



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Biologie et Physiologie Végétale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية عاوم الطبيعة و الحياة  
قسم : بيولوجيا و علم البيئة النباتية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétale

**Intitulé :**

---

**Identification cytogénétique des chromosomes de l'espèce  
*Pisum sativum* L. (Variété séfrou)**

---

Présenté et soutenu par : BOUSSRIEF Ahlem

ZEKRI Maroua

Le : 08/07/2021

**Jury d'évaluation**

**Présidente du jury :** Mme *MOUAGAL* Rym Tinhinan (MCA- I.N.A.T.A Constantine).

**Examinatrice:** *KECHID* Maya (MCB- I.N.A.T.A Constantine).

**Encadreur :** Mme *HAMMOUDA-BOUSBIA* Dounia (MCA-UFM Constantine).

**Co- Encadrant :** Mr *BENMHIDI* Oussama

*Année universitaire  
2020 – 2021*



# *Remerciements*



## Remerciements

Louange à Dieu jusqu'à ce qu'il atteigne sa limite Louange, nos Remerciements tout d'abord au «*Dieu* », qui nous a amené à ce niveau et qui nous a donné la force pour terminer ce modeste travail.

Au terme de la réalisation de ce travail, nous avons l'honneur et le plaisir D'exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à Mme **HAMMOUDA BOUSBIA Dounia** non seulement d'avoir accepté l'encadrement de ce travail, mais aussi pour son aide, son orientation judicieuse, sa gentillesse, et sa grande disponibilité à toute épreuve. Nous sommes très reconnaissantes pour sa grande contribution.

Nous remercions également monsieur **BENMEHIDI Oussama** pour m'avoir conseillé et aidé a réalisé ce travail.

Nous remercions Mme **MAOUGAL Rym** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de cette soutenance.

Nous remercions, également, Mme **KECHID Maya** pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous exprimons aussi notre gratitude à tous les enseignants rencontrés lors de notre cycle universitaire.

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.



# *Dédicaces*



## Dédicaces

Cette thèse représente l'aboutissement du soutien et des encouragements que tout mes proches m'ont prodiguée je la dédie spécialement.

A ma très chère mère, qui me donne toujours l'espéré de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

A mon très cher père ,pour ses encouragements, son soutien et surtout pour son amour.

A mes sœurs :Abir et Nour el Imen.

A mes frères et leurs femmes .

A mes cousins et cousines

A ma binôme zekri Maroua.

A mes amies Samah,Inès ,Nadjet

A mon encadreur Mme Hammouda BOUSBIA Dounia pour son aide et sa précieuse attention.

A tous les promotions de biotechnologie génomique végétale sans exception.

A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

**AHLEM**

## Dédicaces

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont toujours aimée, supportée, conseillée, poussée à m'améliorer, dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines, on fait de moi ce que je suis aujourd'hui et m'ont permis de vivre ce jour :

Mon extraordinaire mère, Mon exceptionnelle père.

A Mon cher frère Billel, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi.

Mes tous cousins et cousines : Loubna , Halima , Lina , Seif , Mohamed

Ma sage tante, et toute la famille.

A tous mes amis : l'incroyable, le rare et celle qui mérite le titre d'ami avec excellence Dalila.

Ma chère et même très chère Imene, ma binôme Ahlem.

A mon encadreur Mme Hammouda BOUSBIA Dounia pour son aide et sa précieuse attention

MERCI POUR VOUS TOUS.

# Maroua

## **Résumé :**

L'étude cytogénétique que nous avons réalisé sur les chromosomes de l'espèce *Pisum sativum* (variété séfrou , locale), est ceci dans le but d'élargir nos connaissance en caryo morphologie sur cette espèce par l'utilisation du technique de coloration classique.

Nous avons pu identifier et caractérisé le caryotype de la variété. Trois constriction secondaires et un satellite sont mises en évidence sur les chromosomes marqueurs. Rappelons que les satellites sont munis de régions organisatrices nucléolaires (N.O.R) codant pour les gènes ribosomiques. De ce fait sa formule caryotypique est décrite comme suite  $2n=2x=4sm+3$   $m=14$  et ce caryotype est symétrique.

**Mot clé :** caryotype, chromosome marqueur, constriction secondaire, *Pisum sativum* L., satellite.

### **Abstract:**

The cytogenetic study that we carried out on the chromosomes of the species *Pisum sativum* (Sfrou variety, local), is in order to expand our knowledge in karyomorphology on this species by using the classic staining technique.

We were able to identify and characterized the karyotype of the variety. Three secondary constrictions and a satellite are highlighted on the marker chromosomes. Remember that the satellites are provided with nucleolar organizing regions (N.O.R) coding for ribosomal genes. Therefore its karyotypic formula is described as a sequence  $2n = 2x = 4sm + 3 m = 14$  and this karyotype is symmetrical.

Keyword: karyotype, marker chromosome, secondary constriction, *Pisum sativum* L., satellite.



## ملخص

الدراسة الوراثية الخلوية التي أجريناها على كروموسومات نبتة البزلاء (من نوع séfrou ) من أجل توسيع معارفنا حول النمط الوراثي و الشكلي (caryo morphologique) لهذه النوعية باستخدام تقنية التلوين الكلاسيكي.

لقد تمكنا من تحديد و وصف النمط الوراثي لهذا الصنف فوجدنا 3 ازواج من البنية الثانوية ( constriction secondaire ) و قمر (satellite) على كروموسومات مع الذكر ان الاقمار محمولة على مناطق تنظيم نووية NOR و التي ترمز لجينات ريبوزومية بذلك صيغة النمط النووي تعرض على الشكل التالي  $m^3 + sm^4 = x^2 = n^2$  و هو متناظر

الكلمات المفتاحية: النمط النووي ، كروموسوم موسوم البناء الثانوي ، الأقمار .

## Liste des figures

- **Figure 01** : Quelques graines de légumineuses.
- **Figure 02** : Schéma général d'une plante de pois.
- **Figure 03** : Système racinaire (Bissuel, 2012).
- **Figure 04** : La fleur de pois.
- **Figure 05**: petit pois sauvage.
- **Figure 6** : petit pois fourrager
- **Figure 7** : pois des jardins.
- **Figure 8** : Dendrogramme représentant les relations phylogénétiques des légumineuses Papilionoideae
- **Figure 9** : Pois à soupe Saint Hubert (lisses)
- **Figure10** : Pois à écosser Kelvedon (ridés) (B) (Boidron
- **Figure11** : Chromosome métaphasique (Callen, 2005).
- **Figure12** : Représentation schématique de quelques type de chromosomes (Griffiths et al. 2002).
- **Figure13** : les graines de variété Séfrou
- **Figure14** : la germination des graines de Séfrou.
- **Figure15** : microscope de type LEICA DM 4000.
- **Figure 16** : caryogramme de l'espèce *Pisum sativum* L.
- **Figure17** : représentation de caryogramme et des idéogramme.

## Liste des tableaux

- **Tableau 1 :** Production du petit pois dans le monde (FAO, 2016).
- **Tableau 2:** valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de pois.
- **Tableau 3 :** nomenclature chromosomique proposée par Levan et al 1964.
- **Tableau 4:** la variété introduite dans une étude cytogénétique.
- **Tableau 5 :** Données morpho métriques de la variété Séfrou

## Liste des abréviations

**m** : métacentrique.

**Sm** : Submétacentrique

**T** : Acrocentrique.

**CS**: construction secondaire

**St** : Satellite.

**ITGC** : Institut Technique des Grandes Cultures.

**H** : Heure.

**FOA** : Food and Agriculture Organisation.

**Mn** : Minute.

**µm** :Micro mètre.

**NOR** : organisateur nucléolaire.

**Tab** :Tableau.

**I T C M I** : institut technique des cultures maraichères.

# Sommaire

**SOMMAIRE :**

**Résumé**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction-----1**

## **Chapitre I : Données bibliographiques.**

**1- Généralité sur des légumineuses-----5**

**1-1- Fixation de l'azote atmosphérique-----5**

**1-2- légumineuse et alimentation humain-----6**

**1-3- Légumineuses et alimentation animale-----8**

**2- Description d'espèces d'étude :**

**2-1 Description de la plante-----9**

**2- 2 Origine et historique-----10**

**3- classification : -----11**

**3-1 Classification botanique-----11**

**3-2 Classification génétique-----13**

**3-3- Ressources phylogénétiques-----14**

**4- Type de petit pois-----15**

**5 - Importance économique et intérêts agronomiques de l'espèce d'étude:**

**5-1 Importance mondiale -----16**

**5-2 Importance national-----16**

**5-3- Intérêt agronomique -----17**

**5-4- Intérêt nutritionnel-----18**

**6- Caractéristiques cytogénétiques :**

6-1- génome-----	19
6-2- Caryotype-----	19
6-3 Chromosome métaphasique-----	20
6-4 Zones vitales des chromosomes -----	2
6-4 -1 Construction primaire -----	22
6-4-2 Construction secondaire -----	22
6-4-3 Satellites-----	22
6-4-4 Régions organisateurs nucléolaires (N.O.R) -----	23

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

-1 Matériel -----	25
2- Méthode Utilisée-----	25

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

3-1 Résultats-----	31
3-1-1- Description du caryotype --variété Sefrou -----	31
3-2 Discussion-----	33
CONCLUSION-----	35

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.**

# Introduction



## Introduction

---

### Introduction

Les Légumineuses constituent la seconde famille de plante cultivées après les céréales en termes de surfaces et de quantité produite. Elles sont les premières plantes consommées et cultivées depuis plusieurs milliers d'années par différents peuples : haricots en Afrique du nord, soja en Orient, haricots au Mexique, etc.... (**Michael C. Latham, 2001**). Ces légumineuses tiennent une part très importante des travaux accomplis dans divers domaines tel que : l'agronomie, la cytogénétique, l'entomologie, la phytopathologie, et la physiologie (**Baudoin, 2001**). Leur capacité à fixer l'azote atmosphérique génère un double intérêt, économique par une moindre utilisation d'engrais azotés de synthèse, et écologique par une limitation des fuites azotées.

Les Légumineuses à graines représentent 33% des cultures primaires utilisées en source de protéine et 35% des huiles végétales (**Graham et Vance, 2003**). Les graines des légumineuses contiennent au moins 20 à 40% de protéines et sont riches en minéraux essentiels pour l'alimentation humaine et animale.

Le petit pois est l'une des légumineuses qui a toujours occupé une place importante dans l'ensemble des légumes secs (**Chaudé et Foury, 1994**). En Algérie, le pois a existé depuis fort longtemps. D'anciens écrits mettent en évidence sa présence dans notre pays. Il a été décrit par **Desfontaines en 1798**. **Battandier et Trabut** (1888) ont mentionné la présence de différentes sous espèces de pois cultivé en Algérie. Aussi, **Quezel et Santa (1962)**, dans leur ouvrage « la nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales », ont spécifié l'existence de variétés cultivées.

Le pois *Pisum sativum* est une plante légumineuse, annuelle cultivée à travers le monde et utilise en alimentation humaine et animale. La production mondiale en pois a atteint son optimum en 1990 avec une production qui avoisine 16,5 millions de tonnes (**FAOSTAT, 2004**). A partir des années 2000, la production mondiale s'est stabilisée autour de 10 millions de tonnes.

En Algérie les conditions pédoclimatiques et du sol sont très favorables à sa culture, laquelle s'étend sur une superficie de 28 724 ha, avec une production annuelle de 1029 707 qx, soit un rendement de 35.8 qx/ha (DSASI, 2016). Les wilayas productrices sont Mascara, Boumerdes, Biskra et Tlemcen.

## Introduction

---

Le présent travail s'inscrit dans un cadre de projet de recherche portant sur une étude cytogénétique des légumineuses alimentaires (espèce *Pisum sativum*), mené au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales. nous nous portons une attention particulière à l'étude des chromosomes et leur morphologie observés chez la variété Séfrou (locale) appartenant à *Pisum sativum* ( $2n=2x=14$ ), dévoilés par la technique de coloration classique afin d'établir Le caryotype par identification morpho caryologique des chromosomes.

Le travail comporte 3 chapitres :

- Le premier chapitre porte sur une analyse bibliographique de l'espèce d'étude *Pisum sativum* que des caractéristiques générales sur la cytogénétique.
- Le 2ème chapitre est consacré à la méthodologie de travail adopté au laboratoire.
- Le dernier chapitre est consacré aux résultats et discussions.

On clôture ce travail par une conclusion dont laquelle on récapitule les connaissances acquises lors de ce travail suivis par des perspec

# **Chapitre I :**

## **Données bibliographique**

## 1- Les Légumineuses :

Les légumineuses ou Fabaceae sont classées parmi les Angiospermes, Eudicotylédones. Elles sont les sœurs des Polygalacées, composant avec les familles des Quillaja et Suriana, les Fabales (Judd et al., 2001). Il s'agit de la troisième plus grande famille des Angiospermes en nombre d'espèces (après les Orchidacées et les Asteracées), avec 727 genres et près de 20 000 espèces (Cronk et al., 2006).

Les légumineuses sont caractérisées par :

- Des fleurs papilionacées (en forme de papillon) pour la plupart des espèces cultivées.
- Une gousse contenant des graines (la gousse étant le fruit issu de l'ovaire de la fleur).
- Et pour la majorité des membres de cette famille, la capacité d'utiliser l'azote atmosphérique (N<sub>2</sub>) pour produire ses propres composants protéiques. Par cette troisième caractéristique, et contrairement aux autres espèces cultivées, la culture de légumineuses n'a en général pas besoin d'apport de fertilisants azotés pour exprimer une croissance optimale, et elle représente une porte d'entrée d'azote symbiotique dans les systèmes de production agricole (Schneider et Huygh, 2015).



**Figure 01** : Quelques graines de légumineuses.

### 1.1 Fixation de l'azote atmosphérique

Les légumineuses présentent l'énorme avantage par rapport aux autres plantes de pouvoir s'associer à des bactéries du sol du genre rhizobium. Cette association aboutit à la formation d'un petit organe particulier au niveau des racines, le nodule, au sein duquel les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et

transfèrent celui-ci à la plante sous une forme combinée assimilable. En contrepartie, la plante fournit les éléments nutritifs assurant le développement de la bactérie (Giraud, 2007).

Les nodosités ne deviennent efficaces que lorsque l'azote du sol devient limitant (moins de 50 kg/ha). Dans le cas inverse, les légumineuses absorbent préférentiellement l'azote du sol car ce processus est moins coûteux en énergie pour la plante que la fixation de l'azote de l'air. L'apport d'azote (minéral ou par les engrais organique) provoque une diminution du nombre de nodules et donc une baisse de l'activité symbiotique de fixation d'azote atmosphérique (Arvalis, 2010). Le nombre de nodosités produit est proportionnel aux besoins en azote de la plante pour sa croissance. Pour valoriser au mieux leur rôle, les légumineuses sont donc à implanter lorsque l'azote est peu disponible. L'azote de l'air fixé par les légumineuses est restitué à la culture suivante via la décomposition des résidus de culture (parties aériennes et souterraines). Les résidus les plus facilement dégradables (feuilles, tiges peu ligneuses au rapport C/N faible), vont se décomposer et libérer de l'azote en quelques semaines, alors que les parties ligneuses (tiges, racines) vont minéraliser plus lentement (Agri-bio, 2016). Une étude réalisée par N'Dayegamiye et al. (2012) a évalué la contribution réelle des légumineuses en considérant les rendements du blé et du maïs dans les sous parcelles non fertilisées en azote. Les parcelles avec légumineuses ont permis des augmentations de rendement de 0.6 à 1 t/ha pour le blé et de 1.3 à 3.2 t/ha pour le maïs, en comparaison avec celles sans légumineuses. Ces résultats démontrent que les légumineuses ont contribué fortement à la nutrition azotée de la culture suivante.

Si la présence très importante d'azote dans le milieu réduit le fonctionnement de la symbiose, il en est de même pour d'autres facteurs parmi lesquels on peut citer la salinité du milieu, l'acidité, la pauvreté en phosphore, la sécheresse, les basses températures, la limitation en nutriments ou le manque d'oxygène (Waligora et Tetu, 2008).

## 1.2 Légumineuses et alimentation humaine

Les légumineuses sont mentionnées dans la plupart des recommandations nutritionnelles pour leurs apports en fibres, protéines (complémentaires de ceux des

céréales), glucides à faible indice glycémique et micronutriments (minéraux et vitamines) (**Champ et al., 2015**).

Les légumineuses contiennent une teneur importante en protéines. Elles en constituent pour la plupart des populations des pays en développement la principale source.

Les légumineuses sont un excellent complément alimentaire pour les nourrissons et les jeunes enfants, et les aident à atteindre leurs besoins énergétiques quotidiens. Leur teneur élevée en nutriments en fait également un aliment idéal pour les végétariens et les végétaliens, garantissant un apport suffisant en protéines, en minéraux et en vitamines.

Citons quelques avantages des légumineuses (**FAO, 2016**) :

- Dotées d'un faible indice glycémique, à faible teneur en graisse et à haute teneur en fibres, les légumineuses sont adaptées aux personnes atteintes de diabète. Leur teneur élevée en fibres augmente la satiété et aide à stabiliser la glycémie et le taux d'insuline, ce qui réduit les pointes après les repas et améliore la résistance à l'insuline. Cela fait des légumineuses un aliment idéal pour la gestion du poids.
- Les légumineuses peuvent contribuer à réduire les risques de maladies coronariennes. Elles sont riches en fibres solubles, connues pour leurs effets positifs sur le taux du LDL-cholestérol, un facteur de risque reconnu de la maladie coronarienne.
- Les légumineuses sont de bonnes sources de vitamines, telle que la folacine, qui aide à réduire le risque d'anomalies du tube neural (ATN), comme le spina-bifida chez les nouveau-nés.
- Leur haute teneur en fer fait des légumineuses un aliment excellent pour prévenir l'anémie ferriprive chez les femmes et les enfants, notamment si elles sont accompagnées d'aliments riches en vitamine C qui améliore l'absorption du fer.
- Elles sont sans gluten, ce qui en fait un aliment bénéfique pour les personnes allergiques au gluten ou souffrant de la maladie coeliaque.

- Les légumineuses sont riches en composés bioactifs tels que les composés phytochimiques et les antioxydants qui pourraient contenir des propriétés anti-cancer.

### 1.3 Légumineuses et alimentation animale

Les légumineuses fourragères sont caractérisées par leur richesse en protéines au niveau de leurs feuilles (fourrage consommé en vert ou séché) et dans leurs graines (consommées comme complément alimentaire) (**Pointereau, 2001**). Aussi, elles présentent une digestibilité élevée et une bonne teneur en calcium (supérieure à celles des graminées). Par rapport aux graminées, la valeur alimentaire des légumineuses comme le trèfle diminue moins rapidement avec l'âge des plantes, ce qui permet une souplesse d'exploitation et l'obtention d'un fourrage de qualité plus stable (**Decruyenaere et al., 2016**).

Les protéines qui sont constituées par environ 3/4 de globulines et 1/4 d'albumines sont considérées comme de valeur alimentaire intéressante. Riches en lysine, mais hélas carencées en méthionine, cystéine et tryptophane. La complémentation par les céréales et l'apport de méthionine de synthèse sont souvent les sources de rééquilibrage du régime alimentaire, pour corriger ces carences (**Duc, 1996**)

Hormis la luzerne et le sainfoin qui peuvent se cultiver en pure, les autres légumineuses sont très souvent associées à une ou des graminées ainsi qu'à d'autres légumineuses. La grande majorité des légumineuses sont bien adaptées à une exploitation en fauche (**Knoden, 2016**).

A titre d'exemple, les fourrages à base de graminées-légumineuses (mélange graminées-légumineuses ou prairies naturelles qui contiennent généralement 20% de légumineuses), exploités au stade optimum, permettent, dans l'élevage laitier, d'assurer (tant au niveau des protéines que des calories) ce qu'il faut à une vache pour produire 20 litres de lait par jour.

On notera, au passage, que les fourrages pâturés sont beaucoup plus riches que les fourrages stockés sous forme de foin ou d'ensilage, traduisant une perte à la récolte. La durée de pâturage est donc un bon critère de gestion des ressources fourragères (**Pointereau, 2001**)

## 2- présentation de l'espèce d'étude :

### 2.1 Description de la plante:

Le petit pois (*Pisum sativum*) est une plante grimpante herbacée annuelle, autogame (Free, 1993; Pouvreau, 2004). Son génome comprend sept paires de chromosomes ( $2n=14$ ).

La morphologie générale du pois est décrite dans la figure 2. La croissance de la tige est plus ou moins indéterminée (Coussin, 1996).

Sur le plan botanique, il est décrit comme une plante annuelle, autogame, herbacée. La plante est dotée d'un système racinaire à pivot, relativement peu développé et à racines secondaires, tertiaires et même quaternaires pouvant atteindre une profondeur d'un mètre dans des conditions de sol favorables, mais cependant très ramifié, surtout dans la couche superficielle du sol. On peut noter la présence de nodosités qui vont permettre à la plante de fixer l'azote atmosphérique. Ses feuilles sont alternes et se composent d'une à quatre paires de folioles sessiles, opposées et terminées par une vrille simple ou ramifiée. Les fleurs sont blanches, longues de 3 à 4 cm (Aubineau et al. 2002). Ces dernières donnent des gousses allongées et renflées, remplies de graines rondes (Couplan, 2011) (Figure 4).

La formule du diagramme floral du petit pois est la suivante :  $5 S + 5 P + (9+1) E + 1 C$ .

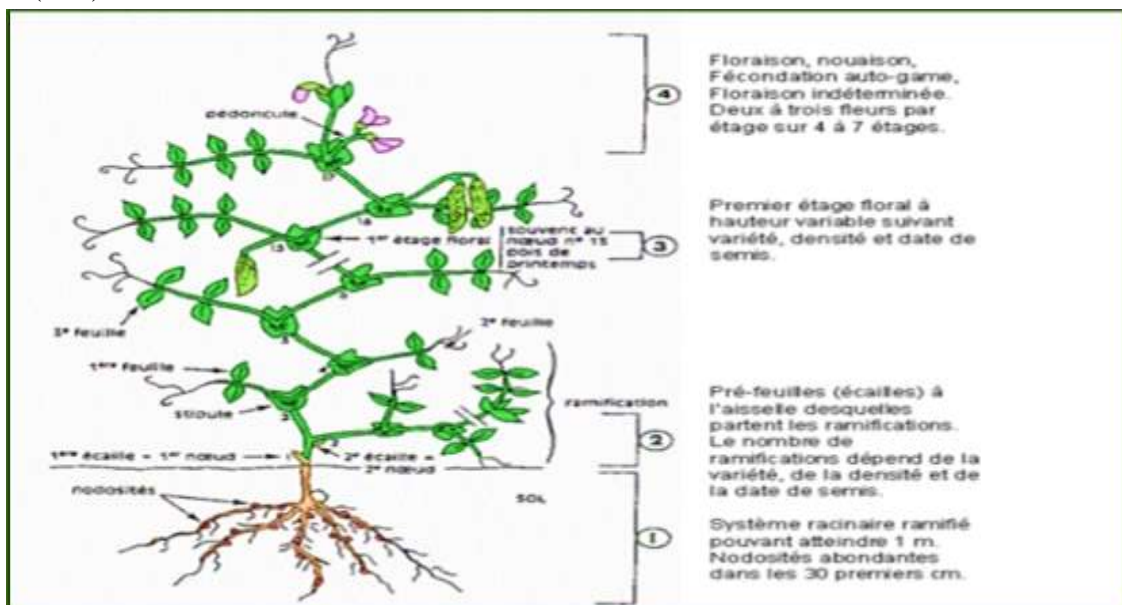


Figure 02 : Schéma général d'une plante de pois (Boyeldieu, 1991).



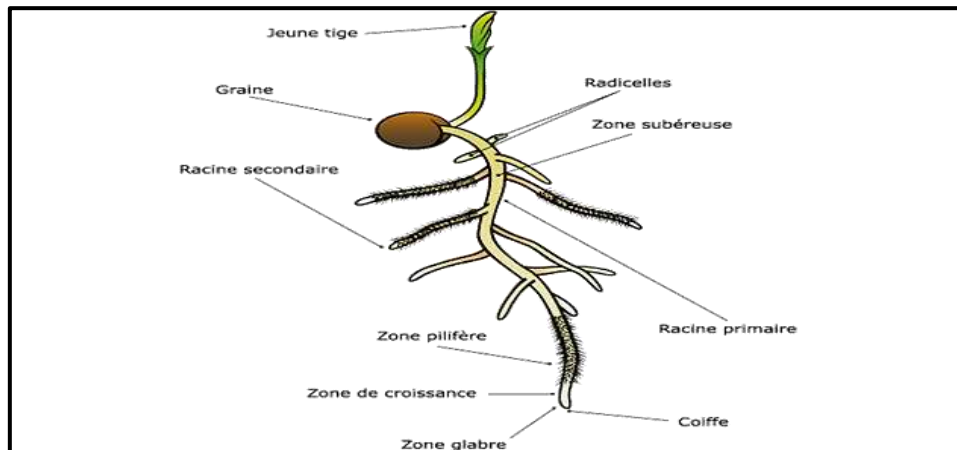


Figure. 03 : Système racinaire (Bissuel, 2012).

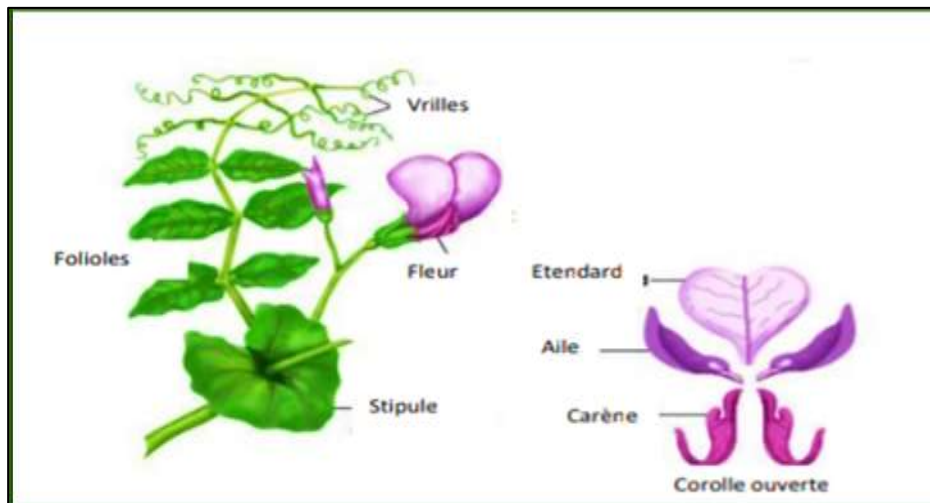


Figure 04 :La fleur de pois (Koirala, 2018).

## 2-2 Origine et historique :

L'origine et les ancêtres de *Pisum sativum* sont mal connus. La région méditerranéenne, l'Asie centrale et occidentale et l'Éthiopie ont été envisagées comme centres d'origine. La FAO a désigné l'Éthiopie et l'Asie occidentale comme centres de diversité, avec des centres secondaires dans le sud de l'Asie et la région méditerranéenne (Cousin et Bannerot , 1992 ; Brink et Belay , 2006).

Le petit pois est une plante très anciennement cultivée dans l'Ancien monde, puisque sa culture a vraisemblablement commencé il y a environ 8 000 ans dans la région du Croissant fertile, dans le même processus que certaines céréales (blé, orge) et d'autres légumineuses (vesce, lentille). Ils ont été découverts dans

des sites archéologiques du Néolithique de la Grèce à l'Irak entre 7 500 et 5 000 ans avant Jésus-Christ, des restes provenant soit de plantes de cueillette, soit de plantes domestiquées. Par la suite, sa culture s'est diffusée vers l'ouest (Europe) et vers l'est (Inde). On en trouve trace notamment dans le site archéologique de Troie, en Europe centrale (vers -4 000 ans), en Europe occidentale et en Inde (vers - 2 000 ans) (Cousin et Bannerot, 1992). Des restes de pois ont été retrouvés notamment dans des habitats lacustres du début de l'âge du bronze en Suisse et en France (lac du Bourget) (Pitrat et Foury, 2003).

### 3-Classification :

#### 3-1-Classification botanique :

Le pois, petit pois ou encore pois rond est une plante annuelle de la famille des légumineuses (fabacées), largement cultivée pour ses graines. La classification botanique de cette plante est résumée de la façon suivante : Classification APG III (2009)

<b>Règne:</b>	Plantae
<b>Clade:</b>	Angiospermes
<b>Clade:</b>	Dicotylédones vraies
<b>Clade:</b>	Noyaues Dicotylédones vraies
<b>Clade:</b>	Rosidées
<b>Clade:</b>	Fabidées
<b>Ordre:</b>	Fabales
<b>Famille:</b>	Fabaceae
<b>Espèces:</b>	<i>Pisum sativum</i> . L
<b>Genre:</b>	<b>Pisum</b>

L'espèce *Pisum sativum* L. rassemble plusieurs sous-espèces, classées comme suite :

- ***Pisum sativum elatius* (pois sauvage) :** C'est la forme la plus ancienne de pois, caractérisé par une longue tige (> 1.5m) (Zlatkovic et Mikic, 2010). Elle a été considérée pendant longtemps comme une espèce à part entière, mais a été finalement acceptée comme une sous-

espèce de *Pisum sativum*. La forme sauvage du pois a été prospectée en Algérie par Vavilov(1949) (Maxted et Ambrose, 2001).



**Figure 05:** petit pois sauvage

- ***Pisum sativum arvense* Poir (pois des champs, ou pois fourrager) :** Chez ce type de pois, les tiges présentent de nombreuses ramifications. Les fleurs sont en général colorées en violet rose, et les gousses sont petites. Le pois fourrager produit une quantité élevée en matière verte à l'hectare, il est cultivé seul ou en association avec une céréale pour une production importante de fourrage vert destiné à l'alimentation animale après ensilage (Cousin, 1996).



**Figure 06:** pois fourrager

- *Pisum sativum hortense* Asch et Graebn (pois des jardins, pois potager ou petit pois) : Le pois potager présente des feuilles plus larges que le pois fourrager, ses gousses sont relativement longues et les grains assez gros. Le pois mangetout est voisin du pois potager mais présente des gousses sans parchemin (caractère déterminé par deux gènes récessifs) et qu'on peut consommer en intégralité. Les gousses sont cueillies lorsqu'elles ont atteint une dimension maximale et que le grain commence à grossir (Cousin, 1996).



Figure 07 : pois des jardins.

### 3-2 Classification génétique :

L'espèce *Pisum sativum* appartient au genre *Pisum*, classé dans la tribu des Fabeae (ou Viciae), qui regroupe diverses espèces de plantes herbacées annuelles, réparties en cinq genres : *Lathyrus* L. (gesse/pois doux, environ 160 espèces), *Lens* (lentilles, 4 espèces), *Pisum* L. (pois, 3 espèces), et *Vicia* L. (vesces ; environ 140 espèces) et le genre monotypique *Vavilovia* (Smýkal et al., 2011).

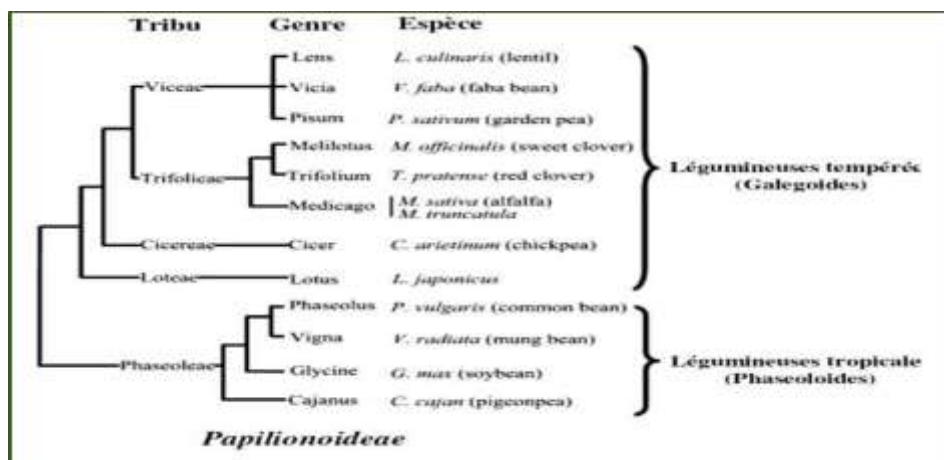


Figure 08 : Dendrogramme représentant les relations phylogénétiques des légumineuses Papilionoideae (Zhu et al., 2005).

### 3-3 Ressources phylogénétique :

base pour la sélection des variétés locales « land races » Les agriculteurs ont pratiqué la sélection de variétés adaptées à une grande diversité d'environnements depuis l'aube de l'agriculture, voici plus de 10 000 ans (**Plucknett et al., 1990**). Cette sélection s'est faite à partir d'une variabilité génétique déjà existante, constituant un "réservoir de gènes" au sein duquel l'espèce peut s'approvisionner pour s'adapter à des conditions écologiques nouvelles. Cette diversité est générée par des mécanismes évolutifs extrêmement efficaces (**Kremer, 2000**). La sélection humaine a abouti à l'obtention de variétés souvent qualifiées de locales, traditionnelles ou « de pays » (land races) (**Marchenay et Lagarde, 1987**). Fruit des efforts de tous les paysans qui les conservaient, les variétés locales ont un intérêt particulier du fait qu'elles sont adaptées aux conditions du milieu. En effet, elles représentent une précieuse source de résistance aux ravageurs, aux maladies et aux contraintes abiotiques (**Jilal, 2011 in Rahal-Bouziane, 2016**), et elles s'adaptent bien aux conditions pauvres en intrants comme les engrais et les pesticides (**FAO, 2007**). En outre, Les études ont clairement démontré l'importance de ces variétés dans la lutte contre la sécheresse et l'assurance de la sécurité alimentaire des populations (**FAO, 2004**). Il est également nécessaire de rappeler que la diversité génétique des cultures apporte de la stabilité aux systèmes de productions agricoles à une échelle locale, nationale et globale. Ainsi, Les pertes dues à un problème d'une espèce ou d'une variété particulière sont compensées par les rendements des autres ce qui permet d'atténuer La variabilité des rendements. Les risques liés à une trop grande uniformisation des espèces et des variétés cultivées (vulnérabilité génétique) peuvent avoir des conséquences très graves (**FAO, 2007**).

La sélection traditionnelle effectuée par des paysans a été progressivement remplacée par une sélection scientifique. A cet effet, des variétés récentes de pois ont été mises au point avec un bon niveau de résistance au froid et présentant une originalité quant à certaines caractéristiques (la couleur par exemple) selon leur débouché et la préférence du consommateur (**Tognite, 2013**). ). D'autres critères de sélection ont intéressé les chercheurs à savoir : la précocité, le rendement et les exigences des conserveurs. En ce qui concerne le pois protéagineux, les principaux objectifs de sélection sont : le rendement élevé en grain sec, la teneur élevée en



protéines, la qualité et l'absence de facteurs antinutritionnels (**Cadot et Leclerc, 2010**).

La sélection scientifique est exercée par des spécialistes regroupées dans un petit nombre d'entreprises ouvertes sur le marché mondial et donc soumises aux contraintes de l'économie internationale agricole. Cette économie est basée sur un petit nombre de variétés homogènes qui se substituent aux précédentes ; les agriculteurs dont chacun possédait des semences différentes ne font plus leurs sélections, la diversité sur le terrain diminue, on assiste alors à une érosion génétique (**Marchenay et Lagarde, 1987**).

#### **4- types de petit pois :**

Variétés de petit pois Les espèces de petit pois sont divisées en trois groupes principaux:

- Petit pois lisse : il est plus résistant au froid (**Messiaen, 2010**), présente une semence bien ronde. Il produit un grain fin dont la teneur en amidon est élevée (42 à 49 %). Ce qui lui confère une saveur légèrement farineuse ; sa richesse en amidon permet une reprise en eau au cours de la stérilisation, et par conséquent un bon rendement industriel (**Moreno, 2009**).
- Petit pois ridé : produit des grains de plus gros calibre présentant des flétrissements à l'état sec. Sa teneur en amidon est plus faible que celle du petit pois lisse (20 à 35 %) et, sa nature différente. Ce qui lui donne une texture moins farineuse et un goût plus sucré. La plus forte proportion d'amylose du pois ridé accroît par ailleurs la capacité de rétention d'eau, d'où un démarrage de la déshydratation retardée par rapport au pois lisse qui explique une plus grande souplesse à la récolte (**Loridon et al, 2005**).
- Le pois Mange-tout : des pois que l'on récolte plus jeune et que l'on mange avec la cosse (**Messiaen, 2010**).

Ces trois variétés peuvent aussi être des variétés « naines » ou « à rames » :

- Pois naines : les plantes ne dépassent pas 50 cm de hauteur.
- Pois à rames : les plantes peuvent atteindre 2 m 50 et nécessitent plus d'espace (**Messiaen, 2010**).



**Figure 09 :** Pois à soupe Saint Hubert (lisses)



**Figure 10 :** Pois à écosser Kelvedon (ridés) (B) (Boidron, 2017).

## **5 - Importance économique et intérêts agronomiques:**

### **5-1 Importance mondial :**

Selon les statistiques de l'organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO,2016), la production mondiale de pois frais s'est élevée à 8 264 769 tonnes pour une surface ensemencée de 1 087 674 hectares, soit un rendement moyen de 7,6 quintaux par hectare. Les deux principaux producteurs de pois frais, sont la Chine et l'Inde, qui représentent près de 70 % du total mondial (Tableau1).

**Tableau 1:** Production du petit pois dans le monde (FAO, 2016).

Chine	251.0	10.0	2 508.5
Inde	282.0	8.1	2 292.7
États-Unis	87.0	10.1	875.0
France	30.5	11.6	330.0
Royaume-Uni	33.3	9.9	355.0
Egypte	27.0	10.4	280.0
Algérie	25	3.5	87.5
Maroc	18.0	6.1	110.0
Turquie	14.5	7.0	101.4
Hongrie	16.5	5.6	92.0
Italie	13	6.9	90.0

## 5-2 Importance National:

En Algérie le pois a été cultivé avant 1830 dans les jardins et les champs en Kabylie (Laumont et Chevassus, 1960). La culture a pris un développement important en 1945, elle a connue par la suite un essor remarquable de 1947 à 1952. En 1980, 10800 ha ont été consacrés à cette culture. Durant cette dernière décade ; c'est en 1993 qu'on a enregistré la superficie la plus importante avec 20800 ha, alors que le rendement le plus important a été enregistré en 2001 sur une superficie de 19970 ha (FAOSTAT,2004). En 2016, cette superficie passe à 28 724 ha avec une production annuelle de 1029707 qx, soit un rendement de 35.8 qx/ha (Madr, 2016). Les principales wilayas productrices du petit pois sont Mascara, Boumerdes, Biskra et Tlemcen.

## 5-3-Intérêt agronomique :

Du point de vue agronomique, le pois comme les autres légumineuses, a la capacité de fixer l'azote atmosphérique grâce à la symbiose qui s'opère dans les nodosités entre la plante et les Rhizobium, (Aubriveau *et al.*, 2002) .Sa capacité de fixer l'azote atmosphérique par les azotobacters au niveau du système racinaire, permet de réduire les apports azotés, et donc limiter la pollution des nappes phréatiques par les engrais azotés (Androsoff *et al.*, 1995).

Le pois est considéré comme très bonne tête de rotation, il laisse un sol enrichi en azote de 30 à 50 Kg /ha (Boyeldiou, 1991).



### 5-4 Intérêt nutritionnel :

Dans l'alimentation humaine, le pois peut être consommé à l'état frais ou encore sous forme de grains secs récoltés à maturité complète

La richesse du petit pois en protéines permet de remplacer certaine protéine animale dans l'alimentation, les teneurs en protéines des graines varient de 17,25 à 32,2 génotypes et les conditions de production (Mossé *et al.*, 1987).

La composition de la graine du pois (tableau) en a fait une légumineuse très intéressante pour l'alimentation humaine et animale.

**Tableau 2: Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de pois (Tacques, 1985).**

Glu/Lip/Prot	Vitamines	Sels Minéraux	Acides aminés essentiels	Divers
<b>Glucides 56g</b>	Vitamine B1 0,7mg	Calcium 60mg	Isoleucine 930mg	Eau 12g Fibres
<b>Lipides 1,7g</b>	Vitamine B2 0,2mg	Chlore 50mg	Leucine 1480mg	15g Cellulose
<b>Protides 23g</b>	Vitamine B3 3,1mg	Fer 5,5mg	Lysine 1620mg	5g
	Vitamine C 3mg	Potassium 930mg	Méthionine 210mg	
	Vitamine K 930mg	Magnesium 130mg	Phénylalanine 1000mg	
		Sodium 40mg	Thréonine 860mg	
		Phosphor 380mg	Tryptophane 210 mg	
		Soufre 219mg	Valine 1000mg	
		Zinc 3,5mg		

## 6- Caractéristiques de Cytogénétique :

La cytogénétique est l'une de nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes.

Elle participe à : La connaissance du nombre de chromosomes matériel végétal utilisé, l'établissement des cartes génétiques, L'exploitation de la variabilité intraspécifique, interspécifique ou induite et l'amélioration des plantes (**Jahier et al. 1992**).

### 6-1 Génome :

Le génome est défini comme un lot haploïde de chromosomes issu d'une espèce diploïde élémentaire et désigné par une lettre majuscule (**CauderonY, 1989**).

### 6-2 Caryotype :

L'étude de paramètres caryologiques et de l'organisation des chromosomes, peut fournir des indications évolutives. La technique classique de Feulgen permet de construire un caryotype pour chaque espèce. L'étude des caryotypes se fait généralement en métaphase mitotique où les chromosomes sont bien individualisés et présentent la meilleure morphologie. Différents paramètres interviennent dans la description de la morphologie des chromosomes : la taille, la position du centromère, la présence de satellites et les constriction secondaire. D'autres caractères sont également utilisés pour l'étude des caryotypes ; la longueur totale des chromosomes, la longueur relative des chromosomes l'asymétrie du caryotype mesurée par l'indice d'asymétrie (IAs %) le rapport de la plus longue paire de chromosomes sur la paire de chromosomes la plus courte.

Différentes méthodes ont été employées pour localiser le centromère ce qui a engendré l'apparition de diverses nomenclatures de morphologie chromosomique cependant la nomenclature du caryotypes la plus sensuel est celle de **Levan(1964)** (tableau 3).

Le caryotype est représenté par une plaque métaphasique, un caryogramme et un idiogramme. Le caryotype qui consiste, à partir d'une photographie d'une cellule en métaphase à juxtaposer les chromosomes homologues par ordre décroissant de longueur. L'idiogramme est la représentation idéale des chromosomes selon un diagramme établi à partir des mesures statistiques d'au moins 3 plaque

métaphasique. il est le plus souvent haploïde. dans le cas où il existe une homéologie (non homologie) entre les chromosomes d'une paire, il est souhaitable de présenter un idiogramme diploïde.

**Tableau 3:** nomenclature chromosomique proposée par Levan et al 1964.

Position du D	R	I.C	Type chromosomique		
Position médiane	0.00	1.00	50.00	Métacentriquesustri- to	M
X	0.00-2.50	1.0-1.70	50.00-37.50	Métacentriquesensu- largo	m
Région submédiane	2.50-5.00	1.70-3.00	37.50-25.00	Submétacentrique	sm
Région subterminale	5.00-7.50	3.00-7.00	25.00-12.50	Subtélolocentrique	st
Région terminale	7.50- 10	7.00-12.50	12.50-0.00	Acrocentrique	t
Point Terminal	10.00 00		0.00	Télolocentrique	T

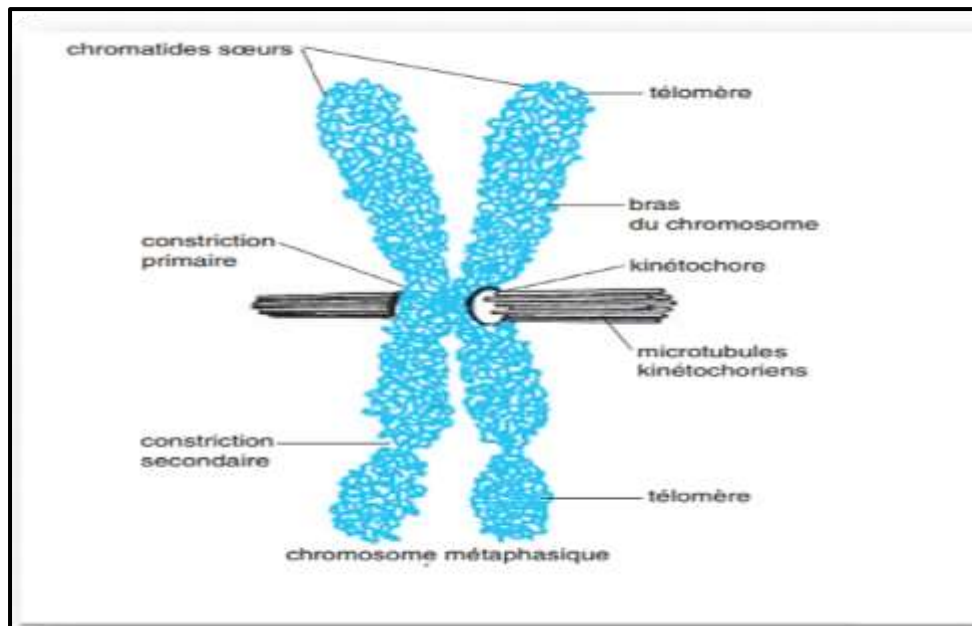
**D :** distance

**R :** Le rapport des bras longs sur les bras courts ( $r = BL/BC$ ).

**I.C :** l'indice d'asymétrie du caryotype ( $I.a.s = \Sigma BL \times 100 / \Sigma LT$ ).

### 6-3 Chromosome métaphasique :

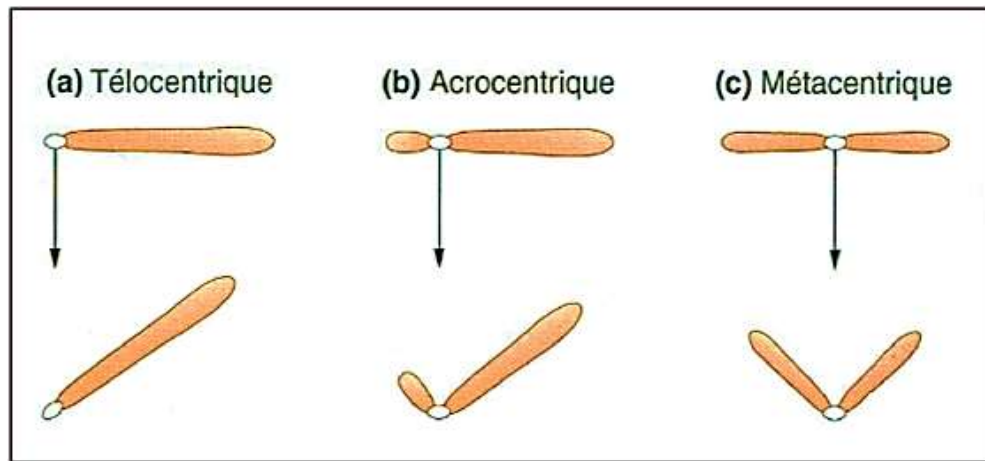
Le caryotype ainsi que l'idiogramme s'établissent à partir de chromosomes métaphasiques (Figure .11), qui comportent une zone de constriction primaire dénommée centromère qui est un point de liaison des deux chromatides sœurs, qui contient le kinétochore, centre d'organisation des microtubules, responsable de la fixation des chromosomes au fuseau mitotique lors de la mitose. La position du centromère permet de distinguer un bras court (BC).



**Figure 11 :** Chromosome métaphasique (Callen, 2005).

Il existe quatre types de chromosomes :

- ✓ **Chromosomes métacentriques :** le centromère est en position centrale (position médiane) ce qui lui donne des bras de longueurs à peu près égales.
- ✓ **Chromosomes sub-métacentriques:** le centromère est presque en position centrale ; les chromatides de ce chromosome présentent des bras de longueur inégale (un petit bras « p » et un long bras « q »).
- ✓ **Chromosomes acrocentriques:** le centromère est plus proche de l'une des deux extrémités (les télomères), le bras court est très bref.
- ✓ **Chromosome télocentrique:** présente un centromère très proche de ses télomères (figure 12).



**Figure 12** : Représentation schématique de quelques type de chromosomes (Griffiths et al. 2002)

## 6-4 Zones vitales des chromosomes

### 6-4 -1 Construction primaire (centromère) :

Constriction primaire appelé aussi centromère ou région kinétochorienne , sont les sites où se fixe le fuseau durant la division cellulaire, La constriction centromérique est un repère qui permet de séparer le chromosome en deux régions principales : un bras court (BC) et un bras long (BL).

### 6-4 -2 Construction secondaire

Les constriction secondaires sont des rétrécissements autres que celui du centromère. Elles affectent les deux chromatides à la même position. Quand ils sont en position presque terminale. Elles sont utiles pour l'identification des chromosomes particuliers (marqueurs) dans une garniture (2n).

### 6-4 -3 Satellites

Le satellite du chromosome est un segment chromosomique séparé de la partie principale du chromosome par la constriction nucléolaire secondaire. L'ensemble du satellite et de la constriction nucléolaire secondaire est appelé la région satellite. L'existence de l'ADN satellitaire est considérée comme marqueur génétique qui peut jouer un rôle dans l'appariement chromosomique au cours de la méiose et protéger les gènes terminaux contre les processus de gains et de pertes chromosomiques (Handerson et Kipling ,1995).

**Jones (2004)** a défini l'ADN satellifère comme étant un ADN répétitif accumulé par la transposition et la rétrotransposition de certains éléments ou par les erreurs parvenues au moment de la réplication.

#### **6-4 –4 Régions organisateurs nucléolaires (N.O.R)**

Ce sont des régions chromosomiques associées au nucléole. Chaque organisateur nucléolaire correspond à un groupe de gènes d'ARNr répétés en tandem sur un chromosome.

Les Régions organisatrices nucléolaires ont été décrites pour la première fois par **Heitz (1931)** et **Mc Clintock (1934)** comme étant des régions de chromatine très faiblement marquées, et autour des quels se forment les noyaux en fin de télophase après qu'ils aient disparues durant la phase mitotique de la cellule (**Derenzini. 2000**). Sur les chromosomes métaphasiques des eucaryotes, ces régions apparaissent sous forme de constriction secondaires associées aux satellites et leurs nombre varie d'un organisme à un autre (Hayes).

En cytogénétique classique, les Régions Organisatrices Nucléolaires sont mises en évidence par la coloration au Giemsa (N-banding) ou avec la coloration aux Nitrates d'argent (AgNORs) (**Jiménez et al., 1988**). La précipitation d'argent sur le site Nucleolar Organizer Regions (NORs) est liée à l'activité transcriptionnelle (**Hubel, 1985**).

# **Chapitre II :**

## **Matériel et**

### **méthode**

## 1. Matériel et méthode :

Notre étude porte sur un matériel végétal comporte une variété appartenant à l'espèce *Pisum sativum* ( $2n=2x=14$ ), Cette variété est locale (figure 13), fournies par l'institut technique de grandes cultures (I.T.G.C) (tableau 4) :

**Tableau. 04 :** Liste des variétés introduites dans une étude cytogénétique.

Variété	Garniture Chromosomique	Source	Origine	Caractéristiques
Séfrou	$2n= 2X =14$	ITCMI	Algérie	Pois potager à grain ronds.



**Figure 13 :** les graines de variété Séfrou.

## 2-Méthode utilisé :

Nous avons appliqué la méthode **Shafique et al. (1992)**, et ceci dans le but de dénombrer les chromosomes, étudier leur morphologie pour l'établissement des caryotypes ou pour la mise en évidence de modifications chromosomique surgis l'ors des manips. Elles mettent en jeu l'application d'agents chimiques pour le prétraitement, la fixation et la coloration des cellules en divisions.

La technique comporte les étapes suivantes :



### 2-1 Germination :

Les graines du *Pisum sativum* L. sont scarifiées et ensemencées, après leur désinfection dans l'eau de javel diluée à 50% pendant 5-7 minutes. Par la suite, les graines sont imbibées pendant 24h pour activer la germination. Par la suite, les graines sont mises à germer dans des boîtes de pétri, tapissées de papier filtre imbibé d'eau distillé à la lumière et à température ambiante.



Figure 14 : la germination des graines de Séfrou

### 2-2 Prélèvement :

Nous avons déterminé la période durant laquelle le coefficient mitotique a été le plus élevé, il est situé entre 24h et 48h pour notre matériel où les racines atteignent une longueur de 0.5 à 1 cm.

### 2-3 Prétraitement :

Il se fait par trempage des tissus en division dans un agent mitoclassique qui a pour effets principaux :

- a) Bloquer les divisions mitotiques au stade métaphase.
- b) Contracter les chromosomes.

L'agent mitoclassique utilisé dans notre travail est : la 8-hydroxyquinoline. La durée de ce prétraitement est 17h à 18h.

### 2-4 Fixation :

La fixation s'effectue dans une solution éthanol acide acétique (3V-1V) pendant 48 h au réfrigérateur. Ce fixateur permet de détruire toute vie cellulaire, en préservant le noyau et son contenu.

### 2-5 Stockage :

Notre matériel est conservé au réfrigérateur dans l'éthanol 70%. Certains fixateurs comme le **carnoy** peut également être utilisé comme solution de stockage.

### 2-6 L'hydrolyse :

Cette étape est généralement nécessaire pour obtenir ultérieurement un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelle. L'agent le plus fréquemment employé pour le ramollissement des tissus est l'acide chlorhydrique l'HCL 1N à 60°C. L'hydrolyse dissout les sels pectiques de la lamelle moyenne et permet l'éclaircissement du cytoplasme, elle permet aussi de ramollir les parois rigides « pectocellulosiques » pour faciliter l'écrasement, mais ce n'est pas le cas des Fabacées. En outre, l'acide chlorhydrique libère les groupements aldéhydiques sur les molécules de sucre de l'ADN par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose.

La durée de cette étape est de 15min. à 60°C.

### 2-7 La coloration :

Le réactif de Schiff préparé à partir de la fuchsine basique est le colorant le plus utilisé. Il se fixe sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse pour donner une coloration rouge aux chromosomes.

### 2-8 Ecrasement :

La majorité des techniques présentées concernent les mitoses dans les méristèmes racinaires. Dans ce cas, la zone méristématique hydrolysée et colorée est isolée, déposée sur une lame dans une goutte de carmin acétique où d'acéto-orceine et écrasée entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules. Cette dissociation est plus difficile si les tissus ont été préalablement stockés dans l'alcool pendant une longue durée et si la quantité de tissu déposé est importante. Il faut éviter un écrasement trop violent car il y a risque d'éclatement des cellules.

## 2-9 Observation et photographies :

L'observation et la prise des photos de meilleures plaques métaphasiques s'effectuent sous l'objectif 63 d'un photo microscope de type **LEICA DM 4000** (figure 15).



**Figure 15** : microscope de type LEICA DM 4000

## 1.10 Analyses statistiques :

Les données morpho métriques, concernant les garnitures chromosomiques des génotypes étudiées, sont calculées comme suivant :

- ✓ Lecture des valeurs de longueurs des bras longs (BL) et des bras courts (BC) en mm puis faire la conversion en  $\mu\text{m}$ .
  - ✓ Calcule des valeurs moyennes de la longueur des bras longs et des bras courts en mm et des erreurs standards correspondantes puis faire la conversion en  $\mu\text{m}$ .
  - ✓ Calculs des longueurs totales ( $LT=BL+BC$ ).
  - ✓ Calculs des longueurs totales relatives ( $LR=LT$  de chaque chromosome  $\times 100 / \Sigma LT$  de toutes les chromosomes).
  - ✓ Le rapport des bras longs sur les bras courts ( $r = BL/BC$ ).
  - ✓ Calcul de l'indice d'asymétrie du caryotype ( $I.a.s = \Sigma BL \times 100 / \Sigma LT$ ).
  - ✓ Le rapport entre la paire chromosomique la plus longue et celle la plus courte de la garniture Chromosomique.
- ✓ Les moyennes et les écarts types sont traités par l'Excel 2014, avec un nombre de répétitions (plaques métaphasiques pour chaque génotype) est de 3.

# **Chapitre III :**

## **Résultats et discussion**

### III-1 Résultats :

Rappelons que, nous avons appliqué la méthode de (Shafique et al. 1992) pour l'espèce *Pisum sativum* L.

#### ❖ Description du Caryotype :

L'établissement des caryotypes de chaque génotype se base sur différents paramètres:

La taille, la position du centromère, la présence des satellites ou des constructions secondaires.

Pour établir le caryotype d'autres caractères sont également utilisés: la longueur totale (LT), la taille relative des chromosomes (TR), le rapport du bras long sur le bras court et l'asymétrie du caryotype.

Caryotype de la variété **Séfrou** est caractérisé par la présence de 7 paires chromosomique.

Les calculs de l'indice centromérique (I.C) et le rapport des bras longs sur les bras courts (r) (Tableau 5).

nous ont permis de déterminer les chromosomes homologues et classer les différents types chromosomiques. Deux types chromosomiques sont observés (Figure16).

- **Les chromosomes (4.5.6)** sont des chromosomes métacentriques, c'est le même résultat obtenu par Samatadze et al en 2002 et trouvés par M.m parça-fontes et al (2014).
- **Les chromosomes (1.2.3.7):** qui sont des chromosomes submétacentriques (figure 16).

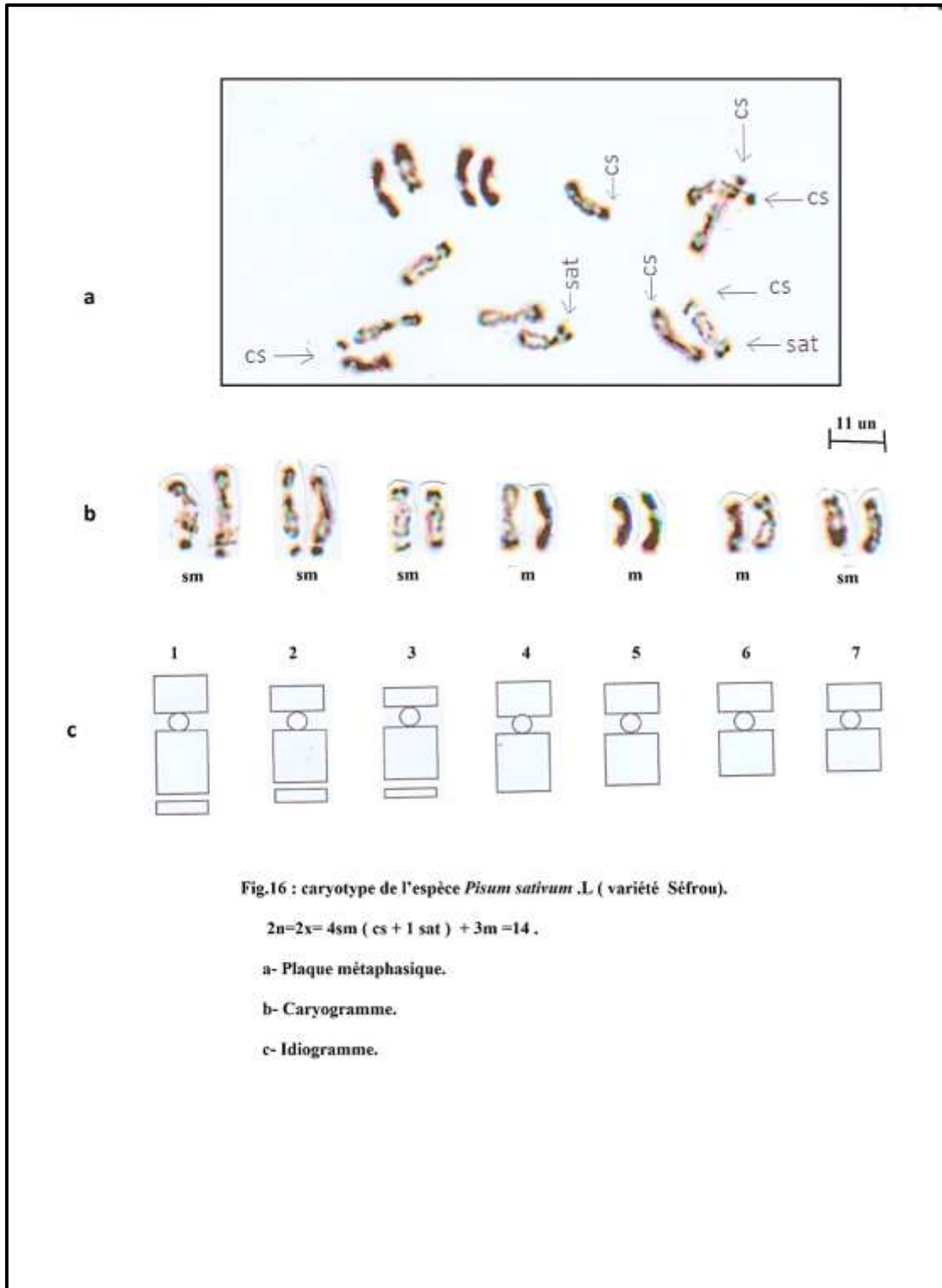


Fig.16 : caryotype de l'espèce *Pisum sativum* L. ( variété Séfrou).

$$2n=2x=4sm ( cs + 1 sat ) + 3m =14 .$$

a- Plaque métaphasique.

b- Caryogramme.

c- Idiogramme.

Figure 16 : caryotype de l'espèce *Pisum Sativum* L ( variété séfrou )

**Tableau 05** : Données morpho métriques de la variété Séfrou

Chr	LT (um)	Bras long (um)	Bras court (um)	r (L/R)	Types Chromosomiques
1**	5.3	3.5	1.8	1.94	Sm (cs)
2**	5.16	2.82	2.35	1.97	Sm (cs)
3**	4.8	3.12	1.68	2.26	S-m (cs)
4	4.35	2.75	1.6	1.67	M
5	3.96	2.42	1.54	1.57	M
6*	3.8	2.1	1.7	1.24	M
7	3.7	2.4	1.3	1.85	Sm

\*présence de satellite

\*\* Présence des constriction secondaires sur le bras long.

**I.A.S : 63.6 % .**

La longueur totale moyenne (LT) des chromosomes de cette variété est comprise entre **5.3 et 3.7 (tableau 5)**.

Le rapport entre la longueur des bras longs et celles des bras courts (r) varie entre **2.26 et 1.24 (tableau 5)**.

Le rapport entre la paire chromosomique la plus longue et celle la plus courte (R) entre **1.6 µm (tableau 5)**.

Cette variété se caractérise par la présence d'un satellite localisé sur la paire chromosomique 6 (**tableau 5**).

également, signalons la présence de trois constructions secondaires localisé au niveau de chromosomes 1. 2 .3 (bras longs).

## Discussion

Trois critères permettent de distinguer les chromosomes métaphasiques :

- La longueur totale de chaque chromosome (LT),
- La position de la constriction primaire (centromérique),
- L'existence et la localisation de constructions secondaires qui portent les organisateurs nucléolaires (N.O.R).

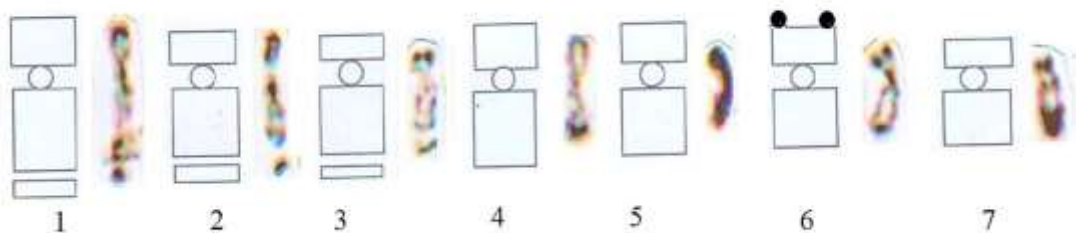
Leur position fréquemment distale sur un bras chromosomique munis de satellites. Egalement, d'autres caractères sont utilisés:

- la longueur relative des chromosomes (LR), le rapport du bras long sur le bras court et l'asymétrie du caryotype.

L'analyse caryologique par la coloration classique nous a permis d'établir le caryotype de l'espèce *Pisum sativum* (var. Séfrou) à partir de plusieurs plaques métaphasiques où les chromosomes sont bien étalés.

Nos résultats en comparaison à ceux des auteurs (**Samatadze *et al*, 2002 M.m Parça-fontes *et al*, 2014**) sont différents du point de vue types chromosomiques. D'après ces auteurs, les **chromosomes, 6 et 7** sont métacentriques, et **Les chromosomes 2, 3 et 4** : sont des types sub-métacentriques, par contre **le chromosome 5** est définie comme un chromosome acrocentrique. Alors dans notre cas, seuls les deux types chromosomiques (métacentriques et sub-métacentriques) qui ont été observés (figure 17) dans la garniture chromosomique ( $2n=2x=14$ ).

D'après les mêmes auteurs (**Samatadze *et al*, 2002 M.m Parça-fontes *et al*, 2014**), Les chromosomes 1 et 2 et 3 contiennent des constructions secondaires et le chromosome 6 possèdent un satellites.





**Figure 17** : représentation. de caryogramme et d'idiogramme de l'espèce *pisum sativum*: les chromosomes marqueurs portant les constriction secondaires sont 1, 2 et 3, localisées sur les bras longs.

Dans notre cas, trois constructions secondaires sont marquées sur les chromosomes 1, 2 et 3 (bras longs) et un satellite sur le chromosome 6 (bras courts).

Les constructions secondaires associées à régions organisatrices nucléolaires (**N.O.R**), apparaissent clairement et sont spécifiques aux **chromosomes marqueurs** du génome. Rappelons que les satellites sont des marqueurs génétiques (régions organisateurs nucléolaire) portés par des chromosomes marqueurs.

**McClintock (1934)**, étudiant le maïs, proposa que la chromatine au niveau de la constriction secondaire fût l'élément génétique qui organisait le nucléole, maintenant appelé la région organisatrice nucléolaire ou NOR. Il a été constaté que l'observation des constructions secondaires et des satellites peut être occultée par un fort degré de condensation (**KHALFALLAH N., 1990**).

Les constriction secondaires sont les sites d'origine des nucléoles (NORs, régions organisatrices nucléolaires) abritant jusqu'à des milliers de réseaux disposés en tandem de gènes d'ARN ribosomique (ARNr) 35S (18S-5.8S-25/28S) (**Volkov et al. 2004**).

Les NOR actifs peuvent être détectés soit par la présence de constriction secondaires et/ou de satellites, soit par N-banding, qui détecte les protéines associées aux régions NOR actives (**Schubert et al. 1979**).

Les gènes d'ARNr se trouvent dans tous les organismes vivants (gènes domestiques) et codent pour un sous-ensemble d'ARNr permettant de construire les grandes et petites unités ribosomales (**Schwarzacher et Wachtler 1986**).

Un caryotype symétrique présente des chromosomes de taille voisine ayant des centromères médians ou sub-médians (chromosomes de type méta ou sub-métacentrique), ce qui lui donne un aspect homogène (**STEBBINS, 1971**). Dans notre étude, tous les chromosomes de l'espèce étudiée sont métacentriques et sub-métacentriques. L'indice d'asymétrie est de : 63,6 %.

# Conclusion

### Conclusion

Les résultats présentés dans cette étude apportent de nouvelles connaissances sur les aspects caryologique de quatre génotypes appartenant à l'espèce *Pisum Sativum* L. L'étude cytogénétique que nous avons réalisée, est ceci dans le but d'élargir nos connaissances en caryo morphologie sur cette espèce par l'utilisation de la technique de coloration classique

Dans le protocole nous avons confirmé a partir cette étude que :

Le nombre de base chez le *Pisum sativum* est toujours le même  $n=x=7$ .

Le caryotype de cette variété est symétrique : trois paires métacentriques et quatre paire submétacentrique sont détectés.

La présence des satellites qui situé sur le chromosome 5. et les constriction secondaire sur le chromosome 1.2 et 3 sur le bras long, L'absence des chromosomes B.

En perspectives, nous souhaiterons d'envisager d'autres techniques modernes et moléculaires tel que :

- Le N-banding pour la localisation de régions organisatrices nucléaires associées aux satellites et constriction secondaires
- Le C-banding pour la détermination du taux d'hétérochromatine des génomes des espèces étudiés.
- La FISH pour la localisation des gènes ribosomique et la recherche des aberrations chromosomiques chez les géniteurs et sa génération.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

### Références bibliographiques :

- ✓ **Agri-bio., 2016.** Les légumineuses pour apporter de l'azote dans la rotation. Document issu du projet Agri-Bio : de la connaissance à la performance. 2p.
- ✓ **ARVALIS., 2010.** Les légumineuses : comment ça fonctionne ? 8p.  
<http://www.afpfasso.fr/files/fichiers/legumineuse-imprimeur.pdf>
- ✓ **Aubineau, M., Bermond, A., Bougler, J., Ney B. et Roger-Estrade, J. (2002).** Larousse Agricole. 4<sup>ème</sup> édition, Larousse. 800 pages.
- ✓ **Bazile D. et Coulibaly E.M., 2011.** Droit des agriculteurs sur leurs semences : le long chemin entre la conservation in et ex situ. Grain de sel n°52-53 : 15-17.
- ✓ **Belaid D., 2018.** Algérie : Autosuffisance en légumes secs. Collections brochuresagronomiques.[www.djamelbelaid.fr/app/download/.../DossierlegumesSecs.pdf](http://www.djamelbelaid.fr/app/download/.../DossierlegumesSecs.pdf)
- ✓ **Boidron, A. (2017).** A rames, mange-tout, lisses ou ridés : comment s'y retrouver dans les petits pois ? Au Jardin des Quatre Moineaux. Sur le site: <http://www.quatreminoieux.be/2017/07/laclassification-des-petits-pois.html>. [Consulté le 19-03-2019].
- ✓ **Boyeldieu, J., 1991.** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Ed Tec & Doc Lavoisier-Paris. 256 p.
- ✓ **Cadot V. et Le Clerc V., 2010.** Etude de la diversité des variétés inscrites au catalogue français des espèces agricole cultivées de 1950 à nos jours : exemple du pois et du maïs. Le sélectionneur Français vol 61 : 15-31.
- ✓ **Carouée B., Crépon K., Peyronnet C., 2003.** Les protéagineux : intérêt dans les systèmes de production fourragers français et européens. Fourrages 174 : 163-182.
- ✓ **Champ M., Magrini M.B., Simon N., Le Guillou C., 2015.** « Les légumineuses pour l'alimentation humaine : les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables ». Colloque légumineuses, INRA et CNRH- Nantes, 14 Décembre 2015.
- ✓ **Couplan, F. (2011).** Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées. Delachaux et niestlé. 256 pages.

## Références bibliographiques

---

- ✓ **Cousin R., 1996.** Le pois variabilité, objectif de sélection. Inra station de génétique et d'amélioration des plantes-versailles. 6p. Disponible sur :[http://www7.inra.fr/lecourrier/wp-content/.../Sauve-qui-peut-n°8\\_Cousin.pdf](http://www7.inra.fr/lecourrier/wp-content/.../Sauve-qui-peut-n°8_Cousin.pdf)
- ✓ **Coussin, R., 1974.** Le pois : Annal de l'amélioration des plantes. INRA, Paris.p.10-117.
- ✓ **CPS., 2009.** **Pisum sativum subsp. biflorum** : étude de cas pour une espèce sauvage menacée apparentée à une espèce cultivée. Commission Suisse pour la Conservation des Plantes Cultivées. 14p.
- ✓ **Cronk Q., Ojeda I., Pennington R.T., 2006.** Legume comparative genomics: progress in phylonetics and phylogenomics. Current Opinion in plant biology 9: 99-103.
- ✓ **Decruyenaere V., Rondia P., Wavreille J., 2016.** Intérêt des légumineuses dans l'alimentation animale : vaches laitières et monogastriques. Quelle place pour les légumineuses en Wallonie ? Gembloux. 1p
- ✓ **Denhartigh C., Metayer N., Martin S., Scarsi F., Llaser S., Loquet M., Dameron V., 2015.**Diagnosic des filières de légumineuses à destination de l'alimentation humaine en France. Intérêt environnemental et perspectives de développement. Réseau action climat France. 53p.
- ✓ **Derenzini M., 2000:** The AgNORs .Micron, 31: 117-120.
- ✓ **Doré C. et Varoquaux F., 2006.** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Ed INRA-Quae. 840p.
- ✓ **Duc G., 1996.** Valeur alimentaire et usage des graines de légumineuses. Sauve qui peut n°8- INRA station de génétique et d'amélioration des plantes. 3p.
- ✓ **FAO, 2006** Ressources phylogénétiques. Ne pas les utiliser, c'est les perdre. 2p.  
[http://www.fao.org/fileadmin/templates/nr/documents/CGRFA/factsheets\\_plant\\_fr.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/nr/documents/CGRFA/factsheets_plant_fr.pdf)
- ✓ **FAO, 2007.** Résumé du chapitre 1 de la FAO : l'état des ressources génétiques mondiales des plantes pour l'alimentation et l'agriculture. 14 p.  
[http://www.semencespaysannes.org/bdf/docs/resume\\_du\\_chapitre\\_1.pdf](http://www.semencespaysannes.org/bdf/docs/resume_du_chapitre_1.pdf)
- ✓ **FAO, 2014.** Normes applicables aux banques de gènes : pour les ressources génétiques,pour l'alimentation et l'agriculture. 182p. <http://www.fao.org/3/a-i3704f.pdf>.

## Références bibliographiques

---

- ✓ **FAO, 2016.** Les avantages nutritionnels des légumineuses, 2p.  
[http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/pulses2016/docs/factsheets/Nutrition\\_FR\\_PRINT.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/pulses2016/docs/factsheets/Nutrition_FR_PRINT.pdf)
- ✓ **FAO., 2004.** Variétés de semences appropriées pour les agriculteurs à petite échelle.44p. <http://www.fao.org/3/a-i3768f.pdf>
- ✓ **Free J.B. 1993.** Insect pollination of crops. 2nd ed. Academic Press. London, 152
- ✓ **Gauderon Y , 1989 .** Cytogénétique et amélioration du blé .Le Sélectionneur Français,INRA.19 ,89-101
- ✓ **Giraud E., 2007.** Symbiose rhizobium/légumineuse : un nouveau sésame. Médecine/science 23 (6-7) : 663-664.
- ✓ **Hart D.L., Jones E.W., 2003:** Génétique des grands principes : 94, 96, et 98. 3e édition. Dunod, Paris
- ✓ **Hayes H., 2000:**Notions de base de génétique ADN et chromosomes. INRA Production. Animal, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et applications aux populations animales » : 13-2
- ✓ **Henderson, E., 1995.** Telomere DNA structure. In : Blackburn, E.H., Greider, C.W. (Eds.), Telomeres. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, Pp. 11-34
- ✓ **INA-PG, 2003.** Pois protéagineux–cours en ligne. Institut National AgronomiqueParis-Grignon.18p.Disponiblesur:  
<https://tice.agroparistech.fr/coursenligne/courses/.../document/.../pois.pdf>
- ✓ **Jilal A., 2011.** Assessment of genetically diverse international barley germplasm for development of food product applications. PhD. Thesis. Southern Cross University, Lismore, NSW.
- ✓ **Joly P.B. et Trommetter M., 1994.** Coservation du patrimoine génétique : aspect économiques et institutionnels. Genet Sel Evol, Vol 26 : 331-342.
- ✓ **Judd W.S., Campbell C.S., Jules Bouharmont., Kellogg E.A., Stevens P., 2001.** Botanique systématique : une perspective phylogénétique. Edition de boeck.
- ✓ **Knoden D., 2016.** Les légumineuses prairiales et la mécanisation de la récolte. Quelle place pour les légumineuses en Wallonie ? Gembloux. 1p.

## Références bibliographiques

---

- ✓ **Koirala S., 2018.** Characteristics and economic importance of family papilionaceae (leguminosae). The science info. <http://thescienceinfo.com/characteristics-and-economic-importance-of-family-papilionaceae-leguminosae/>
- ✓ **Kremer A., 2000.** Changements climatiques et diversité génétique. Rev. For.Fr.LII- numéro spécial. 91-98. l'environnement de l'INRA n°44 : 69 -72.
- ✓ **Lagarde M.F., et Marchenay P., 1985.** Les variétés locales de plantes cultivées dans le parc national des Ecrins : prospection, collecte et conservation. Laboratoire d'ethnobotanique-CNRS. 236p
- ✓ **Laumont et Chevassus .(1960).** Algérie. Ann. Ins. Agr. des services de recherche –et expérimentation agricole de l'Algérie, Tome II.Juil.1960.35p.
- ✓ **Lazali M., 2014.** Etude des mécanismes agro physiologiques et moléculaires d'adaptation à la déficience en phosphore chez la symbiose rhizobienne du haricot (*Phaseolus vulgaris* L). Thèse de doctorat en sciences agronomique, ENSA-Alger, 152p.
- ✓ **Lewis G., Schrire B., Mackinder B., Lock M., 2005.** Legumes of the World. Ed Royal Botanic Gardens, Kew. 577p.
- ✓ **Loridon, K., McPhee, K., Morin, J., Dubreuil, P., Pilet-Nayel, M. L., Aubert, G., Rameau, C., Baranger, A., Coyne, C., Lejeune-Hènaut, I. et Burstin, J. (2005).** Microsatellite merker polymorphism and mapping in pea (*Pisumsativum* L.).Theoretical and AppliedGenetics, 111, 1022- 1031.
- ✓ **Marchenay P. et Lagarde M.F., 1987.** Prospection et collecte des variétés locales de plantes cultivées. Conservatoire botanique de Porquerolles. 91p.
- ✓ **Maxted N. and Ambrose M., 2001.** Conservation, diversity and use of Mediterranean legumes. In Maxted N. and Bennet S.J., 2001. Plant genetic resources of legumes in the Mediterranean. Ed klumer Academic Publishers. 389p.
- ✓ **Mbabwine Y., Sabiiti E.N., Kiambi D., 2004.** Assesment of the status of plant genetic resources in Kabale highlands, Uganda ; a case of cultivated crop species. A draft report submitted to International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). 64p.
- ✓ **Meddour R. et Derridj A., 2007.** Les banques de semences : une stratégie de conservation ex situ des plantes. Revue campus n° 5 : 71-79.



## Références bibliographiques

---

- ✓ **Messaëin, C. M. et Messiaen-Pagatto, F. (2010).** Le potager familial méditerranéen. 1<sup>ème</sup> édition, éditions Quae. 192 pages.
- ✓ **Moreno, R. R. (2009).** Localisation and characterization of yeild component quantitative trait loci (QTLs) in Recombinant Inbred Lines (RILs) of pea, *Pisum sativum* ssp. Thèse de doctorat en Biologie. Université de Northern Illinois -États-Unis
- ✓ **Mori S.A, 2018.** Amplexicalous stipule bases. <http://Sweetgum.nybg.org/science/projects/fg/glossary-details/?irn=2962>
- ✓ **Moule C., 1972.** Phytotechnie spéciale III : Plantes sarclées et diverses. Ed., la Maison rustique-Paris. 129 p.
- ✓ **Muehlbauer F.J. et Tullu A., 1997.** *Pisum sativum*. New crop factsheet. <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/cropfactsheets/pea.html>
- ✓ **Murtaza M., Ahmed N., Abdul Madjid S., 2005.** Karyotype analysis of *Pisum sativum* L. International Journal of Agriculture and Biology 7(1): 118-120.
- ✓ **N'Dayegamiye A., Tremblay G., Deschênes P., Drapeau A., 2012.** Bénéfices des légumineuses dans les rotations de cultures. Institut de Recherche et de développement en Agroenvironnement-IRDA. 2p.
- ✓ **Perrot C., 1995.** Les protéines de pois : de leur fonction dans la graine à leur utilisation en alimentation animale. INRA productions animales 8 (3) : 151-164.
- ✓ **Pesic V., Djordjevic R., Kadhun E., Jankovic P., Misic D., 2013.** Influence of the *afila* gene on grain yield in pea (*Pisum sativum* L.). Bulgarian Journal of agricultural science 19 (2) : 186-193.
- ✓ **Plucknett D.L., Smith N.J.H., Williams J.T., Anishetty N.M., 1990.** Banques de gènes et alimentation mondiale. Ed INRA-Economica. 228p.
- ✓ **Pointereau P., 2001.** Légumineuses : quels enjeux écologiques ? Courrier de Pois à écosser Kelvedon (ridés) (B) (Boidron, 2017).
- ✓ **Pouvreau, A. 2004.** Les insectes pollinisateurs. Delachaux & Niestlé, 157 p.
- ✓ **Quezel P. et Santa S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS. 1090p.
- ✓ **Schneider A. et Huyghe C., 2015.** Les légumineuses, pour des systèmes agricoles et alimentaires durables. Ed Quae-Versailles. 473p.

## Références bibliographiques

---

- ✓ **Smýkal P, Kenicer G, Flavell AJ, Corander J, Kosterin O, Redden RJ, Ford R, Coyne CJ, Maxted N, Ambrose MJ, Ellis NTH. 2011.** Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genetic Resources*. 9: 4–18. Society of America, Inc., Wisconsin, USA. Sons and Co. Ltd, London, UK. statistiques.
- ✓ **Smykal P., Coyne C.J., Ford R., Redden R., Flavell A.J., Hybl M., Warkentin T. Burstin J., Due G., Ambrose M., Ellis T.H.N., 2008.** Effort towards a world pea (*Pisum sativum* L.) germplasm core collection: The case for common markers and data compatibility. *Pisum genetics* 40: 11-14.
- ✓ **Srarfi Ben Ayed F., Sdiri A., Kharrat M., 2016a.** Rahma : une nouvelle variété de pois protéagineux inscrite en 2007 dans le catalogue officiel tunisien des obtentions végétales. *Annales de l'INRAT* 89. Numéro spécial innovations. 20-22 subsp. *Elatius* in Serbia. *Pisum Genetics* vol 42: 15-17. Techniques culturales simplifiées n°48 : 12-22.
- ✓ **Tognite F.M., 2013.** Implémentation et évaluation du modèle de culture de pois (*Pisum sativum* L.) AFISOL sous la plate-forme logicielle RECORD. Mémoire master UMR. 25p.
- ✓ **Trebuchet G., Chopinet R., Drouzy J., 1953.** Contribution à l'étude des variétés de pois potager cultivés en France. *Annales de l'INRA* n°2 : 47-251. Disponible <http://www.surbiblio.rsp.free.fr/Pdf/InraPois.si.pdf>
- ✓ **UNESCO, 1990.** La conservation et la gestion de nos ressources génétiques. *Impact* 158 : 107-109.
- ✓ **Vavilov N.I., 1949.** The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Chronika botanica* 13: 1-54.
- ✓ **Waligora C. et Tetu T., 2008.** Les légumineuses, il est urgent de les réhabiliter.
- ✓ **Zlatkovic b et Mikic A., 2010.** Distribution and new records of *Pisum sativum*.
- ✓ **M.m Parça-fontes et al ,2014.** Karyotype revised of *Pisum sativum* using chromosomal DNA amount
- ✓ **(Samatadze et al, 2002** entification of the Pea (*Pisum sativum* L.) Genome Chromosomes Using C-Banding Analysis.

## Références bibliographiques

---

- ✓ **Khalfallah N. 2008.** Comparative analysis of D and R genomes in two lignes (x-TriticosecaleWittmack) and their genitors (SecalecerealeL., Triticum aestivumL.) by Nbanding.Caryologia.vol61, n3, p 245-252.
- ✓ **Volkov et al. 2004** .The stability of forest biodiversity

## IDENTIFICATION CYTOGÉNÉTIQUE DES CHROMOSOMES DE L'ESPÈCE PISUM SATIVUM L. (VARIÉTÉ SÉFROU)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et  
Génomique Végétale

### Résumé :

L'étude cytogénétique que nous avons réalisé sur les chromosomes de l'espèce *Pisum sativum* (variété Séfrou, locale), est ceci dans le but d'élargir nos connaissances en caryo morphologie sur cette espèce par l'utilisation de la technique de coloration classique.

Nous avons pu identifier et caractériser le caryotype de la variété. Trois constriction secondaires et un satellite sont mises en évidence sur les chromosomes marqueurs. Rappelons que les satellites sont munis de régions organisatrices nucléolaires (N.O.R) codant pour les gènes ribosomiques. De ce fait sa formule caryotypique est décrite comme suite  $2n=2x=4sm+3m=14$  et ce caryotype est symétrique.

**Mots clés :** caryotype, chromosome marqueur, constriction secondaire, *Pisum sativum* L., satellite.

**Laboratoire de recherche :** génétique, biochimie biotechnologie végétale

### Jury d'évaluation :

**Présidente :** Mme *MOUAGAL* Rym Tinhinan (MCA- I.N.A.T.A Constantine).  
**Encadrant :** Mme *HAMMOUDA-BOUSBIA* Dounia (MCA-UFM Constantine).  
**Examinatrice :** *KECHID Maya* (MCB- I.N.A.T.A Constantine).

**Date de soutenance :** 08 /07/2021