

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère De L'enseignement Supérieure Et De La Recherche Scientifique

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



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم : بيولوجيا و إيكولوجيا النبات Département : Biologie Et Ecologie Végétale

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

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Base biologiques de la production végétale

Intitulé :

**ANALYSE COMPARATIVE DES CHROMOSOMES DES GENOMES CHEZ
Triticum Turgidum L.(A et B) ET *Triticum Monococcum* L. (A)**

Présenté et soutenu par :

- ATRous ROMYSSA
- SMARI DALEL

Le : 18 /06/2017

Jury d'évaluation :

Président jury : Mme CHOUGUI SAIDA (Pr-UFM Constantine)

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

Examineurs : Mme BOUHAREB RADIA (MCB- UFM Constantine).

Année universitaire

2016-2017

Remerciements

*On tient à remercier particulièrement notre encadreur, **Mme HAMMOUDA-BOUSBIA Dounia**(MCA-UFM Constantine), pour son aide précieuse et ces conseils judicieux .on lui assurent le témoignage de notre profonde reconnaissance.*

*Qu'il me soit permis, de remercier vivement mes enseignantes **Mme CHOUGUI Saïda** (Pr-UFM Constantine), de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury.*

*Mme **BOUCHAREB Radia**(MCB- UFM Constantine) qui fait l'honneur d'examiner notre travail.*

Ma plus grande gratitude à mes parents pour leur soutien et pour m'avoir permis de faire des études me conduisant à présenter ce master.

*Je tiens également à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire de l'université de Constantine « chaabet el rasas » pour leur générosité et leur bonne humeur particulièrement reconnaissante envers **Mme Radia** qui m'a toujours accueille avec son hospitalité et a **M.BENBELKACEM.A**, directeur de l'institut Techniques des grandes cultures (ITGC)*

J'adresse mes plus sincères remerciements ainsi que le témoignage de mon plus profond respect à mes professeurs.

A mes amies de promotion

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à : Ma très chère Mère, et ma très chère tante et mon Père à qui m'adresse au ciel les vœux les ardents pour la conservation de leur santé et de leur vie, Qu'Allah vous garder en bonne santé.

Pour ma grande famille; sœurs, frère, neveu et nièces pour qui je souhaite le meilleur avenir et la meilleure des chances dans la vie.

Pour mes sœurs d'avoir le meilleur de la santé, et l'amour.

Mon frère à devenir l'homme le plus réussi.

Mon neveu et mes nièces d'avoir une vie joyeuse et un avenir brillant et à réaliser leurs rêves.

Une pensée à mes grands-parents que dieu les accueille dans son vaste paradis

Pour tous les amis qui ont été là pour moi à travers mes années dans cette Université. Pour les souvenirs que je ne l'oublierai jamais. Et je tiens à me remercier, pour essayer mon mieux pour ne pas décevoir personne.

DALEL

Dédicaces

A mes très chers parents,

Aucun mot, aucune dédicace ne peut exprimer mon respect, ma considération et l'amour éternel pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

Votre générosité et votre bonneté ont toujours été un exemple pour nous tous.

Trouvez en ce travail le fruit de votre dévouement, de votre patience et l'expression de ma gratitude et mon profond amour.

A mes très chers frères : Anis Ramy et Iyed je vous souhaite une vie plein de joie de bonheur et de réussite.

A ma trèschère tante Nabiha . les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi.

A mon fiancé Djalel : Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse m'ont permis de réussir mes études.

A toute ma chère famille : mes grand parents, mes tantes et mes oncles.

A mes chers amis.

A tous ce qui m'aiment.

A tous ce que j'aime.

Romayssa

Résumé

Le travail que nous avons entrepris, nous a permis d'identifier les génomes A et B de l'espèce *Triticum turgidum* ($2n=4x=28$, formule génomique, AABB)..

Les résultats obtenus montrent un surcharge en hétérochromatine (séquences d'ADN non codantes riches en bases CG) chez les génomes de *T turgidum* (sélectionnée de référence par rapport à leurs homologues de l'espèce *T turgidum* (sauvage)

L'analyse génomique révèle d'importantes variations :

La présence des constructions secondaires marquées sur les chromosomes 1B et 6B. Ces constructions secondaires sont associées aux organisateurs nucléolaires (N.O.R) qui codent pour les gènes ribosomiaux.

La comparaison de tous les génomes A de l'hybride (*T.turgidum*, $2n=4x=28$, (AABB) et de son parent femelle (*T.monococcum*, $2n=2x=14$, $A^m A^m$) révèle de nombreuses variations dans le zonage des chromosomes (nombre, intensité et emplacement des bandes C). Toutes ces variations indiquent l'existence d'un **polymorphisme hétérochromatique interspécifique.**

Mots clés : C-banding, genome, heterochromatine, polymorphism, satellites, *Triticum monococcum* L. *Triticum turgidum* L.,

Abstract

The work we have undertaken allowed us to identify the genomes A and B of the species *Triticum turgidum* ($2n = 4x = 28$, genomic formula, AABB).

The results obtained show an overload in heterochromatin (non-coding DNA sequences rich in CG bases) in the genomes of *T. turgidum* (selected from reference to their homologues of the species *T. turgidum* (wild)

Genomic analysis reveals significant variations:

The presence of marked secondary constructs on chromosomes **1B** and **6B**. These secondary constructs are associated with nucleolar organizers (**N.O.R**) which encode ribosomal genes.

Comparison of all A genomes of the hybrid (*T. turgidum*, $2n = 4x = 28$, (AABB) and its female parent (*T. monococcum*, $2n = 2x = 14$, AmAm) reveal many variations in zoning of the chromosomes (number, intensity and location of the C bands) All these variations indicate the existence of an **interspecific heterochromatic polymorphism**.

Keywords: C-banding, genome, heterochromatin, polymorphism, satellites, *Triticum monococcum* L., *Triticum turgidum* L.,

الملخص

قد سمح لنا العمل الذي قمنا به بالتعرف (تحديد) الجينوم **A** و **B** للنوع **Triticum Turgidum L.** ذو الصيغة الصبغية (**2n=4x=28 AABB**).

أظهرت النتائج المتحصل عليها عند مقارنة جينومات **Triticum Turgidum L.** (المرجع) مع نظيره **Triticum turgidum L.** (البري) زيادة معتبرة في الكروماتين الغير متجانس (تسلسل الحمض النووي الغير مشفر الغني بقواعد **CG**).

التحليل الوراثي يكشف لنا تباينات مهمة :

وجود هياكل ثانوية على مستوى كروموزومات **1B-6B** التي ترتبط مع منظمات نووية (**N.O.R**) ترمز للجينات الريبوزومية.

كما أوضحت مقارنة الجينوم **A** لكل من : الهجين (**Triticum Turgidum L. (2n=4x=28 AABB)** مع الأم **Triticum Monococcum L. (2n=2x=14 AAAA)** العديد من التباينات على مستوى الكروموزومات من حيث (العدد, الكثافة وموقع الأشرطة **C**).

كل هذه التباينات المتحصل عليها عند النوعين تشير إلى تعدد أشكال الكروماتين الغير متجانس.

الكلمات المفتاحية: تعدد الأشكال, جينوم, كروماتين غير متجانس, هياكل ثانوية, **C-banding**, **Triticum Turgidum L.**, **Monococcum L.**

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
Chapitre I : Revue bibliographique.....	3
I-1 Origine des blés sauvage	3
I-2 Polyploïdie	4
• Mécanismes de formation des polyploïdes.....	5
• Doublement somatique du stock chromosomique.....	6
• Formation et fusion de gamètes non réduits.....	6
I-3 Identification des génomes A et B	7
3-1 donneurs des génomes A	7
3-2 Donneur du génome B.....	9
I-4 Description de l'espèce étudiée.....	13
4-1 <i>Triticum turgidum</i> L.....	13
• Caractéristiques morphologiques.....	14
4-2 <i>Triticum monococcum</i> L.....	14
• Propriétés (caractéristique).....	15
I-5 Type de classification.....	15
5-1 Classification génétique	15
5-2 Classification botanique	17
I-6 Quelques travaux réalisés	17
I-7 Caractéristiques cytogénétiques	18
7-1 définitions.....	18

• Chromatine	18
• Rôles de l'hétérochromatine.....	19
• Génome.....	20
• Caryotype.....	21
7-2 Critères d'identification des chromosomes.....	21
7-2-1 Forme de chromosome.....	21
7-2-2 Structure de chromosome.....	23
• Bandes chromosomiques.....	23
I-8 C-banding.....	24
• Domaines d'application.....	24
Chapitre II : Matériels et méthodes.....	26
II-1 Matériel	26
II-2 Technique de marquage C-banding.....	26
II-2-1 Etapes préliminaires	26
• Germination.....	26
• Prétraitement	26
• Prétraitement à la colchicine à air ambiant.....	27
• Fixation.....	27
• Conservation ou stockage.....	27
• Hydrolyse.....	27
II-2-2 Etapes de C-banding	28
• Delamélation	28
• Déshydratation	28

• Dénaturation de l'ADN.....	28
• Hydrolyse.....	28
• Rinçage.....	28
• Coloration	28
• Montage.....	29
• Observation et photographie.....	29
II-3 Analyses statistiques.....	30
Chapitre III : Résultats et discussion	31
III-1 Résultats.....	31
1-1 Identification des génomes A et B chez l'espèce <i>Triticum turgidum</i>	31
1-2 Description du génome A.....	32
1-3 Description du génome B.....	36
III-2 Discussion.....	37
Conclusion et perspectives.....	41
Références bibliographiques.....	43

Liste des figures :

Figure1 : Schéma illustrant le mécanisme de doublement des chromosomes.....	5
Figure2 : Formation des gamètes non-réduits.....	6
Figure 3 : Les hybrides réalisées dans l'ancêtre du 2ème hexaploïde.....	10
Figure 4 : Donneur du génome B.....	12
Figure 5 : observation morphologique des graines et de l'épi chez <i>Triticum Turgidum</i>	13
Figure 6 : Les différents types de chromatine (Comming, 1975).....	19
Figure 7 : Caryotype (en C-banding) de l'espèce <i>Triticumturgidum</i>	34
Figure 8 : Polymorphisme hétérochromatique (en C-banding) de: <i>a- Triticumturgidum</i> (référence), <i>b- Triticumturgidum</i> (espece étudiée).....	38
Figure 9 : Comparaison du génome (Am) de <i>Triticummonococcum</i> à celui de <i>TriticumTurgidum</i> . (A).....	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Génome de quelques espèces de la famille des Poacées (Graminées).....4

Tableau 2 : analyse génomique du genre *Triticum*(*sensus stricto*) GAUDERON...7
(1989)

Tableau 3: Nomenclature chromosomique proposée par **Levan a.et al.** (1964).....22

Tableau4 : Données morphométriques de l'espèce *Triticumturgidum*32

Introduction

La famille des poacées elles forment une des plus vastes familles du monde végétal, Il n'y a pas moins de 12 000 espèces qui se regroupent en plus de 700 Genres. En effet ce sont les graminées qui forment la plupart des prairies naturelles du monde. (Roland Cattenoz, Mickaël Bellague.2014).

Les céréales sont des graines alimentaires appartenant à 10 espèces végétales, les trois plus employés actuellement : Blé, Riz et Maïs ; à cela s'ajoute l'Orge, le Seigle, Avoine, le Sorgho, le Méteil (mélange de blé et seigle), triticales (hybride de blé et seigle).

Les blés cultivées sont présentent partout dans le monde ou deux espèces sont particulièrement cultivées : le blé dur (*triticum durum* Desf.) c'est le blé de semoulerie par excellence : le blé tendre (*triticum aestivum* L.)'

Les blés sauvages (formes sauvages) identifiées de ces diverses espèces (amidonnier sauvage, pois chiche sauvage, vesce sauvage) seraient originaires du Proche-Orient et du Moyen-Orient. La céréaliculture se répand ensuite vers l'Europe, l'Asie et la vallée du Nil. Parmi ces blés, citons, comme espèce ancestrale *Triticum monococcum*L. et son hybride interspécifique *Triticum turgidum* L. (Dewey, 1984; Miller, 1987; Auriou *et al*, 1992, Badaeva et Babaev, 2008).

Dans le cadre d'un projet de recherche portant sur une étude cytogénétique des Poacées, mené au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales, nous nous sommes intéressés à une analyse comparative des génomes de *Triticum turgidum*($2n=4x=28$, AABB) à ceux de l'espèce sauvage d'une part , et d'autre part, avec le génome (Am) ancestrale de l'espèce *Triticum monococcum* ($2n=2x=14$, AA) .Pour ce faire, nous avons appliqué la technique de marquage C-banding.

Dans cette étude, il s'agit de mettre en évidence :

- L'identification des chromosomes des génomes A et B de l'espèce étudié.
- L'établissement et caractérisation du caryotype.
- L'analyse comparative entre les chromosomes des génomes A et B (référence et espèce étudiée) et de tous les génomes A (hybride et parent ou espèce ancestrale).

Le mémoire comporte trois chapitres :

- Le premier chapitre porte sur une analyse bibliographique de l'espèce d'étude. Et comprend aussi des caractéristiques générales sur la cytogénétique.
- Le second chapitre est consacré au matériel et à la méthodologie de travail adopté au laboratoire.
- Le dernier chapitre est consacré aux résultats et discussion. Et nous clôturons ce travail par une conclusion dont laquelle on récapitule les connaissances acquises lors de ce travail suivis par des perspectives.

Chapitre I : Revue bibliographique

I-1 Origine des blés sauvages :

Les **Poacées sauvages** constituent des ressources importantes de variabilité génétique. Elles sont porteurs de nombreux gènes à fort potentiel économique qui interviennent dans des caractères tels que : résistance aux maladies, tolérance au froid, tolérance à la salinité, résistance à la sécheresse, qualité des protéines de réserves...etc.

Les premiers indices d'une agriculture apparaissent vers 9000 ans avant J.C dans le croissant fertile, on trouve dans les villages du début du Néolithique l'engrain (*Triticum monococcum* L.), l'amidonnier (*Triticum dicoccum*), l'orge, le pois, la vesce, le pois chiche et le lin. Les formes sauvages identifiées de ces diverses espèces (amidonnier sauvage, pois chiche sauvage, vesce sauvage) seraient originaire du Proche-Orient et du Moyen-Orient. La céréaliculture se répand ensuite vers l'Europe, l'Asie et la vallée du Nil. Le froment est présent en Grèce il y a 6000 ans avant J.C et se propage par la méditerranée et le Danube. Ainsi, en Bretagne, on a trouvé des grains datant d'environ 5000 ans avant J.C.

On retrouve la racine de « blé » dans le gaulois « Blato » (farine).Le blé est l'une des céréales les plus anciennes.

De nombreuses espèces sauvages se rencontrent de la Grèce au Moyen-Orient. Le blé amidonnier cultivé au Kurdistan il y a 8000 ans était déjà le résultat d'une longue sélection agricole empirique. Au Vème millénaire avant notre ère, ce blé est cultivé en Irak et se répand vers l'Asie Mineure et la Méditerranée. Vers 4000 av. J.C, accompagné de l'engrain, autre espèce à grains vêtus, on le trouve dans le delta du Danube et les plaines du Rhin maritime. À l'IIIè millénaire, ces céréales sont cultivées dans la plus grande partie de l'Europe.

Tableau n°1 : Génome de quelques espèces de la famille des Poacées
(Graminées) (Dewey, 1984; Miller, 1987; Auriau *et al.*, 1992)

Nom courant ou ancienne dénomination	Genre et espèce	Nombre chromosomique	Formule génomique
Engrain	<i>Triticum monococcum</i>	2n=2x=14	AA
<i>Aegilopssearsu</i>	<i>Triticum speltoides</i>	2n=2x=14	BB
Amidonnier	<i>Triticum turgidum</i>	2n=4x=28	AABB

I-2 La Polyploïdie :

La polyploïdie, ou l'assortiment de plusieurs jeux complets de chromosomes dans un noyau, est un facteur important dans l'évolution des génomes des eucaryotes. Elle est fréquente chez les plantes, particulièrement chez les angiospermes (Wolfe 2001, Adams et Wendel 2005, Soltis *et al.* 2009). D'après Love (1964), les polyploïdes représentent 90% des ptéridophytes, plus de 50% des monocotylédones et 30% des dicotylédones. Stebbins (1966) rapporte que la polyploïdie est beaucoup plus fréquente chez les angiospermes 30 à 33 % que les gymnospermes. Chez les Triticeae, Les polyploïdes sont généralement plus développées que les diploïdes et dans bien des cas leurs fruits, leurs graines et l'organe de réserve sont plus volumineux. Ces avantages ont été observés depuis l'avènement du développement agricole et les agriculteurs ont sélectionné ces formes polyploïdes de façon inconsciente et sans en connaître la cause. Ce n'est que vers la fin du 19ème siècle après que le développement de microscopes performants a permis d'observer et de compter les chromosomes individuellement lors des phases de la diacinèse et de la métaphase, que l'on a reconnu ce phénomène. Certains événements de polyploïdisation détectés chez les Poaceae sont anciens (on parle alors de paléopolyploïdie). D'autres événements sont plus récents et donc restreints à certaines tribus / espèces. C'est le cas pour les génomes du blé où de nombreux événements de polyploïdisation récents et récurrents ont été détectés. Certains de ces évènements ont abouti aux espèces

modernes de blé cultivées. Chez les Triticées, Les allopolyploïdes synthétiques constituent d'excellents modèles pour étudier l'évolution des polyplôïdes. Cela est particulièrement le cas du triticales.

Nous décrivons les différents aspects de la polyplôïdie (formation, fréquence) ainsi que son rôle dans l'organisation, l'évolution et le fonctionnement des génomes, en particulier ceux des blés (sauvages et cultivés).

I-2-1 Mécanismes de formation des polyplôïdes

Les organismes avec des cellules contenant deux copies de chaque chromosome sont dits diploïdes ($2n=2x$). Leur méiose produit des gamètes haploïdes (n) et la fusion de ces gamètes forme un embryon diploïde. Les cellules avec plus de deux jeux de chromosomes sont dites polyplôïdes (tétraploïde : $2n=4x$, hexaploïde : $2n=6x$, octoploïde; $2n=8x$) (Fig n: 1).

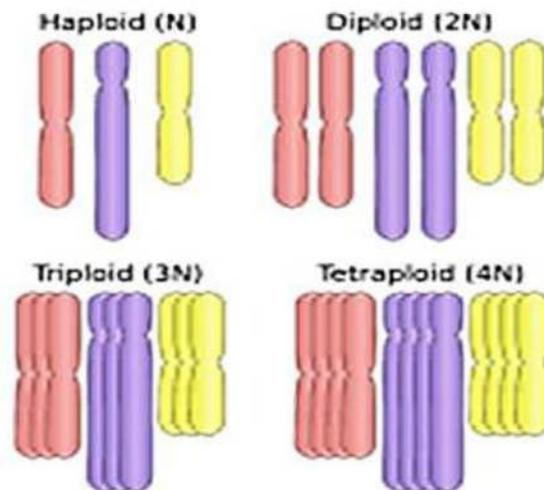


Figure 1 : Schéma illustrant le mécanisme de doublement des chromosomes.

Deux mécanismes majeurs permettent d'expliquer la formation des polyplôïdes: le doublement somatique du stock chromosomique et la fusion de gamètes non réduites trouvant leur origine dans des erreurs de division cellulaire (Charles, 2010).

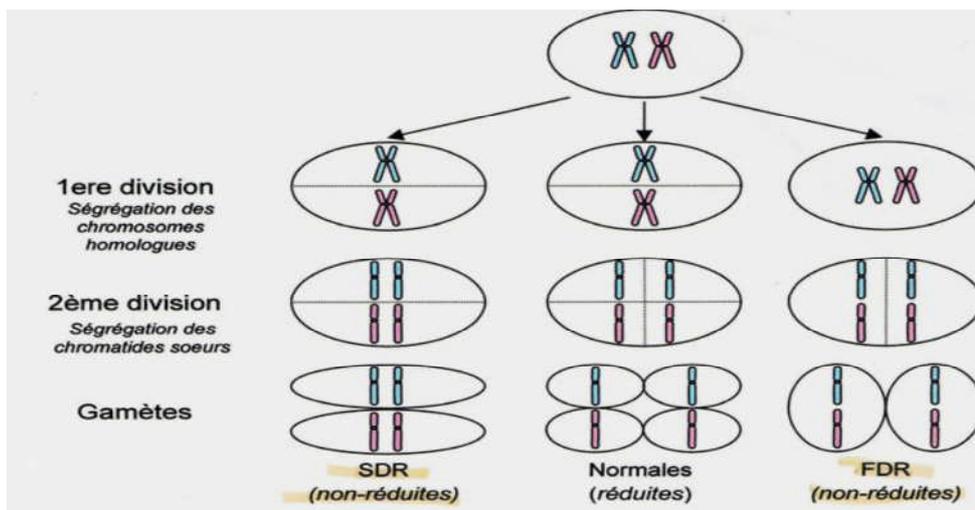
- **Doublement somatique du stock chromosomique**

L'absence de division cellulaire lors de la mitose, après la réplication des chromosomes (Fig n : 1), aboutit à la formation d'une cellule somatique polyploïde. En principe, elle ne conduit pas à la formation d'un individu polyploïde. Cependant, si le doublement chromosomique se produit dans une des cellules se différenciant en gamètes (pré-zygotique), dans l'œuf ou dans une des cellules du jeune embryon (post-zygotique), il peut être à l'origine de la formation d'un individu polyploïde viable. Ce type de doublement peut être induit artificiellement par un traitement chimique comme la colchicine. Ce procédé est utilisé couramment en laboratoire pour produire des polyploïdes synthétiques, exemple le blé tendre et le triticale.

Formation et fusion de gamètes non réduits

Les polyploïdes naturels se formeraient plutôt par l'intermédiaire de gamètes non réduits (Harlan et Dewet 1975, Bretagnolle et Thompson 1995, Ramsey *et al.* 1998). Cette voie de formation implique l'autre grande division cellulaire : la méiose.

Une erreur lors de la méiose peut aboutir à la formation de gamètes diploïdes non réduits par des mécanismes encore mal connus. On en distingue quatre types



différents (Charle, 2010).

Figure 2: Formation des gamètes non-réduits

I-3 Identification des génomes A et B

3-1 Les donneur du génome A

La structure génomique des différents blés est déduite de l'analyse comparative des comportements méiotiques d'une série d'hybrides interspécifiques réalisés entre des blés de chacun des trois groupes. Cette méthode est définie comme **analyse génomique** (Caureron *et al.* 1989). Cette méthode a permis d'élucider les progénitures des génomes A et D. Les résultats de toutes les analyses génomiques, résumés dans le tableau n°02, sont l'aboutissement de recherches aujourd'hui connues dont les plus décisives ont été conduites par Kihar et Sax (1924).

Tableau n°02 : analyse génomique du genre *Triticum* (sensus stricto) Gauderon (1989)

Parent	Blés 2x (génome)	Blés 4x	Blés 6x
Blés 2x (A)	7'' (bivalents) A		
Blés 4x	7''+7' (= 7''A+7')	14'' (7''A+7''B)	
Blés 6x	7''+14' (= 7''A+14')	14'+7' (7''A+7''B+7')	21'' (7''A+7''B+7''D)
Conclusion	A commun aux blés 2x, 4x et 6x	A et B communs aux blés 4x et 6x	D n'existe que chez Les blés 6x

Ainsi, selon le même auteur, les formules génomiques de ces trois groupes du blé (blés 2x : A/A, blés 4x : AB/AB, blés 6x : ABD/ABD). Expriment clairement que les blés tétraploïdes dérivent des blés diploïdes par croisement avec une autre espèce de génome B, croisement suivi d'un doublement chromosomique. Par hybridation avec une troisième espèce, de génome D, les blés tétraploïdes ont à leur tour engendré les hexaploïdes. (Fig n :03)

Des études cytogénétiques (Dvorak *et al.*, 1992) ont montré que les blés tétraploïdes *T.turdigum*L. et *T.timopheevizhuk*, de même que le blé

héxaploïde *T.aestivum*L.(Fig n :03)Ont une paire de génome A, alors que *T.zhukovskyi* en a deux (Fig n :03).

Les blés constituent des séries polyploïdes à 3 niveau de ploïdie (diploïde tétraploïde et héxaploïde). Au niveau diploïde, il y'a 2 espèce ancestrales, *Triticum Monococcum* L. et *T.urartu* Thum.

Le blé diploïde (Kim *et al.*, 1992) , *T.monococcum*L. ($2x=2n=14$, AA), serait la source du génome A chez les blés polyploïdes *Triticum.turgidum* L. et *Triticum aestivum* L. Beaucoup de travaux sont consacrés à la mise en évidence de l'origine du **génome A**. Citons Kuspira *et al.*(1985,1986 a , 1986b,1989) ; Gill *et al.*(1987) ; Friebe *et al.* (1990) .Ces auteurs affirment que *T.monococcum*L. est le progéniteur du **génome A**. D'autres auteurs dont Dvorak *et al.* (1988,1992) affirment aussi que *T.urartu* est un donneur du **génome A** chez *T.turgidum*, *T.timopheevii* et *T.aestivum*L.

Des analyses cytogénétiques portant sur la variation dans les **16 séquences répétées de nucléotides** ont mis en évidence l'origine du génome A chez *T.turgidum*,*T.timopheevii* et *T.aestivum*. Dans les génomes A de ces espèces, les séquences nucléotidiques révèlent peu de divergence de celles du génome A de *T.urartu*. Chez *T.zhukovskyi*, un des génomes provient de *T.urartu* et l'autre de *T.monococcum* (fig n°03)

L'observation des méïoses d'hybrides (Bernard *et al.* 1992) permet aussi d'apprécier le degré de divergence entre génomes désignés par une même lettre, donc supposés communs, et présents dans différentes espèces (par exemple : A du blé tendre).L'analyse en C-banding de l'hybride blé tendre x *T.monococcum* montre que l'affinité est loin d'être la même pour différents couples des chromosomes. Cela suggère deux hypothèses :

Soit que les génomes A ont fortement divergé depuis la formation de l'espèce, blé tendre, et cette divergence n'a pas eu la même vitesse pour tous les chromosomes.

Soit que le génome A du blé tendre comporte en fait des chromosomes qui ne proviennent pas du génome A ancestral, mais d'un autre.

L'identification des chromosomes de *T.monoccocum* est mise en évidence par la technique du C- banding et Ag-nor (Kim et Kuspira, 1993).

3-2 Donneur du génome B

La recherche de l'espèce responsable du génome B s'avère beaucoup plus délicate et elle est encore sujette à controverse (Cantrel, 1987)

Plusieurs espèces diploïde rattachées aux genres *Triticum*, *Agropyrum*, *Aegilops*, *Haynaldia*, avaient été proposées, mais la méthode d'analyse génomique utilisée précédemment n'avait permis d'en retenir aucune (Cauderon, 1989).

Plusieurs chercheurs favorisent les espèces diploïdes appartenant à la **section Sitopsis**, ou **génome S**, le genre **Aegilops** comme progéniteur du génome B. la majorité des espèces apparentées de cette section sont : *Ae.speltoïdes*, *Ae.longissima*, *Ae. Sharonensis*. Et *Ae.bicornis* et *T.searsii*. Feld.

L'hypothèse de *Ae.speltoïdes* a été, et reste encore pour le moment la plus largement acceptée, car elle repose sur des bases expérimentales nombreuses (morphologiques et caryologique). Dont nous résumons l'essentiel (Cauderon .1989)

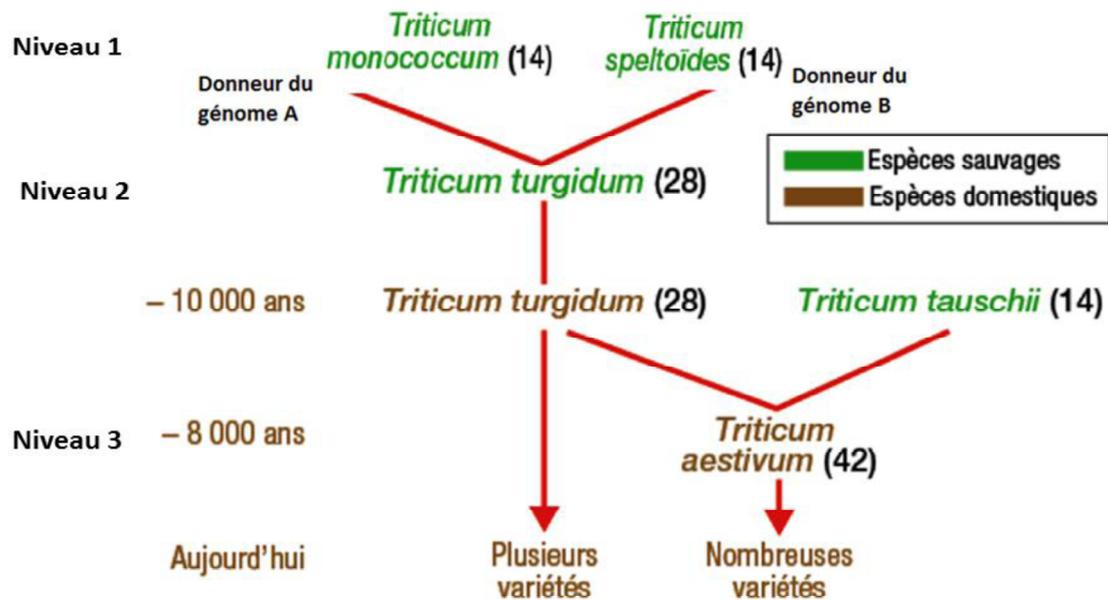


Figure n°03 : Les hybrides réalisées dans l'ancêtre du 2ème hexaploïde (Gupta, 1991)

Pathak (1940) propose *Ae.speltoïdes* comme donneur du génome B, et plutards par Sarkar et Stebbins (1956), grâce à une étude morphologique comparative confirment qu'*Ae.speltoïdes*, après croisement avec un blé diploïde et doublement chromosomique, donne un amphiploïde qui ressemble à un blé tétraploïde.

En se basant sur des études caryologique, Riley *et al.* (1958) affirme aussi *Ae.speltoïdes* comme donneur du génome B.

Par la suite, plusieurs expériences ont apporté des arguments favorables à l'hypothèse de *Ae.speltoïdes* : Citons les travaux de Sears (1981), qui en isolant une série complète de 21 monosomiques du blé, ont permis l'identification des chromosomes di génome B (morphologique détaillée des chromosomes à satellites, teneurs des chromosomes en ADN...)

Plusieurs arguments sont contre *Ae.speltoïdes* en tant que seul candidat pour le génome B. Des travaux réalisés chez *Ae.searssi* par Feldmen (1978), Nath *et al.* (1980,1984),Thompson et Nath (1986);Kerbry (1986); Nuspira (1988), ont démontré que le génome B de *Ae.searssi* est très proche de celui d'*Ae.speltoïdes*. *Ae.searssi* pourrait être une éteinte ou pas encore connue (Comeau et Jahier 1995).

Des analyses cytogénétiques concernant l'identification des chromosomes d'*Ae.speltoïdes* ont été effectuées par Sears (1969); Kimber et Athwal (1972); Kimber (1993). Ces chromosomes démontrent des niveaux d'homologie variables avec ceux du génome B de blé polyploïde.

D'autres études cytogénétiques réalisées chez *T.durum* et *Ae.speltoïdes* par Noda (1983) en utilisant la technique de N-banding, ont montré que les chromosomes 5B et 6B de *T.durum* correspondent aux chromosomes d'*Ae.speltoïdes*.

D'autres auteurs parmi lesquels Nishikawa (1983) utilisent des marqueurs enzymatiques (isoenzymes) et α - β - amylase et concluent que le génome B renferme, au moins, le chromosome 6S de *Ae.longissima* et le chromosome 7S de *Ae.speltoïdes*. Ces résultats indiquent que *Ae.speltoïdes* est certainement n'est pas le seul donneur du génome B entier.

Fernandez-Calvin et Orellana (1994), par comparaison des profils électrophorétiques des gluténines de haut poids moléculaire des espèces d'*Aegilops* susceptibles d'être à l'origine du génome B à ceux des blés hexaploïdes, en excluent totalement *Ae.bicornis*, *Ae.longissima*, et *Aesharonensis*. Le polymorphisme constaté dans le génome B des blés hexaploïdes et chez *Ae.speltoïdes* amène ces auteurs à considérer cette espèce comme ayant le génome le plus proche de celui des blés. Toutefois, plus récemment, ces auteurs ont analysé, par C-banding, la constitution génomique d'hybrides entre *T.aestivum* d'une part, et *Ae.speltoïdes*, *Aesharonensis* et *Ae.longissima* d'autre part. Les résultats de ces analyses conduisent à considérer ces espèces comme également distantes du génome B des blés.

Friebe, Tuleen et Gill (1995), par l'analyse en C-banding sur 14 accessions de *T.searsii*, indique que *T.searsii* n'est pas un donneur direct du génome B chez les espèces *T.turgidum* et *T.aestivum*.

Enfin, l'hypothèse que le génome B aurait une origine complexe et que ce serait **un mixogénome** n'est pas rejeter (Comeau et Jahier, 1995)

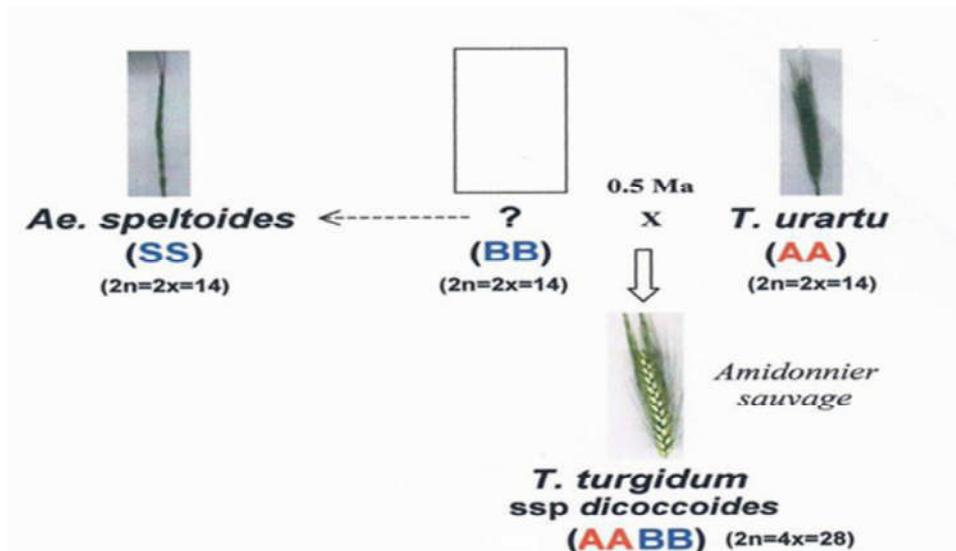


Figure 04 : Donneur du génome B

Actuellement, le donneur du génome B est inconnu (Charle, 2010)

Des croisements réalisés ont d'abord servi à étudier les relations phylogénétiques entre les genres. Les premiers croisements ont surtout concernés les *Aegilops*, car ils sont impliqués dans l'évolution des blés polyploïdes, leurs génomes présentent une grande affinité avec ceux des blés et donc peuvent être efficacement exploités dans des opérations de transfert de gènes

Les blés comportent 14 chromosomes (*T. monococcum* et *A. speltoides*) est à l'origine du *T. turgidum*; une hybridation ultérieure entre *T. turgidum* et une autre espèce de blé à 14 chromosomes (*T. tauschii*) est à l'origine de *T. aestivum*. Le génome B provient donc de *T. speltoides* et le génome D de *T. Tauschii*.

I-4 Description de l'espèce étudiée

4-1 *Triticum turgidum* L.

Le *Triticum turgidum* (Froment renflé) est une espèce végétale appartenant à la famille des Poacées (sous-famille des Pooïdées, tribu des Triticées, genre *Triticum*, section Dicoccoidées).

Cette espèce tétraploïde (c.a.d. qui compte 4 jeux de chromosomes, soit $4 \times 7 = 28$ chromosomes) dite amphiploïde (c.a.d. dont le stock de chromosomes à l'intérieur des cellules a été doublé) a pour origine une hybridation naturelle il y a environ 500.000 ans entre le *Triticum urartu* (espèce sauvage biploïde) et une espèce non déterminée du genre *Aegilops* qui a donné le *Triticum turgidum* sous-espèce dicoccoides (espèce sauvage).

Son nom spécifique, du latin "turgidus" (enflé, gonflé) fait état de ses fruits renflés.



Figure 05 : observation morphologique des graines et de l'épi chez *Triticum Turgidum*

Sa forme sauvage est *T. turgidum* subsp. *dicoccoides* (Körn.) Thell. (Nom alternatif : *T. dicoccoides* Körn. ex Schweinfurth). Ce blé sauvage a une aire de distribution réduite au Croissant fertile, mais forme des populations importantes.

Dans le nord-est de son aire, il pousse en sympatrie avec un autre blé tétraploïde, *T. timopheevi* subsp. *armeniacum*, impossible à distinguer

morphologiquement. L'étonnant est qu'il a fallu attendre 1906 pour que le botaniste Aaronsohn découvre ce blé sauvage en Palestine. Avant lui, un seul fragment d'épi avait été repéré par Körnicke dans l'herbier de Vienne, mélangé à de l'orge sauvage, et la plupart des botanistes pensaient que le blé sauvage s'était éteint à la suite des changements climatiques.

Caractéristiques morphologiques

Plante annuelle, à tige élevée, dressée, pleine au sommet ou presque pleine, glabre
Dépourvu de poils : Buis, Chou, Persil.

- feuilles planes, larges, peu rudes
- épi gros, carré, dense, à axe non fragile
- épillets courts, aussi larges que longs, longuement aristés
- glumes de moins de 1 cm, presque égales, ovales, fortement carénées de la base au sommet, tronquées-mucronées, plus courtes que les fleurs
- glumelles presque égales, l'inférieure ovale, toujours munie d'une longue arête
- caryopse libre, ovale, renflé-bossu, à cassure demi-farineuse. Varie à épi rameux à la base (*T. compositum* L. f. blé miracle).

Écologie Cultivé assez fréquemment sous diverses variétés.

Répartition Origine inconnue.

Floraison Juin-août.

4-2 *Triticum monococcum* L.

Le *Triticum monococcum* (une des nombreuses espèces *Triticum*) est une plante annuelle dont l'un des caractères se trouve constitué par l'épi. Après la fécondation, l'ovule se transforme en grain.

Il existe plusieurs blé : le blé dur (réussit bien dans les zones chaudes et sèches), très riche en gluten, c'est le blé des pâtes alimentaires ; le blé tendre, celui qu'on transforme en pain, (s'adapte mieux aux hautes latitudes).



Propriétés (caractéristique)

Plante herbacée annuelle, érigée, tallant à la base.

Tige (chaume) creuse, non ramifiée.

Feuilles linéaires, planes, de plus d'un cm de large.

Épi comprimé, dense, dressé.

Épillets alternes, à 1 ou rarement 2 grains.

Lemmes munies d'arête.

Plante autogame.

I-5 Type de classification

5-1 Classification génétique

***Triticum Monococcum* L.**

L'engrain sauvage est répandu de la Turquie à l'Irak et à l'Iran. On le retrouve également dans les Balkans et en Crimée, où il est considéré comme adventice. C'était le seul blé sauvage connu au XIXe siècle.

Les épillets ont deux fleurs, dont l'une est souvent stérile. Chez l'engrain sauvage, les deux glumelles portent une longue arête, alors que seule la lemma a une arête dans les formes cultivées. Chez l'engrain cultivé, seuls les épillets du sommet de l'épi se désarticulent parfois à maturité. Que ce soit au battage ou une fois désarticulés, les épillets restent attachés au segment du rachis situé au-dessous de l'épillet.

2n=14 génome AAblé diploïde.

***Triticum Turgidum* L.**

Triticumturgidum il s'agit d'une espèce de blé tétraploïde d'intérêt économique, à grande échelle dans le bassin méditerranéen.

Le *triticumturgidum* est une céréale majoritairement autogame (environ 96-99% d'autofécondation (Tsegaye, 1996)) et allotétraploïde. Son génome, de 28 chromosomes, est constitué de deux sous-génomes de 14 chromosomes chacun, les génomes A et B.

L'ancêtre sauvage du blé *Triticumturgidum*, provient de l'hybridation spontanée entre deux espèces diploïdes, à une période située entre 500 000 ans et 1 M d'années dans le passé (Huang *et al.*, 2002). L'ancêtre de l'espèce contemporaine *Triticum urartu* est à l'origine du génome A (Dvořák *et al.*, 1988, 1993; Huang *et al.*, 2002; Petersen *et al.*, 2006). Cette espèce est aujourd'hui très autogame. Le génome B proviendrait d'un apparenté de l'actuel *Aegilops speltoides* (Daud and Gustafson, 1996; Kilian *et al.* 2007; Petersen *et al.* 2006), qui devait posséder comme lui une auto-incompatibilité très forte faisant d'*Ae. speltoides* une espèce allogame obligatoire.

5-2 Classification botanique (APG 2013)

	
<p>Clade :Plantae</p> <p>Clade : Plasmmodesmophytes</p> <p>Clades :Embryophytes</p> <p>Clade : Stomatophytes</p> <p>Clade : Spermatophytes</p> <p>Clade : Angiospérme</p> <p>Clade : Monocotylédones</p> <p>Clade : Commelinidées</p> <p>Ordre : Poales</p> <p>Famille : Poaceae</p> <p>Genre : <i>Triticum</i></p> <p>Espèce : <i>Triticumturgidum L.</i></p>	<p>Clade : plantae</p> <p>Clade : Plasmmodesmophytes</p> <p>Clade : Embryophytes</p> <p>Clade : Stomatophytes</p> <p>Clade : Spermatophytes</p> <p>Clade : Angiospérme</p> <p>Clade : Monocotylédones</p> <p>Clade : Commelinidées</p> <p>Ordre : Poales</p> <p>Famille : Poaceae</p> <p>Genre : <i>Triticum</i></p> <p>Espèce : <i>Triticummonococcum L.</i></p>

I-6 Quelques travaux réalisés

Triticummonococcum ($2n= 2x=14$ AmAm) connu comme Einkorn est l'un des sources les plus précieuses de résistance aux stress biotique et abiotique dans le blé (Jinget al 2007).

Le génome A du blé diploïde se compose de 5 milliards de pb d'ADN organisés en sept paires de chromosomes. Kuspira et ses collègues (voir Friebe *et al*, 1990) ont

effectué des études cytogénétiques et ont développé une série trisomique primaire qui s'est révélée d'une valeur limitée en raison de sa stérilité élevée. Friebe *et al.* (1990) ont construit le caryotype standard, et tous les chromosomes ont été identifiés individuellement. En plus du polymorphisme cytologique associé à différentes populations géographiques, *T. monococcum* et *T. urartu* contiennent une translocation impliquant les chromosomes 4A et 5A (Dubcovsky *et al.*, 1996). Il y a eu une certaine différenciation entre le génome A des blés diploïdes et polyploïdes, comme en témoigne le niveau réduit d'appariement, Ou l'absence d'appariement dans le cas du chromosome 4A (Gill et Chen, 1987), dans la quantité de C-hétérochromatine (Friebe et Gill, 1996) et d'autres caractéristiques structurales (Jiang et Gill, 1994).

Les transferts génétiques sont réalisables à partir de blés diploïdes à polyploïdes par croisement en pont ou croisement direct (Cox *et al.*, 1991). Cependant, en raison de la différenciation du génome, La traînée de liaison est probable, et des méthodes pour améliorer la recombinaison peuvent avoir besoin d'être déployées (Dubcovsky *et al.*, 1995). Ceux qui voulaient améliorer *T. monococcum* par des croisements avec 4x et 6x blés ont été déçus car ces transferts sont impossibles (Sharma et Waines, 1981).

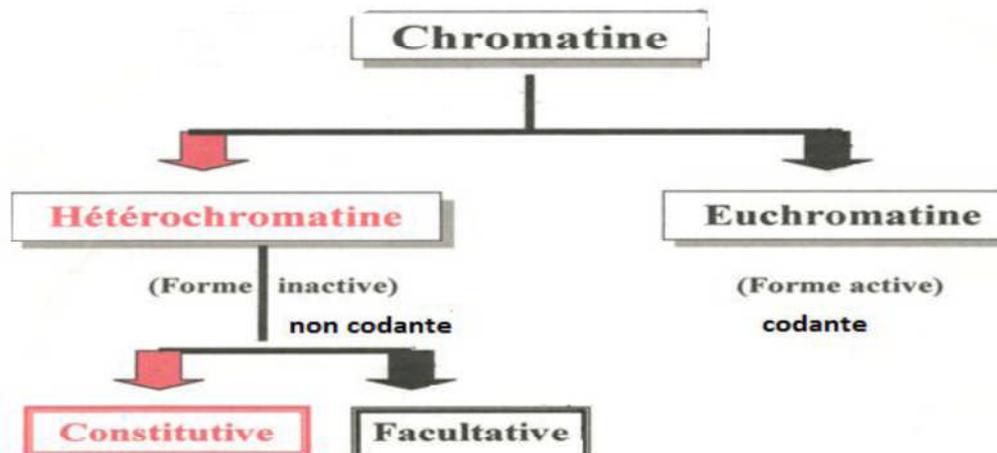
I-7 Caractéristiques cytogénétiques

7-1 définitions

Chromatine :

L'ADN de tous les chromosomes eucaryotes est associé aux molécules protéiques (les histones et les non histones-NHC) dans un agrégat stable ordonné appelé chromatine (Hartl, 1994). IL existe deux grands types de chromatine :

L'euchromatine et l'hétérochromatine, L'une différant de l'autre par son rythme de réplication et son degré de condensation.



Centromérique intercalaire télomérique

Figure 06: Les différents types de chromatine (Comming, 1975)

Deux types principaux d'hétérochromatine peuvent être distingués (Figure n° 06) :

- L'**hétérochromatine facultative** dont le comportement est différente entre deux chromosomes homologues.
- L'**hétérochromatine constitutive** qui présente le même aspect chez les chromosomes homologues et composée d'ADN moyennement ou hautement répétitif. Selon sa localisation, l'hétérochromatine est dite **télomérique, intercalaire** et **centromérique**.

Rôles de l'hétérochromatine

L'Hétérochromatine joue un rôle tout à fait essentiel dans l'adaptation et l'évolution des espèces végétales ainsi que dans l'organisation et la fonction du génome et déroulement de la méiose (attraction des homologues, régulation du Crossing-over, formation des chiasmas) (Sijak-yacovlev et Cartierd, 1986 ; Mattei et Luciani, 2003). Gustafson *et al* (1982) signalent une relation entre les zones hétérochromatique du seigle et les progrès de la sélection chez le triticales, tout en sachant qu'il est issu de l'hybridation entre le blé et le seigle. Jouve *et al* (1989) remarquent que certaines bandes présentes chez les parents blé et seigle peuvent être

absentes chez les hybrides. D'après Lespinasse *et al* (1993), l'hétérochromatine est considérée comme une partie du génome: amplification rapide, siège d'insertion de transposons, zones renfermant des points de cassures. Les séquences répétées télomériques sont hautement conservés. Elles sont impliqués dans l'organisation de l'ADN dans les nucléosomes ((Martinez. *et al*, 1986). L'ADN télomérique a été déterminé pour avoir une fonction de stabiliser les chromosomes et protéger leurs extrémités des polymérase. L'amplification de ces séquences et leur dispersion sont les causes majeures du processus de l'évolution qui se traduisent sur la variation de la taille des génomes. Des travaux sur Arabidopsis (Richards et Ausubel, 1988), sur le seigle (Schwarzacher et Harisson, 1991), sur la tomate (Ganal *et al*, 1991) et sur le maïs (Burr *et al*, 1992) montrent cette même séquence. Ainsi l'hétérochromatine est un secteur de génome qui peut être conservé identique pendant des millions d'années, ou, au contraire évoluer très rapidement. Son étude devrait révéler des surprises quant à son rôle dans le fonctionnement des génomes. Bernard (1997) et (Mattei et Judith, 2006) attribuent un rôle important à l'hétérochromatine dans la répression génique (régulation épi génétique): L'expression du gène peut être régulée à deux niveaux:

- Au niveau local et c'est la régulation de la transcription, Ce niveau implique des séquences d'ADN relativement petites liées à des gènes individuels.

- Au niveau plus global, et c'est alors la transcriptabilité qui est contrôlée. Il implique des séquences beaucoup plus grandes, représentant un large domaine chromatinien, qui peut être soit sous un état actif, soit sous un état inactif. L'hétérochromatine serait impliquée dans le contrôle de la transcriptabilité du génome. Ainsi, des gènes localisés dans l'euchromatine peuvent être réduits au silence lorsqu'ils sont placés à proximité d'un domaine hétérochromatique.

Génome :

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

Caryotype :

Le caryotype est une représentation systématisée des chromosomes d'une cellule mitotique (ou méiotique), tenant compte du nombre, de la forme, de la taille et de tous autres caractères morphologiques des chromosomes qui peuvent être représentatifs des génomes d'un type cellulaire, d'un individu ou d'une espèce (Thugues, 1966). Il est constitué d'un **caryogramme** et d'un **idiogramme**.

7-2 Critères d'identification des chromosomes

7-2-1 Forme de chromosome

Lorsque la cellule se divise, les fibres du fuseau sont attachées au centromère de leurs chromosomes et tirent les chromatides sœurs aux pôles opposés. Un chromosome à deux centromères est appelé di centrique, le chromosome acentrique est celui auquel il manque le centromère. Ces deux types de chromosomes sont instables lors des divisions cellulaires. Seuls les chromosomes qui ont un centromère unique sont régulièrement transmis des parents aux générations (Hartl. *et al.*, 1995).

La morphologie des chromosomes est marquée par la position de la constriction primaire ou centromère. Différentes méthodes ont été employées pour localiser le centromère, ce qui a également entraîné l'apparition de diverses nomenclatures de la morphologie chromosomique.

Un colloque sur la nomenclature des chromosomes humains a eu lieu en 1960 à Denver. A cette occasion, deux formules pour localiser le centromère ont été adoptées:

Existe deux types de caryotype : symétrique et asymétrique.

Ainsi, on peut distinguer six types morphologiques de chromosomes (Tableau n°3) :

- Chromosome métacentrique (m) : Le centromère est en position médiane, et la valeur du rapport BL / BC est comprise entre 1 et 1,7. On parle de

métacentrique sensu stricto (M) lorsque le rapport est exactement égal à 1 et dont le centromère se trouve alors au point médian.

- Chromosome submétacentrique (sm) : Le centromère est situé dans la région submédiane et la valeur du rapport BL / BC va de 1,7 à 3,0.

- Chromosome subtélocentrique (st) : le centromère est situé dans la région subterminal et le rapport BL / BC varie de 3,0 à 7,0.

- Chromosome acrocentrique (t) : le centromère est dans la région terminal et les valeurs du rapport BL / BC vont de 7,0 à l'infini. Si le centromère se trouve au point terminal strict, on parle de chromosome télocentrique (T) (Khalfallah N., 1990).

Pour la distinction entre chromosomes acrocentriques, métacentriques et submétacentriques on suit le tableau de la nomenclature chromosomique proposée par Levan a. *et al.* (1964).

Tableau n°03 : Nomenclature chromosomique proposée par Levan a.*et al.* (1964)

Position du centromère	D	r	I.C	Type chromosomique	
Position médiane	0.00	1.00	50.00	Métacentrique sensu stricto	M
Région médiane	0.00-2.50	1.00-1.70	50.00-37.50	Métacentrique sensu largo	m
Région submédiane	2.50-5.00	1.70-3.00	37.50-25.00	submétacentrique	sm
Région subterminale	5.00-7.50	3.00-7.00	25.00-12.50	subtélocentrique	st
Région terminale	7.50-10.00	7.00-12.50	12.50-0.00	acrocentrique	t
Point terminal	10.00	∞	0.00	télocentrique	T

7-2-2 Structure de chromosome

Bandes chromosomiques

Les chromosomes mitotiques n'ont pas une structure uniforme sur toutes leurs longueurs ; différentes techniques de marquage révèlent en effet une importante **hétérogénéité structurale** qui apparaît sous forme de plusieurs bandes transversales (**prescott**, 1989).

Il existe plusieurs types de bandes spécifiques à des marquages différents. Ce sont les bandes : **Q** (Quinacrine), **G** (Giemsa), **R** (Réserve), **C** (Centromère), **T** (Téломères) et **N** (N.O.R).

Les bandes sont désignées par une majuscule qui rappelle le principe de coloration ou le point de localisation qui révèle la technique (**Robert**, 1983).

La répartition des différents types de bandes est spécifique d'une espèce et permet de plus, au sein d'une espèce d'identifier sans équivoque chaque chromosome.

Construction secondaire

Les constriction secondaires sont des caractéristiques morphologiques constantes dans leurs positions et leur étendue. Elles sont utiles pour l'identification des chromosomes particuliers (marqueurs) dans une garniture (2n).

Le Satellite

Le satellite du chromosome est un segment chromosomique séparé de la partie principale du chromosome par la construction nucléolaire secondaire. L'ensemble du satellite et de la construction nucléolaire secondaire est appelé la région satellite. L'existence de l'ADN satellitaire est considérée comme marqueur génétique qui peut jouer un rôle dans l'appariement chromosomique au cours de la méiose et protéger les gènes terminaux contre les processus de gains et de pertes chromosomiques (Handerson et Kipling ,1995). Jones (2004) a défini l'ADN satellitaire comme étant un ADN répétitif accumulé par la transposition et la rétrotransposition de certains éléments ou par les erreurs parvenues au moment de la réplication.

I-8 C-banding

La mise au point de la technique du Giemsa-banding, ou C-banding, remonte aux débuts des années 1970. Le „C” signifie chromatine, car cette méthode permet de colorer l'hétérochromatine. La chromatine qui compose les chromosomes, est formée d'une combinaison d'ADN et de protéine..

Le Giemsa qui ne colore que les zones condensées, permet de faire apparaître des bandes caractéristiques pour chaque chromosome. On obtient alors un caryotype de l'individu étudié ou une carte de tous les chromosomes identifiés, par les bandes caractéristiques. La première du Giesma est l'identification des chromosomes. Chez les hybrides interspécifiques, elle permet d'identifier les lignées d'addition, de substitution, de translocation, de délétion ou les aneuploïdes. On peut aussi vérifier la réalité et la fréquence affinités génétiques entre deux génomes (Bernard et Bernard,1992). Les protocoles les plus répandus sont ceux de Lukaszewski. Et Gustafson (1987), Gill *et al.* (1991).

- **Domaines d'application**

Cette coloration de Giemsa permet donc de faire apparaître des bandes caractéristiques pour un chromosome donné. Plusieurs applications sont possibles (Bernard, *et al* 1992):

- 1- Elle rend possible l'analyse du polymorphisme chromosomique. Il existe en effet des variations de position et d'intensité des bandes d'un génotype à l'autre dans une espèce donnée, et pour un chromosome donné. Chaque bande peut être considérée comme un "locus «présentant un certain nombre "d'allèles" (Comeau et Jahier, 2005).
- 2- En méiose, on peut étudier l'appariement chromosomique. On peut aussi vérifier la réalité et la fréquence d'échange entre chromosomes "cousins".
- 3- Identification des chromosomes et des génomes (Gustafson et Bennett 1982 ; Bernard et Bernard 1992; Angels et Jouve ,1996 ; Lukaszewski 2001 ; Badaeva

et al, 1992, 2007, Lukaszewski *et al*, 2011, Hammouda, 2013, Ekaterina D. Badaeva *et al*, 2015)

Selon l'étude de Linde-Laursen en 1978 sur l'orge, il a divisé les bandes-c en fonction de leur position (Biology discussion, 2016) :

- ✓ La bande centromériques situées à proximité du centromère.
- ✓ Les bandes intercalaires.
- ✓ Les bandes télomériques.
- ✓ Les bandes situées dans les constriction secondaires et les bras court et les satellites (zones vitales des chromosomes).

4- détection des mutations chromosomiques de types, translocations et inversions et la détermination du niveau de ploïdie (Gustafson 1983; Wanda *et al* 1996; Lapinski et Schwarzacher 1998; Lee *and al*, 2004; Landjeva *et al.*, 2006; Silcova *et al.* 2007; Gill, 2009, Oleszczuk. *et al.* 2011; Kang *et al*, 2011; Rahmatov, 2012, Hammouda, 2013) .

5- L'étude de l'"affinité"homologie entre les chromosomes, cas du blé-seigle (Gill et Kember, 1974b; Darvey et Gustafson, 1975; 1976; Zeller, 1977, Seal et Bennett, 1982, Gill, 1990, 1999, Nian Cai, 2003 Badaev *et al.*, 2007).

6- L'investigation de l'origine du génome B du blé (Hadlacky et Belea, 1976, Badaeva et Badaev, 2008).

7- détermination du niveau de ploïdie (Gustafson 1983; Wanda *et al* 1996; Lapinski et Schwarzacher 1998; Lee *and al*, 2004; Landjeva *et al.*, 2006; Silcova *et al.* 2007; Gill, 2009, Oleszczuk. *et al.* 2011; Kang *et al*, 2011; Rahmatov, 2012, Hammouda, 2013).

8- Caractérisation des différents caryotypes des hybrides

Interspécifiques (Badaeva et Badaev 1992, Lukaszewski, 2006, Hammouda *et al.* 2008, 2013).

Chapitre II : Matériels et méthodes

II-1 Matériel

Notre matériel végétal porte sur une espèce du blé, sous forme d'un hybride interspécifique : *Triticumturgidum*L., avec une formule génomique AABB, et $2n=4x=28$ chromosomes. Cette espèce est fournie par l'institut technique de grandes cultures (I.T.G.C) d'Elkhroub.

II-2 Technique du marquage C-banding

A la fin des années 1960, de nombreuses techniques cytogénétiques se sont développées. Elles sont fondées sur l'exploitation de l'hétérogénéité de la structure des chromosomes d'une part, et d'autre part sur le système de nomenclature pour une bonne description des bandes hétérochromatiques

Beaucoup d'auteurs se sont intéressés à cette technique, parmi eux citons: Gill. Et al (1991); Badaev *et al.* (1992);Jahier et al. (1992);Friebe and Gill. (1994); Deng-caill.*et al.* (1997); Belay. AndMarker.(1999) et Shimelis (2005) et Badeava *et al* (2007); Gill *et al.* (2009).

Nous avons appliqué celle décrite par Pignone *et al.* (1989), avec des modifications introduites dans les étapes Dénaturation et renaturation de l'ADN (Hammouda, 2013).

II-2-1 Etapes préliminaires

a-Germination :

Les grains de blé *Triticumturgidum* sont mis à germer sur papier filtre à température ambiante (généralement entre 20°C-22°C). Lorsque les racines atteignent une longueur de 0.5cm- 1cm, nous passons à l'étape suivante :

b-prétraitement :

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

- Bloque les divisions mitotiques au stade métaphase.

- Contracter ou condenser les chromosomes.
- Il existe, parallèlement à la colchicine.

Prétraitement à la colchicine à air ambiant :

Les pointes racinaires de la variété *Triticum turgidum* sont prélevées et prétraitées dans une solution de colchicine à 0.05% à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 5h:45mn. Nous contrôlons ensuite, toutes les 15mn le stade des métaphases. Des essais sont faites à différentes durées de prétraitement jusqu'à l'obtention de la bonne durée de ce prétraitement.

Fixation :

Les fixateurs détruisent toute vie cellulaire. Ils doivent avoir une action rapide pour bloquer toute évolution des divisions cellulaires et permettent de conserver l'intégrité structurale des chromosomes. La fixation s'effectue dans :

- Une solution éthanol-acide acétique glaciale (3V-1V) pendant 24h au réfrigérateur.

Conservation ou stockage :

Les échantillons sont conservés au réfrigérateur dans l'alcool dilué : éthanol à 70°C pendant plusieurs mois

Hydrolyse_:

C'est une étape de macération très critique car le temps, la température et la normalité de l'HCL doivent être précises. Pour cela les racines sont plongées dans l'HCL 1N à 60 °C durant 7mn.

Cette hydrolyse a une action associée à celle des enzymes. Elle permet de ramollir les parois rigides, en dissolvant les sels pectiques de la lamelle moyenne, tout en facilitant l'écrasement.

Après rinçage facultatif à l'eau distillée, nous passons aux écrasements entre lame et lamelle dans une solution d'acide acétique à 45%. A ce stade, il est possible d'évaluer la quantité et la qualité des divisions en les observant en contraste de phase.

II-2-2 Etapes de C-banding

Les meilleures préparations riches en plaques métaphasique sont soumises aux étapes de C-banding

-Delamélation

Le décollement se fait par l'azote liquide à -196°C .

- Déshydratation :

Toutes les lames sont rincées à l'éthanol absolu, séchées pendant 24h à température ambiante.

Dénaturation de l'ADN

Les lames sont trempées dans une solution d'hydroxyde de baryum $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 2% à 20°C pendant 4 mn.

Hydrolyse

L'étape de dénaturation est suivie par une autre hydrolyse à l'HCL 1N à 60°C durant 6 mn (renaturation).

Les étapes 1 et 4 du banding sont critiques, car elles nécessitent un temps et une température exacte pour une bonne différenciation des bandes.

Rinçage

Se fait dans l'eau de robinet pendant 45mn, suivi par un rinçage facultatif dans distillé 3mn.

Coloration

Les lames sont plongées dans la solution tampon McIL vaine pH 7. Cette solution est préparée à partir de deux solutions mères A et B de la façon suivante :

- Solution A : 0.63g acide citrique dans 30ml d'eau distillée.
- Solution B : 3.79g Na_2PO_4 , 12 H₂O dans 120 ml d'eau distillée.
- Solution tampon : 13 ml A+ 87.2ml B, et complété jusqu'à 200 ml avec l'eau distillée, ajusté au pH 7 avec la solution A.

La coloration se fait dans ce tampon avec 3 à 4 gouttes de Giemsa, afin de marquer les séquences d'ADN hautement répétées non codantes riches en CG)

Montage

Les lames sont laissées sécher toute une nuit, puis sont fixées définitivement avec un liquide de montage le « Depex »

Observation et photographie

Après l'observation des plaques métaphasiques, les photos sont prises au photomicroscope à balayage de type Leica DM 4000 (voir photo ci-dessous).



II-3 Analyses statistiques

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

Lecture des valeurs de longueurs des bras longs (BL) et des bras courts (BC) en mm puis faire la conversion en μm .

Calcule des valeurs moyennes de la longueur des bras longs et des bras courts en mm et des erreurs standards correspondantes puis faire la conversion en μm .

Calculs des longueurs totales ($LT=BL+BC$).

Calculs des longueurs totales relatives ($LR=LT$ de chaque chromosome $\times 100 / \Sigma LT$ de toutes les chromosomes).

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

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

Le rapport entre la paire chromosomique la plus longue et celle la plus courte de la garniture Chromosomique. Les moyennes et les écarts types sont traités par l'Excel 2014, avec un nombre de répétitions (plaque métaphasiques pour chaque génotype) est de 3.

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1 Résultats

1-1 Identification des génomes A et B chez l'espèce *Triticum turgidum* L.

Rappelons que, nous avons appliqué la technique décrite par Pignone *et al.* (1989), avec des modifications introduites dans deux étapes (Hammouda (1999).

Pour l'obtention de bon résultats, les plaques métaphasiques conservées ne doivent pas dépasser deux semaines, dans le cas où ceci se produit, l'hydrolyse sera prolongée de 1 à 3 mn.

La coloration optimale des chromosomes permet une bonne différenciation des **bandes C** (marquage des séquences d'ADN hautement répétées non codantes) correspondant à l'**hétérochromatine**.

Nous avons pu identifier les génomes **A** et **B** de l'espèce *Triticum turgidum* L. En effet, les chromosomes du génome **A** présentent moins de bandes hétérochromatiques (C) par rapport à ceux du génome **B**. Alors que, le **nombre** de bandes, **leur intensité** et **leur emplacement**, sur le chromosome diffèrent d'une paire chromosomique à une autre et à l'intérieur de l'espèce.

Rappelons que, les bandes hétérochromatiques sont de types télomériques, centromériques et intercalaires. D'une manière générale, l'**hétérochromatine** est centromérique. (Figure 07).

Signalons que, tous les chromosomes de l'espèce étudiée sont métacentriques (**m**) à l'exception des chromosomes 5A et 5B qui sont sub-métacentrique (**sm**). Ceci signifie que le caryotype est symétrique tant pour la forme que pour la taille des chromosomes, donc il est primitif. L'indice d'asymétrie est de 60,45% (Tableau 04)

Tableau04 : Données morphométriques de l'espèce *Triticum turgidum*:

Génomes	Paires chromosomiques	BL	BC	LT	LR	r	I.C	TC
1A	1	20	12	32	6.55	1.66	37.5	M
2A	2	15	13	28	5.73	1.15	46.42	M
3A	3	20	14	34	6.96	1.42	41.17	M
4A	4	16	15	31	6.35	1.06	48.38	M
5A	5	29	14	43	8.81	2.07	32.55	Sm
6A	6	12	9	21	4.30	1.33	42.85	M
7A	7	25	15	40	8.19	1.66	37.5	M
1B*	8	21	14	35	7.17	1.5	40	M
2B	9	21	16	37	7.58	1.31	43.24	M
3B	10	23	15	38	7.78	1.53	39.47	M
4B	11	21	14	35	7.17	1.5	40	M
5B	12	27	12	39	7.99	2.25	30.76	Sm
6B*	13	20	15	35	7.17	1.33	42.85	M
7B	14	25	15	40	8.19	1.66	37.5	M

*construction secondaire

I.a.s=60.45%

R=1.42

LT=longueur totale

LR=longueur relative

r=BL/BC

BL/BC= longueur bras long/longueur bras court

IC=indice centromérique

m= métacentrique

sm= submétacentrique

TC=type chromosomique

L'analyse en C-banding des chromosomes des génomes A et B est effectuée de la manière suivante:

1-2 Description du génome A

Chromosome 1A : deux (02) bandes sur le bras court une télomérique et l'autre centromérique, et Trois (03) fines bandes sur le bras long.

Chromosome 2A : deux (02) larges bandes sur le bras court, une télomérique et l'autre centromérique. Trois (03) fines bandes sur le bras long, (02) bandes intercalaire et une télomérique.

Chromosome 3A : deux (02) fines bandes intercalaires sur le bras court et deux (02) bandes sur le bras long, une bande intercalaire et l'autre télométrique.

Chromosome 4A : cinq (05) bandes détectées, deux (02) fines bandes intercalaires sur le bras court et trois (03) bandes sur le bras long, deux intercalaire (une fine et l'autre large) et une bande télométrique.

Chromosome 5A : (06) bandes observées, deux fines bandes intercalaires sur le bras court et quatre (04) bandes sur le bras long deux (02) fines intercalaire et une bande centromérique et l'autre télométrique.

Chromosome 6A : deux (02) bandes observées sur le bras court et trois (03) large bandes sur le bras long une intercalaire, une bande centromérique et une télométrique.

Chromosome 7A : quatre (04) fines bandes, une (01) associé sur le bras cours et trois (03) bandes sur le bras long, deux (02) intercalaire et l'autre télométrique.

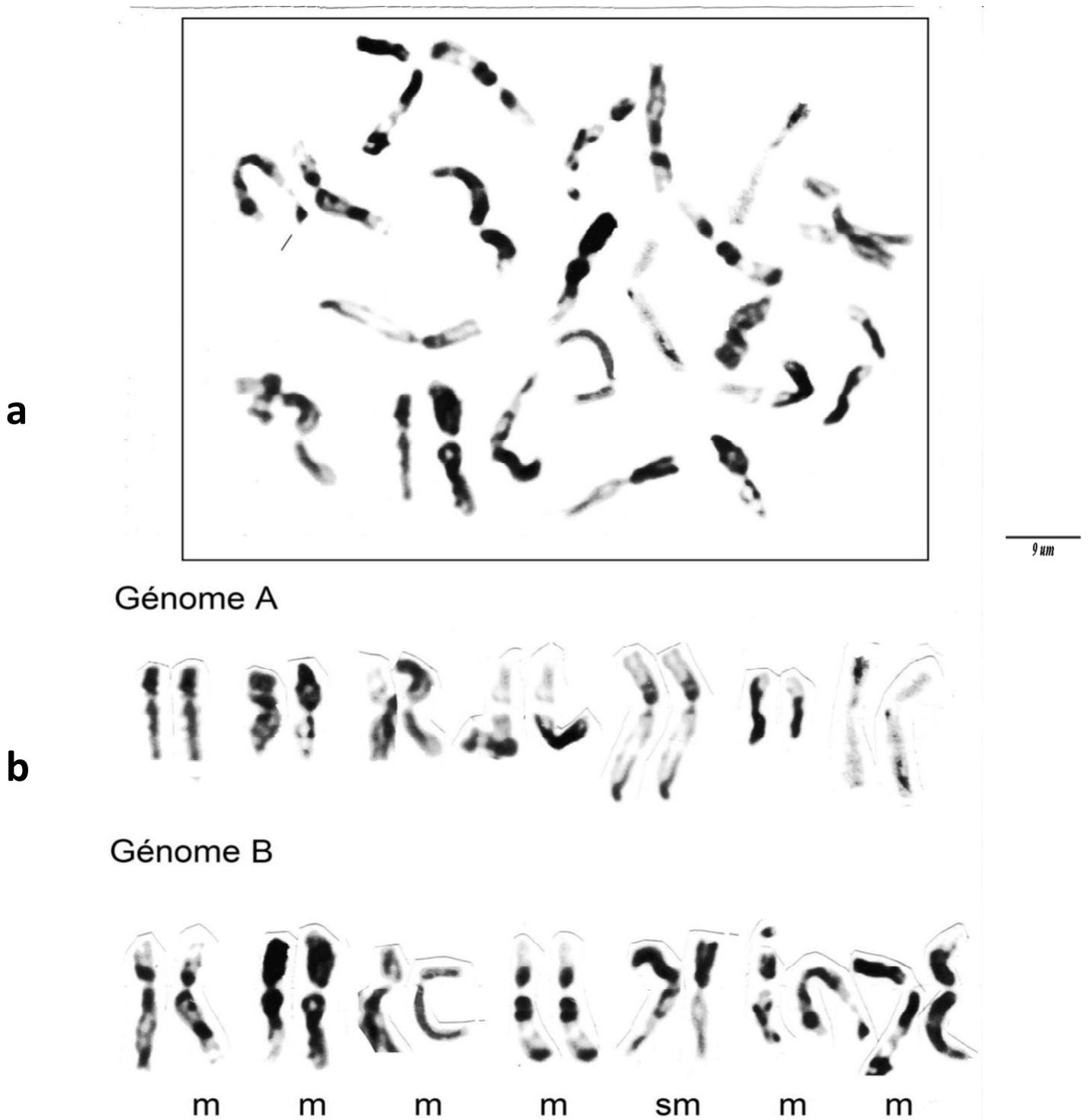


Figure 07 : Caryotype (en C-banding) de l'espèce *Triticum turgidum*

a-Plaque métaphasique

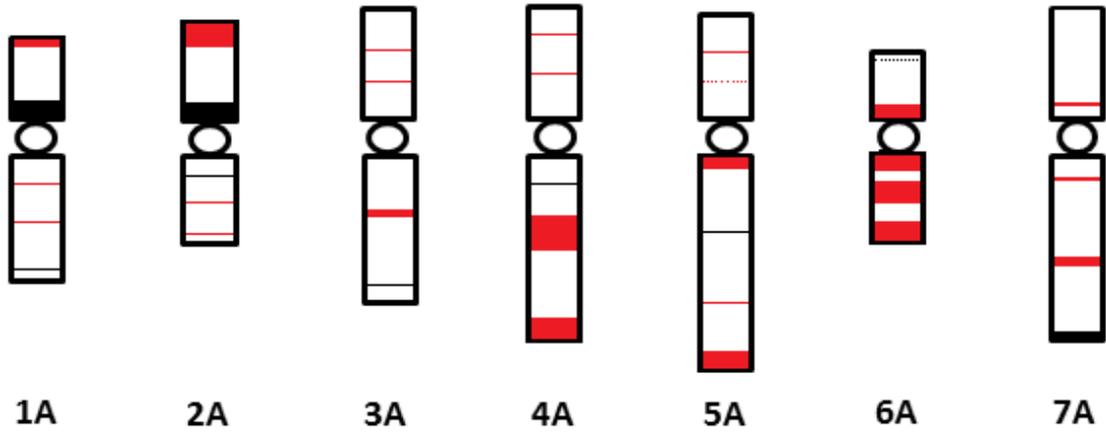
b-Caryogramme

c-Idiogramme: Les bandes C⁺ colorées sont spécifiques à

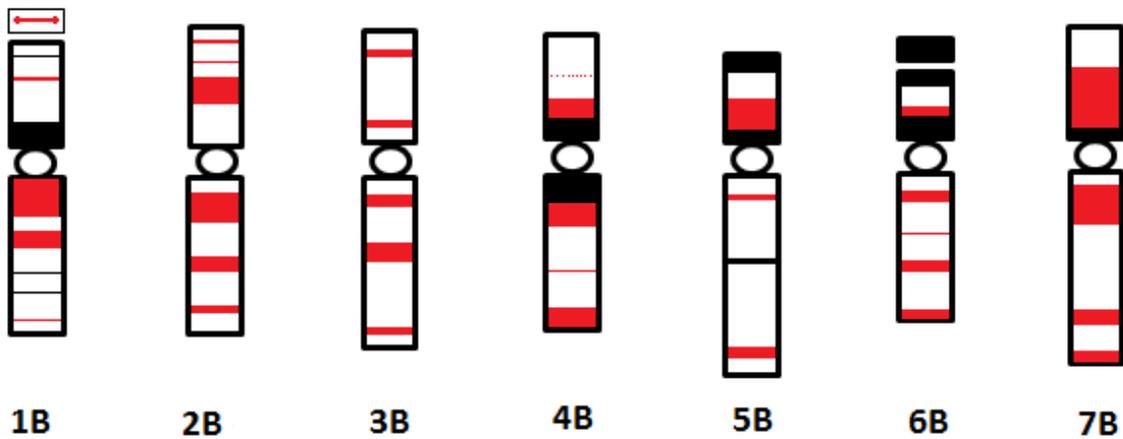
L'espèce. Les constructions secondaires sont localisées sur

Les chromosomes 1B et 6B

Géomes A



Géomes B



■ : Zones riches en ADN hautement répétées non codantes, bases CG (hétérochromatine constitutive)

□ : Zones riches en ADN codantes, bases AT (Euchromatine)

■ : Zone spécifiques à l'espèce étudiée riches en ADN hautement répétées non codantes, bases CG (hétérochromatine constitutive)

1-3 Description du génome B

Chromosome 1B : neuf (09) bandes observées, quatre (04) intercalaire, deux (02) télométrie, deux (02) centromérique (une sur le bras court et deux blocs fusionnés sur le bras long) et une autre bande localisée sur la construction secondaire.

Chromosome 2B : deux (02) télométrie chaque une sur un bras, et quatre bandes intercalaire (deux sur le bras court une épaisse et l'autre fine) et deux bandes sur bras long (une large et une épaisse).

Chromosome 3B : cinq (05) bandes observées, deux (02) larges bandes télométrie chaque une sur un bras. Et trois (03) large bandes intercalaire (une sur le bras court et deux sur le bras long).

Chromosome 4B : sur le bras court et long (une épaisse bande centromérique constituée de deux larges bandes fusionnées, et une fine bande intercalaire). Et aussi une large bande télométrie sur le bras long.

Chromosome 5B : six (06) bandes observées, sur le bras court une bande large télométrie et deux bandes fusionnées (une intercalaire et l'autre centromérique). Sur le bras long deux bandes intercalaire et une télométrie.

Chromosome 6B : (08) bandes détectées. Une bande sur la construction secondaire, sur le bras court deux bandes centromérique presque fusionnés et une télométrie et sur le bras long trois (03) bandes intercalaire et une télométrie.

Chromosome 7B : une (01) épaisse bande sur le bras court constituer de trois (03) bande fusionnées, sur le bras long une épaisse bande proche du centromère et une intercalaire et une télométrie.

III-2 Discussion

Des techniques de coloration aux Fluorochromes ou au Giemsa, précédées de traitement de dénaturation et renaturation d' l'ADN chromosomique, ont été mise au point pour identifier les chromosomes en métaphase mitotique.

Les premières techniques de marquage qui ont permis une différenciation longitudinale de la structure des chromosomes sont celles du **C-banding**(Vosa., 1972), mettant en évidence l'hétérochromatine constitutive (Robin *et al*, 1992). Ces techniques ont été surtout employée sur les chromosomes des espèces céréales, cas du seigle (Gill et Kember 1974b, 1977, Bennett and Gustafson., 1982), du blé (Seal et Bennett, 1982; Gill *et al*, 1987; 1991; Friebe and Gill, 1994) l'orge et du triticales (ZurabishvI *et al*., 1978; Gustafson. and Zurabishvi 1983a, 1983b, Dille *et al*, 1984).

Nos résultats en comparaison à ceux des auteurs (Mathis,Matteo *et al*., 2012-2013), montre une grande différenciation structurale (hétérochromatine constitutive) marquée par des épaisses et sombres bandes C⁺ (spécifiques à l'espèce étudié) sur tous les chromosomes des deux génomes A et B.

L'analyse inter-chromosomique entre les génomes des deux espèces, révèle beaucoup de variations dans leurs zonages:

- Dans les **génomés A**, tous les chromosomes présentent des bandes hétérochromatiques supplémentaires (C⁺) par rapport à ceux de la référence (Figure 8 a).
- Dans les **génomés B**, tous les chromosomes montrent une grande hétérogénéité dans la distribution des bandes sombres à l'exception 4B qui est semblable à son homologue de l'espèce standard (Figure 8 b). D'après Friebe and Gill (1994), l'hétérochromatine du chromosome 4B apparaît instable. Une inversion pericentrique est détectée dans ce chromosome chez *ChineseSpring*(Endo et Gill, 1984, Endo *et al*, 2008).

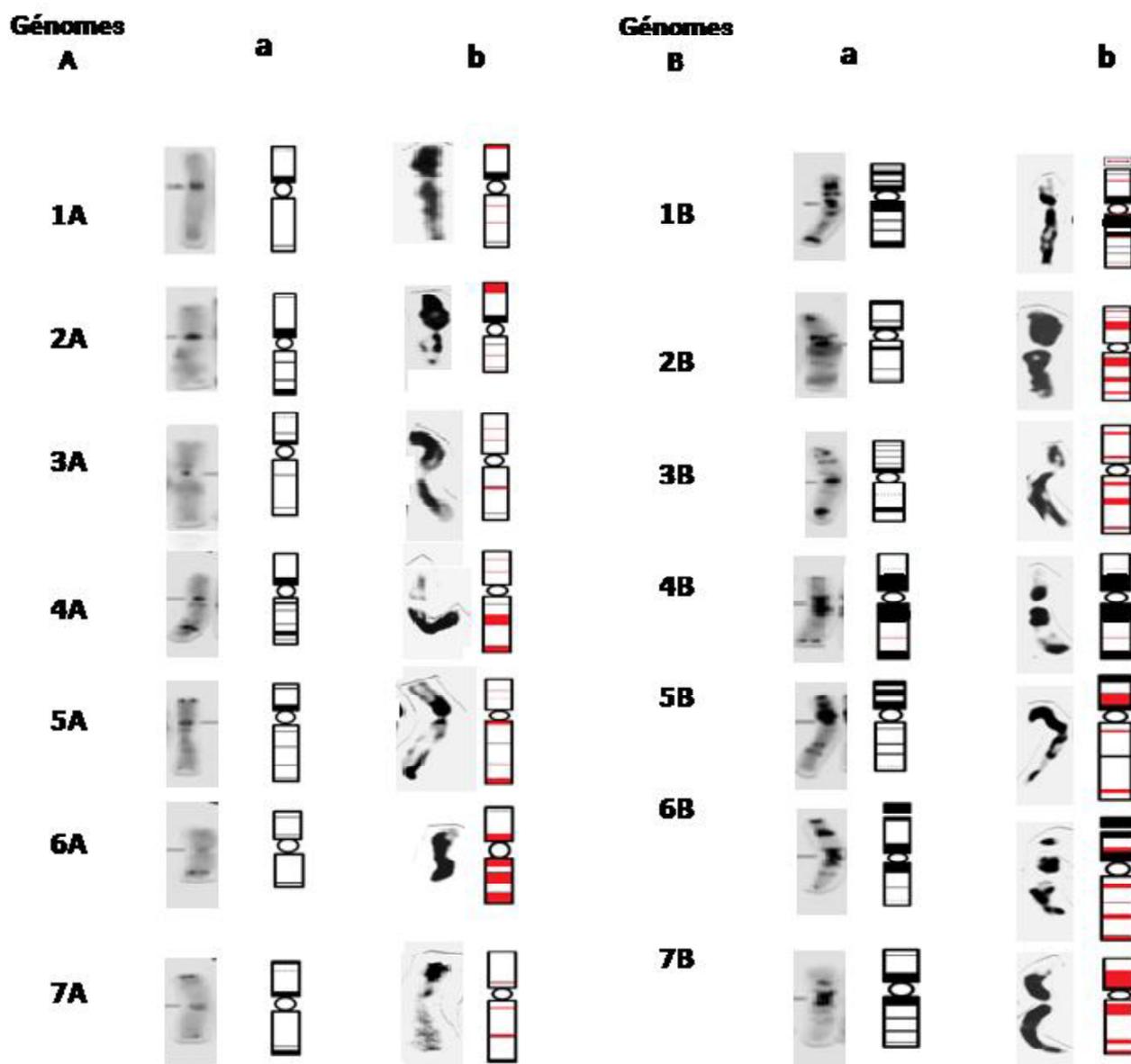


Figure 08 : Polymorphisme hétérochromatique (en C-banding) de:

a- *Triticum turgidum* (référence), **b-** *Triticum turgidum* (espece étudiée).

Tous les chromosomes des deux génomes A et B sont marqués par des bandes supplémentaires à l'exception du chromosome 4B qui est semblable à son homologue de la référence.

En comparaison avec différents auteurs, les constructions secondaires (CS) associées aux régions organisateurs nucléolaires (R.O.N) apparaissent

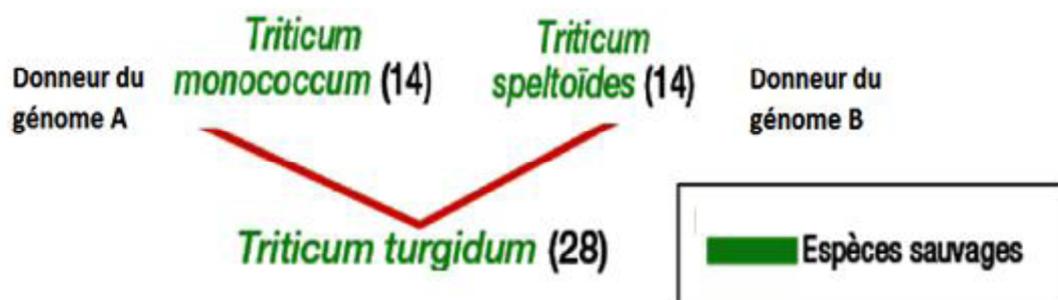
Clairement et sont spécifiques aux **chromosomes marqueurs 1B et 6B** du génome B (Pignone et al. 1989 ; M.Bernard et S.Bernard, 1992 ; Gill *et al*, 1991 ; friebe et gill, 1994, Badaeva *et al.* 2008, Hammouda, et Khalfallah, 2008).

Il y a une similitude en termes de densité sur la construction secondaire marquée par le chromosome 6B d'espèce étudié et celui de l'espèce standard.

On observe l'absence de la construction secondaire dans le chromosome 1B chez l'espèce standard, alors qu'elle est présente dans notre espèce (Figure 08)

D'après les auteurs (pignone *et al*, 1989 ; Gill *et al*, 1991 ; Friebe et Gill, 1994, Hammouda, 1999), le **génome B** montre une **grande variabilité** dans la distribution **des bandes hétérochromatiques (C⁺)** caractéristiques dans chaque chromosome, constituent une nouvelle étape dans la connaissance de l'organisation du matériel génétique de l'espèce étudié..

Rappelons que *Triticum turgidum* provient d'une hybridation interspécifique entre l'espèce *Triticum monococcum* (parent femelle) et l'espèce *Aegiplos speltoïdes* (parent male) (voir schéma sis-dessous).



La comparaison du génome A de l'espèce étudié (*T.turgidum*) à celui de son parent femelle (*T.monococcum*) révèle de nombreuses variations dans le zonage des chromosomes (nombre, intensité et emplacement des bandes C)

En effet les chromosomes 1A, 2A, 3A, 4A, 5A, 6A, 7A, de *Triticum turgidum* (hybride F1) sont très riches en hétérochromatine constitutive (bandes spécifiques colorées en rouge) par rapport à leurs homologues de son parent femelle (*Triticum monococcum*) (Figure 09). Ceci s'explique par un choc génomique qui était à l'origine de l'augmentation du taux d'hétérochromatine, lors de la sélection de l'espèce (hybride interspécifique).

Toutes les variations révélées par le C-banding sont dues probablement à l'amplification ou à la réduction de la quantité des séquences d'ADN hautement répétées dans ces régions (Friebe et Gill, 1994).

Enfin, nous pouvons dire que le *Triticum turgidum* étudié montre un surcharge en hétérochromatine par rapport à son parent (*Triticum monococcum*) et à son homologue de référence.

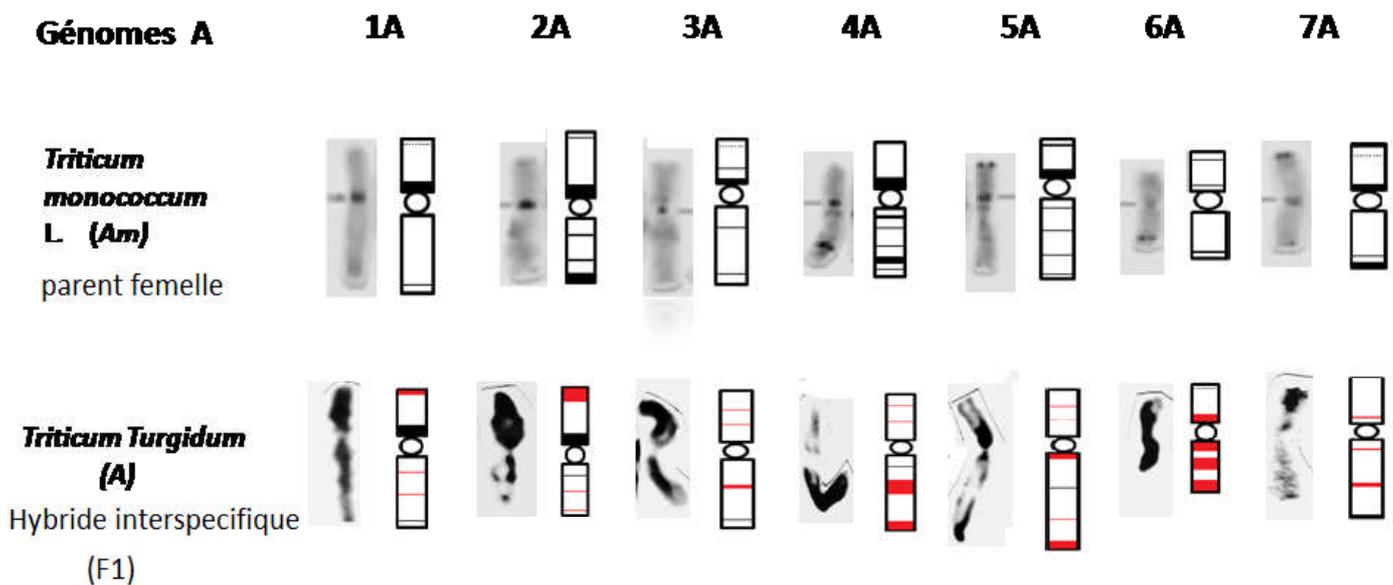


Figure 09 : Comparaison du génome (Am) de *Triticum monococcum* L. à celui de *Triticum Turgidum* L. (A). L'hybride montre une richesse en (hétérochromatine constitutive) marquées par des bandes C+.

Conclusion et perspectives

L'identification des **différents génomes (A) et (A-B)** des blés *T monococcum* L. et *T turgidum*., la mise en évidence des différences structurales qui apparaissent sous la forme de **bandes hétérochromatiques (hétérochromatine constitutive)**, l'établissement des caryotypes et le calcul des données morphométriques sont effectués grâce à la technique du marquage **C-banding**(Pignone *et al.*, 1998 ; Gill *et al.*, 1991 ; Friebe et Gill, 1994,2009, Hammouda, 1999) et le programme desiljak- yakovlev (1986).

L'espèce *T turgidum*(sélectionnée) comparé à celle de référence (sauvage) montre un sur charge en hétérochromatine (**intensité, nombre et localisation des bandes C**). L'analyse génomique révèle d'importantes variations :

- Dans les **génomes A**, tous les chromosomes présentent des bandes hétérochromatiques supplémentaires (**C⁺**) par rapport à ceux de l'espèce standard.
- Dans les **génomes B**, tous les chromosomes montrent une grande hétérogénéité dans la distribution des bandes sombres à l'exception **4B** qui est semblable à son homologue de l'espèce standard.
- La présence des constructions secondaires marquées sur les chromosomes 1B et 6B. ces constructions secondaires renferment des organisateurs nucléolaires qui codent pour les gènes ribosomiaux.

La comparaison de tous les génomes A de l'hybride (*T.turgidum*, **2n=4x=28, (AABB)** et son parent femelle (*T.monococcum*, **2n=2x=14, A^mA^m**) révèle de nombreuses variations dans le zonage des chromosomes:

-En effet les chromosomes **1A, 2A, 3A, 4A, 5A, 6A, 7A**, de *Triticum turgidum* (hybride F1) sont très riches en hétérochromatine constitutive (bandes spécifiques) par rapport à leurs homologues de son parent femelle (*Triticum monococcum*). Ceci s'explique par un choc génomique qui était à l'origine de l'augmentation du taux d'hétérochromatine, lors de la sélection de l'hybride interspécifique.

Les chromosomes qui portent des **bandes hétérochromatiques supplémentaires** sont considérés comme **chromosomes marqueurs**.

Toutes **les variations** révélées par la technique du marquage **C-banding** sont dues probablement à **l'amplification** ou à **la réduction de la quantité des séquences d'ADN hautement répétées (riches en bases CG)** dans ces régions,

Les variations mises en évidence chez l'espèce étudiée *Triticum turgidum* indiquent l'existence d'un **polymorphisme hétérochromatique interspécifique**

En **perspectives**, nous souhaiterions d'envisager d'autres techniques plus approfondies, tels que:

- Marquage au Fluorochrome-banding, qui permet de mesurer l'effet de l'hétérochromatine sur la quantité d'ADN.
- 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 ribosomiques et mettre en évidence des mutations de type translocation ou inversion.

Enfin, établir une cartographie génétique des gènes ribosomiques et chromosomes marqueurs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- ANONYME.** www.noceuill.fr monde vegetal les familles des plantes (Roland Cattenoz, Mickaël Bellague. 2014).
- BADAEVA E.D., DEDKOVA O.S., Gay G., PUIKHAISKYI. V.A., ZELENIN A.V.; BERNARD S., 2007:** Chromosomal rearrangements in wheat: their types and distribution. *Genome*. 50. PP:907-926(20).
- BADAEV N.S, BADAEVA E.D., DUBOVETS N.I., BOLSHEVA N.L, BORMOTOV V.E. and ZELENIN A.V., 1992:** Formation of a synthetic karyotype of tetraploid triticale. *Genome*. 35 (2): 311-317.
- BELAY G. and MERKER A., 1999:** C-band polymorphism and chromosomal rearrangements in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) landraces from Ethiopia. *Wheat Information Service*. Sweden. 88: 6-14.
- BERNARD G. 1997.** le génome des eucaryotes roi du briolage. *Recherche << l'histoire de la vie >>* n°296, 52-54.
- BERNARD M. et BERNARD S., 1992 :** Développement et applications des techniques de coloration différentielle des chromosomes chez les végétaux : caryotypes et structures chromosomiques, identification des espèces et relations phylétiques. *Société Française de Génétique*. 8 (3) : 1-10.
- BRETAGNOLLE, F., and J. D. THOMPSON. 1995:** Tansley Review No-78 - Gametes With The Somatic Chromosome-Number - Mechanisms Of Their Formation And Role In The Evolution Of Autopolyploid Plants. *New Phytologist* 129:1-22.
- CAUDERON Y., 1989:** Cytogénétique et amélioration du blé. Le sélectionneur français, INRA. Versailles. 19 : 89-101.
- CHARLES, M., H. BELCRAM, J. Just, C. HUNEAU, A. VIOLLET, A. COULOUB. SEGURENS, M. CARTER, V. HUTEAU, O. CORITON, R. APPELS, S. SAMAIN, and B. CHALHOUB, 2008 .:** Dynamics and differential proliferation of transposable elements during the evolution of the B and A genomes of wheat. *Genetics* 180:1071-1086. 28.
- CHARLES MA, HAIBAO TANG, HARRY B, PATERSON A, PIOTR GORNICKI, and BOULOS C 2009::** Sixty Million Years in Evolution of Soft Grain Trait in Grasses: Emergence of the Softness Locus in the Common Ancestor of

Pooideae and Ehrhartoideae, after their Divergence from Panicoideae; Mol. Biol. Evol. 26(7):1651–1661.

COMEAU A. et JAHIER J., 2005: Sauvetage d'embryons zygotiques et hybridation interspécifique. Biotechnologie. Unisat. Université Audiovisuelle. Francophone. 41-70

COMMING S., 1975 . In Pignone D., Attalico M. and Cifarelli S., 1989. Differential staining of wheat chromosomes with an hydrolytic technique. Caryologia. 42 (1) : 49-56.

DVORAK J., 1988: Cytogenetical and molecular inferences about the evolution of wheat. In MILLER T.E and KOELNER R.M.D. (eds). PROC. 7th. int. wheat genet. symp. Cambridge. UK. P:187-192.

DVORAK J., and ZHANG H-B. 1992. Reconstitution of the phylogeny of genus *Triticum* from variation in repeated nucleotide sequence. Theor. Appl. Genet. 84:419-429

ENDO T.R. and GILL B.S., 1984 : Somatic karyotype, heterochromatin distribution and nature of chromosome differentiation in common wheat, *Triticum aestivum* L. Chromosoma. In press.

FRIEBE B. and Gill B.S., 1994: C-band polymorphism and structural rearrangements detected in common wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica. 78 (1-2): 1-5.

FRIEBE. TULEEN N., and GILL B.S. 1995. Standard karyotype of *Triticum searsii* and its relationship with other S-genome species and common wheat. Theor. APPL. Genetics , 91(2) :248-254.

FRIEBE B., and SEARS G., GILL B.S. 1990. Transfer of Hessian fly resistance from <<chaupon>> rye to hexaploid wheat via a 2BS/2RL wheat-rye chromosome translocation. Theor. Appl. Genet. 79:385-398

GILL B.S., 1987: Chromosome banding methods standard Chromosome and nomenclature and application in cytogenetic analysis. In Heyene. E.G (Ed) wheat and improvement. 2 Ed. American society of Agronomy Monograph. 13. P:243-254.

GILL B.S and CHEN P.D., 1987: Role of cytoplasm-specific introgression in the evolution of polyploid wheats. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 84: 6800-6804.

Gill B. S. and FRIEBE B., 2009: Cytogenetic Analysis of Wheat and Rye Genomes. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models, Vol 7: p 121

- GILL B.S.; FRIEBE B. et ENDOTR., 1991:** Standard karyotype and nomenclature system for description of Chromosome bands and structural aberration in wheat (*Triticumaestivum*). Genome. vol 3. n°4. P:830-839.
- GILL B.S. and KIMBER G., 1974 :** The giemsa C-band karyotype of Rye. Proc. Nat. Aca. Sci. USA. 71 (4) : 1247-1249.
- GUPTA .P.K. 1991.** Cytogenetics of wheat and its close wild relatives –*Triticum* and *Aegilops*. Chromosome engineering in plants. Genetics .Breeding. Evolution. 243-259.
- GUSTAFSON J.P. 1983.** Somatic deletion and redistribution of telomeric heterochromatin in genus *Secale* and in triticale. Chromosoma. 88:293-298.
- GUSTAFSON J.P., and BENNETT M.D., 1982:** The effect of telomeric heterochromatin from *secale* L. on tritival (*x-Triticosecale Wittmack*). I. The influence of several blocks of telomeric heterochromatin on early endosperm development and Kernel characteristics at maturity. Can. J. Genet. Cytol. 24: 83-92
- HAMMOUDA D., 1999 :** Etude de polymorphisme hétérochromatique chez 3 variétés de blé dur (*Triticum durum DESF*) et 2 variétés de blé tendre (*T aestivum L*). Thèse de magister Université de Constantine. p:3-4.
- HAMMOUDA, D. 2013.** Evolution et organisation du génome chez *x-Triticosecale Wittmack*. Thèse de Doctorat en Sciences, Génétique et Amélioration des Plantes, Université de Constantine 1, Algérie, 2013, p114.
- HAMMOUDA, D., KHALFALLAH, N. 2009.** Comparative analysis of D and R genomes in two lignes (*x-Triticosecale Wittmack*) and their genitors (*Secale cereale L.*, *Triticumaestivum L.*) by N banding. Caryologia, 2008, 61(3), 245-252.
- HARLAN, J. R., and J. M. De WET. 1975:** On O Winge and a prayer: the origins of polyploidy. Botanical Review 41:361-390
- HARTL L.; WEISS H.; STEPWN U.; ZELLER F.J. et JAHOOOR A., 1995:** Molecular identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticumaestivum L*) Theor. Appl. Genet. 90:601-606.
- HENDERSON, E., 1995.** Telomere DNA structure. In : Blackburn, E.H., Greider, C.W. (Eds.), Telomeres. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, Pp. 11-34.
- HUANG, S., SIRIKHACHORNKIT A., SU X., FARIS J., GILL B., HASELKORN R., and GORNICKI P. 2002:** Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploidy wheat. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:8133-8138

JAHIER J, 1992: Techniques de cytogénétique végétale. Jahier J. (Ed.). INRA. Paris. P: 171.

JIANG J. and GILL B.S., 1994: Nonisotopic in situ hybridization and plant genome mapping: the first 10 years. *Genome*. 73: 717-725.

JOUBE N., GALINDO C. and MAESTA M., 1989: Chromosome heterochromatin visualized by C-banding. *Genome* 32: 735-742.

KANG H. WANG Y. FEDAK G. CAO W; ZHANG H. FAN X. SHA L., 2011: Introgression of chromosome 3Ns from *Psathyrostachys huashanicain* to wheat specifying resistance to stripe rust. *PLOS One*, 21802.

KHALFALLAHN., 1990: Genetic relationship among wild and cultivated forms belonging to the primary gene pool of 13 Pennisetum 251 pearl millet *Pennisetum typhoides* Stapf et Hubb: Assessment of variability using combine cytogenetic and biometrical approaches. Doctor of Science Thesis. Constantine, Algeria 75 p (Les relations génétiques entre formes sauvages cultivées du pool primaire du mil, *Pennisetum typhoides* Stapf et Hubb. Analyses cytogénétiques et biométriques conjointes de l'organisation de la variabilité'. The`se de doctorat d'Etat Constantine, Algeria 75 p)

KIAHAR H. 1924. Cytogénétique und genetische Studien bei wichtigere Getreidearten mit besonderer Rücksicht auf das Verhalten der Chromosomen und die Sterilität in den Bastarden, *Mem. Coll. Sci., Kyoto. Imp. Univ., Ser. P: 200*

KIMBER G., and SEARS E.R. 1983. Assignment of genome symbols in the triticeae * . Pro. 6th International. Wheat Genetics Symposium. Kyoto. Japan, 1195.

LANDJEVA S., KORZUN V., TSANEV V., VLADOVA R. and GANEVA G., 2006: Distribution of the wheat-rye translocation 1RS/1BL among bread wheat varieties of Bulgaria. *Plant Breeding, Berlon*. 125: 102-104.

LEE J.H., MA Y., WAKO T., LO L.C., KIM K.Y., PARK S.W., UCHIYAMA S. and FUKUI K., 2004: Flow karyotypes and chromosomal DNA contents of genus *Triticum* species and rye (*Secale cereale*). *Chromosome Research*. Osaka, Japan. 12: 93-102.

LEVAN A. and FRAD K., 1964. Secondary association between genetically equivalent bivalents. *Hereditas*, 52. 201-220.

LUKASZEWSKI A.J., CHRISTINE A.; 2011: Transfer of the Glu-D1 Gene from Chromosome 1D to Chromosome 1A in Hexaploid Triticale. *Plant Breeding*, Volume 112, Issue 3, pages 177-182

- LUKASZEWSKI A.J. and GUTIS C, 2006:** Transfer of the Glu-D1 Gene from Chromosome 1D to Chromosome 1A in Hexaploid Triticale. *Plant Breeding* Volume 112, Issue 3, pages 177–182
- LUKASZEWSKI J. et LAPINSKIC B., 2001:** Tentatives de transférer la résistance Russe d'aphis de blé a partir d'un chromosome de seigle en triticale Russe au blé. *La science.* n° 41.p:1743-1749.
- MATTEI M.G. et LUCIANI J., 2003:** Hétérochromatine, du chromosome; la protéine. *Atlas.Genetic.CytogeneticOncolHaematol.*
- PATHAK G.N.1940.** Studies in the cytology of cereals ,jour.*Genet.* 39:437-467.
- PIGNONE D.; ATTOLICO M., et CIFARELLI S., 1989:** Differentialstaining of wheat chromosome with an hydrolytic technique. *caryologia.vol 42.n° 1:49-56.*
- PRESCOTT D.M., 1989 :** La cellule. chap II. Principales moléculaires des structures et des fonctions cellulaires: 390-393.
- RAHMATOV M., 2012:** Isolation and evaluation of different wheat-rye translocation lines obtained from a disease resistant double translocation line with 1BL 1RS and 2RL 2BS. Faculty of Landscape Planning, University of Agricultural Science; p 54
- RAMSEY, J., and D. W. SCHEMSKE.1998 :** Pathways, Mechanisms, an Rates of polyploid formation in flowering plants. *AnnualReview Of Ecology And Systematics* 29:467-501
- RILEY R.1958.** Chromosome pairing and haploids in Wheat .(Abstr.) *Proc.X International Congr .Genet 2 :234-235.*
- SARKAR P. and STEBBINS G.L. 1956.**Morphological evidence concerning the origin of the B genome in Wheat.*Am.J.Bot* 42:297-304.
- SEAL A.G., 1982:** C-banded wheat chromosomes in wheat and triticale. *Theor .App. Genet.*63:39-47.
- SEARS E.R. 1969.** Wheat cytogeneticsl.*Annual.Review of Genetics.*Vol.3,451-468.
- SHIMELIS H., 2005:** C-banding analysis of chromosomes translocation in doubled haploid wheat. *African Journal of Biotechnology.* South Africa. 4 (6): 541-547.
- SILJAK-YAKOVLEV.; CARTIER O., 1986:** Heterochromatin patterns in some taxa of crepispraemorsa complex. *Caryologia.* 39: 27-32
- SILKOVA O.G. ; DOBROVOL'SKAIA O.B. ; DUBOVETS N.I. ; ADONINA I.G.; KRAVTSOVA L.A. ; SHCHAPOVA A.I. et SHUMNYI V.K., 2007:**

Production of wheat-rye substitution lines based on winter rye cultivars with karyotype identification by means of C-banding. GISH and SSR markers. *Genetika*. 43: 1149-1152.

SOLTIS, D. E., ALBERT V. A., LEEBENS-MACK J., BELL C. D., PATERSON A. H., ZHENG C., SANKOFF D., DEPAMPHILIS C. W., KERR WALL P., and SOLTIS P. S., 2009: Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany* 96:336-348

SOO-KIM N.; KUSPIRA J., 1993: Genetic and cytogenetic analysis of A genome of *Triticum monococcum* L. IX. Cytological behavior. Phenotypic characteristics. *Genome*. 36: 565-579.

VOSA C.G. et DOVER G. A., 1972: The effect of B chromosomes on meiotic and pre-meiotic spindles and chromosome pairing in *Triticum/Aegilops*. *Hybrids: chromosoma (Berl)* 38:367-385.

VOSA C.G., and MARCHI P. 1972. quinacrine fluorescence and Giemsa staining in plants. *Nature New Biol.*, 237:191-192

WOLFE, K.H. 2001. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Nat. Rev. Genet.* 2(5): 333-341

ZURABISHVILI T.G., ZZURABISHVILI A.B. and BADAIEV N.S. 1978. linear differentiation of cereal chromosomes. II. Polyploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 51:201-210.

Nom et prénom : ATROUS Romayssa

Nom et prénom : SMARI Dalel

Mémoire pour l'obtention du diplôme : master 2

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Base biologiques de la production végétale

Titre :

ANALYSE COMPARATIVE DES CHROMOSOMES DES GENOMES CHEZ *Triticum Turgidum* L. (A et B) ET *Triticum Monococcum* L. (A)

Résumé :

Le travail que nous avons entrepris, nous a permis identifier les génomes A et B de l'espèce *Triticum turgidum* ($2n=4x=28$, formule génomique, AABB)..

Les résultats obtenus montrent un surcharge en hétérochromatine (séquences d'ADN non codantes riches en bases CG) chez les génomes de *T turgidum*(sélectionnée de référence par rapport à leurs homologues de l'espèce *T turgidum* (sauvage)

L'analyse génomique révèle d'importantes variations :

La présence des constructions secondaires marquées sur les chromosomes 1B et 6B. Ces constructions secondaires sont associées aux organisateurs nucléolaires (N.O.R) qui codent pour les gènes ribosomiaux.

La comparaison de tous les génomes A de l'hybride (*T.turgidum*, $2n=4x=28$, (AABB) et de son parent femelle (*T.monococcum*, $2n=2x=14$, $A^{m}A^{m}$) révèle de nombreuses variations dans le zonage des chromosomes (nombre, intensité et emplacement des bandes C). Toutes ces variations indiquent l'existence d'un polymorphisme hétérochromatique interspécifique.

Mots clés : C-banding , génome, hétérochromatine , polymorphisme ,satellites , *Triticum monococcum* L. *Triticum turgidum* L.

Président du jury : Mme CHOUGUI Saida(Pr-UFM Constantine)

Rapporteur : Mme Hammouda- Bousbia Dounia (MCA-UFM Constantine)

Examinatrice : Mme BOUCHARB Radia (MCB-UFM Constantine)

Année universitaire 2016/2017