

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Analyse de quelques métabolites primaires des feuilles de *Marrubium vulgare* L. récoltées en deux périodes distinctes de l'année.

Présenté par :

BENSALEM Sabah & KORICHI Chaima

Soutenu le : 03 Juillet 2025

Devant le jury composé de :

Mme	<i>OURARI Malika</i>	MCA	Présidente
Mr	<i>BENADJAOUD Ali</i>	MCA	Encadreur
Mme	<i>BOUALLAG - DJAFRI Linda</i>	MCB	Examinateuse

Année universitaire : 2024 / 2025

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, on rend grâce à Dieu, le Tout-Puissant, pour nous avoir donné la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail. Sans sa guidance et sa bénédiction, rien n'aurait été possible.

On tient à exprimer notre profonde gratitude à Monsieur **Benadjaoud Ali**, notre encadrant, pour sa disponibilité, ses conseils avisés, sa rigueur scientifique et son encadrement bienveillant tout au long de cette étude. Son accompagnement a grandement enrichi notre travail et nous a permis de progresser.

On remercie également toute l'équipe du laboratoire de biotechnologie pour leur accueil et leur assistance technique.

Nos remerciements s'adressent aussi aux honorables membres du jury qui nous font l'honneur d'évaluer ce travail. Leur présence et leurs remarques sont pour nous une marque d'intérêt et une source d'enrichissement.

DÉDICACES

C'est avec fierté que je dédie ce travail :

*À mes **chers parents**, pour votre amour, vos sacrifices et votre soutien tout au long de ce parcours.*

*À mon frère **Sid Ali** et à ma sœur **Warda**, pour votre présence réconfortante et vos encouragements.*

*À ma meilleure amie **Loubna**, pour ton amitié sincère, ton écoute et ta présence surtout ton soutien.*

*À mes voisines **Sabrina, Imene, Maroua** et **Ahlem** pour vos mots gentils, votre bonne humeur et vos encouragements.*

*À ma tante **Lamia**, pour ton amour et pour ta présence à mes côtés.*

*À ma tata **Mebrouka** et son fils **Samy** pour vos encouragements.*

*À ma binôme **Chaima** pour son sérieux, sa patience et tous les moments partagés durant ce travail.*

Bensalem Sabah

DÉDICACES

Je dédie ce travail à ceux qui ont été à mes côtés, avec amour, patience et encouragements.

À mes très chers **mon père et ma mère**, pour leur soutien inconditionnel, leurs sacrifices silencieux et leur amour sans limites. Vous êtes ma source de force et d'inspiration.

À mes frères chéris **Abde Samad et Idris**, et à ma douce sœur **Issra**, merci pour votre présence, votre affection et votre soutien constant.

À mes chers **grands-parents**, pour leur sagesse, leurs prières et l'amour inestimable qu'ils m'ont toujours offert.

À mes chères tantes **Wahiba, Hajira, Saida et Ratiba** pour votre amour et vos mots réconfortants.

À l'ensemble de ma famille, des deux côtés, pour leurs encouragements et leur bienveillance.

À mes amis fidèles, merci pour votre énergie, vos encouragements et votre amitié sincère.

Et sans oublier ma chère binôme **Sabah**, avec qui j'ai partagé chaque étape de ce travail. Merci pour ton sérieux, ton soutien, ta patience et ta belle énergie.

Korichi Chaima

λ	Longueur d'onde
ATP	Adénosine Triphosphate
BSA	Bovine Sérum Albumine
Chl	Chlorophylle
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
L.	Linné
MVS	Matière végétale sèche
P5C	Pyroline-5-carboxylate
P5CS	Pyroline-5-carboxylate Synthétase
P5CR	Pyroline-5-carboxylate Réductase
P5CDH	Pyroline-5-carboxylate Déshydrogénase
Phé	Phéophytine
ProDH	Proline Déshydrogénase
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
rpm	Rotations par minute
v/v	volume par volume
vs	<i>Versus</i>

Liste des abréviations	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
1. Introduction	01
2. Synthèse Bibliographique	03
2.1. <i>Marrubium vulgare</i> L.	03
2.1.1. Étymologie et classification hiérarchique	03
2.1.2. Carte de distribution	03
2.1.3. Description botanique de l'espèce	04
2.1.4. Ecologie de l'espèce	05
2.1.5. Composition phytochimiques et propriétés médicinales	06
2.2. Cycle de développement de <i>Marrubium vulgare</i> L.	06
2.2.1. Germination	07
2.2.2. Croissance végétative	07
2.2.3. Floraison, fructification et production de graines	08
2.3. Métabolisme primaire des plantes	08
2.3.1. Glucides	08
2.3.1.1. Structure des glucides	08
2.3.1.2. Métabolisme des glucides	09
2.3.2. Acides aminés et protéines	11
2.3.2.1. Voies de synthèse des acides aminés	11
2.3.2.2. Destinée des acides aminés	11
2.3.2.3. Cas particulier de la proline	12
2.3.3. Pigments photosynthétiques et phéophytines	13
2.3.3.1. Pigments photosynthétiques	13
2.3.3.2. Cas particulier des phéophytines	16
3. Matériel & Méthodes	17
3.1. Matériel	17
3.1.1. Matériel végétal échantillonné	17
3.1.2. Préparation des feuilles	17
3.2. Méthodes	18
3.2.1. Extraction et dosage des glucides	18
3.2.1.1. Principe	18
3.2.1.2. Extraction	18
3.2.1.3. Dosage	19

3.2.1.4. Courbe étalon	19
3.2.2. Extraction et dosage des protéines	20
3.2.2.1. Principe	20
3.2.2.2. Extraction	20
3.2.2.3. Dosage	20
3.2.2.4. Courbe étalon	20
3.2.3. Extraction et dosage de la proline	21
3.2.3.1. Principe	21
3.2.3.2. Extraction	21
3.2.3.3. Dosage	21
3.2.3.4. Courbe étalon	22
3.2.4. Extraction et dosage des pigments	22
3.2.4.1. Principe	22
3.2.4.2. Extraction et lectures au spectrophotomètre	23
3.2.4.3. Calculs	23
3.2.5. Étude statistique	23
4. Résultats & Discussion	24
4.1. Résultats	24
4.1.1. Sucres solubles et amidon	24
4.1.2. Protéines solubles	25
4.1.3. Proline	26
4.1.4. Pigments	27
4.1.4.1. Chlorophylles	27
4.1.4.2. Phéophytines	28
4.1.4.3. Caroténoïdes totaux	30
4.2. Discussion	31
4.2.1. Sucres solubles	31
4.2.2. Amidon	32
4.2.3. Protéines solubles	33
4.2.4. Proline	34
4.2.5. Pigments chlorophylliens et phéophytines	35
4.2.6. Caroténoïdes totaux	36
5. Conclusion	37
6. Références bibliographiques	39

N°	Titre	Page
01	Carte géographique montrant la distribution de <i>Marrubium vulgare</i> L.	04
02	Aspect général exhibé par la plante <i>Marrubium vulgare</i> L.	04
03	Photographies rapprochées montrant les feuilles et les fleurs du <i>Marrubium vulgare</i> L.	05
04	Cycle de vie d'une plante annuelle et d'une plante pérenne.	06
05	Vue d'ensemble simplifiée du métabolisme primaire et secondaire des plantes, ainsi que celui des composés organiques volatils (COV).	10
06	Métabolisme de la proline et ses fonctions cellulaire.	12
07	Structure de la chlorophylle <i>a</i> , principal pigment responsable de la capture de l'énergie lumineuse.	14
08	Spectre d'absorption du β-carotène et d'une xanthophylle : la violaxanthine.	15
09	Schéma simplifié des transferts d'électrons du photosystème II (P680) vers le pool des plastoquinones (Q _A).	16
10	Lieu de récolte des échantillons de feuilles de <i>M. vulgare</i> L, collectés dans la région d'El-Mizab, à Draâ-El-Kaïd (36° 25' 01" nord et 5° 13' 38" est) au sud-est de Bejaia.	17
11	Préparation de poudres finement tamisées obtenues de feuilles desséchées de <i>Marrubium vulgare</i> L.	18
12	Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de glucose à 200 µg/mL (densité optique lue à $\lambda = 630$ nm).	19
13	Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA à 1 mg/mL (densité optique lue à $\lambda = 595$ nm).	21
14	Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de proline à 1 mM (densité optique lue à $\lambda = 515$ nm).	22
15	Evolution des quantités moyennes en sucres solubles et en amidon enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars).	24
16	Evolution des quantités moyennes en protéines solubles enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars).	25

- 17** Evolution des quantités moyennes en proline enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). **26**
- 18** Evolution des quantités moyennes en chlorophylle *a* (Chl *a*), chlorophylle *b* (Chl *b*) et chlorophylles *a+b* (Chl *a+b*) enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). **27**
- 19** Evolution des quantités moyennes en phéophytine *a* (Phé *a*), phéophytine *b* (Phé *b*) et phéophytines *a+b* (Phé *a+b*) enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). **28**
- 20** Evolution des quantités moyennes en caroténoïdes totaux enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). **30**

N°	Titre	Page
I	Rapports comparatifs établis entre chlorophylles et phéophytines pour les 2 périodes de prélèvements des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> L.	29

INTRODUCTION

1. Introduction

Dans un contexte mondial marqué par le changement climatique, la désertification et la dégradation des ressources naturelles, les plantes médicinales suscitent un intérêt scientifique croissant en raison de leur richesse en composés bioactifs (**Chikezie et al., 2015**). En Algérie, pays fortement touché par l'aridité croissante, notamment dans ses régions semi-arides et steppiques, ces plantes représentent un patrimoine biologique d'une grande valeur, tant pour la pharmacopée traditionnelle que pour la recherche scientifique. Ces espèces, généralement bien adaptées à des conditions écologiques difficiles constituent des modèles pertinents pour l'étude des mécanismes d'adaptation aux stress environnementaux, en particulier dans le contexte climatique méditerranéen algérien. Ce climat qui se caractérise par une alternance de périodes sèches et humides, des températures élevées et une forte irradiation solaire (**Suc et al., 2018**).

Parmi ces plantes, *Marrubium vulgare* L. connue localement sous le nom *merouyeth*, est utilisée depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés expectorantes, anti-oxydantes, anti-inflammatoires et antidiabétiques (**Parray et al., 2022**). Elle est naturellement présente dans plusieurs régions d'Algérie, notamment dans les hauts plateaux et les zones semi-arides, où elle parvient à survivre grâce à des mécanismes physiologiques et biochimiques complexes impliquant la production de métabolites primaires et secondaires (**Nedjimi et al., 2020**). Si de nombreuses études se sont intéressées à ses composés secondaires, notamment les flavonoïdes, les tanins et les diterpènes, peu de travaux ont exploré son métabolisme primaire, pourtant essentiel à la croissance, à la photosynthèse et à l'adaptation aux stress abiotiques. Ce métabolisme inclut la synthèse des sucres solubles, de l'amidon, des protéines totales et des pigments photosynthétiques, dont l'analyse permet de mieux comprendre la physiologie de la plante face aux conditions climatiques (**Ghassemi-Golezani & Abdoli, 2022**).

Dans le cadre de ce travail, qui nous a été assigné, nous nous intéressons au métabolisme primaire des feuilles de *Marrubium vulgare* L., récoltées en deux périodes distinctes de son cycle de développement. Ces deux périodes sont représentatives du climat méditerranéen qui prévaut en Algérie : décembre, période hivernale caractérisée par des températures basses et une humidité relativement élevée ; et mars, mois marquant la reprise de l'activité physiologique avec des conditions plus douces (**Ali, 2018**).

Nous analyserons la teneur en glucides, sucres solubles et amidon pour évaluer les dynamiques de stockage et de mobilisation des réserves carbonées ; les protéines totales, indicateurs de l'équilibre entre métabolisme photosynthétique et réponses de défense ; ainsi qu'un acide aminé qui lui est associé, la proline, un osmolyte compatible très important qui pourrait jouer de multiples rôles notamment protecteur de protéines et des membranes (**Alvarez et al., 2022**).

Par ailleurs, l'étude des pigments photosynthétiques, chlorophylles, phéophytines et caroténoïdes totaux, nous permettra de mesurer l'adaptation du système photosynthétique face aux variations saisonnières de lumière et de température (**Ghassemi-Golezani & Abdoli, 2022**).

Les données obtenues fourniront une vision intégrée des stratégies biochimiques adoptées par *Marrubium vulgare* L. pour faire face aux contraintes climatiques spécifiques du milieu méditerranéen Algérien, et contribueront à une meilleure valorisation de cette espèce dans les programmes de préservation et d'utilisation durable des ressources phytogénétiques locales.

Ce mémoire est structuré en quatre parties principales : la première est une partie bibliographique qui présente la plante *Marrubium vulgare* L., ses caractéristiques, son environnement et les bases du métabolisme primaire. La deuxième partie est consacrée au matériel utilisé et aux méthodes expérimentales choisies pour doser les sucres, les protéines, la proline et les pigments. La troisième partie concerne les résultats obtenus ainsi que leur interprétation. Enfin, la dernière partie propose une conclusion générale qui résume les points essentiels de notre étude.

*SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE*

2. Synthèse bibliographique

2.1. *Marrubium vulgare L.*

Marrubium vulgare L. (*tameriouat*) est une plante médicinale largement retrouvée dans le bassin méditerranéen et en Asie occidentale (Villanueva et al., 2016). Elle fait partie de la famille des Lamiaceae, également appelée famille de la menthe, une famille cosmopolite comptant 7136 espèces regroupées en 236 genres. La majorité de ces espèces sont herbacées, peu sont arbustives et rares sont les arbres. Le genre le mieux implanté et le plus connu est *Salvia* (Hussein, 2018).

2.1.1. Etymologie et classification hiérarchique

Le marrube est le nom donné à la plante par le naturaliste latin Pline. *Marrubium* : emprunt du latin *marrubium*, du nom hébreu *marrob* qui signifie amer. *Vulgare* : emprunt du latin *vulgaris*, de *vulcus* signifiant commun ou ordinaire. Les français le nomment d'ailleurs Marrube commun, ou encore Marrube vulgaire sinon Marrube blanc. C'est ce qui est adopté par les anglais (*White horehound*) et les espagnols (*Marrubio blanco*), mais en arabe on parle plutôt de الفراسيون الشائع (<https://www.tilo-botanica.eu/espece-i-m/marrubium-vulgare.html>).

La classification APG IV proposée pour l'espèce *Marrubium vulgare L.* est ainsi (http://www.omnibota.com/Fiches/index.php?Pg=Class&pageNum_Classification1) :

Clade : Spermatophyta

Clade : Angiospermes

Clade : Dicotylédones vraies

Clade : Asteridées

Super ordre : Euastéridées I

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Marrubium

Espèce : *Marrubium vulgare L.*

2.1.2. Carte de distribution

Le marrube commun est originaire d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie. Il s'étend du bassin méditerranéen jusqu'aux territoires centraux et septentrionaux. Comme il est cultivé, il s'est propagé au continent Américain et en Océanie. Il est même considéré comme envahissant en Australie, en raison de son impact sur les écosystèmes locaux (Fig. 1).

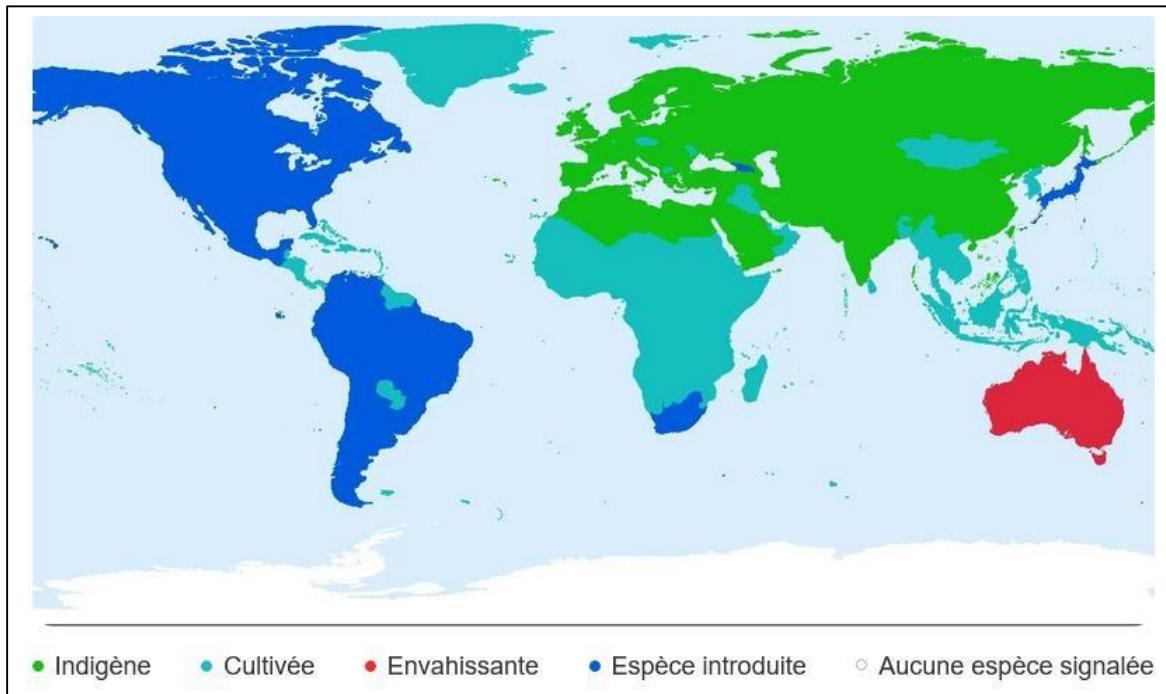


Figure 1 : Carte géographique montrant la distribution de *Marrubium vulgare* L. d'après : https://www.picturethisai.com/fr/wiki/Marrubium_vulgare.html

2.1.3. Description botanique de l'espèce

Marrubium vulgare L. est une herbacée vivace, mesurant entre 30 et 60 cm de haut, de couleur blanchâtre et qui ressemble légèrement à la menthe (**Fig. 2**). Elle dégage une odeur plus ou moins musquée et possède une saveur amère (Bouterfas et al., 2013).



Figure 2 : Aspect général exhibé par la plante *Marrubium vulgare* L. d'après : www.tela-botanica.org/eflore/consultation/popup.php?module=popup-galerie&action

Ses tiges sont érigées, couvertes de poils blancs et ses feuilles sont opposées décussées, simples, ovales à orbiculaires, dentées, pétiolées, laineuses, à limbe épais et gaufré, à nervures en réseaux (**Fig. 3**).



Figure 3 : Photographies rapprochées montrant les feuilles et les fleurs du *Marrubium vulgare* L. d'après : www.tela-botanica.org/eflore/consultation/popup.php?module=popup-galerie&action

Ses fleurs à symétrie bilatérale sont blanches et réunies en denses glomérules verticillées. La corolle est poilue, à tube plus long que le calice et présentant 2 lèvres. Le calice est composé de 5 sépales soudés, velus, à 10 dents crochues. On dénombre 4 étamines dont 2 plus longues, soudées sur le tube de la corolle. L'ovaire est supère (**Fig. 3**).

Le fruit est un akène arrondi au sommet, murissant en automne. La capsule de fruit contient jusqu'à 4 graines de forme ovoïdes (**Julve, 2021**).

2.1.4. Ecologie de l'espèce

Marrubium vulgare L. est une espèce qui s'adapte bien à divers types de sols et d'environnements, ce qui explique sa large distribution en Europe, Afrique du Nord et Asie. Ainsi, il se développe sur des sols légers, légèrement alcalins, calcaires et avec une teneur moyenne à forte en matière organique. On le retrouve préférentiellement en sols bien drainés, ce qui explique sa présence dans les terrains incultes, les bords de chemins et les zones incultes (**Lippai et al., 1996 ; Yabrir, 2019 ; Julve, 2021**).

En Algérie, l'étude réalisée au Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale) sur la caractérisation de l'habitat de *Marrubium vulgare* L. a montré que le cortège floristique accompagnant cette dernière est constitué en général de quatre espèces qui prédominent. Il s'agit des espèces de *Calycotome spinosa*, *Ampelodesma mauritanica*, *Chaemerops humilis* et *Asphodelus microcarpus* (**Bouterfas et al., 2013**).

2.1.5. Composition phytochimique et propriétés médicinales

Marrubium vulgare L. est une plante médicinale qui contient des terpènes, notamment des sesquiterpènes et des diterpènes. Ces substances contribuent aux effets thérapeutiques de cette espèce, notamment ses propriétés expectorantes, antitussives, anti-inflammatoires et antioxydantes. L'odeur distinctive du marrube vulgaire est également liée à la présence de ces terpènes, qui contribuent à son parfum caractéristique (Aćimović, 2020 ; Parray et al., 2022).

Marrubium vulgare L. est également riche en composés bioactifs, notamment des phénylpropanoïdes, des glycosides et des flavonoïdes. Ces divers composés confèrent des propriétés intéressantes pour la santé, notamment en matière de traitement des affections respiratoires et de protection contre le stress oxydatif (Ghedadba et al., 2014 ; Yabrir, 2019 ; Hayat et al., 2020).

2.2. Cycle de développement de *Marrubium vulgare* L.

Marrubium vulgare L. est une plante pérenne, ou vivace, son cycle de développement dure plusieurs années. Contrairement aux plantes annuelles qui meurent après une seule saison, *M. vulgare* continue de croître et de se développer pendant plusieurs années, souvent en fleurissant et en produisant des graines chaque année (Fig. 4). Son cycle de développement comprend plusieurs étapes clés : germination, croissance végétative, floraison, fructification, et enfin, production de graines (Lippai et al., 1996 ; Ali, 2018).

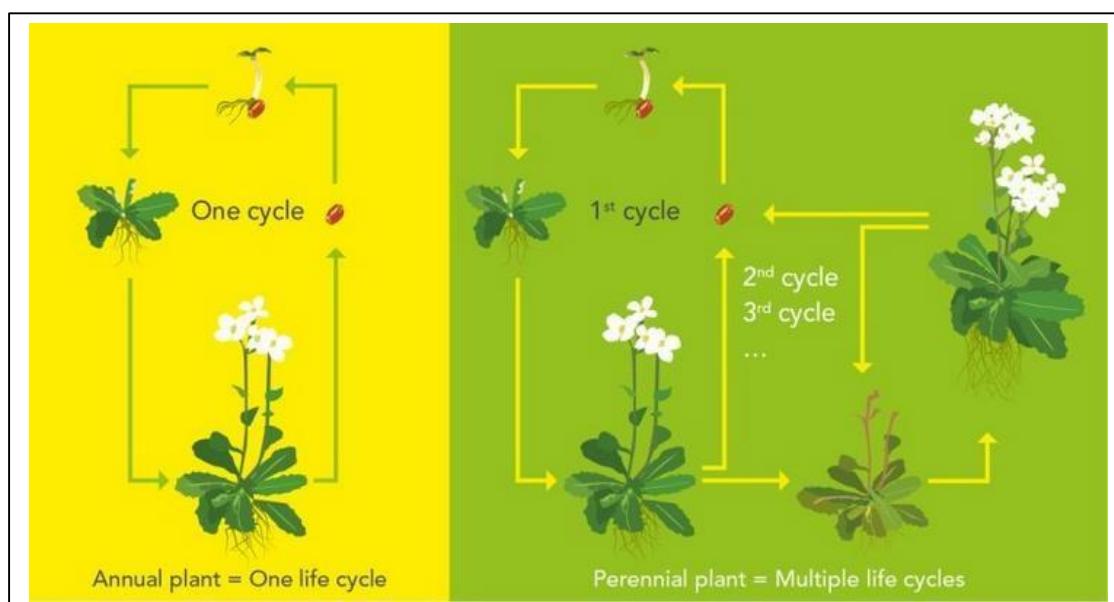


Figure 4 : Cycle de vie d'une plante annuelle (en jaune) et d'une plante pérenne (en vert).
Source : [The life cycles of annual and perennial plants. Cluster of Excellence on Plant Sciences \(CEPLAS\)](#). In : <https://blackcreek.ca/village-herb-garden/>

2.2.1. Germination

La germination est un processus qui débute par l'absorption d'eau (imbibition) et se termine à l'issue de l'elongation de l'axe embryonnaire, au moment où la radicule parvient à sortir des structures enveloppant l'embryon. Ce processus mobilise des mécanismes physiologiques complexes, dont une synthèse de l'acide gibbérellique et une stimulation des enzymes digestives capables d'hydrolyser les molécules de réserve dont l'amidon, les protéines et les lipides (**Hopkins, 2003 ; Morot-Gaudry et al., 2021**).

Dans le cas du marrube blanc, qui est une plante clithochore, c'est-à-dire qu'elle a tendance à disséminer ses graines sur de courtes distances. La germination de ses graines se déroule en automne ou même en hiver en réponse à une pluviométrie suffisante. La température optimum pour leur germination varie de 23 à 27°C. Elle peut être améliorée en prétraitant au préalable les graines par stratification durant 4 à 6 semaines ou simplement par incubation des graines à l'obscurité ou à 100% de lumière par simple alternance de la température de 20/30°C (**Lippai et al., 1996**).

2.2.2. Croissance végétative

Elle correspond à un processus de croissance affectant la radicule puis la tige. A ce niveau, on doit distinguer entre l'activité métabolique de la jeune plantule qui commence à se développer à partir de l'embryon et celle du tissu de réserve (cotylédons dans le cas du marrube), qui a tendance à décroître par suite de l'épuisement des réserves.

La plantule du *Marrubium vulgare* L. qui s'est développée est pubescente et paraît d'un vert cendré. Elle montre des cotylédons toujours persistants, oblongs-cordés, à sommet arrondi, longuement pétiolés, glabres. Les feuilles primordiales qui se développent sont opposées, simples, arrondies, inégalement crénelées, gaufrées, pubescentes, couvertes d'un dense duvet et sont pétiolées. L'axe hypocotylé est assez long, de couleur plutôt blanchâtre.

Le développement allonge plus la tige et installe encore plus de feuilles, les entrenœuds et les bourgeons axillaires. A l'âge adulte, la plante du marrube exhibe un port dressé, robuste et buissonnant à la base. Sa tige étant très rameuse, couverte d'un duvet blanchâtre, ses feuilles sont opposées, décussées, persistantes, soyeuses, grises, un revers couvert de longs poils blancs enchevêtrés (<https://portal.wiktop.org/fr/species/show/726>).

Au cours de cette phase, racines pivotantes et tiges feuillées se développent et se renforcent. Elles peuvent néanmoins entrer en période de dormance pendant l'hiver, où leur croissance est ralentie ou arrêtée. Elles reprennent leur croissance au printemps grâce à leur système racinaire persistant (**Hopkins, 2003 ; Morot-Gaudry et al., 2021**).

2.2.3. Floraison, fructification et production de graines

Les petites fleurs blanches du marrube blanc apparaissent en juin-juillet, voire jusqu'en automne. Elles sont regroupées en grappes denses, positionnées en verticilles ou étages successifs de fleurs resserrées autour des tiges. Chaque fleur est formée de deux lèvres distinctes, la supérieure étant dressée et bilobée et l'inférieure trilobée et plus comprimée.

Après la pollinisation et la fécondation, les ovaires des fleurs du marrube blanc se développent en fruits. Les fruits sont des tétrakènes de 2,5 mm de long, organisés en trigones. Les graines qui s'y développent, sont assez petites, brunes et oblongues. Une fois la maturité atteinte, elles sont prêtes à être dispersées, pour commencer un nouveau cycle de développement. Les cotylédons de type elliptique, présents dans la graine, offrent des nutriments à la plantule en développement. La multiplication se fait essentiellement par semis, elles peuvent garder leur pouvoir germinatif jusqu'à trois ans après la première récolte (<https://portal.wiktrop.org/fr/species/show/726>).

2.3. Métabolisme primaire des plantes

Le métabolisme primaire des plantes correspond à l'ensemble des processus de base qui permettent à une plante de vivre, de grandir et de fonctionner. Ces processus produisent des éléments essentiels comme les glucides, protéines et lipides, ainsi que les substances qui forment les parois des cellules. Tous ces composants sont nécessaires pour édifier les cellules, faire fonctionner les organes de la plante et assurer sa survie (Maeda, 2019).

2.3.1. Glucides

2.3.1.1. Structure des glucides

Les glucides sont une classe de composés organiques contenant un groupe carbonyle (aldéhyde ou cétone) et au moins deux groupes hydroxyle (-OH). Ils font partie des constituants essentiels des êtres vivants et de leur nutrition, car ils sont un des principaux intermédiaires biologiques de stockage et de consommation d'énergie.

Les glucides sont habituellement répartis entre oses (monosaccharides) et osides (disaccharides, oligosaccharides et polysaccharides). Les oses sont des molécules simples, non hydrolysables, tandis que les osides sont plus complexes, hydrolysables et formés exclusivement d'oses (holosides) ou encore de polymères d'oses associés à des molécules non glucidiques (hétérosides).

Les diholosides sont des sucres composés de deux molécules d'oses liées par liaison osidique. Le saccharose en est un exemple, son nom systématique est l' α -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2) β -D-fructofuranoside. Il est scindé en 2 molécules le D-glucopyranose

et le D-fructofuranose par l'invertase qui est une α -glycosidase, une enzyme spécifique de cette liaison glycosidique.

Un polyholoside est l'association d'un très grand nombre de molécules liées par des liaisons *O*-glycosidiques. On pourra citer au moins 3 exemples :

- **Amidon** : C'est un polyholoside homogène non réducteur constitué de deux composés : l'amyllose, un polymère de glucose lié par une liaison $\alpha(1 \rightarrow 4)$ (20 à 30%) ; et l'amylopectine, amylose ramifié par une liaison $\alpha(1 \rightarrow 6)$ (70 à 80 %).

L'amidon est un polymère de glucose ; il peut être hydrolysé par une α -glucosidase. C'est la substance de réserve glucidique des végétaux. Les féculents sont une source majeure d'amidon dans l'alimentation humaine.

- **Glycogène** : Il est pratiquement identique à l'amidon par rapport à sa structure, mais possède plus de ramifications, sa masse molaire est plus élevée et il est soluble dans l'eau froide contrairement à l'amidon.

Le glycogène est la substance de réserve glucidique des animaux. C'est la forme de stockage du glucose excédentaire chez les animaux et les champignons. Il se forme par glycogénogenèse et est décomposé par la glycogénolyse.

- **Cellulose** : C'est un polyholoside homogène de glucose liés par une liaison $\beta(1 \rightarrow 4)$. C'est la principale molécule structurelle des plantes. Le bois est en partie composé de cellulose. C'est une molécule très longue et rigide, dont la structure lui confère ses propriétés mécaniques telles qu'observées chez les plantes.

2.3.1.2. Métabolisme des glucides

Le métabolisme des glucides est l'ensemble des processus biochimiques responsables de la formation, la dégradation et de l'inter conversion des glucides chez les organismes vivants.

Les plantes synthétisent par photosynthèse des glucides (amidon) à partir du CO₂ (cycle de Calvin-Benson / **Fig. 5**). Elles peuvent ensuite être consommées par d'autres organismes et servir de carburant pour la respiration cellulaire. L'énergie obtenue à partir du métabolisme des glucides est généralement stockée sous forme d'ATP.

Les glucides sont hydrolysés ou isomérisés en glucose puis dégradés en pyruvate par la glycolyse. Le pyruvate, avec l'oxaloacétate et le malate alimentent le cycle de Krebs (cycle de l'acide citrique ou cycle des acides tricarboxyliques = TCA cycle / **Fig. 5**). Ce cycle dont le déroulement au niveau de la matrice mitochondriale (chaîne respiratoire), permet la formation du CO₂ et délivre des produits énergétiques sous forme d'ATP et de NADH (**Moussard, 2006**).

La respiration mitochondriale nécessite un approvisionnement de l'organite en composés carbonés issus des voies cytosoliques de dégradation des glucides. Deux voies se partagent cette tâche : la glycolyse (**Fig. 5**) et la voie des hexoses monophosphates.

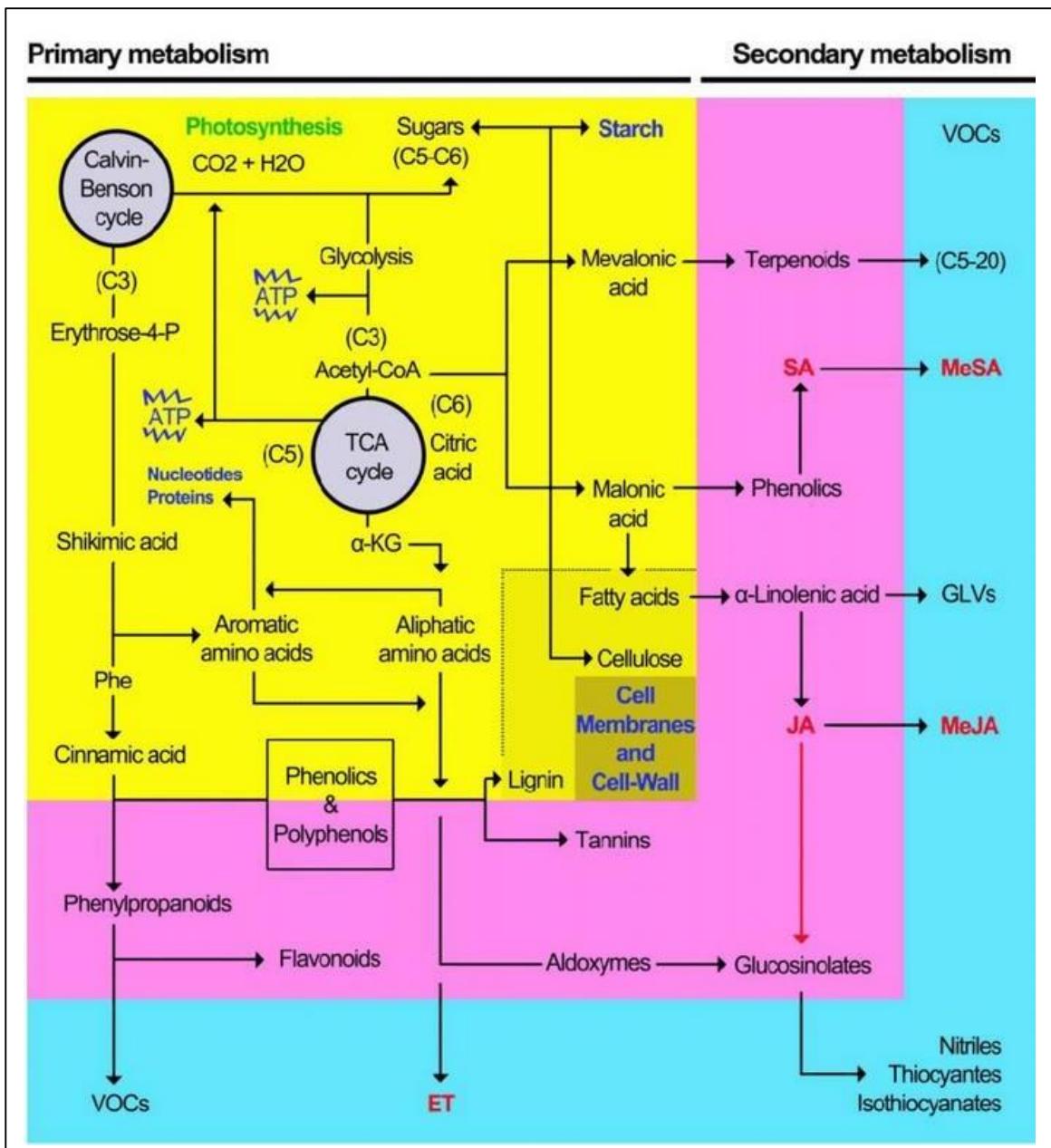


Figure 5 : Vue d'ensemble simplifiée du métabolisme primaire (jaune) et secondaire (rose) des plantes, ainsi que celui des composés organiques volatils (COV) des plantes (bleu). Le métabolisme primaire commence par les phases claires (*photosynthesis*) et obscures (cycle Calvin-Benson) de la photosynthèse. La synthèse des glucides et des acides aminés est liée via le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA cycle). Ces voies produisent de l'ATP et les précurseurs pour les différentes synthèses, qu'ils soient de structure ou des métabolites secondaires (**Papazian, 2017**).

2.3.2. Acides aminés et protéines

2.3.2.1. Voies de synthèse des acides aminés

Les acides aminés sont essentiels à la croissance des plantes car ils constituent les blocs de construction des protéines et jouent un rôle clé dans de nombreux processus biologiques. Les plantes en tant qu'organismes autotrophes, synthétisent tous les acides aminés nécessaires à partir de précurseurs simples issus de la photosynthèse et de l'assimilation de l'azote et du sulfate (**Trovato et al., 2021**).

- **Réduction du nitrate** : Le nitrate est réduit au niveau de l'enveloppe du chloroplaste en ammoniaque, qui avec l'acide α -cétoglutarique à l'origine de la synthèse d'acide glutamique, lui-même à l'origine de la glutamine, de l'acide aspartique et de lalanine.

Les précurseurs de cette synthèse d'acides aminés proviennent de la glycolyse hyaloplasmique (pyruvate) et du cycle de Krebs mitochondrial (α -cétoglutarique et acide oxaloacétique), voies métaboliques qui sont alimentées en trioses phosphate par le cycle de Calvin-Benson (**Fig. 5**). Les électrons nécessaires aux réductions du nitrate ainsi que l'ATP consommé pour la synthèse de la glutamine sont fournis par la chaîne de transport d'électrons photosynthétiques et l'ATPase des membranes des thylakoïdes. Le passage des précurseurs de la matrice mitochondriale dans le stroma met en jeu des transporteurs spécifiques de la membrane interne de l'enveloppe des chloroplastes.

- **Réduction du sulfate** : Avant d'être réduit, le sulfate est d'abord activé par l'ATP donnant l'adénosine 5'-phosphosulfate ou APS, qui est phosphorylée en 3'-phosphoadénosine 5'-phosphosulfate ou PAPS.

Après avoir été transféré sur une protéine porteuse X-SH, le groupement sulfate ainsi activé est réduit en groupement thiol, qui est enfin transféré à la sérine acétylée venue du hyaloplasme ; c'est au cours de cette dernière étape qu'est synthétisé un acide aminé soufré la cystéine. Comme dans le cas du nitrate, les électrons nécessaires aux réductions du sulfate ainsi que l'ATP consommé pour l'activation du sulfate sont fournis par la chaîne de transport d'électrons photosynthétiques et l'ATPase des membranes des thylakoïdes. Le passage des précurseurs de la matrice mitochondriale dans le stroma met en jeu des transporteurs spécifiques de la membrane interne de l'enveloppe des chloroplastes.

2.3.2.2. Destinée des acides aminés

Synthétisés dans le stroma grâce à l'énergie lumineuse captée par les thylakoïdes, les acides aminés sont en partie utilisés sur place pour la synthèse de protéines ou bien exportés dans l'hyaloplasme ou dans les mitochondries via l'hyaloplasme. Là, ils servent également à la synthèse de protéines par les ribosomes du cytoplasme ou par les mitoribosomes de la matrice. Avec les glucides, ces acides aminés participent également à la formation de métabolites secondaires (**Fig. 5**) (**Trovato et al., 2021**).

2.3.2.3. Cas particulier de la proline

La proline est un acide aminé que les plantes produisent naturellement. En plus de faire partie des protéines, la proline est surtout utile parce qu'elle s'accumule en grande quantité quand la plante est stressée. Cela lui permet de protéger ses cellules et de mieux s'adapter aux situations difficiles (Ben Rejeb et al., 2012).

- **Biosynthèse et régulation :** La biosynthèse de la proline s'effectue principalement depuis le glutamate (Glu) et se déroule en 2 étapes. Le glutamate est d'abord transformé en Δ^1 -pyroline-5-carboxylate (P5C) grâce à l'enzyme Δ^1 -pyroline-5-carboxylate synthétase (P5CS) ; puis le P5C est transformé en proline en présence d'une Δ^1 -pyroline-5-carboxylate réductase (P5CR). La biosynthèse s'effectue dans deux endroits différents de la cellule, le cytosol et le chloroplaste (Fig. 6).

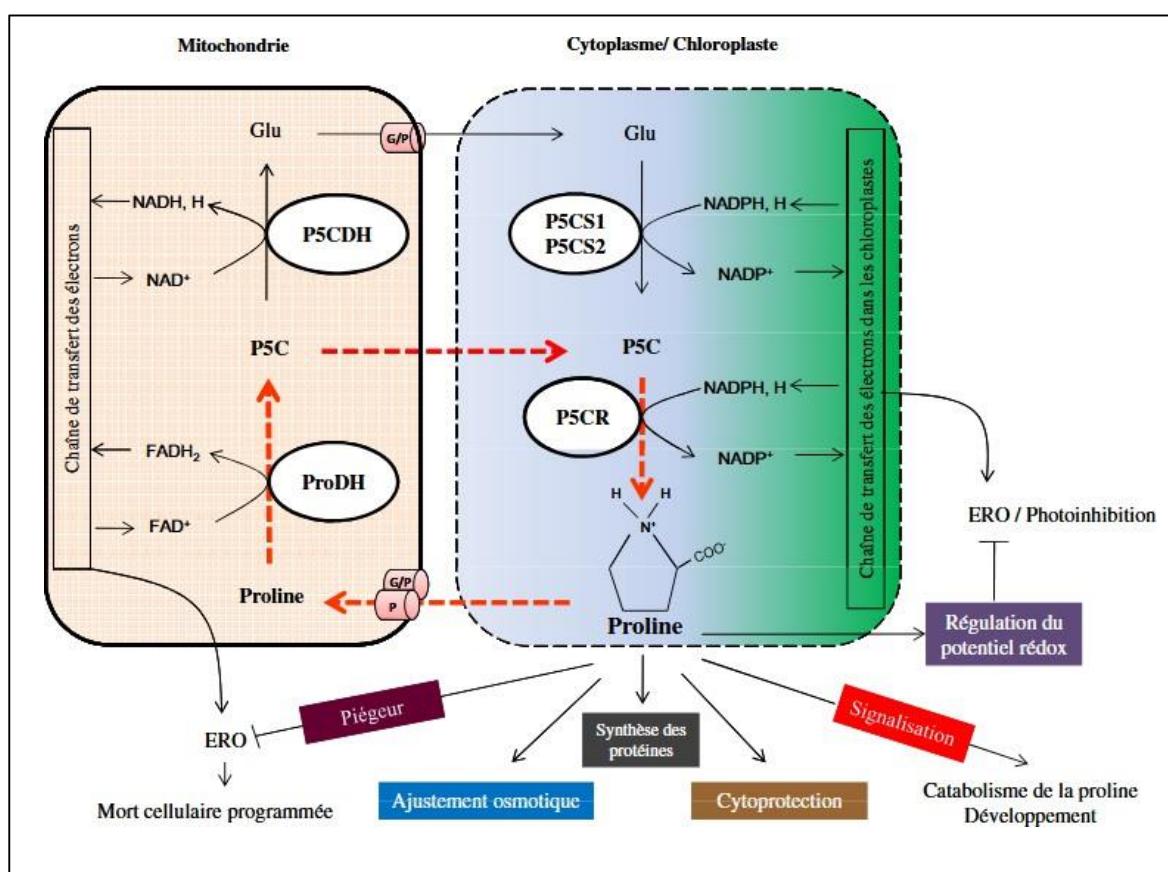


Figure 6 : Métabolisme de la proline et ses fonctions cellulaires. Le cycle P5C/proline est marqué par des flèches en pointillés, le P5C mitochondrial peut être recyclé en proline dans le cytosole par la P5CR sans produire du glutamate. Abréviations : ERO, espèces réactives de l'oxygène ; FAD, Flavine Adénine Dinucléotide ; G/P, antiport Glutamate/Proline ; Glu, Glutamate ; NADP, Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate ; P, Uniport Proline ; P5C, Pyroline-5-Carboxylate ; P5CDH, P5C Déshydrogénase ; P5CR, P5C Réductase ; P5CS, P5C Synthétase ; ProDH, Proline Déshydrogénase (Ben Rejeb et al., 2012).

Le catabolisme de la proline se déroule dans la mitochondrie, grâce à deux enzymes : proline déshydrogénase (ProDH) et Δ^1 -pyroline-5-carboxylate déshydrogénase (P5CDH). Chez *Arabidopsis thaliana* L., il existe deux versions différentes de l'enzyme P5CS, P5CS1 et P5CS2, mais une seule version pour P5CR et P5CDH. Pour ProDH, on en trouve aussi deux formes : ProDH1 et ProDH2. Des expériences ont montré que l'enzyme P5CS1 est normalement présente dans le cytosol, mais qu'elle est envoyée vers le chloroplaste quand la plante subit un stress. En revanche, P5CS2 reste dans le cytosol même en cas de stress (**Fig. 6**) (**Ben Rejeb et al., 2012**).

Enfin, la proline circule à l'intérieur de la cellule entre le cytosol, les chloroplastes et les mitochondries. Des systèmes de transport spécialisés permettent ce mouvement, soit en transportant uniquement la proline (système uniport), soit en échangeant la proline avec le glutamate (système antiport), comme cela a été observé dans les mitochondries du blé (**Di Martino et al., 2006** ; **Ben Rejeb et al., 2012**).

- **Rôles de la proline** : La proline joue un rôle clé dans la tolérance des plantes au stress. Elle protège les protéines, les enzymes et les organites cellulaires en maintenant leur structure et leur fonctionnement, même en conditions difficiles comme la sécheresse, la salinité, ou la présence de polluants (**Hare et al., 2002**). Grâce à sa structure, elle agit comme une molécule chaperonne, entourant les protéines pour éviter leur dégradation. Elle contribue aussi à la protection contre le stress oxydatif en neutralisant les formes réactives de l'oxygène (**Fig. 6**) (**Smirnoff and Cumbes, 1989** ; **Alia et al., 2001**).

La synthèse et la dégradation de la proline sont finement régulées. Dans les mitochondries, son catabolisme permet de fournir des électrons à la chaîne respiratoire, contribuant à la production de l'ATP, essentielle pour la reprise de la croissance après un stress (**Kishor et al., 1995**). De plus, dans certaines interactions plante-pathogène, la proline joue un rôle dans la mort cellulaire programmée en participant à la signalisation liée aux espèces réactives de l'O₂ (**Fabro et al., 2004**). Enfin, la synthèse de la proline dans le chloroplaste permet aussi de réguler l'équilibre énergétique en cas de fermeture des stomates, limitant ainsi les effets négatifs de la photoinhibition (**Fig. 6**) (**Hare et al., 2002** ; **Ben Rejeb et al., 2012**).

2.3.3. Pigments photosynthétiques et phéophytines

2.3.3.1. Pigments photosynthétiques

Les membranes des thylakoïdes sont constituées de 38% de lipides, 50% de protéines et 12% de pigments (**Fig. 7**). Ces pigments, répartis en chlorophylles (10%) et caroténoïdes totaux (2%), collectent et captent l'énergie lumineuse utile pour la photosynthèse (**Chen, 2015** ; **Joyard & Morot-Gaudry, 2024**).

- **Chlorophylles** : Ce sont des complexes porphyrine-magnésium. Leur noyau porphyrine tétrapyrrolique diffère de l'hème, groupement prosthétique de l'hémoglobine, des cytochromes, de la catalase ou de la peroxydase par divers caractères : un des noyaux pyrroles est réduit partiellement ; il existe un noyau cyclo-pentanone et les deux acides propioniques sont estérifiés l'un par le méthanol, l'autre par une chaîne de phytol à 20 atomes de carbone ; formée de 4 unités isoprène cette chaîne est très hydrophobe (**Fig. 7**).

Chez les végétaux supérieurs existent 2 types de chlorophylles *a* et *b*, qui diffèrent l'une de l'autre par la nature du radical situé en position 3 sur le noyau de la porphyrine : groupe méthyle pour la chlorophylle *a* et groupe formyle pour la chlorophylle *b* (**Fig. 7**).

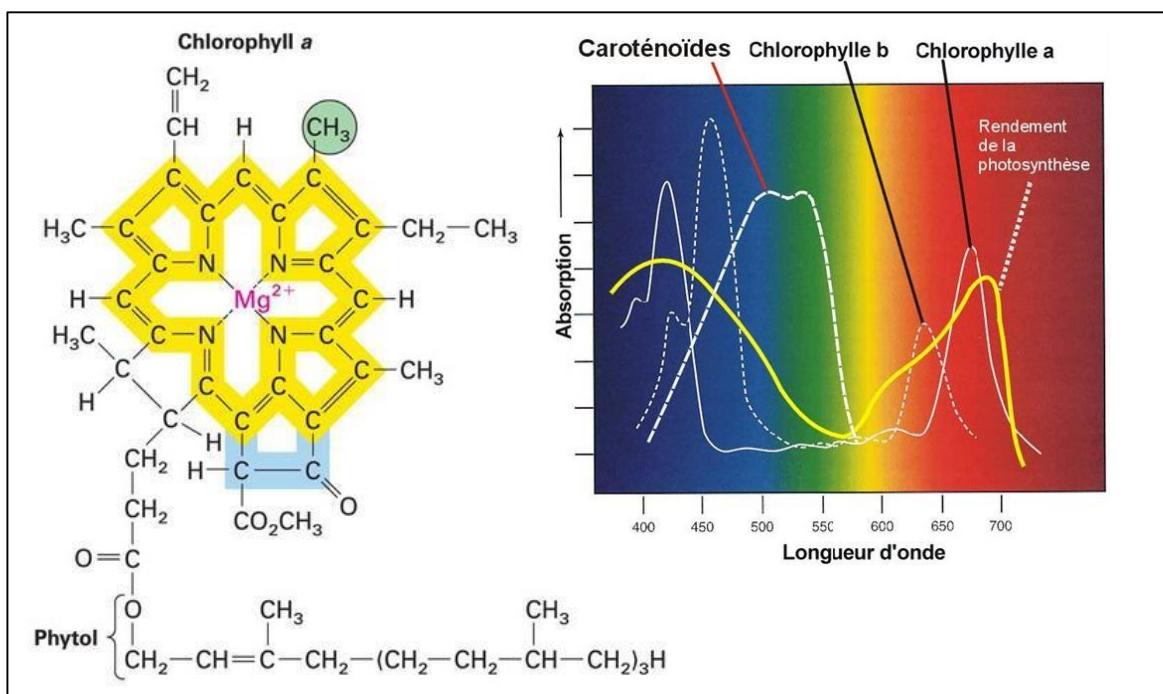


Figure 7 : Structure de la chlorophylle *a*, principal pigment responsable de la capture de l'énergie lumineuse. La chlorophylle *a* diffère de la chlorophylle *b* par la nature du groupe situé sur le noyau de la porphyrine. Méthyle (CH_3) pour la chlorophylle *a* et formyle pour la chlorophylle *b* (CHO). Les parties colorées des cycles indiquent les régions à doubles liaisons conjuguées dont les électrons π peuvent changer d'orbitale lors de l'excitation par un photon. Source : https://digfir-published.macmillanusa.com/lodish8e/lodish8e_ch12. En encadré, les spectres d'absorption des chlorophylles et des caroténoïdes.

La légère différence structurale qui distingue la chlorophylle *a* de la chlorophylle *b* suffit à leur donner des spectres d'absorption différents, et par le fait même, des couleurs distinctes. La chlorophylle *a* est bleu-vert, tandis que la chlorophylle *b* est jaune-vert (**Fig. 7**).

Les chlorophylles s'associent aux protéines formant des complexes, contenant également des caroténoïdes. La configuration spatiale de ces complexes n'est pas connue mais on pense que les chaînes de phytol des chlorophylles sont situées en périphérie des protéines et que les régions hydrophobes des noyaux tétrapyrroliques sont incluses entre les replis internes de la partie polypeptidiques, partie qui comporte de nombreux résidus hydrophobes. Ces interactions assurent sans doute le positionnement précis de la majorité des molécules de chlorophylle du plaste.

L'absorption de la lumière par la chlorophylle est due à la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées dans sa structure (**Fig. 7**). Le fonctionnement optimal de l'appareil photosynthétique implique le renouvellement permanent des complexes protéines-pigments, car ils se dégradent rapidement au cours de leur activité (**Chen, 2015**).

- **Caroténoïdes** : Ils ne représentent que 2% de la masse des membranes et sont dérivés de l'isoprène et solubles dans les solvants organiques. Synthétisés dans les divers types de plastes, leur diversité est considérable : plus d'un millier de molécules distinctes a été décrit dans les organismes vivants. Ils sont répartis en carotènes et en xanthophylles. Les carotènes sont de longues molécules hydrophobes formées d'unités isoprène et dont les extrémités sont cyclisées. Les xanthophylles sont des dérivés oxygénés des carotènes (**Fig. 8**).

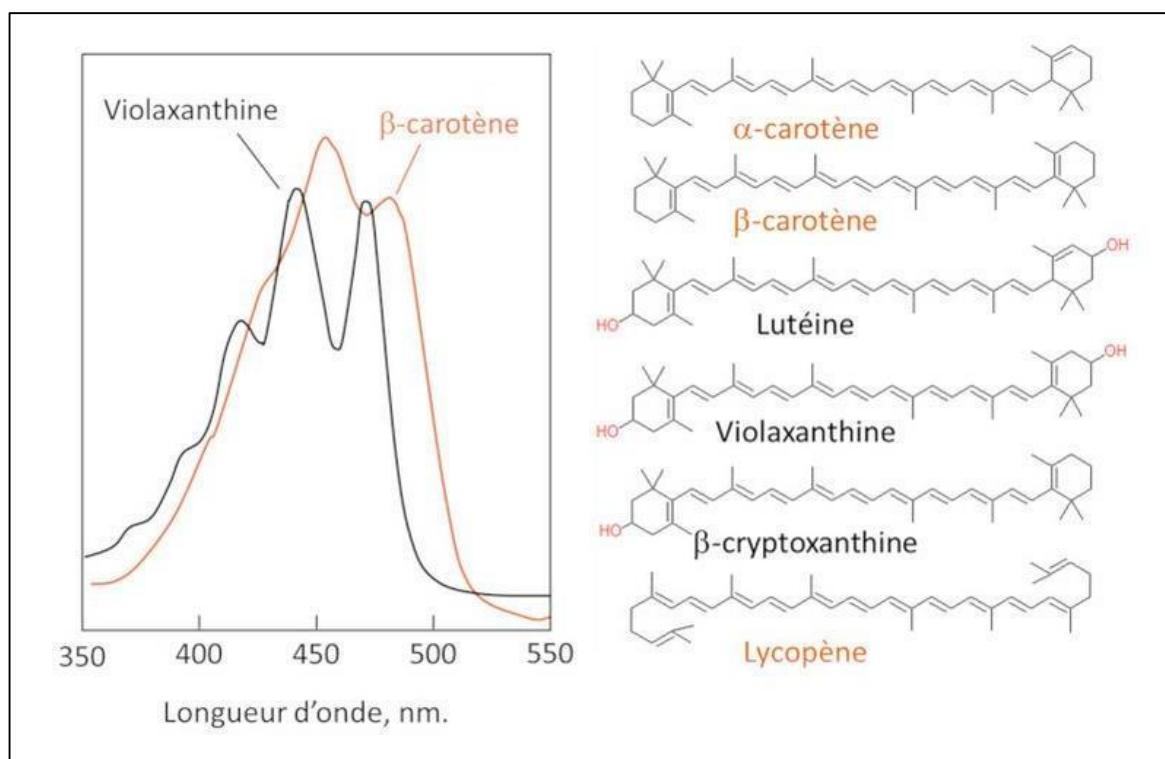


Figure 8 : Spectre d'absorption du β-carotène et d'une xanthophylle : la violaxanthine (pigments dissous dans l'alcool). A droite : structure de quelques caroténoïdes (α - et β -carotène et lycopène ; xanthophylles : lutéine, zéaxanthine et β -cryptoxanthine). Source : <https://www.encyclopedie-environnement.org/zoom/couleurs-feuilles>.

Les carotènes, essentiellement le β -carotène, ne contribue pas activement à la photosynthèse mais absorbe le trop plein d'énergie de la chlorophylle afin d'éviter la formation d'espèces réactives oxygénées qui détruiraient la feuille.

Les xanthophylles sont une sous-classe de caroténoïdes essentielle à la photosynthèse et à la protection des photosystèmes. Les feuilles contiennent de la lutéine, de la zéaxanthine, de la violaxanthine, etc. Ce sont des pigments qui absorbent principalement dans les longueurs d'onde bleues, d'où leur couleur jaune (**Fig. 7 & 8**). Les xanthophylles sont des précurseurs d'hormones végétales, l'acide abscissique en particulier (**Chen, 2015**).

2.3.3.2. Cas particulier des phéophytines

Une phéophytine est une chlorophylle dépourvue de son cation central de magnésium. La phéophytine *a* est la plus commune, correspondant à la chlorophylle *a* qui est le principal pigment photosynthétique, mais il existe également de la phéophytine *b*, chaque variété de chlorophylle ayant une phéophytine correspondante (**Hou, 2014**).

Les phéophytines interviennent dans la photosynthèse comme premiers transporteurs d'électrons intermédiaires dans la chaîne de transfert d'électrons du photosystème II chez les plantes. Dans ce cas, la lumière transfère les électrons des centres réactionnels à des phéophytines, qui les cèdent à leur tour à une quinone (Q_A) (**Fig. 9**) (**Barber, 2004**).

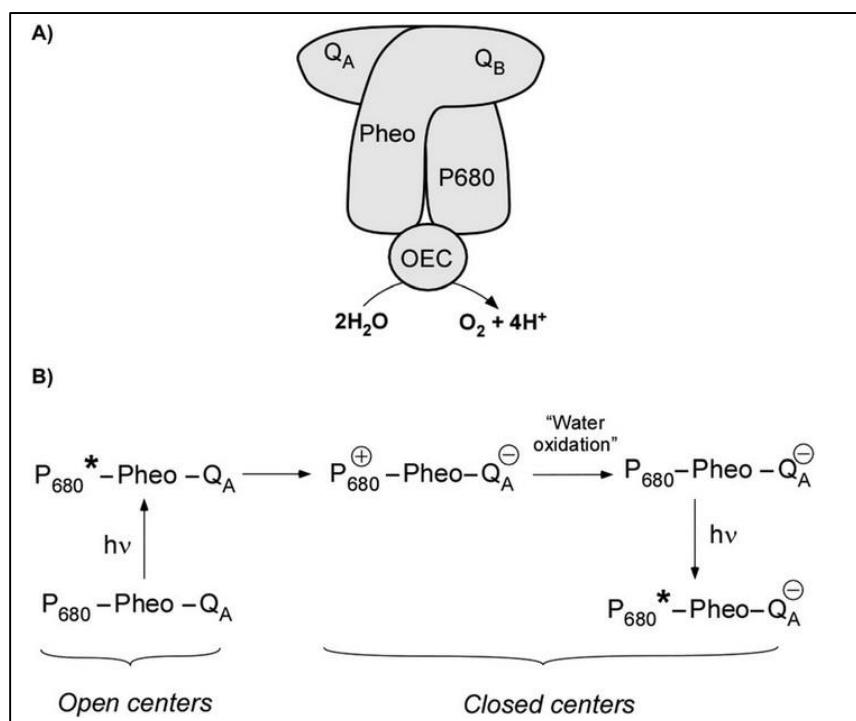


Figure 9 : Schéma simplifié des transferts d'électrons du photosystème II (P680) vers le pool des plastoquinones (Q_A). L'énergie fournie par un photon $\lambda \leq 680$ nm fait passer un électron de la phéophytine (Pheo) à l'accepteur Q_A du photosystème II (**Longatte, 2016**).

*MATÉRIEL &
MÉTHODES*

3. Matériel & Méthodes

3.1. Matériel

Le présent travail de laboratoire s'est déroulé entre mi-février et mi-mai au sein du laboratoire relevant du département de Biotechnologie, de la Faculté SNV, de l'Université A. Mira de Bejaia.

3.1.1. Matériel végétal échantillonné

Les feuilles de *Marrubium vulgare* L. ont été échantillonnées en 2 périodes distinctes : mi-décembre de l'année 2024 et mi-mars de l'année 2025. L'échantillonnage a eu lieu dans la région d'El-Mizab, dans la commune de Draâ-El-Kaïd, à Kherrata, au sud-est du chef-lieu de la Wilaya de Bejaia (**Fig. 10**).

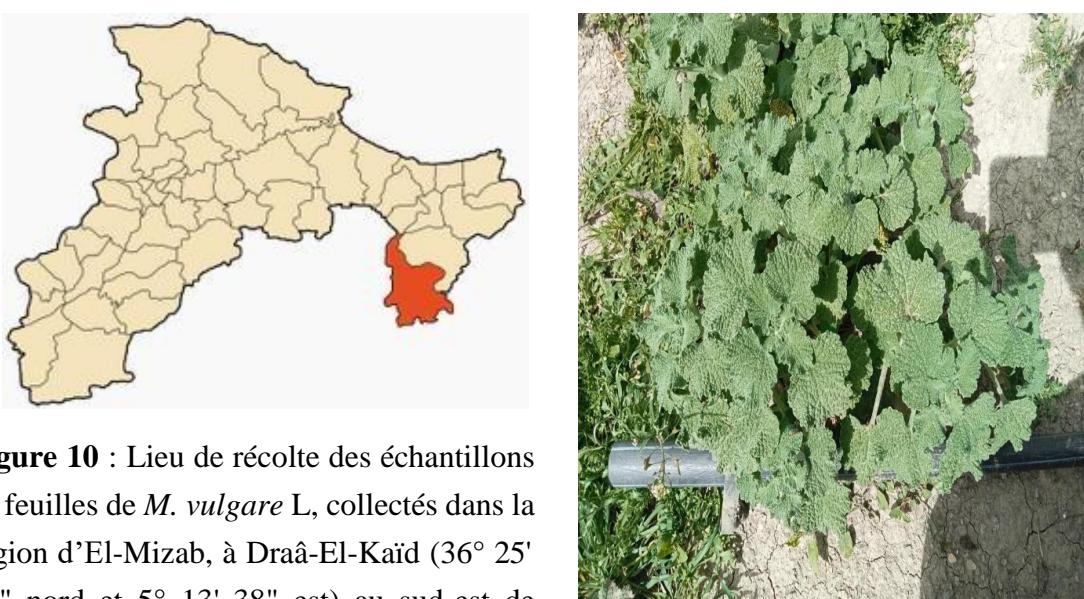


Figure 10 : Lieu de récolte des échantillons de feuilles de *M. vulgare* L, collectés dans la région d'El-Mizab, à Draâ-El-Kaïd (36° 25' 01" nord et 5° 13' 38" est) au sud-est de Bejaia.

3.1.2. Préparation des feuilles

Après récolte, les feuilles fraîches de *Marrubium vulgare* L. sont immergées dans de l'eau pour éliminer les éventuelles traces d'impuretés et de poussières accumulées.

Une fois égouttées, les feuilles sont étalées sur du papier absorbant pour sécher. Le séchage a duré une quinzaine de jours en un endroit sec, à l'abri du soleil et à température ambiante.

Les feuilles complètement desséchées sont réduites en poudre, puis sont finement tamisée par les cribles d'un tamis de 2 mm (**Fig. 11**).



Figure 11 : Préparation de poudres finement tamisées obtenues de feuilles desséchées de *Marrubium vulgare* L.

3.2. Méthodes

Toutes les méthodes utilisées ci-dessous sont appliquées aux poudres tamisées obtenues depuis les feuilles desséchées et broyées de *Marrubium vulgare* L.

3.2.1. Extraction et dosage des glucides

3.2.1.1. Principe

La quantité de sucres est déterminée par colorimétrie par la méthode de **McCready et al. (1950)**, qui permet de doser à la fois les sucres solubles et d'estimer la quantité en amidon, ramenée à sa juste valeur par utilisation d'un facteur de correction de 0,9.

A chaud, les acides concentrés provoquent une déshydratation des monosaccharides par départ de molécules d'eau à partir des groupements alcools des oses, avec formation d'hétérocycles, ce sont les dérivés furfuraux.

Le 5-hydroxyméthylfurfural formé se condense avec la forme tautomère de l'anthrone, l'antranol. La condensation entraîne la formation de complexes : vert – bleu.

3.2.1.2. Extraction

Peser environ 0,05 g de matière végétale sèche qu'on reprend dans 5 mL d'éthanol bouillant à 80%. Ce mélange est fortement agité, puis centrifugé durant 15 mn à 5000 rpm. Le surnageant récupéré renferme les sucres solubles. Le culot est repris une seconde fois dans 3 mL d'éthanol bouillant à 80%, puis centrifugé pendant 15 mn à 5000 rpm. Son surnageant est additionné au premier et son culot est repris une troisième fois dans 3 mL d'éthanol bouillant à 80%, puis centrifugé pendant 15 mn à 5000 rpm. Le 3^{ème} surnageant est mélangé aux 2 premiers et ajusté au besoin à 10 mL par de l'éthanol à 80%.

Le culot restant renfermant de l'amidon qu'il faut au préalable hydrolyser avant de l'estimer. Ce culot est resuspendu dans 2 mL d'H₂O distillée froide, acidifiée par 3,25 mL d'acide perchlorique à 60%, puis incubé pendant 15 mn dans de la glace. Une centrifugation de 15 mn à 5000 rpm, permet de récupérer un 1^{er} surnageant contenant les sucres solubles hydrolysés de l'amidon. Le culot est repris une seconde fois dans 2 mL d'H₂O distillée froide et 3,25 mL d'acide perchlorique à 60%, suivie d'une incubation de 15 mn dans de la glace. Le second surnageant obtenu de la centrifugation de 15 mn à 5000 rpm, est ajouté au premier. Le mélange est complété au besoin à 10 mL par de l'H₂O distillée froide.

3.2.1.3. Dosage

À 1 mL de l'extrait dilué à 1/5 (sucres solubles et amidon), sont rajoutés 2 mL du réactif à l'anthrone (0,2 g d'anthrone dissous dans 100 mL d'H₂SO₄ à 91%). L'agitation au vortex est suivie d'une incubation de 7 mn au bain-marie à 100°C. Après refroidissement, la densité optique est lue à 630 nm au spectrophotomètre.

3.2.1.4. Courbe étalon

La courbe étalon est réalisée à l'aide d'une solution mère de glucose à 200 µg/mL. Les dilutions préparées varient de 0 à 80 µg/mL (**Fig. 12**). La quantité en sucres solubles et amidon, moyenne de 6 répétitions sera exprimée en mg équivalent glucose / g de matière végétale sèche.

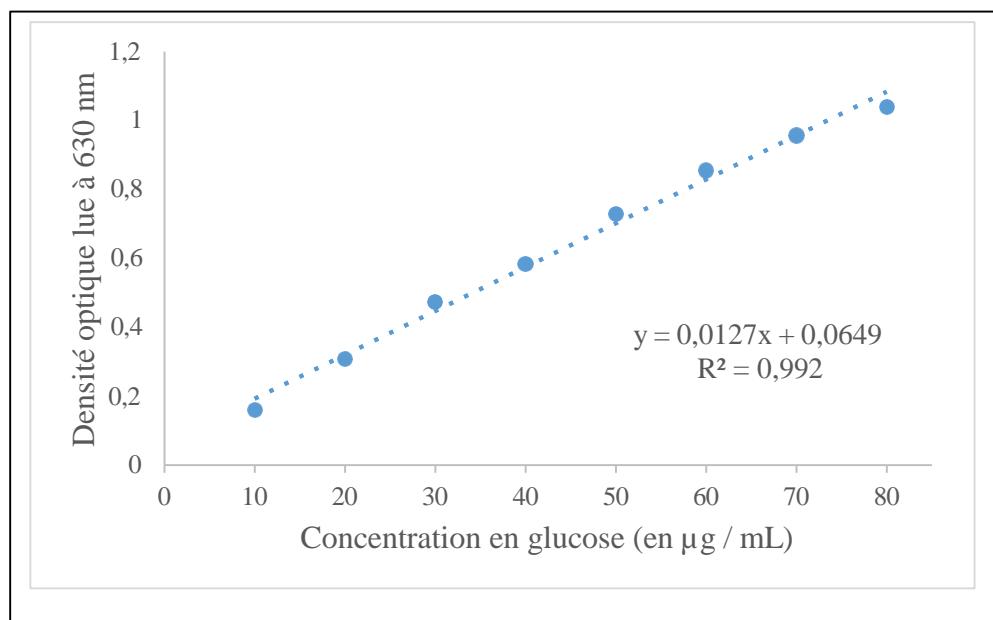


Figure 12 : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de glucose à 200 µg/mL (densité optique lue à $\lambda = 630$ nm).

3.2.2. Extraction et dosage des protéines

3.2.2.1. Principe

Les protéines solubles sont dosées selon la méthode de **Bradford (1976)**. Il s'agit d'un dosage colorimétrique basé sur le changement d'absorbance, se manifestant par le changement de la couleur du bleu de coomassie après liaison avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines.

La forme anionique (liée) du colorant est bleue, et possède un spectre d'absorption maximal estimé à 595 nm. Les formes cationiques (libres) du colorant sont rouges et vertes, absorbant à 465-470 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant par conséquent la concentration en protéines dans l'échantillon (**Weckbecker and Cory, 1988**).

3.2.2.2. Extraction

Peser environ 0,1 g de matière végétale sèche qu'on reprend dans 2 mL d'une solution tampon EDTA / Phosphate. Le mélange est agité puis centrifugé à 5000 rpm pendant 10 mn. Le surnageant renferme les protéines solubles.

Le tampon phosphate est constitué d'EDTA à 2 mM) et d'une solution phosphate constituée du Na₂HPO₄ (141,96 g/mol) et du KH₂PO₄ (136,09 g/mol). Solution à dissoudre afin de préparer 100 mL d'une solution tampon phosphate 0,05 M / pH 7,2.

3.2.2.3. Dosage

À 300 µL de l'extrait protéique sont rajoutés 3 mL de réactif de Bradford. L'ensemble est homogénéisé au vortex et après une dizaine de mn d'incubation à l'obscurité, la lecture des densités optiques se fait au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. L'étalonnage du spectrophotomètre est réalisé par un blanc constitué de 300 µL de tampon et 3 mL de réactif de Bradford.

3.2.2.4. Courbe étalon

La courbe étalon est réalisée à partir d'une solution mère de BSA (sérum albumine bovine) à 1 mg/mL. Les dilutions préparées varient de 0 à 0,50 par échelle croissante de 0,05 mg/mL (**Fig. 13**).

La courbe étalon tracée servira à déterminer la quantité en protéines solubles dans les échantillons testés. La quantité en protéines solubles, moyenne de 6 répétitions sera exprimée en mg équivalent BSA / g de matière végétale sèche.

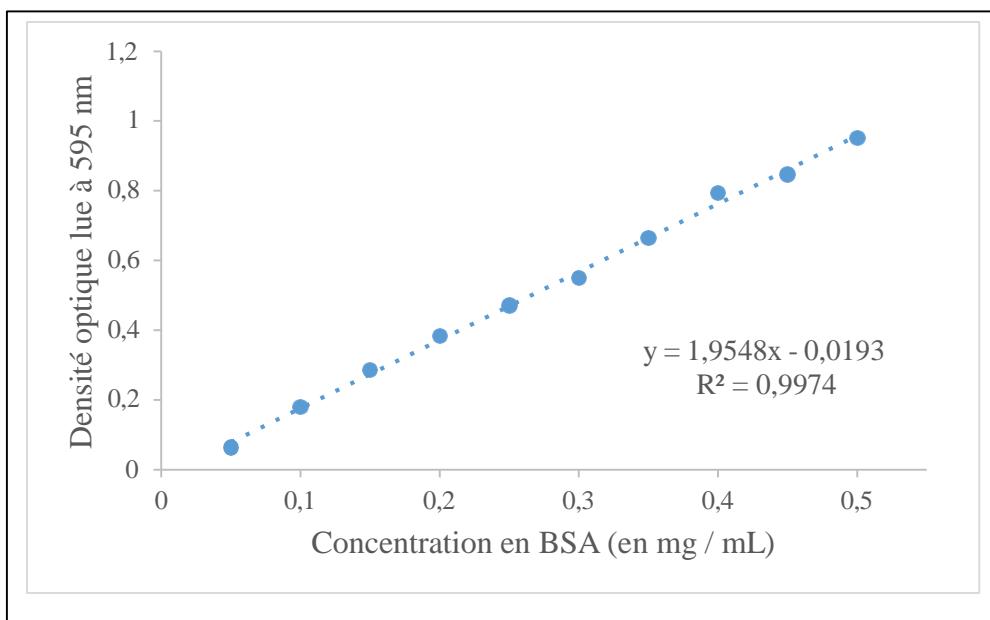


Figure 13 : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA à 1 mg/mL (densité optique lue à $\lambda = 595$ nm).

3.2.3. Extraction et dosage de la proline

3.2.3.1. Principe

La quantité en proline est déterminée par la méthode de **Troll & Lindsley (1955)**, modifiée par **Bates et al. (1973)**. La proline réagit en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine en donnant un composé rouge-orangé soluble dans le toluène.

3.2.3.2. Extraction

Peser environ 0,1 g de matière végétale sèche qu'on reprend dans 5 mL de méthanol. Après une agitation au vortex, les mélanges sont portés au bain-marie pendant 1 heure à 85°C. Pour éviter l'évaporation du méthanol durant le chauffage, les tubes à essais sont hermétiquement fermés. Les extraits une fois récupérés sont centrifugés pendant 10 mn à 3500 rpm.

3.2.3.3. Dosage

À 1 mL de l'extrait dilué à 1/5 sont rajoutés 1 mL d'acide acétique concentré et 1 mL de réactif à ninhydrine (1,25 g de ninhydrine dissous dans 30 mL d'acide acétique glacial + 7,5 mL d'acide orthophosphorique à 85% + 12,5 mL d'H₂O distillée). Après une agitation au vortex, le mélange est porté à ébullition dans un bain-marie durant 1 heure. La solution vire au rouge foncé.

Après refroidissement des tubes, 3 mL de toluène sont rajoutés au mélange. Après une agitation énergique deux phases se développent au bout d'une nuit de décantation. La phase supérieure contenant la proline est récupérée à l'aide d'une pipette Pasteur et les lectures de densité optique se font au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 515 nm contre un blanc constitué de 1 mL d'H₂O distillée + 1 mL d'acide acétique concentré + 1 mL de réactif à ninhydrine.

3.2.3.4. Courbe étalon

La courbe étalon est réalisée à l'aide d'une solution mère de proline à 1 mM. Les dilutions préparées varient de 0 à 0,2 mM par échelle croissante de 0,025 mM. Ces valeurs ont été converties en µg/mL (1 mM = 1000 µmol/L correspondant à 115,13 µg/mL) (**Fig. 14**). La quantité en proline, moyenne de 6 essais sera exprimée en mg équivalent proline / g de matière végétale sèche.

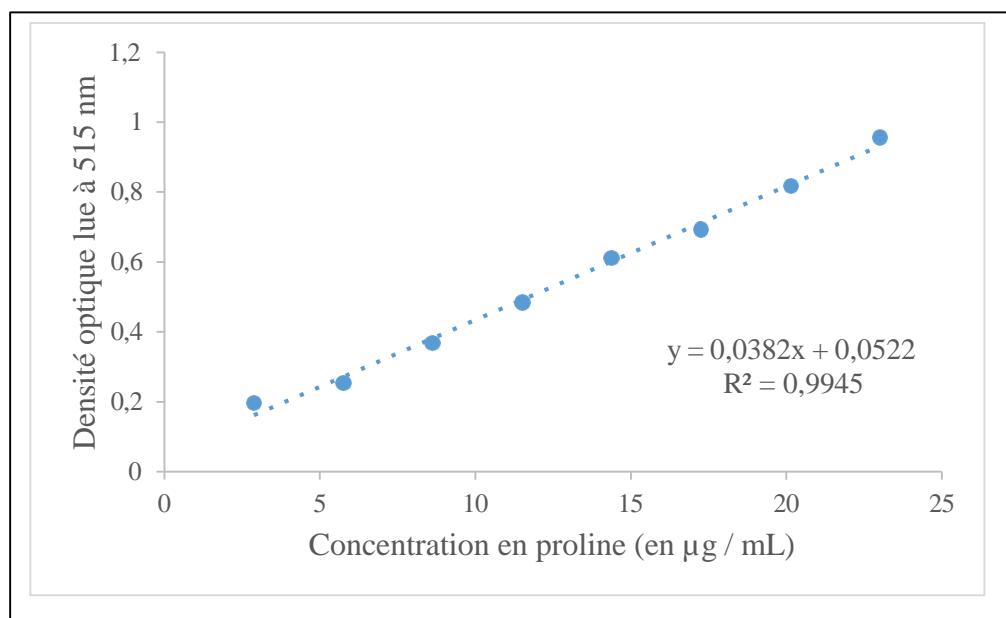


Figure 14 : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de proline à 1 mM (densité optique lue à $\lambda = 515$ nm).

3.2.4. Extraction et dosage des pigments

3.2.4.1. Principe

Chlorophylles et caroténoïdes sont solubles dans les solvants organiques, tel que l'acétone, et sont capables d'interagir spécifiquement avec certaines longueurs d'onde (**Lichtenthaler, 1987**).

3.2.4.2. Extraction et lectures au spectrophotomètre

Peser environ 0,05 g de matière végétale sèche qu'on reprend dans 6 mL d'acétone à 80% en conditions de faible éclairement et à froid. Après agitation, le mélange est centrifugé 10 mn à 5000 rpm et son absorbance est lue au spectrophotomètre à différentes longueurs d'ondes : A_{663,2} ; A_{646,8} et A₄₇₀ nm contre un blanc constitué d'acétone à 80%.

Immédiatement après lecture de la densité optique, la cuve contenant l'extrait est récupérée. À l'aide d'une pipette Pasteur, une goutte d'HCl (25%) est directement rajoutée à l'extrait. L'HCl transforme les chlorophylles en phéophytines. Après une agitation douce, la lecture des densités optiques s'effectue après 30 à 60 secondes d'interaction, aux longueurs d'ondes suivantes : A_{665,4} et A_{653,4} contre le même blanc formé d'acétone à 80%.

3.2.4.3. Calculs

Les quantités en chlorophylles, phéophytines et caroténoïdes totaux sont données pour le solvant utilisé (acétone à 80%) par les équations de **Lichtenthaler (1987)** suivantes :

- $\text{Chlorophylle } a = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8} = \mu\text{g/mL}$
- $\text{Chlorophylle } b = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2} = \mu\text{g/mL}$
- $\text{Chlorophylles } a + b = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8} = \mu\text{g/mL}$
- $\text{Phéophytine } a = 22,42 A_{665,4} - 6,81 A_{653,4} = \mu\text{g/mL}$
- $\text{Phéophytine } b = 40,17 A_{653,4} - 18,58 A_{665,4} = \mu\text{g/mL}$
- $\text{Phéophytines } a + b = 3,84 A_{665,4} + 33,36 A_{653,4} = \mu\text{g/mL}$
- $\text{Caroténoïdes totaux} = 1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b / 198 = \mu\text{g/mL}$

La quantité en pigments est déduite de la moyenne de 6 essais et sera exprimée en mg de pigments / g de matière végétale sèche.

3.2.5. Etude statistique

Les résultats présentés expriment pour l'ensemble dans analyses une valeur moyenne de 6 répétitions ± écart-type. L'ensemble des paramètres étudiés ont été soumis à une analyse de la variance de tous les effets et le test LSD pour les comparaisons post-hoc (P=0,05). Ces analyses ont été effectuées avec Statistica 5.5 (StatSoft 1999).

*RÉSULTATS &
DISCUSSION*

4. Résultats & Discussion

4.1. Résultats

4.1.1. Sucres solubles et amidon

La quantité en sucres solubles déterminée au niveau des échantillons de feuilles de *Marrubium vulgare* L. prélevés au mois de décembre ($43,83 \pm 1,5$ mg/g de MVS) est de 2,6 fois plus élevée que celle enregistrée dans les échantillons de feuilles prélevés au mois de mars ($16,60 \pm 0,3$ mg/g de MVS) (Fig. 15).

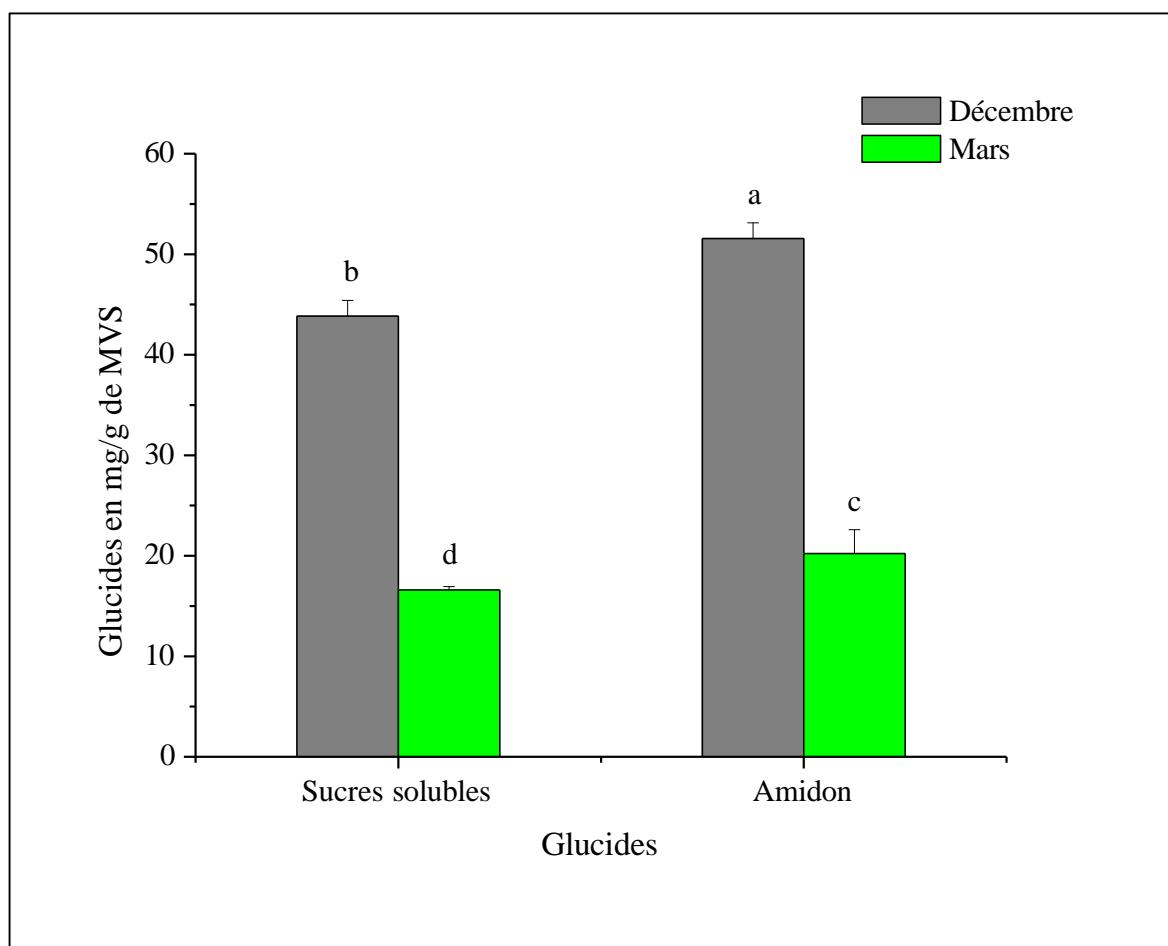


Figure 15 : Evolution des quantités moyennes en sucres solubles et en amidon enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

C'est aussi pareil dans le cas de l'amidon (Fig. 15). En effet, la quantité moyenne en amidon déterminée dans les échantillons de feuilles récoltées au mois de décembre ($51,56 \pm 1,5$ mg/g de MVS) est près de 2,6 fois plus élevée que celle enregistrée dans les échantillons de feuilles récoltés au mois de mars ($20,22 \pm 2,3$ mg/g de MVS).

Qualitativement, nous remarquons une quantité en amidon légèrement supérieure comparativement à celle en sucres solubles dans les 2 récoltes. En effet, l'amidon de la récolte du mois de décembre ne dépasse que de 1,2 fois celle en sucres solubles récoltés à la même période. C'est aussi le cas pour l'amidon du mois de mars qui ne dépasse que de 1,2 fois celle en sucres solubles récoltés le même mois. C'est ce qui est vérifié sur le graphique relatif aux glucides, où nous observons une différence significative d'abord entre amidon (51,56^a mg/g de MVS) et sucres solubles (43,83^b mg/g de MVS) des échantillons récoltés au mois de décembre, puis entre amidon (20,22^c mg/g de MVS) et sucres solubles (16,60^d mg/g de MVS) des échantillons récoltés au mois de mars (**Fig. 15**).

4.1.2. Protéines solubles

Le contenu protéinique des échantillons de feuilles de *M. vulgare* L. a été déterminé sur les deux temps périodiques de récolte (**Fig. 16**).

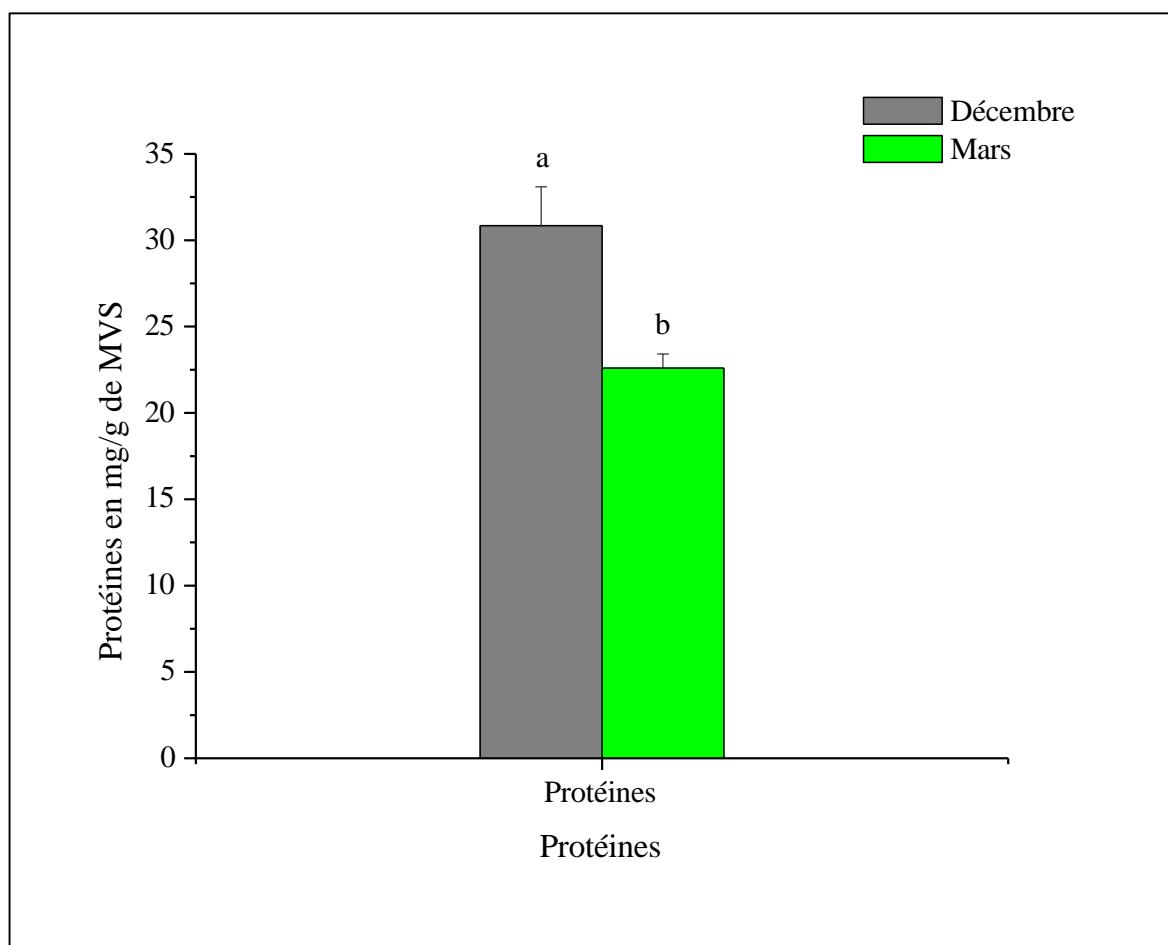


Figure 16 : Evolution des quantités moyennes en protéines solubles enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

La quantité en protéines solubles provenant des échantillons récoltés au mois de décembre ($30,84 \pm 2,2$ mg/g de MVS) est supérieur de 26,7% par rapport à celle des échantillons de feuilles prélevés au mois de mars ($22,59 \pm 0,8$ mg/g de MVS) (Fig. 16).

4.1.3. Proline

À la différence du contenu protéinique des 2 types d'échantillons, il a été trouvé que la proline est près de 2 fois moins importante dans les échantillons de feuilles récoltées au mois de décembre que dans les échantillons de feuilles récoltées au mois de mars (Fig. 17).

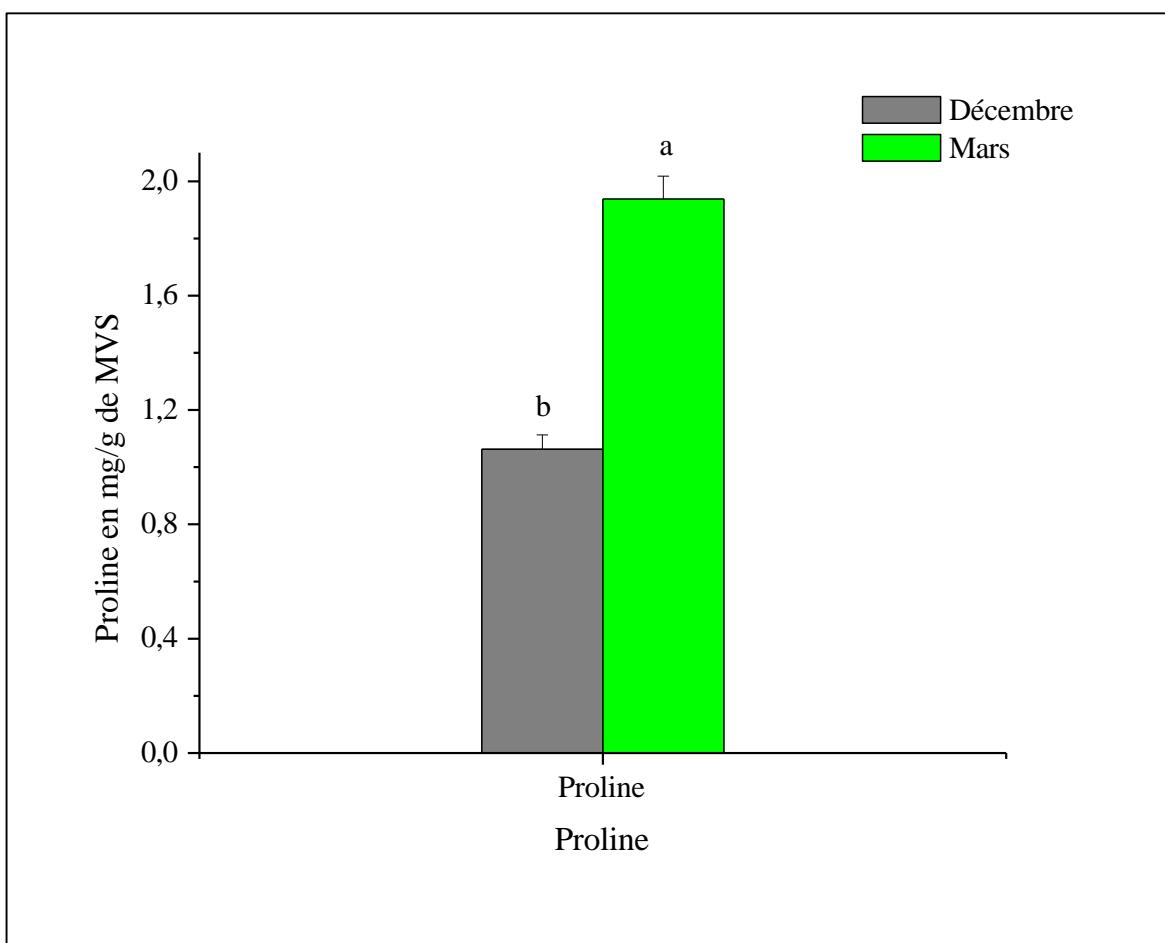


Figure 17 : Evolution des quantités moyennes en proline enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* L. récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

Ainsi, la quantité en proline quoique minime par rapport au contenu protéinique est préférentiellement accumulée dans l'échantillon récolté au mois de mars ($1,93^a \pm 0,08$ mg/g de MVS) que dans l'échantillon récolté au mois de décembre ($1,06^b \pm 0,05$ mg/g de MVS). Cette différence est statistiquement significative, comme l'indique les lettres différentes représentées au-dessus des barres (Fig. 17).

4.1.4. Pigments

4.1.4.1. Chlorophylles

L'évolution des teneurs en chlorophylles selon les 2 périodes de récolte des feuilles de *Marrubium vulgare L.* a été rapportée dans le graphique ci-dessous (**Fig. 18**).

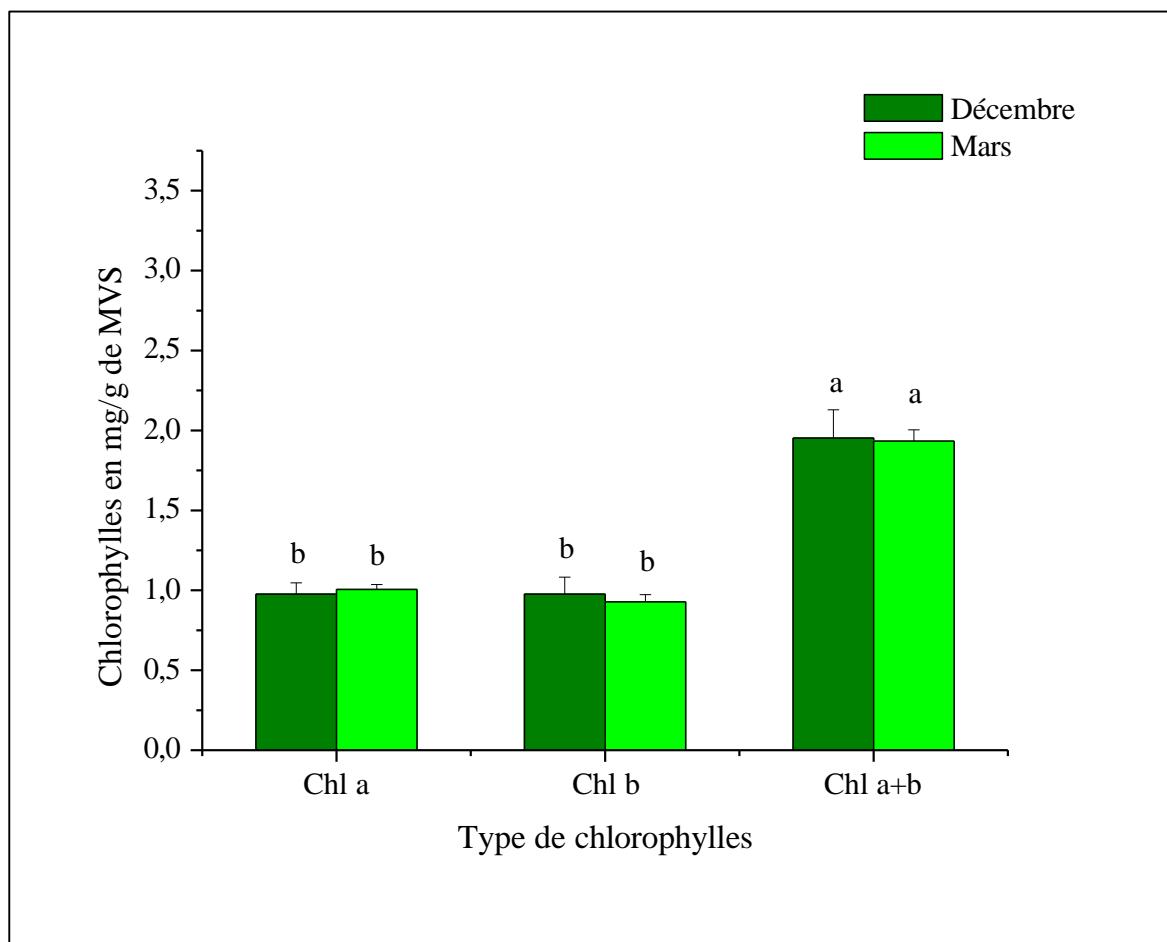


Figure 18 : Evolution des quantités moyennes en chlorophylle *a* (Chl *a*), chlorophylle *b* (Chl *b*) et chlorophylles *a+b* (Chl *a+b*) enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare L.* récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

A priori, aucune différence significative n'a été observée pour la chlorophylle *a* et la chlorophylle *b* par rapport aux 2 périodes distinctes de récolte. Ainsi, la quantité en chlorophylle *a* déterminée dans les feuilles des échantillons du mois de décembre ($0,97 \pm 0,07$ mg/g de MVS) est équivalente à celle déterminée sur les échantillons de feuilles récoltés au mois de mars ($1,00 \pm 0,03$ mg/g de MVS). Idem pour le contenu en chlorophylle *b*, qui est statistiquement identique entre le prélèvement effectué au mois de décembre ($0,97 \pm 0,10$ mg/g de MVS) et celui effectué au mois de mars ($0,92 \pm 0,04$ mg/g de MVS) (**Fig. 18**).

Qualitativement, le contenu en chlorophylle *a* équitablement représenté entre les 2 périodes distinctes de récolte est équivalent en tout point à celui représenté par la chlorophylle *b*. C'est ce que ressort de l'analyse statistique, où aucune différence significative n'a été enregistrée entre le contenu des 2 types de chlorophylles. Ceci est conforté également par la somme des chlorophylles, représentée équitablement entre les deux périodes de prélèvements assez distinctes dans le temps : $1,95 \pm 0,17$ mg/g de MVS vs $1,93 \pm 0,07$ mg/g de MVS, respectivement pour décembre et mars (**Fig. 18**).

4.1.4.2. Phéophytines

Parallèlement aux chlorophylles, nous avons déterminé le contenu des feuilles en phéophytines, après avoir au préalable transformé les 2 types de chlorophylles en leurs phéophytines respectives. C'est ce qui a été rapporté dans la présente figure (**Fig. 19**).

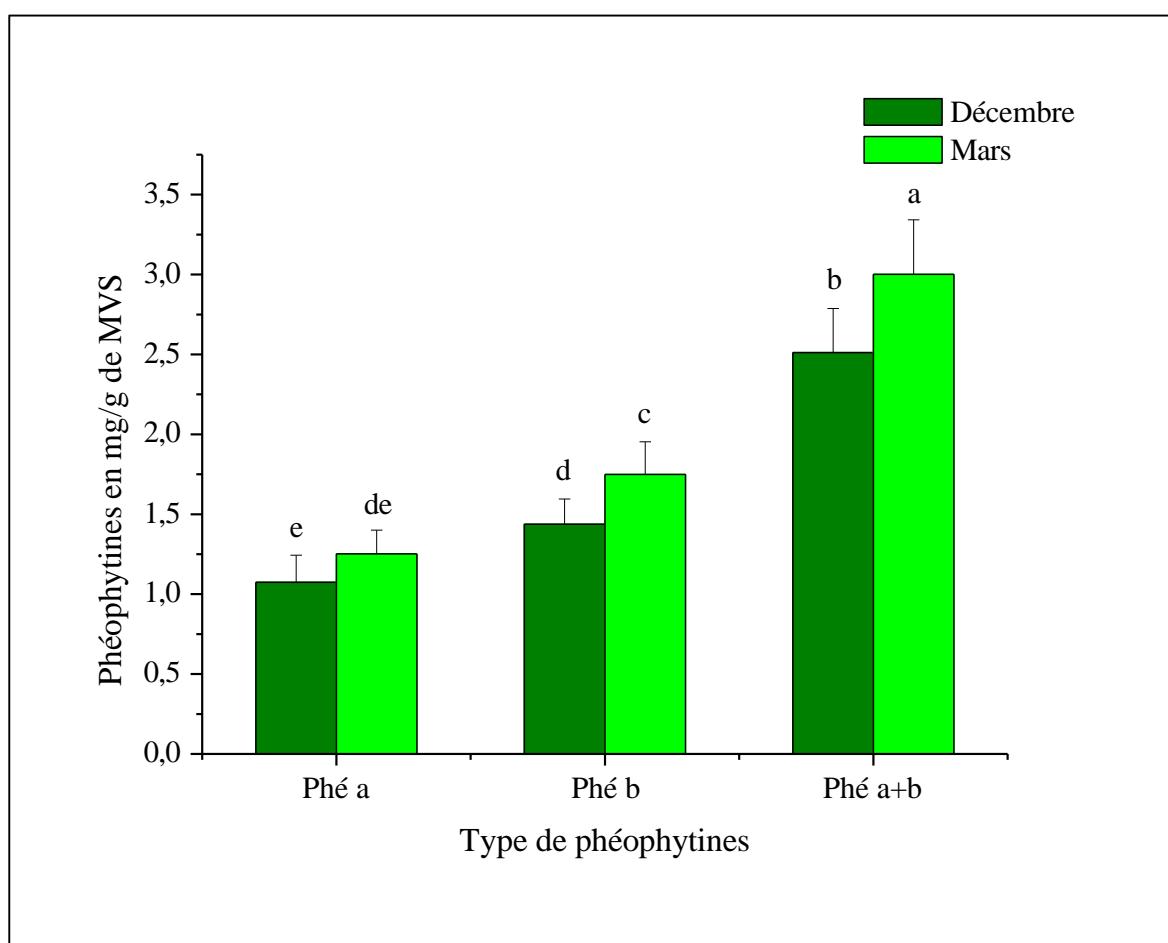


Figure 19 : Evolution des quantités moyennes en phéophytine *a* (Phé *a*), phéophytine *b* (Phé *b*) et phéophytines *a+b* (Phé *a+b*) enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare L.* récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

Le comportement des phéophytines au total est différent de celui des chlorophylles, puisqu'on enregistre des différences significatives entre ce qui a été transformé depuis les chlorophylles, entre les prélèvements du mois de décembre et du mois de mars. Ainsi, on compte moins de phéophytines au mois de décembre ($2,51 \pm 0,27$ mg/g de MVS) qu'au mois de mars ($3,00 \pm 0,34$ mg/g de MVS). L'ordre de cette différence est tout de même de 16% (**Fig. 19**).

Cette différence est dû essentiellement au comportement de la phéophytine *b* par rapport à la phéophytine *a*. En effet, si nous n'observons aucune différence significative entre les 2 périodes d'échantillonnages concernant la phéophytine *a*, on enregistre en revanche une différence significative touchant exclusivement le contenu en phéophytine *b*. Ainsi, la phéophytine *b* mesurée dans l'échantillon prélevé au mois de mars ($1,74 \pm 0,20$ mg/g de MVS) est plus élevé que celui prélevé au mois de décembre ($1,43 \pm 0,27$ mg/g de MVS). La différence est tout de même de 17,8 % (**Fig. 19**).

Il y'a lieu aussi de comparer les rapports chlorophylles / phéophytines puisque les phéophytines sont obtenues de la transformation des chlorophylles. C'est ce qui est déterminé dans le tableau comparatif suivant (**Tab. I**).

Tableau I : Rapports comparatifs établis entre chlorophylles et phéophytines pour les 2 périodes de prélèvements des feuilles de *Marrubium vulgare* L.

		Rapports chlorophylles / Phéophytines		
		Chl <i>a</i> / Phé <i>a</i>	Chl <i>b</i> / Phé <i>b</i>	Chl <i>a+b</i> / Phé <i>a+b</i>
Décembre	0,97 / 1,07	0,97 / 1,43	1,95 / 2,51	
	0,90	0,68	0,77	
Mars	1,00 / 1,25	0,92 / 1,74	1,93 / 3,00	
	0,80	0,52	0,64	

De l'analyse de ce **tableau I**, il ressort les principaux enseignements suivants :

- 1- Le rapport étant en dessous de 1, donc il y'a plus de phéophytines que de chlorophylles dans les 3 cas analysés.
- 2- Il y'a lieu de noter que la phéophytine *b* se distingue plus par rapport à la phéophytine *a* en terme de présence vis-vis de leurs chlorophylles respectives.
- 3- Le rapport est plus faible lorsque l'analyse s'effectue entre périodes de prélèvements. En effet, on enregistre plus de phéophytines pour les échantillons du mois de mars que pour les échantillons du mois de décembre.

- 4- Les transformations opérées de toutes les chlorophylles ont engendré plus de phéophytines, particulièrement pour ce qui est de la phéophytine *b*. Des phéophytines résiduelles, notamment la phéophytine *b*, existent déjà dans les échantillons analysés notamment ceux représentatifs du mois de mars par rapport à ceux de décembre.

4.1.4.3. Caroténoïdes totaux

La détermination des quantités en caroténoïdes totaux a révélé une différence significative entre les 2 périodes de prélèvements de nos échantillons (**Fig. 20**).

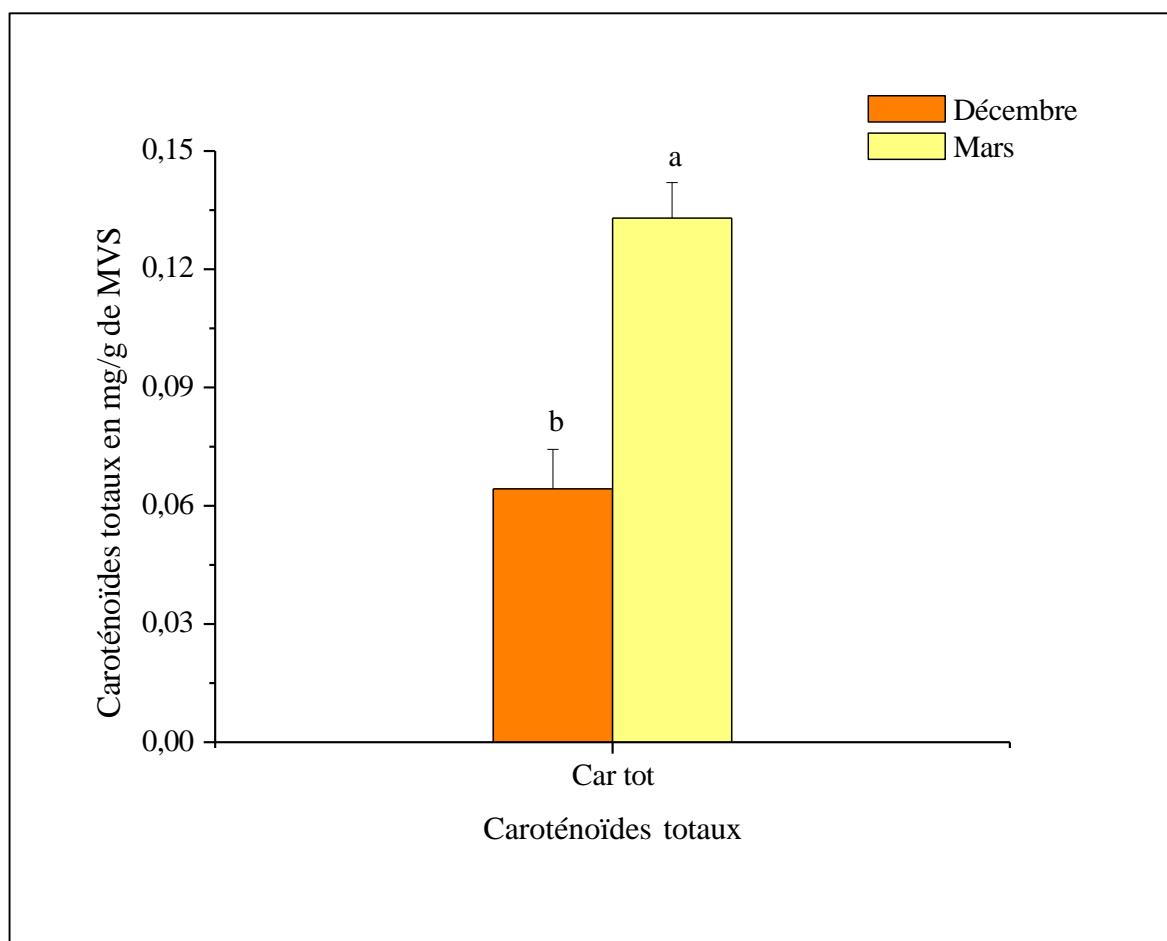


Figure 20 : Evolution des quantités moyennes en caroténoïdes totaux enregistrées au niveau des extraits de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare L.* récoltées en deux périodes distinctes (Décembre et Mars). Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

L'échantillon récolté au mois de décembre montre une quantité moyenne en caroténoïdes totaux de $0,064 \pm 0,010$ mg/g de MVS. C'est deux fois moins que ce qui a été enregistré dans les feuilles de l'échantillon du mois de mars où l'on enregistre une quantité de $0,133 \pm 0,009$ mg/g de MVS (**Fig. 20**).

4.2. Discussions

4.2.1. Sucres solubles

La baisse d'environ 62% de la quantité en sucres solubles enregistrée entre les récoltes du mois de décembre et du mois de mars traduit un fort déstockage au cours de la fin de l'hiver et du début du printemps.

En conditions hivernales, de nombreuses plantes stockent des sucres solubles qui servent de protection contre le gel et le froid. Ces sucres comme le saccharose, les fructanes et les oligosaccharides de raffinose sont issus de l'hydrolyse de l'amidon emmagasiné. Ils contribuent de manière significative à la stabilisation des membranes cellulaires, grâce aux interactions entre le sucre et les têtes polaires qui réduisent la perméabilité. Ils contribuent également à l'accroissement de la viscosité cytoplasmique, vitrification, dans le but de réduire les lésions liées à la congélation.

Chez *Acer saccharum*, **Wong et al. (2003)** ont démontré que les sucres solubles s'accumulent durant les mois froids, participant ainsi au rôle de la tolérance contre le froid. Aussi, les céréales d'hiver accumulent des fructanes et d'autres sucres solubles pendant l'automne et l'hiver, ce qui est associé à une résistance accrue au gel. Ces comportements rapportés par **Tarkowski & Van den Ende (2015)** citant **Levitt (1958)**, rappellent que l'accumulation de sucres solubles après un stress froid met en exergue leurs fonctions protectrices sur les différents éléments cellulaires. En clair, l'accroissement des sucres solubles en hiver facilite l'adaptation au froid et la survie durant l'hiver.

Au retour des températures plus clémentes au printemps, les plantes exploitent leurs réserves de sucres solubles pour favoriser débourrement et stimuler la croissance. Les sucres solubles accumulés sont alors rapidement consommés par les bourgeons et les jeunes pousses pour fournir de l'énergie et des précurseurs métaboliques.

Tang et al. (2023) constatent une diminution notable du glucose, du saccharose et des sucres solubles au niveau des bourgeons de *Camellia sinensis* durant la phase de débourrement, ce qui indique que les sucres solubles sont mobilisés.

En règle générale, c'est l'amidon qui est présent dans les tissus, racines ou tiges, qui est décomposé en sucres simples pour soutenir la croissance au printemps. *Acer saccharum* par exemple, utilise principalement l'amidon stocké comme source de carbone pour les bourgeons en début de printemps (**Wong et al., 2003**).

Cette mobilisation des sucres de réserve fait chuter leur teneur mesurable au printemps, en corrélation avec le développement des bourgeons, des feuilles et des racines.

En clair, les travaux cités plus haut, menés sur différentes espèces (*Acer saccharum*, *Camellia sinensis* et céréales), mettent en évidence la variation saisonnière des sucres

solubles ; ils s'accumulent durant l'hiver pour s'adapter au froid, puis sont utilisés au printemps pour favoriser la croissance.

4.2.2. Amidon

Tout autant que les sucres solubles, la quantité en amidon diminue d'environ 60,78 % entre les deux récoltes de feuilles effectuées au mois de décembre puis au mois de mars.

Les plantes vivaces, qui comptent un grand nombre de plantes médicinales ou ligneuses, interrompent leur développement durant l'automne et accumulent du carbone sous forme d'amidon dans leurs parties de réserves, racines, tiges et bourgeons. Tout comme de nombreuses herbacées pérennes et espèces ligneuses, *Marrubium vulgare* L. interrompt sa croissance en automne. Elle accumule des sucres solubles et de l'amidon dans ses organes de réserve, essentiellement racines et rhizomes, afin de perdurer durant l'hiver.

Ainsi, pour un grand nombre d'espèces de régions tempérées, la fin de l'été/d'automne est marquée par une accumulation de glucides de réserve (sucres et amidon), liée à la défoliation (**Ma et al., 2020**). Ces réserves servent à assurer la survie hivernale (respiration de base, protection contre le froid) et préparent la reprise de croissance printanière. **Fadón et al. (2018)** ont montré que les bourgeons floraux dormants du cerisier accumulent activement de l'amidon pendant l'hiver (pendant l'endodormance), atteignant leur pic au terme de la période de froid. Ces exemples indiquent que l'amidon s'accumule dans les tissus de réserve au milieu de l'hiver (en décembre), malgré le fait que la plante soit en état de repos métabolique.

On peut supposer que, comme d'autres plantes herbacées vivaces, l'amidon retrouvé dans les parties foliaires de *Marrubium vulgare* L. atteint un maximum en décembre, fournissant l'énergie nécessaire pour maintenir une respiration minimale et résister au froid.

Au printemps, avec la hausse des températures et la sortie de dormance de la plante, l'amidon stocké est hydrolysé pour soutenir le développement des nouveaux organes. Ces réserves sont donc réutilisées comme éléments de base pour le développement et l'expansion de nouveaux organes et tissus (**Walton et al., 2007**).

Dans un travail mené sur *Lotus japonicus*, il a démontré par **Vriet et al. (2014)** que la vigueur de régénération printanière est stimulée par une haute teneur en amidon stocké. Cette amidon étant indispensable pour soutenir la reprise de la croissance. Il est réutilisé pour alimenter la reprise de la croissance des pousses. Ceci atteste que le printemps entraîne l'activation des réserves pour appuyer le débourrement et la création de nouveaux tissus.

La baisse de l'amidon au niveau des feuilles du marrube commun détectée entre décembre et mars reflète cette mobilisation printanière des réserves, utilisées par notre espèce pour édifier de nouveau ses tiges et émettre ses feuilles au printemps.

4.2.3. Protéines solubles

À l'origine, en automne comme au printemps, le déclin des protéines foliaires est d'abord un début de sénescence foliaire, processus physiologique normal qui permet d'associer la dégradation des macromolécules et le recyclage des nutriments des tissus âgés ou en stress vers les organes néoformés (graine, jeune pousse, ...). Ainsi, avant l'hiver, une partie des feuilles commence sa sénescence : dégradation des chloroplastes et destruction de nombreuses protéines chloroplastiques. Cette protéolyse programmée produit des acides aminés libres et de l'ammonium qui peuvent alors être transportés via le phloème vers les tissus demandeurs (**Maillard et al., 2015**).

Des études montrent une remobilisation marquée de l'azote foliaire durant la senescence. Chez de nombreuses espèces cultivées, 40-90% de l'azote foliaire initial est redistribué à d'autres parties de la plante. La chute de concentration protéique observée dans ce cas semble donc compatible avec une remobilisation active de l'azote au bénéfice de la plante (**Maillard et al., 2015**).

Ce catabolisme protéique a pour objectif principal la remobilisation de l'azote. Les polypeptides sont scindés en peptides et acides aminés, par l'action concertée de protéases plastidiales, cytosoliques et vacuolaires (**Diaz-Mendoza et al., 2016 ; Buet et al., 2019**). Les acides aminés libérés sont ensuite, exportés hors de la feuille vers les organes porteurs de croissance : graines, bourgeons, racines et tiges) dans lesquels l'azote est réutilisé. Ce redéploiement de l'azote issu des protéines dégradées, contribue à l'efficacité d'utilisation globale de l'azote chez la plante. En somme, la diminution observée n'est pas une perte irréversible, mais un recyclage interne : les protéines foliaires sont un réservoir d'azote pour la phase de croissance suivante (**Maillard et al., 2015 ; Buet et al., 2019**).

Le processus de senescence foliaire est fortement influencé par les conditions environnementales hivernales. Les températures froides et la durée de l'ensoleillement réduite entravent l'activité photosynthétique, ce qui modifie l'équilibre hormonal à l'origine de la sénescence (par exemple les cytokinines baissent et l'acide abscissique augmente au sein des feuilles), tout en stimulant l'expression des gènes de la senescence (**Diaz-Mendoza et al., 2016**). Dans le même temps, la synthèse des protéines est réduite dans les feuilles adultes, de sorte que la concentration en protéines est principalement régulée par leur dégradation (**Buet et al., 2019**). En somme, le stress abiotique hivernal (températures froides, variations d'intensité lumineuse, limites photosynthétiques) accentue le processus de senescence et active les voies de dégradation des protéines. Cependant, c'est là une stratégie adaptative ; même lorsque la photosynthèse est freinée, cette dégradation contrôlée des protéines permet de récupérer l'azote pendant la période de carence du sol en nutriments.

Concernant le processus du recyclage, la vacuole et les protéases spécialisées en assurent le bon fonctionnement au niveau cellulaire. En fin de saison, un grand nombre de

protéases à cystéine et aspartate, actives à pH acide, sont induites et situées dans la vacuole lytique ; elles clivent les protéines cibles et libèrent des acides aminés, ou des vésicules associées à la sénescence, qui sont observées en périphérie du cytoplasme, où elles concentrent une intense activité protéolytique, assimilant des protéines chloroplastiques dont la RubisCo, extraites du chloroplaste, au sein de la vacuole (**Carrión et al., 2014**). L'activation de toutes ces protéines semble en général être régulée finement pour garantir leur action au bon moment et au bon emplacement cellulaire (**Diaz-Mendoza et al., 2016**).

4.2.4. Proline

Les résultats trouvés pour la proline indiquent une légère augmentation de la teneur en proline lorsqu'on passe de la récolte du mois de décembre à la récolte du mois de mars. Cette élévation indique une réaction physiologique entre la saison hivernale et le commencement du printemps. En décembre, la fluctuation des conditions est importante, ce qui peut se traduire par des variations microclimatiques (exposition, précipitations locales) sur le niveau de croissance inconstant des échantillons.

Au printemps, les taux de proline se rapprochent davantage de la moyenne, signalant une propension à la stabilisation. Les teneurs demeurent basses, ce qui est caractéristique de plantes herbacées non soumises à un stress.

Plusieurs travaux confirment l'aspect saisonnier de l'accumulation de la proline chez les plantes méditerranéennes ou des xérophytes. **Lansac et al. (1996)** ont montré que neuf espèces ligneuses méditerranéennes présentent une forte augmentation de proline en fin de l'été, lorsque la plante est en déficit hydrique sévère.

Ain-Lhout et al. (2001) ont également décrit deux pics de proline pour *Halimium* et *Pistacia* (au printemps et en été), associés au froid et à la sécheresse. Dans les conditions bioclimatiques arides de l'Algérie, **Boumeddiene et al. (2023)** ont réalisé des mesures de proline sur trois types de xérophytes de la steppe sur plusieurs printemps. Ils ont observé une forte corrélation négative entre la proline foliaire et les précipitations cumulées, moins il y a d'eau, plus il y a de proline, démontrant un mécanisme de tolérance fondé sur cette accumulation. De plus, certaines plantes saisonnières de climat méditerranéen, comme le laurier-cerise et le lierre, affichent un modèle de type sinusoïdal pour la concentration en proline : un minimum atteint en plein été, un maximum au début du printemps (**Bandurska et al., 2009**). Ce phénomène de réactivation printanière indique un rôle potentiel de la proline dans le réveil des végétaux et leur protection subséquente. Ces observations démontrent que, de façon générale, les plantes méditerranéennes et les xérophytes modifient leur concentration en proline au cours de l'année selon les contraintes climatiques (sécheresse d'été, froid d'hiver).

Ces observations concernant *Marrubium vulgare* L. reflètent cette tendance : un pic de proline en mars comparativement à décembre, associé au passage de l'hiver et au redémarrage de la végétation.

4.2.5. Pigments chlorophylliens et phéophytines

La stabilité des teneurs en chlorophylles pour les deux périodes de récolte des feuilles de *Marrubium vulgare* L. suggère une adaptation physiologique de la plante pour maintenir sa capacité photosynthétique malgré les variations environnementales. Cette stratégie permet à la plante de conserver un potentiel photosynthétique optimal même pendant la période hivernale, en préparation de la reprise de croissance au printemps.

Normalement, en cas de sénescence foliaire correspondant au début de la chute des feuilles suite au processus de vieillissement de l'automne – hiver, la dégradation des chlorophylles s'accentue et donnent des phéophytines. Une hausse des phéophytines en mars indiquerait donc une dégradation des chlorophylles suivant une phase hivernale (**Lichtenthaler, 1987 ; Ben Rejeb et al., 2014 ; Pellegrini et al., 2015**).

Pour rappel, les phéophytines sont des dérivés directs des chlorophylles. Il s'agit de produits de dégradation de ces dernières. Leur formation s'effectue par substitution du Mg²⁺ central du noyau porphyrine par un proton, dans des conditions acides ou enzymatiques. La phéophytine a est issue de la chlorophylle a et la phéophytine b de la chlorophylle b (**Lichtenthaler, 1987**).

Une intensité lumineuse plus faible et des températures froides augmentent le stress photo-oxydatif dans les feuilles encore fonctionnelles, ce qui favorise l'oxygénéation puis l'élimination du Mg²⁺ central induisant la phéophytinisation. De même que des conditions stressantes sévères, fortes températures et forte luminosité entre autres, qui favorisent la photo-inhibition et l'installation d'un stress oxydatif, provoquent l'apparition de niveaux élevés de phéophytines. Dès mars, l'allongement des jours et le retour d'une température plus clément freinent la photoinhibition hivernale, à l'origine en grande partie du catabolisme chlorophyllien.

En résumé, une élévation des phéophytines en mars ne serait le reflet que d'un catabolisme chlorophyllien plus important lors de la sénescence foliaire et sous l'effet d'un stress dû aux conditions de l'environnement. Les phéophytines qui proviennent bien des chlorophylles sont ainsi des indicateurs fiables de l'état physiologique des feuilles et de leur exposition aux facteurs de l'environnement (**Ignatov and Litvin, 1994 ; Schelbert et al., 2009**). Leur présence plus importante en mars est le marqueur d'un vieillissement qui s'est manifesté au printemps juste à l'issue de la phase hivernale, ce qui est en corrélation avec les premiers stades de la fin de l'hiver et le redémarrage végétatif au printemps.

4.2.6. Caroténoïdes totaux

L'augmentation de la concentration des caroténoïdes totaux en mars par rapport à décembre semble pouvoir être expliquée par une réponse physiologique au changement de saison. En effet, les caroténoïdes ont un rôle majeur dans la photoprotection et la lutte contre le stress oxydatif. En particulier, les pigments du cycle des xanthophylles (violaxanthine, antheraxanthine et zéaxanthine), qui permettent de convertir l'excès d'énergie lumineuse en chaleur et limitent également la formation d'espèces réactives de l'oxygène et du stress induit par la lumière sur les tissus chlorophylliens (**Müller et al., 2001 ; Cerullo et al., 2002 ; Robert et al., 2004 ; Holt et al., 2005**).

Chondrogiannis et al. (2023) soulignent que le pool total de caroténoïdes, surtout des xanthophylles, augmente fortement au printemps, signe d'un besoin photoprotecteur accru dès le début de la saison. Plus précisément, la transformation matinale du β -carotène en zéaxanthine via l'anthéraxanthine, permet de soutenir la dissipation thermique de l'énergie absorbée, d'éviter la peroxydation des lipides des systèmes membranaires formant les thylakoïdes (**Gori et al., 2021**).

L'augmentation du nombre de caroténoïdes totaux au printemps que nous observons est donc en accord avec une activation accrue de ces mécanismes photoprotecteurs lorsque la lumière se renforce.

CONCLUSION

5. Conclusion

Les résultats obtenus indiquent que *Marrubium vulgare* L. développe une série cohérente d'adaptations métaboliques tout au long des 2 saisons d'analyses effectuées, parfaitement adaptés au climat méditerranéen. Au début de l'hiver, on retrouve au niveau des feuilles de notre plante des réserves carbonées accumulées massivement, sucres solubles et amidon. La teneur de ces sucres chute de 61,40% au début du printemps. Ce profil suggère une stratégie de stockage de carbone durant la saison froide et humide, puis de mobilisation des réserves au début de la croissance printanière.

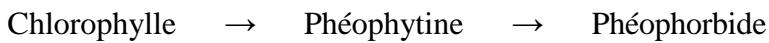
C'est ce qui se passe chez de nombreuses plantes vivaces où les réserves glucidiques atteignent un pic au début de la dormance et sont graduellement utilisées pour favoriser le débourrement. De plus, lors de l'acclimatation au froid, l'hydrolyse de l'amidon en sucres solubles améliore la tolérance au gel par ajustement osmotique et stabilisation membranaire.

Chez *Marrubium vulgare* L., l'abondance concomitante d'amidon et de sucres solubles indique une préparation métabolique de réserve, tandis que leur forte diminution à la fin de l'hiver traduit la mobilisation rapide de ce carbone pour alimenter la photosynthèse et la croissance nouvelle.

Parallèlement, la teneur en protéines foliaires diminue de 26,75% entre décembre et mars. Ce phénomène est typique d'une sénescence partielle des feuilles et d'un réacheminement de l'azote vers les parties en développement. Les protéines plastidiques, notamment la RubisCO et autres enzymes photosynthétiques, sont alors dégradées en acides aminés exportables, via un réseau complexe de protéases activées en fin de saison foliaire. Ce catabolisme contrôlé libère ammonium et amides qui sont réassimilés et redistribués, maximisant l'efficacité d'utilisation de l'azote (remobilisation de l'azote) pour soutenir la formation de nouvelles feuilles ou la croissance racinaire. Ainsi, la baisse des protéines reflète le déplacement de l'azote des feuilles vers les tissus reproducteurs ou d'hiver (réserves pérennes), typique d'une adaptation aux faibles ressources nutritives saisonnières.

Au tout début du printemps, *Marrubium vulgare* L. augmente significativement son taux en proline de 45,07%. La proline est un osmolyte compatible majeur synthétisé *de novo* à partir du glutamate en situation de stress. Son accumulation réduit le potentiel hydrique cellulaire et protège enzymes et membranes en conditions de sécheresse ou de forte irradiation. Dans le climat méditerranéen, les pluies hivernales plus ou moins intenses font place à un printemps de plus en plus sec et ensoleillé. La hausse printanière de la proline signale ainsi l'entrée dans cette nouvelle phase. Ce phénomène est typique des plantes méditerranéennes, pour qui les osmolytes compatibles augmentent sous stress pour maintenir l'homéostasie hydrique et/ou ionique en dépit de la baisse de la disponibilité de l'eau.

Au plan des pigments, *Marrubium vulgare* L. stabilise ses chlorophylles *a* et *b* entre décembre et mars, témoignant d'une préservation de son appareil photosynthétique. En revanche, on observe une augmentation des phéophytines notamment de la phéophytine *b* au mois de mars. Les phéophytines sont des formes de chlorophylles privées de leur ion Mg²⁺ central, intermédiaires dans la voie de dégradation chlorophyllienne. En effet, la chlorophylle est dégradée au cours de la sénescence par une suite d'étapes conduisant à des produits incolores stockés dans les vacuoles. La voie classique de cette dégradation est ainsi :



L'accumulation modérée des phéophytines suggère donc qu'une partie du matériel photosynthétique est recyclée au printemps, sans pour autant entraîner de perte massive de chlorophylle, d'où la stabilité globale du pigment vert.

Simultanément, les caroténoïdes augmentent au début du printemps tout comme la proline. Cette augmentation des caroténoïdes est de 51,87% au mois de mars par rapport au mois de décembre. Ces caroténoïdes sont localisés dans des chromoplastes organisés en cristalloïdes dont la forme est contrôlée par des protéines en faible quantité. Ils sont également présents dans les chloroplastes au niveau des complexes antennaires où ils jouent un rôle de pigments auxiliaires pour la photosynthèse. La forte absorption des caroténoïdes de la lumière bleue leur permet de transférer de l'énergie à la chlorophylle et de protéger celle-ci de la photo-oxydation. Certains caroténoïdes, les xanthophylles, à travers le cycle des xanthophylles mettent en jeu un mécanisme dynamique qui régule la capacité de la plante à se protéger contre les dommages photo-oxydatifs en convertissant réversiblement les xanthophylles en fonction des conditions lumineuses, assurant ainsi une photosynthèse efficace et protégeant de même les centres réactionnels contre la photo-oxydation.

L'augmentation printanière des caroténoïdes totaux traduit ainsi une stratégie adaptative renforcée de protection de l'appareil photosynthétique contre les hautes intensités lumineuses et la photo-oxydation propres aux mois de la reprise de la croissance.

Tous les ajustements observés optimisent donc la survie de *Marrubium vulgare* L. durant son cycle de vie annuel dans son milieu de vie, qui se caractérise par un climat typiquement méditerranéen. Le pic de réserves glucidiques et des protéines avant la saison d'hiver et leur consommation au tout début du printemps illustrent une activité métabolique continue adaptée à la saisonnalité méditerranéenne. La stabilité des chlorophylles et l'activation des caroténoïdes et des osmolytes compatibles renforcent la tolérance qui caractérisent le passage d'une phase de cycle de vie à une autre chez cette espèce.

Il reste à conforter ces observations par d'autres études qui complètent d'une part la saisonnalité de ce cycle de vie et l'analyse d'autres métabolites notamment ceux appartenant au métabolisme secondaire.

*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*

6. Références bibliographiques

- Aćimović M., Jeremić K., Salaj N., Gavarić N., Kiprovska B., Sikora V., Zeremski T. **2020**. *Marrubium vulgare* L. : A phytochemical and pharmacological overview. *Molecules* 24;25(12) : 2898.
DOI: [10.3390/molecules25122898](https://doi.org/10.3390/molecules25122898)
- Ain-Lhout F., Zunzunegui M., Diaz Barradas M.C., Tirado R., Clavijo A., Garcia Novo F. **2001**. Comparison of proline accumulation in two Mediterranean shrubs subjected to natural and experimental water deficit. *Plant and Soil* 230 : 175-183.
DOI: [10.1023/A:1010387610098](https://doi.org/10.1023/A:1010387610098)
- Ali M.E. **2018**. Adaptation of *Marrubium vulgare* L. species to the habitat alteration in disturbance regime. *Egyptian Journal of Botany* 58(2) : 287-296.
DOI: [10.21608/ejbo.2017.1467.1116](https://doi.org/10.21608/ejbo.2017.1467.1116)
- Alia ., Mohanty P., Matysik J. **2001**. Effect of proline on the production of singlet oxygen. *Amino Acids* 21 : 195-200.
DOI: [10.1007/s007260170026](https://doi.org/10.1007/s007260170026)
- Alvarez M.E., Savouré A., Szabados L. **2022**. Proline metabolism as regulatory hub. *Trends in Plant Science* 27(1) : 39-55.
DOI: [10.1007/s007260170026](https://doi.org/10.1007/s007260170026)
- Bandurska H., Plachta M., Woszczyk M. **2009**. Seasonal patterns of free proline and carbohydrate levels in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) and ivy (*Hedera helix*) leaves and resistance to freezing and water deficit. *Dendrobiology* 62 : 3-9.
<https://www.researchgate.net/publication/285864054>
- Barber J. **2004**. Towards a full understanding of water splitting in photosynthesis. *International Journal of Photoenergy* 6 : 39-55.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1155/S1110662X04000078>
- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. **1973**. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39 : 205-207.
DOI: [10.1007/BF00018060](https://doi.org/10.1007/BF00018060)
- Ben Rejeb K., Abdelly C., Savouré A. **2012**. La proline, un acide aminé multifonctionnel impliqué dans l'adaptation des plantes aux contraintes environnementales. *Biologie Aujourd'hui* 206(4) : 291-299.
DOI: [10.1051/jbio/2012030](https://doi.org/10.1051/jbio/2012030)
- Ben Rejeb K., Abdelly C., Savouré A. **2014**. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiol Biochem* 80 : 278-284.
DOI: [10.1016/j.jplphys.2014.04.007](https://doi.org/10.1016/j.jplphys.2014.04.007)
- Boumedienne M.A., Houyou Z., Boutmedjet A., Guibadj A.N., Benyahia M.S. **2023**. Osmoprotection by proline accumulation induced by rainfall variations in three steppe plants species *Aristida pungens*, *Retama raetam* and *Astragalus armatus* under Mediterranean arid bioclimate. *South Asian Journal of Experimental Biology* 13(1) : 69-79.
DOI: [10.38150/sajeb.13\(1\).p69-79](https://doi.org/10.38150/sajeb.13(1).p69-79)

Bouterfas K., Mehdadi Z., Latreche A., Cherifi K. **2013**. Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tesala (Algérie nord-occidentale). *Ecologia Mediterranea* 39(2) : 39-57.

www.persee.fr/doc/ecmed_0153-8756_2013_num_39_2_1279

Bradford M.M. **1976**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254.

[DOI: 10.1006/abio.1976.9999](https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999)

Buet A., Galatro A., Ramos-Artuso F., Simontacchi M. **2019**. Nitric oxide and plant mineral nutrition: current knowledge. *Journal of Experimental Botany* 70(17) : 4461-4476.

[DOI: 10.1093/jxb/erz129](https://doi.org/10.1093/jxb/erz129)

Carrión C.A., Martínez D.E., Costa M.L., Guiamet J.J. **2014**. Senescence-associated vacuoles, a specific lytic compartment for degradation of chloroplast proteins. *Plants (Basel)* 3(4) : 498-512.

[DOI: 10.3390/plants3040498](https://doi.org/10.3390/plants3040498)

Cerullo G., Polli D., Lanzani G., De Silvestri S., Hashimoto H., Cogdell R.J. **2002**. Photosynthetic light harvesting by carotenoids: detection of an intermediate excited state. *Science* 298(5602) : 2395-2398.

[DOI: 10.1126/science.1074685](https://doi.org/10.1126/science.1074685)

Chen C. **2015**. Overview of plant pigments. In Chen C. (eds) Pigments in Fruits and Vegetables. Springer, New York, NY.

[DOI: 10.1007/978-1-4939-2356-4_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2356-4_1)

Chikezie P.C., Ibegbulem C.O., Mbagwu F.N. **2015**. Bioactive principles from medicinal plants. *Research Journal of Phytochemistry* 9(3) : 88-115.

[DOI: 10.3923/rjphyto.2015.88.115](https://doi.org/10.3923/rjphyto.2015.88.115)

Chondrogiannis C., Kotsi K., Grammatikopoulos G., Petropoulou Y. **2023**. Seasonal differences in leaf photoprotective potential between adults and juvenile of two Mediterranean perennials with distinct growth forms: A comparative field study. *Plants* 12(17) : 3110.

[DOI: 10.3390/plants12173110](https://doi.org/10.3390/plants12173110)

Di Martino C., Pizzuto R., Pallotta M.L., De Santis A., Passarella S. **2006**. Mitochondrial transport in proline catabolism in plants: the existence of two separate translocators in mitochondria isolated from durum wheat seedlings. *Planta* 223(6) : 1123-1133.

[DOI: 10.1007/s00425-005-0166-z](https://doi.org/10.1007/s00425-005-0166-z)

Díaz-Mendoza M., Velasco-Arroyo B., Santamaría M. E., González-Melendi P., Martínez M., Díaz I. **2016**. Plant senescence and proteolysis: two processes with one destiny. *Gent. Mol. Biol.* 39(3) : 329-338.

[DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2016-0015](https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0015)

Endler A., Meyer S., Schelbert S., Schneider T., Weschke W., Peters S.W., Keller F., Baginsky S., Martinoia E., Schmidt U. G. **2006**. Identification of a vacuolar sucrose

transporter in Barley and Arabidopsis mesophyll cells by a tonoplast proteomic approach. *Plant Physiol* 141(1) : 196-207.
[DOI: 10.1104/pp.106.079533](https://doi.org/10.1104/pp.106.079533)

Fabro G., Kovács I., Pavet V., Szabados L., Alvarez M.E. **2004**. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in Arabidopsis. *Mol. Plant Microbe Interact* 17(4) : 343-350.
[DOI: 10.1094/MPMI.2004.17.4.343](https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.4.343)

Fadón E., Herrero M., Rodrigo J. **2018**. Dormant flower buds actively accumulate starch over winter in sweet cherry. *Front. Plant Sci* 9 - 2018.
[DOI: 10.3389/fpls.2018.00171](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00171)

Ghassemi-Golezani K., Abdoli S. **2022**. Physiological and biochemical responses of medicinal plants to salt stress. In Aftab T. (eds) Environmental Challenges and Medicinal Plants. Springer, Cham.
[DOI: 10.1007/978-3-030-92050-0_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-92050-0_6)

Ghedadba N., Bousselsela H., Hambaba L., Benbia S., Mouloud Y. **2014**. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuris de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie* 12 : 15-24.
[DOI: 10.1007/s10298-014-0832-z](https://doi.org/10.1007/s10298-014-0832-z)

Gori A., Brunetti C., dos Santos Nascimento L.B., Marino G., Guidi L., Ferrini F., Centritto M., Fini A., Tattini M. **2021**. Photoprotective role of photosynthetic and non-photosynthetic pigments in *Phillyrea latifolia*: Is their "antioxidant" function prominent in leaves exposed to severe summer drought. *Int. J. Mol. Sci.* 22(15) : 8303.
[DOI: 10.3390/ijms22158303](https://doi.org/10.3390/ijms22158303)

Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J. **2002**. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, cell & Environment* 21(6) : 535-553.
[DOI: 10.1046/j.1365-3040.1998.00309.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1998.00309.x)

Hassan A.H., Ahmed E.S., Sheteiwy M.S., Hamoud Y.A., Okla M.K., AlGarawi A.M., Mariduena-Zavala M.G., Alaraidh I.A., Reyad A.M., Abdelgawad H. **2024**. Inoculation with *Micromonospora* sp. enhances carbohydrate and amino acid production, strengthening antioxidant metabolism to mitigate heat stress in wheat cultivars. *Front. Plant Sci.* 15 - 2024.
[DOI: 10.3389/fpls.2024.1500894](https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1500894)

Hayat J., Akodad M., Moumen A., Baghour M., Skalli A., Ezrari S., Belmalha S. **2020**. Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon* 6(11) : e05609.
[DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e05609](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05609)

Holt N.E., Zigmantas D., Valkunas L., Li X.-P., Niyogi K.K., Fleming G.R. **2005**. Carotenoid cation formation and the regulation of photosynthetic light harvesting. *Science* 307(5708) : 433-436.
[DOI: 10.1126/science.1105833](https://doi.org/10.1126/science.1105833)

Hopkins W.G. **2003.** Physiologie végétale. Traduction de la 2^{ème} édition américaine par S. Rambour, révision scientifique de C.M. Evrard. *Editions De Boeck Université, Bruxelles, 514 pp.*
ISBN 2-7445-0089-5

Hou H.J. **2014.** Unidirectional photodamage of pheophytin in photosynthesis. *Frontiers in Plant Science 4* - 554.
DOI: 10.3389/fpls.2013.00554

Hussein A.A. **2018.** Chemistry of south African Lamiaceae: structures and biological activity of terpenoids. In : Terpenes and terpenoids edited by S. Perveen & Al-Taweel A.
DOI: 10.5772/intechopen.77399

Ignatov N.V., Litvin F.F. **1994.** Photoinduced formation of pheophytin/chlorophyll-containing complexes during the greening of plant leaves. *Photosynthetic Research 42(1)* : 27-35.
DOI: 10.1007/BF00019055

Julve P. **2021.** Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie

Joyard J., Morot-Gaudry J.-F. **2024.** Lumière sur la photosynthèse. *Encyclopédie de l'Environnement.*
<https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/lumiere-photosynthese/>

Kishor P.B., Hong Z., Miao G.H., Hu C.A., verma D.P. **1995.** Overexpression of [delta] - pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology 108(4)* : 1387-1394.
DOI: 10.1104/pp.108.4.1387

Lansac A.R., Sullivan C.Y., Johnson B.E. **1996.** Accumulation of free proline in sorghum (*Sorghum bicolor*) pollen. *Canadian Journal of Botany 74(1)* : 27-35.
DOI: 10.1139/b96-006

Levitt J. **1958.** Frost, drought, and heat resistance. *Protoplasmologia VIII(6)* : 1-78.
DOI: 10.1007/978-3-7091-5463-2

Lichtenthaler H.K. **1987.** Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology 148* : 350-382.
DOI: 10.51016/0076-6879(87)48036-1

Lippai A., Smith P.A., Price T.V., Weiss J., Lloyd C.J. **1996.** Effects of temperature and water potential on germination of horehound (*Marrubium vulgare*) seeds from two Australian localities. *Weed Science 44(1)* : 91-99.
DOI: 10.1017/S0043174500093607

Lodhi S., Vadnere G., Sharma V., Usman M.R. **2017.** *Marrubium vulgare* L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology 6(4)* : 429-452.
DOI: 10.5455/jice.20170713060840

Longatte G., Rappaport F., Wollman F.-A., Guille-Collignon M., Lemaître F. **2016**. Mechanism and analyses for extracting photosynthetic electrons using exogenous quinones – what makes a good extraction pathway? *Photochem. Photobiol. Sci.* 15(8) : 969-979.
[DOI: 10.1039/c6pp00076b](https://doi.org/10.1039/c6pp00076b)

Ma Z., Chang S.X., Bork E.W., Steinaker D.F., Wilson S.D., White S.R., Cahill Jr. J.F. **2020**. Climate change and defoliation interact to affect root length across northern temperate grasslands. *Functional Ecology* 00 : 1-11.
[DOI: 10.1111/1365-2435.13669](https://doi.org/10.1111/1365-2435.13669)

Maeda H.A. **2019**. Evolutionary diversification of primary metabolism and its contribution to plant chemical diversity. *Front. Plant Sci.* 10 - 2019.
[DOI: 10.3389/fpls.2019.00881](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00881)

Maillard A., Diquélou S., Billard V., Laîné P., Garnica M., Prudent M., Garcia-Mina J.-M., Yvin J.-C., Ourry A. **2015**. Leaf mineral nutrient remobilization during leaf senescence and modulation by nutrient deficiency. *Front. Plant Sci.* 6 - 2015.
[DOI: 10.3389/fpls.2015.00317](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00317)

McCready R.M., Guggolz J., Silviera V., Owens H.S. **1950**. Determination of starch and amylose in vegetables. *Anal. Chem.* 22(9) : 1156-1158.
[DOI: 10.1021/ac6004a016](https://doi.org/10.1021/ac6004a016)

Morot-Gaudry J.F., Lepiniec L., Prat R. **2021**. Biologie végétale. Croissance et développement 4^{ème} édition. *Editions Dunod, Paris*, 274 pp.
ISBN 978-2-10-082358-1

Moussard C. **2006**. Biochimie structurale et métabolique. 3^e édition 352 pp.
ISBN 978-2-8041-5236-9

Müller P., Li X.P., Niyogi K.K. **2001**. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiology* 125(4) : 1558-1566.
[DOI: 10.1104/pp.125.4.1558](https://doi.org/10.1104/pp.125.4.1558)

Nedjimi B., Souissi Z.E., Guit B., Daoud Y. **2020**. Differential effects of soluble salts on seed germination of *Marrubium vulgare* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 17 - 100250.
[DOI: 10.1016/j.jarmp.2020.100250](https://doi.org/10.1016/j.jarmp.2020.100250)

Papazian S. **2017**. Black mustard and the butterfly effect. Metabolomics of plant-insect interactions under multiple stress conditions. *Thesis Umeå Universitet*.
[DOI: 10.13140/RG.2.2.11256.44805](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11256.44805)

Paray F., Shafi S., Hussein I.M., Khan I.A., Ali Z. **2022**. *Marrubium vulgare* L.: traditional uses, phytochemistry, and pharmacological profile. In: Masoodi M.H., Rehman M.U. (eds) Edible Plants in Health and Diseases. *Springer, Singapore*.
[DOI: 10.1007/978-981-16-4959-2_11](https://doi.org/10.1007/978-981-16-4959-2_11)

Pellegrini E., Campanella A., Paolocci M., Trivellini A., Gennai C., Muganu M., Nali C., Lorenzini. **2015**. Functional leaf traits and diurnal dynamics of photosynthetic parameters predict the behavior of grapevine varieties towards ozone. *PLoS One* 10(8) : e0135056.

DOI: 10.1371/journal.pone.0135056

Robert B., Horton P., Pascal A.A., Ruban A.V. **2004**. Insights into the molecular dynamics of plant light-harvesting proteins in vivo. *Trends Plant Sci.* 9(8) : 385-390.

DOI: 10.1016/j.tplants.2004.06.006

Sage R.F. **2020**. Global change biology: A primer. *Global Change Biology* 26(1) : 3-30.

DOI: 10.1111/gcb.14893

Schelbert S., Aubry S., Burla B., Agne B., Kessler F., Krupinska K. **2009**. Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21(3) : 767-785.

DOI: 10.1105/tpc.108.064089

Smirnoff N., Cumbes Q. J. **1989**. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes.

Phytochemistry 28(4) : 1057-1060.

DOI: 10.1016/0031-9422(89)80182-7

Suc J.-P., Popescu S.-M., Fauquette S., Bessedik M., Jiménez-Moreno G., Bachiri-Taoufiq N., Zheng Z., Médail F., Klotz S. **2018**. Reconstruction of Mediterranean flora, vegetation and climate for the last 23 million years based on an extensive pollen dataset. *Ecologia Mediterranea* 44(2) : 53-85.

https://www.persee.fr/doc/ecmed_0153-8756_2018_num_44_2_2044

Tang Y., Li J., Song Q., Cheng Q., Tan Q. Zhou Q., Nong Z., Lv P. **2023**. Transcriptome and WGCNA reveal hub genes in sugarcane tiller seedlings in response to drought stress. *Scientific Reports* 13 : 12823.

DOI: 10.1038/s41598-023-40006-x

Tarkowski L.P., Van den Ende W. **2015**. Cold tolerance triggered by soluble sugars: a multifaceted countermeasure. *Front. Plant Sci.* 6 - 2015.

DOI: 10.3389/fpls.2015.00203

Troll W., Lindsley J. **1955**. A photometric method for the determination of proline. *J. Biol. Chem.* 215(2) : 655-660.

PMID: 13242563

Trovato M., Funck D., Forlani G., Okumoto S., Amir R. **2021**. Amino acids in plants: Regulation and functions in development. *Front. Plant Sci.* 12 - 2021.

DOI: 10.3389/fpls.2021.772810

Villanueva J.R., Esteban J.M., Villanueva L.R. **2016**. Solving the puzzle: what is behind our forefathers' anti-inflammatory remedies. *J. Intercult. Ethnopharmacol.* 6(1) : 128-143.

DOI: 10.5455/jice.20161204021732

Vriet C., Smith A.M., Wang T.L. **2014**. Root starch reserves are necessary for vigorous re-growth following cutting back in *Lotus japonicus*. *PLoS One* 9(1) : e87333.

DOI: 10.1371/journal.pone.0087333

Walton E.F., McLaren G.F., Boldinh H.L. **2007**. Seasonal patterns of starch and sugar accumulation in herbaceous peony (*Paeonia lactifolia* Pall.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82(3) : 365-370.

[DOI: 10.1080/14620316.2007.11512244](https://doi.org/10.1080/14620316.2007.11512244)

Weckbecker G., Cory J.G. **1988**. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters* 40(3):257-264.

[DOI: 10.1016/0304-3835\(88\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(88)90084-5)

Wong B.L., Baggett K.L., Rye A.H. **2003**. Seasonal patterns of reserve and soluble carbohydrates in mature sugar maple (*Acer saccharum*). *Canadian Journal of Botany* 81 : 780-788.

[DOI: 10.1139/b03-079](https://doi.org/10.1139/b03-079)

Yabrir B. **2019**. Essential oil of *Marrubium vulgare*: Chemical composition and biological activities. A review. *Natural Product Sciences* 25(2) : 81-91.

[DOI: 10.20307/nps.2019.25.2.81](https://doi.org/10.20307/nps.2019.25.2.81)

Résumé

Dans un contexte climatique de plus en plus restrictif, *Marrubium vulgare L.*, plante médicinale traditionnelle, fait l'objet d'un intérêt grandissant en raison de ses capacités d'adaptation et de la présence de différents composés bioactifs. Ce présent travail est basé sur une étude de quelques métabolites primaires de cette espèce en partant de l'analyse des taux de glucides (sucres solubles et amidon), de protéines, de proline, ainsi que des pigments photosynthétiques (chlorophylles, phéophytines et caroténoïdes totaux). Ce travail a porté sur les parties foliaires, récoltées en deux périodes climatiques contrastées (mi-décembre et mi-mars). Les résultats mettent en évidence une stabilité des chlorophylles, une accumulation de glucides et protéines plus importante en mi-décembre et une augmentation de la proline, des phéophytines et des caroténoïdes totaux en mi-mars ; le tout s'inscrit dans des stratégies métaboliques adaptatives. Ces résultats offrent de nouveaux moyens d'analyse pour mieux comprendre la résilience de la plante face aux contraintes climatiques méditerranéennes, mais elles contribuent aussi à la valorisation de son potentiel dans la conservation des ressources phytogénétiques.

Mots clés : *Marrubium vulgare L.*, glucides, protéines, proline, pigments photosynthétiques, climat méditerranéen.

Abstract

In an increasingly restrictive climatic context, *Marrubium vulgare L.*, a traditional medicinal plant, is attracting growing interest due to its adaptability and the presence of various bioactive compounds. This work is based on a study of some metabolites of this species, starting from the analysis of carbohydrate levels (soluble sugars and starch), proteins, proline, as well as photosynthetic pigments (chlorophylls, pheophytins, and total carotenoids). This work focused on the leaf parts, collected during two contrasting climatic periods (mid-December and mid-March). The results highlight a stability of chlorophylls, a greater accumulation of carbohydrates and proteins in mid-December, and an increase in proline, pheophytins, and total carotenoids in mid-March; all of which are part of adaptive metabolic strategies. These results offer new analytical tools to better understand the plant's resilience to Mediterranean climatic constraints, but they also contribute to enhancing its potential in the conservation of phytogenetic resources.

Keywords: *Marrubium vulgare L.*, carbohydrates, proteins, proline, photosynthetic pigments, Mediterranean climate.

الملخص

، وهو نبات طبي تقليدي في (*Marrubium vulgare L.*) في ظل مناخ متشدد بشكل متزايد، يحظى نبات المَرْبِبُوم فولغاري الجائز، باهتمام متزايد نظراً لقدراته التكيفية واحتواه على مركبات حيوية نشطة مختلفة. يستند هذا العمل إلى دراسة عملية الأيض الأولية لأوراق هذا النوع، استناداً إلى تحليل مستويات الكربوهيدرات (السكريات القابلة للذوبان، النشا)، والبروتينات، والبرولين، بالإضافة إلى الصبغات الضوئية (الكلوروفيل، والفيوفيتين، والكاروتينات) التي تُحصد في فترتين مناخيتين متباينتين (ديسمبر ومارس). ثُبّر النتائج تراكماً أكبر للكريوهيدرات والبروتينات في الشتاء (ديسمبر) وزيادة في البرولين والفيوفيتين في الربيع (مارس)، وهو جزء من استراتيجيات الكيمياء الحيوية التكيفية. تُقدم هذه النتائج وسائل تحليل جديدة لفهم قدرة النبات على التكيف مع الظروف المناخية المتوسطية بشكل أفضل، كما تُسهم في تطوير إمكاناته في الحفاظ على الموارد الوراثية النباتية.

الكلمات المفتاحية

المَرْبِبُوم فولغاري، الكربوهيدرات، البرولين، الصبغات الضوئية، المناخ المتوسطي، الأيض الأولي، التكيف، الموارد الوراثية النباتية،