



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و الايكولوجيا النباتية.

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en
Biologie et génomique végétale.

Intitulé :

**Etude mitotique et méiotique de deux populations
de l'espèce *Hedysarum coronarium* L.**

Présenté et soutenu par : AOUADI Sara

Le : 19/06/2017

SAMAI Roumeissa

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. BOUSBA Ratiba (MCA - UFM Constantine).

Rapporteur : Dr. BENHIZIA Hayet (MCB - UFM Constantine).

Examineurs : Mme GHIOUA Karima (MAA- UFM Constantine).

Année universitaire 2016 – 2017

Remerciements

Avant tout, le remerciement à 'ALLAH' le bon dieu qui nous a aidé et nous a donné la capacité, la volonté et le courage pour terminer nos études du primaire jusqu'à ce jour 'Alhamdoulillah'

Ce manuscrit résume un travail de 4 mois que nous avons effectué au sein de l'université «Constantine 1, et laboratoire de cytogénétique », cet aboutissement n'aurait pas été possible sans l'aide et la présence directe et indirecte des nombreuses personnes, et c'est dans ces quelques lignes que le mot 'MERCI' prendra tout son sens.

Nous remercions tout particulièrement notre encadreur Madame *Benhizia H*, pour sa gentillesse sa disponibilité et son soutien.

Nos remerciement s'adressent également à madame *Chioua K* d'avoir accepté d'examiner ce travail et de présider le jury.

A Madame *Bousba R* d'avoir bien voulu juger ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements aussi à toute l'équipe du laboratoire de cytogénétique en particulier.

Un grand merci à Melle *Djeghar R*, ingénieur du laboratoire de cytogénétique pour son aide, et sa patience et sa gentillesse.

A toutes les personnes qui nous aidées à accomplir ce travail de près ou de loin.

Nous adressons un grand merci à tous les membres de M2 pour les merveilleux souvenirs passé parmi eux.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À la personne qui est toujours avec moi malgré sans absence,

qui a sacrifié pour mon éducation et mon bien être,

À mon très cher père,

que dieu l'accueil dans son vaste paradis

À ma chère mère, qui m'a appris la patience, l'encouragement...

À mes chers neveux, Djawad et Raïd

À ma famille et tous mes proches

À mes amies

Sara

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Ma mère NADIA, qui m'a appris la patience, la volonté...

Mon père NACER pour ses prières et son sacrifice

Ma soeur KHAWLA, mon frère YUCEF et mes petites soeurs

ROFEIDA et MERIEM

Mon âme soeur CHAIMA.Houria

Mon espoir CHAIMA.Djamaa

Mes amies

Roumeissa

Liste des figures et des planches

Figure 1 : Fleurs et feuillage de <i>H. coronarium</i> L. (Schutz et Sardi, 2008).....	6
Figure 2 : Tige fleurie de l'espèce <i>H. coronarium</i> L. avec les différentes parties de la fleur et de la gousse (Villax, 1963).....	7
Figure 3 : Plantule de <i>H. coronarium</i> L. au stade 1 ^{ère} feuille unifoliée avec graines en gousse articulée et décortiquées (Ben Jeddi, 2002).....	8
Figure 4 : Présentation schématique des différents types de chromosomes (André et <i>al</i> 1983).....	16
Figure 5 : plaque métaphasique à $2n = 2x = 16$ chromosomes.....	23
Figure 6 : Caryotype de l'espèce <i>Hedysarum coronarium</i> L. (population de Constantine)...	26
Figure 7 : Méiose pollinique chez <i>H. coronarium</i> : (a) Prophase ; (b) métaphase I a 8 bivalents ; (c) Fin de la métaphase I; (d) Anaphase I; (e) Télaphase II. (f) Tétrade.....	29
Figure 8 : Chromosomes B en méiose : (a) stade diacinèse avec 2 chromosomes B ; (b) fin de métaphase avec 2B ; (c) Télaphase I avec 2B.....	30

Liste des tableaux

Tableau 1 : Origine géographique et étage bioclimatique des populations étudiées.....	17
Tableau 2 : Nomenclature chromosomique concernant la position du centromère proposé par Levan et <i>al</i> (1964).....	21
Tableau 3 . Données numériques concernant la garniture chromosomique de l'espèce <i>Hedysarum coronarium</i> L.	25

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Description du genre <i>Hedysarum</i> L	3
2. Présentation de l'espèce <i>Hedysarum coronarium</i> L.....	4
2.1. Répartition géographique de l'espèce <i>Hedysarum coronarium</i> L.....	5
2.2. Description botanique de l'espèce <i>Hedysarum coronarium</i> L.....	5
3. Mode de reproduction et pollinisation	8
4. Intérêts d' <i>Hedysarum coronarium</i> L.....	9
4.1. Intérêt fourrager et agronomique.....	9
4.2. Intérêts environnementaux.....	10
5. Notion de cytogénétique.	11
6. Travaux de cytogénétique réalisés sur le genre <i>Hedysarum</i> L	12
7. Les Chromosomes B.....	13
8. Caryotype	14

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Matériel	17
2. Méthodes.....	17
2.1. Etude de la mitose	17
2.1.1. Scarification	17
2.1.2. Germination.....	17
2.1.3. Prélèvement	17
2.1.4. Prétraitement	17
2.1.5. Fixation	18

2.1.6. Stockage	18
2.1.7. Hydrolyse	18
2.1.8. Coloration.....	18
2.1.9. Montage	18
2.1.10. Observation microscopique et photographique.....	19
2.2. Etude de la méiose.....	19
2.2.1. Prélèvement	19
2.2.2. Fixation	19
2.2.3. Conservation.....	19
2.2.4. Coloration	19
2.2.5. Montage des lames.....	20
2.2.6. Observation microscopique et photographies.....	20
2.3. Mesures et établissement du caryotype.....	20

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Etude de la mitose	22
1.1. Dénombrement chromosomique	22
1.2. Etablissement du caryotype.....	23
2. Etude du déroulement de la méiose	28
3. Chromosomes B.....	29
Conclusion.....	31

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Deux populations de l'espèce *Hedysarum Coronarium* L., ont été récoltées de l'Est algérien (Annaba et Constantine). Ces populations ont fait l'objet de dénombrement chromosomique aussi bien en mitose somatique, qu'en méiose pollinique. Nous avons appliqué la technique classique de Feulgen afin de construire le caryotype des deux populations étudiées. L'étude des caryotypes se fait en métaphase mitotique où les chromosomes présentent la meilleure morphologie. Les résultats obtenus montrent un nombre chromosomique constant $2n = 2x = 16$ chromosomes. Le nombre $2n = 2x = 18$ chromosomes n'a pas été observé, on a trouvé seulement en plus des chromosomes A, deux chromosomes B. Le caryotype est constitué de huit paires chromosomiques dont deux paires sont submétacentriques et six chromosomes de type métacentrique. Les cellules analysées au stade diacinèse montrent huit bivalents associés en général en anneau, en V et en croix.

Mots clés: *Hedysarum coronarium*, mitose, méiose, caryotype, chromosomes B.

Abstract

Two populations of the species *Hedysarum Coronarium* L., were harvested from eastern Algeria (Annaba and Constantine). These populations have been chromosomally enumerated in both somatic mitosis and pollen meiosis. We applied the classical Feulgen technique to construct the karyotype of the two populations studied. The study of karyotypes is done in mitotic metaphase where the chromosomes present the best morphology. The results obtained show a constant chromosomal number $2n = 2x = 16$ chromosomes. The number $2n = 2x = 18$ chromosomes was not observed; only two chromosomes B were found in addition to chromosomes A. The karyotype consists of eight chromosomal pairs, two pairs of which are submetacentric and six metacentric chromosomes. The cells analyzed at the diacinesis stage show eight bivalents generally associated in ring, V and cross.

Key words: *Hedysarum coronarium*, mitosis, meiosis, karyotype, chromosomes B.

ملخص

تم تحصيل شعبتين من النوع *Hedysarum coronarium* L. على مستوى الشرق الجزائري (عنابة، قسنطينة). قمنا بتعداد الكروموسومات لهذه الشعبتين عن طريق الانقسام الخيطي المتساوي للخلايا الجسدية و الانقسام الاختزالي لحبوب اللقاح. طبقنا التقنية التقليدية فولغين لبناء النمط النووي لكلا الشعبتين. دراسة النمط النووي تمت في المرحلة الاستوائية للانقسام الخيطي المتساوي حيث الكروموسومات تكون في أتم مراحل وضوحها، النتائج المتحصل عليها تشير الى أن عدد الكروموسومات ثابت و هو $2n = 2x = 16$ كروموسوم ، لكن لم يلاحظ وجود العدد الكروموسومي $2n = 2x = 18$. لكن وجدنا بالإضافة الى الكروموسومات A اثنين من الكروموسومات B، يتكون النمط النووي من 8 أزواج من الكروموسومات ، اثنين منها *submétacentrique* و 6 *métacentrique*، معاينة الخلايا في المرحلة *diacinèse* تظهر 8 أزواج ترتبط في شكل حلقة ، V و *croix*.

الكلمات المفتاح : *Hedysarum coronarium* L. ، الانقسام الخيطي المتساوي، الانقسام الاختزالي، النمط النووي، كروموسومات B .

Introduction

Les ressources phytogénétiques constituent un patrimoine précieux nécessaire au maintien de l'équilibre écologique qu'il faut préserver. Cependant, cette diversité se retrouve en continuelle dégradation en rapport avec le changement des systèmes agraires, l'urbanisation, l'industrialisation, l'extension des populations humaines et la destruction des écosystèmes.

L'Algérie est très riche en ressources phytogénétiques à intérêt fourrager et pastoral, particulièrement en légumineuses. Ces dernières occupent une importante place dans la flore algérienne (Talamucci et Chaulet, 1989).

Le genre *Hedysarum* dont la répartition géographique est très large, est représenté par plus de 170 espèces (Wielgorskaya, 1995). Elles peuvent être annuelles ou pérennes, diploïdes ou tétraploïdes, autogames ou allogames (Baatout et al. 1991 ; Boussaid et al. 1995). Le nombre chromosomique chez les diploïdes est soit $2n = 14$ ($x = 7$) soit $2n = 16$ ($x = 8$).

Les espèces du genre *Hedysarum* constituent d'excellentes plantes fourragères du fait de leur teneur élevée en protéines et en vitamines et de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique par suite d'une association symbiotique avec les bactéries du genre *Rhizobium*. Elles peuvent être exploitées dans la valorisation des régions dégradées, surtout dans les zones arides et semi-aride.

L'espèce *Hedysarum coronarium* L. est la plus répandue, elle est couramment appelée Sulla ou Sainfoin d'Espagne (Boussaid et al. 1995). Cette espèce est utilisée en Algérie, de manière très irrégulière, en alimentation animale traditionnelle par les populations rurales, alors que dans d'autres pays en raison de sa valeur nutritive (protéines, vitamines, fibres) reconnue, elle est cultivée à grande échelle. Elle a fait l'objet de plusieurs travaux de recherches depuis quelques années. Ces travaux sont axés essentiellement sur la détermination de ses qualités fourragères, l'étude de sa reproduction et l'analyse de sa variabilité morphologique (Grimaldi, 1961 ; Combes et al. 1975 ; Figier et al. 1978).

Les résultats mentionnés jusqu'à présent montrent que cette espèce présente une valeur nutritive équivalente à celle de la luzerne et du trèfle violet mais nettement supérieure à celle du foin de prairie. Et le foin d'*H. Coronarium* est très riche en fibres, pouvait être utilisé en remplacement de la farine de luzerne dans l'alimentation des lapins (Kadi, 2012).

L'établissement du caryotype de l'espèce *Hedysarum coronarium* L., à travers l'étude de la mitose par la technique de coloration au Feulgen, à révéler que cette espèce est diploïde $2n = 2x = 16$ chromosomes. Il a été cependant constaté que dans certaines populations récoltées dans le centre de l'Algérie, deux nombres chromosomiques $2n = 16$ et $2n = 18$ ont été observés. La question que nous nous sommes posées s'agit-il vraiment d'un nouveau nombre de base $x = 9$ ou bien une erreur d'observation où les satellites, les constriction secondaires ou les chromosomes B ont pu être ajoutés au nombre chromosomique ou encore une anomalie méiotique entraînant une disjonction non équilibrée du matériel génétique en anaphase.

Dans ce travail et à travers l'étude de la mitose et de la méiose, nous allons essayer de voir si le nombre $2n = 18$ chromosomes existe chez les populations de l'espèce *H. coronarium* L., qui poussent dans l'Est Algérien et s'il s'agit vraiment d'un nouveau nombre de base

Ce document s'articule de la façon suivante :

- un premier chapitre présente les données de la littérature sur le complexe *Hedysarum* L. et les outils cytogénétiques ;
- un second chapitre décrit le matériel végétal et les méthodes de cytogénétique classique utilisées ;
- un troisième chapitre annonce les résultats obtenus.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. Description du genre *Hedysarum* L.

Le genre *Hedysarum* L. est un groupe d'espèces fourragères spontanées qui poussent sur des sols variés et dans des conditions climatiques différentes, présentant ainsi une grande diversité (Abdelguerfi Berrekia et *al.* 1988), appartenant à la famille des Fabacées et tribu des Hedysarées (Baatout et *al.* 1990), il renferme plus de 170 espèces annuelles ou pérennes, diploïdes ou tétraploïdes, autogames ou allogames (Baatout, 1991; Boussaid et *al.* 1995; Wielgorskaya, 1995).

Le genre *Hedysarum* est subdivisé en deux sous-groupes d'espèces qui se distinguent par : la morphologie, le mode de reproduction, les caractères du caryotype, les origines géographiques, le cycle biologique, les aires de répartition ainsi que les caractéristiques bioclimatiques. Le premier groupe inclut les espèces alpines, arctiques et asiatiques ($2n = 2x = 14$ chromosomes), et le second les espèces méditerranéennes ($2n = 2x = 16$ chromosomes).

Onze espèces ont été décrites dans «La Flore de l'Afrique du nord» par Maire (1958) cité par Boussaid et *al.* (1995) : il s'agit de *H. naudinianum* Coss, *H. perrauderianum* Coss et Durieu, *H. humile* L., *H. membranaceum* Coss., *H. pallidum* Desf., *H. carnosum* Desf., *H. spinosissimum* L., *H. glomeratum* L., *H. aculeolatum* Mumby, *H. coronarium* L. et *H. flexuosum* L.

Hedysarum vient du mot grec Hedys, qui signifie fourrage doux à brouter (Bonnier, 1934). Les plantes appartenant à ce genre sont d'une manière générale constituées d'un appareil souterrain robuste portant de nombreuses nodosités fixatrices d'azote et d'un système aérien à rameaux dimorphes : tige principale orthotrope et ramifications latérales plagiotropes.

Ces espèces comme toutes les autres espèces légumineuses fourragères telles que la luzerne, participent à la fixation des sols et à leur enrichissement en azote, ainsi qu'à l'alimentation du bétail étant donné que la majorité d'entre elles sont pâturées par les ovins et les bovins.

L'exploitation des espèces du genre *Hedysarum*, en Algérie, en tant que plante de pâturage, est très limitée ; alors que dans d'autres pays, tels que l'Italie et l'Espagne, des programmes d'amélioration conduits particulièrement sur l'espèce *H. coronarium* ont abouti à la sélection de certaines variétés (Bonciarelli et Monotti, 1976). Seules les variétés italiennes ont

été introduites en Tunisie et dont les surfaces de culture sont encore trop limitées (Figier, 1982 ; Hannachi-Salhi et al. 2002 ; Marghali et al. 2003).

Les espèces du genre *Hedysarum* sont bien adaptées aux sols calcaires et aux bancs graveleux et rocailloux. Certaines espèces poussent jusqu'à 2300 m d'altitude (Allen et Allen, 1981). (Abdellaoui 2014 ; Benhizia 2014).

2. Présentation de l'espèce *Hedysarum coronarium* L.

Hedysarum coronarium, appelée couramment Sulla, Sulla du nord ou Sainfoin d'Espagne (Bullita et al.2000) est une légumineuse à vocation fourragère qui fait l'objet de plusieurs travaux de recherches depuis quelques années. Cette espèce est bisannuelle (rarement annuelle), et est diploïde ($2n=16$), elle est allogame (Grimaldi, 1961).

Selon Quezel et Santa (1962), Greuter (1989) in Abdellaoui (2014), la position systématique de espèce *Hedysarum coronarium* est :

Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Rosales
Famille	Fabaceae
Sous famille	Papillonaceae
Tribu	Hedysareae
Genre	<i>Hedysarum</i>
Espèce	<i>Hedysarum coronarium</i>

2 .1. Répartition géographique de l'espèce *Hedysarum coronarium* L.

L'aire de distribution du genre *Hedysarum* est l'Europe tempérée, les régions méditerranéennes de l'Afrique du nord (Polunin, 1969 ; Hyam et Pankhurst, 1995), l'Asie mineure, la Sibérie et l'Amérique du nord, à partir de l'Arizona jusqu'au Canada et les régions arctiques (Bentham et Hooker, 1865 ; Rollins, 1940).

L'espèce *H. coronarium* est rencontrée en Afrique du nord. En Algérie, l'aire de distribution de l'espèce est limitée en raison de la forte dégradation voire même la disparition des prairies naturelles (Abdelguerfi, 1989). En Tunisie, sa présence a été signalée dans toute la zone nord de la dorsale à partir de 300 mm de pluie par an (Ben Jeddi et al. 1998). Au Maroc, l'espèce *H. coronarium* n'est pas aussi répandue comme la luzerne (*Medicago sativa* L.) ou le bersim (*Trifolium alexandrinum* L.). Cependant, certaines populations ont été signalées dans la zone nord du pays comme la région de Tanger (Ameziane et Berkat, 1989). L'espèce est absente en Libye, sud de la Tunisie, Egypte et en Mauritanie (Ben Fadhel et al. 2006).

Comme c'est une espèce fourragère appréciée, elle est cultivée de plus en plus En Europe méditerranéenne (Martiniello et al.2000), c'est le cas de la Grèce, l'Espagne, l'Italie, la Turquie et aussi, en Australie (Bullita et al. 2000).

Hedysarum coronarium est une espèce des régions bien arrosées, elle est fréquente dans les régions à pluviométries supérieures à 650 mm et à des altitudes variables (inférieures à 460 m). (Abdellaoui, 2014 ; Abdelguerfi et al 1991 ; Ben jeddi, 2005).

2 .2. Description botanique de l'espèce *Hedysarum coronarium* L.

Les formes sauvages se distinguent des formes cultivées par leur port prostré. Les formes cultivées sont érigées, elles présentent un axe principal bien dressé (50-150 cm de long) et des ramifications latérales obliques pouvant égaler l'axe principal.

Au stade plantule, les cotylédons de *H. coronarium* sont ovales, arrondis, presque sessiles de dimensions 10x7.8 mm et glabres. Les trois ou quatre premières feuilles sont longuement pétiolées, entières, orbiculaires ou elliptiques (Baatout et al. 1976).

Au stade végétatif, la plantule se trouve en rosette lâche (Clarde, 1990).Et est sensible au froid, à l'excès d'eau et à la concurrence des adventices (Semadeni, 1976).

Les feuilles, sur les deux types d'axes, sont longuement pétiolées et se composent de 7-15 paires de folioles ovales avec une foliole terminale (Moore et *al.*2006). Les folioles sont munies d'une pilosité blanchâtre sur les bords (Prosperi et Balfourier, 1995) (Figure 1).

La couleur de la face supérieure des feuilles est du vert foncé et est glabre, tandis que la face inférieure et le pétiole sont soyeux par des poils appliqués.



Figure 1 : Fleurs et feuillage de *H. coronarium* L. (Schutz et Sardi, 2008).

La hampe florale comporte de grandes fleurs rouges pourpres de 1,5-2 cm, en grappes denses à long pédoncule. Ces fleurs sont axillées par des bractées scarieuses et portent chacune, à la base du calice, deux bractéoles.

La corolle est de 10 à 15 mm de long (Figure, 2). Baatout et *al.* (1976) ont trouvé très peu d'individus à fleurs roses ou même franchement blanches. La variabilité courante de ce caractère s'étend du rouge vif au violet selon la région bioclimatique.

La floraison commence au début de l'été entre mars et juin, (Bigourdan, 1933 et Clarde, 1990), où les fleurs sont réunies en racème jusqu'à 35 fleurs. (Sarno et *al.* (1978) ont montré que

les populations d'altitude tendent à fleurir tardivement et sont par conséquent plus sensibles à l'oïdium (*Erysiphe tri foliivar. Intermedia*).

Les gousses d'*Hedysarum coronarium* sont droites, larges de 4 à 5 mm, à articles couverts d'aiguillons (Quezel et Santa, 1962), épineuses ont de 3 à 8 segments, chaque segment contient une semence crème, à brun clair de 3mm de diamètre, aplati avec un profil presque circulaire (Frame, 2000). Les graines (2.5 x 2.5 mm), sont réniformes ou ovoïdes (Prosperi et Balfourier, 1995) (Figure 2).

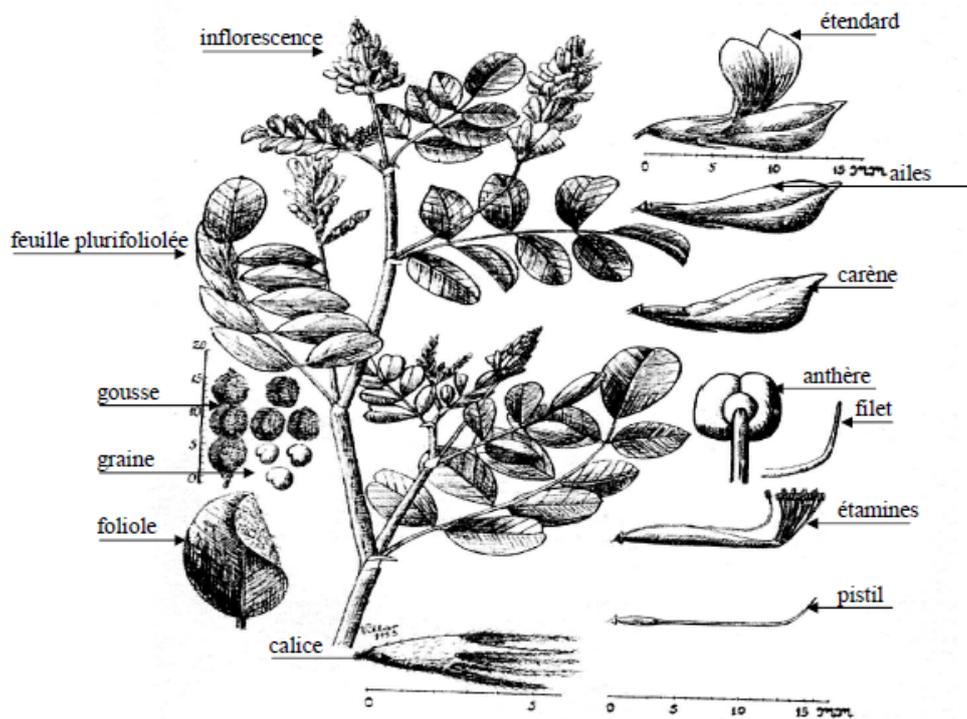


Figure 2 : Tige fleurie de l'espèce *H. coronarium* L. avec les différentes parties de la fleur et de la gousse (Villax, 1963)

La graine est réniforme ou discoïde avec un tégument lisse et luisant et uniformément coloré en jaune clair parfois noir, il brunit en vieillissant (Semadeni, 1976) (Figure 3).

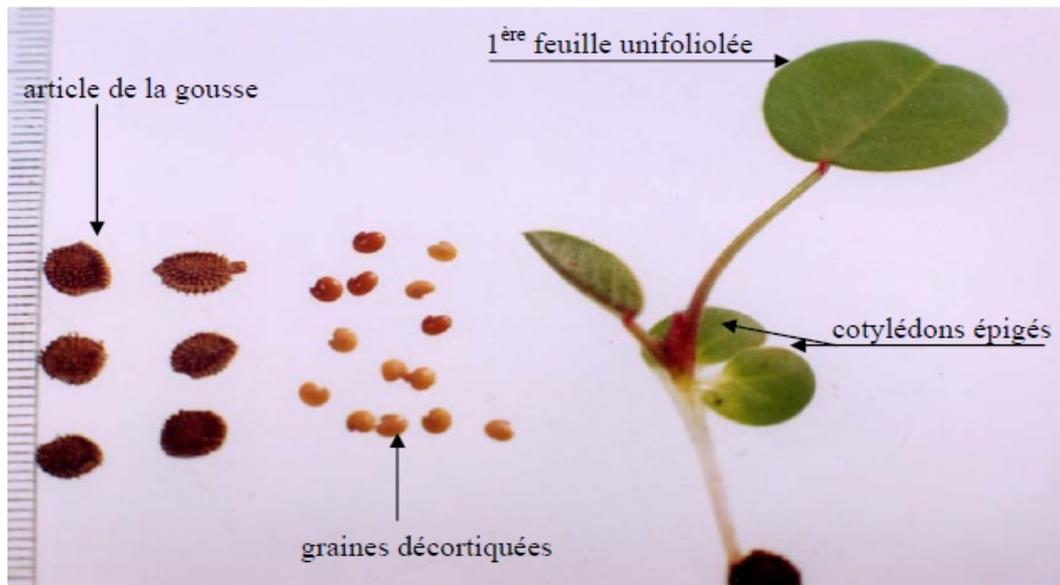


Figure 3 : Plantule de *H. coronarium* au stade 1^{ère} feuille unifoliolée avec graines en gousse articulée et décortiquées (Ben Jeddi, 2002).

Les populations d'*H. Coronarium* sont partagées en groupes à tiges orthotropes, plagiotropes ou semi-plagiotropes (Sarno *et al.* 1978).

Les tiges d'*Hedysarum coronarium* sont très appréciées par les abeilles (*Apis mellifera* L.) (Rondia *et al.* 1985) in Ben Jeddi (2005). Elles sont épaisses, boisées, simples ou ramifiées et généralement creuses (Frame, 2000), robustes et dressées dans les sols profonds et rampantes dans les rochers calcaires et les schistes où il végète à l'état spontané (Bigourdan, 1933 et Baatout *et al.* 1976), de 10 à plus de 100 cm de long.

Son système racinaire est pivotant (Prosperi et Balfourier, 1995), profond (jusqu'à 2m), avec de nombreux racines secondaires (Moore *et al.* 2006), présentant une bonne tolérance à la sécheresse (Crocker et Hackney, 2008). (Abdellaoui, 2014 ; Ben jeddi, 2005).

3. Mode de reproduction et pollinisation

Hedysarum coronarium L. est une espèce allogame (Grimaldi, ollinis L., 1961) à passion croisée de type entomophile. Comme c'est le cas de la plupart des légumineuses, la pollinisation croisée chez *H. coronarium* est assurée par les insectes dont les abeilles (*Apis mellifica*, notamment), les bourdons et les mégachiles. La présence d'insectes est nécessaire aussi bien

pour la fécondation croisée que l'autofécondation (Free, 1993). Pinzanti et Magnani (1981). La pollinisation anémophile ne semble pas jouer un rôle important chez cette espèce.

Chriki (1982) a montré que dans des conditions naturelles, le taux d'autogamie chez *H. coronarium* se situe entre 7 et 17 % soit une moyenne qui avoisine les 10 %. Dans ce cas, le stigmate reçoit 4 fois plus d'auto-pollen que d'allo-pollen. Or, en pollinisation artificielle avec castration des fleurs, où le stigmate reçoit la même proportion d'allo-pollen et d'auto-pollen (1/1) le taux d'autogamie n'est pas significativement différent des fleurs non castrées.

Selon Chriki (1982), la fécondation de la fleur par un type donné de pollen ne dépend pas de sa densité mais des réactions biochimiques (style/pollen) déterminant l'auto-incompatibilité. Pour cela, il a exploité le facteur pigmentation des fleurs pour mettre en évidence la variation du taux d'autogamie chez *H. coronarium*.

Dans un croisement libre, le taux d'autogamie obtenu est de 10,75 % (10/93 plantes à fleurs blanches issues de l'auto-pollen). Pratiquement le même taux a été obtenu avec un croisement artificiel (4/43). Ce résultat est important dans la mesure où les croisements peuvent être réalisés sans avoir recours à la castration des fleurs.

La compétition existant entre l'allo-pollen et l'auto-pollen est de ce fait responsable du faible degré d'autogamie noté chez *H. coronarium*. Sonet et Jacob-Renacle (1987), ont trouvé le même mécanisme de pollinisation chez *H. coronarium*.

Il est à préciser que le locus (S) responsable de l'incompatibilité ne présente pas de liaison génétique avec les gènes de coloration A et B. La pollinisation d'une forme maternelle *H. coronarium* à fleurs blanches (absence de pigmentation) et de préférence castrées, avec un mélange de pollen provenant de deux formes paternelles différentes. L'une à fleurs blanches et l'autre à fleurs rouges a donné une descendance ayant la même proportion de fleurs pigmentées (rouges) et non pigmentées (blanches). Donc les deux types de pollen ont la même probabilité de féconder l'oosphère (Chriki, 1982 ; Ben jeddi, 2005 ; Chriki et al. 1984).

4. Intérêts d'*Hedysarum coronarium* L.

4.1. Intérêt fourrager et agronomique

Les légumineuses fourragères, dont fait partie l'espèce *Hedysarum coronarium*, présentent de nombreux avantages qui rendent leur utilisation justifiée dans l'amélioration des

parcours et des productions fourragères. Ces espèces sont particulièrement indiquées en Algérie où le déficit fourrager est important, les risques d'érosion des sols considérables, et où la pauvreté de ces derniers en matière organique est grande. Le genre *Hedysarum* est appelé à jouer un rôle fondamental dans la production fourragère et pastorale, et dans d'autres domaines comme l'apiculture, la protection des sols contre l'érosion, la mise en valeur des terres.

Le rôle important joué par cette espèce dans l'affouragement, la lutte contre l'érosion, l'enrichissement du sol en matière organique et en azote, et l'amélioration des propriétés physiques du sol. Trifi-Farah et *al.* (1989a et 1989b) indiquent que les plantes d' *H. coronarium*, qui poussent spontanément, sont exploitées par les agriculteurs aussi bien pour la pâture que pour la protection des sols, particulièrement sur les pentes marneuses sensibles à l'érosion. Bayer et *al.* (1990) indiquent *H. coronarium*, sainfoin d'Italie, sur les terres cultivées comme plante ornementale et à fourrage en région méditerranéenne occidentale et centrale.

L'espèce *H. coronarium* joue un rôle dans l'enrichissement du sol elle possédant un système racinaire profond et puissant, sa culture laisse d'importantes quantités de matières organiques et d'azote dans le sol. Les résidus organiques laissés dans le sol au bout des 2 années sont de l'ordre de 20 tonnes de racines desséchées ou 100 unités d'azote ou l'équivalent de 60 tonnes de fumier. C'est la raison pour laquelle *H. coronarium* est considéré la meilleure culture pour précéder une culture de blé, non seulement parce qu'elle enrichit le sol en matières organiques et en azote mais aussi parce qu'elle améliore la structure physique du sol, augmente sa perméabilité et permet de lutter contre l'érosion. (Abdelguerfi, 1991).

4.2 Intérêts environnementaux

L'espèce *Hedysarum coronarium* peut participer à la valorisation des jachères et à leur enrichissement en azote organique ainsi qu'à la protection des sols marneux et marno calcaires en pente qui sont souvent dénudés (Boussaïd et *al.* 1995).

Elle peut jouer un rôle floristique et agronomique fondamental dans l'amélioration de la fixation biologique et la fertilité organo-chimique du sol (Slim et *al.* 2008).

Grâce à son système racinaire puissant et pivotant, *H. coronarium* offre l'avantage de protéger le sol contre l'érosion (Watson, 1982) d'où l'intérêt de son installation dans les terrains marneux et accidentés très vulnérables à l'érosion (Zouaghi, 2001 ; Slim, 2004 ; Slim et *al.*, 2011).

En effet, l'installation d'*H. coronarium* en association avec l'atriplex (*Atriplex halimus* L.) pendant 4 ans dans un site calcaire marginal a permis d'améliorer la porosité du sol et de réduire les pertes de sol d'environ 7% (Chisci et *al.*, 2001).

Par ailleurs, l'utilisation des résidus d'*H. Coronarium* comme amendement organique, demeure une voie dans la résolution des problèmes de fertilité des sols dégradés (Bouajila et *al.* 2014). *Hedysarum*, est aussi très appréciée par les abeilles (*Apis mellifera* L.) (Rondia et *al.* 1985). Elle est considérée comme une source importante de nectar dans le sud et le centre de l'Italie (Moore et *al.* 2006). L'installation de ruches proches de populations de *Hedysarum* permet, non seulement la production de miel mais aussi l'accroissement de la production grainière grâce à la pollinisation entomophile (Rondia et *al.* 1985 ; Abdellaoui, 2014).

5. Notion de cytogénétique

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19^{ème} siècle mais c'est surtout à partir de 1920 que la cytogénétique s'est développée et son importance n'a cessé de croître par la suite.

C'est d'abord une science d'investigation. Elle a pris une part active à la compréhension des mécanismes héréditaires et du monde végétal dans sa diversité (taxonomie, phylogénie). C'est aussi une des nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes. Elle se situe avant tout en amont de la sélection. Elle participe à :

- La connaissance du matériel végétal utilisé : nombre de chromosomes, polyploïdie, allopolyploïdie, ...
- L'établissement de cartes génétiques et des caryotypes grâce à la production et l'étude d'aneuploïdes (lignées monosomique, télosomique... lignée d'addition...).
- L'exploitation de la variabilité intraspécifique, interspécifique ou induite.

L'expérience montre que les outils de la cytogénétique sont indispensables à une exploitation rationnelle des hybrides interspécifique. Par ailleurs, la cytogénétique a trouvé un nouveau domaine d'application dans l'étude et l'utilisation des produits issus de culture *in vitro* (hybrides somatiques, variantes soma clonales...).

La cytogénétique peut être impliquée au niveau même de la création variétale en participant à l'explication et la résolution de problèmes ponctuels rencontrés par les sélectionneurs : instabilité, stérilité... Le champ d'action de la cytogénétique est vaste et ses frontières ne sont pas clairement définies. Les méthodologies employées sont nombreuses. Elles concernent avant tout l'étude des chromosomes lors de la mitose et de la méiose par les techniques classique mais aussi par des techniques plus récentes (fulorochrome banding et hybridation in situ).

6. Travaux de cytogénétique réalisés sur le genre *Hedysarum* L.

Les espèces du genre *Hedysarum* ont fait l'objet de nombreux travaux en France, en Italie, en Tunisie, en Maroc et en Algérie. Différents auteurs se sont intéressés à plusieurs aspects de ce végétal (aspect éco génétique, agronomique, biométrique...). Mais en Algérie peu de travaux cytogénétique ont été faite sur ce genre, et encore moins sur l'espèce *H. coronarium*.

-LARSEN, (1955) dénombre $2n=14$ pour *H. sibiricum* Poir et $2n=16$ pour *H. coronarium*.

-LEDINGHAM, (1957) compte respectivement pour *H. alpinum* L., *H. Boréale* Nutt et *H. mackenzii* RICHARDS $2n=14, 16, 17$.

-HAYEN, (1976) compte pour *H. spinosissimum* $2n=16$.

-BAATOUT, (1976), compte pour les espèces du genre *Hedysarum* qui poussent en Tunisie $2n=16$ sauf pour *H. pallidum*.

-BEJI, (1976, 1980) et BEJI et al. (1991) ont étudié les relations évolutives dans le genre *Hedysarum* par des essais sur la tétraploïdie induite expérimentalement. Ces mêmes auteurs ont signalé que *H. pallidum* est l'unique espèce du genre connue en Tunisie qui présente à la fois des populations spontanées diploïdes $2n = 2x = 16$ et tétraploïdes $2n = 4x = 32$.

-BOUSSAID, (1980) compte $2n=16$ chromosomes pour *H. coronarium*.

-ABDELGUERFI-BERREKIA et al. (1980) comptent $2n=16$ pour *H. flexuosum*, *H. glomeratum*, *H. spinosissimum*, *H. aculeolatum*, *H. coronarium*, *H. humile* et *H. naudinianum*, quelle que soit l'origine des populations.

-BOUSBA.A., (1992) a contribué à l'étude morphologique et comparative de deux espèces endémiques du genre *Hedysarum* : *H. perrauderianum* et *H. naudinianum* et a dénombré $2n=16$ pour *H. naudinianum* et $2n=18, 32$ chromosomes pour *H. perraudirianum*.

-SADAOUIS., (1999) a fait une étude morphologique, caryologique et biologique de l'espèce *H. aculeolatum*, ainsi que son mode de reproduction.

-BENHIZIA. H., (2001, 2003) a étudié cinq populations de l'espèce *H. pallidum*, et a montré que ces espèces sont diploïdes à $2n=16$ chromosomes. Les populations contaminées par l'antimoine présentent des chromosomes B.

-ISSOLAH.R., (2006) a étudié neuf populations naturelles de l'espèce *H. coronarium*, et a montré que le caryotype est diploïde avec un nombre chromosomique variable $2n=16$, $2n=18$ selon les populations. D'après cet auteur, la variation caryotypique existante serait liée aux facteurs écologiques du milieu d'origine des populations de cette espèce.

-BENHIZIA. H., (2013) a étudié six populations naturelles de l'espèce tétraploïde *H. perrauderianum* et a montré l'existence d'une variabilité caryotypique entre les populations de bords de route et les autres populations.

- BENHIZIA. H., (2014) a contribué à l'étude de trois espèces endémiques du genre *Hedysarum* L. par des techniques de cytogénétique classique et moléculaire.

7. Les Chromosomes B

Les chromosomes B sont des chromosomes surnuméraires (nommés aussi extrachromosomes) de petite taille, généralement de nature hétérochromatique trouvés dans plusieurs noyaux animaux ou végétaux.

Ils peuvent avoir de l'ADN ribosomique, quelques organisateurs nucléaires et certains ont une information génétique qui contrôle leur transmission (Cohen et *al.* 2003, 2008). Typiquement ils ont peu d'effet sur le phénotype d'un individu (Jones et Hoben, 2008). Ils sont présents dans 15% des espèces eucaryotes (Maria Teruel et *al.* 2009) et leur nombre varie d'une espèce à l'autre de zéro à plusieurs (Jonathan, 2007).

Selon Jackson (2002), les chromosomes B se comportent anormalement lors de la méiose et de la mitose, il a cité qu'à la méiose les chromosomes B se présentent sous formes d'univalents ou bivalents. Les bivalents ont normalement un seul chiasma dans le bras long. Ces chromosomes B ont été décrits la première fois par Pantulu (1960) dans une variété cultivée du Soudan.

Les variations structurales des chromosomes A, comme les translocations, les délétions et les inversions, peuvent être à l'origine des chromosomes surnuméraires, spécialement quand les régions hétérochromatiques sont affectées.

D'après Ward (2002) qui a fait une comparaison structurale entre le chromosome B et le chromosome A de « Mutants de Mais », il a montré une origine directe de chromosome B au chromosome A, ils sont semblables de certaines régions, et les autres différences sont mineures.

La présence de l'hétérochromatine dans le génome pose un certain nombre de problèmes dans la mesure où cette partie est non codante. Certaines hypothèses ont été formulées quant à son rôle dans la protection des zones vitales du génome ou dans la structuration de l'organisation chromosomique en mitose et en méiose (centromère, extrémité des chromosomes, maintien de l'appariement des homologues en méiose).

L'autofécondation chez des plantes peut entraîner leur apparition (Gorenflot et Raicu 1980). Des analyses leur suggèrent une origine extrachromosomique (Jones et *al.* 2008). Plusieurs travaux ont montré que les chromosomes B ont une vitesse d'apparition élevée et que leur nombre augmente d'une génération à l'autre comme chez certaines espèces animales et végétales (Camacho et *al.* 2002 ; Lôpez et *al.* 2005) où ils sont considérés comme des éléments parasites. Cette propriété parasite assure leur survie et leur propagation dans les populations naturelles, même contre un gradient d'effets nocifs sur le phénotype de la plante (Jones, 2012).

Les chromosomes B ont particulièrement les caractéristiques suivantes :

- Ils sont toujours plus petits que le chromosome A et généralement ils sont hétérochromatiques.
- Les chromosomes B ne sont pas indispensables à l'espèce qui les possède.
- Ils n'ont pas d'influence sur la viabilité de l'organisme.
- Ils varient entre les cellules, tissus, individus et populations.
- Ils ne présentent pas d'homologie avec les chromosomes A.
- Ils affectent le comportement mitotique par élimination de distribution préférentielle (Reiger et *al.*, 1991).
- Ils augmentent le taux de crossing-over et les fréquences de recombinaisons.
- Ils causent l'augmentation des chromosomes impairs (l'infertilité).

8. Caryotype

La technique classique de Feulgen permet de construire un caryotype pour chaque espèce. Le caryotype est un classement des chromosomes par paire homologue L'étude des caryotypes se fait généralement en métaphase mitotique où les chromosomes sont bien individualisés et présentent la meilleure morphologie.

Différents paramètres interviennent dans la description de la morphologie des chromosomes : le nombre de chromosomes, la taille des chromosomes, la structure ou la

morphologie des chromosomes (position du centromère, taille des bras, répartition des bandes sombres et claires sur les chromosomes et la présence ou non des satellites). D'autres caractères sont également utilisés pour l'étude des caryotypes ; la longueur totale des chromosomes, la longueur relative des chromosomes, l'asymétrie du caryotype mesurée par l'indice d'asymétrie (IAs %), le rapport de la plus longue paire de chromosomes sur la paire de chromosomes la plus courte.

Le caryotype est représenté par une plaque métaphasique, un caryogramme et un idiogramme.

Le caryogramme qui consiste, à partir d'une photographie d'une cellule en métaphase. Pour établir un caryogramme il faut connaître pour chaque chromosome : sa morphologie, sa longueur totale (LT) et leur type chromosomique pour pouvoir apparier avec son homologue ; puis classer les chromosomes homologues par longueur totale décroissante.

L'idiogramme est la représentation schématique et idéale des chromosomes d'un caryotype à partir de plusieurs caryogrammes d'au moins de trois plaques métaphasiques.

On peut distinguer 4 types chromosomiques selon la position des centromères :

-chromosomes métacentriques : le centromère est en position central (position médiane) ce qui lui donne des bras de longueurs à peu près égales.

-Chromosomes sub-métacentriques : le centromère est presque en position centrale ; les chromatides de ce chromosome présentent des bras de longueurs inégales (un bras court « C » et un bras long « L »).

-chromosomes acrocentriques : le centromère est plus proche de l'une des deux extrémités (les télomères) le bras court et très bref.

-chromosome télocentrique : présente un centromère très proche de ses télomères.

En cas de perte du centromère (anomalie), le chromosome est dit acentrique. D'autres anomalies peuvent provoquer l'apparition d'un chromosome possédant deux centromères nommé chromosome dicentrique. Celui-ci est instable et peut se casser (lors de la méiose) (Lemonde et Clément, 1983) (Figure3).

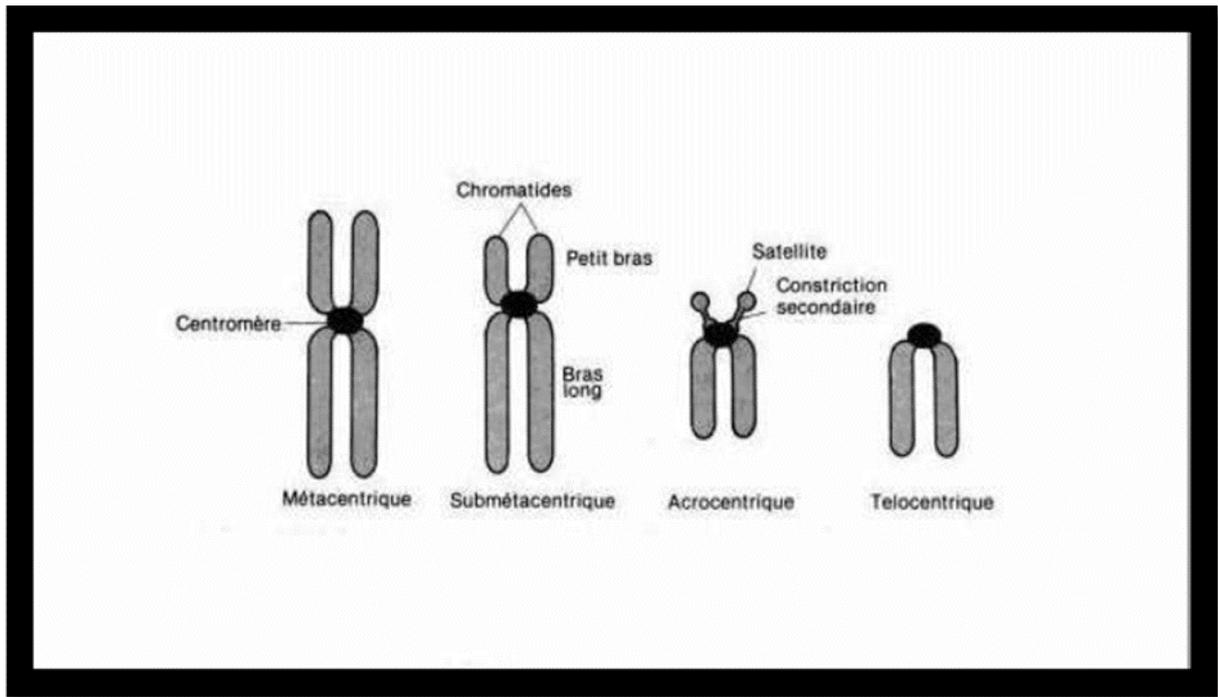


Figure 4 : Présentation schématique des différents types de chromosomes (André et *al.* 1983).

Chapitre II

Matériel et méthodes

1. Matériel

Notre matériel est composé de graines et de boutons floraux, qui appartiennent à 2 populations poussant dans des conditions naturelles de l'espèce *Hedysarum coronarium* L., prélevés de deux régions de l'Est Algérien (Tableau 1).

Tableau 1 : Origine géographique et étage bioclimatique des populations étudiées

Populations	Localité	Altitude	Latitude	Etage bioclimatique
Population 1	Constantine			Semi aride
Population 2	Annaba			

2. Méthodes

2.1. Etude de la mitose

2.1. 1. Scarification

Les graines présentent une enveloppe parfois très robuste qui ralentit considérablement le processus de germination. La scarification permet de briser l'enveloppe protectrice de la graine pour faciliter la pénétration de l'eau et le développement de la racine (pour lever la dormance tégumentaire).

2.1. 2. Germination

Après scarification manuelle, les graines sont désinfectées dans l'eau de javel diluée à 50% pendant 5 minutes, suivie d'un rinçage à l'eau distillée. Les graines sont mises à germées dans des boîtes de pétri tapissées de papier filtre, imbibé d'eau distillé et placées à la lumière du jour et à température ambiante. La durée de la germination varie entre 24h à 48h.

2.1. 3. Prélèvement

Le prélèvement des racines a lieu au moment où le pourcentage de cellules en division mitotique est élevé (Jahier, 1992). Lorsque les racines atteignent une longueur de 0.5 à 1cm, on les prélève entre 9h à 9h30.

2.1.4. Prétraitement

IL se fait par trempage des racines dans un agent mitoclasique qui a pour effet principal de bloquer les divisions mitotiques au stade métaphasique et de contracter les chromosomes.

Nous avons effectué un prétraitement à la 8-hydroxyquinoleine pendant 2h à 3h à une température de 16°C.

2.1.5. Fixation

Le fixateur détruit toute vie cellulaire. Il doit avoir une action rapide pour bloquer toute évolution des divisions cellulaires et permettre de conserver l'intégrité structurale des chromosomes.

Les graines sont fixées dans le carnoy I (3V d'éthanol et 1V d'acide acétique) pendant 24h à 48h dans le réfrigérateur à 4°C.

2.1.6. Stockage

Le matériel peut être conservé pendant plusieurs mois dans l'éthanol, le plus souvent éthanol 70%. Certain fixateurs comme le Carnoy I peuvent servir de solution de stockage.

2.1.7. Hydrolyse

Cette étape est généralement nécessaire pour obtenir ultérieurement un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelle, elle permet aussi de ramollir la pointe racinaire pour faciliter l'écrasement.

Après rinçage les graines sont plongées dans une solution d'HCL 0.2% à 60°C pendant 12 minutes.

2.1.8. Coloration

La technique de coloration est décrite la première fois par Feulgen en 1929. Le colorant se fixe sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse pour donner une coloration rouge aux chromosomes.

Elle se fait par trempage des racines dans le réactif de Schiff pendant 30min à 1h à l'obscurité et à température ambiante.

2.1.9. Montage

La zone méristématique hydrolysée est isolée, déposée sur une lame et lamelle dans une goutte d'acéto-orceïne et écrasée en appliquant des petits coups rapides sur la préparation afin d'assurer un bon étalement des chromosomes.

2.1.10. Observation microscopique et photographiques

Les cellules en division sont repérées au microscope photonique à l'aide d'un objectif de faible grossissement 10. Pour l'observation des chromosomes, un grossissement supérieur est nécessaire X50 puis X100.

Nous sélectionnons les bonnes plaques mitotiques complètes bien colorées et qui présentent à peu près toute le même degré de spiralisation.

Les photographies sont prises avec un photomicroscope type LEICA DM4000 B LED à l'objectif à immersion (X100).

2.2. Etude de la méiose

2.2. 1. Prélèvement

Les comportements méiotiques sont analysés au niveau des cellules mères des grains de pollen (CMP) afin de déterminer les associations chromosomiques et de noter les anomalies.

La méiose est généralement observée dans la partie médiane des inflorescences en grappe. L'inflorescence au bon stade est accessible facilement, il suffit de cueillir lorsque la hampe florale apparaît. Cette inflorescence est constituée de fleurs à différents stades de développement, on peut ainsi observer des stades de méiose différents.

Les meilleurs moments de prélèvement, à forte activité méiotique, sont réalisés en début de matinée (température fraîche et humidité élevée).

2-2-2. Fixation

Les jeunes boutons floraux sont fixés dans la solution de Carnoy I (Ethanol-acide acétique 3V/1V) pendant 48 heures au réfrigérateur.

2.2.3. Conservation

Le matériel est conservé à 4°C dans une solution d'éthanol à 70% pour les manipulations ultérieures.

2.4-Coloration

La coloration des boutons floraux se fait dans du carmin acétique.

2.2.5. Montage des lames

Le montage se fait sous la lampe binoculaire entre lame et lamelle. Une fois les pièces florales écartées, l'étamine est prélevée puis dilacérée dans une goutte de carmin acétique à 1% à l'aide d'une aiguille montée sur un roule goupille. Les cellules mères du pollen (C.M.P) sont libérées et dispersées dans le colorant et les débris de l'anthere sont retirés. L'étalement des cellules est réalisé en exerçant une légère pression sur la lamelle.

2.2.6. Observation et photographies

Elle se réalise dans les mêmes conditions que celles décrites pour la mitose. Les photographies sont prises avec l'objectif à immersion (X50 et X63).

2.3. Mesures et établissement du caryotype

Les caryotypes sont construits d'après des mesures effectuées sur trois plaques métaphasiques pour chaque espèce. Les différentes mesures effectuées sont les suivantes :

- calcul de la longueur des bras longs (BL) ;
- calcul de la longueur des bras courts (BC) ;
- calcul des longueurs totales ($LT=BL+BC$) ;
- calcul des longueurs totales relative ($LTR= (LT/ \sum LT) \times 1000$) ;
- calcul des valeurs moyennes des rapports bras long sur bras court ($r= BL/BC$) ;
- calcul de la différence entre la longueur du bras long et la longueur du bras court ($d=BL- BC$) ;
- calcul des indices centromériques ($IC= (BC/LT) \times 100$) ;
- calcul de l'indice d'asymétrie du caryotype ($IAS\% = \sum BL \times 100 / \sum LT$).

Pour reconnaître les types chromosomiques, nous nous sommes basées sur la nomenclature chromosomique proposée par (Levan et *al.*1964) (tableau 1).

Tableau 2 : Nomenclature chromosomique concernant la position du centromère proposé par Levan et *al* (1964).

Position du centromère	D	r	Ic	Type chromosomique	
Position médiane	00.0	01.0	50.0	Métacentrique Sensu stricto	M
Région médiane	00.0-02.5	01.0-01.7	50.0-37.5	Métacentrique Sensu largo	m
Région submédiane	02.5-05.0	01.7-03.0	37.5-25.0	Submétacentrique	sm
Région subterminale	05.0-07.5	03.0-07.0	25.0-12.5	Subtélocentrique	st
Région terminal	07.5-10.0	07.0-∞	12.5-00.0	Acrocentrique	t
Position terminale	10.0	∞	00.0	Télocentrique	T

r : bras long/ bras court

d : bras long- bras court

Ic : indice centromérique

Chapitre II

Résultats et discussions

1-Etude de la mitose

La mitose ou division cellulaire est un mode de reproduction asexuée des cellules eucaryotes permettant leur multiplication. Elle conduit, à partir d'une cellule mère, à la formation de deux cellules filles identiques génétiquement, entre elles et avec la cellule mère, car au cours de ce processus, les chromosomes de la cellule mère sont dupliqués et répartis également entre les cellules filles. Chez les organismes pluricellulaires, c'est le principal facteur responsable de la croissance des tissus. Classiquement le processus dynamique de la mitose est divisé en quatre phases : prophase, métaphase, anaphase et télophase.

Le stade de métaphase est caractérisé par la disposition médiane des chromosomes ou ces derniers sont bien visibles et ils atteignent leur condensation maximale.

A ce moment les chromatides de chaque élément sont nettement séparés l'une de l'autre, mais restent toujours reliés toutes les deux au centromère qui lui n'est pas encore clivé. C'est par le centromère que chaque élément s'accroche aux fibres fusoriales.

Pour observer aisément les différentes phases de la mitose et les chromosomes, il est préférable d'utiliser de jeunes organes en croissance dans lesquels les mitoses sont nombreuses.

1.1. Dénombrement chromosomique

Six populations de l'espèce *Hedysarum coronarium* L., ont été récoltées de l'Est Algérien (Annaba, Constantine, Daraan et Milia) mais les résultats de deux seulement sont représentés à cause des difficultés rencontrés sur le plan pratique.

Nous avons travaillé sur plusieurs individus appartenant aux deux populations étudiées (population de Constantine et de Annaba). L'observation des plaques métaphasiques à montrer que les nombres chromosomiques de ces deux populations est $2n = 2x = 16$ chromosomes soit $x = 8$. Ces populations sont donc diploïdes.

Nos résultats confirment le nombre chromosomique observé chez l'espèce *H. coronarium* et chez l'ensemble des espèces étudiées du genre *Hedysarum* $2n=16$ chromosomes signalé par différents auteurs (Abdelguerfi, 1988 ; Falistocco et Maurelli, 1990 ; Benhizia et al. 2003 ; Issolah et al. 2006 et Benhizia et al. 2013, 2014). Le nombre chromosomique $2n = 18$ chromosomes observé par Issolah et al. 2006 chez certaines populations récoltées dans le centre de l'Algérie n'a pas été trouvé (Figure 5).

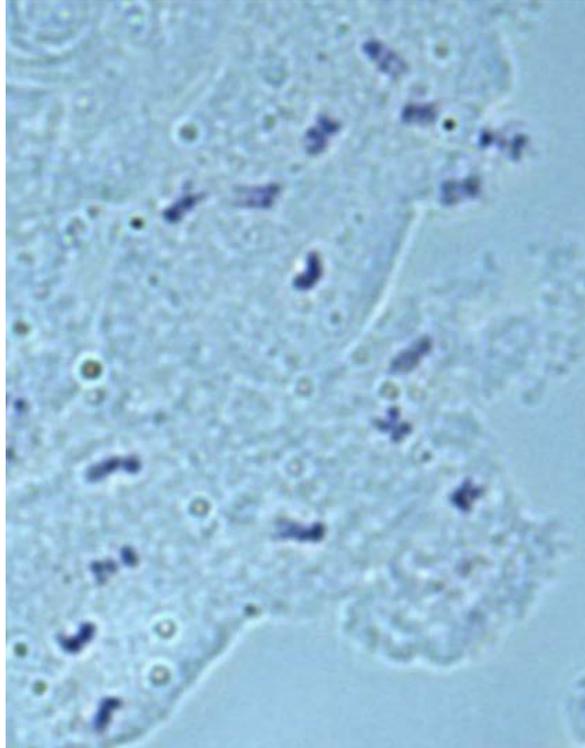


Figure 5 : plaque métaphasique à $2n = 2x = 16$ chromosomes.

1 .2. Etablissement du caryotype

La description du caryotype repose sur plusieurs paramètres : la longueur totale (LT), la longueur relative (LR), le rapport du bras long sur le bras court (r), et l'indice centromérique (Ic).

Les mesures sont effectuées sur les chromosomes de 3 plaques métaphasiques. Les données numériques concernant la garniture chromosomique de l'espèce sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3. Données numériques concernant la garniture chromosomique de l'espèce *Hedysarum coronarium* L. en μm .

N° des paires chromosomiques	Bras courts	Bras longs	Longueur Totale	Rapport BL/BC	Longueur totale relative	Indice centromérique	Types chromosomique
1	0.83	1.36	2.19	1.63	138.78	37.89	m
2	0.75	1.37	2.12	1.81	134.34	35.37	sm
3	0.75	1.32	2.07	1.76	131.17	36.23	sm
4	0.76	1.25	2.01	1.64	127.37	37.81	m
5	0.88	1.12	2	1.27	126.74	44	m
6	0.72	1.18	1.9	1.63	120.40	37.89	m
7	0.74	1.07	1.81	1.44	114.70	40.88	m
8	0.78	0.96	1.68	1.23	106.46	46.42	m

L'étude caryologique montre que cette espèce possède un caryotype diploïde à $2n=2x=16$ chromosomes soit $x=8$ (Figure 6 a et b).

D'après les calculs, les deux populations étudiées présentent des chromosomes de taille réduite. La taille des chromosomes varie de $1.68 \mu\text{m}$ à $2.19 \mu\text{m}$, ces valeurs montrent que les chromosomes de ces populations ont une taille plus grande que les autres populations de la même espèce $1.28 \mu\text{m}$ à $1.97 \mu\text{m}$ (Issolah et *al.* 2006).

La valeur du rapport de la taille entre la paire la plus longue et la paire la plus courte des deux populations est faible ($0.51 \mu\text{m}$).

Le caryogramme de l'espèce est constitué de 8 paires chromosomiques numérotées de 1 à 8 selon l'ordre décroissant de leur longueur totale. La plupart de ces paires sont métacentriques, six paires de chromosomes métacentrique (1, 4, 5, 6, 7 et 8) et deux paires de chromosomes sont submétacentriques (2 et 3) (Figure 6 a).

Le rapport entre la longueur des bras longs et celle des bras courts varie entre $1.23 \mu\text{m}$ et $1.81 \mu\text{m}$. Les valeurs de l'indice centromérique varient de $35.37 \mu\text{m}$ et $46.42 \mu\text{m}$. Ceci indique

que les chromosomes sont de type métacentrique et submétacentrique. La formule chromosomique est donc :

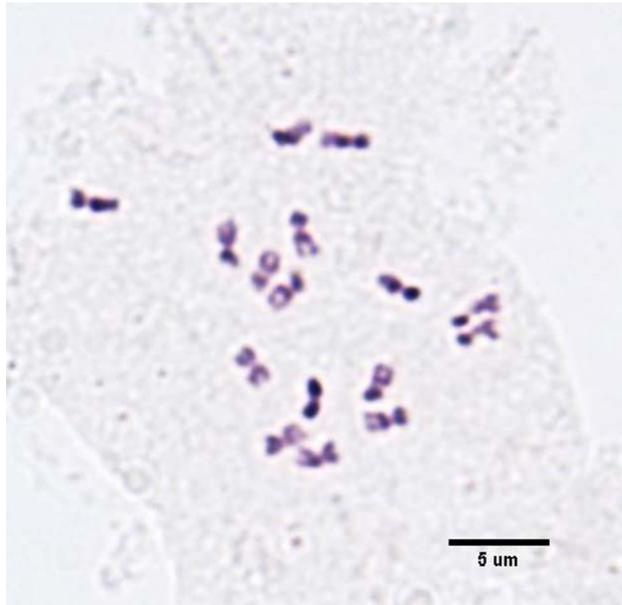
$$2n = 2x = 16 = 6m + 2sm$$

Les caryogrammes et les idiogrammes des deux populations ne montrent aucune variation significative concernant la taille et le type des chromosomes (Figure 6 b, c). Pour cela, les données numériques concernant la garniture chromosomique, de seulement de la population de Constantine sont présentées dans le tableau 3. Nous avons constaté des différences dans le type chromosomique entre nos populations et les populations du centre d'Algérie de la même espèce qui montre l'absence totale des paires submétacentriques comme indiqué par (Issolah et *al.* 2006).

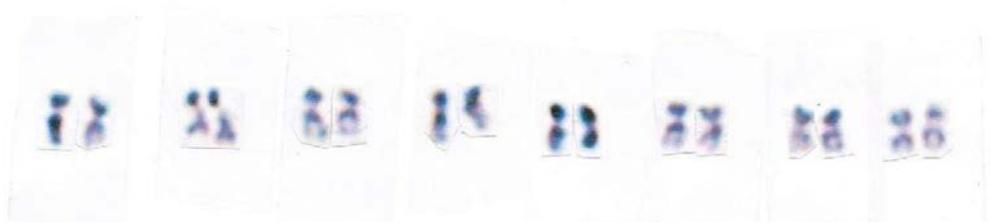
Le caryotype des deux populations présente des chromosomes de taille voisine ayant des centromères médiane ou submédiane, et un indice d'asymétrie égale à 59% Ce qui indique que le caryotype est symétrique tant pour la forme que pour la taille. Ceci a été également signalé chez d'autres populations d'*H. Coronarium* (IAs = 58%) (Issolah et *al.* 2006)

Figure 6 : Caryotype de l'espèce *Hedysarum coronarium* L. (population de Constantine)

- a) plaque métaphasique à $2n = 2x = 16$ chromosomes
- b) Caryogramme
- c) Idiogramme



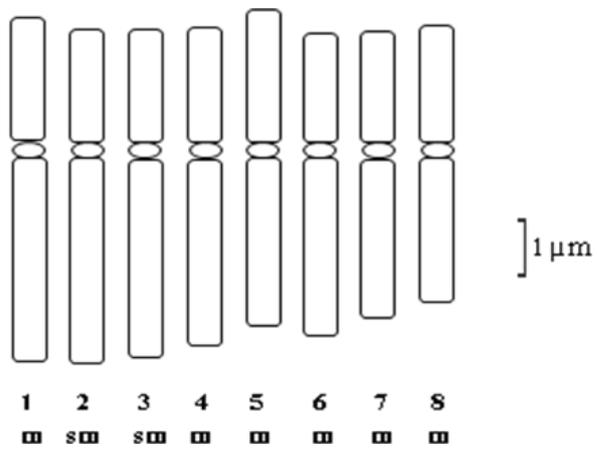
a)



b)

1	2	3	4	5	6	7	8
m	sm	sm	m	m	m	m	m

c)



2- Etude du déroulement de la méiose

La méiose est une division cellulaire réductionnelle, conduisant à la formation des gamétophytes, c'est au cours de la méiose que se produisent les échanges géniques entre les génomes parentaux.

L'étude du comportement méiotique permet de distinguer les populations les unes des autres indépendamment de leur relation morphologique.

La mise en évidence de figures de méiose chez les végétaux est plus difficile à réaliser que celles de mitose. En effet, la plupart des plantes à fleurs ont une période de différenciation des cellules mères des spores assez courte, très précoce dans le temps et souvent très différente de la période de maturité des fleurs. Ainsi, même si les jeunes étamines sont un matériel de choix pour la mise en évidence de figures de méiose, la principale difficulté consiste à récolter les anthères au moment où les cellules mères des pollens (CMP) subissent la méiose.

Pour notre matériel d'étude, les méioses ont généralement été observées dans la partie médiane des inflorescences en grappe. Rappelons que la floraison est asynchrone au niveau de la grappe, les grains de pollen sont déjà formés dans la partie apicale, les cellules mères du pollen ne sont pas encore différenciées.

Lors de notre travail, on a eu beaucoup de difficultés à trouver des stades de prophase et exactement le stade de diacinèse avec des bivalents bien nets malgré les modifications réalisées au niveau du temps de récolte des boutons floraux, le temps de l'hydrolyse... etc. Le problème majeur été dans la fixation, nous avons utilisé de l'éthanol qui n'été pas de bonne qualité.

Les différentes configurations méiotiques obtenues sur les cellules analysées au stade diacinèse montrent en général, que l'appariement des chromosomes homologues se fait essentiellement sous forme de bivalents, en anneau, en V et en croix. La présence constante de huit bivalents (8) confirme le nombre chromosomique $2n = 2x = 16$ observé en mitose pour les deux populations étudiées. L'espèce *H. coronarium* présente donc un caryotype diploïde (Figure 7 a et b).

Nos résultats ne montrent pas un nombre chromosomique $2n = 18$ comme signalé par Issolah et al. (2006). Une étude plus approfondie serai nécessaire.

L'étude de la méiose des deux populations n'a révélé aucune anomalie comme les chromosomes retardataires, les ponts de chromatine... etc. Donc, La méiose se déroule de façon régulière pour ces populations (Figure 7).

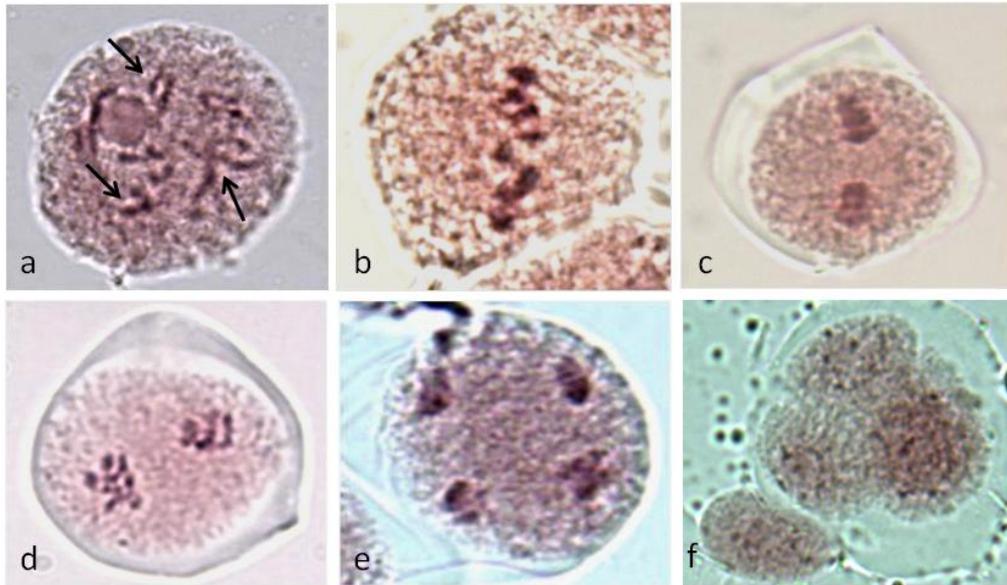


Figure 7: Méiose pollinique chez *H. coronarium*: (a) Prophase ; (b) métaphase I a 8 bivalents ; (c) Fin de la métaphase I; (d) Anaphase I; (e) Télaphase II. (f) Tétrade.

3- Chromosomes B

L'observation des différents stades méiotiques a montré la présence des chromosomes B au niveau de la population d'Annaba. Deux chromosomes B sont observés lors de la première division méiotique au niveau des stades prophase I, métaphase I et anaphase I. Ce sont des chromosomes de petite taille, situés généralement à la périphérie des cellules. Ces chromosomes se présentent sous forme d'univalents et ne s'apparient pas avec les huit bivalents observés. Leur nombre est variable parmi les cellules d'un même individu et entre les individus d'une même population (Figure 7).

Les travaux effectués sur les chromosomes B ont souvent montré l'existence d'une corrélation entre leur présence et des facteurs écologiques spécifiques comme la quantité de pluie

(Hewitt et John, 1967), la température (Hewitt et Brown, 1970) ou la teneur en argile du sol (Bosemark, 1967). Certains auteurs ont noté une corrélation entre le nombre de chromosomes B et les conditions défavorables de l'environnement. Par exemple, chez *Allium schoenoprasum*, les individus possédant des chromosomes B seraient plus résistants et survivent mieux que ceux qui n'ont en pas (Gorenflot et Raicu 1980).

Dans le cas de la population de Annaba, on peut lier la présence des chromosomes B aux facteurs anthropiques. Cette population se situe en bord de route. Les populations de l'espèce *H. perrauderianum* qui poussaient en bord de route présentaient également des chromosomes B (Benhizia et al. 2013).



Figure 8 : Chromosomes B en méiose : (a) stade diacinèse avec 2 chromosomes B ;
(b) fin de métaphase avec 2B ; (c) Télaphase I avec 2B.

Conclusion

Les espèces du genre *Hedysarum*, constituent un patrimoine d'un grand intérêt agro-économique grâce à leur qualité fourragère et leur capacité à améliorer la fertilité des sols par la fixation de l'azote atmosphérique. Elles peuvent être ainsi exploitées dans l'amélioration des sols dégradés, surtout dans les zones arides et semi-arides.

L'étude cytogénétique est une étape indispensable pour connaître et favoriser le développement d'une plante. Différents travaux ont été effectués sur le genre *Hedysarum* du point de vue morphologique et génétique. Ces travaux méritaient d'être complets par une approche cytogénétique plus poussée.

L'objectif de ce travail était de voir si les populations de l'espèce *H. coronarium* qui poussent à l'Est algérien présentent deux nombres de chromosomes $2n = 16$ et $2n = 18$ chromosomes comme les populations décrites par Issolah *et al.* (2006) qui poussent dans le centre de l'Algérie.

Notre étude réalisée sur deux populations de l'espèce *H. coronarium* qui poussent dans l'Est de l'Algérie. Ces populations ont été récoltées de la région de Annaba et Constantine. Nous avons confirmé à travers cette étude le nombre chromosomique $2n = 16$ chez le diploïde *H. coronarium* soit $x = 8$. Les dénombrements chromosomiques effectués sur les cellules métaphasiques et méiotiques observées ne montrent pas de nombre $2n = 18$ chromosomes.

Il est possible que le nombre de chromosome $2n = 2x = 18$ observé chez certaines populations de l'espèce *H. coronarium* dans le centre de l'Algérie n'est que le nombre $2n = 16 + 2B$ observé dans la population de Annaba.

On 'aurait aimé avoir les résultats des quatre autres populations (population de constantine, annaba, milia, daran.) pour confirmer ou infirmer cette hypothèse. Il serait intéressant de reprendre le travail sur un échantillon plus large.

Nous avons établi le caryogramme et l'idiogramme de l'espèce *H. coronairum* grâce à la technique de Feulgen. Le caryotype est diploïde $2n = 2x = 16$, comprend 8 paires de chromosomes, deux chromosomes sont submétacentrique et les six autres chromosomes sont métacentriques. La taille des chromosomes est petite, est elle varie de $2.19 \mu\text{m}$ à $1.68 \mu\text{m}$, toutes les paires sont sensiblement de la même dimension, ce qui indique un caryotype symétrique.

Le comportement méiotique s'est révélé similaire entre les populations étudiées. Elles présentent une méiose régulière. La population de Annaba qui se trouve en bord de route, présente deux chromosomes B. leur présence peut être lié aux pressions anthropiques.

Références bibliographiques

- **Abdellaoui Z. (2014)** : Contribution à l'étude de la germination et des premiers stades de développement de *Hedysarum sp.*

- **Abdelguerfi A. (1989)** : Quelques réflexions sur la situation fourragère et pastorale en Algérie. In. "Constitution de réseaux thématiques de recherche agricole au Maghreb". (A. Birouk, A. Ouhsine, et. T. E. Améziiane, eds.) Rabat, Maroc. 75-78pp.

- **Abdelguerfi Berrakia R., Abdelguerfi A., Bounaga N., Guittonneau G.G. (1988)** : Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Hedysarum L.* en Algérie. Etude auto écologique. Ann. Inst. Nat. Agro. El-Harrach. 12 : 191-219pp.

- **Allen O.N., Allen E.K. (1981)**: The Leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation. Univ. Wisconsin Press, Madison, WI : 324-325pp.

- **Ameziane T. E., Berkat O. (1989)** : Production fourragère et pastorale au Maroc : bilan succinct des acquis et orientation des recherches. In. "Constitution de réseaux thématiques de recherche agricole au Maghreb". (A. Birouk, A. Ouhsine, et. T. E. Améziiane, eds.) Rabat, Maroc, 83-87pp.

- **Baatout H., Combes D et Marrakchi M., (1991)**: Reproductive system and population structure in two *Hedysarum* subspecies. 1. Genetic variation within and between populations. Genome, 34: 396-406pp.

- **Baatout H., Marrakchi M et Pernes J. (1990)**: Electrophoretic studies of genetic variation in natural populations of allogamous *Hedysarum capitatum* and autogamous *Hedysarum euspinosissimum*, Plant Science. 69 : 49-64pp.

- **Bayere., Buttlerk P., Finkenzelle et Granj. (1990)** : Guide de la flore méditerranéenne.

- **Ben Fadhel N., Afif M et Boussaïd M. (2006)** : Structuration de la diversité génétique de *Hedysarum flexuosum* en Algérie et au Maroc. Implications sur sa conservation. Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie, BP 676, 1080 Tunis cedex, Tunisie. Fourrages.186 : 229-240pp.

- **Benhizia H., Rached-Mosbah O., Benhizia Y., Kouachi A et Khalfallah N. (2003) :** Etude cytogénétique d'*hedysarum pallidum* desf. espèce endémique nord-africaine, tolérante à l'antimoine. Université Mentouri Constantine, Algérie Laboratoire d'Ecologie, Faculté des Sciences.

- **Ben Jeddi, F., Zouaghi M et Behaeghe T. (1998) :** Le Sulla sauvage : biodiversité et création variétale. In "Actes du premier séminaire international sur la mobil 387-397pp.

- **Ben jeddi Ma. ir. F. (2005) :** *Hedysarum coronarium* l. variation génétique, création variétale et utilisation dans des rotations tunisiennes. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur (Ph.D.) en Sciences Biologiques Appliquées.

- **Bentham G., Hooker J. D. (1865):** Genera Plantarum, London Reeve. 1-40pp.

- **Bigourdan R. (1933) :** La culture du sulla. La Tunisie agricole 10. 156-160pp.

- **Bonciarelli F., Monotti M. (1976) :** Grimaldi Una nuovavariota di sulla (*Hedysarum coronarium* L.). Revista di agronomia. 10 : 52-56pp.

- **Bonnier G. (1934) :** Flore complète illustrée en couleurs de France Suisse et Belgique (comprenant la plupart des plantes d'Europe). Tome troisième. 84-85pp.

- **Bosemark N.O. (1967):** Edaphic factors and the geographical distribution of accessory chromosomes in *Phleum phleoides*. Hereditas, 57: 239-262.

- **Bouajila K., Ben Jeddi F et Sanaa M. (2014) :** Effet de la décomposition des résidus de sulla (*Hedysarum coronarium* L.) sur l'évolution des caractéristiques chimiques de deux types de sol en climat aride Tunisien. J. Mater. Environ. Sci. 5 (3) : 723-730pp.

- **Boussaid M., Ben Fadhel N., Trifi Farah N., Abdelkefi A et MARRAKCHI M. (1995) :** Les espèces Méditerranéennes du genre *Hedysarum* L. In : Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon. BRG/INRA. France. 115-1pp.

- **Bullita S., Bullita P et Saba P. (2000)** : “Seed production and its components in sardinian germplasm of *H. coronarium*L. and *H. spinosissimum*L.”, Cahiers Options Méditerranéennes. 45 : 355-358pp.

- **Camacho J.P.M., Bakkali M., Corral J.M., Cabrero J., Lopez Leon M.D., Aranda L., Martin Alganza A et Perfectti F. (2002)** : Host recombination is dependent on the degree of parasitism. Proc. R. Soc. Lond. B., 269: 2173-2177. Caractéristiques, habitat, distribution et particularités de 536 espèces, Ed. Delachaux et Niestlé, Paris.80pp.

- **Chisci G.C., Bazzoffi P., Pagliai M., Papini R., Pellegrini S et Vignozzi N. (2001)** : Association of sulla and atriplexshrub for the physicalimprovement of claysoils and environmental protection in central Italy Agriculture, Ecosystems and Environment. 84:45-53pp.

- **Chriki A. (1982)** : Analyse génétique et biochimique de la pigmentation florale chez *Hedysarum coronarium L.* Thèse de Doctorat de 3ème cycle. Faculté des Sciences de Tunis. 93p.

- **Clarde C. (1990)** : Les adventices des cultures méditerranéennes en Tunisie : leurs plantules, leurs semences. Ministère de l’Agriculture, Tunisie/AGCD, Belgique. Publication agricole. 26 : 246-247pp.

- **Cohen S., Houben A et Segal D. (2008)**: Extrachromosomal circular DNA derived from tandemly repeated genomic sequences in plants. Plant Journal, 53: 1027-1034.

- **Cohen S., Yacobi K et Segal D. (2003)** : Extrachromosomal circular DNA of tandemly repeated genomic sequences in Drosophila. Genome Research, 13: 1133-1145

- **Faegri K., Deuse P. (1960)**: Size variation in pollen grains with different treatments. Pollen et Spores, 2: 293-298pp.

- **Falisticco E., Maurelli L., (1990):** Chromosome study in *Hedysarum coronarium* L. *Annali di Botanica* (Rome), 48: 81-86.
- **Figier J. (1982) :** Etude de la variabilité et du déterminisme de la morphologie de *Hedysarum coronarium* L. en Tunisie. Implications concernant l'amélioration de cette plante fourragère dans ce pays. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Paris-Sud .Orsay. 236pp.
- **Frame D. (2000):** *Hedysarum coronarium* L, Leguminosae F.A.O.
- **Free J.B. (1993):** Leguminosae: Other leguminosae. Insect pollination of crops 2^{dedition}. University of Wales, Cardiff, U. K. Academic Press Harcourt Brace Jovanovich, Publishers.
- **Goudjil-Benhizia H. (2014) :** Caractérisation cytogénétique classique et moléculaire de trois espèces endémiques du genre *Hedysarum* L. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Constantine. Algérie.
- **Gorenflot R., Raicu P. (1980) :** Cytogénétique et évolution. Ed. Masson, 181p
- **Grimaldi A. (1961) :** Osservazioni e ricerchemorfobiologiche sopra la sulla (*Hedysarum coronarium* L.). *Ann. Fac. Agr. Perugia* 16, 3-28pp.
- **Hannachi-Salhi A., Combes D., Baatout H., Figier J., Boussaid M., Marrakchi M et Trifi Farah N. (2002) :** Evaluation des ressources génétiques des espèces du genre *Hedysarum* dans le bassin méditerranéen. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 130: 65-72pp.
- **Hewitt G.M., Brown F.M. (1970):** The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* V. A steep cline in East Anglia. *Heredity*, 25: 363-371.
- **Hewitt G.M., John B. (1967):** The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb) III. The statistics. *Chromosoma*, 21: 140-162.

- **Hyam R., Pankhurst R. (1995) :** Plants and their names. In. "A concise dictionary". Royal botanic garden Edinburgh. (Oxford University Press,ed.). 545pp.

- **Jackson R.C., Ngan N et Hao N. (2002):** Chromosome-specific desynapsis in the $n = 2$ race of *Haplopappus gracilis* (Compositae). American Journal of Botany, 89(5) : 777-782.

- **Jonathan C. Lamb. (2007):** localization and transcription of retrotransposant-derived element on the maize B chromosomes. Chromosome Research 15: 383-398pp.

- **Jones R. N. (2012):** B chromosomes in plants. Plant Biosystems, 146 (3) : 727-737.

- **Jones R.N,Viegas W,Houben A.,(2008):** A century of B chromosomes in plants: So what?Ann Bot101:767-775.

- **Jones R.N., Viegas W et Houben A. (2008):** A Century of B chromosomes in plants – so what ? Annals of Botany, 101: 767-775.

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

- **Levan A., Freda K et Scandberg A., (1964):** Secondary association between genetically equivalent bivalent. Hereditas. 52:201-220pp.

- **López M.G., Wulff A.F., Poggio L et Xifreda C.C. (2005):** Chromosome numbers and meiotic studies in species of *Senecio* (Asteraceae) from Argentina. Bot. J. Linn. Soc., 148: 465-474.

- **Marghali S., Ghariani S., Marrakchi M et Trifi-Farah N. (2003) :** Diversité génétique révélée par des marqueurs AFLP entre populations d'*Hedysarum coronarium*L. Fourrages, 176 :493-504pp.

- **Martiniello P., Laudadio V., Pinto V et Ciruzzi B. (2000) :** Influence des techniques de culture sur la production du Sulla et du sainfoin en milieu méditerranéen. Fourrages.161 : 53-59pp.
- **Moore G., Sanford P et Wiley T. (2006):** perennial pastures for western Australia. Sulla (*hedysarum coronarium*). Herbace ou sperenniallegumes. Department of agriculture and food Western Australia, bulletin 4690, perth.
- **Pantulu J.V. (1960):** *Accessory chromosomes in Pennisetum typhoides. Current Science, 29: 28-29.*
- **Pinzanti, M., Magnani G. (1981) :** Ricerche comparative sull’-impollinazione de la sulla (*Hedysarum coronarium L.*) in diverse localit à toscane. Agricoltura 110, 117-127pp.
- **Polunin O. (1969):** Flowers of Europe. London, Oxford University Press NewYork, Toronto.
- **Pons A., Boulos L. (1972) :** Révision systématique du genre Sonchus L. III. Etude palynologique. Bot. Nat., 125: 310-319pp.
- **Prosperi J.M., Guy P et Balfourier F. (1995) :** Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon. Edition, BRG : Bureau des Ressources génétiques et INRA : Institut National de la Recherche Agronomique. Paris, France. 219pp.
- **Quezel P., Santa S. (1962) :** Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS. Tome I.PP : 1170.
- **Reiger R. Michaelis A.and Green M. M., (1991):** Glossary of genetics classical and molecular, New york.
- **Rollins R. C. (1940):** Studies in the genus *Hedysarum* in north America. Rhodera 42, (499), 217-239pp.

- **Rondia G., Deker A., Jabbar M et Antoine A. (1985)** : Produire plus de grains et de lait en Afrique du nord. Projet ferme modèle de Frétissa : rapport final. Publications agricoles n : 5. Ministère de l'Agriculture de Tunisie et Administration Générale de la Coopération au Développement Belge. Bruxelles. 389pp.
- **Sarno R., Stringi L et D'Alessandro F. (1978)**: The relationship between the morphological behavior and productivity and the altitude of provenance of some sulla (*Hedysarum coronarium* L.) populations. Quaderni di agronomia **9**, 141-167pp.
- **Semadeni A. (1976)** : Le sulla en Tunisie, (741).
- **Slim S. (2004)** : Amélioration fourragère et protection des terres par le Sulla "Bikra21" dans les gouvernorats de Zaghuan et de Siliana. Projet de Fin d'Etudes. INAT. 81pp.
- **Slim S., Ben Jeddi F. (2011)**. Protection des sols des zones montagneuses de la Tunisie par le Sulla du Nord (*Hedysarum coronarium* L.). Sécheresse **22** : 117-24pp.
- **Slim S., Ben Jeddi F., Belghith A et Zouaghi M. (2008)** : Revue de l'INAT. **23** N°1 : 199-206pp.
- **Sonet M., Jacob-Renacle A. (1987)** : Pollinisation de la légumineuse fourragère *Hedysarum coronarium* L. En Tunisie. Bulletin des recherches agronomiques de Gembloux. **22** : 19-32pp.
- **Trifi Farah N., Chatti W.S., Marrackchmi et Pernesj. (1989b)** : Analyse de la variabilité morphologique et enzymatique des formes cultivées et spontanées de *Hedysarum coronarium* L. Agronomie, **9**: 591-598pp.
- **Trifi Farah N., Chatti W.S., Marrackcmhi. et Pernesj. (1989)** : "Déterminisme génétique de dix systèmes enzymatiques chez *Hedysarum coronarium* L.", Agronomie. **9**: 503-510pp.
- **Turnel M., Cabrero J., Montiel E E., Manuel., Camacho J P M., (2009)** : Microdissection and chromosome painting of X and B chromosomes in locust *miqrotoria*. Chromosomes research. **17**: 11-18pp.

- **Villax E. J. (1963)** : "La culture des plantes fourragères dans la région méditerranéenne occidentale". In. Les cahiers de la recherche agronomique .INRA Rabat, Maroc, ed. (17), 641pp.
- **Watson M.J. (1982)**: *Hedysarum coronarium*, a legume with potential for soil conservation and forage. N. Z. J. Agric. Sci. 16: 189-193pp.
- **Wodehouse R.P. (1935)**: Pollen grains their structure, identification and significance in science and medicine. Hafner publish CO. NewYork.153-200pp.
- **Zouaghi M. (2001)** : Rôle du Sulla du nord (*Hedysarum coronarium* L.) dans les systèmes de culture selon les principes de base d'une agriculture durable. Journée d'étude sur les nouveautés dans la recherche. 5 Avril 2001 : l'amélioration du Sulla local comme source durable pour l'alimentation animale. INAT- CCSPS. Medjez El Bab. Tunisie.

Annexe

1- 8hydroxy quinoléine

- Un 0.003 g de 8hydroxy quinoléine poudre dans un 100ml de l'eau distillé.

La solution de 8hydroxy quinoléine est 0.002 m/l.

2- 3V/1V (Ethanol/ acide acétique)

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

3- Reactif de Sciff

- Fuschine vraie basique : 1g Merk
- H₂o bouillante : 200ml
- Hcl N : 20ml
- Metabisulfite Na ou K : 102g

Titre : Etude mitotique et méiotique de deux populations de l'espèce *Hedysarum coronarium* L.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et génomique végétale

Résumé

Deux populations de l'espèce *Hedysarum Coronarium* L., ont été récoltées de l'Est algérien (Annaba et Constantine). Ces populations ont fait l'objet de dénombrement chromosomique aussi bien en mitose somatique, qu'en méiose pollinique. Nous avons appliqué la technique classique de Feulgen afin de construire le caryotype des deux populations étudiées. L'étude des caryotypes se fait en métaphase mitotique où les chromosomes présentent la meilleure morphologie. Les résultats obtenus montrent un nombre chromosomique constant $2n = 2x = 16$ chromosomes. Le nombre $2n = 2x = 18$ chromosomes n'a pas été observé, on a trouvé seulement en plus des chromosomes A, deux chromosomes B. Le caryotype est constitué de huit paires chromosomiques dont deux paires sont submétacentriques et six chromosomes de type métacentrique. Les cellules analysées au stade diacinèse montrent huit bivalents associés en général en anneau, en V et en croix.

Mots clés : *Hedysarum coronarium*, mitose, méiose, caryotype, chromosomes B.

Laboratoire de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologie végétales.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. BOUSBA Ratiba (MCA - UFM Constantine).

Rapporteur : Dr. BENHIZIA Hayet (MCB - UFM Constantine).

Examineur : Mme GHIOUA Karima (MAA- UFM Constantine).

Date de soutenance : 19/06/2017