



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie végétale

قسم : بيولوجيا النبات

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Identification et caractérisation d'un marqueur d'adaptation chez le genre *Vicia*

Présenté par : BARKAT Anfal Ikram

Le : 24/06/2024

Jury d'évaluation :

Président : Mme KACEM Nadia Sandra. (MCA - UMC Constantine1).

Encadrant : Mme. HAMMOUDA-BOUSBIA Dounia (Professeur.-UMC Constantine1).

Examineur: Mr BAZIZ- Karim (MCA. - UNIV. Mustapha Benboulaïd-Batna2)

Année universitaire
2024 – 2025

Dédicace

**Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui m' ont
soutenue tout au long de mon parcours.**

**À mes amis, ces compagnons de route qui ont su alléger les
moments difficiles et m' offrir des souvenirs que je chérirai
jusqu' à mon dernier souffle.**

**À ma famille, pour leur amour inconditionnel et leur soutien
indéfectible.**

**Et à tous ceux qui m' aiment sincèrement, merci d' avoir été là,
simplement**

Avec amour, Anfal

Remerciement

*Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans l'implication de personnes animées d'une volonté sincère de soutien, d'assistance et de partage. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers celles et ceux qui ont joué un rôle essentiel dans sa réalisation. Mes remerciements les plus sincères vont à **Mme Hammouda Dounia**, Professeure à l'Université Frères Mentouri Constantine 1 et Directrice du laboratoire GBBV. Ses précieux conseils et ses encouragements constants ont été les piliers de la réussite de ce travail. Ses compétences scientifiques et sa rigueur ont constitué un soutien indéfectible. Travailler sous sa direction a été à la fois un honneur et une véritable source d'inspiration.*

*Je remercie également la doctorante **Hammani Hanene** pour son aide précieuse au laboratoire. Sans son assistance, ce travail n'aurait pu être mené à bien.*

La liberté qui m'a été accordée ainsi que les responsabilités assumées au cours de ce parcours ont grandement contribué à forger ma personnalité et à renforcer mon autonomie. Je suis profondément reconnaissante pour la confiance qui m'a été témoignée, et pour l'impact positif qu'elle a eu sur mon développement intellectuel.

Je tiens également à remercier les membres du jury :

***Mme Kacem Nadia Sandra**, Maître de conférences « A » à l'Université Frères Mentouri Constantine 1, pour avoir accepté de présider le jury et d'évaluer ce travail*
;

***Mr Baaziz Karim**, Maître de conférences « A » à l'Université de Batna 2, pour l'honneur de sa présence et sa participation à l'évaluation de ce mémoire.*

Mes remerciements s'adressent également aux ingénieurs du laboratoire GBBV, pour leur disponibilité, leurs conseils avisés et leur soutien lors de mes travaux de cytologie.

J'ai énormément appris auprès de chacun d'entre vous et tissé des liens amicaux qui resteront gravés dans ma mémoire.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail

Résumé

Une étude cytogénétique a été réalisée sur la structure chromosomique de deux espèces du genre *Vicia* : *Vicia faba* (variété Maltais) et *Vicia sativa* (variété Marianna), dans le but d'identifier un marqueur d'adaptation basé sur l'hétérochromatine constitutive (correspondant à des séquences d'ADN répétées non codantes, riches en bases CG). L'établissement des caryotypes a été effectué par la technique du marquage C- banding . Les analyses caryomorphologiques ont permis d'identifier la garniture chromosomique de chaque espèce (*V. faba* : $2n = 12$; *V. sativa* : $2n = 12$). La comparaison des chromosomes a révélé des différences notables entre les deux espèces. Le caryotype de la variété Maltais de *Vicia faba* présente une forte bimodalité au niveau du chromosome 1, indiquant une asymétrie marquée, et un surcharge en hétérochromatine. En revanche, celui de *Vicia sativa* (variété Marianna) montre une organisation plus homogène, avec la présence d'un satellite sur le bras long du chromosome 4. Des variations significatives dans la taille, la morphologie , l'organisation et la répartition de l'hétérochromatine ont été observées entre les espèces, traduisant des réponses adaptatives différenciées. *Vicia sativa* présente une faible diversité chromosomique, reflétant un faible taux de polymorphisme (19.23%) , tandis que *Vicia faba* se distingue par une plus grande variabilité structurale (68%) , susceptible d'être exploitée comme marqueur d'adaptation aux conditions climatiques défavorables. Ces résultats mettent en évidence l'intérêt d'une **approche morpho-structurale** dans l'identification de marqueur d'adaptation, utiles pour l'amélioration génétique durable des légumineuses.

Mots clés : *Vicia faba*, *Vicia sativa*, chromosome marqueur, hétérochromatine, C-banding, Sattellites polymorphisme

ملخص

تم إجراء دراسة سيتوجينية على البنية الكروموسومية لنوعين من جنس الفول :
الفول العريض صنف مالطا و الفول العادي صنف ماريانا بهدف تحديد مؤشر التكيف استنادا الى الهيتيروكروماتين الدائم. تم اعداد المخططات الكروموسومية باستعمال تقنية سي باندينغ.
كشفت التحاليل عن التركيب الكروموسومي لكل نوع حيث :
الفول العريض يمتلك 21 او 21 كروموسوما بينما الفول العادي يمتلك 21 كروموسوما
أظهرت المقارنة بين الكروموسومات اختلافات واضحة بين النوعين حيث اظهر النمط النووي للفول العريض (صنف مالطا) ازدواجية واضحة في الكروموسوم 2, مما يشير الى وجود عدم تماثل ملحوظ في المقابل اظهر الفول العادي صنف ماريانا تنظيما اكثر تجانسا مع وجود قمر صغير (ساتلايت) في الذراع الطويلة للكروموسوم رقم 1.
تمت ملاحظة اختلافات كبيرة في حجم الكروموسوم و شكلها و توزيع الهيتيروكروماتين, مما يعكس استجابات تكيفية مختلفة :
يتميز الفول العادي بانخفاض في التنوع الكروموزومي و قلة التعدد الشكلي, بينما يظهر الفول العريض تنوعا بنويا اكثر مما قد يجعله مؤشرا محتملا للتكيف.
تسلط هذه النتائج الضوء على أهمية المناهج المورفولوجية و الستوجينية في تحديد مؤشرات التكيف المفيدة لتحسين المحاصيل البقولية بشكل مستدام.

الكلمات المفتاحية: الفول العريض, الفول العادي, النمط النووي, التنوع الكروموزومي, الهيتيروكروماتين, صبغة سي باندينغ

Abstract

A cytogenetic study was conducted on the chromosomal structure of two species of the genus *Vicia*: *Vicia faba* (Maltais variety) and *Vicia sativa* (Marianna variety), with the aim of identifying an adaptation marker based on constitutive heterochromatin. Karyotypes were established using the C-banding technique. The analysis revealed the chromosomal composition of each species (*V. faba*: $2n = 12$ or 14 ; *V. sativa*: $2n = 12$). Comparison of the chromosomes showed notable differences between the two species. The karyotype of *Vicia faba* (Maltais variety) displayed pronounced bimodality on chromosome 1, indicating marked asymmetry. In contrast, *Vicia sativa* (Marianna variety) showed a more uniform organization, with the presence of a satellite on the long arm of chromosome 4.

Significant variations in chromosome size, morphology, and heterochromatin distribution were observed, reflecting different adaptive responses. *Vicia sativa* exhibits low chromosomal diversity and limited polymorphism, while *Vicia faba* shows greater structural variability, which may serve as a potential adaptation marker. These results highlight the relevance of morpho-cytogenetic approaches in identifying adaptation markers useful for sustainable genetic improvement of legumes.

Keywords: *Vicia faba*, *Vicia sativa*, karyotype, heterochromatin, C-banding, polymorphism, adaptation marker

Liste d'abréviation

FAO: Food and agriculture organization

µm : micro mètre

BL : Bras long

BC : Bras court

Pg : picogramme

p: Bras court

q : Bras long

Cm : Centimètre

m : mètre

°C: Degrés Celsius

APG: Angiosperm Phylogeny Group

St : Subtélomérique

Sm : submétacentrique

M : métacentrique

Ac : acrocentrique

T : télomérique

NOR : region organisatrice nucléolaire

Liste des figures

Figure 01 : L'espèce *Vicia sativa* en phase de floraison

Figure 02 : *Vicia faba* en phase de floraison

Figure 03 : *Vicia faba* en phase de fructification

Figure 04 : cycle de vie de *Vicia sativa*

Figure 05 : cycle de vie de *Vicia faba*

Figure06 : Structure Chromatinienne

Figure07 : différence entre les deux types l'hétérochromatine : Constitutive et facultative

Figure 08 : Structure chromosome

Figure09 : Types chromosomiques

Figure10 : Les variétés d'étude, (a) Maltais, (b) Marianna

Figure 11 : Des graines germées : a (var Maltais), b (var Marianna)

Figure 12 : Echantillons des racines au prétraitement (solution de **8-hydroxyquinoléine**)

Figure13 : Matériels utilisé pour le C-banding

Figure14 : photomicroscope Leica DM 4000

Figure 15 : Caryotype (en C- banding) de l'espèce *Vicia faba* (var. **Maltais**)

Figure 16 : Caryotype (en C- banding) de l'espèce *Vicia sativa* (var. **Marianna**)

Figure 17 : Comparaison structurale des chromosomes marqués par des bandes hétérochromatiques des deux espèces *Vicia faba* et *Vicia sativa*

Liste des tableaux

Tableau01 : Type de bandes et taux de polymorphisme chez les deux variétés étudiées.

Table des matières

Dédicace

Remerciement

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Chapitre I : Revue bibliographique

I. Généralités sur le genre <i>Vicia</i>	03
I.1 Présentation des espèces d'étude : <i>Vicia faba</i> et <i>Vicia sativa</i>	03
1.1.1 Le genre <i>Vicia sativa</i>	04.
1.1.2 Le genre <i>Vicia faba</i>	06
2. Description botanique.....	09
2.1. <i>Vicia sativa</i> L. (Vesce commune).....	09
2.2. <i>Vicia faba</i> L. (La Fève).....	11
3. Classification systématique et génétique.....	14
3.1. Classification systématique.....	14
3.2. Classification génétique.....	15
4. Intérêts agronomiques et économiques.....	16
4.1.1 Intérêts agronomiques de <i>Vicia faba</i>	16
4.1.2 Intérêts économiques et alimentaires de <i>Vicia faba</i>	17
4.2.1 Intérêts agronomiques de <i>Vicia sativa</i>	17.
4.2.2 Intérêts économiques et écologiques de <i>Vicia sativa</i>	18
II. Études cytogénétiques et évolution du genre <i>Vicia</i>	18
2.1 Données Cytogénétiques.....	18
2.1.1 Structure chromatinienne.....	19

2.1.2 Organisation de la chromatine.....	19
2.1.3 Hétérochromatine : Définition et rôles.....	20
2.1.4 Hétérochromatine constitutive.....	20
2.1.5 Hétérochromatine facultative.....	20
2.2 Structure et organisation des chromosomes.....	21
2.2.1 Structure.....	21
2.2.2 Classification des chromosomes.....	22
2.3 Caryotype et diversité génétique.....	23
2.4 Méthodes de caractérisation cytogénétique.....	24
3. Le marquage chromosomique par la technique de C-banding.....	26
3.1 Principe et applications.....	26
3.2 Hétérochromatine et adaptation chez les plantes.....	27
3.3 Etudes antérieures chez <i>Vicia faba</i> et <i>Vicia sativa</i>	28

Chapitre II: Matériel et méthodes

II.1 Matériel végétal.....	31
II.1.1 Origine et caractéristiques des échantillons.....	31
II.1.2 Conditions de germination et préparation des pointes racines.....	32
II.2 Etapes préliminaires.....	34
2.1 Prétraitement des échantillons.....	34
2.2 Fixation et préparation des lames.....	35
2.2.1 Fixation.....	35
2.2.2 Stockage.....	35
2.2.3 Hydrolyse.....	35
2.2.4 Préparation des lames.....	36
2.3 Réalisation de la technique du C-banding.....	36
2.3.1 Délamellation.....	37
2.3.2 Dénaturation de l'ADN.....	38
2.3.3 Rinçage.....	38

2.3.4 Renaturation de l'ADN.....	38
2.3.5 Coloration.....	38
2.3.6 Montage.....	38
2.3.7 Observation.....	38

Chapitre III: Résultats et discussion

III. 1 Résultats

III.1.1 Distribution de l'hétérochromatine.....	39
III.1.2 Analyse des chromosomes de <i>Vicia faba</i> (var. Maltais).....	39
III.1.3 Analyse des chromosomes de <i>Vicia sativa</i> (var. Marianna).....	44

III.2 Discussion:

III.2.1 Comparaison entre les idiogrammes des deux espèces.....	46
III.2.2. Variabilité de l'hétérochromatine.....	49
III.2.3 Comparaison des polymorphismes entre <i>Vicia faba</i> et <i>Vicia sativa</i>	55
III.2.4. Intérêt évolutif et adaptatif.....	52

Conclusion.....	54
-----------------	----

Références bibliographiques.....	55
----------------------------------	----

Introduction

Introduction

La diversité génétique constitue la base de l'amélioration des plantes et une ressource essentielle pour la sélection variétale. Comprendre cette diversité permet d'identifier des caractères d'intérêt, notamment ceux liés à l'adaptation aux stress biotiques et abiotiques, favorisant ainsi la durabilité des systèmes agricoles (FAO, 2010 ; Tanksley & McCouch, 1997).

Le genre *Vicia*, appartenant à la famille des Fabaceae (ou légumineuses), est l'un des genres les plus importants. Ce genre comprend plus de 210 espèces réparties dans les régions tempérées et subtropicales du monde, incluant des formes sauvages et cultivées. Parmi elles, *Vicia faba* (la fève) et *Vicia sativa* (la vesce commune) sont largement étudiées pour leurs intérêts agronomiques, nutritionnels, et écologiques (Maxted et al., 2001 ; Smýkal et al., 2014).

Les espèces du genre *Vicia* sont généralement annuelles, autogames ou allogames, et présentent une grande plasticité phénotypique. Leur capacité d'adaptation à différents environnements est particulièrement remarquable, notamment dans des zones climatiques variées allant du bassin méditerranéen à l'Asie centrale. Ces plantes sont aussi reconnues pour leur capacité à fixer l'azote atmosphérique via une symbiose avec des bactéries du genre *Rhizobium*, ce qui en fait des cultures durables et intéressantes en rotation culturale (Graham & Vance, 2003).

En Algérie, plusieurs espèces de *Vicia* se développent spontanément ou sont cultivées dans des systèmes agricoles traditionnels. Leur rusticité, leur capacité à tolérer la sécheresse ou les sols pauvres, ainsi que leur rôle dans l'alimentation animale et humaine, justifient l'intérêt croissant porté à leur étude.

Une étape importante dans le développement de la plante, la cytogénétique est l'introduction de Technique de coloration différentielle « C-banding » basée sur l'identification des régions de chromatine constitutive occupaient la première place dans les études sur les chromosomes des plantes (Neumann *et al.*)

Les types de bandes C marquées chez de nombreuses espèces végétales se sont avérés être suffisamment informatives non seulement, pour faciliter l'identification individuelle des chromosomes, mais aussi pour révéler les réarrangements chromosomiques (ou mutations chromosomiques) , comparer les génomes et les sous-génomes dans les espèces polyploïdes, analyser et étudier l'origine des espèces et la relation phylogénétique entre différents taxons.

Cependant, malgré leur importance, les connaissances cytogénétiques des espèces du genre *Vicia* restent encore fragmentaires, notamment en ce qui concerne les mécanismes d'adaptation génomique à différents environnements. L'identification de marqueurs cytogénétiques liés à l'adaptation, notamment via l'analyse des caryotypes, constitue une approche pertinente pour comprendre l'évolution chromosomique, la diversité intra- et interspécifique, et orienter les programmes de sélection (Singh, 2003 ; Marsano, R.M., & Dimitri, P. (2022).).

Le présent travail s'inscrit dans un cadre de projet de recherche portant sur les ressources phytogénétiques de légumineuses alimentaires (deux espèces du genre *Vicia*), mené au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales, en utilisant la technique de marquage **C-banding**. Il s'agit de mettre en évidence :

- Identification structurale des chromosomes des deux espèces *Vicia faba* L. ($2n = 12$ ou 14) et *Vicia sativa* L. ($2n = 12$), et établissement leurs caryotypes.
- Analyse comparative des chromosomes (intra et interspécifique), permettant de visualiser les régions d'hétérochromatine constitutive, souvent associées à des mécanismes adaptatifs

Ce travail est structuré en trois parties principales :

- Le **premier chapitre** est consacré à une revue bibliographique portant sur le genre *Vicia*, Les espèces étudiés, et les méthodes cytologiques utilisés dans ce type de recherche.
- Le **deuxième chapitre** présente la méthodologie adoptée pour la réalisation des observations cytogénétiques.
- Le **troisième chapitre** traite des résultats expérimentaux, suivis d'une discussion comparative avec les données antérieures.

Ce mémoire se conclut par une synthèse des acquis ainsi que des perspectives de recherche, notamment l'utilisation potentielle de ces marqueurs dans les programmes d'amélioration génétique

CHAPITRE 01 :

Revue Bibliographique

Chapitre 01 : Revue bibliographique

I. Généralités sur le genre *Vicia* :

Le genre *Vicia*, appartenant à la famille des Fabacées et à l'ordre des Fabales, regroupe environ 166 espèces réparties dans divers habitats, notamment en Europe, en Asie et en Afrique du Nord. Ces plantes herbacées, mesurant de quelques dizaines de centimètres à plus d'un mètre, se distinguent par leurs feuilles composées munies de vrilles et leurs fleurs colorées disposées en grappes. Leurs fruits, des gousses contenant plusieurs graines, sont d'un grand intérêt agronomique. Parmi les espèces notables, *Vicia faba* (fève) est cultivée pour ses graines riches en protéines destinées à l'alimentation, tandis que *Vicia sativa* (vesce commune) est utilisée comme plante fourragère et engrais vert pour enrichir les sols en azote. D'autres espèces comme *Vicia ervilia* et *Vicia narbonensis* sont également exploitées pour leurs graines ou leurs propriétés fourragères. Les semis de vesce sont généralement réalisés au printemps ou à l'automne, avec une densité adaptée pour optimiser la culture et son impact sur l'amélioration des sols.

1.1 Présentation des espèces d'étude : *Vicia faba* et *Vicia sativa*

Les espèces *Vicia sativa* L. et *Vicia faba* L. sont des plantes largement cultivées pour leurs multiples usages agricoles et alimentaires. Ces deux légumineuses se distinguent par leur capacité à fixer l'azote atmosphérique grâce à une symbiose avec les bactéries du genre *Rhizobium*. Cette propriété leur confère un rôle essentiel dans l'amélioration de la fertilité des sols et leur intégration dans les systèmes de rotation culturale.

En Algérie, *Vicia sativa* L. et *Vicia faba* L. sont principalement cultivées dans les régions du nord, où les conditions climatiques favorisent leur croissance. La fève (*Vicia faba* L.) est une culture alimentaire traditionnelle, consommée sous diverses formes (fraîche, sèche ou transformée en farine), tandis que la vesce (*Vicia sativa* L.) est principalement utilisée comme fourrage pour le bétail et comme engrais vert.

Chapitre 01 : Revue bibliographique

1.1.3 Le genre *Vicia sativa* :

La vesce commune, une plante fourragère et écologique, connue sous le nom de vesce commune, est également une légumineuse annuelle, originaire du Croissant fertile au Moyen-Orient. Elle s'est progressivement naturalisée dans de nombreuses régions du monde, sauf dans l'Arctique et l'Antarctique, grâce à sa forte capacité d'adaptation (Small, 2011).

Cette espèce est principalement cultivée comme un fourrage pour le bétail en raison de sa richesse en protéines végétales (environ 20-25 % de protéines dans la matière sèche) et de sa digestibilité élevée. Elle est fréquemment cultivée en association avec d'autres céréales comme l'avoine ou l'orge pour améliorer la qualité du fourrage et augmenter la production de biomasse (Frame et Laidlaw, 2011).

La vesce commune se distingue par sa morphologie grimpante, avec des tiges fines pouvant atteindre 50 à 100 cm de longueur. Ses feuilles sont composées de folioles oblongues terminées par des vrilles, qui lui permettent de s'accrocher à des supports. Ses fleurs, généralement violettes ou pourpres, sont disposées en grappes et donnent naissance à des gousses contenant plusieurs graines (Tutin et al. 1980).

Sur le plan écologique, *Vicia sativa* joue un rôle essentiel dans l'amélioration des sols grâce à sa capacité à fixer l'azote atmosphérique, réduisant ainsi les besoins en engrais azotés chimiques. Elle est également utilisée en engrais vert pour enrichir le sol en matière organique et améliorer sa structure, ce qui favorise la rétention d'eau et la fertilité à long terme (Mikić et al., 2013).

Chapitre 01 : Revue bibliographique



Figure 01 : L'espèce *Vicia sativa* en phase de floraison

Cependant, il est important de noter que certaines variétés de vesce peuvent contenir des alcaloïdes toxiques, notamment la γ -glutamyl- β -cyanoalanine, qui peut poser des problèmes en alimentation animale si elle est consommée en grande quantité. Des recherches en sélection variétale sont en cours pour améliorer la composition nutritionnelle et réduire la teneur en composés anti-nutritionnels (Boschin et Resta, 2013).

Chapitre 01 : Revue bibliographique

1.1.4 Le genre *Vicia faba* :

Vicia faba ou La fève, une légumineuse d'intérêt alimentaire et agronomique, communément appelée fève, est une plante annuelle originaire d'Eurasie et du bassin méditerranéen. Elle est cultivée depuis des millénaires, avec des preuves archéologiques attestant sa présence dès l'Antiquité dans des civilisations comme l'Égypte ancienne et la Grèce antique (Cubero, 1974). Sa culture s'est ensuite répandue en Europe, en Afrique du Nord et en Asie, où elle reste une source alimentaire essentielle.

La fève est une légumineuse de grande importance en raison de ses graines riches en protéines (25-30 %), en amidon et en fibres alimentaires. Cette composition nutritionnelle en fait une source précieuse d'alimentation humaine et animale, notamment dans les pays méditerranéens et asiatiques où elle est intégrée dans divers régimes alimentaires (Duc, 1997).

Chapitre 01 : Revue bibliographique



Figure 02 : *Vicia faba* en phase de floraison

D'un point de vue botanique, *Vicia faba* possède une tige dressée et robuste pouvant atteindre 0,5 à 1,5 m de hauteur. Ses feuilles sont composées de folioles ovales sans vrilles, et ses fleurs, de couleur blanche marquée de noir ou de violet, apparaissent en grappes axillaires. Le fruit est une gousse allongée renfermant plusieurs graines, dont la taille varie selon les variétés cultivées.

Sa culture est adaptée aux climats tempérés et méditerranéens, avec une résistance modérée au gel et une bonne tolérance aux sols riches en matière organique (Jensen et al. 2010).

Chapitre 01 : Revue bibliographique



Figure 03 : *Vicia faba* en phase de fructification

Outre son rôle nutritionnel, la fève joue un rôle clé dans l'agriculture durable grâce à sa capacité à fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec des bactéries du genre *Rhizobium*. Cette propriété améliore la fertilité des sols et réduit la dépendance aux engrais azotés chimiques, ce qui en fait une culture particulièrement intéressante dans les systèmes agro-écologiques et en agriculture biologique (Jensen et Hauggaard-Nielsen, 2003).

Chapitre 01 : Revue bibliographique

2. Description botanique :

2.1. *Vicia sativa* L. (Vesce commune)

Cette espèce est décrite sur l'aspect morphologique comme suivant:

Vicia sativa L se caractérise par une **tige herbacée** de type grimpante, pouvant atteindre 30 à 100 cm de hauteur. Ses **feuilles alternes** sont composées de 4 à 8 paires de folioles oblongues et se terminent par une vrille caractéristique. Les **fleurs zygomorphes**, généralement de couleur violette à pourpre, sont regroupées en grappes axillaires. Les **fruits** se présentent sous forme de gousses allongées mesurant 3 à 6 cm de long et renferment 4 à 8 graines de forme sphérique ou aplatie. Le système **racinaire** développe des nodules symbiotiques abritant des bactéries fixatrices d'azote, participant ainsi à l'enrichissement du sol.

Cette morphologie typique reflète l'adaptation de l'espèce à son environnement et son importance dans les écosystèmes agricoles.

Chapitre 01 : Revue bibliographique



Figure 04 : cycle de vie de *Vicia sativa*

Cycle de vie et adaptation :

Germination : Les graines de *Vicia sativa* germent en 3 à 10 jours, selon les conditions climatiques et du sol. La germination nécessite un sol humide et une température optimale autour de 25°C.

Chapitre 01 : Revue bibliographique

Croissance : La plante pousse rapidement et peut atteindre une hauteur de 30 à 150 cm. Elle est grimpante et possède des vrilles pour s'accrocher aux supports.

Floraison et Fructification : Les fleurs apparaissent d'avril à juillet, suivies de la formation de gousses contenant les graines. La floraison est influencée par les conditions climatiques et la disponibilité en eau.

Maturation et Mort : La plante meurt après la fructification, libérant les graines pour un nouveau cycle.

Adaptations:

- **Fixation de l'Azote** : *Vicia sativa* est capable de fixer l'azote atmosphérique grâce à ses nodules racinaires symbiotiques avec des bactéries du genre *Rhizobium*, ce qui l'aide à prospérer dans des sols pauvres en azote.
- **Résistance à la Sécheresse** : Bien qu'elle ne nécessite pas beaucoup d'eau pour pousser, elle ne peut germer si le sol est trop sec. Elle s'adapte bien à des conditions de sécheresse modérée.
- **Plasticité Phénologique** : Les écotypes de *Vicia sativa* montrent une grande variabilité en termes de précocité et de rendement, ce qui permet une adaptation à différents climats et conditions agro-climatiques.
- **Utilisation Multiple** : Elle est utilisée comme engrais vert, fourrage, couvert végétal, et même en apiculture grâce à ses fleurs nectarifères. Ces adaptations font de *Vicia sativa* une plante polyvalente et résiliente dans divers environnements agricoles.

Chapitre 01 : Revue bibliographique

2.2. *Vicia faba* L. (La Fève)

Morphologie

La fève (*Vicia faba* L.) présente une morphologie caractéristique et bien adaptée à sa croissance vigoureuse. Sa tige, dressée et robuste, de section anguleuse, peut atteindre jusqu'à 1,5 mètre de hauteur. Les feuilles, composées et dépourvues de vrilles, se distinguent par leurs 2 à 6 folioles ovales et larges. Les fleurs, de grande taille, se singularisent par leur couleur blanche marquée de taches noires ou violettes et sont regroupées en grappes axillaires. Les fruits se présentent sous forme de gousses épaisses contenant 3 à 8 graines volumineuses, dont la couleur varie du vert au brun à maturité. Enfin, le système racinaire, puissant et ramifié, établit une symbiose avec les bactéries *Rhizobium*, favorisant ainsi la fixation de l'azote atmosphérique et enrichissant le sol.



Figure 05 : cycle de vie de *Vicia faba*

Chapitre 01 : Revue bibliographique

Cycle de vie:

La fève est une plante annuelle qui accomplit son cycle en environ 5 mois, soit 120 à 150 jours selon les conditions climatiques.

Les principales étapes de son cycle biologique sont :

Germination : Les graines germent à partir de 6°C. La levée se produit généralement en novembre dans les régions chaudes ou en février-mars ailleurs

Croissance végétative : La plante développe une racine pivotante pouvant atteindre 80 cm de profondeur, avec des nodosités contenant des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium leguminosarum*). Les tiges sont rigides et érigées, mesurant entre 50 cm et 1,8 m.

Floraison : Elle débute entre février et mars, avec des bouquets floraux parfumés qui attirent les pollinisateurs. Les fleurs sont blanches avec des ailes marquées d'un point noir.

Fructification : Les gousses commencent à se former en mars-avril et atteignent leur maturité en mai. Chaque gousse contient 3 à 8 graines selon la variété.

Récolte : Les gousses sèches sont récoltées généralement en juin dans les régions méditerranéennes.

Adaptations de *Vicia faba*

Vicia faba présente plusieurs adaptations qui lui permettent de prospérer dans divers environnements :

Fixation de l'azote

La fève enrichit le sol grâce à ses nodosités racinaires symbiotiques, ce qui lui permet de croître dans des sols pauvres en azote.

Tolérance à la sécheresse

Chapitre 01 : Revue bibliographique

Bien que sensible au stress hydrique, certaines variétés sauvages montrent une tolérance accrue grâce à des traits comme l'épaisseur des feuilles, la température du couvert végétal et le contenu relatif en eau.

Résistance au froid

La fève peut résister à des températures allant jusqu'à -3°C , ce qui lui permet d'être cultivée dans des climats froids.

Adaptation aux sols

Elle préfère les sols profonds et humides, riches en humus ou argilo-calcaires. Elle tolère également une salinité modérée (jusqu'à 5 g/L).

Variabilité génétique

Les différentes sous-espèces (*minor*, *equina*, *major*) présentent une diversité génétique importante, permettant une adaptation aux besoins agricoles (engrais vert, alimentation animale ou consommation humaine).

Ces caractéristiques font de *Vicia faba* une plante polyvalente adaptée à diverses conditions agro- climatiques et contribuent à sa durabilité dans l'agriculture mondiale.

3. Classification systématique et génétique

3.1. Classification systématique

La classification systématique du genre *Vicia*, appartenant à la famille des Fabaceae, repose aujourd'hui sur les critères phylogénétiques définis par l'Angiosperm Phylogeny Group (APG), à travers une série de publications successives (APG I, 1998 ; APG II, 2003 ; APG III, 2009 ; APG IV, 2016), qui intègrent notamment les données moléculaires pour proposer une organisation évolutive plus cohérente des angiospermes.

Chapitre 01 : Revue bibliographique

Rang *Vicia sativa* L. *Vicia faba* L.

Règne Plantae Plantae

Division Magnoliophyta Magnoliophyta

Classe Magnoliopsida Magnoliopsida

Ordre Fabales Fabales

Famille Fabaceae Fabaceae

Genre *Vicia* *Vicia*

Espèce *Vicia sativa* L. *Vicia faba* L.

3.2. Classification génétique

Les deux espèces appartiennent au genre *Vicia*, qui comprend plus de 140 espèces réparties principalement dans les régions tempérées et méditerranéennes. Elles se différencient par leurs nombre de chromosomes:

- *Vicia sativa* L: $2n = 12$ chromosomes.
- *Vicia faba* L. : $2n = 12$ chromosomes ou 14 chromosomes (nombre variable selon les variétés).

Des études de phylogénie moléculaire basées sur l'ADN ribosomal et les marqueurs microsatellites ont montré que *Vicia faba* L. est génétiquement distincte des autres espèces du genre *Vicia*, ce qui suggère une domestication ancienne et une divergence évolutive marquée.

Ces deux espèces, bien qu'elle partageant un même genre, présentent des caractéristiques écologiques distinctes. *Vicia faba*, originaire du bassin méditerranéen, préfère les climats

Chapitre 01 : Revue bibliographique

frais et humides, tandis que *Vicia sativa*, bien que native de la région du Croissant fertile, est largement adaptée à différents types de sols et de climats et est souvent cultivée dans des régions moins tempérées (Wu, Gao, Liu et Wang (2020)

5. Intérêts agronomiques et économiques

Les espèces *Vicia faba* et *Vicia sativa* occupent une place importante dans les systèmes agricoles grâce à leurs multiples usages et leurs contributions à la fertilité des sols. Elles sont cultivées aussi bien pour leur valeur nutritionnelle que pour leurs avantages agronomiques et écologiques.

4.1.1 Intérêts agronomiques de *Vicia faba*

Vicia faba (fève) est une légumineuse particulièrement appréciée pour ses nombreux bienfaits agronomiques. L'un de ses principaux atouts est sa capacité à fixer l'azote atmosphérique grâce à sa symbiose avec les bactéries du genre *Rhizobium*. Ce processus permet de réduire l'utilisation d'engrais azotés synthétiques et d'améliorer la fertilité des sols, rendant ainsi sa culture bénéfique pour les rotations culturales et l'agriculture biologique (Jensen et Hauggaard-Nielsen, 2003).

En plus de son rôle dans la fertilisation des sols, la culture de la fève améliore la structure du sol en raison de son système racinaire profond, qui favorise l'aération et la rétention d'eau. Cette caractéristique est essentielle pour prévenir l'érosion et augmenter la résilience des sols face aux conditions climatiques extrêmes (Duc, 1997).

Un autre avantage de *Vicia faba* est son utilisation comme engrais vert. Après la récolte, ses résidus de culture sont souvent enfouis dans le sol pour enrichir la matière organique et améliorer la structure du sol. Cette technique est couramment adoptée en agriculture durable et en permaculture pour réduire la dépendance aux fertilisants chimiques (Agrifoodscience.com).

Chapitre 01 : Revue bibliographique

D'un point de vue environnemental, *Vicia faba* contribue également à la réduction des émissions de gaz à effet de serre en limitant l'usage d'engrais azotés, dont la production est très énergivore. De plus, les légumineuses favorisent la biodiversité en attirant divers pollinisateurs grâce à leurs fleurs riches en nectar (Jensen et al. 2010).

5.1.2 Intérêts économiques et alimentaires de *Vicia faba*

La fève est une culture économiquement rentable grâce à sa haute valeur nutritionnelle et protéique. Avec une teneur en protéines de 25 à 30 %, elle est une alternative viable au soja et aux autres sources de protéines végétales. Elle est largement utilisée en alimentation humaine, notamment dans les pays méditerranéens et asiatiques, où elle constitue un ingrédient de base dans plusieurs plats traditionnels (Duc, 1997).

En alimentation animale, la fève est également très prisée comme substitut au soja dans les rations destinées aux ruminants, et à la volaille. Son incorporation dans l'alimentation du bétail permet de réduire les coûts d'importation de protéines végétales et de promouvoir des systèmes de production plus autonomes et durables (Agrifoodscience.com)

5.2 Intérêts agronomiques de *Vicia sativa*

Vicia sativa (vesce commune) est principalement cultivée comme fourrage pour le bétail, offrant une source de protéines de haute qualité. Grâce à sa digestibilité élevée et sa bonne teneur en protéines (environ 20-25 % de la matière sèche), elle est souvent utilisée en mélange avec d'autres plantes fourragères comme l'avoine ou le ray-grass pour améliorer la valeur nutritionnelle des rations destinées aux animaux d'élevage (Frame et Laidlaw, 2011).

En plus de son rôle dans l'alimentation animale, la vesce commune contribue à la fixation de l'azote et est couramment employée comme culture de couverture pour enrichir la fertilité des sols. En agriculture de conservation, elle est souvent semée entre deux

Chapitre 01 : Revue bibliographique

cultures principales pour limiter l'érosion, améliorer la structure du sol et favoriser l'infiltration de l'eau (Feedipedia.org)).

Son développement rapide et sa tolérance à divers types de sols en font une plante idéale pour les rotations culturales et les systèmes agroécologiques. De plus, elle limite la prolifération des adventices en couvrant rapidement le sol, ce qui réduit le besoin en herbicides et favorise une gestion plus durable des cultures (Mikić et al. 2013).

4.2.1 Intérêts économiques et écologiques de *Vicia sativa*

La culture de *Vicia sativa* présente également des avantages économiques en raison de sa faible exigence en intrants et de sa capacité à améliorer la productivité agricole. Sa culture réduit les coûts liés aux fertilisants azotés, ce qui représente un atout majeur pour les exploitations souhaitant limiter leurs dépenses et adopter des pratiques plus durables (Agrifoodscience.com).

En outre, la vesce commune est une plante mellifère, attirant de nombreux pollinisateurs, ce qui contribue à la biodiversité et favorise la production des cultures voisines. Elle joue ainsi un rôle écologique essentiel dans les agroécosystèmes, en soutenant les populations d'insectes bénéfiques et en améliorant la résilience des systèmes agricoles face aux changements climatiques (Jensen et Hauggaard-Nielsen, 2003).

Chapitre 01 : Revue bibliographique

II. Étude cytogénétique et évolution du genre *Vicia*

2.1 Données Cytogénétiques

2.1.1 Structure chromatinienne

La cytogénétique est une discipline de la génétique qui étudie les chromosomes et leur relation avec l'hérédité et les maladies génétiques. Elle permet de comprendre l'organisation du matériel génétique et ses variations, qu'il s'agisse de modifications structurales ou numériques des chromosomes. Dans le cadre de l'étude des espèces *Vicia faba* et *Vicia sativa*, la cytogénétique joue un rôle clé dans l'identification des mécanismes d'adaptation et de sélection naturelle, notamment en lien avec l'organisation de la chromatine, la nature de l'hétérochromatine et les variations chromosomiques observées au sein de ces espèces (Schwarzacher, 2003).

2.1.2 Organisation de la chromatine

La chromatine est la structure dans laquelle l'ADN est organisé dans le noyau des cellules eucaryotes. Elle est composée d'ADN, de protéines histones et non histones, ainsi que d'ARN. Cette structure joue un rôle fondamental dans la régulation de l'expression des gènes et la compaction de l'ADN pour faciliter son stockage dans le noyau. L'unité de base de la chromatine est le nucléosome, qui est composé d'un segment d'ADN enroulé autour d'un octomère d'histones. Cet agencement permet à la chromatine d'adopter différents degrés de compaction, influençant directement l'accessibilité aux gènes et la stabilité génomique (Alberts et al., 2015).

Chapitre 01 : Revue bibliographique

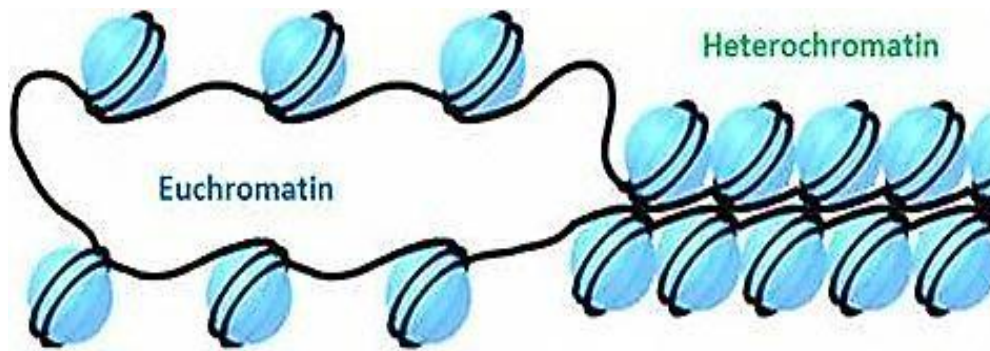


Figure06 : Structure Chromatinienne

Chez *Vicia faba* et *Vicia sativa*, la structure de la chromatine joue un rôle essentiel dans l'adaptation aux conditions environnementales. La condensation ou la relaxation de la chromatine permet aux plantes de moduler l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress hydrique, la fixation de l'azote et la germination des graines (Heslop-Harrison & Schwarzacher, 2011).

2.1.3 Hétérochromatine : Définition et rôles

L'hétérochromatine est une forme particulière de chromatine condensée, caractérisée par une faible activité transcriptionnelle et une forte densité en ADN répétitif. Elle se divise en deux types :

2.1.4 Hétérochromatine constitutive : présente dans toutes les cellules, elle est située principalement au niveau des centromères et des télomères, où elle joue un rôle essentiel dans la stabilité des chromosomes et la régulation de la division cellulaire (Grewal & Jia, 2007).

2.1.5 Hétérochromatine facultative : elle peut s'ouvrir ou se refermer selon les besoins de la cellule, modulant l'expression des gènes. Ce type d'hétérochromatine est

Chapitre 01 : Revue bibliographique

particulièrement important dans les processus d'adaptation environnementale et de différenciation cellulaire (Allis et al. 2007).

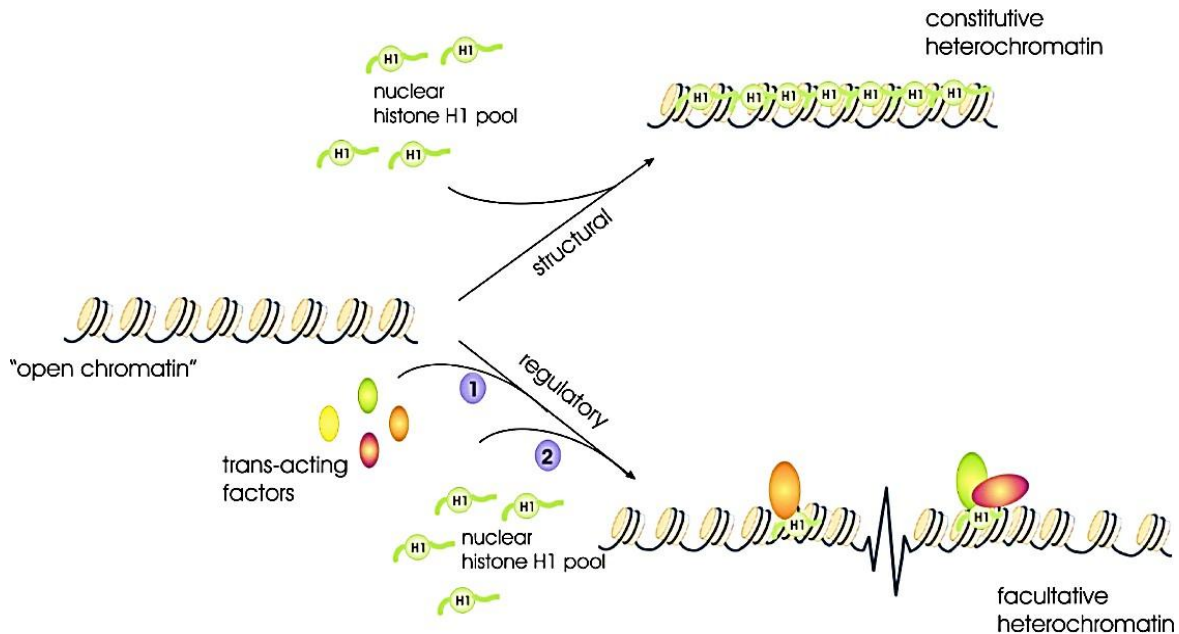


Figure07 : différence entre les deux types l'hétérochromatine : Constitutive et facultative

Chez *Vicia faba* et *Vicia sativa*, l'hétérochromatine joue un rôle clé dans la régulation de l'expression des gènes liés à la tolérance aux stress abiotiques et biotiques, notamment par le biais de la méthylation de l'ADN et des modifications des histones (Pikaard & Mittelsten Scheid, 2014).

a. Structure et organisation des chromosomes :

i. Structure :

Les chromosomes sont des structures dynamiques contenant l'ensemble du matériel génétique des organismes vivants. Ils sont constitués de chromatine condensée, organisée

Chapitre 01 : Revue bibliographique

de manière à permettre une transmission fidèle de l'information génétique lors des divisions cellulaires. Chaque chromosome est composé de plusieurs éléments essentiels :

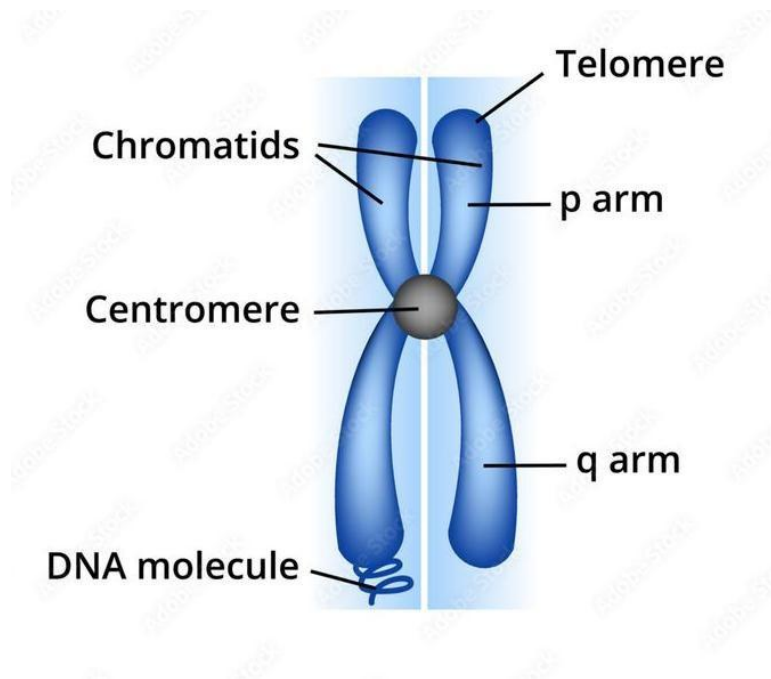


Figure 08 : Structure chromosome

Le centromère, qui assure l'attachement des chromatides sœurs et la bonne répartition des chromosomes lors de la mitose et de la méiose.

Les télomères, qui protègent l'ADN contre la dégradation et empêchent les fusions chromosomiques.

Les bras chromosomiques, qui portent les gènes et les régions régulatrices essentielles à l'expression

Chapitre 01 : Revue bibliographique

ii. Classification des chromosomes :

La **classification des chromosomes** repose principalement sur la position du centromère, qui détermine la longueur relative des bras courts (p) et longs (q) (figure 10). On distingue ainsi quatre types morphologiques : les chromosomes **métacentriques**, dont le centromère est situé au centre et les deux bras sont de longueur égale ; les **submétacentriques**, où le centromère est légèrement décalé, donnant un bras plus court que l'autre ; les **acrocentriques**, avec un centromère proche d'une extrémité, et enfin les **télocentriques**, où le centromère est positionné à l'extrémité, rendant le chromosome presque en forme de "i". Cette classification est fondamentale en cytogénétique pour l'établissement d'**idiogrammes** et la comparaison des caryotypes inter- et intraspécifiques (Guerra, 2008).

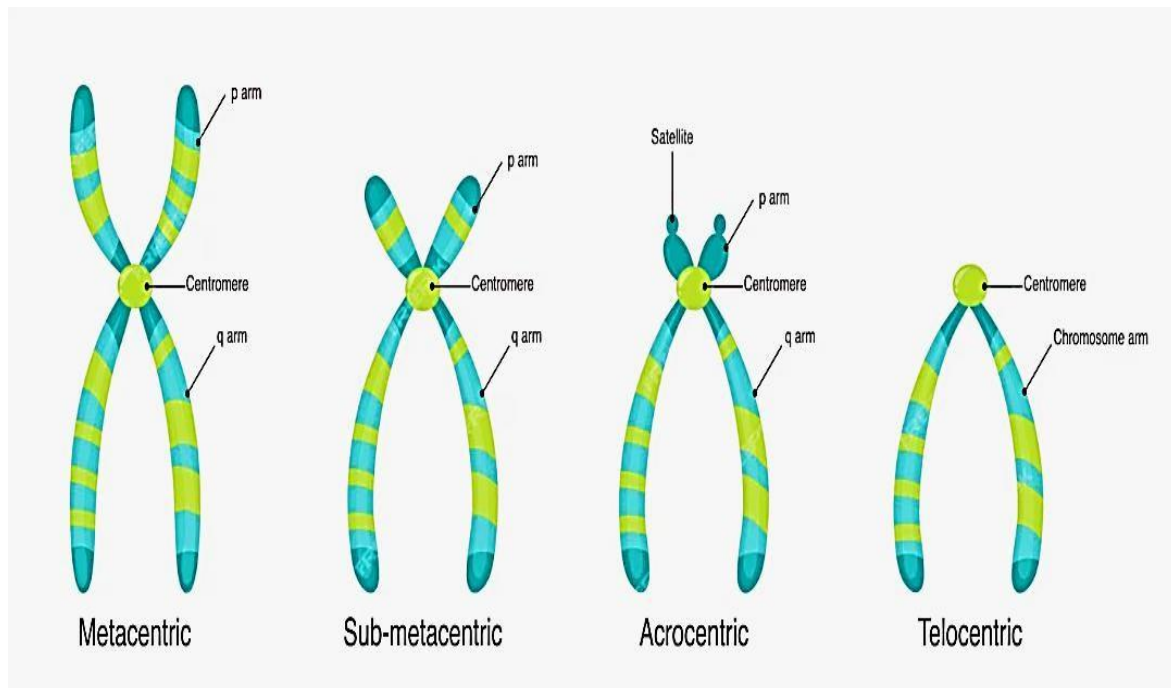


Figure09 : Types chromosomiques

Chapitre 01 : Revue bibliographique

2.3 Caryotype et diversité génétique

Sur le plan génétique, *Vicia faba* et *Vicia sativa* présentent des différences importantes dans la structure de leurs chromosomes, ce qui a des implications pour leur adaptation, leur reproduction et leur amélioration génétique. Les deux espèces sont diploïdes et possèdent un nombre de chromosomes différent.

Vicia faba a un caryotype composé de 12 chromosomes ($2n=12$ ou $2n=14$), avec une grande variabilité dans la taille et la forme des chromosomes, mais l'espèce est généralement stable en termes de nombre chromosomique.

Vicia sativa, en revanche, a un caryotype composé de 12 chromosomes également ($2n=12$), mais des variations sont observées dans la forme et la position des chromosomes entre différentes variétés, ce qui reflète une plus grande diversité génétique au sein de l'espèce. Cette variabilité est un facteur important pour la sélection et l'amélioration de nouvelles variétés de vesces adaptées à des conditions environnementales spécifiques, telles que la tolérance à la sécheresse ou à des sols pauvres en nutriments (Ghaffari et al., 2008).

Les différences dans le caryotype entre *Vicia faba* et *Vicia sativa* sont également importantes pour l'étude de la spéciation et de l'évolution du genre *Vicia*. Les études cytogénétiques ont montré que ces deux espèces présentent des mécanismes de recombinaison génétique qui peuvent

être exploités pour des programmes d'hybridation et de sélection génétique visant à améliorer les rendements, la résistance aux maladies et l'adaptation au climat. En particulier, les chercheurs se concentrent sur l'utilisation de l'ADN polymorphique pour identifier des marqueurs génétiques associés à des traits agronomiques importants, comme la résistance aux pathogènes et la tolérance à des conditions environnementales stressantes (Chevreux et al., 2013).

Chapitre 01 : Revue bibliographique

2.4 Méthodes de caractérisation cytogénétique

L'analyse cytogénétique repose sur plusieurs méthodes fondamentales permettant d'étudier la structure et l'organisation des chromosomes. Ces techniques offrent des outils essentiels pour caractériser les caryotypes, identifier des anomalies chromosomiques et comprendre l'évolution génomique. Parmi les approches couramment utilisées, on distingue :

- **Caryotypage classique** : est une méthode cytogénétique standard utilisée pour visualiser et analyser les chromosomes en métaphase. Il consiste à cultiver des cellules en division (généralement des cellules sanguines ou racinaires), à bloquer la mitose en métaphase à l'aide de la colchicine, puis à réaliser un traitement hypotonique suivi d'un étalement cellulaire sur lame et d'une coloration, souvent au Giemsa (technique de G-banding). Cette méthode permet d'observer le nombre, la morphologie et la structure des chromosomes, y compris les bras courts (p) et longs (q), la position du centromère, et la présence éventuelle d'anomalies visibles (comme des délétions, duplications ou translocations macroscopiques). Malgré ses limites en termes de résolution, le caryotypage classique reste essentiel pour établir un idiogramme et effectuer des comparaisons inter- ou intraspécifiques, notamment en taxonomie ou en amélioration génétique. Il est toujours largement utilisé dans les études cytogénétiques des plantes comme chez le genre *Vicia* (Kirov et al., 2021).

- **Marquage chromosomiques (C-banding et N-banding) :**

La technique N-banding est une méthode cytogénétique utilisée pour visualiser les régions organisatrices nucléolaires (NOR) et certaines zones d'hétérochromatine sur les chromosomes. Elle repose sur une dénaturation différentielle de l'ADN suivie d'une coloration au Giemsa, révélant des bandes sombres correspondant aux régions riches en séquences répétitives (comme les gènes ribosomiques). (Hammouda et al 2017)

Chapitre 01 : Revue bibliographique

- **Microscopie électronique et super-résolution** : utilisée pour analyser l'ultrastructure des chromosomes et les interactions entre la chromatine et d'autres composants nucléaires (Cremer & Cremer, 2010).

3. Le marquage chromosomique par la technique de C-banding

Le marquage chromosomique par la technique de C-banding est une méthode puissante utilisée pour analyser la structure des chromosomes, notamment la distribution de l'hétérochromatine, et pour étudier la variation génétique au sein des espèces. Cette technique permet de marquer spécifiquement les régions riches en ADN satellite et en hétérochromatine, des zones chromosomiques souvent impliquées dans la régulation de l'expression génétique et dans les processus d'adaptation chez les plantes.

3.1 Principe et applications

Le C-banding repose sur l'utilisation de réactifs chimiques spécifiques qui permettent de colorer sélectivement les zones riches en hétérochromatine des chromosomes. Ces régions sont souvent composées de séquences répétitives d'ADN et sont moins accessibles à la transcription génique, mais elles jouent un rôle crucial dans la stabilité génétique et la régulation de certains gènes. En exposant les chromosomes à une solution de brome de 2-amino-3,6-diméthylthiazol (ou d'autres réactifs similaires), puis en les traitant avec de la chaleur ou d'autres agents chimiques, on obtient une coloration distincte des régions de l'hétérochromatine, qui apparaissent en morceaux foncés ou bandeaux sur les chromosomes. Cette méthode est particulièrement utile pour identifier les zones de recombinaison et pour observer les changements chromosomiques lors de l'évolution ou de l'hybridation.

Chapitre 01 : Revue bibliographique

Les applications du C-banding sont multiples. Elle permet non seulement de cartographier les régions chromosomiques spécifiques, mais aussi d'étudier la morphologie et l'organisation de l'ADN au sein du génome, ce qui est crucial pour la compréhension des mécanismes d'adaptation et de spéciation des plantes (Sumner, 1990; Miller et al., 1996).

Dans le contexte de l'amélioration des cultures agricoles, cette technique peut être utilisée pour suivre l'évolution des caractéristiques chromosomiques chez les plantes cultivées, identifier des marqueurs de traits spécifiques comme la tolérance au stress ou la résistance aux maladies, et optimiser les programmes de sélection végétale (Riera et al., 2011).

3.2 Hétérochromatine et adaptation chez les plantes

L'hétérochromatine, souvent représentée par les bandes sombres observées par C-banding, joue un rôle fondamental dans plusieurs processus biologiques, notamment la régulation de la stabilité génétique, la recombinaison chromosomique et l'adaptation au stress environnemental. Chez les plantes, l'hétérochromatine est liée à des régions de l'ADN qui ne sont pas transcrites, mais qui ont un rôle clé dans la structure et l'organisation du génome, ainsi que dans l'interaction avec les gènes actifs.

La stabilité génomique des plantes est en grande partie contrôlée par la présence d'hétérochromatine, qui peut protéger les gènes actifs contre les effets néfastes des transposons et autres éléments génétiques mobiles. Les régions hétérochromatiques agissent également comme réservoirs génétiques en fournissant un support pour l'organisation du génome et en contribuant à la réduction de la variabilité génétique non souhaitée (Bennetzen et al., 2005).

L'hétérochromatine est également impliquée dans les réponses aux stress environnementaux, tels que la sécheresse, la salinité et la température élevée. Ces facteurs peuvent provoquer des modifications chromosomiques dans les régions hétérochromatiques, permettant aux plantes de s'adapter à des conditions extrêmes. Par

Chapitre 01 : Revue bibliographique

exemple, la réorganisation de l'hétérochromatine peut permettre une meilleure gestion de l'expression génique en réponse à des stimuli environnementaux, facilitant ainsi l'adaptation de la plante à son environnement. La réduction ou l'augmentation de l'hétérochromatine peut également influencer la régulation des gènes de stress, tels que ceux responsables de la tolérance à la sécheresse ou à la chaleur (Baack et al. 2015, Hammouda et al, 2021).

Ces mécanismes sont particulièrement importants dans les cultures agricoles, car la gestion de l'hétérochromatine pourrait être un moyen efficace de sélectionner des variétés de plantes plus résistantes aux stress climatiques ou capables de mieux s'adapter à des conditions de culture suboptimales. Ainsi, l'étude de l'hétérochromatine par des techniques comme le C-banding permet non seulement de comprendre les bases de l'adaptation chez les plantes, mais aussi de proposer des stratégies pour améliorer les cultures (Mulligan et al. 2011).

3.3 Études antérieures sur le marquage chromosomique de *Vicia faba* et *Vicia sativa*

Les études cytogénétiques ont montré que *Vicia faba* et *Vicia sativa* présentent des modifications chromosomiques au cours de leur évolution, ce qui pourrait expliquer la diversité génétique observée dans ces espèces. Par exemple, des variations chromosomiques peuvent résulter de processus comme la polyploïdie, où une espèce présente un nombre de chromosomes supérieur à la norme diploïde, et la translocation chromosomique, où des segments de chromosomes sont échangés entre différents chromosomes. Ces événements peuvent donner naissance à de nouvelles variétés avec des traits améliorés, comme une plus grande productivité ou une résistance accrue aux maladies (Bashir et al. 2014).

La caractérisation cytogénétique de ces espèces est essentielle pour la conservation de leurs ressources génétiques et pour l'élargissement des banques de semences. En

Chapitre 01 : Revue bibliographique

combinant des approches de cytogénétique avec la cartographie génétique, les scientifiques peuvent identifier des loci associés à des caractères spécifiques, facilitant ainsi l'amélioration génétique de ces plantes pour répondre aux défis agricoles mondiaux, notamment la sécurité alimentaire dans un contexte de changement climatique (Mulligan et al. 2011).

Les études sur le marquage chromosomique de *Vicia faba* et *Vicia sativa* ont révélé des différences notables dans la structure et l'organisation de leurs chromosomes, ce qui peut avoir des implications importantes pour leur amélioration génétique. Le C-banding a permis de marquer les régions hétérochromatiques de ces deux espèces, offrant ainsi une meilleure compréhension de leur variation génétique et de leur adaptation à différents environnements.

Des recherches menées sur *Vicia faba* ont montré que la distribution de l'hétérochromatine dans cette espèce est relativement homogène, avec une intensité de bandage uniforme, ce qui suggère une organisation génétique stable et bien ordonnée. Cependant, des variations dans la quantité et la localisation de l'hétérochromatine ont été observées selon les variétés cultivées, ce qui pourrait être lié à la domestication de cette plante et aux pressions de sélection exercées pour des traits agronomiques spécifiques, tels que la résistance aux maladies ou la tolérance à la sécheresse (Santos et al. 2017).

Chapitre 01 : Revue bibliographique

Pour *Vicia sativa*, les études de marquage chromosomique ont révélé une grande diversité génétique, en particulier dans les régions hétérochromatiques, ce qui est en ligne avec les résultats précédemment mentionnés sur la variabilité de l'espèce. Cette diversité peut être exploitée pour développer des cultivars de vesce capables de résister à divers stress abiotiques et biotiques. Par exemple, une étude a démontré que l'hétérochromatine dans certaines variétés de *Vicia sativa* pourrait être liée à des mécanismes de résistance aux pathogènes (Rosato et al. 2007).

L'intégration du marquage chromosomique avec des approches de cartographie génétique dans les recherches sur *Vicia faba* et *Vicia sativa* offre un grand potentiel pour l'amélioration des rendements, l'adaptation au changement climatique et la résistance aux maladies, ce qui en fait une méthode prometteuse pour le développement de nouvelles variétés de plantes avec des caractéristiques agronomiques améliorées (Farré et al. 2014).

CHAPITRE 02 :

Matériel et Méthodes

Chapitre 02 : Matériels et Méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

1/Matériel végétal :

Dans le but de réaliser cette étude nous avons choisi 3 variétés qui appartiennent au genre *Vicia* qui nous ont servi d'échantillons. Il s'agit de:

Une variété du genre *Vicia faba* L : Maltais ,

Une variété du genre *Vicia sativa* L : Marianna

1.1 Origine et caractéristiques des échantillons :

Vicia faba est originaire du Proche-Orient, plus spécifiquement des régions correspondant aujourd'hui à la Turquie, la Palestine, la Syrie et les zones environnantes. Elle a été domestiquée il y a environ 8000 ans pendant l'âge néolithique. La fève s'est ensuite répandue dans tout le bassin méditerranéen, où elle est devenue une culture importante grâce à son adaptation aux climats tempérés et semi-arides.

Caractéristiques de la variété 'Maltais'

Maltais est une variété moderne de *Vicia faba* , qui est similaire à la variété **Usontho** et elle est prise pour sa productivité et ses graines riches en protéines (25-30 %). Capable de fixer l'azote et améliorer la fertilité des sols, en faisant un choix durable pour l'agriculture en zones semi-arides.

□ **Adaptation au climat méditerranéen:** Bonne tolérance à la sécheresse et aux températures élevées grâce à un système racinaire profond.

□ **Productivité:** Variété précoce avec un rendement élevé (4 à 5 tonnes/ha) et une teneur en protéines de 25 à 30 %.

□ **Résistance:** Tolérante à la rouille (*Uromyces viciae-fabae*), à l'anthracnose (*Colletotrichum trifolii*) et aux nématodes.

CHAPITRE 02 : Matériels et Méthodes

□ **Fixation de l'azote:** Améliore la fertilité des sols grâce à ses nodosités symbiotiques

Vicia sativa est originaire d'Eurasie et se trouve dans une large partie de l'Europe, du Sud-ouest asiatique et du Nord de l'Afrique.

Caractéristiques de la Variété Mariana

Cette variété de *Vicia sativa* produit des rendements élevés en biomasse et en graines riches en protéines.



Figure10 : Les variétés d'étude, (a) Maltais, (b) Marianna

1.2 Conditions de germination et préparation des pointes racines :

Les graines de légumineuses comme *Vicia faba* et *Vicia sativa* nécessitent des conditions spécifiques pour assurer une germination optimale.

CHAPITRE 02 : Matériels et Méthodes

- **Température** : Les températures idéales pour la germination se situent entre 15 °C et 25°C. Une température trop basse ralentit la germination, tandis qu'une température excessive peut inhiber le processus.
- **Humidité** : Les graines doivent être maintenues dans un environnement humide mais pas saturé d'eau. Une humidité relative élevée (70-80 %) est recommandée.
- **Substrat** : Les graines doivent être placées sur du papier filtre humide ou du coton hydrophile.

1.2.1 Étapes de la Germination:

- 1) Les graines seront sélectionnées et stérilisées en utilisant l'eau de javel concentré à 50% puis on les lave trois fois.
- 2) Trempe des graines : Trempez les graines dans de l'eau distillée pendant 6 à 12 heures pour réhydrater les téguments et activer les processus métaboliques.
- 3) Placement dans un environnement contrôlé :
 - Disposez les graines sur un support humide (dans mon cas j'ai utilisé du papier absorbant).
 - Placez le dispositif dans une boîte de Pétri ou un contenant fermé pour maintenir l'humidité.
- 4) Incubation : Conservez les graines dans une chambre de croissance ou un endroit à température contrôlée (15-25 °C) pendant 2 à 5 jours, en veillant à maintenir l'humidité constante.
- 5) Observation : Une fois que les radicules (pointes racines) atteignent 1 à 2 cm, elles sont prêtes pour la préparation cytologique, elles seront coupées à l'aide d'un bistouri et prêtes pour être traitées.

CHAPITRE 02 : Matériels et Méthodes

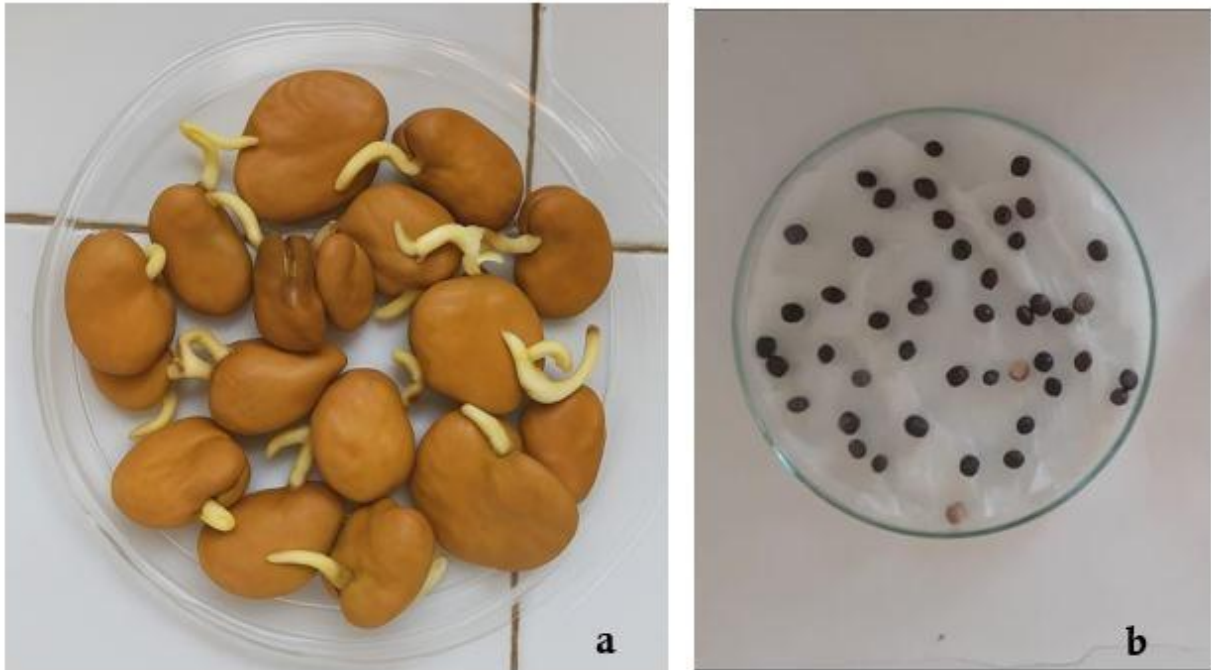


Figure 11 : Des graines germées : a (var Maltais), b (var Marrianna)

2/ Etapes préliminaires

2.1 Prétraitement des échantillons :

Après la coupe des racines, celles-ci sont placées dans des piluliers contenant un **agent mitoclasique**, en l'occurrence la **8-hydroxyquinoléine**, pendant **24 à 25 heures**.

Effets de la 8-hydroxyquinoléine :

1. **Blocage des divisions mitotiques en métaphase** : Elle inhibe la progression du cycle cellulaire, empêchant les cellules de poursuivre la division après la métaphase.
2. **Condensation des chromosomes** : Elle contracte les chromosomes, les rendant plus visibles et facilement observables au microscope.

CHAPITRE 02 : Matériels et Méthodes



Figure 12: Echantillons des racines au prétraitement (solution de 8-hydroxyquinoléine)

2.2 Fixation et préparation des lames :

2.2.1 Fixation :

Après prélèvement des racicules de la solution mitoclasique, celles-ci doivent être plongées dans une solution de fixation pendant une durée de 48 heures. Dans le cadre de mon étude, j'ai employé un fixateur composé d'un mélange 3:1 d'éthanol et d'acide acétique (3V Éthanol/1V Acide acétique). Ce fixateur permet d'éliminer toute activité cellulaire tout en maintenant l'intégrité du noyau et de son contenu, une étape essentielle pour les analyses ultérieures.

2.2.2 Stockage :

Après avoir réalisé cette étape, les pointes racinaires peuvent être conservées dans une solution d'éthanol à 70 % et stockées au réfrigérateur. Elles restent ainsi utilisables à tout moment après avoir été hydrolysées.

CHAPITRE 02 : Matériels et Méthodes

2.2.3 Hydrolyse :

L'hydrolyse des pointes racinaires est effectuée dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 1 %. L'immersion des racicules dans cette solution est une étape cruciale, car elle permet la dissolution des sels pectiques. Cette action libère les groupements aldéhydiques des molécules de sucre de l'ADN, en détruisant les liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose. Ce mécanisme prépare efficacement les échantillons pour les étapes d'observation.

Dans le cadre de notre étude, une durée de 17 à 19 minutes à 59°C s'est avérée suffisante pour obtenir des résultats optimaux lors de l'observation au microscope après écrasement.

2.2.4 Préparation des lames :

Une fois l'hydrolyse des racines terminée, celles-ci sont directement prêtes à être utilisées. À l'aide d'un bistouri, on isole un segment de 1 à 2 mm, que l'on dépose délicatement sur une lame. On ajoute ensuite quelques gouttes de carmin acétique, un colorant qui se lie aux groupements aldéhydiques libérés au cours de l'hydrolyse. Cette coloration permet de rendre les chromosomes parfaitement visibles au microscope après écrasement, tout en garantissant l'absence d'interférences lors de la réalisation du C-Banding.

Les lames qui sont riches en plaques métaphasiques seront ensuite marquées et congelées au -80°C.

2.3 Réalisation de la technique du C-banding : (Hammouda 2008)

2.3.1 Délamellation

CHAPITRE 02 : Matériels et Méthodes

Les lamelles sont décollées des lames conservées à -80°C (congélateur). Ensuite, les lames sont rincées à l'éthanol 97% et mises à sécher pendant 48h à température ambiante.

2.3.2 Dénaturation de l'ADN

Cette étape se fait dans l'hydroxyde de baryum $\text{Ba}(\text{OH})_2$ à 5% à $50-60^{\circ}\text{C}$ pendant 5 min, c'est une étape critique et importante qui nécessite un temps et une température exacte.

2.3.3 Rinçage

Les lames sont rincées à l'eau de robinet pendant 30 à 45 min ensuite avec l'eau distillée pendant 10 min.

2.3.4 Renaturation de l'ADN :

Les lames sont transférées dans une solution fraîche de Tampon Sorensen 2XSSC à $\text{pH}=7$ et une température de 60°C pendant 1h.

2.3.5 Coloration

Les lames sont plongées dans une solution de tampon phosphate à $\text{pH}=6,8$ et 4% de Giemsa pendant 20 à 30 min

2.3.6 Montage

les lames sont laissées sécher une nuit puis fixées par un produit de montage « DPX Mountant for histology »

CHAPITRE 02 : Matériels et Méthodes



Figure13 : Matériel utilisé pour le marquage en C-banding

2.3.7 Observation :

L'observation des meilleures plaques métaphasiques, ainsi que leur capture photographique, ont été réalisées à l'aide d'un photomicroscope Leica DM 4000, équipé d'un objectif à immersion 63×.



Figure14 : Photo microscope à balayage Leica DM 4000

CHAPITRE III :

Résultats et discussion

Chapitre 03 : Résultats et discussion

III. Résultats :

Nous avons pu identifier, individuellement, les chromosomes des génomes des deux espèces *Vicia faba* (var .Maltais) et *Vicia sativa* (var. Marianna) , grâce au marqueur heterochromatine (correspondant aux séquences d'ADN non codantes, riches en base CG) . Les bandes C (ou bandes hétérochromatiques) existent sous trois formes : télomériques, centromériques et intercalaires. Le nombre de bandes, leur intensité et leur emplacement sur les chromosomes, diffèrent d'une variété à une autre et entre les deux espèces

D'une manière générale, l'hétérochromatine est centromérique, ce qui est une caractéristique de nombreuses espèces à petits et moyens chromosomes.

Les résultats montrent des variations importantes dans la taille des chromosomes, leurs structures et la localisation et le nombre de constriction secondaires.

III.1.1 Distribution de l'hétérochromatine

La distribution et la caractérisation de l'hétérochromatine chez deux espèces sont analysées et comparées par les bandes C (Figure s 16 et 17).

III.1.2 Analyse des chromosomes de *Vicia faba* (var. Maltais)

Le caryotype de la variété Maltais est asymétrique, caractérisé par la présence de six paires chromosomique de type metacentriques , *acrocentriques et subtélocentrique* qui sont marqués par des bandes C ; L'homologie des chromosomes est réalisée en fonction de :

- Localisation du centromère,
- Profils des bandes (emplacement, nombre et intensité)
- localisations des zones vitales. (figure 15).

Chapitre 03 : Résultats et discussion

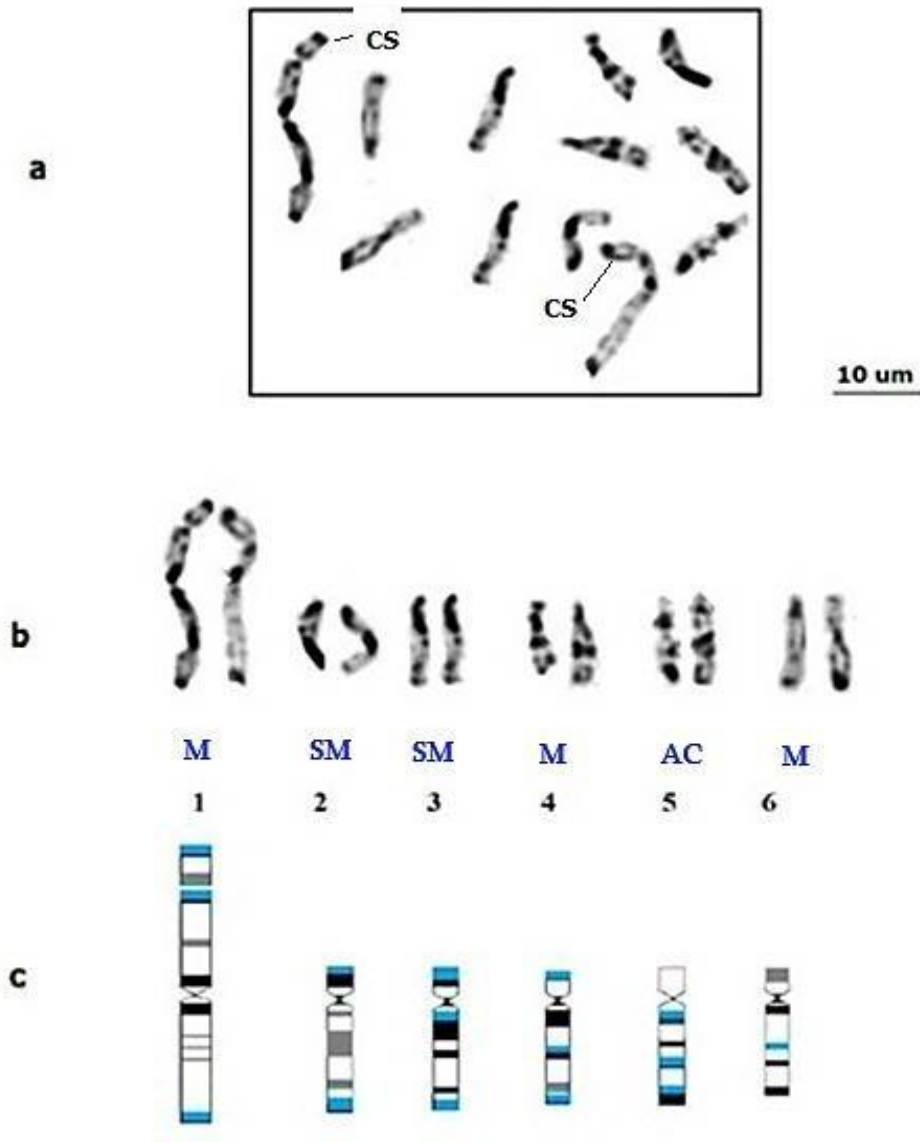


Figure 15: Cayotype (en C banding) de l'espèce *Vicia faba* (var. Maltais)

- a- Plaque métaphasique
- b- Caryogramme
- c- Idiogramme/ Toutes les bandes C correspondant à l'hétérochromatine. Celles colorées en bleu sont des bandes spécifiques à la variété ; La présence d'une paire de satellites du chromosome 1 (bras court), cette région est une zone de localisation des gènes ribosomiques

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Chromosome 01 :

BC : présence de 2 bandes épaisses fusionnées, une bande intercalaire et une bande télomérique ainsi on remarque la présence d'un satellite sur le bras court dans lequel on trouve 2 bandes télomériques

BL : Présence d'une bande épaisse centromérique, de trois bandes intercalaires et une télomérique

Chromosome 02:

BC : Présence d'une bande télomérique et une épaisse bande intercalaire et une bande centromérique

BL : présence de 4 bandes intercalaires dont une est fusionnée avec une autre bande formant une épaisse bande et une bande télomérique

Chromosome 03:

BC : Présence d'une épaisse bande télomérique et une bande intercalaire

BL : présence d'une bande centromérique, 4 bandes intercalaires dont une est fusionnée avec une autre bande formant une bande épaisse, et une bande télomérique.

Chromosome 04:

BC : présence d'une bande télomérique seulement

BL : présence d'une épaisse bande centromérique, trois bandes intercalaires et une bande télomérique

Chromosome 05:

BC : Absence des bandes

BL : Absence de la bande centromérique, présence de six bandes intercalaires et une bande télomérique

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Chromosome 06 :

BC : présence d'une épaisse bande télomérique

BL : présence d'une bande centromérique, 3 bandes intercalaire et une télomérique.

L'analyse structurale des chromosomes montre une forte intensité en bandes hétérochromatique centromérique et télomériques, a permis de déterminer des différences structurales importantes

Les paires chromosomiques 1, 2, 3 et 4 montrent une distribution équilibrée des trois types de bandes, reflétant une position centrale du centromère. Ces chromosomes ont ainsi été identifiés comme métacentriques.

La paire chromosomique 5 se distingue par l'absence de bande centromérique marquée, associée à une forte densité de bandes intercalaires et télomériques. Cette configuration, indiquant un centromère très excentré, est caractéristique d'un chromosome acrocentrique.

Enfin, la paire 6 présente une faible expression de la bande centromérique et une asymétrie dans la répartition des autres bandes, suggérant un centromère subterminal. Ces observations permettent de la classer comme subtélocentrique.

Le chromosome 1 se caractérise par une taille double par rapport aux autres chromosomes, et par la présence de bandes C⁺ fortement marquées au centromère et en région télomérique, également, marquées sur la construction secondaire, ceci permet d'identifier ce chromosome comme **un chromosome marqueur** caractéristique de cette variété.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

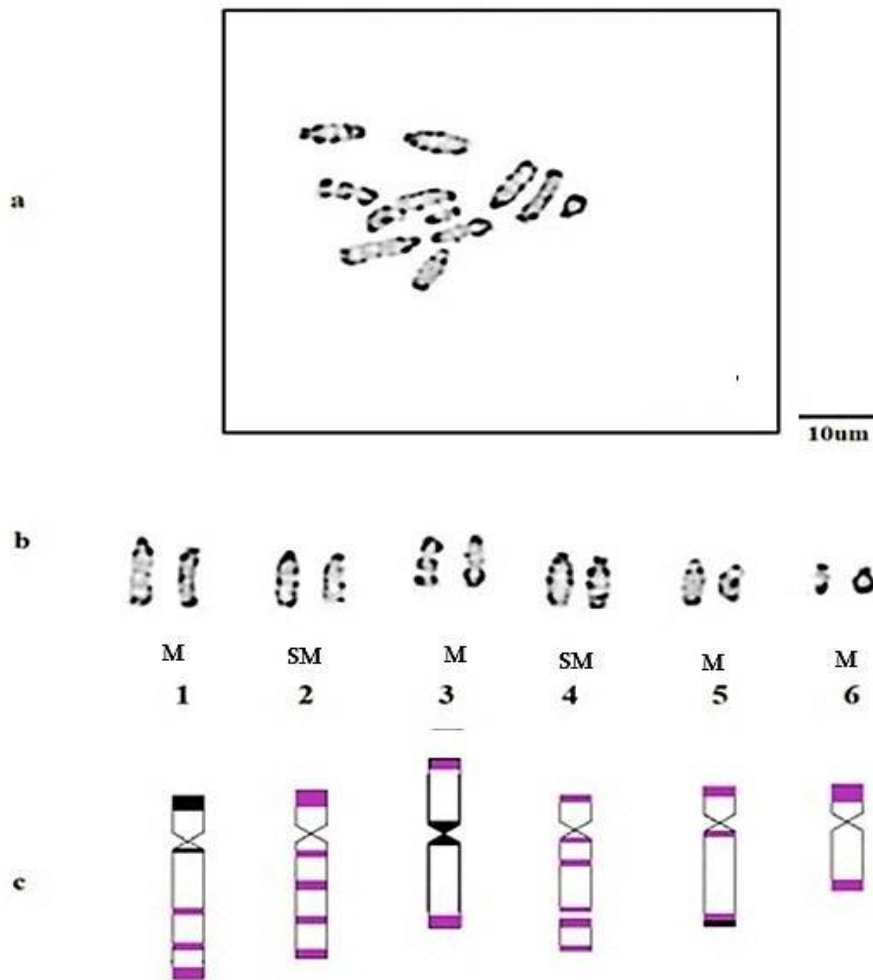


Figure 16: Cayotype (en C banding) de l'espece *Vicia sativa*(var. Marianna)

- a- Plaque métaphasique
- b- Caryogramme
- c- Idiogramme/ Les bandes C colorées en mauves sont spécifiques à la variété.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

III.1.3 Analyse des chromosomes de *Vicia sativa* (var. Marianna)

Du point de vu de la forme des chromosomes, Nous constatons que La variété Marianna possède un **caryotype symétrique**, comprenant trois paires de chromosomes métacentriques, et deux paires sub métacentriques.

Du point de vu structure, les chromosomes montrent une hétérogénéité dans l'emplacement et la localisation des bandes (Figure 16) :

Chromosome 01 :

BC : présence d'une bande télomérique épaisse

BL : présence de trois bandes intercalaire dont une est proche du centromère et une bande télomérique

Chromosome02 :

BC : présence d'une bande télomérique épaisse

BL : présence d'une bande telomérique épaisse et trois bandes intercalaire

Chromosome03 :

BC : Présence d'une bande centromérique et une bande télomérique

BL : présence d'une bande centromerique et une bande telomérique

Chromosome 04 :

BC : présence d'une bande telomérique

BL : présence de deux bandes intercalaire et une telomérique et aussi la présence d'un satellite sur le bras long avec 2 bandes télomériques

Chromosome 05 :

BC : présence d'une bande telomérique seulement

BL : présence de deux bandes intercalaire et une bande telomérique

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Chromosome 06 :

BC : présence d'une épaisse bande télomérique

BL : présence d'une bande télomérique

On observe un profil relativement symétrique, avec une alternance régulière des bandes hétérochromatiques. Tous les chromosomes sont marqués par des bandes télomériques bien visibles.

Tableau01 : Type de bandes et taux de polymorphisme chez les deux variétés étudiées

Espèces	Type de bandes C Chromosomes	bande Metacentrique	bande Intercalaire	bande Télomérique	Taux de polymorphisme
<i>Vicia faba</i> Maltais	1	2	5	4	68%
	2	2	6	2	
	3	2	5	2	
	4	3	3	2	
	5	0	5	1	
	6	2	2	2	
<i>Vicia sativa</i> Marianna	1	1	2	2	19.23%
	2	0	3	2	
	3	2	0	2	
	4	1	1	4	
	5	1	1	2	
	6	0	0	2	

Formule de calcul du polymorphisme :

$$\% = \frac{\text{nombre des bandes polymorphes}}{\text{nombre total des bandes}} * 100$$

Chapitre 03 : Résultats et discussion

III.2 Discussion :

Les génomes de nombreuses espèces végétales sont étudiés en utilisant le C- banding. En se basant sur la répartition des régions hétérochromatiques tout au long des chromosomes, il est possible d'identifier les chromosomes, de détecter leurs réarrangements et de rendre la cartographie chromosomique plus précise, ainsi que d'évaluer la proximité taxonomique de différentes espèces et de déterminer leurs relations phylogénétiques (Badaeva, E.D et *al* 2002) , (Samatadze et *al*)

De nombreux travaux cytogénétiques ont fait l'objet d'étude des légumineuses alimentaires (Bechkri et Boutekrabt 2019, Hammadi et Hammouda, 2018, Bechkri et Khelifi 2022, bechkri Bougrine,et Mebarkia 2023). Ces travaux portent essentiellement sur différents aspects (agronomiques, biométriques, biochimiques et moléculaires). Quelques travaux ont été conduits en cytogénétique. Nos travaux sont originaux et discutés pour la première fois.

Suite aux travaux réalisés par **Hamani H. et Hammouda D. (2024)** sur le dénombrement chromosomique des variétés de l'espèce *Vicia faba*, l'étude a conduit au marquage et différenciation structurale des chromosomes des deux espèces *Vicia faba* et *Vicia sativa*

III.2.1 : Comparaison entre les idiogrammes des deux espèces *Vicia faba* et *Vicia sativa* :

Variabilité intra et inter chromosomique

L'analyse comparative de la distribution de l'hétérochromatine constitutive (séquences d'ADN hautement répétées non codantes riche en bases CG) des chromosomes de *Vicia faba* (var. Maltais) et *Vicia sativa* (var. Marianna) a permis de mettre en évidence des différences notables tant sur le plan de la répartition, nombre et intensité des bandes hétérochromatiques que sur la morphologie des chromosomes. Bien que les deux espèces

Chapitre 03 : Résultats et discussion

partagent le même nombre chromosomique ($2n = 12$), leurs profils caryotypiques révèlent des particularités structurales susceptibles d'être corrélées à des stratégies d'adaptation différenciées.

Chez *Vicia faba* (Maltais), l'analyse en C banding met en évidence une forte intensité des bandes centromériques, particulièrement marquée sur les paires chromosomiques 1 à 4. Ces dernières présentent une répartition équilibrée des bandes centromériques, intercalaires et télomériques, suggérant une morphologie métacentrique.

La présence abondante de bandes intercalaires, notamment sur les chromosomes 1, 3 et 5, indique **une richesse en hétérochromatine constitutive**, élément potentiellement impliqué dans la régulation de l'expression génique et la stabilité chromosomique. (Busch, J., et al. (2023))

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 (**Hammouda, 2021**).

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**)

Chapitre 03 : Résultats et discussion

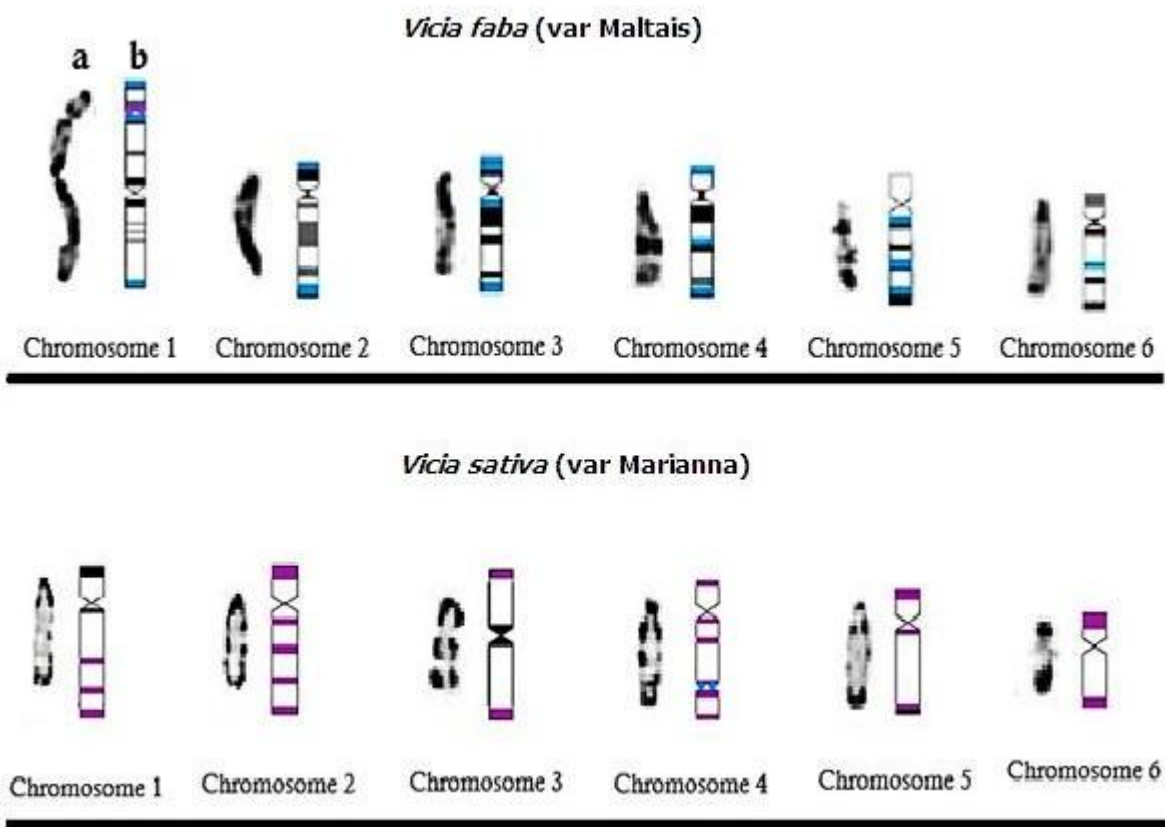


Figure 17: Comparaison structurale des chromosomes marqués par des bandes hétérochromatiques des deux espèces *Vicia faba* et *Vicia sativa* : **a** (caryogramme), **b** (idiogramme).

Par opposition, le caryotype de *Vicia sativa* (Marianna) se caractérise par une prédominance marquée de bandes télomériques, bien visibles sur l'ensemble des chromosomes, accompagnée d'une quasi-absence de bandes centromériques. Cette configuration traduit un caryotype relativement symétrique. (figure18)

Les chromosomes 1 et 2, présentant des bandes télomériques particulièrement sombres, pourraient jouer un rôle dans la protection des extrémités chromosomiques contre les processus de recombinaison ou de dégradation. (Benlioglu, B. (2021))

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Sur le plan morphologique, les différences sont également significatives. *Vicia faba* présente un caryotype asymétrique, et une plus grande diversité structurale hétérochromatique.

En revanche, *Vicia sativa* affiche un caryotype symétrique, bien que dominé par des chromosomes métacentriques. le **chromosome 1** de *Vicia faba* est particulièrement distinctif, qui présente une construction secondaire bien définie, riche en bandes intercalaires et télomériques, associée à une bande centromérique épaisse. Ce chromosome pourrait constituer un marqueur cytogénétique spécifique à cette variété, utile dans les études de caractérisation variétale et d'évolution comparative.

Les différences observées dans la distribution et l'intensité des bandes C⁺ entre les deux espèces pourraient refléter des mécanismes adaptatifs distincts. Une forte densité de bandes centromériques chez *Vicia faba* peut être interprétée comme un facteur de stabilité génomique, tandis que la prépondérance des bandes télomériques chez *Vicia sativa* suggère une spécialisation dans la protection des extrémités chromosomiques. Ces caractéristiques pourraient contribuer à la capacité différentielle d'adaptation des deux espèces à des environnements variés, comme suggéré par Schubert et al. (2001).

III.2.2. Variabilité de l'hétérochromatine

Les résultats obtenus dans le présent travail révèlent une forte densité de bandes centromériques chez *Vicia faba*, tandis que *Vicia sativa* présente une prédominance de bandes télomériques.

Marsano & Dimitri (2022) mettent en évidence le rôle des régions hétérochromatiques dans l'accumulation d'éléments transposables, contribuant ainsi à la structuration et à l'évolution du génome.

Dans une perspective plus récente, Hisanaga et al. (2023) ont mis en évidence des différences marquées dans le paysage chromatinien ancestral des plantes terrestres,

Chapitre 03 : Résultats et discussion

notamment entre les zones euchromatiques et hétérochromatiques (Hisanaga et al., 2023). En particulier, l'accumulation d'hétérochromatine aux extrémités chromosomiques pourrait conférer à *Vicia sativa* une protection accrue contre les remaniements génomiques.

le **chromosome 1 de l'espece** *Vicia faba* , présente un surcharge heterochromatique et d'après Hammani et Hammouda (2024) , ce chromosome se distingue par sa taille exceptionnelle et ses caractéristiques cytogénétiques spécifiques. Sa longueur totale atteint 21,09 μm , ce qui en fait dépasse deux fois la taille moyenne des autres chromosomes,. Ce chromosome, métacentrique est porteur d'un satellite sur le bras court, représente à lui seul environ 30,36 % de la longueur totale du caryotype haploïde de cette variété. L'importance du chromosome 1 chez variété Maltais s'inscrit dans le phénomène de bimodalité du caryotype chez *Vicia faba*. La bimodalité désigne ici la répartition des chromosomes en deux groupes distincts selon leur taille : un groupe de grands chromosomes, dont le chromosome 1, et un groupe de chromosomes nettement plus petits. Cette distribution bimodale est largement rapportée dans la littérature pour cette espèce (Raina & Rees, 1983 ; Maxted et al., 1991 ; Schubert & Lysak, 2011).

Selon plusieurs hypothèses évolutives, cette bimodalité résulterait d'une mutation (ou rearrangement) chromosomique de type Robertsonien (fusion centrique) ayant réduit le nombre chromosomique ancestral de $2n = 14$ à $2n = 12$ (Stebbins, 1971 ; Schubert & Rieger, 1985). Cette fusion aurait généré un chromosome 1 de grande taille, possédant un contenu en ADN d'environ 7,98 pg, contre 3,4 à 4,03 pg pour les autres chromosomes.

D'un point de vue évolutif, cette organisation bimodale et asymétrique du caryotype est interprétée comme un caractère dérivé, suggérant un avancement évolutif.

La variété Maltais présente un indice d'asymétrie interchromosomique élevé, traduisant une importante hétérogénéité entre les tailles chromosomiques. Ces résultats corroborent l'idée que le chromosome 1, par sa structure, sa taille et sa position dominante dans le

Chapitre 03 : Résultats et discussion

caryotype, reflète **une évolution structurale** marquée, possiblement en lien avec des processus adaptatifs ou des modifications du génome au cours de la domestication.

Chez *Vicia sativa* (var Marianna), le chromosome 4 se distingue par sa petite taille, ce qui le place parmi les plus courts du complément chromosomique. Malgré ses dimensions réduites, il présente une organisation structurale remarquable, marquée par la présence d'un satellite localisé sur le bras long. Ce satellite, associé à une région secondaire de constriction, correspond vraisemblablement à une région organisatrice du nucléole (NOR), riche en gènes ribosomiques. Sa position sur le bras long constitue une particularité notable, les satellites étant plus fréquemment observés sur les bras courts des chromosomes.

D'un point de vue chromatinien, le chromosome 4 de *Vicia sativa* révèle une variabilité significative, illustrée par la présence de six bandes détectées par la technique du C banding. Ces bandes, réparties le long de la chromatine, reflètent une diversité structurale interne, traduisant probablement des différences dans la densité en séquences répétées, l'état de condensation ou l'activité transcriptionnelle régionale.

Cette richesse en éléments polymorphes, combinée à la présence du satellite sur le bras long, confère au chromosome 4 une valeur potentielle en tant que marqueur cytogénétique d'adaptation. Il pourrait en effet jouer un rôle non négligeable dans la dynamique évolutive de l'espèce, notamment en lien avec des réponses aux stress environnementaux ou une sélection locale. Sa configuration atypique pourrait aussi refléter des événements de réarrangement chromosomique ou de diversification fonctionnelle.

III.2.3 Comparaison des polymorphismes entre *Vicia faba* et *Vicia sativa*

L'analyse du polymorphisme hétérochromatique, basée sur la présence de bandes polymorphes, a révélé des différences marquées entre les deux espèces. Le taux de polymorphisme chez *Vicia faba* est de **68 %**, contre chez *Vicia sativa*. **19.23 %**

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Selon les critères définis par Nei (1973) et appliqués dans diverses études sur les légumineuses (Hammadi et Hammouda, 2018 , Ammar et al., 2019), ces valeurs traduisent une diversité élevée chez *Vicia faba*, et faible chez *Vicia sativa*. Ce contraste suggère que *Vicia faba* présente une hétérogénéité structurale importante, probablement liée à une domestication ou à une adaptation à des milieux écologiques variés (Maxted et al., 2001).

Chez *Vicia sativa* , le taux plus faible pourrait s'expliquer par les effets de sélection variétale intensive, ayant réduit la diversité intra-spécifique (Terzopoulos & Bebeli, 2008 ; Kumar et al., 2020). Cette espèce, largement cultivée, a probablement subi un **goulot d'étranglement génétique**, menant à une uniformisation des génotypes cultivés.

En revanche, *Vicia faba*, souvent moins domestiquée et exploitée dans des systèmes agricoles plus extensifs ou semi-naturels, conserve une variabilité naturelle plus étendue, ce qui augmente son intérêt comme réservoir génétique pour l'amélioration variétale (Raina & Rees, 1983 ; Ladizinsky, 1998).

Cette hétérogénéité est également appuyée par les données cytogénétiques : la présence de six bandes sur le chromosome 4 chez *Vicia sativa*, malgré sa petite taille, témoigne d'une concentration de diversité chromatinienne sur des régions spécifiques, notamment autour du satellite situé sur le bras long. Ce chromosome pourrait ainsi jouer un rôle clé dans l'adaptation environnementale ou la régulation génique locale (Schubert & Rieger, 1985 ; Osman et al., 2020).

III.2.4. Intérêt évolutif et adaptatif

Les différences observées entre les espèces étudiées semblent refléter des stratégies adaptatives propres à chaque genre.

-Un **caryotype symétrique** tel que celui de *Vicia sativa* est généralement associé à une stabilité évolutive et une plus grande fidélité dans la transmission du matériel génétique.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

Cette relative symétrie caryotypique évoque, selon Siljak-Yakovlev (1986), un état évolutif plus ancestral ou moins dérivé, associé à une faible spéciation

En revanche, un **caryotype asymétrique**, comme celui de *Vicia faba* pourrait refléter une capacité d'adaptation plus rapide via des réarrangements chromosomiques plus fréquents (Peruzzi & Eroğlu, 2013 ; Busch et al., 2023).

CONCLUSION

Conclusion et perspectives

L'étude comparative entre *Vicia faba* et *Vicia sativa* a permis de mettre en évidence des différences notables sur le plan cytogénétique, susceptibles d'être exploitées comme marqueurs d'adaptation.

L'analyse des caryotypes a révélé des variations dans la taille et la morphologie des chromosomes, notamment la présence de satellites sur des chromosomes spécifiques, comme le chromosome 4 de la variété marianna de *Vicia sativa* (portant un satellite sur le bras long), et la bimodalité marquée du chromosome 1 de la variété Maltais de *Vicia faba*. Ces traits distinctifs confèrent à chaque espèce une organisation chromosomique propre, potentiellement liée à leur réponse différentielle aux stress environnementaux.

Le taux de polymorphisme observé **19.23 % chez *Vicia sativa* contre 68 % chez *Vicia faba*, souligne une plus grande diversité** au sein de cette dernière. Cela pourrait traduire une meilleure plasticité adaptative de *Vicia sativa*, renforçant son intérêt pour les programmes de sélection en milieu contraignant.

La combinaison de données morpho-cytogénétiques et de paramètres de polymorphisme constitue ainsi une approche pertinente pour identifier des marqueurs d'adaptation.

Ces résultats s'inscrivent dans une perspective d'amélioration variétale durable et de préservation des ressources génétiques, en particulier dans le contexte du changement climatique et de la recherche de légumineuses résilientes.

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

- Marquage au N-banding pour localiser les régions organisatrices nucléolaires (N.O.R) qui codent pour les gènes ribosomiques.
- L'hybridation in situ (F.I.S.H) pour localiser les gènes ribosomiaux et mettre en évidence des mutations de type translocation ou inversion.

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

- 1 / **Ammar, M., Benlaribi, M., Benlaribi, R., & Achir, M.** (2019). Étude de la diversité génétique chez *Lens culinaris Medik.* (lentille cultivée) à l'aide de marqueurs morphologiques et phénologiques. *Nature & Technologie*, B–Agronomie et Biologie, 20, 50–59 .· agrifoodscience.com
- 2/ **Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D, Caparros ML**, editors. Epigenetics. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2007. 502 p. ISBN: 0-87969-724-5.
- 3/ **APG (Angiosperm Phylogeny Group)**. (1998, 2003, 2009, 2016). Classification phylogénétique des angiospermes, APG I-IV.
- 4/ **Badaeva, E.D., Amosova, A.V., Samatadze, T.E., Zoshchuk, S.A., Shostak, N.G., & Andreev, I.O.** (2002). Use of C-banding technique for chromosome identification in different *Vicia* species. *Cytogenetic and Genome Research*, 96(1–4), 154–160.
- 5/ **Bechkri, S., & Boutekrabt, A.** (2019). Étude agronomique et cytogénétique sur *Vicia faba* L. cultivée en Algérie. *Revue des Bio-Ressources*, 9(1), 45–54.
- 6/ **Bechkri, S., & Khelifi, D.** (2022). Caractérisation moléculaire et cytogénétique de *Vicia sativa*. *African Journal of Agricultural Research*, 17(1), 33–41.
- 7/ **Bechkri, S., Bougrine, F., & Mebarkia, A.** (2023). Étude comparative de la diversité cytogénétique entre *Vicia faba* et *Vicia sativa*. *Journal of Cytology & Genetics*, 58(2), 90–101.
- 8// **Busch, M., Hoffmann, A., & Harzsch, S.** (2023). Chromosomal rearrangements and adaptive significance in legumes. *Plant Cytogenetics Today*, 11(2), 67–78.
- 9/ ·**Cremer, T., & Cremer, M.** (2010). Chromosome territories. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(3), a003889.

- 10/ ·Farré, G., Sanahuja, G., & Christou, P. (2014). Marker-assisted selection and genome analysis in legumes. *Biotechnology Advances*, 32(2), 108–121.
- 11/ ·FAO. (2010). *The Second Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*. Rome: FAO.
- 12/ Fuchs, J., Brandes, A., & Schubert, I. (1998). Telomere sequence localization and karyotyping of *Vicia faba*. *Chromosoma*, 107(4), 272–276.
- 13/ Graham, P.H., & Vance, C.P. (2003). Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology*, 131(3), 872–877.
- 14/ Hammadi, N., & Hammouda, D. 2018. Genetic diversity in several genotypes of Algerian lentil using biochemical markers.
- 15/ Hammadi H, Hammouda-Bousbia D, Djeghar Radhia . 2018. Distribution of Heterochromatic Variability in Several Genotypes of *Lens culinaris* Medik (ssp *Microsperma* and *Macrosperma*). **International Journal of Science and Research**, Volume 7, Issue 1, ISSN (Online): 2319-7064. DOI: [10.21275/ART20178906](https://doi.org/10.21275/ART20178906), www.ijsr.net.
- 16/ Hamani H* , Hammouda D , Bellil I 2024. Cytogenetic characterization and protein polymorphism in ten *Vicia faba* L. subvarieties (var. *minor*, var. *equina* and var. *major*) : Correlation between botanical type and chromosome size ; African Journal of Biological Sciences , /*Afr.J.Bio.Sc.* 6(16) : Page 855 to 874. ISSN: 2663-2187. <https://doi.org/10.48047/AFJBS.6.16.2024.855-874>.
- 17/ Hammouda* D and Khalfallah N. 2008. . Comparative analysis of D and R genomes in two lignes (x-*Triticosecale* wittmack) and their genitors (*Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L.) by N- banding. *CARYOLOGIA*, VOL 61, N°3: p 245-252. www.unifi.it/Caryologia. I

- 18/ Hammouda, N. Khalfallah et H. BadrI Mohammed , 2021.** A Genomic Study in octoploide triticales (8x) and their genitors (wheat and rye) by C-banding, N-banding and In situ hybridization: The translocation identification 2BL/7RS. *Chapter 9 in Recent Research Advances in Biology Vol. 10, 137-150*
- 19/ Hisanaga, T., & Hasebe, M. (2023).** Evolutionary insights into heterochromatin in land plants. *Nature Plants*, 9(4), 501–510.
- 20/ Kumar, S., Gupta, P.K., & Balyan, H.S. (2020).** Bottlenecks in genetic diversity of *Vicia sativa*. *Plant Breeding*, 139(3), 471–478.
- 21/ Maxted, N., Bennett, S.J., & Davies, T.D. (2001).** Plant genetic resources of legumes in the Mediterranean. *Kluwer Academic Publishers*.
- 22/ Marsano, R.M., & Dimitri, P. (2022).** Role of heterochromatin in genome evolution and stress adaptation. *Chromosome Research*, 30(3), 277–291.
- 23/ Miller, D.A., Dev, V.G., & Miller, O.J. (1996).** Techniques of chromosome banding in plant species. *Plant Cell Reports*, 15(12), 950–960.
- 24/ Mulligan, B., Hobbs, D., & Snape, J. (2011).** Cytogenetic approaches in legume crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 62(13), 4353–4361.
- 25/ Neumann, P., Navrátilová, A., & Macas, J. (2001).** Comparative analysis of repetitive DNA in the genus *Vicia*. *Chromosome Research*, 9(4), 245–258.
- 26/ Osman, M., Ali, B., & Mustafa, R. (2020).** Satellite DNA and chromosomal adaptation in *Vicia sativa*. *Cytologia*, 85(2), 165–175.
- 27/ Peruzzi, L., & Eroğlu, H.E. (2013).** Evolutionary cytogenetics of plant karyotype asymmetry. *Plant Systematics and Evolution*, 299(5), 987–998.

- 28/ Riera, M., Meunier, J., & Dollet, M.** (2011). Applications des techniques de marquage chromosomique chez les Fabacées. *Plant Cytogenetics*, 14(3), 77–85.
- 29/ Rosato, M., Nicolé, S., & Sgorbati, S.** (2007). Distribution of heterochromatin and disease resistance in *Vicia sativa*. *Genome*, 50(2), 134–143.
- 30/ Samatadze, T.E., Amosova, A.V., & Badaeva, E.D.** (2008). Chromosomal mapping and taxonomy in *Vicia*. *Russian Journal of Genetics*, 44(4), 398–405.
- 31/ Santos, C., Gonçalves, S., & Romano, A.** (2017). Cytogenetic diversity in *Vicia faba*. *Biologia Plantarum*, 61(2), 379–385.
- 32/ Schubert, I., & Rieger, R.** (1985). Karyotypic variation and adaptation in *Vicia*. *Theoretical and Applied Genetics*, 70(1), 30–36.
- 33/ Schubert, I., & Lysak, M.A.** (2001). Chromosome structure and evolution. *Current Opinion in Plant Biology*, 4(6), 548–553.
- 34/ Singh, R.J.** (2003). *Plant Cytogenetics* (2nd ed.). CRC Press.
- 35/ Smýkal, P., Coyne, C.J., Ambrose, M., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M.W., ... & Ellis, T.H.N.** (2014). Legume crops phylogeny and prospects. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1–20.
- 36/ Sumner, A.T.** (1990). *Chromosome Banding*. Unwin Hyman, London.
- 37/ Tanksley, S.D., & McCouch, S.R.** (1997). Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 277(5329), 1063–1066.
- 38/ Terzopoulos, P.J., & Bebeli, P.J.** (2008). Genetic diversity analysis in *Vicia sativa* using molecular markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(7), 911–924.

39/ Wu, X., Gao, X., Liu, Y., & Wang, W. (2020). Ecological and genetic differentiation in *Vicia faba* and *Vicia sativa*. *Ecology and Evolution*, 10(18), 9981–9992.

40/ Hahn, C., Bachmann, L. & Chevreux, B. (2013). Reconstructing mitochondrial genomes directly from genomic next-generation sequencing reads—a baiting and iterative mapping approach. *Nucleic Acids Research*, 41(13): e129

Année universitaire : 2024-2025	Présenté par : BARKAT Anfal Ikram
Identification et caractérisation d'un marqueur d'adaptation chez le genre <i>Vicia</i>	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et génomique végétale	
<p>Une étude cytogénétique a été réalisée sur la structure chromosomique de deux espèces du genre <i>Vicia</i> : <i>Vicia faba</i> (variété Maltais) et <i>Vicia sativa</i> (variété Marianna), dans le but d'identifier un marqueur d'adaptation basé sur l'hétérochromatine constitutive (correspondant à des sequences d'ADN répétées non codantes, riches en bases CG). L'établissement des caryotypes a été effectué par la technique du marquage C- banding . Les analyses caryomorphologiques ont permis d'identifier la garniture chromosomique de chaque espèce (<i>V. faba</i> : $2n = 12$; <i>V. sativa</i> : $2n = 12$). La comparaison des chromosomes a révélé des différences notables entre les deux espèces. Le caryotype de la variété Maltais de <i>Vicia faba</i> présente une forte bimodalité au niveau du chromosome 1, indiquant une asymétrie marquée, et un surcharge en hétérochromatine. En revanche, celui de <i>Vicia sativa</i> (variété Marianna) montre une organisation plus homogène, avec la présence d'un satellite sur le bras long du chromosome</p> <p>Des variations significatives dans la taille, la morphologie , l'organisation et la répartition de l'hétérochromatine ont été observées entre les espèces, traduisant des réponses adaptatives différenciées. <i>Vicia sativa</i> présente une faible diversité chromosomique, reflétant un faible taux de polymorphisme (19.23%) , tandis que <i>Vicia faba</i> se distingue par une plus grande variabilité structurale (68%) , susceptible d'être exploitée comme marqueur d'adaptation aux conditions climatiques défavorables.</p> <p>Ces résultats mettent en évidence l'intérêt d'une approche morpho-structurale dans l'identification de marqueur d'adaptation, utiles pour l'amélioration génétique durable des légumineuses.</p>	
Mots-clefs : <i>Vicia faba</i> , <i>Vicia sativa</i> , caryotype, hétérochromatine, C-banding, polymorphisme	
Laboratoires de recherche : laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie végétale (U Constantine 1 Frères Mentouri).	
<p>Président du jury : Dr Kacem Nadia Sandra (MCA - UFM Constantine 2).</p> <p>Encadrant : Pr Hammouda-Bousbia . Dounia (Prof - UFM Constantine 1).</p> <p>Examineur(s) : Dr Baaziz Karim (MCA - Univ Batna</p>	