée Friocell V1.06 Blue Line. L'expérience visait à évaluer si des changements répétés de températures (1 h 45 à 17 °C à la lumière/1 h 45 à 2 °C à l'obscurité; durée d'un cycle 5 h) agissaient sur la dormance des semences de la verveine officinale et permettaient de raccourcir la période de stratification.

Les boîtes de Petri ont ensuite été placées en chambre de culture Conviron CMP 3244 (16 h de lumière à 25 °C; 8 h d'obscurité à 18 °C). Les plantules germées ont été comptées après 4, 7, 10, 14 et 21 jours. L'analyse statistique de variance du nombre de semences germées a été faite avec le logiciel Sigmatat.

La relation entre le nombre de cycles courts de température et le taux de germination est présentée sous forme de régression du type hyperbolique ($y = ax/(b+x)$) calculée avec le logiciel Sigmaplot.

Résultats et discussion

Taux de germination

Dans le témoin sans stratification, le taux de germination a été de 15,2% en 2005 et de 23% en 2006. Pour les producteurs de plantons, ce pourcentage

est insuffisant pour pratiquer un semis en micro-mottes économiquement rentable (fig. 5).

Les semences au réfrigérateur à 3 °C ont eu un taux de germination supérieur à 50% à partir de 14 jours seulement de stratification (tabl. 2). Cela confirme l'effet bénéfique d'une période de basses températures démontré par Brändel et Schütz (2003), mais contrairement à leurs résultats, le taux de germination n'a pas augmenté en fonction de la durée de la stratification.

Pour les semences placées au congélateur, la germination a été similaire à celle du témoin: ce procédé ne présente donc aucun intérêt pour la verveine officinale.

L'alternance de cycles courts de températures en étuve réfrigérée a été bénéfique à la germination. A partir de 14 cycles (env. 3 jours), la germination a été améliorée significativement par rapport au témoin (38,5% en 2005). Au terme des 112 cycles (env. 23 jours), la proportion de semences germées atteignait 63% en 2005, soit 94% des semences viables (tabl. 2). Une bonne corrélation entre le nombre de cycles et le taux de germination a été observée les deux années (fig. 6). L'augmenta-

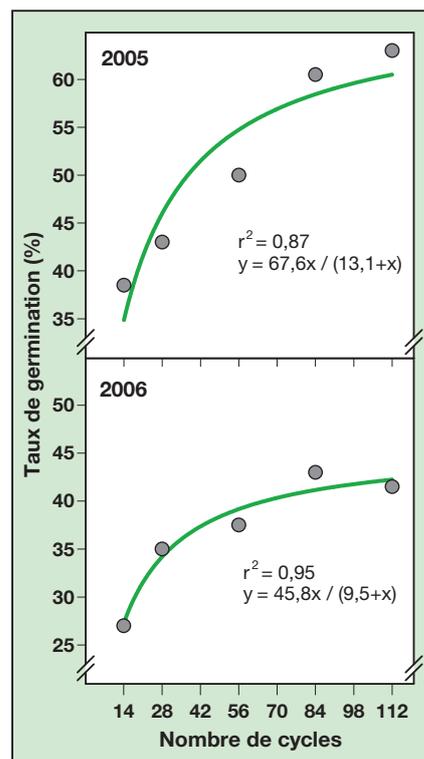


Fig. 6. Relation entre le nombre de cycles de changement de température (17 °C/2 °C; durée cinq heures) et le taux de germination de la verveine officinale.



Fig. 5. La germination de la verveine (en cours) en plateaux de micro-mottes chez Valplantons à Saillon (VS) en 2007.

Tableau 2. Influence de diverses conditions de stratification en boîtes de Petri sur le taux de germination de la semence de la verveine officinale. Moyenne des quatre répétitions.

Conditions de stratification			Germination en 2005	Germination en 2006
Variante	Température	Nombre de jours/cycles	Pourcentage après 21 jours	Pourcentage après 21 jours
Témoin	ambiante	0	15,2	23,8
Réfrigérateur	3 °C	14 jours	51,0	45,0
		28 jours	51,0	41,0
		56 jours	53,0	46,5
		84 jours	53,0	–
		112 jours	53,5	–
Congélateur	-18 °C	14 jours	16,0	–
		28 jours	10,5	–
		56 jours	23,5	–
		84 jours	16,0	–
		112 jours	12,0	–
Alternance de cycles courts chaud/froid (durée 5 h)	17 °C/2 °C	14 cycles	38,5	27,0
		28 cycles	41,2	35,0
		56 cycles	48,5	37,5
		84 cycles	60,5	43,0
		112 cycles	63,0	41,5
Acide GA ₃	ambiante	0	35,0	–
Fischer LSD ppds			11,980	9,826

tion du nombre de cycles a amélioré le pourcentage de semences germées. Une alternance accélérée des températures a stimulé la germination et permis de réduire de cinq fois la durée de stratification de la verveine officinale. Ce procédé expérimental est basé sur l'hypothèse que les changements de température agissent sur le tégument des graines ou induisent une activité enzymatique à l'intérieur de la semence; il ouvre des perspectives pour réduire la durée de stratification des semences nécessitant une période de basse température pour la germination.

L'acide gibbérellique (2000 ppm/2 h) a eu en 2005 un effet partiel sur la levée de la dormance. Cet effet pourrait probablement être amélioré en travaillant le dosage et le temps de trempage des semences. Ce procédé expérimental, non autorisé en agriculture biologique, n'a pas été repris dans l'expérience de 2006.

Rapidité de germination

Les différents traitements ont eu un effet sur la rapidité de la germination (fig. 7). Dans le témoin non stratifié et dans la variante avec 14 jours de réfrigérateur, la germination débute à partir de la seconde semaine au germinateur. La durée de la stratification influence favorablement la proportion de semences germées la première semaine. Ainsi, dans la variante avec 112 jours de froid, plus de 95% des semences ont germé la 1^{re} semaine (fig. 6). L'humidité et la température ont déclenché le processus de germination en cours de stratification. Le trempage de la semence dans

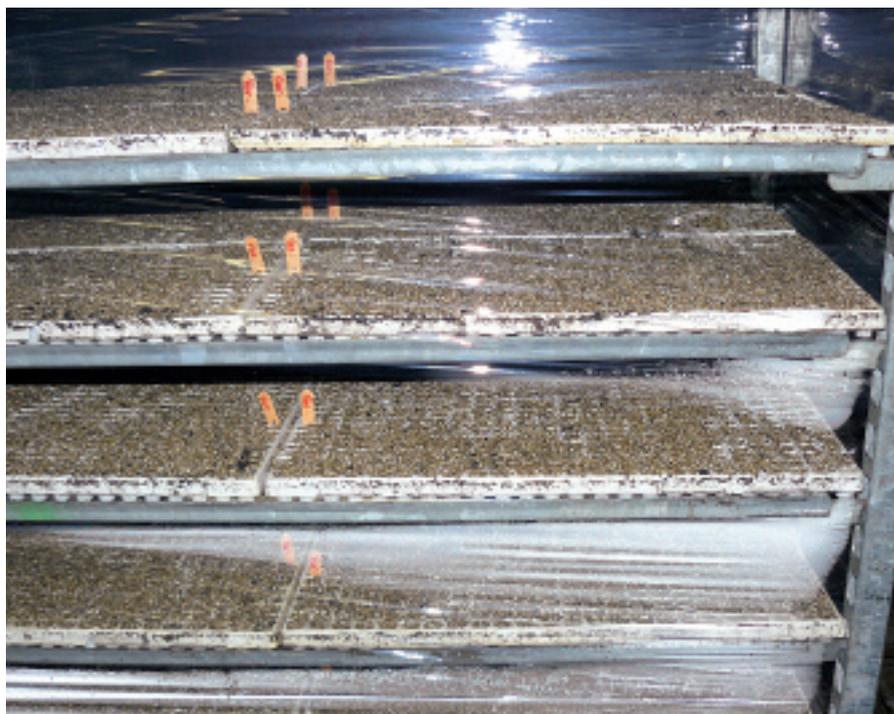


Fig. 8. Les plateaux de micro-mottes sur chariot de transport entourés d'un film de cellophane pour freiner l'évaporation sont entreposés en chambre frigorifique.

l'acide gibbérellique a également favorisé légèrement la rapidité de la germination.

Itinéraire cultural pour la production de plantons

Ces travaux ont permis de mettre au point un itinéraire cultural pour la production de plantons, qui a été couronné de succès ces trois dernières années chez les horticulteurs: le semis est ef-

fectué fin février-début mars avec un semoir pneumatique à plateaux en micro-mottes de 384 alvéoles; les semis humidifiés sont entreposés quatre semaines en chambre frigorifique à 2 °C, enveloppés dans un film de cellophane (fig. 8); en avril, la germination se fait à la lumière naturelle (env. 14 h de jour) en serre chaude (jour 20 °C; aération 22 °C/nuit à 16 °C); les plantules sont repiquées en mottes pressées et la plantation au champ est effectuée dès la fin de mai.

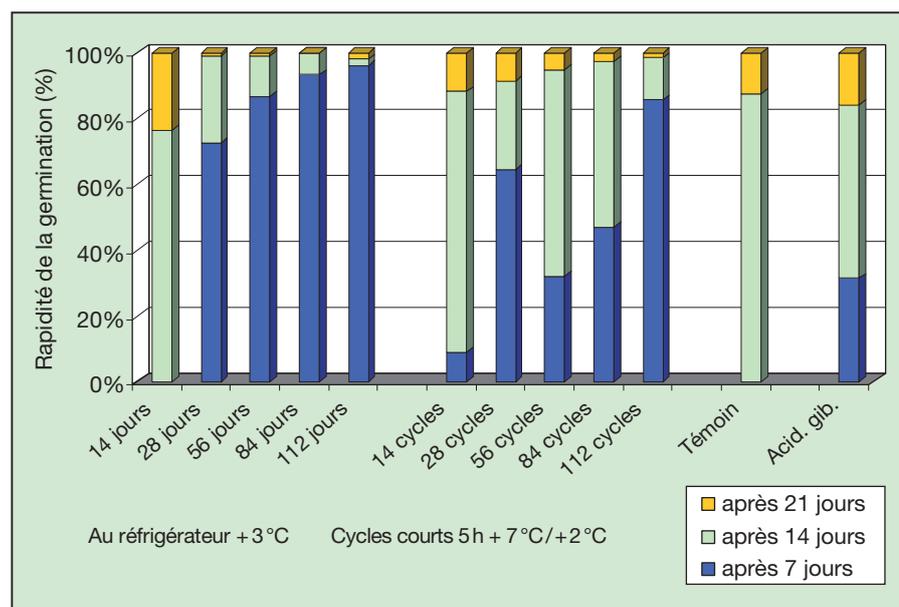


Fig. 7. Influence de diverses conditions de stratification sur la rapidité de germination. Pourcentage de semences germées de verveine officinale en 1^{re}, 2^e et 3^e semaine en 2005.

Conclusions

- ❑ Cet essai aboutit à des directives pratiques adéquates pour les horticulteurs. Il est recommandé aux praticiens d'effectuer les semis fin février-début mars et de les entreposer pour la stratification humide quatre semaines en chambre frigorifique à 2-3 °C. La germination s'effectue à partir d'avril, à la lumière, en serre chaude.
- ❑ Une stratification en étuve d'incubation réfrigérée en cycles courts permet de réduire la durée de la stratification de cinq fois. A l'avenir, une optimisation de cette technique dans la pratique permettrait aux horticulteurs de fournir des plantons dans un temps considérablement réduit.

Remerciements

Nous remercions cordialement Josy Cheseaux, horticulteur à Saillon, pour sa collaboration; Fabien Fournier, gérant de Valplantes, pour l'image de la figure 1; Mélanie Quennoz et Vincent Michel pour la programmation de l'étuve réfrigérée. Un merci particulier à Isabelle Aviolat pour les traductions du résumé.

Bibliographie

- Anonyme, 2007. Pharmacopée européenne, cinquième édition, Addendum 5.6. Conseil de l'Europe, Strasbourg, 4643-5005.
- Baskin C. C. & Baskin J. M., 1998. Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, San Diego, 666 p.
- Boullard B., 2001. Plantes médicinales du monde. Réalité et croyances. Estem édition, Paris, 606 p.
- Brändel M. & Schütz W., 2003. Seasonal dormancy patterns and stratification requirements in seeds of *Verbena officinalis* L. *Basic and Applied Ecology* **4**, 329-337.
- Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales 3^e édition. TEC & DOC, Paris, 1120 p.
- Grime J. P., Mason G., Curtis A. V., Rodman J. & Band S. R., 1981. A Comparative Study of Germination Characteristics in a Local Flora. *The Journal of Ecology* **69** (3), 1017-1059.
- Hegi G., 1981. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Band V., 3. Teil. Carl Hanser Verlag, München, 740 p.
- Lauber K. & Wagner G., 2000. Flora Helvetica. Flore illustrée de Suisse. Haupt, Berne, 1616 p.
- Wichtl M. & Anton R., 2003. Plantes thérapeutiques. 2^e édition française. TEC & DOC, Paris, 692 p.

Zusammenfassung

Stratifikationsverfahren für die Keimung von Eisenkraut

Die Keimruhe des Saatguts von Eisenkraut (*Verbena officinalis* L.) verursacht bei den Setzlingsproduzenten immer wieder Probleme. Tests in Petrischalen haben erlaubt, die optimalen Bedingungen für die Stratifikation des Saatgutes besser zu bestimmen: ab zwei Wochen bei 3 °C war die Keimrate 2-3 Mal höher als im Kontrollverfahren.

Eine neue Methode für die Stratifikation in einem Inkubationsschrank ist entwickelt worden, unter Berücksichtigung, dass der Temperaturwechsel entscheidend für die Keimung ist: Zyklen von 5 Std. (17 °C in die Licht / 2 °C im Dunkeln) erlaubten, die Stratifikationsdauer bis zu 5 Mal zu verkürzen. Diese Technik ermöglicht einen bedeutenden Zeitgewinn für Produktion von Eisenkrautsetzlingen.

Summary

Stratification methods for the germination of vervain

The seeds dormancy of vervain (*Verbena officinalis* L.) is a recurring problem for seedlings producers. Tests in Petri dishes allowed defining the optimal stratification conditions: more than two weeks at 3 °C increased the germination rate up to two or three times compared with the control treatment. As the alternation of temperatures plays a decisive role in germination for this species, a new stratification method in incubator was developed: five hour cycles (17 °C in daylight / 2 °C in the dark) allowed reducing the duration of stratification up to five times. This technique will allow considerable time saving for seedlings producers.

Key words: vervain, perennial, seeds, dormancy, stratification, germination.

Riassunto

Metodi di stratificazione per la germinazione della verbena officinale

La dormienza dei semi di verbena officinale (*Verbena officinalis* L.) pone problemi ricorrenti ai produttori di piantine. Le prove in scatole Petri hanno permesso di definire meglio le condizioni ottimali di stratificazione dei semi: a partire da due settimane a 3 °C, il tasso di germinazione è stato 2-3 volte superiore al testimone.

Un nuovo metodo di stratificazione è stato sviluppato, prendendo in conto il ruolo decisivo per la germinazione dell'alternanza delle condizioni di temperatura: cicli di cinque ore (17 °C alla luce / 2 °C nel buio) hanno permesso di ridurre fino a cinque volte il periodo di stratificazione. Questa tecnica permette un risparmio di tempo considerevole per la produzione di piantine.