

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

*Université Mentouri-Constantine*  
*Faculté De Biologie*  
*Département De Biologie Végétale et Ecologie*

*N° d'ordre:*

*N° de série:*

*Mémoire*

*En vue de l'obtention du Diplôme de Magistère en*  
*Biotechnologies Végétales*  
*Ecole doctorale*

*Thème*

*Contribution à l'étude cytogénétique du*  
*genre Scorpiurus (L).*

*Présenté par*

*M<sup>elle</sup> Talhi Fahima*

*Soutenu le.../.../2011*

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	<b>Mr D. KHELIFI</b>	<b>Professeur à l'université Mentouri Constantine</b>
<b>Rapporteur :</b>	<b>Mme N. KHALFALLAH</b>	<b>Professeur à l'université Mentouri Constantine</b>
<b>Co-rapporteur :</b>	<b>Mr M. M'HAMMEDI</b>	<b>Maître de recherche à l'université Hassiba Ben</b>
	<b>BOUZINA</b>	<b>Bouali Chlef</b>
<b>Examineurs :</b>	<b>Mr A. ABDELGUERFI</b>	<b>Professeur à L'I.N.A</b>
	<b>Mme D. SATTA</b>	<b>Professeur à l'université Mentouri Constantine</b>

**Année Universitaire : 2010-2011**

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements à  
DIEU qui m'a donné le courage et la  
Volonté d'achever ce travail.*

*J'exprime aussi mes profonds remerciements à Mme Khalfallah N, professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Mentouri de Constantine, pour nous avoir donnés l'occasion d'accéder à l'espace de la recherche scientifique, pour sa patience, ses précieux conseils, sa grande disponibilité à l'aboutissement de ce travail. Qu'elle trouve ici mes sentiments de gratitude et de déférence.*

*A Mr M'Hammedi Bouzina M, Maitre de recherche à l'université Hassiba Ben Bouali de Chlef pour m'avoir proposé ce sujet de thèse et avoir codirigé mes travaux de recherches.*

*Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à monsieur Khelifi D, professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Mentouri de Constantine d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de ma thèse de magistère.*

*Je remercie monsieur Abdelguerfi A, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA ex. I.N.A), qu'il me fasse l'honneur de se déplacer et de faire partie du jury.*

*Je remercie également M<sup>me</sup> Satta D, professeur à l'Université Mentouri d'avoir accepté de juger ce modeste travail, qu'elle trouve ici ma profonde reconnaissance.*

*J'exprime mes vifs remerciements à Mme Fourki. M, ingénieur du laboratoire de cytogénétique pour son aide et ses précieux conseils et aussi à*

*monsieur Belbekri. N, ingénieur du laboratoire d'amélioration des plantes pour ses précieux conseils.*

*Mes remerciements chaleureux s'adressent à Mme Benamara. M, Mme Benhizia. H et Mr Baziz. K, pour qui j'éprouve beaucoup de sympathie, qui n'ont pas cessé de m'aider et de m'encourager durant ma pratique.*

*Mes sentiments de reconnaissance et de remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

## *DEDICACE*

*Je dédie ce travail à mes parents, qu'ils trouvent ici ma plus profonde gratitude et  
tout mon  
Amour pour leur soutien tout au long de mes études.*

*A mes sœurs et frères, et à toute la famille.*

*A tous mes amies et collègues.*

*A tous ceux que j'aime.*

# Sommaire

	<i>Page</i>
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
 <b>Chapitre I Synthèse bibliographique</b>	
<b>1- Généralités sur le genre <i>Scorpiurus</i>.....</b>	<b>3</b>
1-1 Description botanique.....	4
1-1-1 <i>Scorpiurus vermiculatus</i> (L.).....	5
1-1-2 <i>Scorpiurus muricatus subsp muricatus</i> (L.).....	5
1-2-3 <i>Scorpiurus muricatus subsp subvillosus</i> (L.).....	5
1-2-4 <i>Scorpiurus muricatus subsp sulcatus</i> (L.).....	6
1-2 Répartition géographique .....	12
1-3 Position systématique.....	15
1-4 Intérêt du genre <i>Scorpiurus</i> .....	16
<b>2- Principaux travaux.....</b>	<b>17</b>
2-1 Composition chimique.....	17
2-2 Autoécologie des taxons algériens.....	19
2-3 Autres travaux.....	21
<b>3- Caractères cytogénétique.....</b>	<b>23</b>
3-1 Caryotype.....	23
3-2 caryogramme.....	23
3-3 Idiogramme.....	23
3-4 Nucléole.....	24
3-5 Organismes nucléolaires (NORs).....	24
3-6 Chromatine.....	24

3-6-1 L'euchromatine.....	25
3-6-2 L'hétérochromatine.....	25

## ***Chapitre II matériel et méthodes***

<b>1- Matériel.....</b>	<b>26</b>
<b>2 –Méthodes cytogénétiques.....</b>	<b>27</b>
2-1- Coloration à l'acéto-orcéine.....	27
• Germination.....	27
• Prélèvement.....	27
• Prétraitement.....	27
• Fixation.....	27
• Conservation.....	28
• Hydrolyse.....	28
• Macération enzymatique.....	28
• Rinçage.....	28
• Coloration.....	28
• Montage des lames.....	28
• Observation et photographie.....	29
• Délamellation.....	29
• Montage permanent.....	29
2-1-1 Mesures et traitement des résultats et constriction des idiogrammes.....	29
2-2 Techniques différentielles au Giemsa (C-banding).....	32
2-3 Technique de coloration au nitrate d'argent.....	33

## ***Chapitre III Résultats et discussions***

<b>Résultats.....</b>	<b>34</b>
1-Dénombrement chromosomique.....	34
1-1 Etude du caryotype des populations diploïdes.....	34
1-2 Variabilité intra spécifique.....	37

1-3 Etude du caryotype des populations tétraploïdes.....	38
1-3-1 <i>Scorpiurus muricatus subsp subvillosus</i> L.....	38
1-3-2 <i>Scorpiurus muricatus subsp sulcatus</i> L.....	40
1-3-3 Variabilité intra spécifique.....	45
<b>2- Coloration au Giemsa (C-banding).....</b>	<b>46</b>
2-1 Chez le diploïde.....	46
2-2 Chez les tétraploïdes.....	46
<b>3- Coloration au nitrate d'argent (Ag NO3).....</b>	<b>47</b>
<b>Discussions.....</b>	<b>48</b>
1- Relation diploïdes- tétraploïdes.....	50
2- Liaisons interchromosomiques.....	50
3- C-banding.....	50
4- Nitrate d'argent.....	51
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>52</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>54</b>
<b>Annexe</b>	

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Composition chimique des espèces étudiées comparée.....	18
à d'autres genres de la même famille	
<b>Tableau 2:</b> Adaptation à quelques facteurs du milieu des taxons.....	20
du genre <i>Scorpiurus</i> rencontrées en Algérie	
<b>Tableau 3:</b> Données écologiques des populations étudiées.....	26
<b>Tableau 4:</b> Nomenclature chromosomique proposée par Levan et <i>al</i> (1964).....	31
<b>Tableau 5:</b> Caractères morphométriques des chromosomes.....	35
des trois populations de <i>Scorpiurus vermiculatus</i> (L.)	
<b>Tableau 6:</b> Caractères morphométriques des chromosomes.....	39
de <i>Scorpiurus muricatus subsp subvillosus</i> (L.) (Population 6)	
<b>Tableau 7:</b> Caractères morphométriques des chromosomes.....	41
de <i>Scorpiurus muricatus subsp sulcatus</i> (L.) (populations 8, 9, 10, 11 et 12)	
<b>Tableau 8:</b> Différences caryomorphologiques chez les.....	44
cinq populations de <i>Scorpiurus muricatus subsp sulcatus</i> (L.)	
<b>Tableau 9:</b> Détermination du nombre de nucléoles par.....	47
cellule chez l'espèce diploïde	
<b>Tableau 10:</b> Détermination du nombre de nucléoles par.....	47
cellule chez les deux sous espèces tétraploïdes	
<b>Tableau 11:</b> Comparaison des résultats obtenus avec ceux de la bibliographie.....	48

# INTRODUCTION

L'Algérie est très riche en ressources phytogénétiques à intérêt fourrager et pastoral, particulièrement en légumineuses. Elles occupent une importante place dans la flore algérienne, les espèces pastorales originelles à la région méditerranéenne sont plus de 500 Talamucci et Chaulet (1989). Les parcours, les pâturages et les jachères occupent une grande place et, jouent avec les produits de la céréaliculture un rôle très important dans l'alimentation des cheptels (Abdelguerfi et *al.*, 2000).

Malgré la diversité de ces ressources phytogénétiques et surtout de leurs adaptations aux contraintes locales, ce patrimoine reste peu étudié et sous exploité, alors qu'il a servi dans d'autres pays, à enrichir de nombreuses banques de gènes et à développer de nombreux cultivars dignes d'intérêt.

Les légumineuses occupent une place très importante parmi les espèces spontanées fourragères composant la flore algérienne, *Scorpiurus* en fait partie. Les taxons de ce genre possèdent un rôle très important dans l'amélioration des parcours et concourent au maintien de la fertilité des sols, M'hammedi Bouzina (1992).

Le genre *Scorpiurus* englobe quatre taxons : *Scorpiurus vermiculatus* diploïde à  $2n = 2x = 14$ , *Scorpiurus muricatus* tétraploïde à  $2n = 4x = 28$  subdivisé en trois sous espèces : *S. m. subsp sulcatus*, *S. m. subsp subvillosus* et *S. m. subsp muricatus*.

Ce genre a fait l'objet d'investigations depuis plusieurs années en Algérie.

Bensalem (1982) a mis en évidence les potentialités fourragères, pastorales et d'adaptation en fonction de plusieurs critères écologiques. Ouzzane (1988) mentionne la forte croissance du système racinaire de type pivotant de *S. vermiculatus* lui permettant de maintenir le sol. Grâce à une masse végétative importante, les espèces du genre, permettent un bon recouvrement du sol (Younsi, 1991 et 1996). Goumiri et Abdelguerfi (1991) soulignent leur richesse en protéines et leur qualité fourragère. M'hammedi Bouzina et *al.* (1989a, 1989b, 1989c, 1990 et 1991) analysent leur niveau de dureté pour une meilleure utilisation. Gadouche (1999) et Khouatmiani (2004) étudient l'héritabilité des caractères liés à leur infrutescence. M'hammedi Bouzina et *al.* (2005 et 2010) précisent leur distribution en Algérie. Ces espèces sont en définitive toutes indiquées pour intervenir au niveau de la résorption de la jachère, de la protection des sols contre l'érosion, de la mise en valeur, de l'amélioration des parcours et d'une manière générale dans l'augmentation de la production fourragère et pastorale.

Le centre d'origine du genre semble être l'ouest du bassin méditerranéen où l'espèce diploïde *S. vermiculatus* est signalée. Cette espèce est la plus isolée du genre tant d'un point de vue morphologique que caryologique. Les formes de fruits les mieux armés possèdent une plus grande capacité de dispersion. *S. sulcatus* présentant des gousses épineuses est cosmopolite, son mode de dispersion ectozoocore y a contribué (Bonet et Pausas, 2004).

L'aire de répartition du genre est surtout méditerranéenne, avec une présence des espèces tétraploïdes dans tous les continents. Des études écogénétiques fines peuvent permettre l'évolution du genre et orienter les populations les plus aptes à entrer dans un schéma d'amélioration des plantes.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la caractérisation cytogénétique de ce genre ; il s'agit d'établir les caryotypes de différentes populations des trois taxons.

Les techniques que nous avons appliquées sont celles de la cytogénétique classique: dénombrement chromosomique, hétérochromatine constitutive et activité nucléolaire.

Ce travail est structuré en trois parties :

**CHAPITRE I** : Présentation général du genre, nous avons abordé l'aspect botanique des trois espèces avec un bref rappel de quelques notions de cytogénétique.

**CHAPITRE II** : Matériel et Méthodes, il est question du matériel utilisé et des méthodes cytogénétiques appliqués.

**CHAPITRE III** : Résultats et Discussion, où nous avons abordé les résultats expérimentaux obtenus lors de l'application des différentes techniques citées plus haut avec leur interprétation.

Enfin, une conclusion récapitule les connaissances acquises lors de ce travail ; ainsi que les perspectives et les possibilités de poursuivre des recherches sur le genre dans le domaine étudié.

# CHAPITRE I

# SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

## 1- Généralités sur le genre *Scorpiurus*

Les espèces du genre *Scorpiurus* sont connues depuis l'antiquité, citées par Pline l'Ancien dans (*Naturalis Historia*) et par Dioscoride dans (*De Materia Medica*). (Abbate et *al.*, 2009). Avant la nomenclature binomiale, de nombreux botanistes, parmi lesquels Lobelius, Bauhin, Dodonoens (1557) et Parkinson ont décrit une ou plusieurs espèces de *Scorpiurus*, par une périphrase dont le premier terme est Scorpioïde. Ce terme selon Morison (1680) est dérivé de la similitude de la forme des fruits avec la queue du scorpion et de la conviction que la plante est un remède contre les piqûres de scorpion (Abbate et *al.*, 2009).

Ces espèces sont des légumineuses fourragères spontanées, de la tribu des Hedysarées et de la famille des Fabacées. Tournefort en 1719 est le premier auteur qui a subdivisé ce genre en six espèces. En 1753 Linné a réduit le nombre d'espèces à quatre. Après Linné, la plupart des auteurs ont confondu certaines espèces, et ont décrit de nouveaux taxons en se basant sur la diversification du fruit.

Par la suite, d'autres formulations ont été proposées pour clarifier la taxonomie de ce genre. Brotero (1804), Fiori (1900) et Thellung (1912) ont subdivisé le genre en deux espèces *Scorpiurus vermiculatus* et *Scorpiurus muricatus* avec plusieurs sous espèces et variétés.

Le genre *Scorpiurus* selon Quezel et Santa (1962), Heyn et Raviv (1966), Ball (1968) et Greuter et *al* (1989) comporte deux espèces : *Scorpiurus vermiculatus* et *Scorpiurus muricatus*. Chez cette dernière un polymorphisme morphologique tel que le degré de spiralisation et de contorsion des gousses a été utilisé pour définir deux sous espèces: *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* et *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus*.

Dominguez et Galiano (1974 a, 1974 b) dans une étude se basant sur des essais d'hybridation et à travers l'étude du caryotype, ont distingué quatre espèces : *Scorpiurus vermiculatus*, *Scorpiurus muricatus*, *Scorpiurus sulcatus* et *Scorpiurus subvillosus*.

Talavera et Dominguez (2000), confirment les quatre espèces définies par Dominguez et Galiano :

*Scorpiurus vermiculatus* L.

*Scorpiurus muricatus* L.

*Scorpiurus sulcatus* L.

*Scorpiurus subvillosus* L.

Benoît Bock (2004), dans l'Index synonymique de la flore de France ne reconnaît que trois espèces : *Scorpiurus vermiculatus*, *Scorpiurus sulcatus* et *Scorpiurus muricatus* avec deux sous espèces *Scorpiurus muricatus* subsp *muricatus* et *Scorpiurus muricatus* subsp *subvillosus*.

Dans notre travail, nous retiendrons la classification proposée par Quezel et Santa (1962) :

- *Scorpiurus vermiculatus*, diploïde à  $2n = 2x = 14$ .
- *Scorpiurus muricatus* = *Scorpiurus muricatus* subsp *muricatus*, tétraploïde  $2n = 4x = 28$ .
- *Scorpiurus sulcatus* = *Scorpiurus muricatus* subsp *sulcatus*, tétraploïde  $2n = 4x = 28$ .
- *Scorpiurus subvillosus* = *Scorpiurus muricatus* subsp *subvillosus*, tétraploïde  $2n = 4x = 28$ .

### 1-1 Description botanique

Les espèces du genre *Scorpiurus* sont des plantes annuelles, autogames. Elles présentent au stade plantule de grands cotylédons qui prennent l'aspect d'un axe dressé, lancéolé et atténué progressivement en pétiole. Les premières feuilles qualifiées de primordia foliaires sont entières, et sont disposées sur une courte hypocotyle en rosette lâche.

La tige est rampante, sa taille peut atteindre **40 à 50 cm** de longueur avec un large recouvrement végétal.

Les feuilles sont grandes, entières et de forme ovale allongée (Bensalem et al, 1990 ; Younsi, 1996). La floraison débute vers le mois de Mars et s'étend jusqu'à Mai.

Les graines au nombre de **9 à 11** par gousse sont pourvues d'un tégument très dur provoquant ainsi la dormance tégumentaire (Battandier et Trabut, 1890 ; Negre, 1961).

### 1-1-1 *Scorpiurus vermiculatus* L

Herbe de hauteur **30 à 40 cm**, peu ramifiée, avec une tige habituellement dressée (Talavera et Dominguez, 2000), l'espèce est dotée d'un système racinaire pivotant, puissant et atteignant parfois un mètre de longueur (Ouzzane et Abdelguerfi, 1989).

Les fleurs sont grandes d'environ **8 mm** à pétales jaunes (les premières fleurs sont violettes et bordées par une bande rouge d'environ **3 mm** de large), (Dominguez et Galiano, 1974b). Elles sont généralement solitaires. Les fruits sont des gousses, grosses, repliées sur elles-mêmes en spires régulières. Elles sont couvertes de tubercules, élargies au sommet en forme de chapeau et couvertes d'épines. (Battendier et Trabut, 1890 ; Negre, 1961 ; Carne, 1992) (Figure 1 et 1').

### 1-1-2 *Scorpiurus muricatus subsp muricatus* L

Herbe de hauteur **60 cm**, avec une tige habituellement dressée plus ou moins ramifiée à la base, les feuilles sont légèrement pubescentes. L'inflorescence est composée de **1 à 5 fleurs (8-9 mm)**, jaunes (Talavera et Dominguez, 2000 ; Quezel et Santa, 1962). Les gousses sont larges de **2 à 2.5 mm** striées longitudinalement, couvertes de tubercules sub-globuleux. (M'hammedi Bouzina et *al.*, 2005).

### 1-1-3 *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* L

Plante annuelle atteignant **10 à 50 cm** de haut avec de grandes feuilles lancéolées à limbe simple rétréci à la base en un long pétiole, la tige est dressée ou couchée, ramifiée à la base (Talavera et Dominguez, 2000).

L'inflorescence est formée de **1 à 4 fleurs** jaunes insérées sur des pédoncules plus longs que les feuilles, fleurs d'environ **8 mm**, calice campanulé, velu avec des dents plus longues que le tube (Figure 2).

Les fleurs sont jaunes et virent au rouge à maturité (Abbate et *al.*, 2009). Les fruits sont des gousses irrégulièrement enroulées ou enchevêtrées, munies de onze côtes, la plupart couvertes d'aiguillons droits, crochus ou bifurqués, les graines sont en forme de croissant et plus ou

moins aplaties. Les dents du calice sont plus longues que le tube (M'hammedi Bouzina et *al.*, 2005).

### **1-1-4 *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* L**

Herbe pouvant atteindre jusqu'à **40 cm** de hauteur, la tige est habituellement dressée et plus ou moins ramifiée, les feuilles sont légèrement pubescentes, l'inflorescence est composée de **1 à 4** fleurs (Talavera et Dominguez, 2000). Les fruits sont des gousses irrégulièrement enroulées en spirale munies de huit côtes longitudinales dont seules les trois à cinq situées sur la partie convexe portent des aiguillons. Les graines sont rectilignes ou légèrement courbées, plus ou moins effilées aux extrémités. Le calice est à dents plus courtes que le tube (M'hammedi Bouzina et *al.*, 2004) (Figure 3).



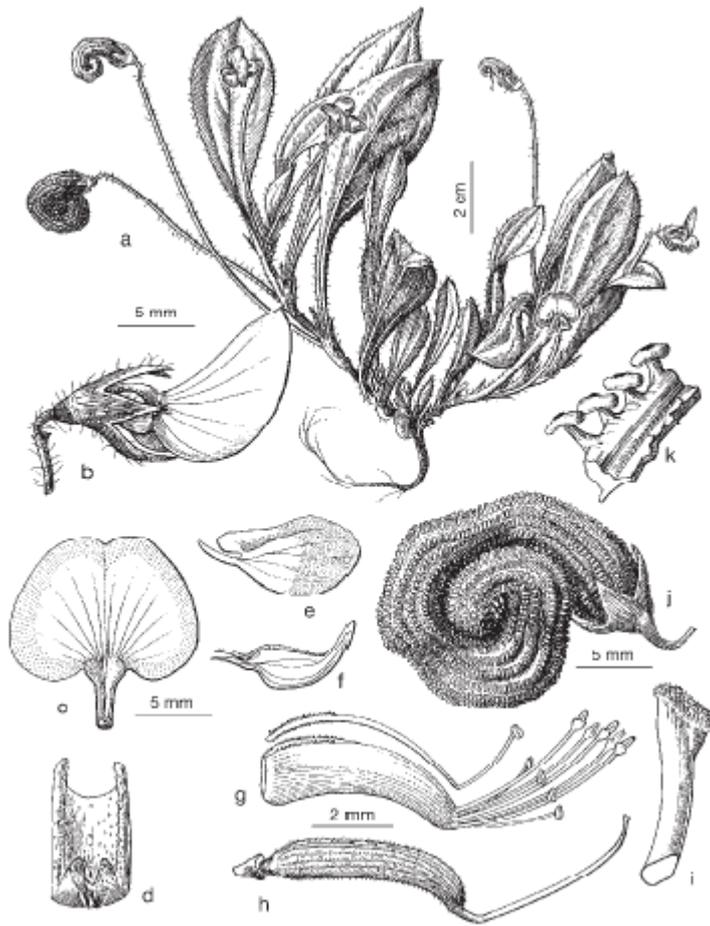
Gousse



Graine



**Figure 1 :** *Scorpiurus vermiculatus* (Photos prise par M<sup>r</sup> Bouzina –Chlef- 2010)



**Figure 1' :** *Scorpiurus vermiculatus* (Talavera & E .Dominguez, 2000)



Gousse



Graine



Fleur



**Figure 2 :** *Scorpiurus muricatus* subsp. *subvillosus* (Photos prise par M<sup>r</sup> Bouzina –Chlef-2010)



Fleur



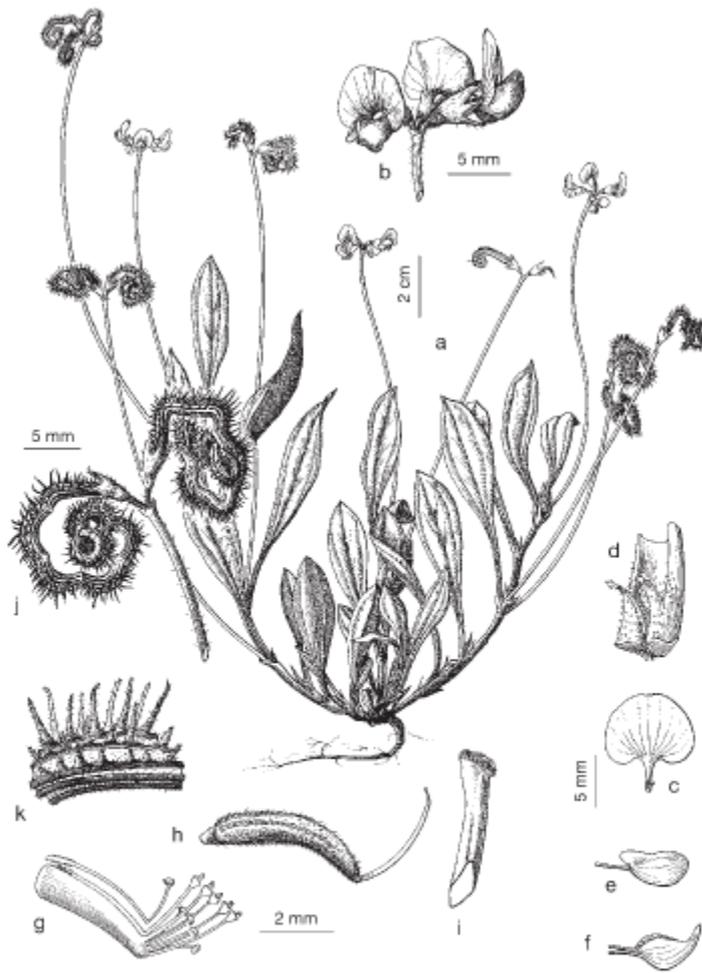
Gousse



Gousse



**Figure 3 :** *Scorpiurus muricatus* subsp *sulcatus* (Photos prise par M<sup>r</sup> Bouzina –Chlef-2010)



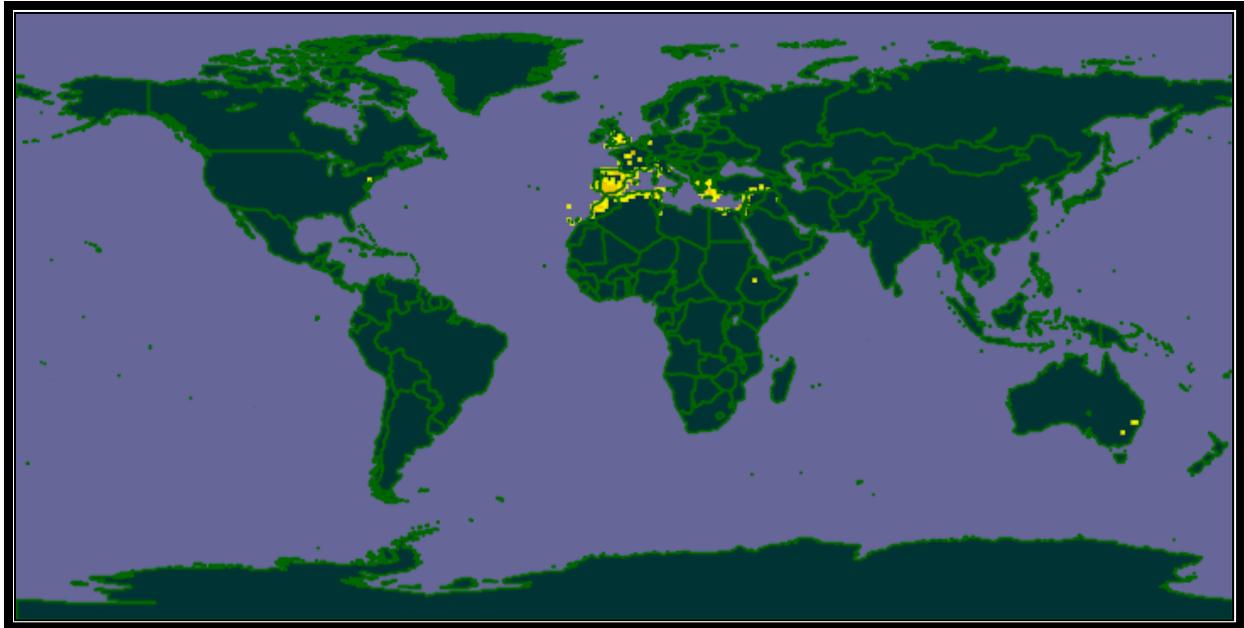
**Figure 3'** : *Scorpiurus muricatus* (Talavera & E. Dominguez 2000)

### 1-2 Répartition géographique

Les taxons du genre *Scorpiurus* sont des plantes très connues par les agriculteurs communément appelées chenillettes, Tagourit ou El ghagfa. Elles sont citées comme mauvaises herbes.

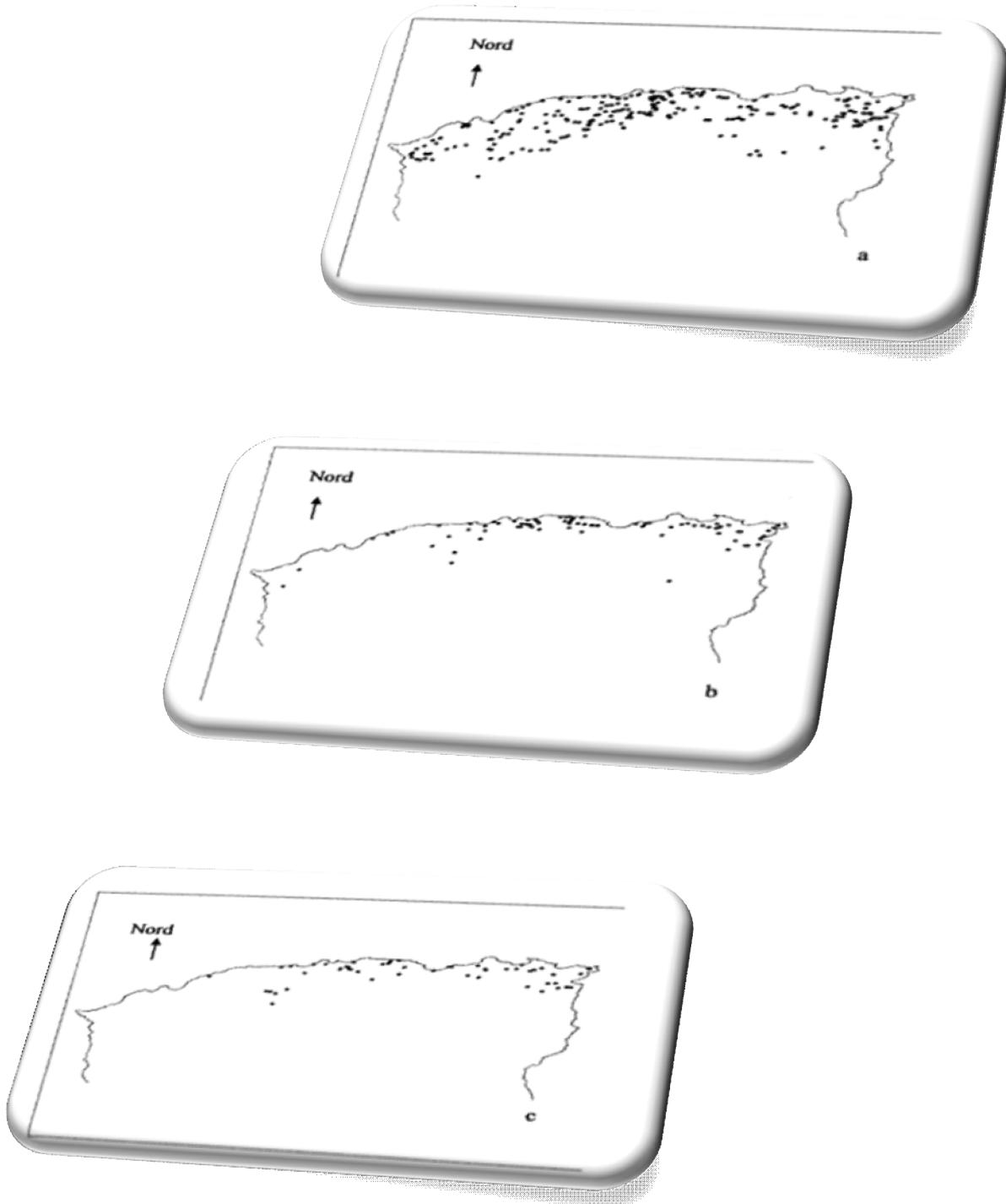
Leur aire de répartition est assez vaste. On les rencontre en Afrique du Nord (Algérie, Tunisie, Maroc), dans tout le bassin méditerranéen (Iles Canaries, sud du Portugal, Espagne, Centre de l'Italie, Malta, sud-ouest de la France, Grèce) ainsi qu'en Australie et en Amérique du Nord (Hamdani, 2004).

En Algérie, certains auteurs comme Battandier et Trabut (1890), Quezel et Santa (1962) trouvent que *Scorpiurus vermiculatus* et *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* sont présents pratiquement dans toute la partie Tellienne de l'Algérie (Figure 4).



**Figure 4 :** Distribution géographique du genre *Scorpiurus* dans le monde  
(Source : Catalogue of Life Hierarchy, Edition 1 (2007))

■ Genre *Scorpiurus*



**Figure 5 :** Distribution de *S. m. sulcatus* (a), *S. m. vermiculatus* (b) et *S. m. subvillosus* (c) en Algérie (M'hammedi Bouzina et al., 2010).

### 1-3 Position systématique

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Super division : Spermatophytae

Division : Magniliophyta

Classe : Magniliopsida (dicotylédones)

Sous classe : Rosidae

Ordre : Fabale

Famille : Fabaceae

Sous famille : Papilionaceae

Tribu : Hedysarées

Genre : *Scorpiurus*

Espèce : *Scorpiurus muricatus* L / *Scorpiurus vermiculatus* L

Sous espèce : *Scorpiurus muricatus* subsp *sulcatus* L

*Scorpiurus muricatus* subsp *subvillosus* L

### 1-4 Intérêt du genre *Scorpiurus*

Les légumineuses occupent une place très importante parmi les espèces spontanées fourragères de la flore algérienne (Saadi et Hamdani, 2007).

Les taxons qui représentent le genre *Scorpiurus* possèdent beaucoup de qualités, elles produisent une biomasse remarquable avec une teneur élevée en protéines, et donc elles contribuent à la satisfaction des besoins alimentaires des animaux (Gresta *et al.*, 2006).

Le principal intérêt agronomique de ce genre provient de son aptitude à la fixation symbiotique de l'azote qui lui permet de produire en abondance de la protéine végétale, même en l'absence de fertilisation azotée, permettant ainsi l'enrichissement des sols (M'hammedi Bouzina, 2006).

Les taxons du genre *Scorpiurus* ont une masse végétative très importante qui recouvre le sol et le protège des érosions : *Scorpiurus vermiculatus* arrive à **107 cm** de recouvrement, **104 cm** pour *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* et, **100 cm** pour *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* (Yahiaoui *et al.*, 1998). Ils présentent un puissant système racinaire pivotant qui permet une bonne fixation du sol.

Les espèces produisent beaucoup de gousses avec un nombre élevé de graines : **56.7 Kg/ha** pour *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus*, **22.9 Kg/ha** pour *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* et **20.6 Kg/ha** pour *Scorpiurus vermiculatus* Beale *et al* (1991) in Yahiaoui *et al* (2000).

## 2- Principaux travaux

### 2-1 Composition chimique

Dans le but, d'évaluer la valeur alimentaire des taxons du genre *Scorpiurus* au stade végétatif, quelques analyses chimiques sont effectuées, et sont comparées à celles d'autres espèces appartenant aux légumineuses comme *Hedysarum*, *Onobrychis* et *Medicago* (tableau 1). Elles révèlent l'existence en quantité très appréciable de matières minérales (**M.M**), azotées totales (**M.A.T**) et en matières azotées digestibles (**M.A.D**). Leur contenu en cellulose brute (**C.B**) est voisin de celui d'*Hedysarum* et inférieur à celles de *Medicago* et *Onobrychis*. Le coefficient de digestibilité de la matière organique (**C.U.D**) est assez voisin de celui d'*Hedysarum* et est plus important de celui des deux autres espèces.

Ces espèces sont appelées à être valorisées et intégrées dans des programmes de sélection pour participer à la réduction du déficit en protéines que connaît l'alimentation animale en Algérie.

**Tableau 1 :** Composition chimique des espèces étudiées comparées à celle d'autres espèces de la même famille. Goumiri et Abdelguerfi (1989).

<b>Teneur en matières</b>					
<b>Espèces</b>	<b>M.M (%)</b>	<b>M.A.T (%)</b>	<b>C.B (%)</b>	<b>C.U.D (%)</b>	<b>M.A.D (g)</b>
<i>Scorpiurus muricatus subsp sulcatus</i>	19.47	21.83	15.61	73.84	173.20
<i>Scorpiurus muricatus subsp subvillosus</i>	22.42	20.55	14.12	75.46	161.03
<i>Scorpiurus vermiculatus</i>	20.14	14.44	14.60	74.87	103.17
<i>Hédysarum aculeolatum</i>	16.14	11.80	14.94	75.57	78.22
<i>Médicago arborea</i>	09.00	22.00	23.00	66.00	173.00
<i>Onobrychis caput- galli</i>	09.84	11.63	22.59	66.31	76.61

**M.A.T** : Matières Azotées Totales, **M.A.D** : Matières Azotées Digestibles, **M.M** : Matières Minérales, **C.U.D** : coefficient de digestibilité de la matière organique, **C.B** : cellulose Brute.

## 2-2 Autoécologie des taxons algériens

Pour comprendre au mieux l'adaptation des taxons du genre *Scorpiurus*, la connaissance de leur autoécologie et de leur distribution en fonction des facteurs du milieu est indispensable pour aboutir à une utilisation adéquate des ressources génétiques locales.

Dans ce sens, les trois taxons ont été étudiés à travers l'Algérie en fonction de la pluviométrie, de l'altitude, du pH, de la conductivité, du taux de calcaire total et de la texture du sol (Abdelguerfi et Laouar, 1999).

Les facteurs suscités sont les éléments les plus déterminants dans la présence/ absence des trois taxons et dans leur répartition.

*Scorpiurus vermiculatus* et *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* ont des exigences écologiques relativement proches : les deux taxons poussent dans les régions bien arrosées (pluviométrie  $\geq 650$  mm pour *Scorpiurus vermiculatus* et  $\geq 810$  mm pour *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus*), à des altitudes moyennes à faibles, sur des sols peu à non caillouteux, de texture fine à très fine, peu à non calcaire mais riches en magnésium (Bensalem et al, 1990 ; Abdelguerfi et Laouar, 1999 ; M'hammedi Bouzina et al, 2005).

*Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* ne présente pas d'exigences particulières vis-à-vis des différents facteurs pris en considération, elle pousse dans des habitats à des pluviométries et des altitudes différentes, sur différents types de sols, caillouteux, riches en calcaire et pauvres en sodium (Bensalem et al., 1990). Selon ces auteurs, cette espèce a une grande adaptation écologique, elle se comporte comme une espèce à écologie indifférente.

Selon les mêmes auteurs, la répartition de *Scorpiurus vermiculatus*, *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* et *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* n'est pas influencée par les teneurs du sol en potassium et en phosphore. Le pH et la conductivité du sol ne semblent pas déterminant dans la répartition des taxons de *Scorpiurus* en Algérie.

Le tableau suivant résume les exigences des taxons du genre *Scorpiurus* en fonction des différents facteurs du milieu.

**Tableau 2 :** Adaptation à quelques facteurs du milieu des taxons du genre *Scorpiurus* rencontrés en Algérie. (Bensalem et al., 1990).

variables	<i>S. vermiculatus</i>	<i>S. m. subvillosus</i>	<i>S. m. sulcatus</i>
<b>Pluviométrie</b>	≥ 650 mm	≥ 810 mm	Variable
<b>Altitude</b>	≤ 400 m	≤ 100 m	Variable
<b>Texture</b>	Moyenne à très fine	Moyenne à très fine	Variable
<b>Pente</b>	Faible	Variable	Variable
<b>Cailloux</b>	≤ 5%	Variable	Riche
<b>Calcaire total</b>	≤ 6%	≤ 6%	Riche
<b>Sodium</b>	Variable	≥ 76 ppm	Pauvre
<b>Magnésium</b>	Riche	Riche	Variable
<b>Potassium</b>	Variable	Variable	Variable
<b>Phosphore</b>	Variable	Variable	Variable
<b>Conductivité</b>	Variable	Variable	Variable
<b>pH</b>	Variable	Variable	Variable

### 2-3 Autres travaux

Dans le but de caractériser les taxons du genre *Scorpiurus*, une étude détaillée a été effectuée en 1974a par Dominguez et Galiano sur différents aspects biologiques :

\_ Une étude caryologique a montré que *Scorpiurus vermiculatus* a un nombre chromosomique de  $2n = 14$  et que les deux autres espèces ont un nombre chromosomique de  $2n = 28$ . On peut utiliser ces nombres comme marqueur des espèces de ce genre.

\_ Une étude portant sur la biologie de la reproduction et la formation des hybrides a été effectuée sur les trois taxons montrant que la fécondation se fait par autogamie et que les croisements intraspécifiques sont difficiles à réaliser.

\_ Une étude sur la palynologie a confirmé qu'il n'existe pas une différence notable dans la morphologie ou la taille des grains de pollen chez les taxons tétraploïdes. Par contre chez l'espèce diploïde, les grains ont tendance à être plus grands que ceux des tétraploïdes. Donc ce critère ne peut pas être fiable pour distinguer les espèces.

\_ L'étude de la pigmentation des fleurs fraîches a montré la présence de quatre pigments : quercétine-3-diglucoside, quercétine-ramna-diglucoside, chlorophylle calice et de l'apigénine-4-ramnas, ce dernier n'apparaît pas chez *Scorpiurus vermiculatus*.

Yahiaoui-Younsi et al en 2000, ont étudié la floraison du genre *Scorpiurus* en relation avec les conditions bioclimatiques (pluviométrie et altitude) du milieu d'origine. Les résultats obtenus montrent que la période de floraison a une influence sur la précocité des populations. *S. m subsp subvillosus* est la plus tardive pour le début de floraison, *S. m subsp sulcatus* la plus précoce, et *S. vermiculatus* varie entre les deux.

Dans le but de régénérer *in vitro* *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* via la caulogénèse, des expériences ont été réalisées par Saadi et Hamdani en 2006. Les résultats obtenus montrent que la nature des explants et la composition hormonale du milieu d'induction sont les deux facteurs qui influencent le processus de régénération (pour les explants, ce sont les hypocotyles et à moindre degré les cotylédons). Pour le milieu d'induction, ce sont les milieux pourvus en acide 2.4-dichlorophénoxyacétique et de la 6-benzyladénine. De même la combinaison hormonale établie entre l'acide naphthalène et la kinétine a conduit à des résultats satisfaisants.

Une étude sur la germination des graines matures de *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* L en relation avec la température (testée avec 8 valeurs) et le temps de stockage (testée pour 4 temps) a été effectuée par Gresta et al (2006). Les expériences sont effectuées sur des graines avec ou sans écorce. Les résultats obtenus montrent que l'échec de la germination des graines sous des conditions favorables doit être attribué uniquement au tégument, puisque la scarification des graines améliore le pourcentage de la germination qui atteint 100% avec presque toutes les températures testées. Le temps de stockage induit un effet adoucissant qui est limité par le vieillissement naturel des graines apparaissant 6 mois après la récolte.

Une étude sur la capacité de germination des graines immatures de la même espèce a été faite sur l'amarante par Cristaudo et al. (2007). Les résultats obtenus montrent que la dormance des graines est liée au tégument de ces dernières, et qu'elle s'est établie après la maturation physiologique de l'embryon, puisque les graines non mûres, conservées à basse température avec une longue période de stockage ont un pouvoir de germination qui arrive parfois à 100%.

## 3 – caractères cytogénétiques

### 3-1 Le caryotype

Un caryotype est une représentation systématisée des chromosomes d'une cellule, tenant compte la taille et de toutes autres formes morphologiques. Il faut noter que la morphologie des chromosomes est marquée par la position des centromères et par conséquence on peut distinguer 4 types chromosomiques :

- **Chromosome métacentrique** : le centromère est en position médiane ce qui lui donne des bras de longueurs à peu près égales.
- **Chromosome submétacentrique** : le centromère est presque en position centrale ; il divise le chromosome en deux bras : un bras long (q) et un autre court (p).
- **Chromosome acrocentrique** : le centromère est proche de l'une des deux extrémités, le bras court est très bref.
- **Chromosome télocentrique** : présente un centromère très proche de ses extrémités (télomères).

### 3-2 Le caryogramme

Un caryogramme est la représentation systématisée des chromosomes d'une cellule associés d'après leurs caractères morphologiques.

Pour établir un caryogramme, il faut connaître pour chaque chromosome : sa morphologie, sa longueur totale (LT) et leur type chromosomique pour pouvoir appairer avec son homologue ; puis classer les chromosomes homologues par longueur totale décroissante.

### 3-3 L'idiogramme

Un idiogramme est une représentation schématique des chromosomes d'un caryotype à partir de plusieurs caryogrammes d'une même population.

Il est le plus souvent haploïde (sauf s'il y'a une homéologie entre les chromosomes d'une même paire chromosomique dans ce cas là on le présente sous forme diploïde).

### 3-4 Le nucléole

Le nucléole est une structure nucléaire plus au moins sphérique, dépourvu d'une membrane délimitant. C'est le compartiment dans lequel se fabriquent les ribosomes (Hernandez et al., 2004). Il s'assemble autour des gènes ribosomiques (ADNr), assure la transcription et la maturation des ARN ribosomiques, et l'association de ces ARN avec les protéines ribosomiques pour former les sous unités ribosomiques.

Dans presque toutes les cellules eucaryotes, le nucléole est désassemblé pendant la mitose et rassemblé en fin de mitose. Les nucléoles sont mis en évidence par la technique de coloration au nitrate d'argent (AgNO<sub>3</sub>).

### 3-5 Les organisateurs nucléolaires

Les organisateurs nucléolaires (NORs) sont décrits pour la première fois par Heitz (1931) puis par McClintock (1934) et (Derenzini, 1999). Ce sont des régions qui occupent des positions bien définies dans les chromosomes, parfois visibles comme une constriction secondaire, mais leur nombre varie d'un organisme à un autre. Ils participent à la formation et au fonctionnement des nucléoles dans les noyaux interphasiques qui contiennent l'ARN et les protéines ribosomiques (Hayes, 2000).

En cytogénétique classique, les Régions Organisatrices Nucléolaires sont mises évidence par la coloration au Giemsa (N-banding) ou avec la coloration aux nitrates d'argent (Ag-NORs) (Jiménez et al., 1988).

La précipitation d'argent sur le site Nucleolar Organizer Regions (NORs) est liée à l'activité transcriptionnelle (Hubel, 1985).

### 3-6 La chromatine

Chaque chromosome comprend une très longue molécule d'ADN représentant des milliers de gènes. L'ADN est associé à diverses protéines qui maintiennent la structure du chromosome et concourent à la régulation de l'activité des gènes. Le complexe de protéines et

d'ADN appelé chromatine, prend la forme d'une fibre longue et mince et une fois se repliée constitue le chromosome (Richard, 1995).

A l'aide de colorants, on peut révéler sur les chromosomes, des zones de coloration plus ou moins intense reflétant le degré de condensation de la chromatine. On distingue : l'euchromatine (chromatine diffuse) et l'hétérochromatine (chromatine condensée) (Harry, 2001).

### **3-6-1 L'euchromatine (chromatine diffuse)**

Elle est constituée de chromatines ou régions chromosomiques qui sont légèrement colorées et relativement déroulées pendant l'interphase. Les régions euchromatiques contiennent la plus part des gènes structuraux (Klug et *al.*, 2006). Cette partie de chromatine a peu de compaction ce qu'il rend son ADN accessible aux enzymes et disponible pour la transcription (Campbell et Reece, 2007).

### **3-6-2 L'hétérochromatine**

La chromatine interphasique visible au microscope photonique sous forme d'amas irrégulier est appelée hétérochromatine. Ce sont des régions de chromosomes fortement colorées, répliquées tardivement et condensées à l'interphase (Klug et *al.*, 2006). Elles se présentent sous forme compacte ce qui les rendent inaccessibles aux enzymes de transcription (Campbell et Reece, 2007). Elle peut être facultative ou constitutive.

#### **- L'hétérochromatine facultative**

Correspond à un état de condensation non permanent entraînant l'inactivation des séquences codantes impliquées.

#### **-L'hétérochromatine constitutive**

C'est une fraction de la chromatine qui ne se décondense pas durant l'interphase. Elle se situe dans les régions proches au centromère de tous les chromosomes chez presque toutes les espèces, mais parfois dans d'autres régions aussi. Elle contient des séquences hautement répétées d'ADN riches en paires de bases AT ou GC. Elle se réplique très tardivement durant la phase de synthèse S de l'ADN (Hayes, 2000).

# CHAPITRE II

## MATERIEL ET METHODES

## 1-Matériel

Le matériel végétal utilisé est constitué de graines de trois taxons du genre *Scorpiurus* :

- un diploïde  $2n = 2x = 14$  *Scorpiurus vermiculatus* avec trois populations (1, 3, et 4).
- deux tétraploïdes  $2n = 4x = 28$  *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* avec une population (6) et *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* avec cinq populations (8, 9, 10, 11, 12).

Ce matériel fait partie d'une collection gérée par M'Hammedi Bouzina enseignant chercheur à l'université Hassiba Ben Bouali Chlef. Les données écologiques des populations étudiées sont résumées dans le tableau 3.

**Tableau 3 :** Données écologiques des populations étudiées.

Les taxons	Numéro de population	Lieu de récolte	Altitude	Pluviométrie
<i>S. vermiculatus</i>	1	BOGHARI	430 m	620 mm
	3	GUELMA	200 m	820 mm
	4	SOUR EL GHOZLANE	180 m	620 mm
<i>S. muricatus subsp subvillosus</i>	6	ALGER	20 m	720 mm
<i>S. muricatus subsp sulcatus</i>	8	AIN TADLES	120 m	370 mm
	9	BARIKA	430 m	650 mm
	10	LARBAA ALGER	320 m	720 mm
	11	GUELMA	780 m	690 mm
	12	BOGHARI	230 m	620 mm

## 2- Méthodes cytogénétiques

### 2-1 Coloration à l'acéto-orcéine

Pour l'étude des chromosomes mitotiques, nous avons travaillé sur des méristèmes racinaires prélevés de jeunes plantules, et nous avons suivi les étapes suivantes :

#### **\*Germination**

Après scarification, les graines sont désinfectées à l'eau de javel pendant trois minutes puis sont mises à germer dans des boîtes de Pétri tapissées de papier filtre imbibé d'eau distillée.

Ces boîtes de Pétri sont placées soit dans une étuve de germination réglée à **24° C** pendant deux jours, ou à une température ambiante pendant trois jours ou plus.

#### **\*Prélèvement**

Pour les prélèvements de ces méristèmes racinaires, nous avons essayé de déterminer le temps pendant lequel le coefficient mitotique était le plus important ; celui-ci se situe entre **8 h** et **9 h** pour l'ensemble des populations.

#### **\*Prétraitement**

Après avoir atteint une longueur de **0.5** à **1 cm**, les méristèmes racinaires sont prétraités dans une solution de 8-hydroxyquinoléine **0.003 M** pendant une période de **2 h** jusqu'au **2 h 45**. Cet agent a pour effet de bloquer les divisions mitotiques au stade métaphasique.

#### **\* Fixation**

Le fixateur détruit toute vie cellulaire en conservant l'intégrité structurelle des chromosomes. Les méristèmes racinaires sont fixés dans une solution d'alcool acétique **3V :1V** pendant une période de **48 h** à **4° C**.

### **\* Conservation**

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

On peut également utiliser l'éthanol acétique (**3V :1V**) comme solution de stockage pour une période qui ne dépasse pas deux semaines.

### **\*Hydrolyse**

Dans le but de ramollir les méristèmes et de favoriser leur coloration et leur écrasement ; une hydrolyse a été réalisée dans une solution d'**HCl (1N)** à **60°c** pendant **15** minutes, ce qui libère les groupements aldéhydiques sur les molécules de sucre de l'ADN (séparant ainsi les bases puriques).

### **\*Macération enzymatique**

Pour assurer un bon étalement des cellules et obtenir les chromosomes dans le même plant, une macération enzymatique est réalisée dans une goutte de pectinase (Annexe) à **37° C** pendant **45** min.

### **\*Rinçage**

Un rinçage ordinaire à l'eau distillée est effectué après la macération enzymatique pour éliminer le reste de l'enzyme.

### **\* Coloration :**

Après le rinçage, les méristèmes racinaires sont trempés dans une solution de coloration (acéto-orcéine) pendant une heure et trente minutes, qui se fixe sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse et qui va donner une coloration rose aux chromosomes.

### **\*Montage des lames**

Les pointes racinaires sont écrasées dans une goutte d'acéto-orcéine entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules.

### \*Observation microscopique

Les cellules de la pointe racinaire sont observées et repérées au microscope photonique à l'objectif (**X 10**). Le stade de métaphase pour l'ensemble des cellules est repéré au grossissement (**X 40**). Les cellules qui ont des chromosomes bien étalés, bien colorés, et qui présentent à peu près le même degré de spiralisation sont sélectionnées à l'objectif (**X 100**).

### \*Délaméllation

Les lamelles sont décollées à l'azote liquide (**-80°C**) et mises à sécher à température ambiante.

### \*Montage permanent

Les lames séchées sont montées dans un liquide de montage (Depex) pour les conserver définitivement.

## 2-1-1 Mesures et traitement des résultats et établissement des idiogrammes

Les photographies des plaques métaphasiques ont été prises grâce à une caméra connectée au microscope photonique lui-même relié à un ordinateur (Pentium III), ce dernier est équipé d'un logiciel de traitement des images (Axion Vision ZEISS).

Les idiogrammes sont construits d'après des mesures effectuées sur quatre plaques métaphasiques pour chaque population et avec un grossissement final de **2500**. Ce dernier est le résultat de la combinaison de l'objectif (**X 100**) du coefficient de la caméra (**X 10**) et du coefficient de microscope (**X 2.5**).

Les différentes mesures effectuées pour chaque chromosome sont les suivantes :

- longueur de bras long **BL**.
- longueur de bras court **BC**.
- longueur totale **BT=BL+BC**.
- longueur totale relative **LTR= (LT/∑ LT) X100**.
- rapport bras long sur bras court **r=BL /BC**.
- différence entre la longueur du bras long et la longueur du bras court **d=BL-BC**.
- indice centromérique pour chaque paire chromosomique **Ic% = (BC / LT) X100**.

Nous avons calculé également l'indice d'asymétrie du caryotype  $I_{as} = (\sum BL \times 100) / \sum LT$  et le rapport  $R$  de la paire la plus longue et la plus courte de la garniture chromosomique.

La morphologie des chromosomes est marquée par la position de la construction primaire ou centromère, et pour cela nous avons pris en considération trois rapports pour déterminer le type chromosomique selon la nomenclature de Levan et *al* (1964) (tableau 3) :

- le rapport des longueurs des bras  $r = BL / BC$ .
- l'indice chromosomique  $Ic\% = (BC / BL) \times 100$ .
- la différence entre les longueurs des bras  $d = BL - BC$ .

**Tableau 4 :** Nomenclature chromosomique proposée par Levan et *al* (1964)

Position du centromère	d	r	Ic	Tc
Point médian	00.0	01.0	50.00	<b>M</b>
Région médiane	00.0-02.5	1.0-1.7	50.00-37.5	<b>m</b>
Région submédiane	2.5-05.0	1.7-3.0	37.5-25.00	<b>sm</b>
Région subterminale	05.0-07.5	3.0-7.0	25.00-12.50	<b>st</b>
Région terminale	07.5-10.0	7.0-∞	12.50-00.00	<b>t</b>
Point terminal	07.5-10.0	∞	00.00	<b>T</b>

**Tc** : type chromosomique

**M** : métacentrique senso stricto

**m** : métacentrique senso largo

**sm**: submétacentrique

**st** : subtélocentrique

**t** : acrocentrique

**T** : télocentrique

**r** : bras long /bras court

**Ic** : indice centromérique

**d** : bras long – bras court

## 2-2 Technique de coloration différentielle au Giemsa (C-banding)

Afin de mettre en évidence l'hétérochromatine constitutive du genre *Scorpiurus*, nous avons utilisé la technique décrite par Marks en 1975 avec quelques modifications.

Après les étapes du prétraitement, de la fixation et de l'hydrolyse décrites dans la technique de coloration à l'acéto-orcéine, nous avons procédé aux opérations suivantes :

- **Délaméllation**

Les lamelles sont décollées à l'azote liquide, puis sont mises à sécher pendant au moins une nuit à température ambiante.

- **Dénaturation**

Cette étape permet la séparation des deux brins d'ADN de chaque chromosome. La baryte (**6.8 g**) est dissoute dans de l'eau distillée (**100 ml**), chauffée à **80° C** puis refroidie dans le bain glacial jusqu'à **45° C**. Les lames sont ensuite plongées dans des bacs remplis de baryte pendant **5 min**.

- **Rinçage**

Il se fait à l'eau du robinet jusqu'à élimination totale de la baryte (**de 45 min à 1h**), puis en plongeant les lames dans de l'eau distillée pendant **10 min**.

- **Renaturation**

C'est l'étape de réassociation des deux brins d'ADN, elle se fait dans un tampon **2 x SSC** (Annexe) au bain-marie à **60° C** pendant **1h**.

- **Coloration**

Cette étape se fait dans une solution préparée par dilution de **4 ml** de Giemsa dans **100 ml** de tampon phosphate (Annexe) à **PH = 6.8** pendant **20 min**.

- **Observation**

Le contrôle de la coloration se fait **20 min** après la déposition des lames dans le colorant.

- **Montage**

Les lames sont montées par une goutte de Depex après **24h**.

### 2-3 Technique de coloration au nitrate d'argent

C'est une coloration différentielle qui met en évidence les nucléoles et les organisateurs nucléolaires (NORs) qui sont des segments d'ADN responsable de la synthèse des ribosomes.

Cette coloration se déroule comme suit :

- Prétraiter, fixer, et rincer les racines à l'eau distillée plusieurs fois.
- Les plonger dans une solution de nitrate d'argent à **15% : 3g /20ml**, puis les laisser dans l'étuve à **60° C** pendant **16h**.
- Récupérer les racines, rincer à l'eau distillée, puis les plonger dans une solution de formaldéhyde et hydroquinone pendant cinq minutes (**25 ml** de formaldéhyde + **25 ml** hydroquinone).
- Après avoir obtenu une coloration jaune brune, les pointes des racines doivent être écrasées dans une goutte d'acide acétique entre lame et lamelle.
- Observation au microscope : les nucléoles sont colorés en brun et les NORs en brun noirâtre.

Il faut prendre des précautions de ne pas les exposer à la lumière

# CHAPITRE III

## RESULTATS ET DISCUSSION

## Résultats

### 1- Dénombrement chromosomique

Les mesures effectuées sur les chromosomes des quatre plaques métaphasiques nous ont permis d'établir le caryotype de chaque population.

Les résultats obtenus montrent que le niveau de ploïdie est de deux types :  $2n = 2x = 14$  pour *Scorpiurus vermiculatus* et  $2n = 4x = 28$  pour *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* et *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus*.

Neuf idiogrammes sont tracés selon les trois taxons étudiés :

- Trois pour *Scorpiurus vermiculatus*
- Un pour *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus*
- Cinq pour *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus*

#### 1-1 Etude du caryotype des populations diploïdes

Les données numériques concernant la garniture chromosomique et le caryotype des trois populations de *Scorpiurus vermiculatus* sont présentées dans le tableau 4 et les planches 1,2 et 3.

**Tableau 5:** Caractères morphométriques des chromosomes des trois populations de *Scorpiurus vermiculatus*

Population 1

paire	BL $\mu\text{m}$ $\pm$ cd	BC $\mu\text{m}$ $\pm$ cd	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	r	Ic%	TC
1	1.87 $\pm$ 0.02	1.64 $\pm$ 0.2	3.51	1.83	0.23	1.14	46.72	M
2	1.74 $\pm$ 0.1	1.44 $\pm$ 0.5	2.91	1.52	0.03	1.02	49.48	m/cs
3	1.5 $\pm$ 0.5	1.35 $\pm$ 0.2	2.85	1.48	0.15	1.11	47.36	M
4	1.65 $\pm$ 0.2	1.15 $\pm$ 0.5	2.80	1.46	0.5	1.43	41.07	M
5	1.35 $\pm$ 0.1	1.18 $\pm$ 0.3	2.53	1.32	0.17	1.14	46.64	M
6	1.6 $\pm$ 0.5	0.9 $\pm$ 0.5	2.51	1.31	0.7	1.77	35.85	Sm
7	1.16 $\pm$ 0.5	0.87 $\pm$ 0.1	2.03	1.06	0.29	1.33	42.85	M
$\Sigma$	10.6		19.14					Las%=55.38%

Population 3

paire	BL $\mu\text{m}$ $\pm$ cd	BC $\mu\text{m}$ $\pm$ cd	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	r	Ic%	TC
1	1.81 $\pm$ 0.01	1.56 $\pm$ 0.5	3.37	1.86	0.25	1.16	46.29	M
2	1.56 $\pm$ 0.3	1.17 $\pm$ 0.1	2.73	1.51	0.39	1.33	42.85	m/cs
3	1.40 $\pm$ 0.5	1.19 $\pm$ 0.7	2.59	1.43	0.21	1.17	45.94	M
4	1.35 $\pm$ 0.3	1.12 $\pm$ 0.4	2.47	1.36	0.23	1.20	45.31	M
5	1.24 $\pm$ 0.2	1.13 $\pm$ 0.6	2.37	1.31	0.11	1.09	47.67	M
6	1.5 $\pm$ 0.5	0.78 $\pm$ 0.7	2.29	1.27	0.73	1.93	34.06	Sm
7	1.17 $\pm$ 0.3	1.04 $\pm$ 0.1	2.21	1.22	0.13	1.12	47.05	M
$\Sigma$	9.84		18.03					Las%=54.57%

Population 4

paire	BL $\mu\text{m}$ $\pm$ cd	BC $\mu\text{m}$ $\pm$ cd	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	r	Ic%	TC
1	2.09 $\pm$ 0.2	1.82 $\pm$ 0.3	3.91	1.63	0.27	1.14	46.54	M
2	1.95 $\pm$ 0.2	1.77 $\pm$ 0.1	3.72	1.55	0.18	1.10	47.58	m/cs
3	1.94 $\pm$ 0.1	1.37 $\pm$ 0.3	3.31	1.38	0.57	1.41	41.38	M
4	1.97 $\pm$ 0.3	1.48 $\pm$ 0.3	3.45	1.44	0.49	1.33	42.89	M
5	2.23 $\pm$ 0.2	1.19 $\pm$ 0.4	3.42	1.42	1.04	1.87	34.79	Sm
6	1.9 $\pm$ 0.1	1.39 $\pm$ 0.3	3.29	1.37	0.51	1.36	42.24	M
7	1.51 $\pm$ 0.1	1.33 $\pm$ 0.3	2.84	1.218	0.18	1.13	46.83	M
$\Sigma$	13.59		23.94					Las%=56.76%

**BL:** bras long, **BC:** bras court, **LT:** longueur totale, **LTR:** longueur totale relative,  
**d:** bras long - bras court, **Ic%:** bras court – bras long) X100,  
**Ias%:** indice d'asymétrie de caryotype =  $(\Sigma \text{BLX}100) / \Sigma \text{LT}$   
**r:** bras plus long / bras le plus court,  $\pm$  **cd** : erreur standard.

L'examen du tableau 4 et des planches 1, 2 et 3 conduit aux constatations suivantes :

Les populations de *Scorpiurus vermiculatus* sont constituées de sept paires chromosomiques, une paire submétacentrique, et six paires métacentriques dont la deuxième porte une constriction secondaire sur le bras court. La formule chromosomique est la suivante :  **$2n = 2x = 14 = 1 sm + 6 m$  (dont 1CS).**

La longueur totale (LT) des chromosomes est comprise entre **3.91  $\mu m$**  et **2.03  $\mu m$**  pour l'ensemble des populations. L'indice d'asymétrie varie de **54 %** à **56 %**.

La valeur du rapport de la taille entre la paire la plus longue et la paire la plus courte **R** est de **1.72** pour la population 1, **1.52** pour la population 3 et **1.37** pour la population 4.

Au sein de chaque population, la différence entre la longueur totale relative de la plus grande paire chromosomique et celle de la plus petite n'est pas très importante, elle est de **0.77** pour la population 1, **0.64** pour la population 3 et **0.42** pour la population 4.

### 1-2 Variabilité intra spécifique

La figure 5 montre les caryogrammes des trois populations de *Scorpiurus vermiculatus*, les différences notées peuvent être la taille ou la position de la paire submétacentrique.

P. ch N° pop	P. ch						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
1							
	m	m/cs	m	m	m	sm	m
3							
	m	m/cs	m	m	m	sm	m
4							
	m	m/cs	m	m	sm	m	m

**Figure 5 :** Caryotypes des trois populations de *Scorpiurus vermiculatus*

**P. ch :** paire chromosomique

**N° pop :** numéro de population

 Position de la paire submétacentrique.

## 1-2 Etude du caryotype des populations tétraploïdes

### 1-2-1 *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus*

Le caryotype de ce taxon est représenté par la population 6. Les données numériques concernant la garniture chromosomique et le caryotype sont représentés dans le tableau 6 et la planche 4.

Les résultats obtenus révèlent plusieurs points intéressants. Le caryotype de ce taxon est caractérisé par la présence de 14 paires chromosomiques dont :

- dix paires métacentriques : 1, 2, 3, 4,5, 8, 10,12, 13 et 14.
- quatre paires submétacentriques : 6, 7, 9 et 11.

La formule chromosomique est la suivante :  **$2n = 4x = 28 = 10m + 4sm$** .

La longueur totale moyenne (LT) des chromosomes est comprise entre **3.38  $\mu\text{m}$**  et **1.64  $\mu\text{m}$** .

L'indice d'asymétrie est de **59.97 %**. La différence entre la longueur totale relative de la plus grande paire chromosomique et celle de la plus petite paire est de **1.74**. La valeur du rapport de la taille entre la paire la plus longue et la paire la plus courte **R= 2.06**.

**Tableau 6 :** Caractères morphométriques des chromosomes de *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* Population 6

Paire	BL $\mu\text{m}$ $\pm$ cd	BC $\mu\text{m}$ $\pm$ cd	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	R	Ic%	TC
1	2,045 $\pm$ 0.1	1,335 $\pm$ 0.1	3,38	1,022	0,71	1,531	39,49	m
2	1,78 $\pm$ 0.5	1,48 $\pm$ 0.4	3,26	0,985	0,3	1,202	45,39	m
3	1,76 $\pm$ 0.3	1,115 $\pm$ 0.5	2,915	0,881	0,605	1,523	39,62	m
4	1,52 $\pm$ 0.5	0,93 $\pm$ 0.1	2,45	0,74	0,59	1,634	37,95	m
5	1,31 $\pm$ 0.4	1,125 $\pm$ 0.2	2,435	0,736	0,185	1,164	46,20	m
6	1,53 $\pm$ 0.1	0,85 $\pm$ 0.4	2,38	0,719	0,68	1,8	35,71	sm
7	1,53 $\pm$ 0.6	0,77 $\pm$ 0.2	2,30	0,695	0,76	1,987	33,47	sm
8	1,315 $\pm$ 0.1	0,93 $\pm$ 0.4	2,245	0,678	0,385	1,413	41,42	m
9	1,42 $\pm$ 0.1	0,81 $\pm$ 0.4	2,23	0,674	0,61	1,753	36,32	sm
10	1,24 $\pm$ 0.3	0,895 $\pm$ 0.1	2,135	0,64	50,345	1,385	41,92	m
11	1,385 $\pm$ 0.4	0,63 $\pm$ 0.2	2,015	0,609	0,755	2,198	31,26	sm
12	1,125 $\pm$ 0.5	0,84 $\pm$ 0.1	1,965	0,594	0,285	1,339	42,74	m
13	0,985 $\pm$ 0.2	0,73 $\pm$ 0.1	1,715	0,518	0,255	1,349	42,56	m
14	0,885 $\pm$ 0.1	0,755 $\pm$ 0.1	1,64	0,49	0,13	1,172	46,03	m
$\Sigma$	19,83		33,065					Las%=59.97%

**BL** : bras long

**BC** : bras court

**Ic%** : bras court – bras long) X100,

**d** : bras long - bras court

**LT** : longueur totale

**Las** : indice d'asymétrie de caryotype =  $(\Sigma \text{BLX}100) / \Sigma \text{LT}$

**R** : bras plus long / bras le plus court

**LTR** : longueur totale relative

**$\pm$  cd** : erreur standard.

### 1-2-2 *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus*

Les données numériques concernant la garniture chromosomique et le caryotype de *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* sont représentés dans le tableau 7 et les planches 5, 6, 7, 8 et 9.

Les résultats obtenus révèlent l'existence de deux groupes de caryotype. Le premier groupe constitue des populations 8, 10 et 12. Ce groupe a pour formule chromosomique  $2n = 4x = 28 = 2 sm + 12 m$  dont une paire porte une constriction secondaire sur le bras court pour la population 8 et 10, et deux paires pour la population 12. Le deuxième groupe constitue des populations 9 qui a pour formule chromosomique  $2n = 4x = 9 m + 5 sm$  et la population 11 qui a pour formule chromosomique  $2n = 4x = 4 sm + 10 m$ .

La longueur totale (LT) des chromosomes est comprise entre  $2.02 \mu m$  et  $5.03 \mu m$  pour l'ensemble des populations. L'indice d'asymétrie varie de 57 % à 59 %.

La valeur du rapport de la taille entre la paire la plus longue et la paire la plus courte  $R$  est de 1.58 pour la population 8, 1.79 pour la population 9, 1.78 pour la population 10, 1.70 pour la population 11 et 1.49 pour la population 12.

Au sein de chaque population, la différence entre la longueur totale relative de la plus grande paire chromosomique et celle de la plus petite n'est pas très importante, elle est de 0.341 pour la population 8, 0.446 pour la population 9, 0.406 pour la population 10 et 11 et 0.298 pour la population 12.

**Tableau 7 :** Caractères morphométriques des chromosomes de *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus*

Population 8

Paire	BL $\mu\text{m} \pm \text{cd}$	BC $\mu\text{m} \pm \text{cd}$	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	R	Ic%	TC
1	1.815 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.3	3.215	0.919	0.415	1.296	43.54	m
2	1.865 $\pm$ 0.1	1.265	3.13	0.894	0.6	1.474	40.41	m
3	1.49 $\pm$ 0.1	1.09 $\pm$ 0.2	2.58	0.737	0.4	1.366	42.24	m
4	1.445 $\pm$ 0.3	0.98 $\pm$ 0.1	2.425	0.693	0.465	1.474	40.41	m
5	1.44 $\pm$ 0.03	0.985 $\pm$ 0.01	2.425	0.693	0.455	1.461	40.61	m/cs
6	1.445 $\pm$ 0.1	0.97 $\pm$ 0.01	2.415	0.690	0.475	1.489	40.16	m
7	1.57 $\pm$ 0.02	0.84 $\pm$ 0.2	2.41	0.689	0.73	1.869	34.85	sm
8	1.31 $\pm$ 0.02	1.09 $\pm$ 0.04	2.4	0.686	0.22	1.201	45.41	m
9	1.36 $\pm$ 0.05	0.93 $\pm$ 0.01	2.29	0.654	0.43	1.462	40.61	m
10	1.585 $\pm$ 0.03	0.68 $\pm$ 0.01	2.265	0.647	0.905	2.330	30.02	sm
11	1.23 $\pm$ 0.01	0.96 $\pm$ 0.02	2.19	0.626	0.27	1.281	43.83	m
12	1.235 $\pm$ 0.01	0.92 $\pm$ 0.04	2.115	0.604	0.315	1.342	42.69	m
13	1.22 $\pm$ 0.04	0.83 $\pm$ 0.02	2.05	0.586	0.39	1.469	40.48	m
14	1.14 $\pm$ 0.01	0.885 $\pm$ 0.02	2.025	0.578	0.255	1.288	43.70	m
$\Sigma$	20.15		34.975					Las%=57.46%

Population 9

Paire	BL $\mu\text{m} \pm \text{cd}$	BC $\mu\text{m} \pm \text{cd}$	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	R	Ic%	TC
1	1.96 $\pm$ 0.02	1.67 $\pm$ 0.3	3.63	1.005	0.29	1.173	46.05	m
2	1.535 $\pm$ 0.02	1.31 $\pm$ 0.04	2.845	0.788	0.225	1.171	46.04	m
3	1.68 $\pm$ 0.01	1.005 $\pm$ 0.03	2.685	0.743	0.675	1.67	37.5	m
4	1.445 $\pm$ 0.01	1.23 $\pm$ 0.02	2.675	0.74	0.215	1.174	45.98	m
5	1.695 $\pm$ 0.01	0.975 $\pm$ 0.02	2.67	0.739	0.72	1.738	36.51	sm
6	1.81 $\pm$ 0.01	0.81 $\pm$ 0.02	2.62	0.725	1	2.234	30.91	sm
7	1.625 $\pm$ 0.03	0.86 $\pm$ 0.01	2.485	0.688	0.765	1.889	34.60	sm
8	1.625 $\pm$ 0.02	0.805 $\pm$ 0.01	2.430	0.675	0.82	2.018	33.12	sm
9	1.575 $\pm$ 0.01	0.81 $\pm$ 0.02	2.385	0.660	0.765	1.94	33.96	sm
10	1.39 $\pm$ 0.01	0.855 $\pm$ 0.02	2.245	0.621	0.535	1.625	38.08	m
11	1.22 $\pm$ 0.1	0.985 $\pm$ 0.05	2.205	0.61	0.235	1.238	44.67	m
12	1.28 $\pm$ 0.05	0.83 $\pm$ 0.03	2.11	0.58	0.45	1.542	39.33	m
13	1.185 $\pm$ 0.02	0.91 $\pm$ 0.01	2.095	0.580	0.275	1.302	43.43	m
14	1.19 $\pm$ 0.05	0.83 $\pm$ 0.05	2.02	0.559	0.36	1.433	41.08	m
$\Sigma$	21.215		36.1					Las%=58.76%

Population 10

Paire	BL $\mu\text{m}\pm\text{cd}$	BC $\mu\text{m}\pm\text{cd}$	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	R	Ic%	TC
1	3.12±0.05	1.915±0.05	5.035	0.925	1.205	1.629	32.68	m/cs
2	2.745±0.02	1.955±0.05	4.7	0.864	0.75	1.404	41.59	m
3	2.575±0.05	2.075±0.05	4.65	0.854	0.5	1.240	44.62	m
4	3.315±0.05	1.105±0.05	4.42	0.812	2.21	3	25	sm
5	2.335±0.04	1.985±0.02	4.32	0.794	0.35	1.176	45.94	m
6	2.555±0.05	1.53±0.1	4.085	0.751	1.025	1.669	37.45	m
7	1.99±0.06	1.885±0.01	3.875	0.712	0.105	1.055	48.64	m
8	2.06±0.1	1.635±0.05	3.695	0.679	0.425	1.259	44.24	m
9	2.12±0.02	1.47±0.05	3.59	0.660	0.65	1.442	40.94	m
10	2.14±0.05	1.39±0.02	3.53	0.649	0.75	1.53	39.37	m
11	2.06±0.02	1.305±0.02	3.365	0.618	0.755	1.578	38.78	m
12	2.02±0.05	1.15±0.03	3.17	0.582	0.87	1.75	36.27	sm
13	1.855±0.02	1.28±0.03	3.135	0.576	0.575	1.449	40.82	m
14	1.675±0.05	1.145±0.05	2.82	0.518	0.53	1.462	40.60	m
$\Sigma$	32.565		54.39					Las%=59.73%

Population 11

Paire	BL $\mu\text{m}\pm\text{cd}$	BC $\mu\text{m}\pm\text{cd}$	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	R	Ic%	TC
1	2.645±0.05	1.98±0.03	4.625	0.979	0.665	1.335	42.81	m
2	2.355±0.2	1.815±0.01	4.17	0.883	0.54	1.297	43.52	m
3	1.86±0.05	0.995±0.01	3.85	0.815	0.865	1.869	25.84	sm
4	2.06±0.01	1.69±0.03	3.75	0.794	0.37	1.218	45.06	m
5	1.85±0.01	1.63±0.04	3.48	0.736	0.22	1.134	46.83	m
6	2.145±0.05	1.265±0.02	3.41	0.722	0.88	1.695	37.09	m
7	2.135±0.01	1.125±0.03	3.26	0.690	1.01	1.897	34.50	sm
8	1.995±0.05	1.21±0.05	3.205	0.678	0.785	1.648	37.75	m
9	1.95±0.05	1.145±0.01	3.095	0.655	0.805	1.70	37.00	sm
10	1.805±0.01	1.18±0.05	2.985	0.632	0.625	1.529	39.53	m
11	2.035±0.01	0.905±0.03	2.94	0.622	1.11	2.248	30.78	sm
12	1.57±0.01	1.315±0.02	2.885	0.610	0.242	1.193	45.58	m
13	1.595±0.05	1.26±0.02	2.855	0.604	0.335	1.265	44.13	m
14	1.475±0.05	1.24±0.05	2.715	0.574	0.235	1.189	45.67	m
$\Sigma$	27.49		47.225					Las%=58.17%

Population 12

Paire	BL $\mu\text{m} \pm \text{cd}$	BC $\mu\text{m} \pm \text{cd}$	LT $\mu\text{m}$	LTR	d	R	Ic%	TC
1	2.425 $\pm$ 0.02	1.865 $\pm$ 0.01	4.29	0.901	0.56	1.3	43.45	m/cs
2	2.39 $\pm$ 0.05	1.6 $\pm$ 0.03	3.99	0.838	0.79	1.493	40.10	m
3	2.235 $\pm$ 0.02	1.55 $\pm$ 0.02	3.785	0.802	0.685	1.44	40.95	m
4	1.91 $\pm$ 0.05	1.465 $\pm$ 0.02	3.375	0.795	0.445	1.303	43.40	m
5	2.195 $\pm$ 0.01	1.56 $\pm$ 0.02	3.755	0.789	0.635	1.407	41.54	m
6	1.665 $\pm$ 0.05	1.08 $\pm$ 0.02	2.745	0.576	0.585	1.54	39.34	m
7	2.235 $\pm$ 0.02	1.455 $\pm$ 0.03	3.69	0.775	0.78	1.536	39.43	m
8	2.13 $\pm$ 0.01	1.385 $\pm$ 0.05	3.515	0.738	0.745	1.537	39.40	m
9	2.33 $\pm$ 0.03	1.06 $\pm$ 0.05	3.39	0.712	1.27	2.198	31.26	sm
10	2.005 $\pm$ 0.05	1.315 $\pm$ 0.02	3.32	0.703	0.69	1.524	39.60	sm
11	1.885 $\pm$ 0.05	1.145 $\pm$ 0.02	3.03	0.697	0.74	1.646	37.78	m
12	1.66 $\pm$ 0.05	1.28 $\pm$ 0.01	2.94	0.617	0.38	1.29	43.53	m
13	1.655 $\pm$ 0.05	1.235 $\pm$ 0.02	2.89	0.607	0.42	1.34	42.73	m/cs
14	1.65 $\pm$ 0.02	1.22 $\pm$ 0.02	2.87	0.603	0.43	1.35	42.50	m
$\Sigma$	28.37		47.585					Las%=59.61%

**BL** : bras long

**BC** : bras court

**LT** : longueur totale

**LTR** : longueur totale relative

**d** : bras long - bras court

**Ic%** : bras court – bras long) X100

**Las** : indice d'asymétrie de caryotype =  $(\Sigma \text{BLX}100) / \Sigma \text{LT}$

**R** : bras plus long / bras le plus court

**CS** : constriction secondaire

**$\pm \text{cd}$** : erreur standard.

Le tableau 9 résume les différences caryomorphologiques observées chez les 5 populations étudiées.

**Tableau 8 :** Différences caryomorphologiques chez les 5 populations de *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus*

populations	TC	Nombre de Chromosomes	Paire portant la CS	LT $\mu\text{m}$	Ias%	R
8	m	12	5	2.025-3.215	57.46%	1.58
	sm	2				
10	m	12	1	2.82- 5.035	59.73%	1.785
	sm	2				
12	m	12	1 et 13	2.87-4.29	59.61%	1.49
	sm	2				
9	m	10	absence	2.02-3.63	58.76%	1.79
	sm	4				
11	m	9	absence	2.715-4.625	58.17%	1.70
	sm	5				

TC : type chromosomique, LT : longueur totale, Ias% : indice d'asymétrie du caryotype, R : rapport entre la longueur relative de la plus grande paire et celle de la plus petite, CS : constriction secondaire.

### 1-2-3 Variabilité intra spécifique

La figure 6 montre les caryotypes des différentes populations de *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* et les différences entre eux, et qui peuvent être de taille, de type chromosomique et la présence/absence de la constriction secondaire.

Paire Chr N° pop	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
8														
	m	m	m	m	m/cs	m	sm	m	m	sm	m	m	m	m
10														
	m/cs	m	m	sm	m	m	m	m	m	m	m	sm	m	m
12														
	m/cs	m	m	m	m	m	m	m	sm	sm	m	m	m/cs	m
9														
	m	m	sm	m	m	m	sm	m	sm	m	sm	m	m	m
11														
	m	m	m	m	sm	sm	sm	sm	sm	m	m	m	m	m

**Figure 6 :** Les différents caryotypes de *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus*

**Paire chr :** paire chromosomique.

**N° pop :** numéro de population.

Paire chromosomique portant la constriction secondaire.

### 2- Coloration au Giemsa (C-banding)

La coloration au Giemsa ou le C-banding est une coloration différentielle qui met en évidence l'hétérochromatine constitutive. Dans notre cas nous avons répété la technique plusieurs fois afin d'obtenir les résultats ci-dessous (Planche 10 et 11).

Les résultats montrent l'existence de régions hétérochromatiques pour les trois taxons sans pouvoir réaliser le caryotype complet. Cette technique s'avère difficile et ces premières investigations méritent d'être poursuivies dans l'avenir.

#### 2-1 Chez le diploïde

La seule population pour laquelle nous avons obtenus un résultat c'est la population 4 (planche 10). L'analyse de la plaque métaphasique obtenue révèle l'existence de bandes hétérochromatiques épaisses sur les chromatides de chaque chromosome et qui se concentrent au niveau centromérique, télomérique et intercalaire.

#### 2-2 Chez les tétraploïdes

L'application de cette technique nous a posé des problèmes. En effet, les bandes hétérochromatiques sont difficilement observables malgré de nombreux essais (la dénaturation et la renaturation sont probablement à adapter à ce matériel.).

Quelquefois nous avons obtenu des plaques métaphasiques pour quelques populations sans pouvoir réaliser le caryotype complet (planche 11) car le nombre chromosomique est incomplet. Nous observons des bandes localisées dans les régions centromériques, télomériques et intercalaires.

On remarque que les trois taxons étudiés sont riches en hétérochromatine constitutive, le nombre de bandes varie de 1 à 3 par chromosome.

### 3- Coloration au nitrate d'argent (Ag No3)

La coloration au nitrate d'argent est utilisée pour mettre en évidence le nombre de nucléoles dans les cellules, et pour visualiser l'activité des gènes ribosomiques.

Le nombre de nucléoles calculé sur 50 cellules est représenté pour les populations diploïdes et tétraploïdes dans les tableaux 10 et 11 et sont illustrés en photographies dans la planche 12.

**Tableau 9:** détermination du nombre de nucléoles par cellule chez l'espèce diploïde.

Nb nucléoles N° pop	1	2	3
1	30	20	0
3	32	18	0
4	35	15	0

**Tableau 10:** Détermination du nombre de nucléoles par cellule chez les deux taxons tétraploïdes.

Nb nucléoles N° pop	1	2	3
6	25	22	3
8	40	7	3
9	22	25	3
10	28	12	0
11	32	17	1
12	30	14	6

N° pop : numéro de population

Nb : nombre

**Discussions**

Chez le genre *Scorpiurus*, il existe deux niveaux de ploïdie :  $2n = 2x = 14$  et  $2n = 4x = 28$  avec le même nombre de base  $x = 7$ . Des travaux concernant le comptage et les mesures des chromosomes des taxons du genre *Scorpiurus* le confirment Coutinho et Ribeiro (1954), Dominguez et Galiano (1974a). Nos résultats sont donc conformes avec ceux de la bibliographie.

Nos résultats comparés à ceux de Coutinho et Ribeiro (1954) et Dominguez et Galiano (1974a) pour les trois taxons sont résumés dans le tableau 9.

**Tableau 11:** Comparaison avec les résultats obtenus et la bibliographie.

<b>Taxons</b>	<b>Nos résultats</b>	<b>Coutinho &amp; Ribeiro (1954)</b>	<b>Dominguez &amp; Galiano (1974a)</b>
<i>Scorpiurus vermiculatus</i>	1sm + 6 m (dont 1 CS)	2 m + 3 sm + 2 t	3 m + 2 sm + 2 t variété <i>vermiculatus</i> 3 m + 2 sm + 1 t + 1t/sat variété <i>spinus</i>
<i>Scorpiurus muricatus</i> subsp <i>subvillosus</i>	10 m + 4 sm		1 M + 8 m + 2 m + 3 t
<i>Scorpiurus muricatus</i> subsp <i>sulcatus.</i>	12 m + 2 sm (dont 1 CS) 9 m + 5 sm 10 m + 4 sm		1 M + 7 m + 2 sm + 2 t + 2 t /sat

*Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* présente une variation dans la formule chromosomique. Elle peut être due soit à des erreurs de mesure, soit elle correspond à une variabilité intraspécifique témoignant d'une microévolution différentielle.

Cette microévolution peut être représentée par des remaniements chromosomiques (addition, délétion ou translocation). Par exemple la réduction de la taille d'un chromosome par délétion ou bien l'augmentation de la taille par le gain d'un segment chromosomique peut conduire à leur décalage dans le classement, et par conséquent au changement du caryotype (Jacob, 2001).

Chez les populations diploïdes, la seule variabilité intraspécifique est la position, dans le caryotype, de la paire submétacentrique. Elle occupe la position 6 pour les populations 1 et 3 et la position 5 pour la population 4.

L'analyse du caryotype des taxons diploïdes et tétraploïdes met en évidence un polymorphisme relatif à la présence de la constriction secondaire. Celle-ci est présente chez le taxon diploïde. Chez les taxons tétraploïdes elle n'est pas toujours observée. En effet, *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* (représentée par une seule population) ne possède pas cette structure. Chez *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* elle est présentée dans 3 populations sur 5 étudiées. Une population (12) possède 2 paires porteuses de la constriction secondaire.

Les résultats obtenus par Coutinho et Ribeiro (1954) et Dominguez et Galiano (1974a) montrent que le caryotype du taxon diploïde et des taxons tétraploïdes sont constitués de plusieurs types chromosomiques (métacentriques, submétacentriques et acrocentriques). Ces données nous permettent d'affirmer que ces caryotypes sont asymétriques. Ce qui d'après Stebbins (1970) est un indicateur d'un caryotype évolué.

Nos résultats montrent deux types chromosomiques (métacentriques et submétacentriques) et un indice d'asymétrie variant de 54 % à 59 % indicateurs de caryotypes symétriques et primitifs.

Si nous nous référons à Stebbins, nous pouvons affirmer que les taxons algériens ont subi une microévolution plus lente que les taxons étudiés par Coutinho et Ribeiro, et Dominguez et Galiano, dont nous ignorons la provenance.

### 1- Relations

#### 2- diploïdes -tétraploïdes

La polyploïdie est un processus important qui touche l'évolution de la plupart des espèces. On distingue deux types de polyploïdies : les autopolyploïdies qui résultent du dédoublement du stock chromosomique, et les allopolyploïdies qui proviennent d'une hybridation interspécifique suivie d'un dédoublement chromosomique.

Du point de vue du mécanisme cytologique, la polyploïdie peut provenir des divisions méiotiques et mitotiques anormales conduisant à la formation de gamètes diploïdes aboutissant à la formation de zygotes tétraploïdes (Gorenflot et Raicu, 1980).

Dominguez et Galiano en 1974a affirment que *S. muricatus* est issu de *S. vermiculatus* par polyploïdisation du diploïde à savoir par autopolyploïdie. La comparaison des formules chromosomiques du diploïde et des tétraploïdes étudiés, corrobore cette affirmation.

#### 3- Liaisons interchromosomiques

La coloration à l'acéto orcéine a mis en évidence la présence d'un réseau de fibres inter-chromosomiques persistantes après l'anaphase chez les trois taxons étudiés (presque chez toutes les populations) (Planche 12). Ce phénomène peut entraîner une hérédité en bloc de certains caractères (Siljak-Yakovlev, 1986), ce qui pourrait avoir pour conséquence, une faible variabilité.

#### 4- C-banding

*Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* est très riche en hétérochromatine particulièrement dans la région terminale des chromosomes. Cette richesse peut s'expliquer par une adaptation au milieu d'origine de cette sous espèce. En effet d'après Siljak-Yakovlev (1986), il existe une corrélation entre la quantité d'hétérochromatine et la répartition altitudinal des différentes espèces ; *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* occupe des habitats à des altitudes variées.

La surcharge en hétérochromatine pourrait être la réponse d'une population à des nouvelles conditions écologiques. Lespinase (1980), *in* Siljak-Yakovlev (1986).

### 5- Nitrate d'argent

La coloration au nitrate d'argent a mis en évidence le nombre de nucléoles. Les résultats obtenus montrent que le nombre de nucléoles varie de 1 à 2 pour les populations diploïdes, et de 1 à 3 pour les populations tétraploïdes, mais le plus fréquent est 1 nucléole en moyenne pour l'ensemble des populations.

Nous avons aussi observé une différence de taille des nucléoles chez toutes les populations (diploïdes et tétraploïdes), elle peut être petite, moyenne ou assez grande. Cette variation est en relation avec le nombre de nucléoles par cellule. Elle est grande lorsque il n'y a qu'un seul nucléole, et elle est relativement moyenne ou petite lorsque il y'a deux ou plus.

La variation du nombre peut être expliquée par la fusion de certains nucléoles (Yakovlev et *al.* 2002).

Les nucléoles sont associés aux régions de la chromatine contenant de l'ADN dont les segments sont appelés régions organisatrices de nucléole (NORs), ces dernières contiennent les gènes qui codent pour l'ARN ribosomique (Gall et Pardue, 1969), elles correspondent à des constriction secondaires des chromosomes en métaphase (M. Derenzini, 2000).

Lorsqu' un noyau contient un grand nombre de nucléoles, cela indique une forte activité transcriptionnelle des NORs et une richesse en gènes ribosomiques (Zurita et *al.*1998)

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au cours de la réalisation de ce travail, nous avons pu avoir des connaissances cytogénétiques importantes sur le génome du genre *Scorpiurus* en appliquant des techniques cytogénétiques (coloration à l'acéto orcéine, coloration différentielle au Giemsa ou le C-banding et la coloration au nitrate d'argent (Ag NO<sub>3</sub>)).

L'étude caryosystématique réalisée par l'acéto orcéine sur les taxons du genre étudié, nous a permis de confirmer l'existence de deux types de ploïdie avec le même nombre de base soit  $x = 7$  : diploïde à  $2n = 2x = 14$  et tétraploïde à  $2n = 4x = 28$ . Cette technique nous a permis

de classer les chromosomes en paires homologues selon leurs morphologies en tenant compte de la taille, la position des centromères et la présence/absence des constriction secondaires.

Le caryotype de chaque taxon est caractérisé de la manière suivante :

### ***Scorpiurus vermiculatus* :**

Trois populations de ce taxon sont étudiées. Il se caractérise par la présence de six paires de chromosomes métacentriques dont une porteuse d'une constriction secondaire, et une paire submétacentrique. La longueur totale des chromosomes (**LT**) varie de **2.03  $\mu\text{m}$**  à **3.91  $\mu\text{m}$** . La valeur du rapport de la taille entre la paire la plus longue et la paire la plus courte (**R**) est comprise entre **1.37** et **1.71**. La valeur de la longueur totale relative (**LTR**) est comprise entre **1.06** et **1.86**.

### ***Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* :**

Une seule population est étudiée. Ce taxon se caractérise par la présence de dix paires métacentriques et quatre paires submétacentriques. La longueur totale des chromosomes (**LT**) varie de **1.64  $\mu\text{m}$**  à **3.38  $\mu\text{m}$** . La valeur du rapport de la taille entre la paire la plus longue et la paire la plus courte **R = 2.06**. La valeur de la longueur totale relative (**LTR**) est comprise entre **0.49** et **1.022**.

### ***Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* :**

Cinq populations qui représentent le taxon sont étudiées. Ces populations sont divisées en deux groupes. Le premier groupe est représenté par des populations qui ont deux paires chromosomiques submétacentriques et douze paires métacentriques dont une porte une constriction secondaire (une population a deux constriction secondaires).

Le deuxième groupe a 10 paires métacentriques et quatre paires submétacentriques (une seule population), ou bien neuf paires métacentriques et cinq paires submétacentriques (une seule population). La longueur totale des chromosomes (**LT**) varie de **2.02  $\mu\text{m}$**  à **5.03  $\mu\text{m}$** . La valeur du rapport de la taille entre la paire la plus longue et la paire la plus courte (**R**) varie de **1.49** à **1.79**. La valeur de la longueur totale relative (**LTR**) est comprise entre **0.518** et **1.005**.

La présence de deux types chromosomiques (submétacentrique et métacentrique), avec un indice d'asymétrie varie de **54%** à **59%** pour les trois taxons nous a permis de dire que les caryotypes sont symétriques et primitifs.

L'application de la méthode de coloration au Giemsa ou le C-banding nous a montré que les espèces étudiées sont riches en bandes hétérochromatiques qui sont de type centromérique, intercalaire et télomérique. Elles sont présentes dans presque tous les chromosomes.

Par l'application de la technique de coloration aux nitrates d'argent ( $\text{Ag NO}_3$ ), nous avons pu mettre l'accent sur le niveau d'expression des gènes ribosomiques par la détermination du nombre de nucléoles. Il est de un ou deux nucléoles pour les trois taxons dont la une majorité présente un seul nucléole.

Pour comprendre au mieux l'organisation du génome du genre *Scorpiurus*, et afin de mettre en évidence la relation exacte entre le taxon diploïde et les taxons tétraploïdes, les approches suivantes doivent être menées :

- Poursuivre la technique de C-banding pour réaliser un profil hétérochromatique exact.
- Applications des techniques cytogénétiques modernes tel que :
  - la coloration à la chromomycine (fluorochrome banding) pour mettre en évidence les séquences hétérochromatiques riches en GC.
  - la GISH (Genomic In Situ Hybridization) pour confirmer ou infirmer l'autopolyploïdie.
  - la FISH (Fluorescent In Situ Hybridization), pour localiser les gènes ribosomiques et comprendre l'organisation hétérochromatique de ce complexe
- la cytométrie en flux pour étudier la taille du génome.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abbate V., Maugeri G., Cristaudo A., Gresta F., 2009:** *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* L. Thel., a potential forage legume species for a mediterranean environment: a review. *Grass and Forage science*.**65**: 2-10
- Abdelguerfi A., Laouar M., Tazi M., Bounejmate M. et Gaddes N.E., 2000.** Présent et futur des pâturages et des légumineuses fourragères en région méditerranéenne : Cas du Nord de l'Afrique et de l'Ouest de l'Asie. *In* Proceeding « Legumes for Mediterranean forage crops, pastures and alternative uses », 10<sup>th</sup> Meeting of the Mediterranean Sub-Network of the FAO-CIHEAM. Sassari (Italie), 4-9 April 2000. *Cahiers Options Méditerranéenne*, 45 : 461-467.
- Abdelguerfi A. et Abdelguerfi -Laouar M., 2004.** Les ressources génétiques d'intérêt fourrager et/ou pastoral : diversité, collecte et valorisation au niveau du Bassin Méditerranéen. *In* Proceeding « Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens », 11<sup>th</sup> Meeting of the Mediterranean Sub-Network of the FAO-CIHEAM. Djerba (Tunisie), 29/10-1/11-2002. *Cahiers Options Méditerranéenne*, 62 : 29-42.
- Abdelguerfi .A et Laouar. M., 1999 :** Auto écologie de légumineuses spontanées d'intérêt fourrager et/ou pastoral en Algérie. *CIHEAM-Options méditerranéennes*. 97-101.
- Battandier J. A. & L. Trabut, 1890.** La flore de l'Algérie, Dicotylédones. Imp. Off. Alger. 284-285.
- Bensalem 1982.** Contribution à l'étude du genre *Scorpiurus* L en Algérie. Thèse ing. INA, Alger 1-60
- Bensalem K., Abdelguerfi Berrekia R. et Abdelguerfi A., 1988 :** Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Scorpiurus* L en Algérie V. Comportement en culture expérimentale de 120 populations de 3 espèces. *Ann. Inst. Nat. Agronomie El Harrach* **V13** (2) :544-557.
- **Bensalem K., Abdelguerfi A., Abdelguerfi - Berrekia R., 1990 :** Relations du genre *Scorpiurus* L. avec certains facteurs du milieu en Algérie. *Fourrages* 124 : 407-419

- Bock B., 2004** : Index synonymique de la flore de France sur le site de Tela Botanica, <http://www.tela-botanica.org>.
- Bonnet E. D. & G. Pausas 2004**. *Catalogue raisonné des plantes vasculaires de la Tunisie*. Imp. Nat. Paris. 138-139.
- Coutinho et Ribeiro., 1954**. Algumas observações cariologicas no genero *Scorpiurus* L. Rev. Agron. 33: 334- 361.
- Cristaudo A., Gresta F. Avola G. and Miano V., 2008**: Germination capability of immature seeds of *Lotus ornithopodioides*. L and *Scorpiurus subvillosus* L. Options méditerranéennes, series A, N° 79:289-292.
- Derenzini M., 2000**: the Ag NORs. Micron 31:117-120.
- Dominguez E. et Galiano E.F., 1974a** : Revision del género *Scorpiurus* L. I- Parte experimental. Lagasalia, 4 (1), 61-84.
- Dominguez E. et Galiano E.F., 1974b**: Revision del género *Scorpiurus* L. I- Parte sistemica. Lagasalia, 4 (2), 259-280.
- Fabio G., Giovanni A. et Valerio A., 2006**: Germination ecology of *Scorpiurus subvillosus* L. seeds: The role of temperature and storage time. Plant Ecol (2007) **190**: 123-130.
- Gadouche L. 1999**. Étude de l'héritabilité et approche numérique de la taxonomie chez le genre *Scorpiurus* L. Mémoire DES Génétique UTHB Alger 1-85
- Gall, JG et Pardue, ML (1969)** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 63:318
- Gorenflot R. et Raicu P., 1980** : Cytogénétique et évolution. *Masson ed.* Vol 280.

- Goumiri R., et Abdelguerfi A., 1989.** Contribution à l'étude des espèces spontanées de la tribu des *Hedysarées* en Algérie: Analyse chimique du fourrage au stade végétatif. Ann. Inst. Nat. Agron. El Harrach 13(2); 558-567
- Goumiri R. et Abdelguerfi A. 1991.** Les espèces spontanées de la tribu des Hedysarées en Algérie analyse chimique des forages au stade végétatif. IV<sup>ème</sup> congrès international des terres de parcours. 22-26 avril. Montpellier 233-234.
- Gresta F. Avola G. and Abbate V., 2007.** Germination ecology of *Scorpiurus subvillosus* L. seed. The role of temperature and storage time. Plant ecology;190: 123-130.
- Greuter W., Burdet H.M. & G. Long, 1989.-** *Med-Checklist*, 4 : 174. Conservatoire et des Jardins botaniques de la ville de Genève.
- Hamdani F. Z., 2001 :** Régénération via l'organogenèse ou l'embryogenèse somatique chez le *Scorpiurus*. Thèse de Magistère. Univ. Chlef.
- Harry M., 2001 :** Génétique moléculaire et évolutive. Maloine. Paris. 15.
- Hayes H., 2000 :** Notion de base de génétique AND et chromosomes INRA prod Anim.13-20.
- Hernandez-Verdun D., Louvet E ., 2004 :** Le nucléole: structure, fonctions et maladies associés. M/S: médecine et sciences. 20:37-44.
- Heyn C.C. & V. Raviv, 1966:** Experimental taxonomic studies in the genus *Scorpiurus*. Bull. Torrey Bot. Club, 93 (4), 259-267.
- Hubel H. R., 1985:** Silver staining as an indicator of active ribosomal genes. Stain Technol. 60:285-294.
- Jacob F., 2001:** Théories sur l'évolution chromosomiques liées à l'écosystème et ses implications sur l'activité transcriptionnelle.

- Jiménez R., Burgos M. et Diaz Guardia R., 1988:** A study of Ag-staining significance in mitotic NOR's. *Heredity* 60: 125-127.
- Khouatmiani K. 2004.** Contribution à l'étude de la variabilité et de l'héritabilité des caractères des gousses, des graines et de la germination chez le genre *Scorpiurus* Thèse Mag Physiologie Végétale Université de Chlef 1-120.
- Klug C., Bruhwiler T., Orn D., Schweigert G., Brayard A. , Tilsleyamonoid J.; 2007.** Sell structures of primary organic composition. *Palaeontology*. Volume 50, Issue 6, pages 1463–1478.
- M'hammedi-Bouzina M., 1992.** Contribution à l'étude des graines de quelques légumineuses fourragères spontanées en Algérie. Thèse de magister INA. El Harrach, 105p.
- \_M'hammedi Bouzina M 2006.** Diversité et écologie de trois taxons du genre *Scorpiurus* en Algérie. Thèse d'Etat en Sciences Agronomiques. INA Alger. 1-204 et annexes
- M'hammedi-Bouzina M., Abdelguerfi A., Berrekia R. et Guittonneau G.G., 1989a.** Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Scorpiurus L.* en Algérie. III. Dureté et germination des graines de 17 populations de *S. vermiculatus*: Relation avec les conditions du milieu d'origine. *Ann. Inst. Agron., El Harrach*, vol. 13 N°2, 330-334.
- M'hammedi-Bouzina M., Abdelguerfi A., Berrekia R. et Guittonneau G.G., 1989b.** Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Scopiurus L.* en Algérie. IV. Dureté et germination des graines chez 35 populations de deux sous-espèces de *S. muricatus*; Relation avec les conditions du milieu d'origine. *Ann. Inst. Nat. Agron. El Harrach*, Vol. 13 N°2, 335-342.
- M'hammedi bouzina M., Abdelguerfi A. et Berrekia R., 1989c.** Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Scorpiurus L.* en Algérie: II.Dureté et germination des graines chez 29 populations de *S. muricatus* subsp. *sulcatus* (L.) Thell. *In Proceeding du 16 ème Congrès International des Herbages*, 1:193-194.

-**M'Hammedi Bouzina M. and Abdelguerfi A., 1990.** Study on hardness and germination of *Scorpiurus* seeds in relation to conditions of the native area. In 6th Meeting of the FAO European Sub-Network on Mediterranean Pastures and Fodder Crops. *Bulletin* 6:87-90.

-**M'Hammedi Bouzina M., Abdelguerfi A. et Guittonneau G.G., 1991.** Les espèces spontanées du genre *Scorpiurus* L. en Algérie : Germination de *S.vermiculatus* espèce pastorale du nord algérien. In proceeding du IVème Congrès International sur les Terres de Parcours, 1:279-280.

-**M'hammedi Bouzina M., Abdelguerfi-Laouar M. Abdelguerfi M.et Guittonneau G.G., 2004.** Distribution et écologie de trois espèces du genre *Scorpiurus*, Premier séminaire NAFRINET Oran.

-**M'Hammedi Bouzina M., Abdelguerfi-Laouar M. Abdelguerfi M.et Guittonneau G.G. 2005.** Autoécologie et distribution du complexe d'espèces *Scorpiurus .muricatus* (*S. sulcatus*-*S. subvillosus*) en Algérie - *Acta Bot. Gallica* 2005 152 (1) 11-23.

-**M'Hammedi Bouzina M., Abdelguerfi-Laouar M. Abdelguerfi M.et Guittonneau G.G. 2010.** Observations sur la répartition, l'écologie et les performances des espèces du genre *Scorpiurus* en Algérie. Colloque International, MedBiodiv2010, Gestion et Conservation de la Biodiversité Continentale dans le Bassin Méditerranéen, Tlemcen (Algérie), 11-13 octobre.

-**Negre R., 1961.** Petites flores des régions du Maroc occidental. C.N.R.S., Paris 337-374-

--**Neil Campbel et Jaune Reece., 2007** : Biologie. 7<sup>ème</sup> Edition. 392.

-**Ouzzane A, 1988.** Contribution à l'étude du développement du système racinaire chez quelques légumineuses spontanées d'intérêt fourrager en Algérie. Ann. Inst. Nat. Agro. El-Harrach, vol. 13, N° 2, 568- 580.

- Ouzzane et Abdelguerfi, 1989.** Etude du système racinaire en minirhizotrons chez quatre légumineuses spontanées d'intérêt pastoral et fourrager. *Ann. Inst. Nat. Agro. El-Harrach* 13, 2:568-580.
- Quezel P., Santa S., 1962 :** Nouvelle flore de l'Algérie des régions désertiques méridionales. Tome 1. Ed., CNRS, Paris; 565p.
- Richard Mathieu, 1995 :** Biologie Campbell. 3<sup>ème</sup> édition. **122,127.**
- Saadi A. et Hamdani F.Z., 2007 :** Regeneration in vitro du *Scorpiurus muricatus ssp subvillosus* via la caulogénèse. *Biothechnol. Agron. Soc.*
- Siljak-Yakovelev S., 1986 :** Etude cytogénétique et palnologique de copositae endémique ou relique de la flore Yougoslave. Thèse d'état. Univ. Paris-Sud.
- Siljak-Yakovelev S., Cerbah M., J. coulaud, V.Stoian., S.C.Brown., V.Zoldos. et jelenic S., 2002 :** Nuclear DNA content, base composition heterochromatin and rDNA in *Picea omorika* and *Picea abies*. *Théor Appl. Genet.* **104**: 505-512.
- Stebbins GL., 1971: Chromosomal Evolution in Higher Plants .Edward Arnold Publisher.**
- Talamucci P.et Chaulet C., 1989.** Contraintes et évolution des ressources fouragères dans le bassin méditerranéen. *In Proceeding du 16<sup>ème</sup> Congrès International des Herbages*, 3:1731-1740.
- Talavera S. & Dominguez E., 2000:** *Scorpiurus* in flora iberica. S. Castraviejo et al. (eds), Real Jardin Botanico, C.S.I.C., Madrid. **VII (2)**, 935-941.
- Yahiaoui- Younsi A., Abdelguerfi A., et Bouazza L., 2000 :** Etude de la floraison de trois espèces de genre *Scorpiurus* L : relation avec les conditions du milieu d'origine. *Cahiers Options méditerranéennes*. Vol 45: 245-248.

-**Younsi A., 1996.** Variabilité des gousses et des graines du genre *Scorpiurus L.* en relation avec le comportement des populations, Thèse Magister INA, El Harrach; 182p.

-**Younsi A. 1991** - Etude du comportement de populations spontanées de différentes espèces de légumineuses fourragères et pastorales. Thèse Ing. Agro. INA. El Harrach 79 p.

-**Zurita F., Jiménez R., Burgos M ., Díaz de la Guardia R .,1998** : Sequential silver staining and in situ hybridization reveal a direct association between rDNA levels and the expression of homologous nucleolar organizing regions: a hypothesis for NOR structure and function. Journal of Cell Science 111, 1433-1439

# PLANCHES

*Scorpiurus vermiculatus*

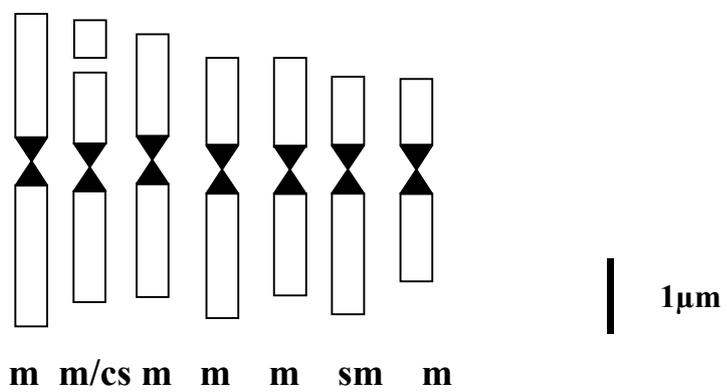
**a**



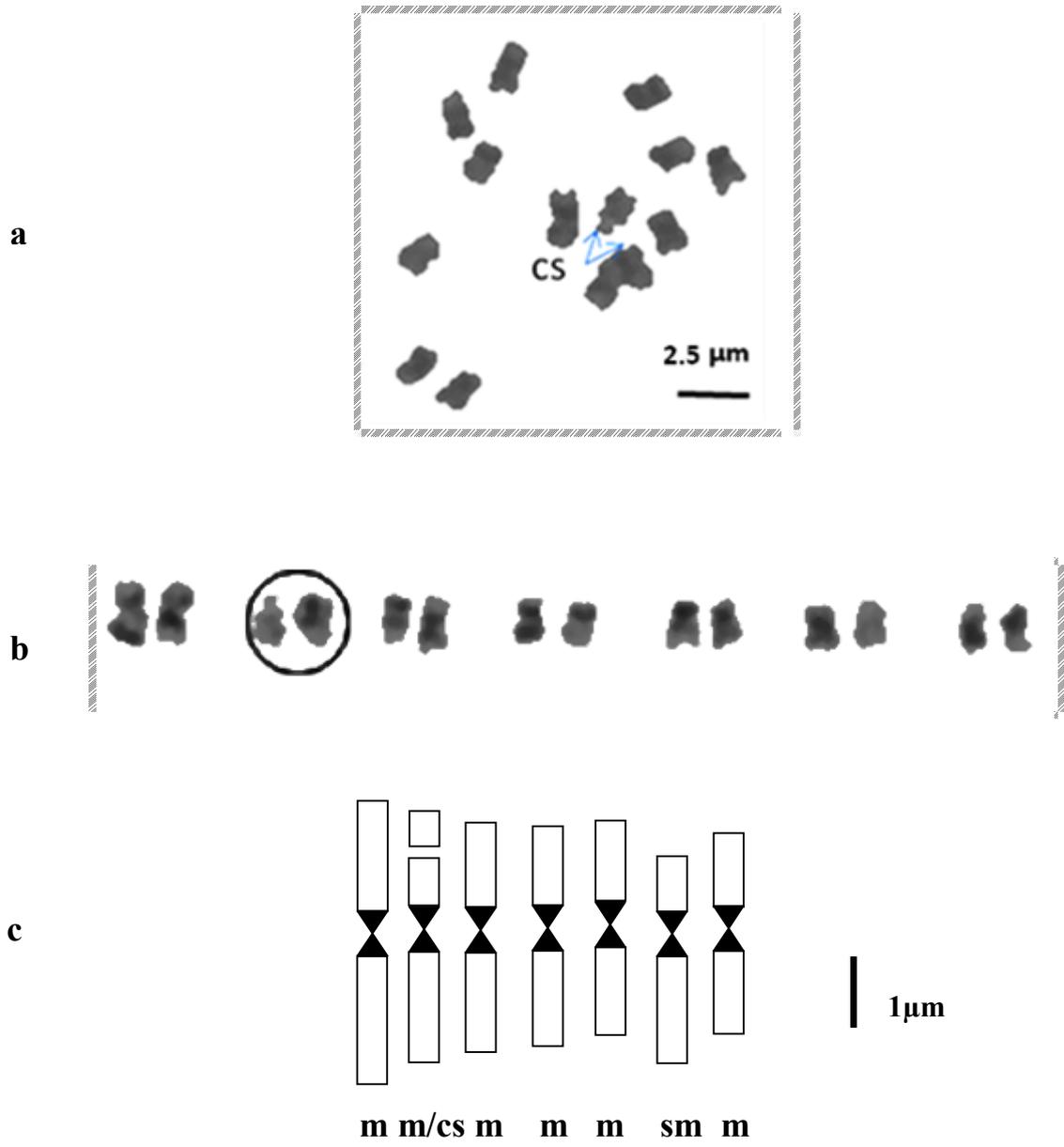
**b**



**c**

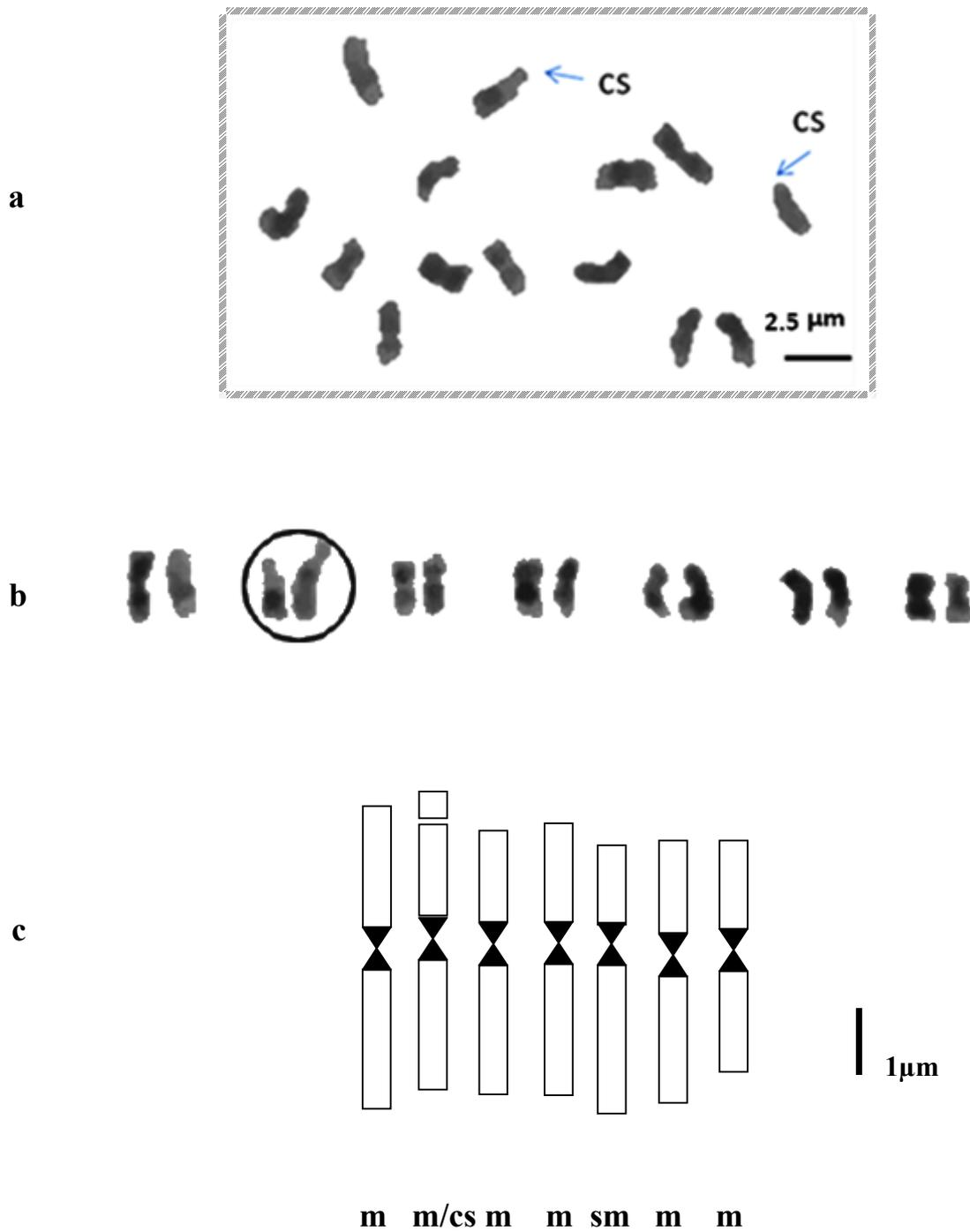


**PLANCHE 1:** Caryotype de l'espèce *Scorpiurus vermiculatus* population 1  
**a** : Plaque métaphasique, **b** : Caryogramme, **c** : Idiogramme



**PLANCHE 2:** Caryotype de l'espèce *Scorpiurus vermiculatus* population 3

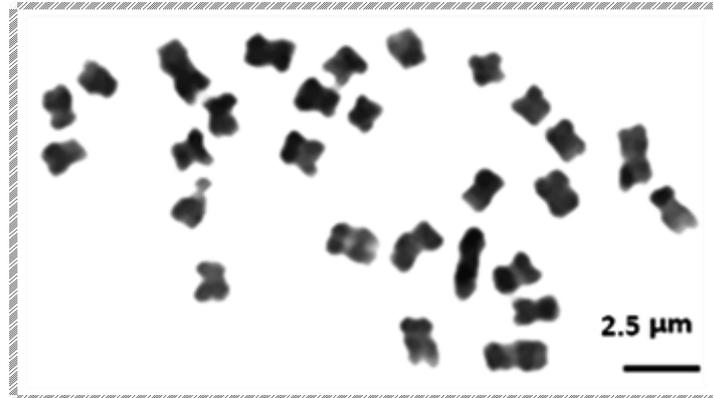
**a** : Plaque métaphasique, **b** : Caryogramme, **c** : Idiogramme.



**PLANCHE 3:** Caryotype de l'espèce *Scorpiorus vermiculatus* population 4  
**a** : Plaque métaphasique, **b** : Caryogramme, **c** : Idiogramme.

*Scorpiurus muricatus* subsp. *subvillosus*

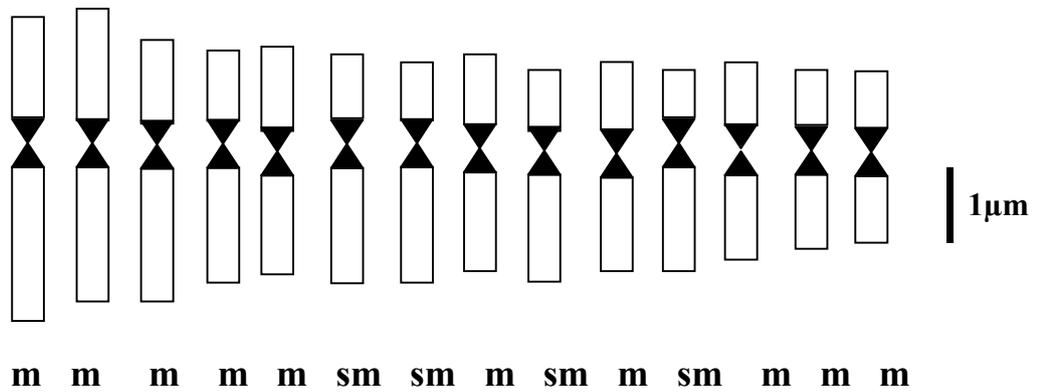
**a**



**b**



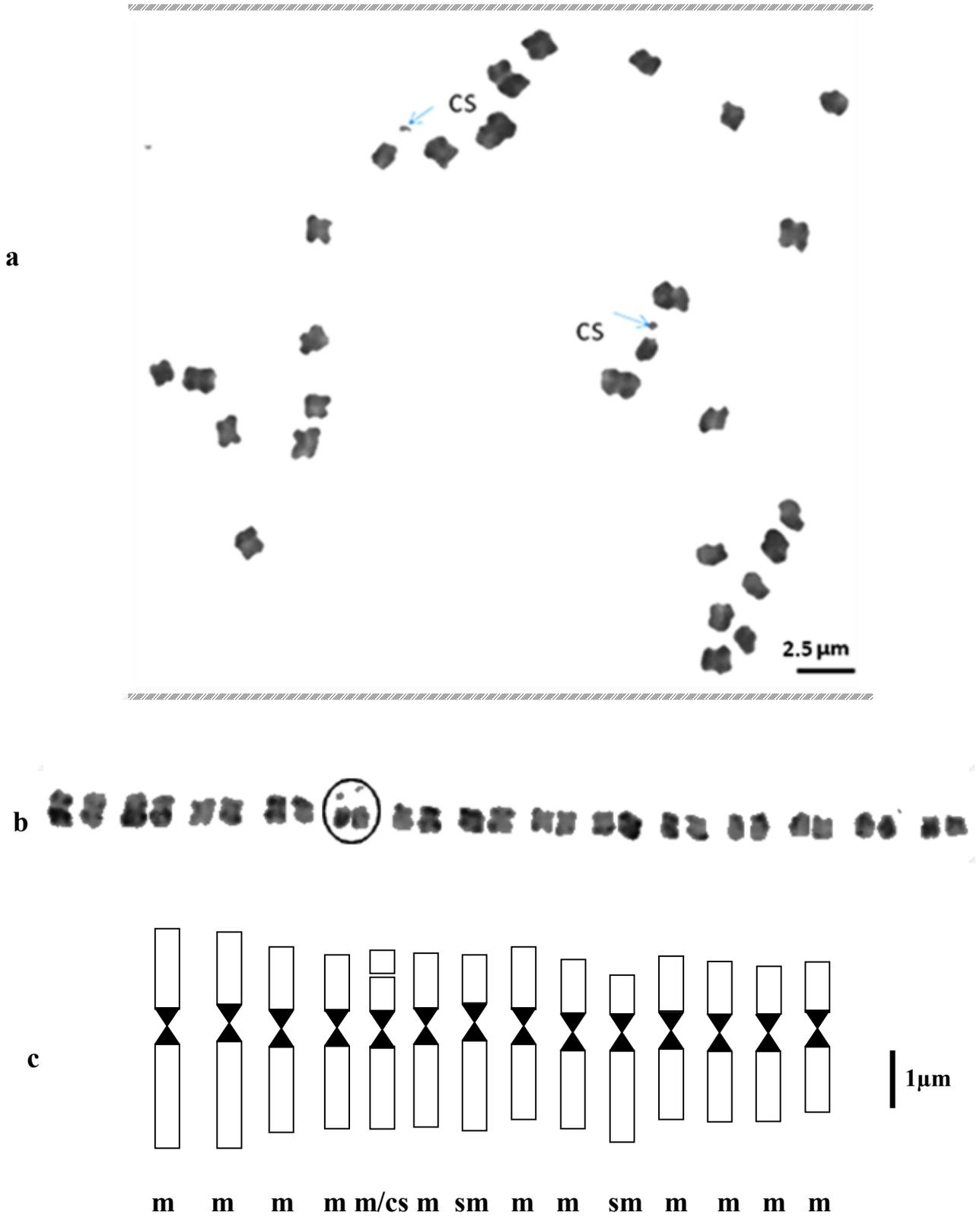
**c**



**PLANCHE 4:** Caryotype de *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* population 6

**a** : Plaque métaphasique, **b** : Caryogramme, **c** : Idiogramme.

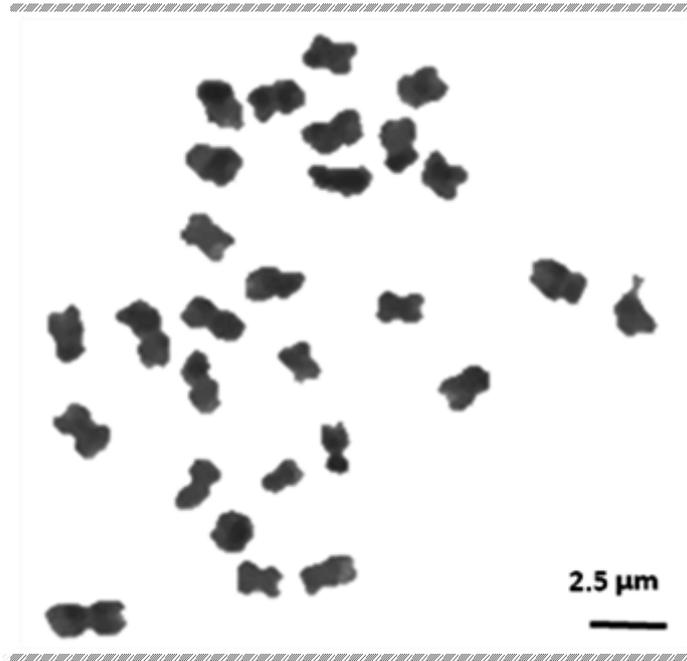
*Scorpiurus muricatus* subsp. *sulcatus*



**PLANCHE 5:** Caryotype du taxon *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* population 8

**a:** Plaque métaphasique, **b :** Caryogramme, **c :** Idiogramme

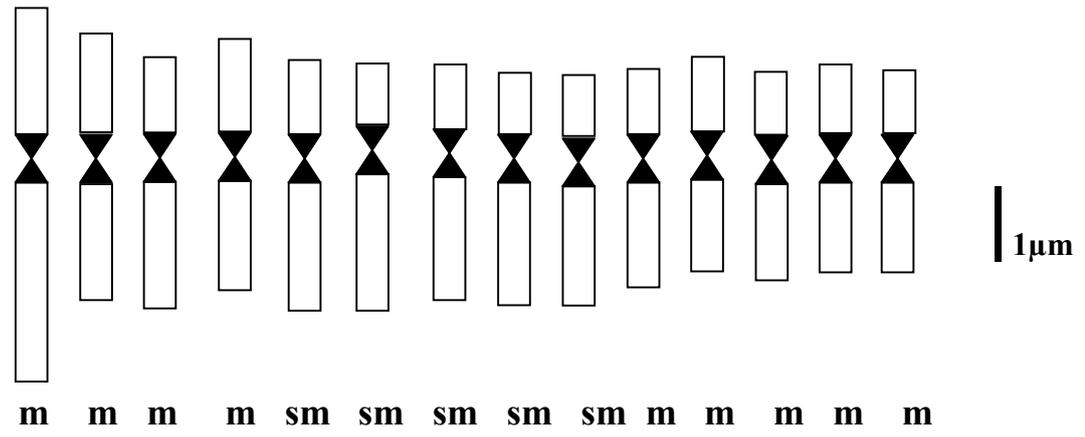
**a**



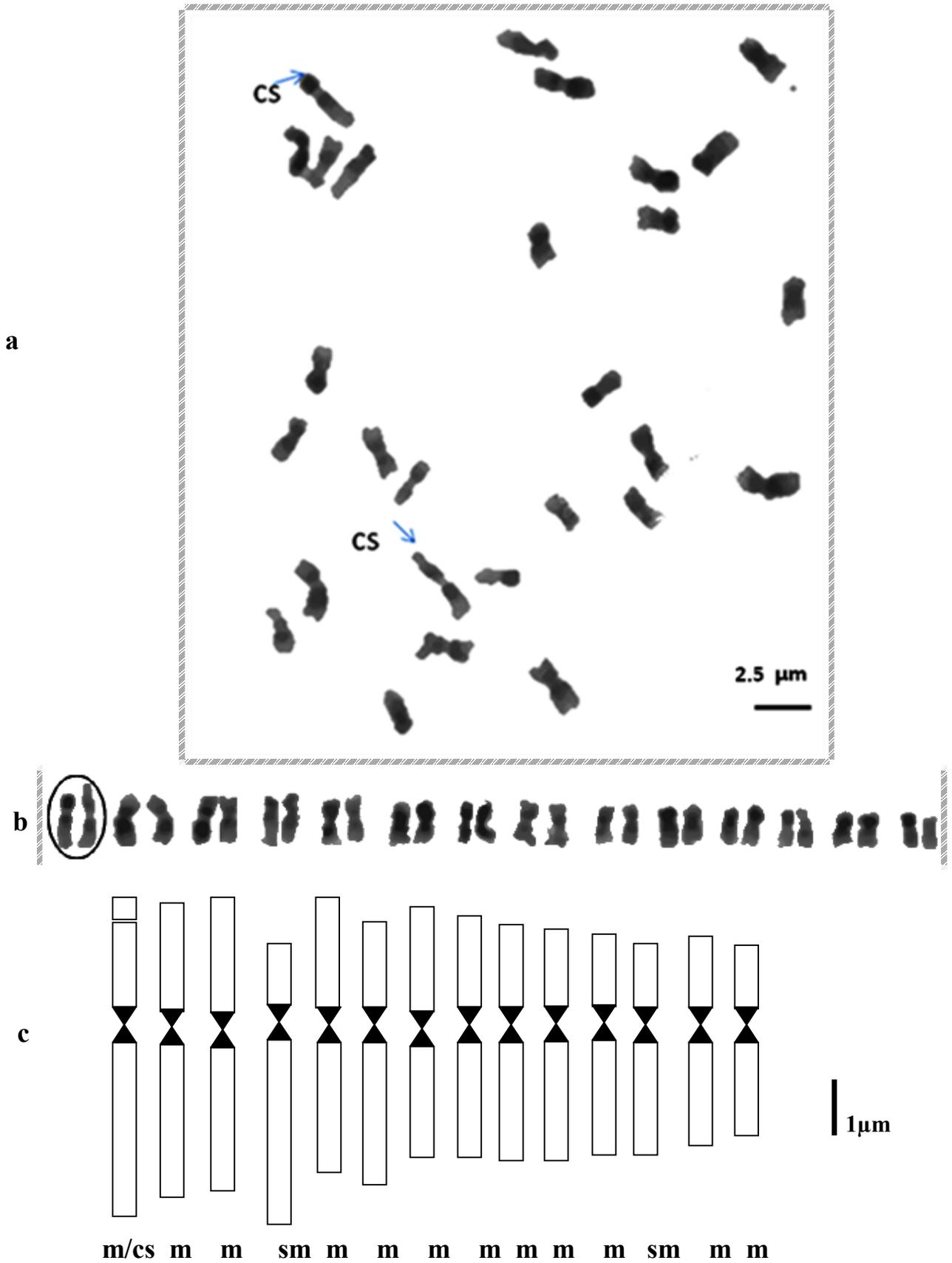
**b**



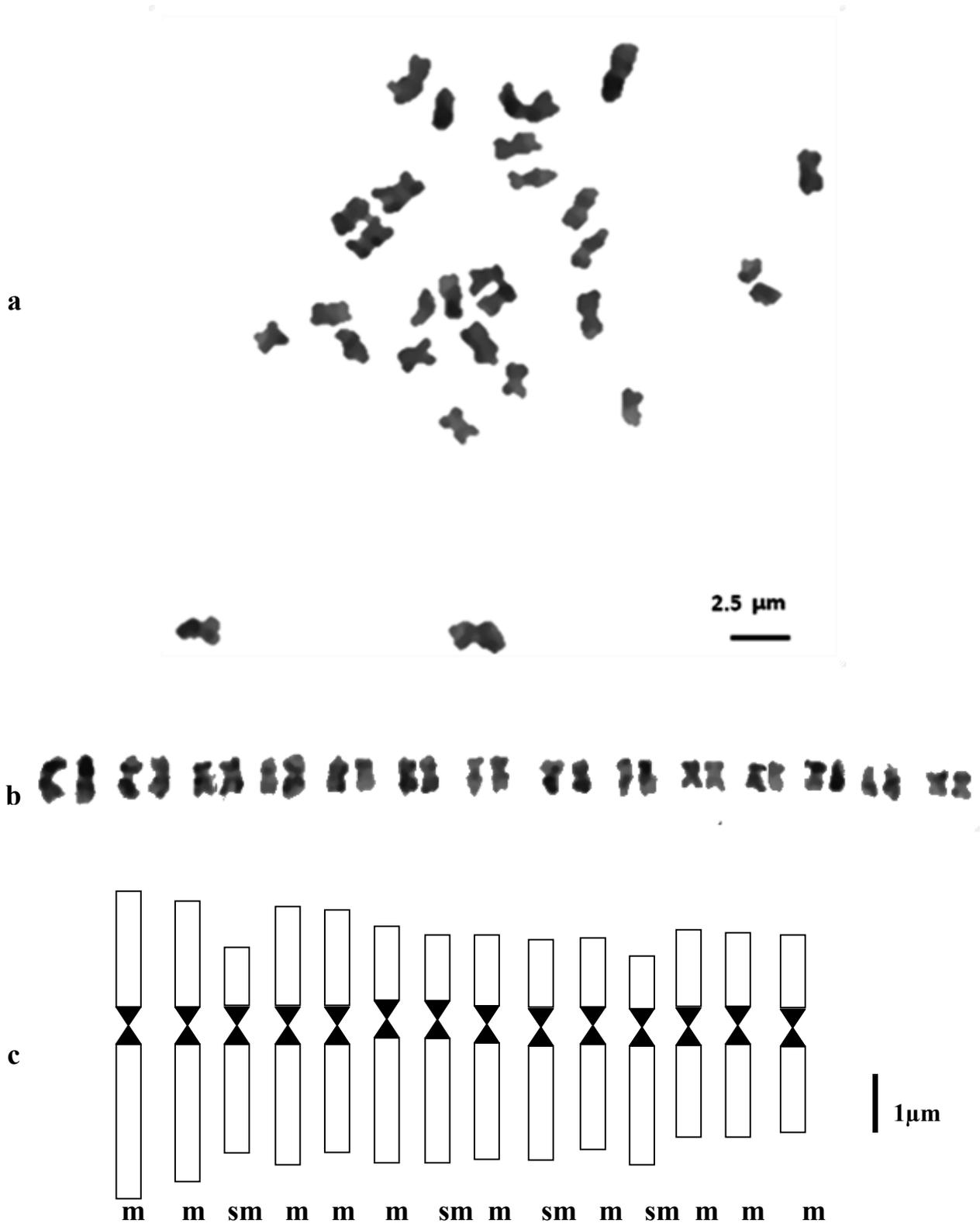
**c**



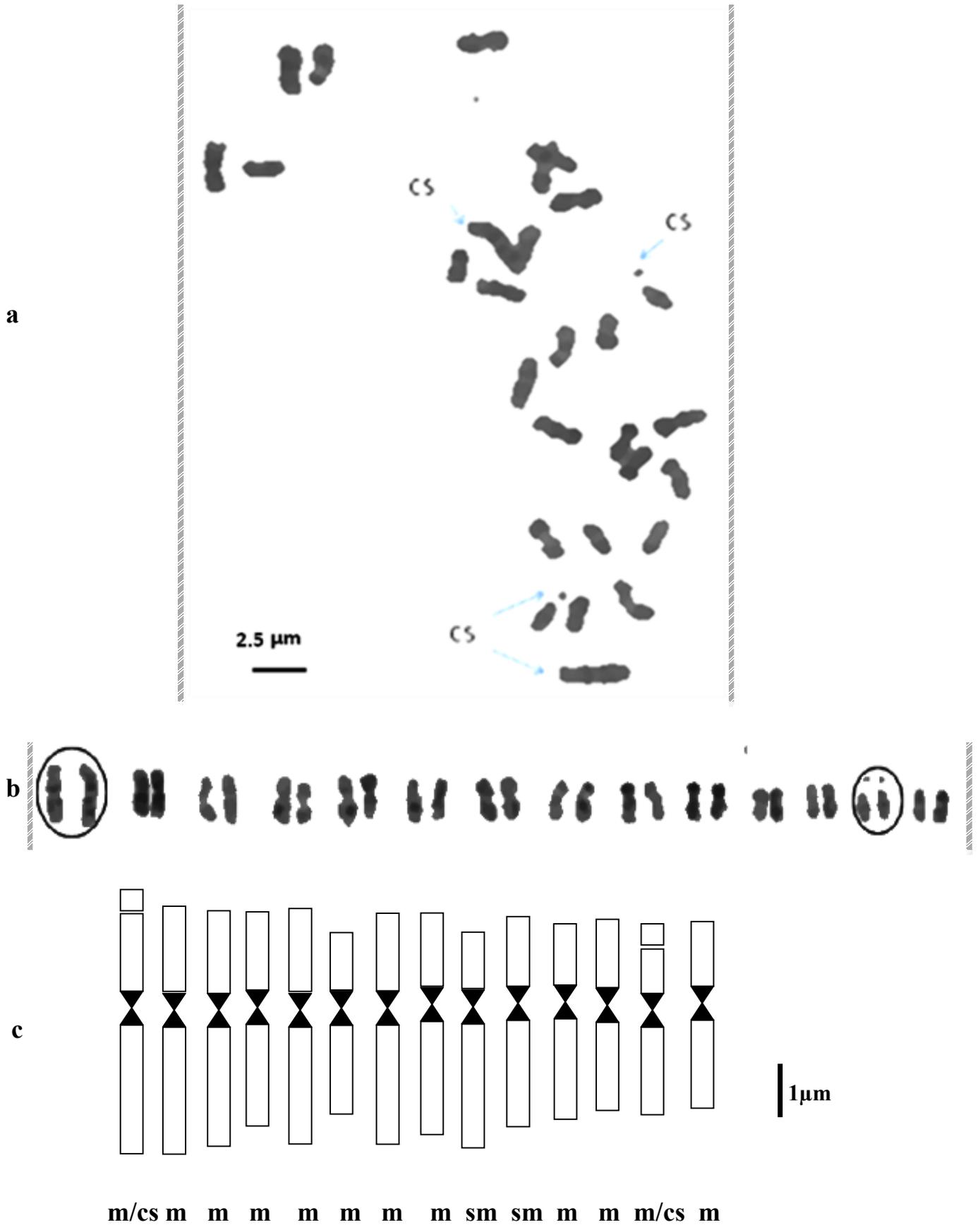
**PLANCHE 6:** Caryotype du taxon *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* population 9.  
**a** : Plaque métaphasique, **b** : Caryogramme, **c** : Idiogramme



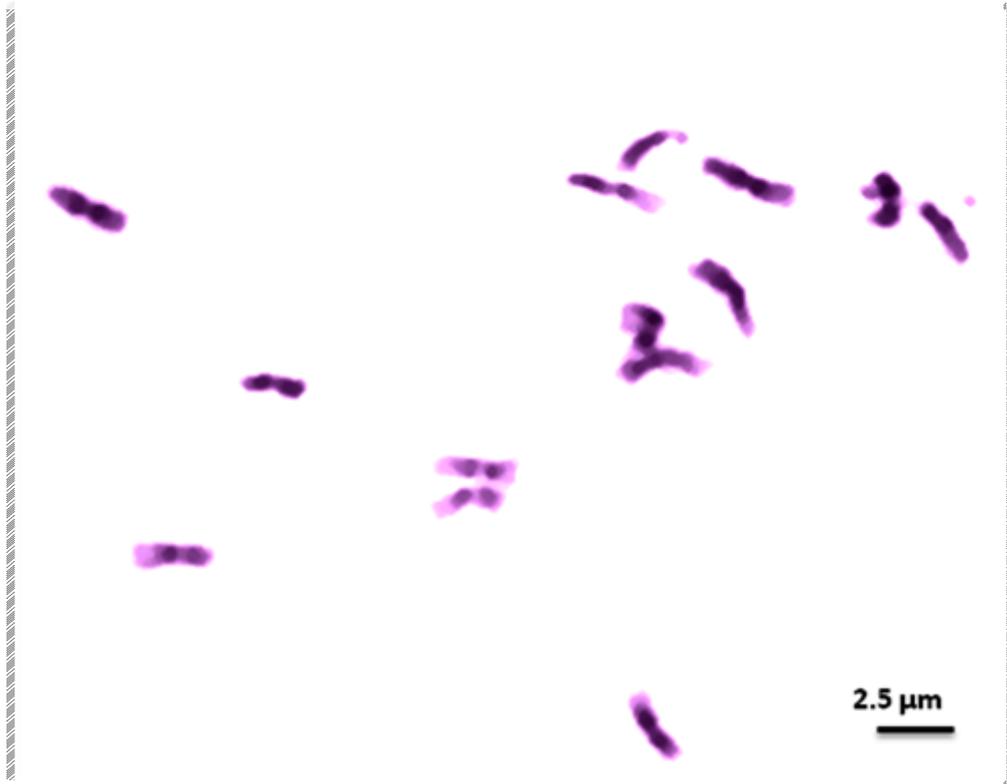
**PLANCHE 7:** *Caryotype du taxon Scorpiurus muricatus subsp sulcatus population 10.*  
**a :** plaque métaphasique, **b :** Caryogramme, **c :** Idiogramme



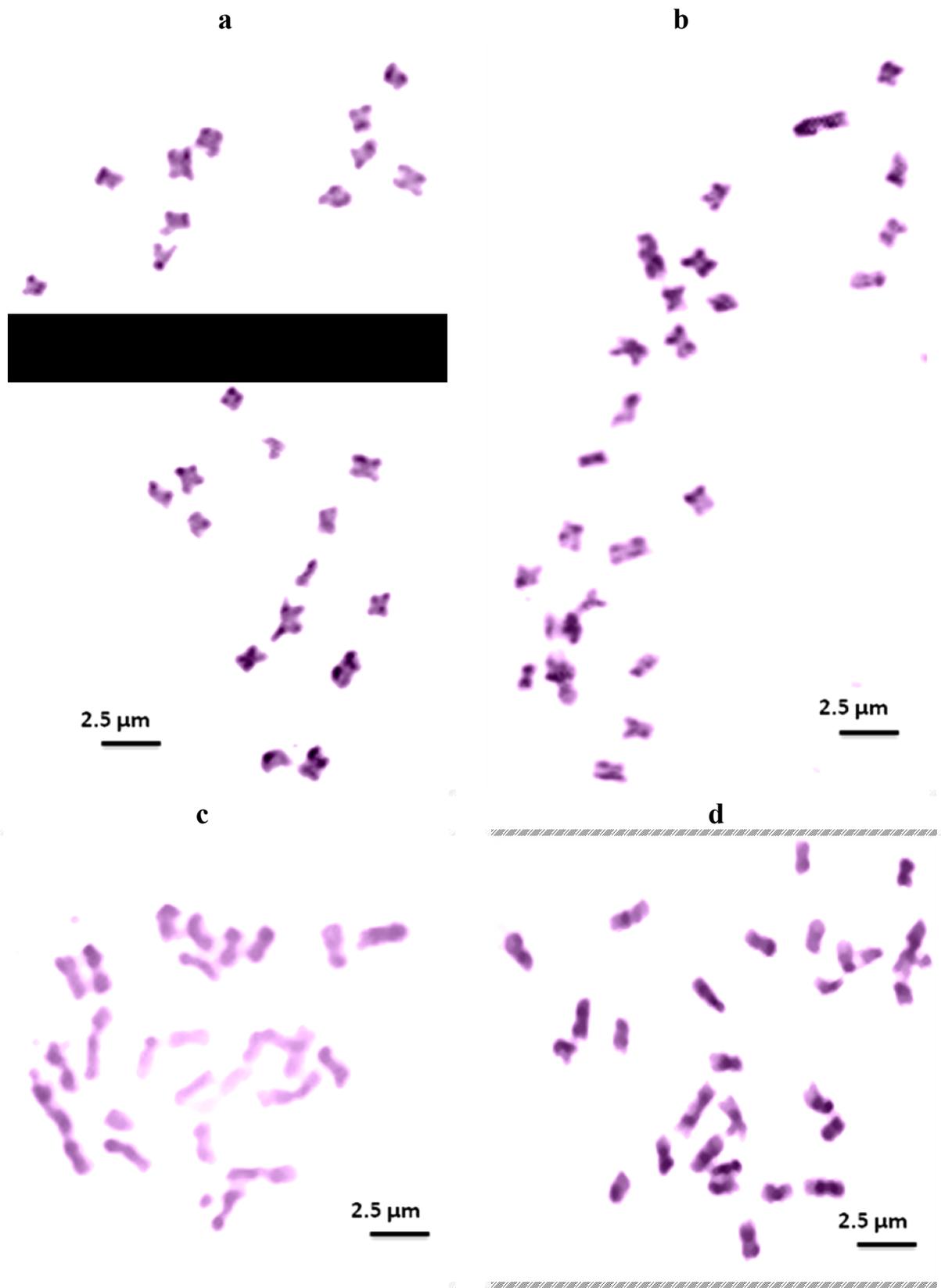
**PLANCHE 8:** Caryotype du taxon *Scorpiurus muricatus subsp. sulcatus* population 11.  
**a** : Plaque métaphasique, **b** : Caryogramme, **c** : Idiogramme



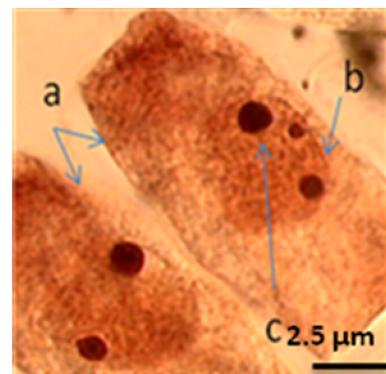
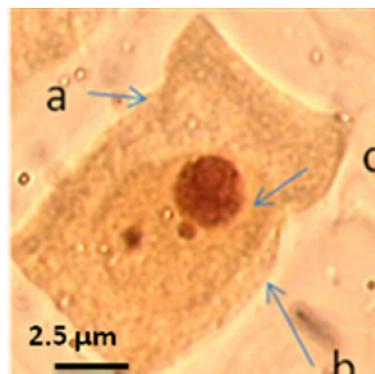
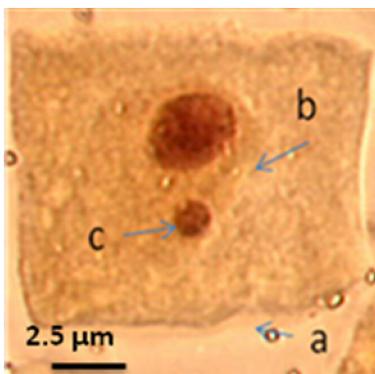
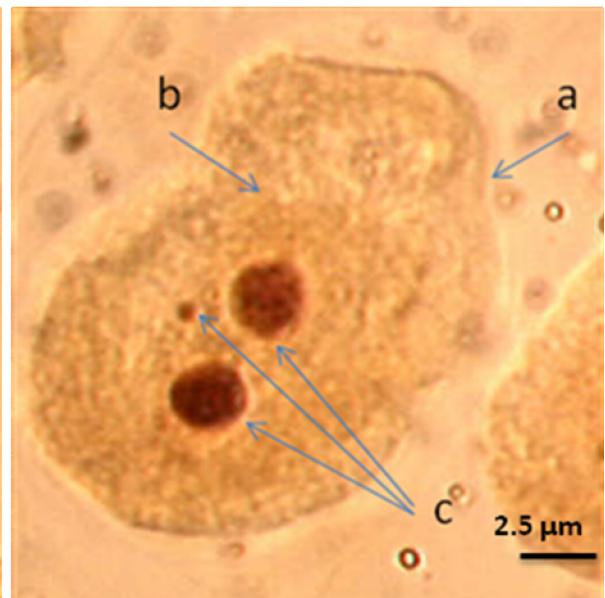
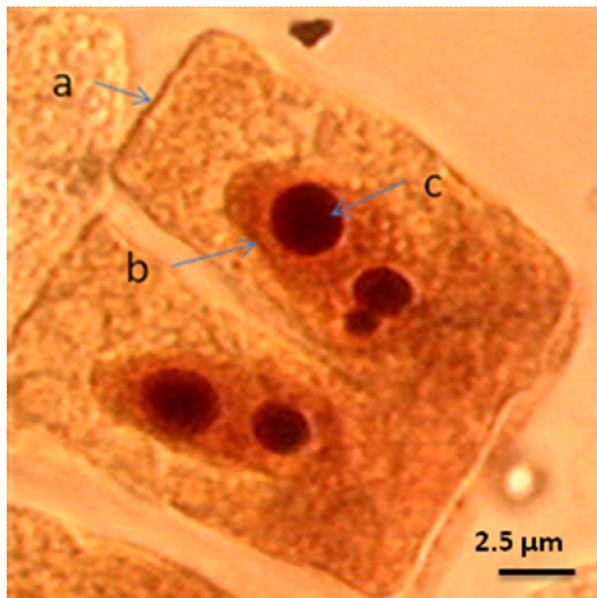
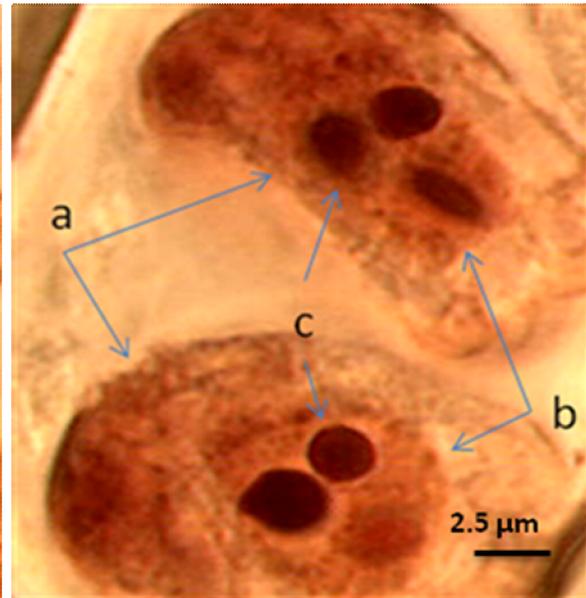
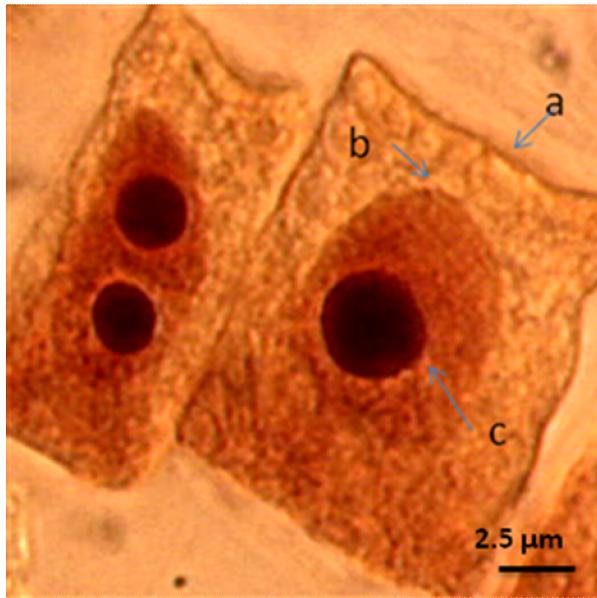
**PLANCHE 9:** Caryotype du taxon *Scorpiurus muricatus subsp sulcatus* population 12.  
**a** : Plaque métaphasique, **b** : Caryogramme, **c** : Idiogramme



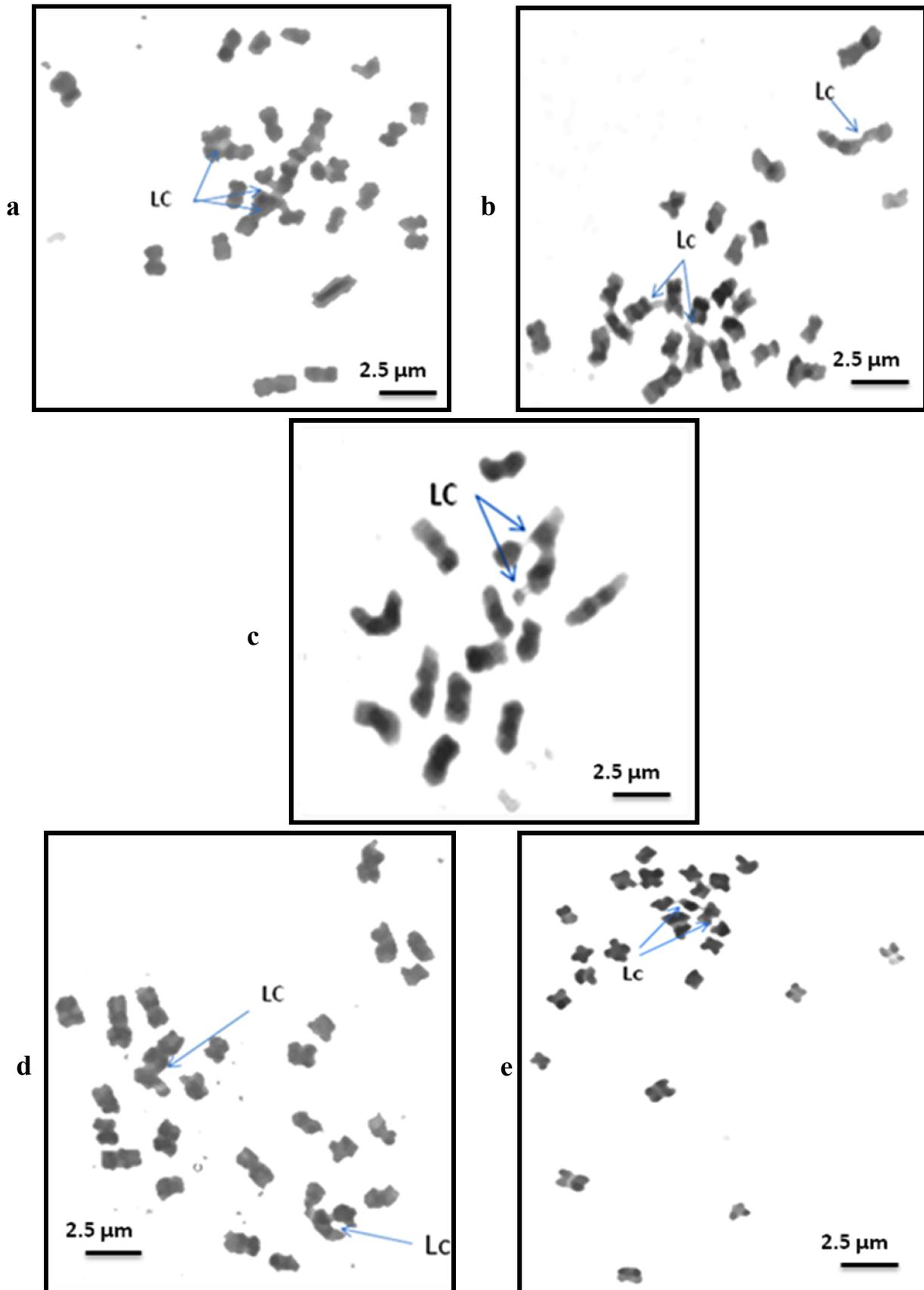
**PLANCHE 10:** Coloration différentielle au Giemsa chez *Scorpiurus vermiculatus* population 4.



**PLANCHE 11:** Coloration différentielle au Giemsa chez les taxons tétraploïdes (**a** : population 9, **b** : population 11, **c** : population 12, **d** : population 8).



**Planche 12 :** Cellules colorées au nitrate d'argent  
**a :** cellule, **b :** noyau, **c :** nucléoles



LC : Liaison inter-chromosomique

**Planche 13 :** Liaisons inter chromosomiques (a : population 10, b : population 9, c : population 4, d : population 6, e : populations 8).

ANNEXE

## **Acéto orcéine**

### **Solution mère d'orcéine**

Dans 100 ml d'acide acétique glaciale, dissoudre par ébullition ménagée 2.2 g d'orcéine, laisser refroidir, agiter et filtrer.

### **Solution standard**

La dilution se fait au moment de l'emploi, soit 4.5 ml de solution mère avec 5.5 ml d'eau distillée.

## **8 hydroxyquinoléine**

Dissoudre 0.03 g de quinoléine dans 100 ml d'eau distillée avec agitation.

### **Solution enzymatique PH=4.5**

Dans 10ml de tampon citrate (0.05 M)

Pectolyase .....	0.1 g
Hemicellulase .....	0.4 g
Cellulase .....	2 g

## **Préparation de la baryte (oxyde de barium Ba (OH)<sub>2</sub>)**

Dissoudre 6.8g d'oxyde de barium dans 100ml d'eau distillée

## **Tampon 2xSSC**

Pour une solution de 200ml

NaCL.....	7 g
Trisodum citrate (tri Na).....	3.52 g

## Tampon phosphate

Pour une solution de 200ml d'eau distillée à PH = 6.8

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....4.68 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....2.76 g

Giemsa.....6 ml

# RESUME

## **Abstract**

A detailed karyological study of three taxa (a diploid and two tetraploid) of the genus *Scorpiurus* is performed using conventional cytogenetic techniques ( aceto-orcein staining, Giemsa differential staining and silver nitrate AgNO<sub>3</sub> staining). The results confirm the ploidy of this genus which is  $2n = 2x = 14$  for the diploid taxa and  $2n = 4x = 28$  for both tetraploid taxa with a basic number  $x = 7$ . The establishment of the karyotype in the three taxa showed the presence of two chromosome types : metacentric and submetacentric. Secondary constrictions are also present in the diploid taxa and in some populations of tetraploid taxa. We have also observed the presence of interchromosomal connections among the three taxa. The Giemsa differential staining revealed the existence of constitutive heterochromatin located in centromeric, telomeric and intercalary regions. Staining with silver nitrate AgNO<sub>3</sub> has detected a number of nucleoli varies from 1 to 2 per cell suggesting that there is an active site.

## **Keywords**

*Scorpiurus vermiculatus*, *Scorpiurus muricatus* subsp *subvillosus*, *Scorpiurus muricatus* subsp *sulcatus*, aceto-orcein staining, C-banding, silver nitrate AgNO<sub>3</sub> staining, Karyotype, ploidy, Nucleolar organizer (NORs).

## ملخص:

أنجزت الدراسة التفصيلية للطابع النووي لثلاث أصناف من نوع *Scorpiurus* صنف ثنائي الصيغة الصبغية وهو *Scorpiurus vermiculatus* و صنفين رباعيين الصيغة الصبغية هما *Scorpiurus muricatus* و *Scorpiurus muricatus subsp subvillosus* و *subsp sulcatus*. استعملت من اجل ذلك طرق التلوين الكلاسيكية : acéto- orcéine , C-banding , الذي يلون الأشرطة الغنية بالقاعد GC ، نترات الفضة .

أكدت النتائج المتحصل عليها المستوى الصبغي للأصناف المدروسة و الذي هو كالتالي:  $2n=14$  بالنسبة للصنف ثنائي الصيغة الصبغية و  $2n=28$  بالنسبة لرباعي الصيغة الصبغية أي أن العدد القاعدي هو  $x=7$ .

أظهر التلوين باستعمال acéto – orcéine أن النمط الصبغي للأصناف الثلاثة المدروسة يتكون من نوعين من أزواج الكروموزومات : métacentriques و submétacentriques.

أظهرت طريقة التلوين بـ c-banding او Giemsa وجود أشرطة من نوع hétérochromatine متوضعة في وسط الصبغي في المناطق النهائية أو توجد بينهما كما لاحظنا وجود روابط بين صبغيات الأصناف المدروسة .

أظهرت طريقة التلوين بنترات الفضة  $AgNO_3$  عدد النويات و الذي يتراوح بين واحد و اثنان مع أغلبية وجود نوية واحدة في كل خلية وان مواقع NORs نشطة بالنسبة للأصناف الثلاثة.

## الكلمات المفتاحية:

*Scorpiurus* , التلوين بـ c- banding, acéto –orcéine, التلوين بنترات الفضة ، الطابع النووي ,المستوى الصبغي .organisateurs nucléolaires

**Nom:** TALHI  
**Prénom :** FAHIMA

**Date de soutenance:** / / 2011

**Thème : contribution à l'étude cytogénétique du genre  
*Scorpiurus* (L).**

**Diplôme :**

**Magistère en Biotechnologies Végétales**

### ***Résumé***

Une étude caryologique détaillée de trois taxons du genre *Scorpiurus*, un diploïde et deux tétraploïdes, est réalisée à l'aide des techniques de cytogénétique classiques (coloration à l'acéto-orcéine, la coloration différentielle au Giemsa (C-banding) et la coloration aux nitrates d'argent AgNo<sub>3</sub>). Les résultats obtenus confirment le niveau de ploïdies de ce genre qui est  $2n = 2x = 14$  pour le taxon diploïde, et  $2n = 4x = 28$  pour les deux taxons tétraploïdes avec un nombre de base  $x = 7$ . L'établissement du caryotype chez les trois taxons a mis en évidence la présence de deux types chromosomiques métacentriques et submétacentriques. Nous avons observé la présence des liaisons interchromosomiques chez les trois taxons. La coloration différentielle au Giemsa a démontré l'existence d'hétérochromatine constitutive localisée dans les régions centromériques, intercalaires et télomériques. La coloration aux nitrates d'argent AgNo<sub>3</sub> a permis de détecter un nombre de nucléoles variant de 1 à 2 nucléoles par cellule ce qui indique qu'il y a un site actif.

**Mots clés : *Scorpiurus*, coloration à l'acéto orcéine, C-banding, coloration au nitrate d'argent, caryotype, niveau de ploïdie, organisateurs nucléolaires.**

***Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie végétale. Département de Biologie végétale et de l'Ecologie. Faculté des sciences. Université Mentouri Constantine***

### **Membres du Jury:**

<b>Président :</b>	<b>Mr D. KHELIFI</b>	<b>Professeur à l'Université Mentouri Constantine</b>
<b>Rapporteur :</b>	<b>Mme N. KHALFALLAH</b>	<b>Professeur à l'Université Mentouri Constantine</b>
<b>Co-rapporteur :</b>	<b>Mr M. M'HAMMEDI BOUZINA</b>	<b>Maitre de recherche à l'université Hassiba Ben Bouali Chlef</b>
<b>Examineurs :</b>	<b>Mr A. ABDELGUERFI Mme D. SATTA</b>	<b>Professeur à L'I.N.A Professeur à l'Université Mentouri Constantine</b>