

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Université Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETAL

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم : بيولوجيا و ايكولوجيا النبات .

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Biologie et Physiologie de la Reproduction

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Analyse du caryotype de trois espèces du genre *Ononis* L.**

---

**Présenté par :** MELLAH Yasmine  
MENOUBI Ouarda

Le 20/06/2023

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** BENHIZIA Hayet (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Président :** CHAIB Ghania (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** BAZIZ Karim (MCA - Université Mostefa Ben Boulaïd Batna 2).

**Année universitaire  
2022 - 2023**



## Remerciements

Avant tout, nous remercions **Allah** le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience de mener à bien ce travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Notre encadreur Dr. BENHIZIA Hayet, Maître de conférences A de l'université Frère Mentouri Constantine 1. Pour avoir proposé ce thème et nous avoir formée tout au long de ce travail. Lui disons merci pour sa totale disponibilité et sa modestie à notre égard. Nous lui exprimons nos plus vifs remerciements ainsi que notre profonde gratitude pour avoir orienté et dirigé ce travail et également pour tous ses conseils judicieux dans l'élaboration et la conception de ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont au Mme CHAIB. G, Professeur à l'université Frère Mentouri Constantine 1 d'avoir accepté de présider le jury.

Nos sincères remerciements à Mr BAZIZ. Karim, Maître de conférences A pour avoir accepté d'examiner d'évaluer cet humble travail.

Nous tenons à remercier Mme HAMMOUDA BOUSBIA Dounia, directrice du laboratoire pour sa gentillesse et son aide.

Un grand merci à l'ensemble du personnel du laboratoire de l'université de Constantine « chaabet el rasas » pour leur générosité et leur bonne humeur et plus précisément à la l'ingénieur « Mme DJEGHAR Radhia»

et les doctorantes «HAMANI Hanane et Manel» pour leur aides et encouragements



**Dédicace 01**

**À l'aide de Dieu "ALLAH" tout-puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail.**

**À MES TRÈS CHERS PARENTS**

**Ma mère et mon père aucune dédicace, ni remerciements ne sauraient exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec vous. Puisse Dieu, le tout-puissant, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive. Je suis tellement**

**fière d'avoir des parents comme vous vraiment...**

**A mon cher frère**

**Puisse Dieu te garder, éclairer ta route et t'aider à réaliser à ton tour tes Vœux, Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.**

**Je n'oublie pas également toutes mes amies en particulier mes copines et tous ceux qui m'aiment**

**Yasmine**



## **Dédicace 02**

**Je dédie ce modeste travail :**

**À ma chère mère qui m'a soutenu moralement et matériellement dans  
ma vie et mes études en particulier et je dis ici :**

**« Tu es précieuse dans ma vie dans la joie comme dans l'ennui, merci  
pour tout et que Dieu te garde pour nous ».**

**À mon très cher père tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir  
et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection**

**À mes chers frères Mohammed et Abd El Rahmen et mes très chères  
sœurs Yousra ,Maroua et Ikhlas qui ont partagé mes joies durant la  
réalisation de cette thèse.**

**À toute la famille Menoubi et Merniz .**

**À mes amies et surtout Ait Amer Mezian chahinez qui n'a pas cessé de  
m'aider et de me conseiller pour accomplir mon travail.**

**Ouarda**

## Résumé

Les études cytogénétiques sont une étape très importante dans la compréhension et l'avancement du développement des plantes. L'objectif de ce travail était une contribution à la caractérisation cytogénétique de trois espèces du genre *Ononis* L. afin de détecter les similitudes et les différences entre les espèces et de ce fait contribuer à la résolution des problèmes taxonomiques rencontrés dans le Genre surtout que ces taxa ont un intérêt économique certain.

A cause des difficultés rencontrées sur le plan pratique (la paroi cellulaire dense, chromosomes de petite taille), nous avons réalisé uniquement un dénombrement chromosomique en utilisant la technique de Feulgen ou coloration au réactif de Schiff

L'analyse de la mitose portait sur les méristèmes racinaires appartenant aux graines germées des trois espèces, a montré dans la plupart des cas une séparation insuffisante des chromosomes à la métaphase, mais nous avons pu déterminer le nombre chromosomique de chaque espèce étudiée. L'espèce *O. natrix* L. et *O. viscosa* L. montrent le même nombre  $2n = 32$  chromosomes, soit  $x = 16$ . L'espèce *O. variegata* L. présente un nombre chromosomique différent  $2n = 26$  chromosomes.

**Mots clés :** *Ononis natrix* L., *Ononis viscosa* L., *Ononis variegata* L., caryotype, chromosomes

## **Abstract :**

Cytogenetic studies are a very important step in understanding and advancing plant development. The objective of this work was to contribute to the cytogenetic characterization of three species of the genus *Ononis L.* in order to detect similarities and differences between species and thus contribute to the resolution of taxonomic problems encountered in the genus especially since these taxa have a definite economic interest.

Because of the practical difficulties encountered (dense cell wall, small chromosomes), we performed only a chromosomal count using the Feulgen technique or Schiff reagent staining. The analysis of mitosis focused on root meristem cells belonging to the germinated seeds of the three species, showed in most cases an insufficient separation of chromosomes at metaphase, but we were able to determine the chromosomal number of each species studied. Species *O. natrix L.* and *O. viscosa L.* show the same number  $2n = 32$  chromosomes, or  $x = 16$ . *O. variegata L.* has a different chromosome number  $2n = 26$  chromosomes.

**Keywords:** *Ononis natrix L.*, *Ononis viscosa L.*, *Ononis variegata L.*, Karyotype, chromosomes.

## ملخص:

تعد دراسات الوراثة الخلوية خطوة مهمة للغاية في فهم تطوير النبات والنهوض به. كان الهدف من هذا العمل هو المساهمة في التوصيف الوراثي الخلوي لثلاثة أنواع من جنس *Ononis L.* من أجل اكتشاف أوجه التشابه والاختلاف بين الأنواع وبالتالي المساهمة في حل المشكلات التصنيفية التي تواجه الجنس خاصة وأن هذه الأصناف لها مصلحة اقتصادية محددة.

بسبب الصعوبات العملية التي واجهتنا (جدار الخلية الكثيف، الكروموزومات الصغيرة)، أجرينا فقط عددًا من الكروموزومات باستخدام تقنية Feulgen أو تلوين كاشف Schiff

أظهر تحليل الانقسام المتساوي الذي ركز على الخلايا المريستمية الجذرية التي تنتمي إلى البذور المنبئة للأنواع الثلاثة، في معظم الحالات الفصل غير كافٍ للكروموزومات عند الطور الاستوائي، لكننا تمكنا من تحديد العدد الكروموزومي لكل نوع تمت دراسته. تظهر الأنواع *O. viscosa L.* و *O. Natrrix L.* نفس العدد  $2n = 32$  كروموزومًا، أو  $x = 16$ . *O. variegata L.* لها عدد كروموزوم مختلف  $2n = 26$  كروموزوم.

الكلمات المفتاحية: *Ononis variegata L.* ، *Ononis viscosa L.* ، *Ononis natrrix L.* ، caryotype ، chromosomes

## Liste des abréviations

**m** : Métacentrique

**st** : Subtélocentrique

**t** : Acrocentrique

**T** : Télolocentrique

**cs** : Constriction secondaire

**sat** : Satellite

**µm** : Micromètre

**BL** : Bras long

**BC** : Bras court

**LT** : Longueur totale



## Liste des figures

Figure 1. Répartition géographique des fabacées (Heywood, 1996). .....	4
Figure 2. Carte de répartition géographique de genre <i>Ononis</i> . (POWO, 2023).....	5
Figure 3. L'espèce <i>Ononis natrix</i> L. (Benhizia, 2022).....	8
Figure 4. L'espèce <i>Ononis viscosa</i> L. (Powo, 2023).....	11
Figure 5. Schéma d'un chromosome métaphasique (World Health Organization, 2013). .....	13
Figure 6. Schématisation des différents types de chromosome.....	14
Figure 7. Germination des graines (a) <i>Ononis variegata</i> L (b). <i>Ononis natrix</i> L. ....	19
Figure 8. Plaque métaphasique à $2n=32$ Chromosome se l'espèce <i>Ononis natrix</i> L.....	24
Figure 9. Plaque métaphasique à $2n=32$ de l'espèce <i>Ononis viscosa</i> L.....	24
Figure 10. Plaque métaphasique à $2n= 26$ chromosomes de l'espèce <i>Ononis variegata</i> L.....	25

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Nomenclature chromosomique (Levan et al. 1964).....	16
<b>Tableau 2.</b> Origine géographique et étage bioclimatique .....	18

# Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1
<b>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</b>	
1.La famille fabacée.....	4
2.Le genre <i>Ononis</i> L. ....	5
2.1.Historique .....	5
2.2.Classification de genre <i>Ononis</i> L.....	5
2.3.Morphologie du genre <i>Ononis</i> L.....	6
2.4.Usage traditionnel et propriétés biologiques.....	7
2.5.Travaux antérieurs réalisés sur le genre <i>Ononis</i> L.....	7
3.L'espèce <i>Ononis natrix</i> L. ....	8
3.1.Description botanique.....	8
3.2.Exigence édapho-climatiques.....	9
3.3.Intérêt économique .....	9
4.L'espèce <i>Ononis viscosa</i> L.....	10
4.1.Description botanique.....	10
4.2.Répartition géographique .....	10
4.3.Utilisation médical.....	10
5.L'espèce <i>Ononis variegata</i> L.....	10
5.1.Description botanique.....	11
5.2.Répartition géographique .....	11
6.Caractère cytologique de genre <i>Ononis</i> L. ....	11

7. Notion caryotypique .....	12
------------------------------	----

## **Chapitre II : Matériel et Méthode**

1-Matériel .....	18
2-Méthode.....	18
2-1- Germination des graines .....	18
2-2- Prélèvement .....	19
2-3- Prétraitement.....	19
2-4- Fixation .....	19
2-5-Stockage et Conservation .....	19
2-6- Hydrolyse.....	20
2-7- Digestion enzymatique.....	20
2-8- Coloration .....	20
2-9- Ecrasement.....	20
2-10- Montage et conservation des lames .....	20
2-11- Observation microscopique et photographies.....	21

## **Chapitre III : Résultat et Discussion**

1-Etude de la mitose.....	23
2-Dénombrement chromosomique.....	23
Conclusion .....	27
Références Bibliographiques.....	30
Annexes .....	37

# **Introduction**

## Introduction

L'Algérie est un vaste pays qui occupe une position géographique très importante au sud du bassin méditerranéen. La flore constitue un mélange très riche en végétation et compte près de 4000 espèces végétales (Issolah, 2019). Aussi, l'Algérie est riche en ressources phylogénétiques à intérêt fourrager et pastoral, particulièrement en légumineuses. Ces dernières occupent une importante place dans la flore algérienne (Talamucci et Chaulet, 1989).

Avec environ 16000 espèces, les fabacées se classent troisième dans le monde végétal, et divisée en 3 sous familles : Mimosoideae, Caesalpinioideae, et Faboideae (Papilionoideae). On y trouve des plantes herbacées, grimpantes, et des vrais arbres. Elles peuvent être annuelles, vivaces, à feuilles caduques ou persistantes (APG, 2016). Elle a également une fonction de stabilisation de l'azote de l'air dans les nodosités des racines en symbiose avec des micro-organismes nommés azotobacters (Judd et al. 2002).

Cette famille cultivée pour sa richesse en protéine (33%), la consommation humaine (haricot, pois, fève, ...) ou l'alimentation du bétail (soja, luzerne, ...). D'autres espèces sont cultivées comme espèces ornementales, papetières ou encore comme source de produits chimiques (teintures) et pharmaceutiques. En Algérie, les légumineuses sont très peu utilisées comme source d'alimentation pour l'élevage et elles n'ont pas bénéficié de programme d'amélioration des plantes (Mebarkia, 2011).

Le genre *Ononis*, qui fait partie de la famille des Fabacées, est un ensemble de plus de 75 espèces, répandues dans la région méditerranéenne, aux îles Canaries, en Europe et en Asie centrale en Afrique du Nord (Besbas, 2020).

Les espèces *d'Ononis*, parmi lesquelles figurent d'importants représentants du pâturage méditerranéen, sont dans leur majorité peu variables, mais quelques unes sont tellement polymorphes (*O. natrix*, *O. repens*, *O. reclinata*, etc.), que leur formes et variétés constituent un défi pour les systématiciens à tel point que les chercheurs n'ont pas encore trouvé des critères suffisamment précis pour définir ces catégories infra spécifiques (Sañudo et al. 1979).

Dans la littérature, il existe quelques investigations anatomiques et morphologiques sur certaines espèces *d'Ononis*. Les études sur les chromosomes sont utiles pour déterminer leurs différentes caractéristiques cytogénétiques, contribuant ainsi à l'évaluation d'une relation taxonomique (identification, classification) entre les espèces

L'objectif de ce travail était une caractérisation cytogénétique de trois espèces du genre *Ononis* L. par l'établissement du caryotype pour contribuer à la résolution des problèmes taxonomiques rencontrés dans le Genre surtout que ces taxa ont un intérêt économique certain. A cause des difficultés rencontrées sur le plan pratique, nous avons réalisé uniquement un dénombrement chromosomique en utilisant la technique de Feulgen ou coloration au réactif de Schiff.

Ce travail est divisé en trois chapitres :

- **Le chapitre 1** : comprend une introduction générale sur le genre *Ononis*, examine les aspects botaniques des trois espèces, et rappelle brièvement quelques notions de cytogénétique.
- **Le chapitre 2** : décrit le matériel végétal et la méthode utilisée.
- **Le chapitre 3** : résume les résultats expérimentaux obtenus et leurs interprétations.

Enfin, nous tirons une conclusion sur les connaissances acquises dans ce travail et les perspectives et possibilités de faire des recherches sur le genre étudié.

## **Chapitre I :**

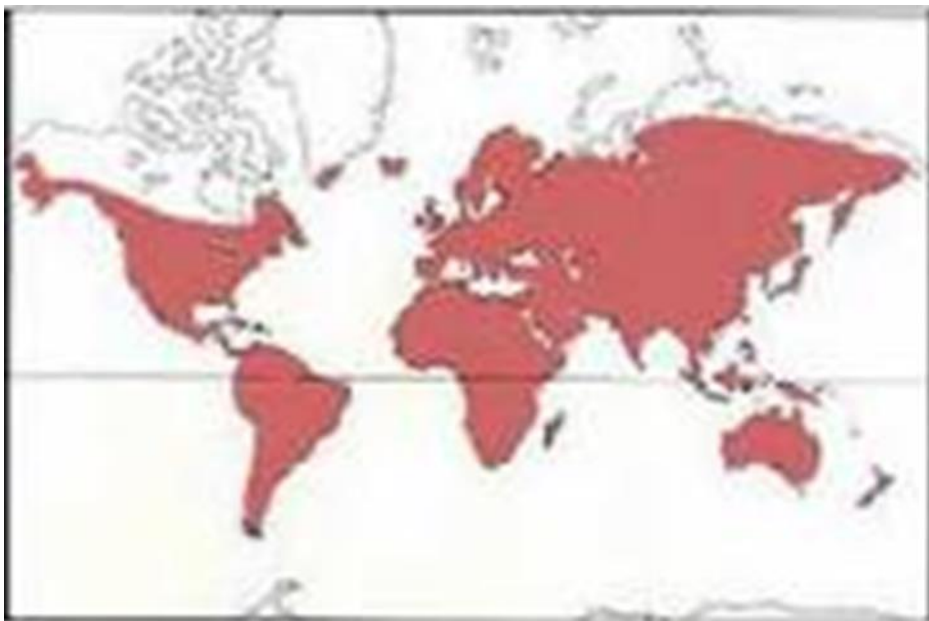
# **Synthèse bibliographique**



## 1. La famille fabacée

Avec environ 770 genres et 19 500 espèces, la famille des Fabacée (Légumineuse) qui se situe chez les Angiospermes (plant à fleurs), est la troisième plus grande famille après celles des Astéracées et Orchidacées (Nadon et Jackson, 2020) et le deuxième sur le plan économique après les Poacées (Azani et al. 2017). Elle est divisée en trois sous-familles (Caesalpinioideae, Mimosoideae et Papilionoideae) (Lewis, 2013).

Cette famille est distribuée à travers le monde et se localise principalement dans les zones tropicales et tempérées. Cette famille est composée de variétés horticoles et beaucoup d'espèces sont récoltées pour la consommation humaine en raison de leur huile et leurs fibres. Elles sont aussi utilisées comme combustible pour leur bois et remèdes en médecine traditionnelle (Wojciechowski et al. 2004), et représentée par des plantes herbacées, annuelles ou vivaces, lianes ou plantes volubiles, arbustes et même arbres (Besbas, 2020). La majorité de leurs espèces vivent en symbiose avec une bactérie de genre *Rhizobium* qui se trouve au niveau du nodule racinaire et capable de fixer l'azote atmosphérique (Wojciechowski, 2004).



**Figure 1.** Répartition géographique des fabacées (Heywood, 1996).

## 2. Le genre *Ononis* L.

### 2.1. Historique

La Bugrane (*Ononis*) est une plante dont le nom dérive du mot grec ovoç (onos) qui veut dire l'âne, probablement en métaphore de celui qui travaille, qui fait un effort, alors que c'est celle du bœuf qui est utilisée dans l'appellation bugrane, dont l'étymologie est lat. vulgaire. Boveretina composé du lat. bos (boeuf) et retinter « arrêter » (Prodel, 2022).

### 2.2. Classification de genre *Ononis* L.

*Ononis* L. est un genre qui appartient à la tribu des trifolieae qui constitue une des 31 tribus relevant de la sous-famille des papilionoideae et compte environ 75 espèces, se répand en Europe, dans les îles de l'Atlantique, en Asie de l'Ouest et en Afrique du Nord et dans la région méditerranéenne (Willis, 1973).

En Algérie, on rencontre principalement les espèces suivantes (Quezel et Santa, 1963) :

*O. cenisia* L., *O. fruticosa* L., *O. spinosa* L., *O. hispida* Desf., *O. aragonensis* Asso., *O. minutissima* L., *O. pusilla* L., *O. serotina* Pomel., ***O. natrix*** L., *O. ornithopodioides* L., *O. biflora* Desf., *O. sicula* Guss., *O. antennata* Pomel., *O. pubescens* L., ***O. viscosa*** L., *O. incisa* Coss., *O. laxiflora* Desf., *O. reclinata* L., *O. pendula* Desf., *O. euphrasiaefolia* Desf., ***O. variegata*** L., *O. alopecuroides* L., *O. alba* Poiret., *O. crinita* Pomel., *O. avellana* Pomel., *O. rosea* Dur.



**Figure 2.** Carte de répartition géographique de genre *Ononis*. (POWO, 2023).

Classification **APGIII (2009)** :

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Clade</b>	Angiospermes
<b>Clade</b>	Eudicots
<b>Clade</b>	Eudicots supérieurs
<b>Clade</b>	Rosidées
<b>Clade</b>	Fabidées
<b>Ordre</b>	Fabales
<b>Famille</b>	Fabaceae
<b>Genre</b>	<i>Ononis L.</i> ,

### 2.3. Morphologie du genre *Ononis L.*

Plantes vivaces ou ligneuses, annuelles comportant calice à tube glanduleux en dedans et à 5 divisions profondes et subégales. Folioles denticulées et des fleurs roses, blanches ou purpurines. Etamines monadelphes, à anthères toutes semblables ou 5 grandes et 5 petites. Ovaire poilu, Style subulé, genouillé et ascendant. Gousse sessile ou subsessile, déhiscence, saillante ou incluse, de forme variable mais généralement renflée. Feuilles trifoliolées en général (parfois unifoliolées ou multi-foliolées) (Quezel et Santa, 1962).

En 2019, Fayed et ses collaborateurs trouvent des similarités morphologiques entre quelques espèces du genre *Ononis*, telle que :

- Les fleurs sont disposées sur des inflorescences en racème ou en épi, les pédoncules floraux ne s'allongent pas pour former de l'arista, le calice est plus mince que la corolle, graines de couleur foncée et tuberculées pour *O. diffusa*, *O. mitissima*, *O. Serrata*.

Les espèces *O. vaginalis*, *O. sicula*, *O. natrix*, *O. viscosa* caractérisés par feuilles trifoliées comme type dominant de feuilles, stipulant sa grande, verte et glandulaire, des fleurs jaunes, glabre standard avec dépouillées par des veines rougeâtres ; pédicelles floraux sont longs ; pédoncules allongées pour produire l'arista, les plantes sont couvertes de triches hétéros indument se compose de trichomes glandulaires et non glandulaires.

## 2.4. Usage traditionnel et propriétés biologiques

En médecine traditionnelle, les espèces du genre *Ononis* L. montre qu'elles ont des propriétés thérapeutiques intéressantes pour guérir diverses maladies telles que le traitement de l'ictère, les troubles des voies urinaires, l'herpès et les maladies de la peau (Bellakhdar, 1997 ; Nawasrehet al., 2004; Talib et Mahasneh, 2010). Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de grande importance pharmacologique :

- les racines d'*Ononis spinosa* L., d'*Ononis arvensis* L., d'*Ononis hircina* Jacq. et d'*Ononis antiquorum* L. sont connues pour être utilisées contre les irritations de la peau, les démangeaisons, les blessures et les dermatites en Asie centrale et en Russie.

- *Ononis spinosa* utilisée comme remède populaire contre les maladies des voies urinaires et les calculs rénaux en raison de son effet anti-inflammatoire et diurétique, ainsi que contre l'eczéma (Öz et al., 2017).

- *Ononis natrix* : les racines et les fleurs sous forme d'infusion, sont utilisées pour le traitement de certains troubles de l'appareil urinaire (Bellakhdar, 1997).

- *Ononis sicula* : les parties aériennes de cette espèce sont utilisées contre les cancers de la peau (Talib et Mahasneh, 2010).

Les travaux pharmacologiques réalisés sur le genre *Ononis* L. montrent qu'un certain nombre d'espèces possèdent des activités biologiques : antimicrobienne, antioxydant (Mhamdi et al. 2015), antiinflammatoire et effet de cicatrisation (Süntar et al. 2011), cytotoxique (Ghribi et al. 2016), analgésique (Mamedov et al. 2005), antiprolifératrice, antifongiques (Talib et Mahasneh, 2010), et antibiofilme (Stojković et al. 2020). Outre la propriété apéritives, anesthésiques, anti-infectieuses, anti-inflammatoires, hépato-protecteur, neuroprotectrices, anticancéreux, et antimicrobienne... etc. (Reggadi, 2021).

## 2.5. Travaux antérieurs réalisés sur le genre *Ononis* L.

Les études phytochimiques réalisées sur le genre *Ononis* ont mis en évidence la présence de sucre, du tannin, de la saponine, des lectines, des dérivés flavonoïdes (tels que trifolirhizin, ononin, formononetin, génistéïn, génistin, biochanine, daidzin, glycitin, glycitéïn, sissotrin) (Öz et al. 2017), isoflavones et les acides phénoliques ont été décrits dans *Ononis spinosa* L. (Gampe, 2016), et les constituants phénoliques dans la racine d'*Ononis vaginalis* Vahl. (Abdel-

Kader, 2001) plus de 20 aglycones flavonoïdes dans *Ononis fruticosa* L., *Ononis natrix* L., *Ononis tridentate* L. (Wollenweber, 2003). Des glycosides d'isoflavone comme l'ononine et le 7-O- $\beta$ -Dglucopyranoside de la formononésine, avec des propriétés phytoestrogènes, ont été identifiés dans la racine d'*Ononis angustissima* L. (Ghribi, 1995).

### 3. L'espèce *Ononis natrix* L.

#### 3.1. Description botanique

L'espèce *Ononis natrix* L. est une plante herbacée, vivace entre 10-60 à 100 cm (Fayed, 2019), d'une odeur désagréable (Couplan, 2012) qui possède une tige ramifiée, légèrement ligneuse à la base (Debbi et Guerrouche, 2019). Feuilles de la tige trifoliolées, pétiolées, les florales simples, à folioles obovales ou oblongues, opaques, denticulées, la terminale pétiolulée. Stipules ovales-lancéolées, plus courtes que le pétiole. Fleurs jaunes striées de pourpre, grandes, dressées-étalées, en grappes denses et feuillées. Pédoncules articulés, aristés, égalant ou dépassant les feuilles. Calice à lobes trois à quatre fois plus longs que le tube. Corolle une fois plus longue que le calice. Gousse de 15 à 20 mm sur 3 à 4, saillante, pendante, linéaire-comprimée, velue. (Henaoui, 2015). Une racine pivotante et un nombre très limité des racines secondaires dépourvues de chevelus (El Mrabet et al. 2017), à une relation symbiotique avec certaines bactéries du sol, ces bactéries forment des nodules sur les racines et fixent l'azote atmosphérique (Allen, 1981).



**Figure 3.** L'espèce *Ononis natrix* L. (Benhizia, 2022).

## 3.2. Exigence édapho-climatiques

L'espèce *Ononis natrix* L. Cette espèce existe dans les régions méditerranéennes (Rocha, 2018) de climat aride ou semi-aride et au sol de structure sablonneuse faible en éléments nutritif, pH proche de la neutralité. Aussi, cultivé sur un sol calcaire ou sur un sol non calcaire à condition de supprimer la lutte avec les autres plantes car elle est une plante calcicole (Schimper et Fisher, 1903 ; Hatimi et Tahrouch, 2007).

## 3.3. Intérêt économique

### 3.3.1. Pharmacologique moderne

De nombreuses recherches sur l'activité biologique d'*ononis natrix* ont été effectuées :

- les constituants antibactériens et les activités cytotoxiques d'*Ononis natrix* ont été évalués. Les extraits ont inhibé la croissance du *Bacillus subtilis* et du *B. brevis* à Gram positif (CMI 12,5 à 50 µg .ml<sup>-1</sup>) et étaient cytotoxiques pour la lignée cellulaire du cancer du sein MDA MB-231 (CI50 29 à 41 µml<sup>-1</sup>) ( Al-Zereini, 2017).
- l'extrait foliaire a montré une activité antioxydante totale élevée et une activité à large spectre significative contre tous les micro-organismes testés avec des tailles de zone d'inhibition bactérienne allant de 8,5 à 17 mm de diamètre (Mhamdi et al. 2015).
- l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*ononis natrix* a été évaluée contre plusieurs souches et s'est révélée importante contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Escherichia coli* (ATCC 25922) (Elamrani et Benaissa, 2010).

### 3.3.2. Médecine traditionnelle

- Les œufs cuits en décoction avec des plantes fraîches sont utilisés chaque matin avant le petit déjeuner pour traiter la jaunisse (un œuf par jour).
- Le décocté des feuilles est employé comme antidiabétique (poignée/verre, 250g/1L).
- Le décocté des feuilles fraîches est utilisé comme antidiabétique (250g/2L) (Ghourri et al. 2012).

## 4. L'espèce *Ononis viscosa* L.

### 4.1. Description botanique

Plante annuelle de 15-40 cm, dressée, hérissée de longs poils blancs étalés mêlés aux poils glanduleux ; les feuilles pétiolées, les inférieures et les supérieures simples, les moyennes trifoliolées, à folioles ovales ou oblongues, dentées, la terminale pétiolulée, stipules lancéolées, dépassant le pétiole. Les fleurs jaunes, assez petites, axillaires, en longues grappes lâches et feuillées, pédoncules filiformes, articulés, plus longs que la feuille, à arête 1-2 fois plus longue que le pédicelle, et un calice à lobes linéaires, trinervés, 3-4 fois plus longs que le tube. La corolle dépassant un peu le calice. La gousse de 12-15 mm, saillante, pendante, oblongue-cylindrique, velue. Sa saison de floraison est entre mars-juin. Elle se trouve dans le sable côtier et désert pierreux (Fayed et al. 2019).

### 4.2. Répartition géographique

*Ononis viscosa* L. est une espèce méditerranéenne située au nord de l'Europe centrale (Chypre, Baléares, Grèce ; Sicile, Italie, Albanie, Espagne, France et Portugal) et vers le sud vers l'Asie occidentale (Turquie, Iran, Irak, Liban, Jordanie et Syrie) et les côtes nord-africaines en Libye, Maroc, Algérie et Tunisie (Greuter et Raus, 1989).

### 4.3. Utilisation médical

Les extraits d'*Ononis viscosa* montrent :

- une activité antimicrobienne contre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* et les activités des deux espèces de *Staphylococcus aureus*.
- l'extrait d'éther de pétrole de la plante a montré des activités anticholinestérase et anti-uréase plus fortes par rapport aux autres extraits.
- l'extrait au méthanol d'*O. viscosa* est efficace sur la souche *Candida albicans* et a une capacité de piégeage des radicaux DPPH et de réduction ferrique/antioxydante plus forte que l'autre extrait (Sena Muş, 2022).

L'espèce *Ononis viscosa* L. possède une activité anti bactérienne contre les bactéries Gram (+) (Diaz, 1989).

## 5. L'espèce *Ononis variegata* L.

## 5.1. Description botanique

*Ononis variegata* L. est une plante herbacée annuelle de 10 à 30 cm de haut. Les tiges ascendantes, ligneuses pendant la floraison, glandulaires densément collantes et souvent couvertes de grains de sable. Feuilles alternes ; stipules lancéolées, de 5–6 mm de long et d'environ 3 mm de large, dentées ; le limbe est réduit à une seule foliole ovale d'environ 2–17 mm de long et 2–7 mm de large, souvent pliée le long de la nervure médiane, grossièrement dentée à la marge. Fleurs forment une grappe, poussant à l'aisselle d'une feuille de support ; les pédicelles mesurent 1–3 mm de long ; calice de 5–6 mm de long, segmenté presque jusqu'à la base ; la corolle est jaune, de 6–10 mm de long. Fruits une gousse ovoïde à fusiforme de 0,8–1,1 cm de long. Graines réniformes (Grulich, 2019).



Figure 4. L'espèce *Ononis viscosa* L. (Powo, 2023).

## 5.2. Répartition géographique

Cette espèce existe dans les Littorales méditerranéens et sable maritime, s'étendant de la Côte d'Afrique du Nord (Libye, Algérie, Maroc et Tunisie) vers le sud de l'Europe (Corse, Crète, Chypre, Grèce, Sicile, Italie, Espagne, Albanie, Malte, Portugal et Sardaigne) et le nord-ouest de l'Asie en Turquie, Palestine, Jordanie, Liban et Syrie (Fayed et al. 2019). Aussi, elle peut être vu dans les pinèdes (Flora-On, 2023).

## 6. Caractère cytologique de genre *Ononis* L.

Les données cytogénétiques sont rares. Le nombre de base du genre *Ononis* L. est  $x = 15$  chromosomes. Certains chercheurs considèrent que la présence de chromosomes à fortes constriction explique les erreurs de comptage; tous les comptages à  $2n = 32-64$  devraient alors



être corrigés en  $2n = 30-60$  chromosomes. Cependant, les genres voisins étant basés sur  $x = 8$ , on peut penser que les bugranes ont un nombre aneuploïde dérivé du nombre paléotétraploïde  $2n = 32$ . Rien n'empêche donc qu'une variabilité existe chez certaines espèces qu'il faut vérifier chez *Ononis natrix* L. et *Ononis spinosa* L. (Sanudo et al. 1979).

L'espèce *O. natrix* est en général diploïde ( $2n = 30$ ). Comme pour *O. spinosa*, certains auteurs signalent des populations à  $2n = 32(-64)$ , apparemment sans lien avec la variabilité infraspécifique. Cependant, pour cette espèce, les comptages à  $2n = 32$  chromosomes dominent! Seul Baltisberger et Widmer (2006) en commentant une sous-espèce non francilienne, attribue ce nombre à la mauvaise interprétation de deux chromosomes à fortes constrictions ; les méthodes de préparation des coupes pourraient également provoquer leur disjonction ? Le nombre originel  $2n=32$  ne peut cependant être exclu : à vérifier avec beaucoup de précautions ! Les comptages tétraploïdes méritent une confirmation. *Ononis pusilla* en général diploïde ( $2n=30$ ). De rares comptages tétraploïdes qui sont considérés pour l'instant comme accidentels !

*Ononis spinosa* présente des cytotypes  $2x'$ - ( $3x'$ )- $4x'$  ( $2n=30$  ou  $60$ ). La répartition des cytotypes correspond à la séparation des deux sous-espèces : le type est diploïde ( $2n=30$ ), et la subsp. *maritima* tétraploïde ( $2n=60$ ). Cet état de fait s'observe au Royaume-Uni et en Suède. La situation semble plus confuse en Europe centrale où d'autres sous-espèces continentales sont signalées. De même, les auteurs espagnols indiquent une situation pratiquement inversée : la variabilité infraspécifique mérite donc de nouvelles recherches, avec une redéfinition des différents taxons (Kloda et al. 2008 ; Morisset, 1978).

## **7. Notion caryotypique**

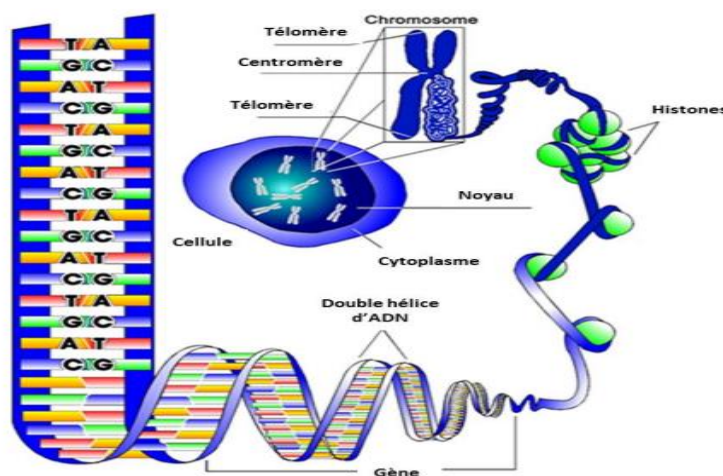
La cytogénétique est un outil important pour évaluer la biodiversité. La cytogénétique peut fournir des informations précieuses sur le nombre de chromosomes, le caryotype, le niveau de ploïdie ou la taille du génome. Chester et al. (2010) disent dans un avenir proche, il y'aura des méthodes cytogénétiques pour l'amélioration végétale et la recherche sur la biodiversité.

La cytogénétique est une discipline d'investigation. Elle a contribué à la compréhension des mécanismes héréditaires de la nouvelle classification du monde végétal (taxonomie et phylogénie). L'hybridation fluorescente in situ (FISH) et l'hybridation génomique in situ (GISH) sont des techniques de l'aspect moléculaires des chromosomes.

Elle participe à connaître le matériel végétal (nombre de chromosomes, niveau de ploïdie), établissement de cartes génétiques par production et étude de l'aneuploïde, exploitation interspécifique, intra spécifique ou de variabilité induite et aussi, peut être utilisée pour la création variétale en participant à l'explication et la résolution des problèmes ponctuels qui font face aux sélecteurs (instabilité, stérilité) (Jahier et al. 1992).

Chaque organisme a une forme et un nombre de chromosomes différents, et donc un caryotype différent (Devadas et al. 2010). Le caryotype est la disposition chromosomique complète d'un individu ou d'une espèce montrant le nombre, la taille, la forme et les caractéristiques morphologiques des chromosomes et peut être défini comme le phénotype d'un chromosome, qui comprend les caractéristiques structurales du chromosome, y compris le nombre, la forme, l'emplacement des centromères, la distribution de l'euchromatine et de l'hétérochromatine, et la taille des satellites (Dwiyani et al. 2015).

Bien qu'elle ait été découverte il y a plus d'un siècle, l'assemblage et le maintien des chromosomes demeurent un mystère (Almagro, 2003). Au début des années 1900, la théorie de l'hérédité de Morgan a proposé que les gènes faisaient partie des chromosomes, un concept auquel Sotton et Bover ont fait écho (Griffith et al. 2013). Ces corps ressemblant à des vers avec des marques distinctes résident dans le noyau et sont composés d'environ un tiers d'ADN, un tiers de protéines histone, et un tiers de protéines non histone. Au cours de chaque division cellulaire, une forme de chromatine caractéristique en forme de bâton se manifeste : le centromère. Il devient visible dans la métaphase et est composé de deux chromatides étroitement



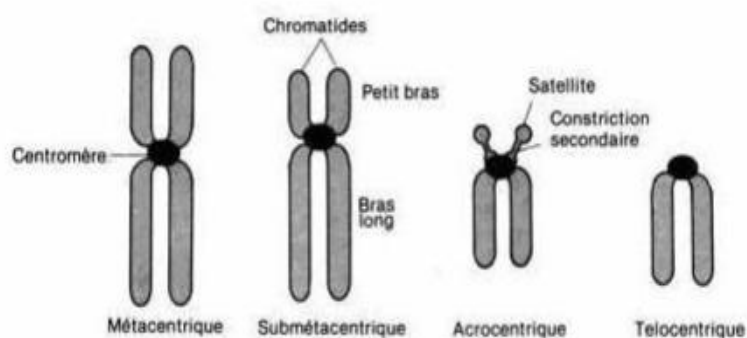
liées. Selon des sources comme (Griffith et al. 2002; Almagro, 2003)

**Figure 5.** Schéma d'un chromosome métaphasique (World Health Organization, 2013).

La chromatine dépend du matériau qui forme les chromosomes, ainsi que de l'ADN et des protéomes. Selon la coloration chimique, il peut être divisé en deux régions (ADN condensé), à savoir l'hétérochromatine. Cependant, la région de faible chromatine (ADN détendu) est euchromatine, qui contient la plupart des gènes actifs (codant l'ADN) (Vincent et al. 2007).

La forme des chromosomes, qui est déterminée par la position du centromère, peut être classée en quatre types :

- chromosome métacentrique : leur centromère positionné au centre, ce qui donne des bras de longueurs à peu près égales,
- chromosome submétacentrique : le centromère positionné presque centralement, et leurs chromatides se composent de bras inégaux, avec un bras 'p' plus court et un bras 'q' plus long,
- chromosome acrocentrique : le centromère est plus proche de l'une des deux extrémités (les télomères) le bras court est très bref,
- chromosome télocentrique : Il est défini comme un chromosome avec un centromère qui est à proximité de ses télomères. Si le centromère est perdu en raison d'une anomalie, le chromosome est appelé acentrique. Il y a d'autres anomalies qui peuvent se produire, résultant en un chromosome avec deux centromères, qui est appelé un chromosome dicentrique. Ce type de chromosome est connu pour être instable et peut se briser pendant la méiose (Lemonde et Clement, 1983) (Figure 6).



**Figure 6.** Schématisation des différents types de chromosome

## 7.1. Le caryotype

Un caryotype n'est rien de plus qu'une photo prise lorsque les chromosomes sont visibles (Caquet, 2010). Le premier niveau dans l'étude de la structure physique du génome est l'observation microscopique. Elle se déroule à différents stades du cycle cellulaire, au cours desquels les chromosomes sont bien individualisés et adoptent une morphologie optimale (plaque métaphasique du noyau en mitose) ou décondensée (phases pachytène et diptène de la première méiose). On peut alors compter les chromosomes et observer leur morphologie (Morot-Gaudry et Briat, 2004).

La description de la morphologie des chromosomes fait intervenir différents paramètres tels que : la taille des centromères, la position, la présence de satellites et le rétrécissement mineure. D'autres traits sont également utilisés dans les études de caryotype ; longueur du bras long (BL), longueur du bras court (BC), longueur totale des chromosomes  $LT=BL+BC$ , longueur totale relative des chromosomes  $LTR= (LT/\Sigma LT) \times 1000$ , asymétrie du caryotype telle que mesurée par l'indice d'asymétrie, rapport de la paire de chromosomes la plus longue à la paire de chromosomes la plus courte  $r=BL /BC$ , indice centromérique pour chaque paire chromosomique  $Ic\% = (BC / LT) \times 100$  (Tableau 1).

Par conséquent, le caryotype se compose de deux parties :

- diagramme du caryotype : représentation systématique des chromosomes,
- idiogramme : diagramme schématique des chromosomes.

**Tableau 1.** Nomenclature chromosomique (Levan et al. 1964).

<b>Position du centromère</b>	<b>d</b>	<b>r</b>	<b>Ic</b>	Type chromosomique
<b>Position Médiane</b>	<b>00.0</b>	<b>0-1.0</b>	<b>50.5</b>	M
<b>Région Médiane</b>	<b>00.0-02.0</b>	<b>1.0-1.7</b>	<b>50.5-37.5</b>	m
<b>Région submédiane</b>	<b>02.5 – 05.0</b>	<b>1.7 – 3.0</b>	<b>37.5 – 25.0</b>	sm
<b>Région subterminale</b>	<b>05.0 – 07.0</b>	<b>3.0 – 7.0</b>	<b>25.0 – 12.5</b>	st
<b>Région Terminale</b>	<b>07.5 – 10.0</b>	<b>7.0 – l’infini</b>	<b>12.5 – 00.0</b>	t
<b>Position terminale</b>	10.0	<b>l’infini</b>	00.0	t

**M** : métacentrique senso largo, **m** : métacentrique, **sm** : Submétacentrique, **st** : subtélocentrique **t** : acrocentrique, **T** : télocentrique, **r** : bras long / bras court, **d** : bras long – bras court, **Ic** : indice centromérique

## **Chapitre II :**

# **Matériels et Méthode**

## 1- Matériel

Le matériel d'étude provient de trois (3) espèces sauvages poussant dans des conditions naturelles et appartenant au genre *Ononis* : *Ononis viscosa* L., *Ononis natrix* L. et *Ononis variegata* L. La récolte des graines a été réalisée en 2022 par Dr. Baziz et Pr. Benhizia, pendant l'été (les mois de juin et juillet). L'identification des espèces a été faite sur la base de la flore d'Algérie de Quezel et Santa (1962) (Tableau 2).

Le travail est réalisé dans le laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales à l'université Frère Mentouri- Constantine 1 pendant environ trois (3) mois.

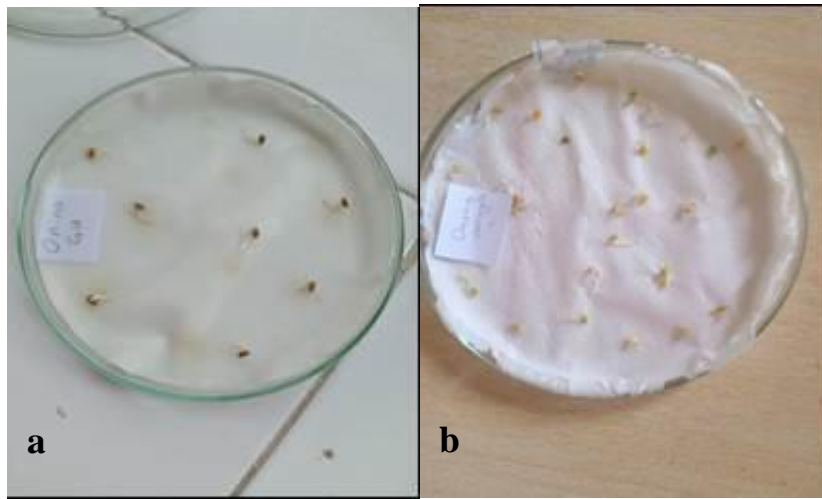
**Tableau 2.** Origine géographique et étage bioclimatique des espèces étudiées

L'espèce	Localisation	Etage bioclimatique	Date de récolte
<i>Ononis natrix</i> L.	Guelma	Subhumide	2022
<i>Ononis viscosa</i> L.	Constantine	Semi-aride	2022
<i>Ononis variegata</i> L.	Boumerdes	Subhumide	2022

## 2- Méthode

### 2-1- Germination des graines

Pour l'étude des chromosomes mitotiques, nous avons travaillé sur des méristèmes racinaires des graines sont scarifiées pour lever la dormance tégumentaire. Après scarification, les graines sont mises à germer dans des boîtes de Pétri tapissées de papier filtre imbibée d'eau distillé à la lumière et à température ambiante pendant plusieurs jours allant de 04 à 06 jours (*O.natrix* et *O.viscosa*), 07 à 09 jours (*O. variegata*).



**Figure 7.** Germination des graines (a) *Ononis variegata* L (b). *Ononis natrix* L

## 2-2- Prélèvement

Pour ces échantillons de méristèmes racinaires, nous avons tenté de déterminer le moment de la journée où le coefficient mitotique était le plus important. Pour nos trois espèces, c'était entre 8h 30min et 9h du matin.

## 2-3- Prétraitement

Après avoir atteint une longueur de 0.9 à 1,3 cm, les méristèmes racinaires sont prétraités dans une solution de la 8-hydroxyquinoléine à 0.002 M pendant une période de 3 h pour *O. natrix* L., *O. viscosa* L. et 3h 30min pour *Ononis variegata* L. Cet agent a pour effet de bloquer les divisions mitotiques au stade métaphasique.

## 2-4- Fixation

Le fixateur permet de :

- détruire toute vie cellulaire, en préservant le noyau et son contenu,
- bloquer les divisions cellulaires en conservant l'intégrité structurale des chromosomes.

Les méristèmes racinaires sont fixés dans une solution d'alcool acétique (3V : 1V) pendant 48h au réfrigérateur à 4° C.

## 2-5- Stockage et Conservation



Les méristèmes racinaires peuvent être conservés dans l'éthanol à 70% au réfrigérateur à 4 °C pendant plusieurs mois jusqu'à la réalisation des écrasements.

## **2-6- Hydrolyse**

Pour ramollir les méristèmes, facilitant leur coloration et leur fragmentation, l'hydrolyse est réalisée en solution HCl (1N) à 60°C pendant 12 à 14 minutes selon l'espèce, ce qui libère les groupements aldéhydes de la molécule d'ADN (détachant ainsi les bases puriques).

## **2-7- Digestion enzymatique**

Pour assurer un bon étalement des cellules et obtenir les chromosomes dans le même plant, une macération enzymatique est réalisée dans une goutte de l'enzyme R (péctinocellulase) à 37° C pendant 15 à 20 min.

## **2-8- Coloration**

Après la digestion, les méristèmes racinaires sont colorés à l'acéto-orceine pendant 15 min ou plus à la lumière et à température ambiante. Le colorant se fixe sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse et va donner une coloration rouge aux chromosomes à l'observation microscopique. Nous avons également utilisé la coloration au réactif de Schiff qui se fait à l'obscurité et à température ambiante. Cette méthode a été décrite pour la première fois par Feulgen en 1929.

## **2-9- Ecrasement**

La majorité des techniques présentées concernent les mitoses dans les méristèmes racinaires. Dans ce cas, la zone méristématique hydrolysée et colorée et 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 de dispersion des chromosomes.

## **2-10- Montage et conservation des lames**

Les lames sont conservées au congélateur à température de -80 °C. Les lames conservées sont

ensuite délamellées, séchées et montées dans un liquide de montage (depex) pour les conserver définitivement.

## **2-11- Observation microscopique et photographies**

Les cellules de la pointe racinaire sont observées et repérées au microscope photonique à l'objectif (**X 10**). Le stade de métaphase pour l'ensemble des cellules est repéré au grossissement (**X 50**). Les cellules qui ont des chromosomes bien étalés, bien colorés sont photographiées avec un microscope ZEISS muni d'une caméra. Les photos sont prises à l'objectif **X100**.

## **Chapitre 3:**

# **Résultats et discussion**

L'objectif de ce mémoire était d'établir le caryotype de trois espèces végétales spontanées du genre *Ononis* L. Ces espèces présentent un intérêt économique car elles sont utilisées dans plusieurs domaines surtout en tant que plantes médicinales. Nous avons rencontré plusieurs difficultés lors de la germination des graines de ces espèces. Nous avons déterminé l'heure de prélèvement, la durée de la germination et le temps de prétraitement. Le taux de graines germées était faible surtout pour l'espèce *Ononis viscosa* L., sur 20 graines, deux graines germent.

Le deuxième obstacle au niveau de la membrane des cellules, malgré l'utilisation d'une digestion enzymatique, les chromosomes restent à l'intérieur de la cellule et comme leur nombre dépasse 20, ils restent sur deux niveaux. Nous avons réalisé plusieurs tentatives pendant plusieurs semaines mais en vain. Pour toutes ces raisons nous nous sommes contentés d'un dénombrement chromosomique de ces trois espèces.

### **1-Etude de la mitose**

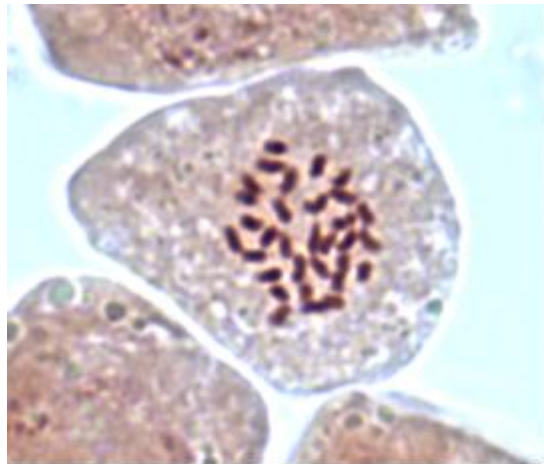
La mitose ou division cellulaire est un mode de reproduction asexuée des cellules eucaryotes permettant leur multiplication. Elle conduit, à partir d'une cellule mère, à la formation de deux cellules fille identiques génétiquement, entre elle est avec la cellule mère, car au cours de ce processus, les chromosomes de la cellule mère sont dupliqués et répartis également entre les cellules filles.

Le stade de la métaphase est caractérisé par la disposition médiane des chromosomes ou ces derniers sont bien visibles et ils atteignent leur condensation maximale. Pour observer aisément les différentes phases de la mitose et les chromosomes, il est préférable d'utiliser de jeunes organes dans lesquels les mitoses sont nombreuses.

### **2-Dénombrement chromosomique**

Trois espèces du genre *Ononis* L. poussant spontanément en Algérie ont fait l'objet d'un dénombrement chromosomique dans le but de déterminer les similitudes et les différences entre ces taxons. L'observation des plaques métaphasiques de plusieurs individus a montré des nombres chromosomiques différents chez ces trois espèces.

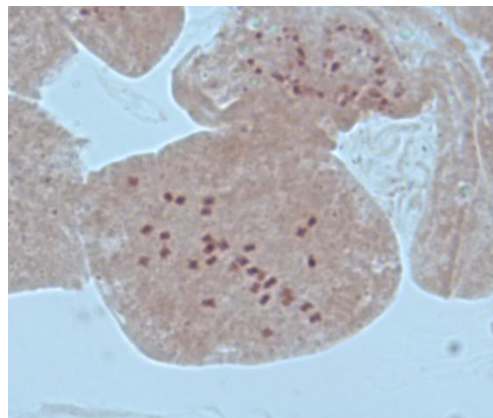
Les résultats obtenus pour l'espèce *Ononis natrix* montre un nombre chromosomique  $2n = 32$  soit  $n = 16$  chromosomes (**Figure 8**).



**Figure 8.** Plaqué métaphasique à  $2n=32$  Chromosome se l'espèce *Onois natrix L.*

Ce résultat de  $2n = 32$  chromosomes, rejoint ceux obtenus par différents auteurs pour *O.natrix* (Natarajan 1978 ; Sañudo, A., Rejón, M. R., Pretel, A. 1979); Jauzein, 2020).

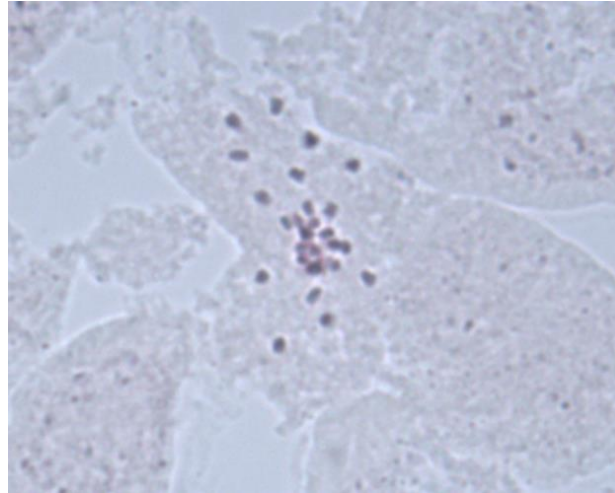
Les résultats obtenus pour l'espèce *Ononis viscosa* montre un nombre chromosomique  $2n = 32$  soit  $n = 16$  chromosomes (**Figure 9**). Ce résultat de  $2n = 32$  chromosomes, rejoint ceux obtenus par différents auteurs pour *O.viscosa L.* (Fernandes et al., 1977 ; Fernandes et Queiros 1978 ; Colombo et al. 1980 ; Runemark, 2006).



**Figure 9.** Plaqué métaphasique à  $2n=32$  de l'espèce *Ononis viscosa L.*

Les résultats obtenus pour l'espèce *Ononis variegata* montre un nombre chromosomique  $2n = 26$  chromosomes (**Figure 10**). Ce résultat de  $2n = 2x = 26$  chromosomes peut aider à résoudre le

conflit du nombre chromosomiques de cette espèce par les chercheurs ( $2n=16-30$ ) (Sanudo et al. 1979, Runemark, 2006).



**Figure 10.** Plaque métaphasique à  $2n=26$  chromosomes de l'espèce *Ononis variegata* L.

Trente-trois (33) espèces du total de 40 citées dans la Flore espagnole ont fait l'objet d'une étude cytogénétique. Dix-neuf (19) nombres chromosomiques sont déterminés pour la première par fois une analyse méiotique pour la plupart des espèces. Tous les nombres chromosomiques des taxa espagnoles analysés jusqu'à présent se distribuent entre les nombres:  $n = 15$ ;  $n = 16$ ;  $n = 30$  et  $n = 32$ .

# **Conclusion**

## Conclusion

Les Fabacées sont une des plus grandes importantes familles parmi les dicotylédones .C'est un groupe représenté par plus de 20 000 espèces cosmopolites des régions froides à tropicales, qui se caractérisent par une fonction symbiotique ‘la fixation d’azote atmosphérique grâce aux bactéries présentes dans leurs nodosités’. Elles sont l’une des grandes familles qui alimente l’homme car elles possèdent une source alimentaire de premier ordre, et aussi utilisées comme ressource médicale dans presque toutes les cultures.

La recherche bibliographique menée sur les espèces du genre *Ononis* montre qu’elles ont des propriétés thérapeutiques intéressantes. Les espèces du genre *Ononis* L., ont été signalés comme possédant des activités pharmacologiques en raison de leurs propriétés apéritives, anti-œdémiques, antiscorbutiques, antiseptiques, cardiotoniques, dépuratives, diurétiques, oestrogéniques, hémolytiques, litholytiques, antibactériennes, analgésiques, anti-inflammatoires, antivirales, cytotoxiques, antioxydantes (Erdemgil et al. 2002 ; Duke et al. 2002 ; Deliorman et al. 2012), antifongique (Altuner et al. 2010), antiprolifératif (Talib, 2010), antilipase (Bustanji et al. 2011), antitumoral (Talib et Mahasneh, 2012) et effets cicatrisants (Altuner et al. 2010 ; Süntar et al. 2011). De plus, la partie aérienne d'*Ononis arvensis* a été utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les infections des voies urinaires et les maladies de la peau. Dans différentes régions de la Turquie, les différentes espèces d'*Ononis* ont été utilisées pour leurs effets diurétiques, antiseptiques et antimicrobiens (Baytop, 1999).

Les études cytogénétiques sont une étape très importante dans la compréhension et l'avancement du développement des plantes. Dans la littérature, il existe très peu d'études cytogénétiques du genre *Ononis*. Les travaux menés sur le genre *Ononis* méritaient d’être complétés par une approche cytogénétique.

L’objectif de ce travail était une contribution à la caractérisation cytogénétique de trois espèces du genre *Ononis* L. A cause des difficultés rencontrées sur le plan pratique (la paroi cellulaire dense, chromosomes de petite taille), nous avons réalisé uniquement un dénombrement chromosomique en utilisant la technique de Feulgen ou coloration au réactif de Schiff.

Le nombre chromosomique de trois espèces du genre *Ononis* a été déterminé. L'analyse de plusieurs plaques métaphasiques montre  $2n = 32$  chromosomes chez l’espèce *Ononis natrix* et *Ononis viscosa*. L’espèce *Ononis variegata* présente un nombre différents  $2n = 24$  chromosomes. Nos résultats rejoignent ceux obtenus par différents auteurs.



Aussi, suite aux travaux de terrain réalisés, il a été constaté que les aires de répartition d'*O. natrix* et d'*O. viscosa*, se sont rétrécies. Si les mesures nécessaires ne sont pas prises, ces espèces pourraient être sérieusement menacées à l'avenir. Aussi, les graines doivent être conservées dans des banques de gènes.

Bien que le genre *Ononis* ne soit peut-être pas aussi bien connu que d'autres genres de plantes, son adaptabilité, son importance écologique, son potentiel médical, sa valeur ornementale et son soutien à la faune en font un groupe digne de mention dans la grande famille des légumineuses. En perspective, il serait souhaitable de continuer ce travail afin d'établir le caryotype des espèces du genre *Ononis*.

## **Références Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

**Abdel-Kader, M. S. (2001).** Phenolic constituents of *Ononis vaginalis* roots. *Planta Medica*. 67(4): 388-390.

**Allen, O. N., Allen, E. K. (1981).** *The Leguminosae, a source book of characteristics, uses, and nodulation*. Univ of Wisconsin Press.812p.

**Almagro, S. (2003).** Organisation structurale et fonctionnelle des chromosomes. Biologie cellulaire, Th doc, Université Joseph-fourier, Grenoble I (Th. doc): 17-39.

**Altuner, E. M., Ceter, T., İşlek, C. (2010).** Investigation of antifungal activity of *Ononis spinosa* L. ash used for the therapy of skin infections as folk remedies. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 44(4), 633-639.

**Al-Zereini, W. A. (2017).** *Ononis natrix* and *Salvia verbenaca*: Two Jordanian medicinal plants with cytotoxic and antibacterial activities. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 23(1): 18-25.

**APG. (2016).**An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181 : 1–420.

**Azani, N., Babineau, M., Bailey, C. D., Banks, H., Barbosa, A. R., Pinto, R. B., ... , Zimmerman, E. (2017).** A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *taxon*, 66(1), 44-77.

**BALTISBERGER M. & WIDMER A., *Botanica Helvetica* 116(1) : 9-30 (p. 22), 2006.**

**Baytop, T. (1999).** *Therapy with Medicinal Plants in Turkey Past and Present*, 2nd ed. Nobel Tip Kitapevi, Istanbul.

**Baziz, K. (2017).** Organisation du génome et étude palynologique de quelques espèces algériennes du genre *Astragalus* L. Thèse doctoral. Université Frère Mentouri- Costantine1. 127p.

**Bellakhdar, J. (1997).** *La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle*. Ibis Press, Paris, France.

**Besbas, S. (2020).** Métabolites secondaires de *Ononis mitissima* L. (Fabaceae) et évaluation biologique. Thèse Doctoral. Université Hadj Lakhdar - BATNA 1. Faculté des Sciences de la Matière.179p.

**Bustanji, Y., Mohammad, M., Hudaib, M., Tawaha, K., Ihab, M. Al-Masri, H. S., AlKhatib, A. I., Alali F. Q. (2011).** Screening of some medicinal plants for their pancreatic lipase inhibitory potential. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2) : 81-88.

**Caquet (2010)** : 250 examens de laboratoire 11<sup>ème</sup> édition 2010 P 80-82 .

**Chester, M., A. R. Leitch, P. S. Soltis and D. E. Soltis. (2010).** "Review of the application of modern cytogenetic methods (FISH/GISH) to the study of reticulation (polyploidy/hybridisation)." *Genes* 1(2): 166-192.

**Colombo, P., Marceno, C., Princiotta, R. (1980).** Numeri cromosomici per la Flora Italiana (760–771) *Informatore Botanico Italiano ; Bolletino della Societa Botanica Italiana* 12 : 173–180.

**Couplan, F. (2012).** Les plantes et leurs noms: Histoires insolites. *Les plantes et leurs noms*, 1-224.

**Debbi, A., Guerrouche, I. (2019).** *Contribution à l'étude des statuts mycorhiziens de quelques plantes de Fabaceae de la région de M'sila (Algérie)*. Thèse Doctoral . Université Mohamed Boudiaf de M'Sila.56p.

**Deliorman Orhan, D., Özçelik, B., Hoşbaş, S., Vural, M.(2012).** Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turk. J. Biol.*, 36, 672–686.

**Devadas, R., Medhi, R.P., Das, S.P. (2010).** *J of Horticultural Sciences*, 5 (2).

**Diaz, R. M., Quevedo-Samiento, J., Ramos-Cormenzana, A., Cabo, P., Cabo, J. (1989).** Phytochemical and antibacterial screening of some species of Spanish Asteraceae. Part II. *Fitoterapia*. 60 : 353-355.

**Duke, J.A., Bogenschutz, M.J., Ducey, J., Duke, P.A.K. (2002).** *Handbook of Medicinal Herbs*, 2th ed. London.

**Dwiyani, R., Yuswanti, H., Darmawati, I. A. P., Suada, K., Mayadewi, N. N. A. (2015).** In vitro germination and its subsequent growth of an orchid of *Vanda tricolor* Lindl. Var . *suavis* from Bali on complex additives enriched medium. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 37(2): 144-150.

- El Mrabet, S., Msanda, F., El Mousadik, A., Ouahmane, L. (2017).** Evaluation du Pouvoir Mycorhizien des Sols Rhizosphériques de : *Chamaecytisus Albidus* et *Ononis natrix* dans la production de plants de qualité d'*argania spinosa* L. Skeels. *Am. J. innov. res. appl. sci.* 4(1): 44-51.
- Elamrani, A., Benaissa, M. (2010).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ononis natrix* from Morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(4): 477-488.
- Erdemgil, F. Z., Kurkcuoglu, M., Baser, K. H. C. (2002).** Composition of the essential oil of *Ononis viscosa* subsp. *breviflora*. *Chemistry of natural compounds*, 38, 565-567.
- Fayed, A. A. A., El-Hadidy, A. M., Faried, A. M., Olwey, A. O. (2019).** Taxonomic implications of multivariate analyses of Egyptian *Ononis L.* (Fabaceae) based on morphological traits. *Korean Journal of Plant Taxonomy*, 49(1): 13-27.
- Fayed, Abdel Aziz A., et al. (2019).** "Taxonomic revision of the genus *Ononis* (Trifolieae, Fabaceae) in Egypt, with the first record of *Ononis viscosa* subsp. *breviflora*." *Phytotaxa* 408.1 : 1-29.
- Fernandes, A., Queiros, M. (1978).** Contribution à la connaissance cytotoxinomique des Spermatophyta du Portugal, IV. Leguminosae (Suppl. 3) *Boletim da Sociedade Broteriana* 52 (2): 79–164.
- Fernandes, A., Santos, M.F., Queiros, M. (1977).** Contribution à la connaissance cytotoxinomique des Spermatophyta de Portugal. Leguminosae *Boletim da Sociedade Broteriana* 51 (2) : 137–186.
- Flora-On : Flora de Portugal Interactive. (2023).** *Ononis variegata* L. Société Portugaise de Botanique. [www.flora-on.pt](http://www.flora-on.pt). Consultation faite le 2-5-2023.
- Gampe, N., Darcsi, A., Lohner, S., Béni, S., Kursinszki, L. (2016).** Characterization and identification of isoflavonoid glycosides in the root of spiny restharrow (*Ononis spinosa* L.) by HPLC-QTOFMS, HPLC–MS/MS and NMR. *J Pharm Biomed Anal.* 123: 74-81.
- Ghourri, M., Zidane, L., ROCHDI, A., Fadli, M., DOUÏRA, A. (2012).** Etude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville d'El Ouatia (Maroc Saharien). *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 12(2): 218-235.

**Ghribi, L., Waffo-Téguo, P., Cluzet, S., Marchal, A., Marques, J., Mérillon, J. M., Jannet, H. B. (1995).** Isolation and structure elucidation of bioactive compounds from the roots of the Tunisian *Ononis angustissima* L 1\_Al-Khalil, S. N-Arachidylanthranilic acid, a new derivative from *Ononis natrix*, J. Nat. Prod.58:760-763.

**Griffith A., Warless, S. R., Carrol S. B., Doeby J. (2013).** Introduction à l'analyse génétique, 6ème édition, Ed De boeck, chap 1 : p2-4-6.

**Griffith, A., Miller, J. F., Suzuki, D. T., Lewontin, R. C., Gelbert, W. M. (2002).** Introduction à l'analyse génétique, 3ème édition, Ed de boeck : p860.

**Grulich, V. (2019).** *Ononis variegata* L.– jehlice / ihlica. BOTANY.cz. Consulté le 05 01, 2023, sur <https://botany.cz/cs/ononis-variegata/>

**Hatimi, A., Tahrouch, S. (2007).** Caractérisations chimique, botanique et microbiologique du sol des dunes littorales du Souss-Massa. *Biomatec Echo*, 2(5): 85-97

**Henaoui, I. E. (2015).** Le guide de la flore de Tlemcen (Algérie) : Tome II. Canada : Les Éditions du Net. 142p

**Heywood V.H. (1996).** Flowering Plants of the World. 3th edition, Oxford University Press, Oxford, pp. 141-145: 149-152.

**Issolah, R. (2019).** Congrès national sur les ressources phytogénétiques en Algérie : synthèse générale et recommandations. Synthèse, 18(1) : 67-81.

**Jahier J., Chever A.M., Eber F., Delourne R. Tanguy A.M. (1992).** Techniques de la cytogénétique végétale. Ed. INRA, Paris. 183p.

**Jauzein, P. (2020).** Cytotaxonomie de la flore francilienne - Flore d'Île-de-France tome 3. 229p. ISBN : 9782737120404.

**Judd, W., Campbell, C., Kellog, E.A. et Stevens, P. (2002)** "Botanique Systématique, une perspective phytogénétique", De Boer université, Louvain Le Neuve, Belgique. 467 p.

**Kloda, J. M., Dean, P. D. G., Maddren, C., MacDonald, D. W., Mayes, S. (2008).** Using principle component analysis to compare genetic diversity across polyploidy levels within plant complexes: an example from British Restharrow (*Ononis spinosa* and *Ononis repens*). *Heredity*, 100(3), 253-260.

**Lemonde, A. Clement, D. (1983).** Biologie cellulaire et moléculaire. Presses Université Laval. Paris.396-398.

**Levan A. and Freda K. (1964)** : Secondary associantion between genetically équivalent bivalents. *Hereditas*, 52. 201-220.

**Lewis, G. P. (2013).** A 2013 linear sequence of legume genera set in a phylogenetic context—a tool for collections management and taxon sampling. *South African Journal of Botany*, 89: 76-84.

**Mebarkia, A. (2011).** "Variabilité génétique et analyses agronomiques de quatre espèces de Vesces (*Vicia* spp.) Dans la région semi-aride de Sétif".Thèse de Doctorat. ENSA. 87 p.

**Mhamdi, B., Abbassi, F., Abdelly, C. (2015).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal *Ononis natrix* growing wild in Tunisia. *Natural product research*, 29(12): 1157-1160.

**Morisset, P. (1978).** Chromosome numbers in *Ononis* L. Series Vulgares Írj. *Watsonia*, 12, 145-153.

**Morot –Gaudry . (2004)** : la génomique en biologie végétale INRAA 2004 . 582 p.

Muş, Z.,Rayaman, P., Petek, V., Arslan, Ş., Ermanoğlu, M., Şahin, T., Taskin, T., Kılıç, Ö. (2022).Investigation of antioxidant, enzyme inhibition and antimicrobial effects of *Ononis viscosa*. Conference: 1st International Symposium of Biodiversity Studies.114p.

**POWO. (2023).** "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet, <http://www.plantsoftheworldonline.org/> Retrieved 22 May 2023.

**Prodel, M. (2022).** Noms Dialectaux Des Végétaux De La Corrèze. (n.p.): Books on Demand. 156p.

**Quezel P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1–2. CNRS, Paris, France.

**Quezel P., Snata S., Schotter O., 1962.** Nouvelle flore de l'algerie et des region désertiques méridionales, Edition du centre national.de la recherche scientifique 15, quai anatole-FranceParis 7. 477p.

- Rocha, J., R. Ramírez, M. Díaz, M. Martins, I. García-Cabral, F. Amich, R. Almeida, V. Carnide, I. Castro, and A. L. Crespi. (2018).** Morpho-environmental strategies in the genus *Ononis L.* (subsections *Natrix* and *Viscosae*) in Western Mediterranean. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 152(1): 14-30.
- Runemark, H. (2006).** Mediterranean chromosome number reports 16 (1473–1571). *Flora Mediterranea* 16: 408–425
- Sanudo, A., Rejon, M.R., Pretel, A. (1979).** Variabilité chromosomique chez les especes d’*Ononis* de la Flora Espagnole. Note preliminaire. *Webbia* 34: 535–542.
- Sanudo, A., Rejon, M.R., Pretel, A. (1979).** Variabilité chromosomique chez les especes d’*Ononis* de la Flora Espagnole. Note preliminaire. *Webbia* 34: 535–542. <https://doi.org/10.1080/00837792.1979.10670196>.
- Schimper, A. F. W., Fisher W. R. (1903).** *Plant-geography upon a physiological basis, Part 1*. Clarendon Press. Volume 2: 839p
- SÜNTAR, İ., BALDEMİR, A., COŞKUN, M., KELEŞ, H., KÜPELİ AKKOL, E. (2011).** Wound healing acceleration effect of endemic *Ononis* species growing in Turkey. *J. Ethnopharmacol.* 135: 63-70
- Talamucci, P., Chaulet, C. (1989).** Contraintes et évolution des ressources fourragères dans le bassin méditerranéen. In Proceedings of the XVI International Grassland Congress, Nice. 4-11.
- Talib, W. H., Mahasneh, A. M. (2010).** Antiproliferative activity of plant extracts used against cancer in traditional medicine. *Sci. Pharm.* 78: 33-45
- Talib, W. H., Mahasneh, A. M. (2012).** Combination of *Ononis hirta* and *Bifidobacterium longum* decreases syngeneic mouse mammary tumor burden and enhances immune response. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 8(3), 417-423.
- Vincent, A., Perrais, M., Desseyn, J. L., Aubert, J. P., Pigny, P., Van Seuningen, I. (2007).** Epigenetic regulation (DNA methylation, histone modifications) of the 11p15 mucin genes (MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6) in epithelial cancer cells. *Oncogene*, 26(45), 6566-6576.
- Willis J. C. (1973).** A dictionary of the flowering plants and ferns, 8th Ed. Cambridge University Press.



**Wojciechowski, M. F., Lavin, M., Sanderson, M. J. (2004).** A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *MATK* gene resolves many well-supported subclades within the family. *Am. J. Bot.* 91: 1846–1862.

**Wojciechowski. (2004).** A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *matK* gene resolves many well-supported subclades within the family. *American journal of botany*, 91(11): 1846-1862.

**Wollenweber, E., Dorr, M., Rivera, D., Roitman, J. N. (2003).** Externally accumulated flavonoids in three Mediterranean *Ononis* species. *Z Naturforsch C J Biosci.* 58(11-12): 771-775.

**World Health Organization. (2013).** Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies (French Edition) (No. EPR-BIODOSIMETRY--2011 (F)). International Atomic Energy Agency.

## Annexes

Préparation des tampons et des solutions utilisées

### 1- 8hydroxy quinoléine

- Un 0.003 g de 8hydroxy quinoléine poudre dans un 100 ml de l'eau distillée. La solution de 8hydroxy quinoléine est 0.002 m/l.

### 2- 3V/1V (éthanol/ acide acétique)

- On prend 3 volumes d'éthanol pour 1 volume d'acide acétique.

3- Hcl 1N - Prendre l'Hcl fumant PM = 36.46 g/l d = 1.18 % Hcl = 37% - Mettre 82.79 ml d'Hcl dans 1 litre de l'eau distillée.

### 4- Solution enzymatique (pectinase et cellulase)

#### - Solution de pectinase à 15%

Pectinase (forme aspergillus niger) dans 40% glycérol (sigma).

#### - Cellulase à 15%

Cellulase (Onzuka R-10) dans le tampon citrate 0.09 à PH 4.4 (sigma).

### 5- le réactif de schiff

- Fuschine vraie basique : **1g Merck.**

- H2O bouillante : 200ml.

- Hcl N : 20ml.

- Metabisulfite Na ou K : 1.2 g.

**Année universitaire : 2022-2023**

**Présenté par : MELLAH Yasmine**

**MENOUBI Ouarda**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et Physiologie de la reproduction**

**Intitulé : Analyse du caryotype de trois espèces du genre *Ononis* L.**

Les études cytogénétiques sont une étape très importante dans la compréhension et l'avancement du développement des plantes. L'objectif de ce travail était une contribution à la caractérisation cytogénétique de trois espèces du genre *Ononis* L. afin de détecter les similitudes et les différences entre les espèces et de ce fait contribuer à la résolution des problèmes taxonomiques rencontrés dans le Genre surtout que ces taxa ont un intérêt économique certain.

A cause des difficultés rencontrées sur le plan pratique (la paroi cellulaire dense, chromosomes de petite taille), nous avons réalisé uniquement un dénombrement chromosomique en utilisant la technique de Feulgen ou coloration au réactif de Schiff

L'analyse de la mitose portait sur les méristèmes racinaires appartenant aux graines germées des trois espèces, a montré dans la plupart des cas une séparation insuffisante des chromosomes à la métaphase, mais nous avons pu déterminer le nombre chromosomique de chaque espèce étudiée. L'espèce *O. natrix* L. et *O. viscosa* L. montrent le même nombre  $2n = 32$  chromosomes, soit  $x = 16$ . L'espèce *O. variegata* L. présente un nombre chromosomique différent  $2n = 26$  chromosomes.

**Mots-clefs :** *Ononis natrix* L., *Ononis viscosa* L., *Ononis variegata* L., caryotype, chromosomes.

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadreur :** Mme. BENHIZIA Hayet (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Président :** Mme. CHAIB Ghania (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** Mr. BAZIZ Karim (MCA - Université Mostefa Ben Boulaïd Batna 2).

