

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et écologie végétal

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا و علم البيئة

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité Biodiversité et physiologie végétale

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Caractérisation cytogénétique d'une variété de petits pois cultivés en Algérie

"_

Présenté par : HAMDOUCHE FATMA YASMINE
KOUIDER AMANI

Jury d'évaluation :

Encadreur: Mm HAMMOUDA Dounia (Prof. Université Frères Mentouri Constantine).

Examineur 1 : Mm CHAIB Ghania (Pro. Université Frères Mentouri, Constantine).

Examineur 2 : Mme ZOGHMAR Meriem (MCB Université Frères Mentouri, Constantine).

Année universitaire

2021-2022

Remerciement



Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Tout d'abord ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de docteur **HAMMOUDA.BOUSBIA DOUNIA** ; on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel pour sa patience ainsi que pour leur gentillesse ; sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent à : Mr **OUSSAMA BENMHIDI** doctorant à l'UFM ; Mlle **DJEGHAR RADIA** ingénieur de laboratoire Pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements .*

Nos remerciements s'adressent également à tout nos professeurs pour leur générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.



Dédicace



Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

*A mon regretté grand-père **el hadj Omar Brimesse** ; ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour et tout ce que tu nous a inculqué de savoir à travers ta grande sagesse, Ce travail est le meilleur cadeau que je puisse t'offrir,*

A ma très chère mère ; qui me donne toujours l'espoir d'aller au devant et de perseverer ,à ma chère maman qui n'a jamais cessé de prier pour moi

A mon très cher père ; pour ses encouragements, son soutien ; surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études

*A mon adorable et ma deuxième mère ma tante **ZAHIA** ma source de joie ; de bonheur et d'encouragements ,Yaya la tante formidable qui a toujours cru en moi qui a été le soutien indéfectible pour moi ,j'espère être à la hauteur de tes attentes,*

*A ma chère tante **Tata Nadja***

*A mes chers frères **mustapha et ramy,***

*A Mon ENCADREUR Mme **HAMMOUDA BOUSBIA DOUNIA** que je veux remercier*

*Enfin je remercie mon binome **KOUIDER AMANI** qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail.*

YASMINE



Dédicace

Je dédie ce memoire :

A ma chère mère fareh houria

A mon cher père kouider abdelouhab

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes frères, MOUSA et YUCEF

A ma chère sœur MERIEM et son mari, Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mon encadrant Mme HAMMOUDA.BOUSBIA DOUNIA Qui je veux remercie bien

A ma chère binôme HAMDOUCHE FATMA YASMINE Pour sa entente et sa sympathie.



AMANI

Résumé

Notre étude porte sur le marquage de l'hétérochromatine correspondant à des séquences d'ADN hautement répétées riches en bases CG (séquences non codantes) dans les chromosomes de l'espèce *Pisum sativum* L. Grâce à la technique de coloration différentielle C-banding.

Nous avons pu identifier et caractériser le caryotype de la variété, l'analyse génomique du *Pisum sativum* L. a montré un taux élevé d'hétérochromatine chez le génotype Onwerd. Également, notons l'absence des chromosomes B et la présence des satellites qui confirment que la variété étudiée sera adaptée à des conditions environnementales défavorables.

Mot clés :

banding- C , chromosomes B, hétérochromatine , *Pisum sativum* L., satellites

Abstract :

Our study concerns the labeling of heterochromatin corresponding to highly repeat DNA sequences rich in CG bases (non coding sequences) in the chromosomes of the species *Pisum sativum L.* thanks to the C-banding differential staining technique.

We were able to identify and characterize the karyotype of the variety, Genomic analysis of *Pisum sativum L.* showed a high level of heterochromatin in the Onwerd génotype Also note the absence of B chromosomes and presence of satellites wich confirm that the variety studied will be adapted to unfavourable conditions.

Keywords:

banding- C , chromosome B, hétérochromatine, *Pisum sativum L.*, satellite.

المخلص

اعتمدت دراستنا على تمييز ال *hètèrochromatine* على مستوى كروموسومات فصيلة البزلاء

(*pisum sativum L*) وذلك اعتمادا على تقنية التلوين الحديثة C-banding تمكنا من النتائج المتحصل عليها من اثبات و تحديد الاختلاف الموجود في شدة و تركيز *hètèrochromatine* على مستوى النوعية المدروسة (Onwerd) اضافة الى غياب chromosome B و وجود الاقمار الصناعية satellites و التي تقوم بتأكيد ان النوعية التي تمت دراستها (Onwerd) ستكون متكيفة مع الظروف البيئية الغير ملائمة.

الكلمات المفتاحية

Hètèrochromatine ,C-banding ChromosomeB,Stellites

Liste des figures

	<u>Page</u>
Figure 1 : Morphologie de la plante de pois.....	4
Figure 2 : Représentation les types de feuille de pois.....	5
Figure 3 : Représentation de fleur de pois.....	6
Figure 4 : Représentation de la déhiscence de pois.....	7
Figure 5 : Représentation d'une graine de pois.....	7
Figure06 : Parties d'usine Morphologie d'usine de pois avec des fruits, des fleurs, des feuilles de vert et le système de racine d'isolement sur le fond blanc.....	8
Figure 7 : Représentation des types morphologiques des chromosomes.....	14
Figure 8 : Représentation des différents types de chromatine.....	15
Figure 9 : Les graines de <i>Pisum sativum</i> (variété ONWERD).....	2
Figure 10 : Le décollement des lames.....	4
Figure 11 : Photo montrant le rinçage à l'eau distillée.....	5
Figure12 : Photo montrant la coloration.....	6
Figure13 : Photo montrant le séchage.....	6
Figure14 : Caryotype en (c-banding) de l'espèce <i>Pisum sativum L</i> (variété Onwerd)...	4

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

B : Chromosome B.

BC: Bande centromérique.

BI: Bande intercalaire.

BT: Bande télomérique.

NOR : Région organisatrice nucléolaire

S : Satellite.

Sommaires

Introduction

Chapitre I : Revue bibliographique	PAGE
1-Origine et historique	2
2-Position systématique	2
3- Description générale sur la plante	3
4- Exigences agro-écologiques	9
5-Production et consommation	9
5-1 Dans le monde :.....	9
5-2 Situation du Pois en Algérie	10
6-Intérêt du Pois :.....	11
7-Principales maladies et ravageurs du pois	12
7-1-1 Principales maladies virales	12
7-1-2 Principaux ravageurs du Pois	12
8- Notions de Cytogénétiques	13
8-1 Définitions	13
-Génome.....	13
- Caryotype.....	13
8-2Critères d'identification des chromosomes	13
8-2-1 Critères de la forme	13
8-2-2 Critères de la structure chromatine	14
8-2-2-1 L'hétérochromatine	15
8-2-2-1-1 L'hétérochromatine facultative	16

8-2-2-1-2 L'hétérochromatine constitutive	16
8-2-3 Les nucléoles.....	16
9- Les NORs et les gènes ribosomiaux	17
10- Chromosome B.....	17
11- Technique du C-banding.....	18
12- Domaines d applications.....	18

Chapitre II : Matériel et Méthode

1-Matériel végétal.....	2
2-Methode utilisée	2
2-1-Etapes préliminaires.....	2
2-2- Technique de marquage « C-banding ».....	3

Chapitre III Résultats et discussion

1- Résultats.....	2
2- Discussion.....	5
-Conclusion.....	7

-Références bibliographies

Introduction

Introduction

Les légumineuses sont les premières plantes à avoir été cultivées dans l'histoire de la civilisation. Le plus vieil ouvrage connu traitant de Botanique est chinois et dans Les légumineuses appartiennent à la classe des dicotylédones : famille des Fabacées .

Le terme vient du mot « légume », du latin le gumen, à l'origine « fruit sec, déhiscent (qui s'ouvre spontanément à maturité en deux valves).

Cette famille occupe une place très importante dans la flore algérienne est les légumineuses. Qu'elles soient cultivées ou spontanées, elles sont très estimées comme ressources fourragères et pastorales (**Baranger A et al (2004)**), comme ressources alimentaires (Boudjenouia *et al.*, 2003) ou bien comme ressources médicinales (Zeguerrou, Guesmia et Lahmadi, 2013, **FAOSTAT. 2019**). Les légumineuses alimentaires jouent, également, un rôle crucial dans une alimentation saine et équilibrée, dans la production alimentaire durable et avant tout dans la sécurité alimentaire (FAO, 2016a ; FAO, 2016b).

Le pois du jardin (*Pisum sativum L.*) est l'une des légumineuses importantes. Taxonomiquement, le pois fait partie de la famille des légumineuses Vicia, et est donc étroitement lié à Vicia (**Ellis and Poyser, 2002**). Le pois est l'un des sujets les plus anciens de la génétique scientifique (**Knight, 1799 ; Mendel, 1866**).

Dans le cadre d'un projet de recherche portant sur les ressources phylogénétiques de petit pois (*Pisum sativum L.*) mené au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales, nous sommes intéressés à l'étude de la caractérisation cytogénétique de variété (Onwerd) de petit pois cultivées en Algérie dévoilée par la technique de coloration différentielle (C-banding) ,afin de mettre en évidence :

- Le taux de l'hétérochromatine (séquence ADN non codante riches en bases CG)

-Identification et caractérisation du génome de *Pisum sativum L*

-Etablissement du caryotype

.Le mémoire est structuré en trois chapitres:

-Premier chapitre concerne une synthèse bibliographique des connaissances actuelles.

-Le second chapitre portera sur le matériel d'études et les méthodes appliquées.

-Les résultats seront présentés dans le troisième chapitre, enfin, on termine avec une conclusion et les perspectives dégagées de cette étude.

*CHAPITRE 1 : Revue
Bibliographique*

Chapitre I: Recherche bibliographique

-1 Origine et historique :

Théophraste, trois siècles avant notre ère, dans son livre intitulé "recherches sur les plantes" a décrit plusieurs espèces de la famille actuelle des légumineuses et notamment" le Pois (**Davies et al., 1985**). Il est consommé depuis environs 5000 ans avant JC, et était déjà très apprécié dans les civilisations anciennes (**Smart, 1990**). Les origines primaires du Pois se situent vraisemblablement dans le sud-ouest d'Asie (**Zohary et Hopf, 2002**) ; Abyssinie en Afghanistan et les régions avoisinantes, la région méditerranéenne constitue un centre secondaire. A partir de ces centres, le Pois se serait dispersé dans le reste de l'Europe et de l'Asie (**Kay, 1979 ; Makasheva, 1985 ; Cousin, 1997**), basé sur la diversité génétique, quatre centres d'origines ; l'Asie centrale, le Proche orient, l'Abyssinie et la Méditerranée ont été identifiés (**Gritton, 1980**).

De nombreux botanistes ont décrit différentes formes sauvages qui ne diffèrent que par quelques caractères morphologiques. Parfois, ces types ont constitué des espèces différentes, dont la dénomination rappelle fréquemment le lieu d'origine. Mais le plus souvent, ils sont considérés comme appartenant à des sous espèces de *Pisum sativum* : *Pisum sativum arvense* (Linné), *elatius* (Bieb Stev), *abyssinium* (Braun), *jomaradi* (Schrank), *aethiopium*, *asiatium*, *humile transcaucasicum* et *unbellatum*. Ces groupes peuvent être croisés entre eux, en conséquence ils représentent la même espèce. Par contre, les croisements avec les genres voisins : *Lathyrus*, *Vicia* et *Lentis* n'ont jamais pu être obtenus (**Coussin, 1997**).

-2 Position systématique :

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

Règne : Végétal,

Embranchement des **Spermaphytes**

Sous embranchement des **Angiospermes**,

Classe des **Dicotylédones**,

Ordre des **Fabales**,

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Famille des **Fabacées**,

Sous famille des **Faboïdeae**,

Genre : **Pisum**

L'Espèce : *Pisum sativum* L.

L'espèce *Pisum sativum* L. regroupe plusieurs sous-espèces, classées comme suit :

- *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* Var. *sativum* : petit Pois, Pois potager ou Pois des jardins.

-*Pisum sativum* L. subsp. *elatius* (Steven ex M. Bieb.) Asch. & Graebn. : Pois sauvage.

-*Pisum sativum* L, subsp. *Sativum* Var, *arvense* L, Poir. ; Pois fourrager, Pois protéagineux ou Pois des champs.

Il existe chez le pois des variétés à rames, d'autres naines, dans ces deux catégories se trouvent des variétés à grains ronds et d'autres à grains ridés (**Meudec, 1998**).

-3 Description générale de la plante :

Le Pois est une espèce annuelle dans la mesure où son cycle ne nécessite aucune rupture hivernale pour s'accomplir. Mais, en fonction du climat et/ou de la résistance au froid de certaines variétés, son cycle cultural peut être engagé dès l'automne. Il semble bien qu'il s'agisse d'ailleurs d'un comportement naturel dans le biotope d'origine. En effet, la graine de Pois ne présente pas de dormance et peut germer dans d'excellentes proportions dès qu'elle a atteint sa maturité physiologique (teneur en eau =45%), c'est à-dire lorsque la gousse vire au brun. La germination peut donc avoir lieu dès l'arrivée des pluies d'automne (**Chaux et Foury, 1994**).

On distingue deux groupes de Pois à l'égard de leur cycle : les Pois d'hiver semés en novembre et les Pois de printemps semés entre février et avril. En réalité ces deux groupes diffèrent surtout par leurs aptitudes à résister au froid hivernal.



Figure 1: Morphologie de la plante de pois.

Le Pois est une plante grimpante herbacée annuelle, autogame, de hauteur variable allant de 0.5 à 2 mètres (Fig.1). Son génome comprend sept paires de chromosomes ($2n=14$).

La morphologie générale du Pois est décrite dans la figure 1. La croissance de la tige est plus ou moins indéterminée (Coussin, 1997).

Le système racinaire est de type pivotant, pouvant atteindre une profondeur d'un mètre dans des conditions de sol favorables, mais cependant très ramifié, surtout dans la couche superficielle du sol. Les racelles de 2e ou 3e ordre portent des nodosités (Carrouee et Girad, 1994).

La tige, peu ramifiée, de longueur variant de 50 cm à 1,5 m, voire jusqu'à deux mètres, est à croissance indéterminée(figure1). Elle est creuse, de section cylindrique, et grimpe en s'accrochant

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

aux supports par les vrilles des feuilles. Elle se caractérise par un certain nombre de noeuds, ou mailles, dont les premiers sont purement végétatifs (émettant des feuilles ou des ramifications) et les suivants reproducteurs (portant des fleurs). (**Carrouee et Girad, 1994**).

Les feuilles, alternes, sont composées d'une à quatre paires de folioles sessiles, opposées et terminées par une vrille simple ou ramifiée (figure 2). Celles-ci sont entières, obovales, et ont de 1,5 à 6 cm de longueur. Les feuilles possèdent à leur base deux grandes stipules embarrassantes, arrondies et crénelées à la base (**Coussin, 1997**).

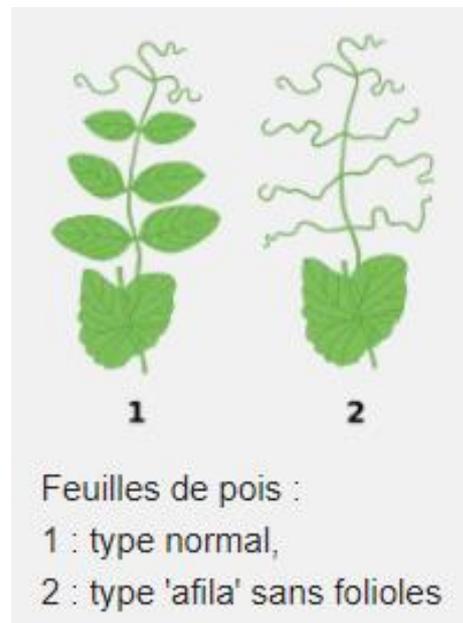


Figure 2 : Représentation des types de feuille de pois.

Les fleurs, de type « papilionacé », sont zygomorphes, à ovaire supère et cléistogames. Elles apparaissent à l'aisselle des feuilles, solitaires ou groupées en racème par deux ou trois. Le calice, de couleur verte, est formé de cinq sépales soudés et présente cinq dents inégales. La corolle compte cinq pétales très différenciés, l'étendard redressé en position postérieure, les deux ailes en position latérale, enveloppant la carène, elle-même formée de deux pétales inférieurs, partiellement soudés. La corolle est généralement entièrement blanche (figures 3), parfois rose, pourpre ou violette. L'androcée qui comprend dix étamines (**Muahlbaur et Tubba, 1997**).



Figure 3 :Représentation de fleur de pois.

Le fruit est une gousse déhiscente bivalve, appelée aussi cosse, de 4 à 15 cm de long, contenant de 2 à 10 graines rondes lisses ou anguleuses, de 5 à 8 mm de diamètre. Ces gousses présentent des variations morphologiques selon les variétés, leur forme générale est droite ou plus ou moins arquée, leur extrémité plus ou moins effilée ou tronquée. Elles comportent généralement une membrane sclérifiée, le parchemin, qui est absente chez les variétés de type « mangetout ». Leur couleur est généralement verte, parfois violette (**Prat *et al.*, 2005**).

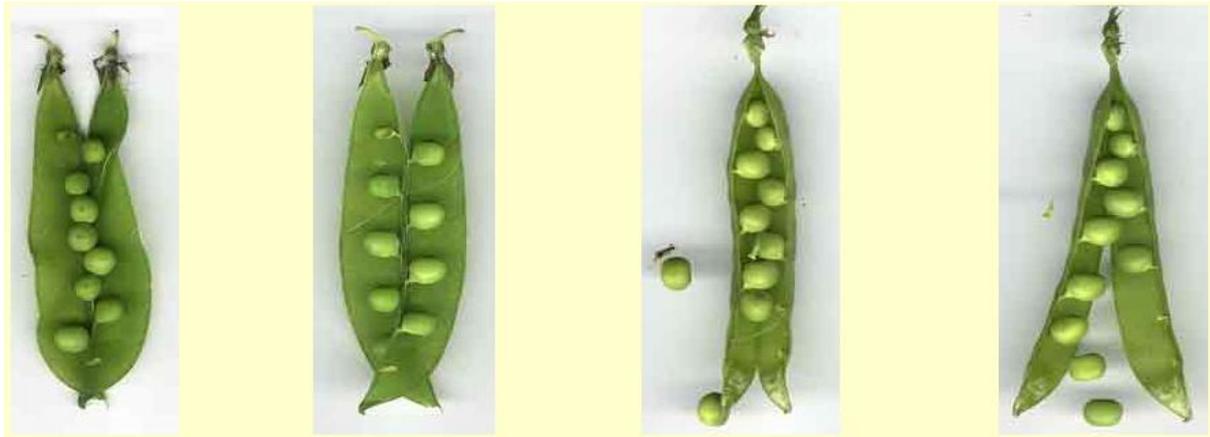


Figure 4 : Représentation de la déhiscence de pois

La graine est exalbuminée, riche en amidon (figure 5), peuvent être de trois couleurs différentes : les variétés à fleurs blanches produisent des graines vertes ou jaunes crème, alors que les variétés à fleurs roses ou rouges produisent des graines tachetées de brun. Dans le premier cas, le tégument de la graine est translucide, tandis que dans le second cas, le tégument coloré masque la couleur des cotylédons et contient toujours des tanins (**Hopquin, 1994**).



Figure 5 : Représentation d'une graine de pois.

Morphologie du système racinaire

L'appareil souterrain du petit pois est formé d'un système racinaire à pivot relativement peu développé avec des racines secondaires voir tertiaires (figure 6). L'enracinement du pois est assez développé puisque les racines peuvent atteindre 60 cm de profondeur jusqu'à 80 cm en fin floraison (figure 6). On peut noter la présence de nodosités qui vont permettre à la plante de fixer l'azote atmosphérique.

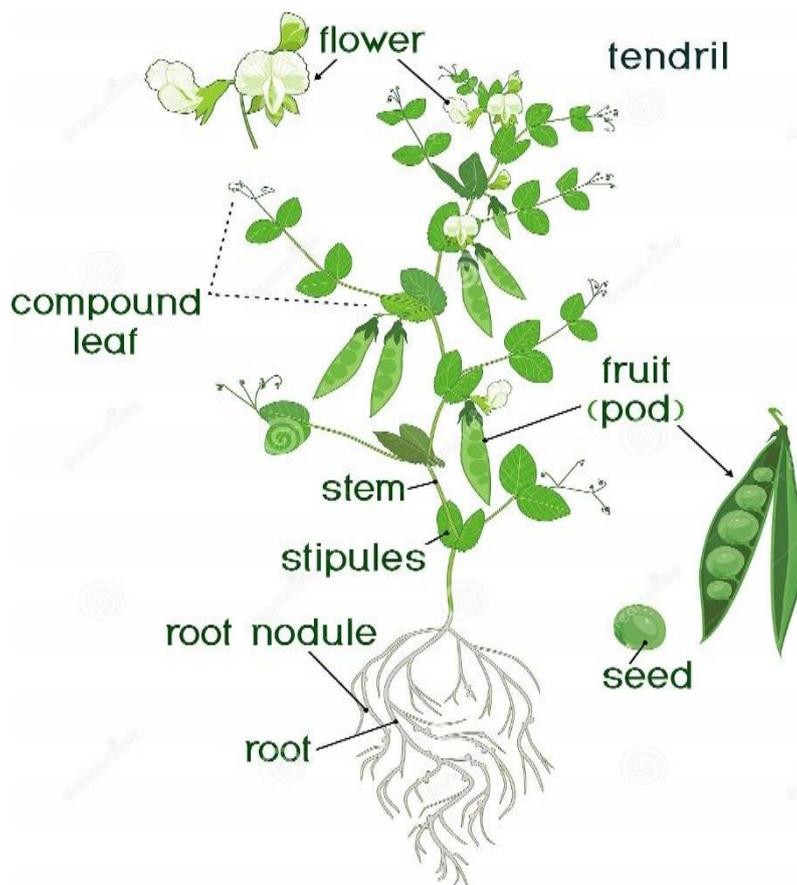


Figure06 :Parties d'usine Morphologie d'usine de pois avec des fruits, des fleurs, des feuilles de vert et le système de racine d'isolement sur le fond blanc

-4 Exigences agro-écologiques :

La production est concentrée entre les tropiques du cancer (**Davies *et al.*, 1985**). Les niveaux de températures optimale pour les périodes végétatives et reproductrices des Pois sont réciproquement de 21 et 16°C et 16 à 10°C jours et nuit (**Slinkard *et al.*, 1994**). Le Pois est une plante qui a besoin de la pleine lumière pour accomplir son cycle végétatif.

Il faut irriguer ou faire la culture sur des terrains où la nappe phréatique est proche. Néanmoins, il ne faut pas trop irriguer durant la phase de floraison, car cela provoquerait la chute des fleurs. Il apprécie une terre fraîche à bonne exposition mais craint le calcaire, l'excès d'humidité et la sécheresse (**Sikerdji, 2002**).

Le Pois, comme toutes les légumineuses, peut réaliser une fixation symbiotique de l'azote qui commence 30 jours après le semis et se poursuit pendant environ 60 jours. Visuellement, en coupant une nodosité, plus la section apparaît rougeâtre, plus elle est chargée en pigment actif de couleur rouge (leg-hémoglobine), indicateur de la fixation symbiotique de l'azote. La quantité d'azote fixée varie largement avec les cultivars, et les conditions de croissance de la culture (**larue et Patterson, 1981**).

-5 Production et consommation :

-5.1 Dans le monde

Avec plus de 26 millions de tonnes récoltées en 2011, le Pois (Pois sec + Pois frais) est la quatrième légumineuse au plan mondial, loin toutefois après le soja (216 Mt), l'arachide (35 Mt) et le haricot (28 Mt), produites dans la plus grande part dans les zones tempérées.

Selon les statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), La production totale de Pois frais en 2011 est de 17 millions tonnes, sur une surface de 2.24 millions hectares, avec un supplément 9.72 millions tonnes de pois sec, sur une surface de 6.14 millions hectares. Les deux principaux producteurs de Pois frais, la Chine et l'Inde, représentent près de 70% de la production mondiale

Pour les Pois secs, plus de 94 pays producteurs sont recensés dans le monde, cependant les cinq premiers, représentent plus de deux tiers de la production totale et les quinze premiers plus de 90%. La production de Pois secs en Europe a diminué alors que la production a augmenté au Canada, les Etats-Unis et la Fédération de Russie. Les raisons de ces changements sont, notamment des facteurs économiques, biologiques, physiques, sociologiques et techniques. Le Canada demeure le principal pays producteur dans le monde au cours de la dernière décennie.

Les rendements les plus élevés de 4000-5000 kg/ha sont traditionnellement produite en Europe (Pays-Bas, France et Belgique). Le rendement moyen mondial est d'environ 1700 kg/ha et des rendements moins de 500 kg/ha sont enregistrées dans certaines régions d'Afrique. Les pays européens ont montré une diminution progressive de la production de 2007 à 2012, alors que la tendance inverse a été enregistrée pour la Fédération de Russie, L'Inde et les Etats-Unis où la production a connu une augmentation lente.

-5.2 Situation du Pois en Algérie :

En Algérie, le Pois a été cultivé avant 1830 dans les jardins et les champs en Kabylie (**Laumont et chevassus, 1960**). Le Pois est répandu sur tout le territoire national. Il est surtout cultivé sur les plaines côtières et les zones sublittoral. Il occupe la 3ème place parmi les légumes secs (**Maatougui, 1996**).

La culture a pris un développement important en 1945, elle a connu par la suit un essor remarquable de 1947 à 1952. En 1980, 10800 ha ont été consacrés à cette culture.

En 2012, le Pois sec a enregistré la superficie la plus importante avec 9279.14 ha avec un rendement 743.5 kg/ha qui demeurent très faible par rapport au rendement moyen dans le monde.

En ce qui concerne le Pois frais, l'Algérie se classe parmi les 10 premiers pays producteurs du monde avec une production de 127680 tonnes et un rendement de 3911.64kg/ha pour l'année 2011(Fig.1-4 et 1-5) (**FAO, 2013**).

Parmi les variétés cultivées en Algérie : Onward, Parel, Triphin, Latcha (variété locale), Merveille de Kelvedon, Douce de province et serpette (**Meklati, 1992**).

-6 Intérêt du Pois :

De part son appartenance à la famille des légumineuses, le Pois présente des avantages sur le plan agronomique, nutritionnel et écologique.

Les Pois verts ressortent comme un aliment respectueux de l'environnement. Du point de vue agronomique et écologique, le Pois est considéré comme très bonne tête de rotation, il laisse un sol enrichi en azote de 30 à 50 Kg/ha (**Boyeldiou, 1991**).

Sa capacité de fixer l'azote atmosphérique par le truchement des Azotobacters du système racinaire, permet de réduire le coût de production, et de limiter la pollution des nappes phréatiques par les engrais azotés (**Androsoff et al., 1995**). La culture de pois possède un système de racines peu profondes qui peuvent aider à prévenir l'érosion du sol, et une fois que les pois ont été cueillis, les restes de plantes ont tendance à se décomposer facilement pour la reconstitution des sols.

Enfin, la rotation de Pois avec d'autres cultures a été montrée pour réduire le risque de problèmes de maladies et ravageurs ce qui diminue d'au moins deux traitements par les pesticides et c'est moins de pollution. Ces aspects écologiques de la production de Pois s'ajoutent à son utilité en tant que partie intégrante de notre alimentation.

Du point de vue nutritionnel, dans l'alimentation humaine, le Pois peut être consommé à l'état frais ou encore sous forme de grains secs récoltés à maturité complète. La composition de la graine du Pois (Tab.A-1) en a fait une légumineuse très intéressante pour l'alimentation humaine et animale (**Larkom, 1991**). La richesse du Pois en protéines (20-25 p. 100) permet de remplacer certaine protéine animale dans l'alimentation, les teneurs en protéines des graines varient de 17,25 à 32,2 p. 100 selon les génotypes et les conditions de production (**Mossé et al., 1987**). Contient de l'amidon digestible (50%), des sucres solubles (5%), fibres, minéraux et vitamines. Ils contiennent également un assortiment unique de phyto-nutriments bénéfiques pour la santé, Un de ces phyto-nutriments un polyphénol appelé coumestrol est venu récemment à la pointe de la recherche en matière de protection contre le cancer de l'estomac (**Hernandez-Ramirez et al., 2009**).

Les phyto-nutriments uniques dans les Pois verts récemment découvertes et appelées saponines nous fournissent des antioxydants clé et des avantages anti- inflammatoires (**Ismail et al., 2009**) Des recherches récentes ont montré que les Pois sont une source fiable de gras oméga-3 sous forme

d'acide alpha-linolénique (ALA) et une des quantités importantes de bêta-carotène (**Murakami et al., 2001**). C'est un bon support pour le règlement de sucre dans le sang (**Trinidad et al., 2010**).

-7 Principales maladies et ravageurs du pois :

La culture de Pois est soumise à la pression constante de certains agents pathogènes d'origine fongique, bactérienne, virale et des ravageurs.

Le nombre de maladies a augmenté au fur et à mesure de l'extension des surfaces cultivées, les maladies d'importance secondaire dans certaines régions peuvent prendre ailleurs des proportions d'épiphytie, si elles sont placées dans des conditions climatiques propices.

Les répercussions économiques sont variables, suivant l'année, la région considérée, les conditions climatiques, les agents pathogènes en cause et la sensibilité des cultivars.

-7.1 Principales maladies fongiques et bactériennes du Pois :

La culture de Pois est attaquée par plusieurs maladies fongiques dans le monde (Tab.1-1).

En Algérie, les travaux de prospection réalisés ces dernières années, ont montré l'existence de plusieurs maladies fongiques : l'oïdium, l'antracnose sont les plus importantes, suivie de flétrissement vasculaire, le mildiou et la nécrose du collet due à *Rhizoctonia solani* ou *Fusarium solani*, ces maladies sont considérées comme étant les plus économiquement importantes (**Bouznad, 1987 ; Setti et al.2009, Merzoug et al., 2009**).

-7.1.1 Principales maladies virales :

Le Pois est attaqué par un certain nombre de virus. Les maladies virales du Pois sont souvent transmises par l'intermédiaire du puceron vert du Pois (*Acyrtosiphon pisum*) ou par des nématodes libres dans le sol.

-7.1.2 Principaux ravageurs du Pois :

De nombreux insectes ravageurs attaquent les cultures de pois à leurs différents stades. Le petit pois, comme d'autre culture, est susceptible d'être attaqué par plusieurs ravageurs, comme les insectes et les nématodes.

Parmi les ravageurs nous citons : *Tipula* spp. (Tipules) ; taupins ; vers gris ; noctuelles foliaires ; thrips ; charançons ; *Acyrtosiphon pisum* (puceron du pois) ; *Contarinia pisi* (cécidomyie du pois)

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

; *Cydia nigricana* (tordeuse du pois) ; vers blancs ; *Bruchus pisorum* (bruche du pois) : *Heterodera goettingiana* (nématode à kystes du pois) et mille-pattes ; les limaces et escargots (Hagedorn, 1991 ; Messiaen et al., 1991 ; OEPP/EPPO, 1994).

-8 Notions de Cytogénétique :

-8.1 Définitions :

□ Génome

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

- Il existe deux types de caryotype : symétrique et asymétrique.

8-2 Critères d'identification des chromosomes :

8-2-1 Critères de la forme :

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 dicentrique, 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 (Harl et al., 1995).

La morphologie des chromosomes est marquée par la position de la constriction primaire ou centromère, on peut distinguer six types morphologiques de chromosomes (figure 7) :

-Chromosome métacentrique (m) : le centromère est position médiane, et la valeur du rapport BL/BC est comprise entre 1 et 1.7. On parle de métacentriques sensu stricto (M) lorsque le rapport est exactement égal à 1 et dont le centromère se trouve alors au

Point médiane (figure 7).

-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 (figure 7).

-Chromosome acrocentrique (t) : le centromère est dans la région terminale 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, 1990) (figure 7).

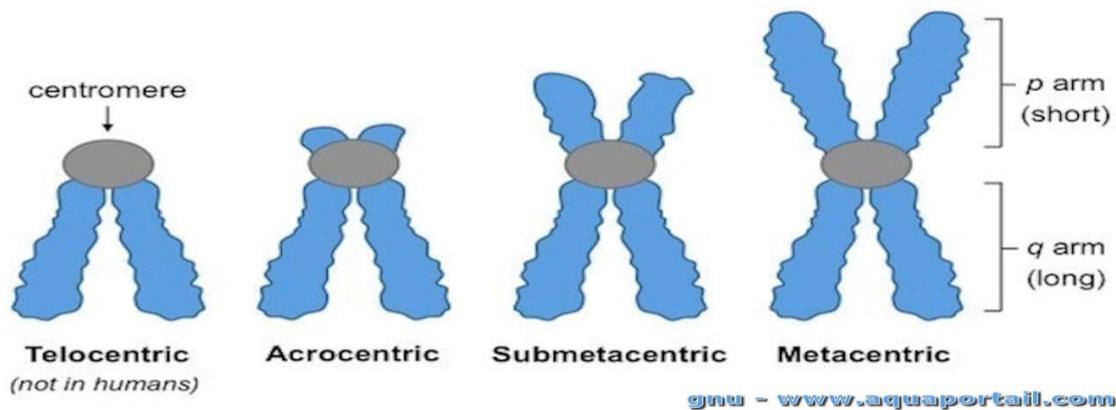


Figure 7 : Représentation des types morphologiques des chromosomes

-8.2.2 Critères de la structure :

Chromatine :

L'ADN de tous chromosomes eucaryotes est associé aux molécules protéiques (les histones et les non histones) dans un agrégat stable ordonnée appelée chromatine (Harti, 1994). Il existe deux grands types de chromatines :

L'euchromatine et l'hétérochromatine (figure8), l'une différant de l'autre par son rythme répliation et son degré de condensation

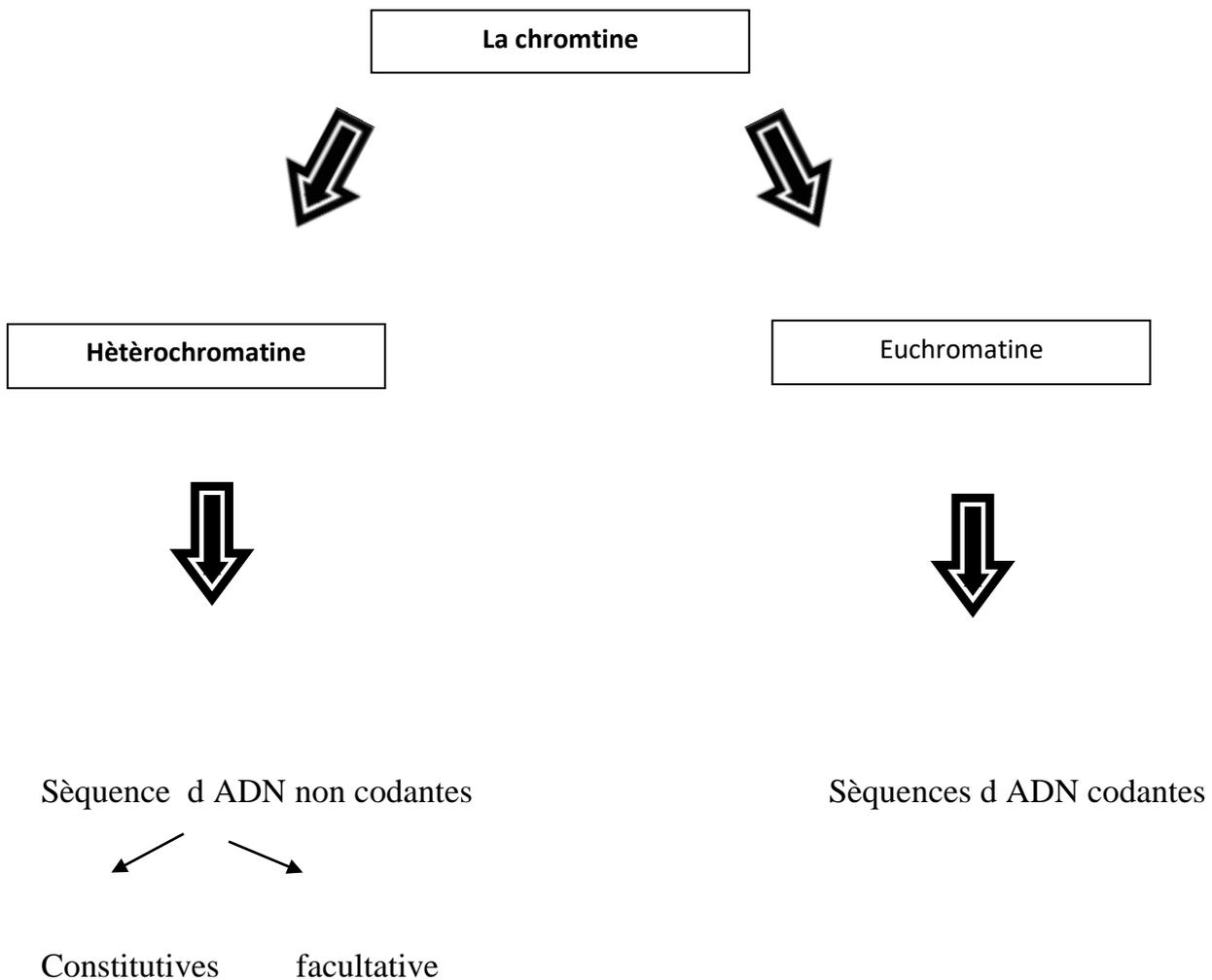


Figure 8 : Représentation des différents types de chromatine

-8.2.2.1 L'hétérochromatine :

Sur la base d'observations cytologiques faites en utilisant des colorants spécifiques, Heitz (1928) distingua deux types de chromatine : l'euchromatine, modérément colorée, représente la portion du génome génétiquement active et correspond à la phase décondensée durant l'interphase. L'hétérochromatine, plus colorée, pauvre en gènes, correspond, quant à elle, à la portion du génome qui ne se décondense pas au cours du cycle cellulaire. Cette portion est majoritairement composée de séquences répétées de nature et de complexité variables. Le compartiment hétérochromatinien

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

est divisé en deux sous-types : l'hétérochromatine facultative et l'hétérochromatine constitutive (Dorkeld, 1994 ; Harry, 2001; Anthony *et al.*, 2002).

-8.2.2.1.1- L'hétérochromatine facultative :

L'hétérochromatine facultative est définie comme étant des régions géniques silencieuses du point de vue transcriptionnelle qui présente une structure chromatinienne compactée (Trojer et Reinberg, 2007). Son « état hétérochromatinien » est réversible, et elle garde la faculté de s'inter convertir en euchromatine (Zhimulev et Belyaeva, 2003). Cette réversibilité dépend de la position de l'hétérochromatine vis-à-vis de la périphérie nucléaire, du stade de développement cellulaire et de l'expression génique mono-allélique (Trojer et Reinberg, 2007).

-8.2.2.1.1- L'hétérochromatine constitutive :

C'est une région qui reste compactée tout au long du cycle cellulaire, quelque soit le stade du développement cellulaire et est donc très peu accessible aux facteurs de transcription. L'hétérochromatine constitutive est formée principalement de séquences d'ADN courtes et répétées en tandem (Sat), d'éléments géniques mobiles (Transposons), et est pauvre en gènes.

Ces séquences sont retrouvées principalement autour des régions centromériques, paracentromériques et télomériques (Grewal et Elgin, 2002; Grewal et Moazed, 2003) ou intercalaires Siljak-Yakovlev et Cartier, 1986). Selon Wallrath (1998), elles assurent la stabilité du génome et sont essentielles pour la ségrégation des chromosomes. Elles semblent également jouer un rôle dans la sénescence cellulaire (Gaubatz et Cutler, 1990; Rudert, *et al.*, 1995). Lors d'un examen microscopique, la détection des régions hétérochromatiques est facile. Le C-banding révèle la présence d'hétérochromatine constitutive (Coming, 1978), le DAPI celle de l'hétérochromatine riche en AT (Williamson et Fennel, 1975) et la Chromomycine celle de l'hétérochromatine riche en GC (Schweizer, 1976). La comparaison entre espèces sur la base des différents types de bandes permet la détection des remaniements chromosomiques au cours du processus de spéciation au sein d'un complexe d'espèces (Godelle *et al.*, 1993).

-8.2.3 Les nucléoles :

Les nucléoles sont des structures fibrillaires sphériques et denses du noyau interphasique et prophasique, associées aux chromosomes (Kiss et Darzacq, 2001). Le nucléole contient les gènes codant l'ARN ribosomique (ARNr) ainsi que des particules contenant les ARNr 18S et 28S à

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

différents stades de maturation et d'assemblage avec les protéines ribosomiques, ce qui en fait le centre de synthèse des ARNr et d'assemblage des sous-unités ribosomiques (Hadjiolov, 1985; Hernandez et al., 2004 ; Raska et al., 2004).

La fonction principale de la région nucléolaire est la synthèse de différents types d'ARNr et le traitement des pré-ribosomes. Cependant, d'autres fonctions peuvent être attribuées au nucléole, comme l'inhibition de l'appariement des chromosomes homologues et la formation du complexe synaptonémal (John, 1990).

-9 Les NORs et les gènes ribosomiaux :

Ce sont des segments spécifiques chromosomiques associés au nucléole qui correspondent à un groupe de gènes ADN ribosomiques 35S codant l'ARN ribosomique (Schwarzacher et Wachtler, 1983 ; Heslop-Harrison, 1991 ; Hernandez- Verdun, 2004) et à des protéines ribosomiques (Sirri et al., 2000 ; Hernandez- Verdun, 2004). Ces gènes sont séparés par des espaceurs transcrits interne et externe. Les premiers sont des unités riches en séquences répétées en tandem GC,

-10 Les chromosomes B:

Les chromosomes B sont des chromosomes surnuméraires décrits pour la première fois par (Pantulu, 1960) in R. Lespinasse et al .(1993), ils peuvent se trouver chez certaines espèces végétales et animales, mais pas chez tous les individus d'une espèce (Jones et Rees,1982). Ils sont souvent maintenus grâce à un biais favorable à leur transmission.

Les auteurs cités ont montré que la présence de chromosomes B covarie fortement et positivement avec la taille totale du génome. Ils sont pratiquement absents chez les espèces à petit génome ainsi que avec le degré d'allo-fécondation (un paramètre qui est également associé positivement à la présence de chromosomes B) (R. Trivers et al., 2003). B sont:

Selon Lespinasse et al. (1993) Les chromosomes -De nature heterochromatique.

- Non indispensable a l'espèce qui les possède.
- Ne présentent pas d'homologie avec les chromosomes A. - Montrent une variabilité intra et interindividuelle. - Se transmettent avec des mécanismes d'accumulation et d'élimination modifiant la distribution mendélienne.

Lorsque le nombre des chromosomes B atteint un seuil critique les chromosomes B forment un multivalent en étoile et sont éliminés de la cellule a la télophase I de la méiose ce mécanisme de

régulation est très utile pour la plante car il permet le déroulement régulier de la télophase II (Yakovlev, 1992).

11- Technique du C-banding :

La mise au point de la technique du "Giemsa banding", ou C-banding, remonte au 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 protéines. Quand elle est très condensée, elle porte c'est-à-dire non transcrite. Elle comporte de plus d'ADN répété. Les zones de la nom d'hétérochromatine et est inactive, chromatine non condensée forment l'euchromatine. Dans un chromosome il y a alternance entre hétéro et euchromatine. Le Giesma 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, c'est-à-dire une carte de tous les chromosomes identifiés par les bandes caractéristiques. La première du Giesma est l'identification des chromosomes présents. Chez les hybrides aspécifiques 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 des échanges entre chromosomes homéologues et donc connaître les possibilités d'introgression d'un génome dans un autre ou les affinités génétiques entre deux génomes (BERNARD M. et BERNARD S., 1992). Les protocoles les plus répandus sont ceux de LUKASZEWSKI A.J. et GUSTAFSON J.P. (1987), GILL B.S. et AL (1991).

-12 Domaines d applications :

Cette coloration de Giesma permet donc de faire apparaître des bandes caractéristiques pour un chromosome donné. Plusieurs applications sont possibles (BERNARD M. et BERNARD S., 1992):

1 - La première application est l'identification des chromosomes présents. Chez les hybrides interspécifiques, elle permet d'identifier les lignées d'addition, de substitution, de translocation, délétion, ou aneuploïdes;

2- Elle rend possible l'analyse du polymorphisme chromosomique. des variations de position et d'intensité des bandes d'un génotype à l'autre dans une espèce donnée, pour un chromosome donné. Chaque bande peut être considérée I existe en effet comme un locus présentant un certain nombre d'allèles » On pourrait chercher à corréliser cette variabilité à l'expression de certaines performances (résistance, comportement, etc.), un exemple simple est la présence du bras court du chromosome 1R du seigle, associé au bras long 1BL, dans de nombreuses variétés de blé performantes en rendement mais aussi en régénération in vitro,

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

3- En méiose, on peut étudier l'appariement chromosomique. On peut aussi vérifier la réalité et fréquence d'échange entre chromosomes « cousins », et donc connaître les possibilités d'introgression d'un génome dans un autre ou les affinités génétiques entre deux génomes.

Beaucoup d'auteurs ont effectués des travaux cytogénétiques sur les chromosomes des plantes supérieures et notamment l'espèce *Triticosecale wittmack* (GILL B.S., 1987; HEINER, 1988; HUELGNHOT et AL, 1988; MARTIN L.M., 1988;1 HAMMOUDA D., 2008 ; 2013 ; 2017 ;2021). Ces auteurs ont montré l'existence de remaniements chromosomiques chez le triticales, ces derniers s'observent même dans les générations avancées (BOUKAABOUB A., 1989) où leur conséquences sur les potentialités agronomiques sont peu étudiées, mais semblent être dépressives (BOUACIDA, 1989).

En 1974, GILL B.S. et KIMBER G. ont pu marqués les chromosomes du seigle (*Secale cereale*) on appliquant la technique différentielle C-banding

En 1991, GILL B.S., FRIEBE B. et ENDO T.R. font des changements sur la technique du C-banding appliquée sur *Triticum aestivum* L. variété Chinese Spring ($2n-6x=42$).

En 1992, BERNARD M. et BERNARD S. ont appliqué la technique du C-banding sur les cellules en méiose, il est connu que les triticales issu du croisement entre blé et seigle ont des comportements méiotique beaucoup plus irréguliers que leurs parents, les C-banding ont permis de voir que les univalents correspondent majoritairement aux chromosomes du seigle

En même année, PILCH I. a appliqué la technique du C-banding pour déterminer la qualité de l'hétérochromatine télomérique dans les chromosomes du seigle et son influence sur l'échaudage des graines chez 20 variétés du triticales. Ils ont montré que le volume de l'hétérochromatine dans les graines échaudées et les graines non échaudées est presque ceci signifie qu'il n'existe pas une relation entre le volume de l'hétérochromatine télomérique dans les chromosomes R et l'échaudage des graines du triticales.

En 1994, FRIEBE B. et GILL. B.S. permettent l'identification de tous les 21 paires de chromosomes de blé *Triticum aestivum* (AA BB DD), un polymorphisme en bandes C est mis au point avec les aberrations structurales.

En même année, PILCH J. a appliqué la technique du C-banding sur 90 lignes de triticales pour mesurer le pourcentage de la lysine et le pourcentage de protéines dans les graines du triticales.

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

En même année, MARTINEZ L. applique le C-banding accompagné d'une analyse RFLP, pour faire l'étude du déterminisme génétique de l'aptitude à l'androgénèse in vitro chez le triticales et ses parentaux.

En 1996, PILCH J a fait une étude sur 11 lignes sélectionnées et sur 7 de leur source cultivars par la technique du C-banding. Les résultats obtenus ont montré que toutes les générations F20. F30 des lignées sélectionnées sont des homozygotes et ont les même bandes télomérique trouvées dans la source de cultivars, mais les lignées de sélections montre un nombre élevé des bandes C intercalaires par rapport aux bandes trouvées dans la source de cultivars.

CHAPITRE 02 : Matériel et méthode

Chapitre II : Matériel et méthode

Matériel végétal :

La variété Onward nous ont été fournis par le CNCC de Constantine (figure 9). La variété est destinée à l'alimentation humaine .

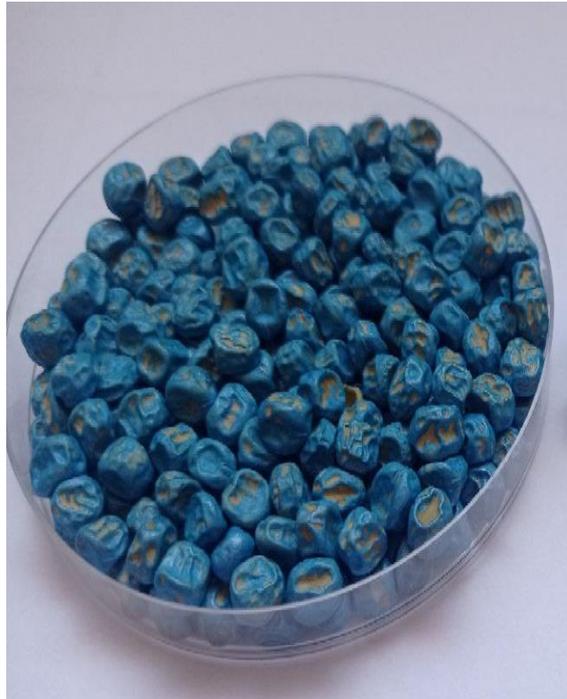


Figure 9 : Les graines de *Pisum sativum* (variété ONWERD).

-Les Etapes préliminaires :

1-Germination:

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

2-Prélèvement:

Nous avons déterminés la période durant laquelle le coefficient mitotique est le plus élevé, il est situé entre 24h et 48h pour notre matériel ou les racines atteignent une longueur de 0,5 à 1cm

CHAPITRE 2 : Matériel et méthode

3-Prétraitement:

Il se fait par trempage des tissus en division dans un agent mitoclassique, cette opération vise un triple objectif:

a- Bloquer les divisions mitotiques au stade métaphase

b- Contacter les chromosomes.

Il existe plusieurs agents mitoclassique tel que

-La colchicine.

aa-bromonaphtalène

-8-hydroxyquinoléine

Nous avons effectués un prétraitement à la 8-hydroxy quinoléine, La durée de ce prétraitement est 17h à 18h

4-Fixation:

Le fixateur détruit toute vie cellulaire, ils doivent avoir une action rapide pour bloquer toute évolution et des divisions cellulaires et permettent de conserver l'intégrité structurale des chromosomes. La fixation s'effectue dans une solution éthanol acide acétique (3v-1v) pendant 48h au réfrigérateur.

5-Stockage : les pointes racinaires sont conservées au réfrigérateur à -96-C.

- Technique de marquage de C-banding

Nous avons appliqué la méthode décrite par Gaffarzadeh-Namazi et al. (2007) avec des modifications introduites dans les étapes dénaturation et renaturation de l'ADN (Hammouda, 2013)

La technique de C-banding comporte les étapes suivantes :

Le décollement : des lamelles se fait par l'azote liquide à (-196°) (figure 10).

CHAPITRE 2 : Matériel et méthode

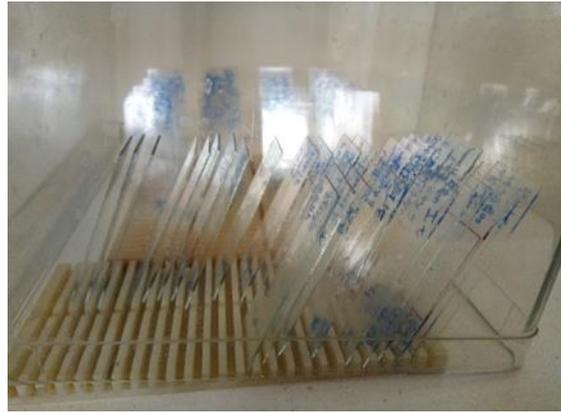


Figure 10 : Le décollage des lames

Hydrolyse : à l'acide acétique 45% pendant 20 minutes à 60°C.

Rinçage : à l'eau distillée 5+5+5 minutes.

Dénaturation : à la baryte 8 fois hydratée 5% pendant 10 minutes.

Rinçage : à l'eau de robinet pendant une heure.

Renaturation : dans 2×SSC en ajustant le PH à 7 pendant 50 minutes à 60°C.

Coloration : au giemsa, solution Sorensen tampon phosphate PH à 7.

Rinçage : à l'eau distillée pendant 15 minutes.

Séchage et montage.

Préparation des solutions utilisées :

1. **La baryte 5%**: faire dissoudre 18,04 g dans 200 ml d'eau distillée.
2. **2×SSC** : faire dissoudre 3,508 g et 1,76 g de Na Cl et de Tris respectivement dans 200 ml d'eau distillée, le PH est ajusté à 7 avec l'Hcl 0,2 m.
3. **Sorensen phosphaté** : composé de deux solutions A et B avec PH à 7 :
 - **Solution A** : dissoudre 0,63 g de KH_2PO_4 dans 30 ml d'eau distillée.
 - **Solution B** : dissoudre 1,17 g de Na_2HPO_4 dans 150 ml d'eau distillée.13 ml de la solution A sont ajoutés à 87,2 ml de solution B puis ajustés jusqu'à 200 ml avec l'eau distillée.

6-Coloration : au Giemsa, solution Sorensen tampon phosphate PH à 7.

7-Rinçage : à l'eau distillée pendant 15 minutes (figure 11).

CHAPITERE 2 : Matériel et méthode



Figure 11 : Photo montrant le rincage à l'eau distillée

6-Coloration : au giemsa, solution Sorensen tampon phosphate PH à 7 (figure 12).



Figure12 : Photo montrant la coloration.

8-Séchage et montage (figure 13).



Figure13 :Photo montrant le sèchage.

CHAPITRE 3 :
RESULTAT ET DISCUSSION

Chapitre III : Résultats et discussion

1- Résultats :

Rappelons que nous avons appliqué la méthode de **C- Banding** pour identifier le génome de l'espèce *Pisum Sativum* L., Sachant que l'identification du caryotype de chaque chromosome est basée se base sur différents paramètres :

-Le nombre et la localisation des bandes C, qui correspondent aux séquences d'ADN hautement répétées non codantes.

-La taille, la position du centromère et La présence des satellites ou des construction secondaires (régions organisatrices riches en gènes ribosomiques).

Cette étude nous a permis d'identifier et caractériser la présence de plusieurs bandes hétérochromatiques sous trois formes : télomériques ; intercalaires (péricentrique) et centromérique . Leurs intensité ; leurs nombre et leurs emplacement diffèrent d'une paire à une autre.

Les résultats montrent des variations importantes dans la taille des chromosomes, la localisation et le nombre de satellites. En effet, le caryotype est constitué de quatre paires chromosomiques submétacentriques (Sm) et trois paires métacentriques (m). La formule caryologique du *Pisum sativum* est définie comme:

$$n=x=7=4m+3Sm$$

L'analyse en C-banding revele des variations au sein du caryotype de la variété Onwerd (Figure 14).

- **Chromosome 01 :**

Ce chromosome présente de bandes intercalaires sur le bras court et télomériques sur le bras long.

- **Chromosome 02 :**

Ce chromosome est marqueur, se caractérise par la présence d'une paire de satellites marqués sur le bras courts .Absence des bandes centromeriques et présence de bandes intercalaires et télomériques sur le bras long .

- **Chromosomes 03 :**

Ce chromosome présente de très fines bandes sur le bras long .

- **Chromosome 04 :**

Ce chromosome montre un surcharge en hétérochromatine : d'épaisses et sombres bandes , intercalaires et télomériques dans le bras court et le bras long .

- **Chromosome 05 :**

Ce chromosome dépourvu de bandes hétérochromatiques.

- **Chromosome 06 :**

Ce chromosome est particulier, il est marqueur, il portent deux 2 paires de satellite sur le centromère et le bras long. Absence de bandes C sur le bras court, et présence d'épaisses et sombres bandes C (ou hétérochromatine) sur le bras long.

- **Chromosome 07 :**

Ce chromosome présente des fines bandes, intercalaires et télomériques sur les bras courts et long .

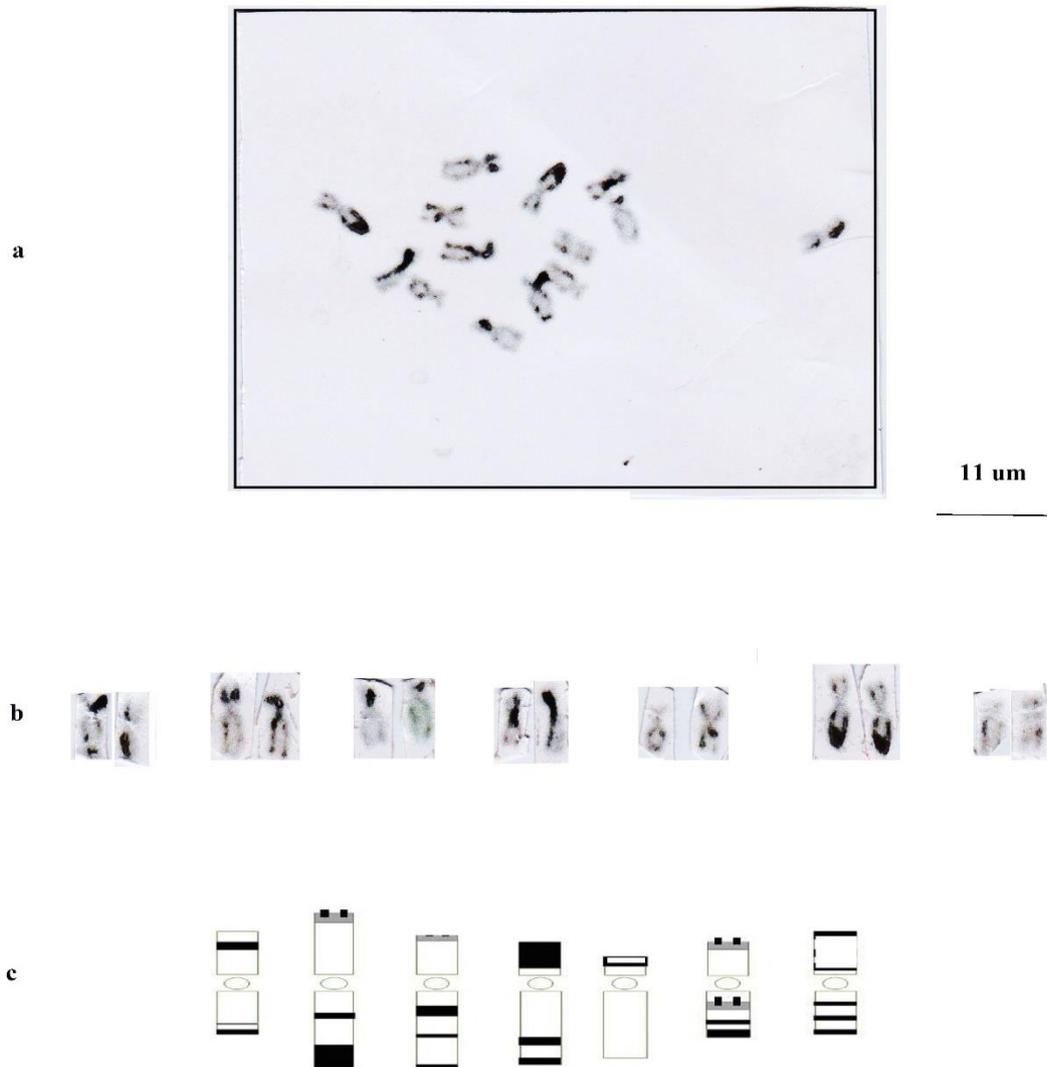


Figure 14 : Caryotype en (C-banding) de l'espèce *Pisum sativum* L. (variété Onwerd).

a-Plaquette métaphasique.

b-Caryogramme.

c-Idiogramme: les satellites sont localisées sur les chromosomes marqueurs 2 (Bras court) et 6 (bras court et centromère).

-  Euchromatine (séquences d'ADN codantes).
-  Hétérochromatine (séquences d'ADN non codantes).

2-Discussion :

Nous avons pu identifier les sept paires de chromosomes homologues du caryotype de la variété Onwerd.

L'analyse de la distribution de l'hétérochromatine constitutive (séquences d'ADN hautement répétées non codantes riches en bases CG) a révélé qu'elle se trouve sous forme d'épaisses, sombres et de fines **bandes C** sur les deux bras de tous les chromosomes du génome de l'espèce *Pisum sativum*. Chaque chromosome est identifié individuellement. Les chromosomes 2, 4 et 6 montrent le maximum de bandes hétérochromatiques, alors que, les chromosomes 1, 5 et 7 sont pauvres en bandes hétérochromatiques. Nous constatons aussi,

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)

Si nous confrontons nos résultats à ceux des auteurs (**Samatadze et al, 2002 M.m Parça-fontes et al ,2014**) nous remarquons nos résultats sont différents à ceux des auteurs (**Samatadze et al, 2002 M.m Parça-fontes et al ,2014**), qui montrent la présence des épaisses bandes centromériques, sur tous les chromosomes, alors que dans notre cas, absence de bandes centromériques sur la totalité des chromosomes à l'exception du chromosome 4.

D'après les mêmes auteurs, Les chromosomes 1 et 2 et 3 marquent des constriction secondaires et le chromosome 6 présente un satellite. Par opposition, dans notre cas trois satellites sont détectés, un satellite localisé sur le chromosome 2 (bras court) et deux autres sont marqués sur le chromosome 6 (centromère et bras long), ces chromosomes sont considérés comme des chromosomes marqueurs.

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

CHAPITRE 3 : RESULTAT ET DISCUSSION

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 et al., 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**).

La variété Onwerd de *Pisum sativum* serait moins hétérochromatique par rapport à celles étudiées par les auteurs (cité-ci-dessus).

3-Conclusion :

Dans cette étude cytogénétique nous avons réussi à identifier les chromosomes individuels lents de l'espèce *Pisum sativum* par la technique du marquage C-banding. Il s'agit d'aborder les résultats suivants : -Le nombre de base chez le *Pisum sativum* L. est toujours le même $2n=2x=14$ ($x=7$).- -Le caryotype de cette variété est symétrique (de quatre paires chromosomiques submétacentriques (Sm) et trois paires métacentriques (m)).

--L'espèce *Pisum sativum* L. étudiée montre des bandes C télomériques et des bandes péri centrique autrement dit ; l'hétérochromatine constitutive (correspond aux sequences d'ADN non codantes) de cette espèce est fortement localisée dans les régions télomériques et intercalaires ; et totalement absente dans les régions centromériques des chromosomes, ce qui permettent de démontrer l'emplacement et la quantité d'hétérochromatine constitutive présente chez l'espèce *Pisum sativum* L.

-La présence des satellites sur les paires chromosomiques 3 et 6 ce qui se traduit par une adaptation et une résistance face aux facteurs environnementales défavorables ce qui présente un intérêt économique et agronomique.

-L'absence des chromosomes B

Références bibliographiques

-Références bibliographiques

1. **Androsoff G.L., Van Kessel C. and Pennock D.J., 1995.** Landscape-scale estimates of dinitrogen fixation by *Pisum sativum* by nitrogen-15 natural abundance and enriched isotope dilution. *Biol Fertil. Soils.* p, 20:33-40.
2. **Badaeva, E.D., Amosova, A.V., and Muravenko, O.V., Plant. Syst. Evol., 2002,** vol. a. 231, pp. 163-190.
3. **Boyeldieu J., 1991.** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Paris, Lavoisier Tec & Doc. 234 P. .
4. **Carrouee A et Girad M., 1994.** Pois protéagineux. Techniques agricoles, Editions Techniques - Techniques Agricoles. Fascicule 2212.
5. **Chaux Cl. et Foury Cl., 1994.** Productions légumières, tome 3, légumineuses potagères, légumes fruits, chap. 2 Petit pois ou pois potager, Lavoisier Tec & Doc, coll. « Agriculture d'aujourd'hui », Paris.
6. **Cousin R., 1997.** Peas (*Pisum sativum* L.). *Field Crops Research.* 53 : 111- 130.
7. **Coming D.E., 1978.** Mechanisms of chromosome banding and its implications for a. chromosome structure. *Ann Rev Genet,* 12: 25-46.
8. **Davies D.R., Berry G.J. Heath M.C and Dawkins T.C.K., 1985.** Pea (*Pisum sativum* L). p. 147-198. In: R.J. Summerfield and EH Roberts, (eds.), Williams Collins Sons and Co. Ltd, London, UK. Duke, J.A. 1981. Hand book of legumes of world economic importance. Plenum Press, New York. P, 199-265. Danko SJ. et Corden ME., 1984. Effect of ethanol on the accumulation of antifungal compounds and resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 74, 1475-1479.
9. **Dorkeld F., 1994.** Un modèle objet dédié à la cartographie comparée des génomes de Mammifères. Université Claude Bernard. Thèse de Doctorat. Lyon.
10. **Gaubatz J.W., Cutler R.G., 1990.** Mouse satellite DNA is transcribed in senescent a. cardiac muscle. *J Biol Chem,* 265: 17753-17758.
11. **Godelle B., Cartier D., Marie D., Brown S.C., Siljak-Yakovlev S., 1993.** Heterochromatin study demonstrating the non-linearity of fluorometry useful for calculating genomic base composition. *Cytometry,* 14: 618-626.
12. **Gritton, E.T., 1980.** Field Pea. Hybridization of Crop Plants, p. 347-356. In: W.R. Fehr and H.H. Hadley (eds.) American Society of Agronomy, Inc., and Crop Science Society of America, Inc., Wisconsin, USA. 5
13. **36. Grewal S.L., Elgin S.C., 2002.** Heterochromatin: new possibilities for the inheritance a. of structure. *Curr Opin Genet Dev,* 12:178-87.
14. **37. Grewal S.L., Moazed D., 2003.** Heterochromatin and epigenetic control of gene
15. expression. *Science,* 301:798-802.
16. **Hadjiolov A.A., 1985.** The Nucleolus and Ribosome Biogenesis. New York SpringerVerlag, Berlin Heidelberg New York, pp 1-268.
17. **Hagedorn D.J., 1991.** Handbook of pea diseases. University of Wisconsin. Madison Cooperative Extension Bulletin A 1167: 35.
18. **. Hernandez-Verdun D., 2004.** Behavior of the nucleolus during mitosis. Kluwer Academic, Dordrecht, pp 41-57.
19. **Harry M. 2001.** Génétique moléculaire et évolutive. Editions Maloine, Paris

- 20.20 **Hammouda, D., Khalfallah, N., 2008** Comparative analysis of D and R genomes into two lines (*x-Triticosecale* Wittmack) and their genitors (*Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L.) by N-banding. *Caryologia*, 61(3), 245-252p
21. **Hammouda, D.** 2013 Evolution et organisation du génome chez *x-Triticosecale* Wittmack. Thèse de Doctorat en Sciences, Génétique et Amélioration des Plantes, Université de Constantine1, Algérie, 2013, 114p.
22. **eslop-Harrison J.S. 1991.** The molecular cytogenetics of plants. Commentary. *J Cell Sci*, 100: 15-21.
24. **Heitz E., 1928.** Das heterochromatin der moose. *I Jahrb Wiss Botanik*, 69: 762-818.
26. **Hopquin B., 1994.** Lisses, rides, sucres colorés : tous les pois sont dans la nature. *Unite Informatique*.86, p. 10-11. Hwang S. F., Lopertinsky K., and Evans I. R., 1991. Effects of seed infection by *Ascochyta* spp., fungicide seed treatment, and cultivar on yield parameters of field pea under field conditions. *Can. Plant Dis. Surv.* 71:169-172.
27. **Ismail A., Tiong NW. and Tan ST., 2009.** Antioxidant properties of selected nonleafy vegetables. *Nutrition and Food Science*. Bradford: 2009. Vol. 39, Iss. 2; p. 176180.
28. **John B., 1990.** Meiosis. Cambridge University Press, Cambridge.
29. **Jones R.N., Ress H.B., 1982.** Chromosomes Academic press.
30. **Kay D., 1979.** Food legumes. Tropical Products Institute (TPI). TPI Crop and Product Digest No. 3. p. 26-47. UK.
31. **Kiss T., Darzacq X., 2001.** Plus d'un siècle après sa découverte, un nouveau regard sur le Nucléole. *Médecine et Sciences*, 17: 730-6.
33. **Larkom J., 1991.** Oriental vegetables John murray. ISBN.0-7195-4781-4 Well written and very informative.
34. **Larue T.A et Pattesson TG., 1981.** How much. Nitrogen do legume fix, *Advan. agr.* p.34-15-38. Leclerc H., 2003. Y a-t-il des infections bactériennes opportunistes transmises par les eaux d'alimentation ? Are there Opportunistic Bacterial Infection From Drinking Water? *Jornal Européen d'Hydrologie*, tome 34, fasc.1. PP:11-44.
35. **Loumont R. et chevassus A., 1960.** Note sur l'alimentation de lentille en Algérie ; *ANN, INRA ElHarrach*, Tome 2 pp 3-37 .
36. **Lespinasse R., Martel E., Peigne M.T., Sarr A. 1993.** Hétérochromatine, chromosomes B : Implication des formes sauvages du mil sur l'utilisation des ressources génétiques Université Paris-sud
37. **M.m Parça-fontes et al , 2014.** Karyotype revised of *Pisum sativum* using chromosomal DNA amount
39. **Maatougui M .E ., 1996.** Situation de la culture des fèves en Algérie et perspective de relance. Numéro spécial Fève, co-éditée par l'Institut Technique des Grandes Cultures et le réseau maghrébin de recherche sur fève, *Céréaliculture* 29 :6-14.
40. **Makasheva R.K.H., 1985.** The Pea. Oxonian Press Pvt. Ltd., New Delhi, India. 267p.
41. **Messaïen C.M., Blanchaed D., Rouxel F., Lafon R., 1991.** Les maladies des plantes maraichères, INRA éditions, 3 édition, (ISBN 2-7380-0286-2) p. 291-305.

Références bibliographiques

42. **Meudec G., Prat J.Y., Retournard D., 1998.** Soignez toutes les plantes potagères : espèce par espèce, Éd. Rustica, 304 p.
43. **Mossé J., Huet J.C., Baudet J., 1987.** Changements de la composition en acides aminés des graines de pois en fonction de leur taux d'azote .Sci. Aliments, 7;p301-324.
44. **Muelbauer F.G.et Tubba Abbe, 1997.** Pisum sativum L. (eds). La production et l'utilisation des légumineuses fraîches de nourriture. Univ Kluwer, dordecche. Pays bas.p.34.49.
45. **Murakami T, Kohno K, Matsuda H., 2001.** Medicinal foods tuffs. XXII. Structures of oleanane-type triterpene oligoglycosides, pisum saponins I and II, and kaurane-type diterpene oligoglycosides, pisumosides A and B, from green peas, the immatu. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2001 Jan;49(1):73-7.
46. **Prat R., Mosiniak, M et Vornax,V., 2005.** Les fruits. Biologie Multimedia- université Pierre Curie- UFR de biologie. Rana U., Sharma A., Paul, YS, and Sharma K.V., 2009. Survey for Pea Diseases and Identification of Fungi Associated with Wilt and Root Rot Complex in Himachal Pradesh, J Mycol PI Pathol, Vol. 39, No.3, 416-421p.
47. **Rudert F., Bronner S., Garnier J.M., Dolle P., 1995.** Transcripts from opposite strands
 - a. of gamma satellite DNA are differentially expressed during mouse development. Mamm.
 - b. Genome, 6: 76-83
48. **Samatadze et al, 2002** entification of the Pea (Pisum sativum L.) Genome Chromosomes Using C-Banding Analysis.
49. **SETTI B., Bencheikh M., Henni J.E. et Neema C.,2009.**Comparative aggressiveness of Mycosphaerella pinodes on peas from different regions in western Algeria Phytopathol. Mediterr .48, 195–204.
50. Schwarzacher H.G., Wachtler F., 1983. Nucleolus organizer regions and nucleoli.Hum Genet, 63: 89-99.
51. **Siljak-Yakovlev S., 1986.** Etude cytogénétique et palynologique de Compositae endémiques ou reliques de la flore yougoslave.Thèse d'Etat, Université de Paris-Sud.
52. **Sirri V., Roussel P., Hernandez-Verdun D., 2000.** In vivo release of mitotic silencing
 - a. of ribosomal gene transcription does not give rise to precursor ribosomal RNA processing. J Cell Biol 148: 259-270.
53. **Skiredji A., 2002.** La patate, le navet, le chou, le petit pois, le haricot, filet, fiche technique, institut agronomique et vétérinaire, HASAN 2.Agadir.
54. **Slinkard A., Hernandez-Bravo,A.E. and Bascur G., 1994.** Biotic and abiotic stresses of cool season food legumes in the western hemisphere, p. 195-203. In: F.J. in Muehlbauer and W.J. Kaiser (eds.), Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
55. **Smartt J., 1990.** Grain Legumes: Evolution and genetic resources. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 200 p. Smith S.N. and Snyder W.C., 1971.
56. **Schweizer D., 1976.** Reverse fluorescent chromosome banding with Chromomycin and DAPI. Chromosoma, 58: 307-324
57. **Trinidad TP., Mallillin AC. and Loyola AS., 2010** The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fibre. Br J Nutr. 103(4):569-74.

Références bibliographiques

58. **Trojer P., Reinberg D., 2007.** Facultative heterochromatin: is there a distinctive
a. molecular signature? *Mol Cell*, 28: 1-13
59. **Volkov et al. 2004** .The stability of forest biodiversity
60. **Williamson D.H., Fennell D.J., 1975.** The use of fluorescent DNA-binding agent for
detecting and separating yeast mitochondrial DNA. *Methods Cell Biol*, 12: 335-351.
61. **Zhimulev I.F., Belyaeva E.S., 2003.** Intercalary heterochromatin and genetic silencing.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : HAMDUCHE FATMA
YASMINE
KOUIDER AMANI

Caractérisation cytogénétique d'une variété de petits pois cultivés en Algérie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et génomique végétale

Notre étude porte sur le marquage de l'hétérochromatine correspondant à des séquences d'ADN hautement répétées (riche en bases CG = séquences d'ADN non codantes) des chromosomes de l'espèce *Pisum sativum* L (variété Séfrou), grâce à la technique de coloration différentielle C-banding.

Nous avons pu identifier et caractériser le caryotype de la variété, deux satellites sont mis en évidence sur les chromosomes marqueurs L'analyse structurale de *Pisum sativum* L ($2n=2x=4m + 3 Sm =14$) a montré un taux moyen d'hétérochromatine chez la variété Séfrou. Également, notons la présence des satellites et absence des chromosomes B.

Les résultats obtenus confirment l'existence de la relation entre le surcharge en hétérochromatine et l'adaptation du végétal aux conditions défavorables de l'environnement. Notre variété serait bien adaptée aux conditions défavorables.

Mots-clés : bandes C- chromosomes marqueurs, hétérochromatine *Pisum sativum* L., satellite

Laboratoires de recherche : **Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales.** (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

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

Examineur 1 : Mm **CHAIB Ghania** (Professeur.-UMC Constantine1).

Examineur 2 : Mm **ZOGHMAR Meriem** (MCB Professeur.-UMC Constantine1).