



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور - الجلفة

Université Ziane Achour – Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie Végétale

Thème

Contribution à l'étude de l'effet du stress salin sur la germination des graines de deux cytotypes ; diploïde et tétraploïde d'*Artemisia herba-alba* Asso.

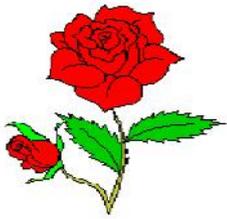
Présenté par: - Mlle. Benmelouka Halima Saadia Khadra

Soutenu le : 21 Octobre 2019

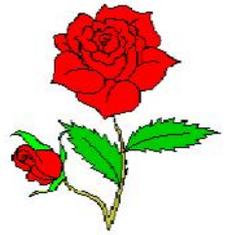
Devant le jury composé de :

- | | |
|--|----------------------|
| – Président : M. Touati Mostefa | MCA. Univ. de Djelfa |
| – Promoteur : M. Bougoutaia Youcef | MCB. Univ. de Djelfa |
| – Co-Promoteur : M. Amraoui Abdellaoui | MAA. Univ. de Djelfa |
| – Examineur : Mme. Oualha Dalila | MAA. Univ. de Djelfa |
| – Examineur : Mme. Dehbi Faouzia | MAA. Univ. de Djelfa |

Année Universitaire 2018/2019



Remerciements et dédicaces



Je remercie d'abord Allah qui nous a aidé et nous a donné le courage, et la volonté d'élaborer ce modeste travail.

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à **M. Bougoutaia Youcef** pour avoir encadré et dirigé ce travail, et pour sa disponibilité et ses conseils constructifs qui m'ont permis de réaliser ce travail. Je remercie également **M. Amraoui abdellauoi** ; Co-promoteur de mémoire, de m'avoir accompagné à la finalisation de ce travail, et pour son aide à la rédaction et la correction du document.*

*J'adresse mes vifs remerciements, toute ma gratitude et mes remerciements aux membres du jury; **Mr. Touati, Mme Oulha et Mme Dehbi** pour avoir accepté de faire partie du jury et pour avoir bien voulu évaluer ce travail.*

*Je tiens aussi à remercier les responsables de laboratoire surtout : **Mourtari Zineb, Aïssa et Boukerch Amina Y.** d'avoir rendu possible l'encadrement d'un étudiant de master au laboratoire de la Biologie.*

J'exprime mes vifs remerciements à tous les enseignants de notre spécialité.

*Mes remerciements vont également à tous : mes parents, mes sœurs, mon frère, mon Oncle **Abdelkader**, et toutes mes collègues de laboratoire.*

Je dédie ce mémoire à ma famille qui m'a toujours poussé à croire en moi.

Sans n'oublier mes collègues de la promotion 2019

*Benmelouka
Halima Saadia
Khadra*



Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures.....	
Liste des Tableaux.....	
Introduction	
ChapitreI: Synthèse bibliographique sur l'espèce <i>Artemisia herba-alba</i> Asso	
1. Genre <i>Artemisia</i>	2
2. Description et systématique de l'espèce <i>Artemisia herba alba</i>	2
2.1. Nomenclature et taxonomie.....	3
2.2. Écologie.....	4
2.3. Répartition géographique d' <i>Artemisia herba alba</i>	5
2.4. Description morphologique	5
2.5. Description botanique.....	6
2.5.1. Partie aérienne:	6
2.5.2. Partie souterraine ou racine :	10
2.6. Evolution phénologie de l'espèce	10
3. Importance de l'espèce.....	10
3.1. Intérêt pastoral de l'espèce.....	10
3.2. Intérêt médical de l'espèce.....	10
3.3. Intérêt écologique de l'espèce	11
4. Autres utilisations	11
4.1. Dans le domaine alimentaire	11
4.2. Dans le domaine cosmétique	11
ChapitreII : Cytogénétique	
1. Notions de cytogénétique	13
1.1. La chromatine.....	13
1.1.1 L'euchromatine (chromatine diffuse)	13

.1.1.2	L'hétérochromatine (chromatine condensée).....	13
.1.2	Chromosomes.....	13
1.2.1.	Chromosomes métacentriques:.....	14
1.2.2.	Chromosomes sub-métacentriques:.....	14
1.2.3.	Chromosomes acrocentriques:.....	14
1.2.4.	Chromosomes télacentrique:.....	15
.2	Les étapes de la mitose.....	15
.2.1	La prophase.....	16
2.1.1.	La pro-métaphase.....	16
2.2.	La métaphase.....	16
.2.2	L'Anaphase.....	16
.2.3	La télophase.....	17
.3	Polyploïdie dans <i>Artemisia herba-alba</i>	18
4.	Les outils cytogénétiques classique et moléculaire.....	18
4.1.	Denombrement des chromosomes et établissement et analyse du caryotype.....	18
4.2.	La cytométrie en flux.....	19
.5	La cytogénétique moléculaire.....	19
.5.1	Hybridation in situ.....	20
.6	La cytogénétique classique.....	21
.7	Techniques de dénombrement chromosomique.....	21
.7.1	Le prétraitement.....	22
.7.2	La fixation.....	22
.7.3	Le stockage.....	22
.7.4	L'hydrolyse.....	23
.7.5	La coloration.....	23
7.5.1.	Le réactif de Schiff :.....	23
7.5.2.	Acéto-orcéine :.....	23
7.5.3.	Acéto-Carmine (Carmen acétique):.....	23

7.5.4 Alcoolique acide chlorhydrique Carmine (Alcoholic-Hydrochloric Acid-Carmine):	23
7.5.5. Lacto-Propionique-Orcéine:	24
7.5.6. Ecrasement et montage	24
7.5.7. Observation	24
Chapitre III: Stress et stress salin chez les plantes	
1. Introduction	26
2. Définition du stress	26
3. Types de stress	26
3.1. Le stress biotique:	26
3.2. Le stress abiotique	27
3.2.1. Le stress hydrique:	27
3.2.3. Le stress salin:	27
4. Perception du stress	28
5. Transduction du signal	29
6. Effets de la salinité sur la germination des graines:	29
7. Effet de la salinité sur la croissance et le développement des plantes:	30
8. La physiologie de la germination des graines:	31
9. Les conditions optimale de germination des graines:	31
9.1. Condition interne de la germination:	31
9.2. Condition externe de la germination :	31
9.2.1. L'eau :	31
9.2.2. L'oxygène :	32
9.2.3. La température :	32
9.2.4. La lumière :	32
Chapitre IV: Matériels et Méthodes	
1. Matériel	34
1.1. Matériel végétale	34
2. Méthodes	35

2.1. Dénombrement des chromosomes.....	35
2.1.1. Germination des graines	36
2.1.2. Prélèvement des apex racinaires:.....	36
2.1.3. Le prétraitement:	36
2.1.4. La fixation:	36
2.1.5. L'hydrolyse:	36
2.1.6. La coloration:	36
2.1.7. Écrasement et montage:.....	36
2.1.8. Observation microscopique:.....	37
2.2. Effet du stress salin.....	37
2.3. Analyses statistiques.....	38
2.3.1. La précocité de germination ou temps de latence (TL)	38
2.3.2. Taux final de germination (TFG)	38
2.3.3. Temps moyen de germination (TMG).....	38
2.3.4. Cinétique de germination (CG)	39
Chapitre V : Résultats et Discussion.....	
1. Résultats	41
1.1. Nombre de chromosomes.....	41
1.1.1. Germination des graines :.....	41
1.1.2. Observation au microscope optique	41
1.1.3. Dénombrement chromosomique	42
1.2. Résultats de l'effet du stress salin sur la germination des graines.....	43
1.2.1. Effet du stress salin sur le temps de latence (TL) des graines	43
1.2.2. Taux final de germination (TFG)	45
1.2.3. Cinétique de germination (CG)	51
2. Discussion	53
2.1. Nombre de chromosomes et niveaux de ploïdie.....	53
2.2. Effet du stress salin sur la germination des graines.....	54

Chapitre VI :Discussion générale.....	58
Conclusion et perspectives	61
Références Bibliographiques.....	
Résumé	
Summary	
:ملخص.....	

Liste des abréviations

- Alf : Aride Inférieur à hivers frais
- ANOVA : Analyse de variance
- ARN : Acide ribonucléique
- ASf : Aride Supérieur à hiver frais
- CaCl₂: Chlorure de calcium
- CG : Cinétique de germination
- CGH : Hybridation Génomique Comparative
- Cu⁺² : Ion Cuivre
- DDL : Degré de liberté
- Di : période de germination en jours
- ETP : Évapotranspiration
- g : gramme
- h: Heure
- m : moyenne des minima quotidiens du mois le plus froid
- MC : Carré moyen
- mm : Millimètre
- mM : Milimoule
- Ni : Maximum des graines germées
- Nt : Nombre total de graines
- P×C : Interaction
- Q3: Quotient pluviothermique d'Emberger
- SC : Somme de Carré
- TFG : Taux final de graines germées
- TL : Temps de latence
- TMG : Temps moyen de germination
- UF : Unité fourragère
- V : Volume
- Zn⁺² : Ion Zinc
- % : Pourcentage
- G : grossissement
- NaCl: Chlorure de sodium
- w: Wilaya
- °C : Degré Celsius
- 2n Nombre somatique de chromosomes
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- Alt : Altitude
- C: Concentration
- cm : Centimètre
- F : Fisher
- FISH: Hybridation *in situ* fluorescente
- HCDS : Haut Commissariat au Développement de la Steppe
- HCl : Acide chlorhydrique
- kg : Kilogramme
- Lat: Latitude
- Long: Longitude

- m : Mètre
- mL : Millilitre
- mn : Minute
- Pop : Population
- P : probabilité
- P/ETP : Indice d'aridité
- x : Nombre de base de chromosomes
- μm : Micromètre
- ET : Ecarte type
- K^{+2} : Potassium
- M : Moyenne des maxima quotidiens du mois le plus chaud
- N : Nombre total de graines germées

Liste des figures

Figure1: Touffe d' <i>Artemisia herba-alba</i> , prise de vue dans la region de mise en défens H.C.D.S(Aïn F'ka)	03
Figure 2 : Morphologie générale de plante d' <i>Artemisia herba-alba</i>	07
Figure 3 : Morphologie de la feuille d' <i>Artemisia herba-alba</i>	08
Figure 4: Morphologie de la fleur d' <i>Artemisia herba-alb</i>	09
Figure 5: Akène d' <i>Artemisia herba-alba</i>	09
Figure 6: Structure de chromosome.....	14
Figure 7 : Présentation schématique des différents types de chromosome ...	15
Figure 8: Les étapes de la mitose	17
Figure 9: Situation géographiques des deux stations de prélèvement	34
Figure10: Germination des akène d' <i>Artimisia herba-alba</i>	41
Figure11: Plaques métaphasiques de la population de Chaiba (2n=18 ; A) et la population de Taadmit (2n = 36 ; B).....	42
Figure 12 : Effet du NaCl sur le taux final de germination (TFG) des graines d' <i>Artemisia herba-alba</i> dans les deux cytotypes.....	45
Figure 13 : Effet du CaCl ₂ sur le taux final de germination (TFG) des graines d' <i>Artemisia herba-alba</i> dans les deux populations.....	47
Figure 14: Effet des différentes concentrations salines de NaCl sur le TMG des graines d' <i>Artemisia herba-alba</i> dans les deux populations.....	48
Figure 15 : Effet des différentes concentrations salines de CaCl ₂ sur le TMG des graines d' <i>Artemisia herba-alba</i> dans les deux populations.....	50
Figure 16 : Cinétique de germination des graines d' <i>Artemisia herba-alba</i> des deux cytotypes P1 et P2 sous l'effet de différentes concentrations de NaCl et CaCl ₂	52

Liste des Tableaux

Tableau 1: Données géographiques des stations de prélèvement des échantillons d' <i>Artemisia herba-alba</i>	35
Tableau 2: Données climatiques des stations de prélèvement des échantillons d' <i>Artemisia herba-alba</i>	35
Tableau 3: réaction entre le TL et les différentes concentrations salines du NaCl.....	43
Tableau 4 : Analyse de la variance à deux facteurs de l'effet du NaCl sur le temps de latence (LT) dans les deux cytotypes d' <i>Artemisia herba-alba</i> ($\alpha = 0,05$).....	44
Tableau 5 : Analyse de la variance à deux facteurs du temps de latence (TL) sous l'effet du CaCl ₂ dans les deux cytotypes d' <i>Artemisia herba-alba</i> ($\alpha = 0,05$).....	44
Tableau 6: Test de Bonferroni ; Groupes homogènes selon les valeurs de la variable TL sous l'effet du CaCl ₂ ($\alpha = 0,05$).....	44
Tableau 7 : Analyse de la variance à deux facteurs de l'effet du NaCl sur le taux final de germination des graines dans les deux cytotypes d' <i>Artemisia herba-alba</i> ($\alpha = 0,05$).....	46
Tableau 8: Test de Bonferroni ; Groupes Homogènes dans les deux cytotypes selon les valeurs de la variable TFG sous l'effet du NaCl ($\alpha = 0,05$).....	46
Tableau 9 : Analyse de la variance à deux facteurs de l'effet du CaCl ₂ sur le taux final de germination des graines dans les deux populations d' <i>Artemisia herba-alba</i> ($\alpha = 0,05$).....	47
Tableau 10: Test de Bonferroni ; Groupes Homogènes dans les deux cytotypes selon les valeurs de la variable TFG sous l'effet du CaCl ₂ ($\alpha = 0,05$).....	48
Tableau 11: Analyse de la variance à deux facteurs du TMG sous l'effet de différentes concentrations salines du NaCl chez les deux populations d' <i>Artemisia herba-alba</i> ($\alpha = 0,05$).....	49
Tableau 12: Test de Bonferroni ; Groupes homogènes selon les valeurs de la variable TMG sous l'effet du NaCl ($\alpha = 0,05$).....	49

Tableau 13 : Analyse de la variance à deux facteurs du TMG sous l'effet du CaCl₂ chez les deux populations d'*Artemisia herba-alba* ($\alpha = 0,05$).....50

Tableau 14: Test de Bonferroni ; Groupes homogènes selon les valeurs de la variable TMG sous l'effet du CaCl₂ ($\alpha = 0,05$).....50

Introduction

Artemisia herba alba Asso. (Astéracées), est l'un des arbustes pastoraux, aromatiques et médicinaux les plus importants des parcours arides et semi-arides du bassin méditerranéen (Afrique du Nord, Péninsule Ibérique) et d'Asie occidentale (Région touranienne) (**Nedjimi et Zemmri, 2019**). Cette espèce constitue une source majeure de fourrage pour le bétail et est utilisée en médecine pour traiter diverses maladies chroniques telles que le diabète sucré et l'hypertension (**Nedjimi et Beladel, 2015**). Cependant, au cours des dernières décennies, ce taxon a subi un déclin alarmant en raison du surpâturage, de la sécheresse et de défrichement des peuplements naturels (**Houmani et al., 2004**). Par conséquent, la possibilité de restauration de cet arbuste doit être explorée. Dans ce contexte, la connaissance des besoins en germination des semences est essentielle pour replanter des parcours dégradés et recoloniser de nouveaux territoires inadaptés à d'autres espèces.

La salinité est l'une des contraintes abiotiques les plus impliquées dans la limitation du développement et de la croissance des plantes dans leurs habitats naturels (**Shanon, 1989 in Khader et Zitouni, 2017**). Ce phénomène s'accroît notamment dans les régions arides et semi arides, car les fortes évaporations accompagnées de l'irrégularité des précipitations font accumuler les sels en surface .

En Algérie une grande partie des terres se caractérise par un climat aride et semi-aride et qui sont touchées par le phénomène de salinisation ; 3,2 millions d'hectares de terres sont affectés (**Hamdy, 1999 in Khader et Zitouni, 2017**).

Artemisia herba alba a fait l'objet de nombreuses études de dénombrement chromosomique menées par plusieurs chercheurs dans différentes régions. Ces recherches ont abouties dans leurs globalité à la mise en évidence de deux cytotypes : un diploïde avec $2n = 2x = 18$ chromosomes, et un autre tétraploïde avec $2n = 4x = 36$ chromosomes (**Vallès, 1987; Ferchichi, 1997**).

La polyploïdie est un phénomène naturel dans de nombreuses familles de plantes et joue un rôle important dans la variation et l'évolution naturelles des plantes. Des études ont montré que l'induction de la polyploïdie est un moyen efficace d'améliorer la tolérance au sel chez les plantes. Par exemple, les porte-greffes citrus tétraploïdes sont plus tolérants au stress salin que les plantes diploïdes (**Saleh et al., 2008**), et la tolérance au sel de *Dendranthema nankingense* (tétraploïde) était supérieure à celle des diploïdes (**Liu et al., 2011**).

À l'heure actuelle, peu d'études ont été menées sur le comportement et la tolérance des deux cytotypes d'*Artemisia herba-alba* à la salinité

Dans ce travail, nous sommes intéressés à l'étude de l'effet du stress salin de deux sels : chlorure de sodium (NaCl) et chlorure de calcium (CaCl₂) les plus abondants dans les parcours arides algériens, sur la germination des akènes de deux cytotypes d'*Artemisia herba-alba*, récoltées dans deux zones : l'une dans la zone de Chaiba (wilaya de Biskra), et l'autre dans la zone de Ben-Hamed (wilaya de Djelfa).

L'objectif de cette étude est de comparer l'effet stressant de deux sels sur la germination des akènes de deux cytotypes. Cette étude contribuera à améliorer la propagation des graines de cet arbuste dans des conditions salées et facilitera ainsi l'utilisation et la culture efficace de cette espèce dans les sols salins en tant que précieux fourrage et arbuste médicinal.

Pour la réalisation de cette modeste contribution, on a subdivisé notre travail en deux parties :

Une partie bibliographique qui comporte trois chapitres : Généralité de l'espèce, des notions de cytogénétique classique, et du stress et en particulier le stress salin chez les plantes.

La partie expérimentale, subdivisée en trois chapitres traitant successivement du Matériel et Méthodes, résultats et discussions et discussion générale.

En fin, nous terminons par une conclusion qui souligne les résultats importants de ce travail et ouvre des perspectives en vue d'approfondir nos connaissances sur ce taxon en Algérie et dans le monde.

Chapitre I:

Synthèse bibliographique sur l'espèce *Artemisia herba-alba* ASSO

1. Genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées: c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (**Mucciarelli et Maffei, 2002**). Les espèces de ce genre poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya (**Vernin et al., 1995**). Dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud.

Les armoises sont des plantes annuelles ou vivaces, herbacées ou des sous arbrisseaux, le plus souvent aromatiques. Les feuilles du genre *Artemisia* ont de multiples aspects: très découpées, larges, fines, lobées, rigides ou très souples, parfois duveteux. Les couleurs varient du vert tendre au gris argent (presque blanc), du vert foncé au vert glauque, mais le gris est la couleur la plus courante. Leurs fleurs en capitules sont petites et peu décoratives, on les recueille pour leurs propriétés médicinales (**Anonyme, 1999**). Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Mirjalili et al., 2007**).

2. Description et systématique de l'espèce *Artemisia herba alba*

Connue depuis des millénaires d'années, *Artemisia herba-alba* (Armoise herbe blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^{ème} siècle av. J.- C., dans les steppes de la Mésopotamie. Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste Espagnol Ignacio Jordán Claudio de Assoy del Rio (**Francis, 2001**).

C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (**Nabli, 1989**). Plusieurs noms attribués à *Artemisia herba-alba*; thym des steppes, absinthe du désert. En Afrique du Nord et au Moyen-Orient, on l'appelle, communément « chih ».

L'une des espèces capables de reconstituer des écosystèmes pastoraux dégradés en bioclimat méditerranéen est *Artemisia herba-alba*. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et

Chapitre I: Synthèse bibliographique sur l'espèce *Artemisia herba-alba* Asso

d'éviter ainsi les pertes d'eau (**Ourcival, 1992 ; Oppenheimer, 1961 in Yousfi, 2016**). La plante est un ligneux toujours vert, dont la croissance végétative a lieu à l'automne (feuilles de grande taille) puis dès la fin de l'hiver et au printemps (feuilles plus petites) (**Figure 1**).

Cette espèce, riche en huiles essentielles, a des vertus purgatives évidentes jouant un grand rôle dans le contrôle des vers intestinaux, en particulier des ovins, mais pouvant également entraîner la mort de jeunes agneaux. Les feuilles de cette espèce sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner le diabète, bronchite, abcès, diarrhée et comme vermifuge (**Le Floch, 1983**).



Figure 1 : Touffe d'*Artemisia herba-alba*, prise de vue dans la région de mise en défens H.C.D.S(Aïn F'ka) (**Benmelouka, 2019**)

2.1. Nomenclature et taxonomie

Artemisia est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse *Artémis*; *herba-alba* signifie herbe blanche (**Nabli, 1989**). Son nom scientifique est *Artemisia herba-alba* Asso.

Chapitre I: Synthèse bibliographique sur l'espèce *Artemisia herba-alba* Asso

Artemisia herba-alba est classé dans (APG III) :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Asterales*

Famille : *Asteraceae*

Tribu: *Anthemideae*

Sous-tribu: *Artemisinae*

Genre : *Artemisia*

Sous-genre: *Seriphidium*

Espèce : *Artemisia herba-alba* Asso.

2.2.Écologie

Sur le plan écologique, *Artemisia herba-alba* présente une plasticité relativement grande. Elle se développe dans des bioclimats allant de l'étage semi-aride supérieur à l'étage per - aride (ou saharien) inférieur à pluviométrie moyenne annuelle entre 100 et 600 mm, sur des sols à texture fine, limoneux argileux et limoneux sableux bien drainés. Elle semble indifférente aux altitudes, et supporte le calcaire et des niveaux de salinité modérément élevés (**Aidoud, 1988; Ouyahya, 1995**). En Algérie, *Artemisia herba-alba* trouve son optimum, en tant qu'espèce dominante, dans l'étage bioclimatique aride et aride frais parfois semi-aride frais avec une pluviosité moyenne de 100 à 300 mm (**Djebaili, 1984; Aidoud, 1988**). Elle se développe au fond des dayas sur des terres meubles, sablonneuses et limoneuses en association avec l'alfa (*Stipa tenacissima* L.), le sparte (*Lygeum spartum* L.) et *Noaea mucronata* Forssk.

Selon le Haut Commissariat au Développement de la Steppe (HCDS), la superficie totale du faciès à armoise blanche en 2001 a été estimée à environ 2 millions d'hectares (soit 10% de la superficie totale des parcours steppiques). Ce faciès a connu une importante régression par

Chapitre I: Synthèse bibliographique sur l'espèce *Artemisia herba-alba* Asso

rapport à la statistique de 1970 qui enregistrait 3 millions d'hectares (soit une régression de 30%). Le surpâturage, le défrichement et la mise en culture de zones plutôt propices à son développement, accentuent de façon sensible et irrémédiable la régression de son aire de distribution, en provoquant son recul au profit d'autres espèces peu palatables, telles que : *Noaea mucronata*, *Hammada scoparia* Pomel, *Anabasis oropedioides* Maire et *Peganum harmala* L. (Aidoud, 2006; HCDS, 2010).

2.3. Répartition géographique d'*Artemisia herba alba*

Artemisia herba alba est une plante spontanée très répandue en Afrique du nord et au moyen orient, elle affectionne les climats secs et chauds, et existe sous forme de peuplements importants dans les zones désertiques (Hurabielle *et al.*, 1981). C'est une plante steppique des régions irano-touraniennes, prédominante dans les steppes d'Espagne ainsi que dans le désert de Sinaï (Segal *et al.*, 1987). Au Maroc, *Artemisia herba alba* se rencontre à l'état spontané, il n'est pas rare de trouver des zones de plusieurs dizaines de kilomètres de rayon où seule l'armoise blanche règne dans un paysage quasi-désertique (Bendjilali et Richard., 1980). En Algérie, *Artemisia herba alba*, connue sous le nom de « chih » couvre près de 2 millions d'hectares (HCDS, 2010). Elle se présente sous forme de buissons blancs, laineux et espacés (Boutekjenet, 1987).

2.4. Description morphologique

Artemisia herba-alba se présente sous forme de petit chamaéphyte à tiges ligneuses très ramifiées, très feuillues, dont la hauteur varie de 30 à 80 cm. Les feuilles sont pubescentes, argentées, de longueur variable selon les variétés et pouvant aller de 2 à 3 cm chez les variétés communes. Les feuilles inférieures, profondément bipinnatiséquées à segment terminal souvent trifide, sont pétiolées. Les feuilles supérieures ou caulinaires se réduisent de plus en plus et passent aux bractées sessiles lors de l'inflorescence (Ouyahya, 1987).

Les capitules homogènes sont groupés en grappe et en une longue panicule. Ils sont à peu près sessiles, cylindracés, petits et contenant chacun cinq fleurs hermaphrodites (Quezel et Santa, 1963). Les akènes coiffés latéralement par des périanthes sont oblongs, glabres et lisses (Negre, 1962).

L'armoise blanche possède des racines obliques nombreuses, pénétrant le plus souvent à une profondeur de 20 à 30 cm dans le sol et s'étalant horizontalement jusqu'à 50 cm avec une

Chapitre I: Synthèse bibliographique sur l'espèce *Artemisia herba-alba* Asso

rhizosphère peu profonde (Negre, 1962). Cependant, ce système racinaire peut très bien se développer en profondeur dans les régions à sol plus épais (Pelt *et al.* 1970; cité par Yessef, 1985)

2.5. Description botanique

La floraison s'effectue en automne à partir du mois de septembre. La fructification se produisant en automne en hiver. La dispersion des graines de l'armoise a lieu à partir du mois de décembre en général (Le Floc'h, 1989).

2.5.1. Partie aérienne:

2.5.1.1. Tige : Ou partie ligneuse, ramifiée de 30 à 50 centimètres de long, très feuillée avec une couche épaisse. La touffe des tiges est plus importante selon la pluviométrie (Ozenda, 1985), (Figure 2).

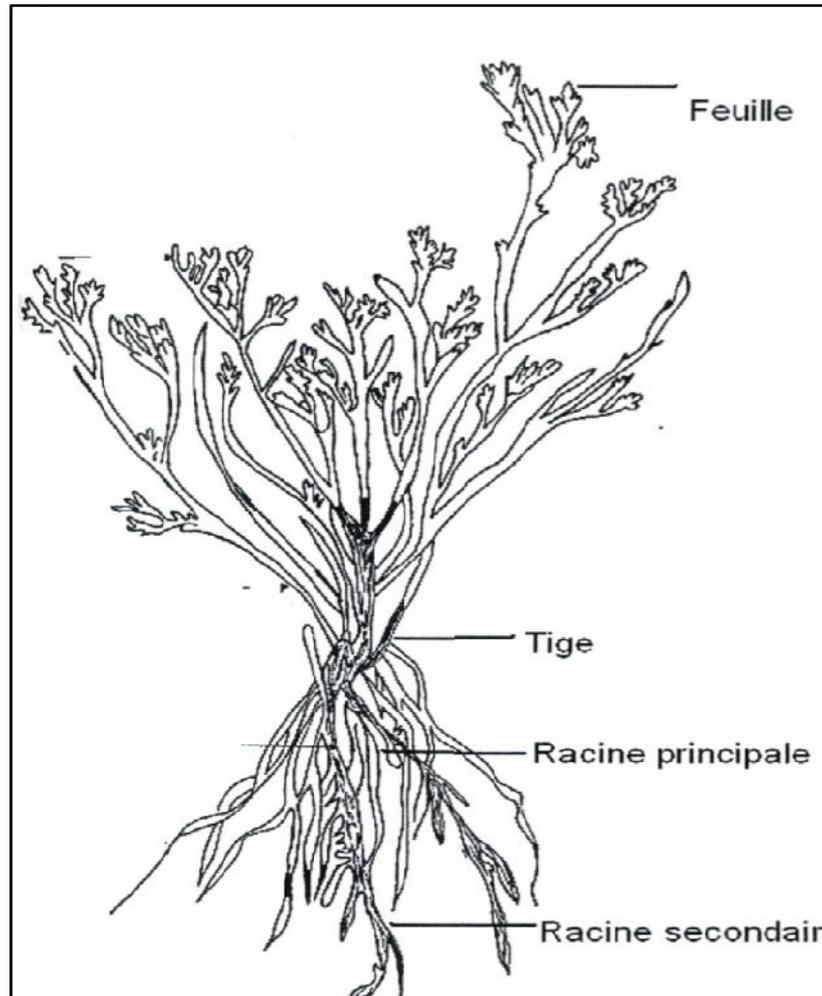


Figure 2: Morphologie générale de plante d'*Artemisia herba-alba* (Eloukili, 2013)

2.5.1.2. Feuilles: Elles sont courtes, alternées, très divisées, laineuses, blanches, pubescentes et pennatifides. Elles diminuent de taille au fur et à mesure que les rameaux s'allongent (**Figure 3**). Cette diminution de taille des feuilles entraîne une réduction considérable de la surface transparente et par conséquent, permet à la plante de résister à la sécheresse (**Pourrat, 1974**).

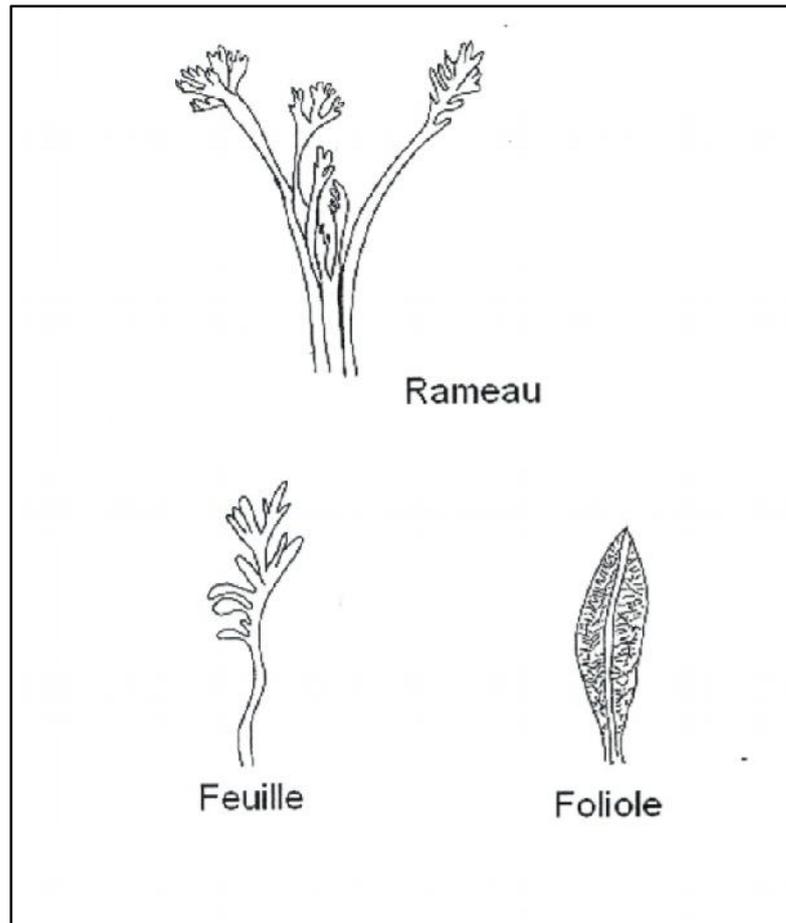


Figure 3: Morphologie de la feuille d'*Artemisia herba-alba* (Eloukili, 2013)

2.5.1.3 Fleurs: Elles sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1.5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Pottier, 1981) (Figure 4).

La formule florale correspondante est: $5S+5P+5E+2C$. Le calice est pentamère et est toujours réduit. La corolle est gamopétale et pentamère et peut se présenter sous trois formes différentes : tubuleuse, bilabée ou ligulée (GORIS, 1967).

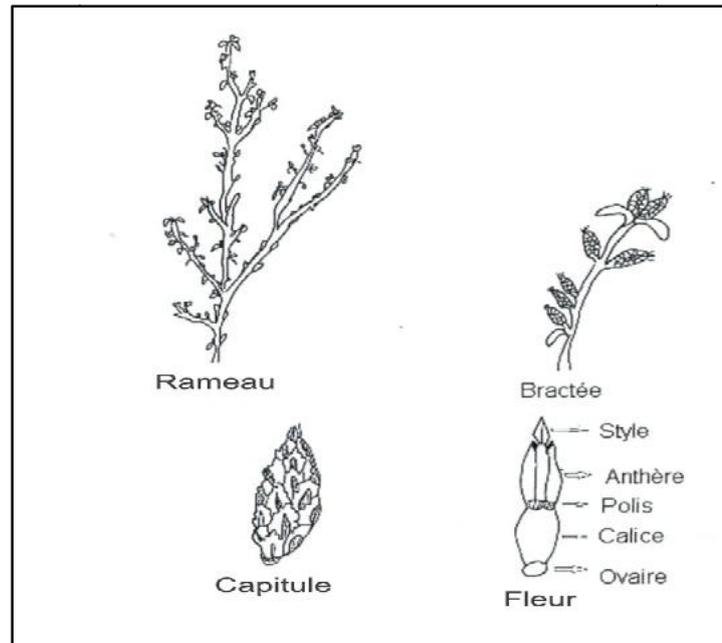


Figure 4: Morphologie de la fleur d'*Artemisia herba-alba* (Eloukili, 2013)

2.5.1.4. le Fruit: Sont des akènes (Figure5).



Figure 5: Akène d'*Artemisia herba-alba* (Personale , 2019) (Gx 40)

2.5.2. Partie souterraine ou racine : Elle se présente sous forme d'une racine principale, ligneuse et épaisse, bien distincte des racines secondaires et qui s'enfonce dans le sol tel un pivot. La racine pénètre profondément jusqu'à 40 à 50 centimètres et ne se ramifie qu'à cette profondeur (Aidoud, 1983).

2.6. Evolution phénologie de l'espèce

L'armoise blanche végète toute l'année, mais présente un rythme annuel très net durant les années à pluviosité précoce, les pousses apparaissent plus tôt dès l'automne. Ce développement des pousses peut être observé plus fréquemment dans les dayas, bénéficiant d'un sur plus d'eau par ruissellement. Ces pousses sont plus fournies sur les touffes pâturées durant la saison qui précède (Aidoud, 1989). Les feuilles développées en début de saison sont de grand taille (1 à 2 parfois 3 cm), elles tombent à l'approche de la saison sèche et sont remplacées par des feuilles plus petites. A la fin de l'été, le rameau de l'année paraissant presque aphyllé, ne porte plus de minuscules feuilles (quelques mm). Cette réduction de la surface transpirante est considérée comme un caractère d'adaptation plus efficace vis-à-vis de la sécheresse (Soltner, 1988).

3. Importance de l'espèce

3.1. Intérêt pastoral de l'espèce

L'armoise ayant une valeur fourragère importante de 0,45 à 0,70 UF/Kg MS. Les steppes à armoise blanche sont souvent considérées comme les meilleurs parcours. La charge pastorale est de 1 mouton par 1 à 3 hectares (Nedjraoui, 1981).

D'après Djaballah (2008), l'armoise blanche constitue est un aliment de base des ovins permettent de satisfaire 40% à 50% de leurs besoins en matière protéique brutes.

La viande des agneaux qui ont pâturés cette plante est considérée comme un produit de premier choix (Bellkholder, 2006).

3.2. Intérêt médical de l'espèce

Artemisia herba-alba Asso est très utilisé au Moyen-Orient et en l'Afrique du Nord contre plusieurs maladies y compris l'entérite et les troubles intestinales. L'huile essentielle

Chapitre I: Synthèse bibliographique sur l'espèce *Artemisia herba-alba* Asso

Artemisia herba-alba Asso a montré une activité antibactérienne aux plusieurs bactéries telle que l'*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et la *Salmonelle typhose* (**Bouldjadj, 2009**).

De loin, le plus fréquemment cité est l'utilisation d'*Artemisia herba-alba* dans le traitement du diabète sucré (**Tastekin et al., 2006**).

3.3. Intérêt écologique de l'espèce

Selon l'étude de **Henni, (2004)**, l'armoise blanche possède la capacité d'absorber les métaux lourds (Zn⁺², Cu⁺²).

L'armoise blanche se développe dans les steppes argileuses et les sols tassés relativement peu perméables. Elle se trouve sur les dayas, les dépressions et les secteurs plus ou moins humide. Elle constitue un moyen de lutte contre l'érosion et la désertification (**Ayad et al, 2014**).

L'armoise résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés.

Les groupements d'*Artemisia herba-alba* sont marqués par deux strates: une strate de ligneux bas (environ 40 cm du sol) et une autre constituée d'herbacées annuelles (hauteur moyenne de 20 cm) (**Nabli , 1989**).

4. Autres utilisations

4.1. Dans le domaine alimentaire

Par son caractère organoleptique, *Artemisia herba-alba* peut être utilisée comme aromate pour aromatiser certaines boissons comme le café.

4.2. Dans le domaine cosmétique

En parfumerie, les huiles essentielles de l'armoise blanche sont utilisées pour leurs pouvoirs antiseptiques et aromatiques. Elles servent à augmenter la durée de conservation des produits cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (**Maftel, 1992**).

Chapitre II:

Cytogénétique

Chapitre II : Cytogénétique

1. Notions de cytogénétique

1.1. La chromatine

En dehors des divisions cellulaires, l'acide désoxyribonucléique (ADN) est sous la forme de chromatine interphasique. A l'aide de colorants, on peut révéler sur les chromosomes, des zones de coloration plus ou moins intenses reflétant le degré de condensation de la chromatine. On distingue: l'euchromatine (chromatine diffuse) et l'hétérochromatine (chromatine condensée) (**Harry, 2001**).

1.1.1. L'euchromatine (chromatine diffuse)

Elle est constituée de chromatine décondensé durant l'interphase, ce qui permet la transcription des séquences codants qu'elle contient. Elles sont pauvres en éléments répétés et riches en gènes (**Schmidt *et al.*, 1995; Samouelian *et al.*, 2009**).

1.1.2. L'hétérochromatine (chromatine condensée)

Elle correspond à une zone fortement coloré qui reste condensé dans le noyau cellulaire durant l'interphase. Ces zones sont très riches en séquences hautement répétées et en éléments transposables et ne contiennent pas de gène (**Schmidt *et al.*, 1995; Samouelian *et al.*, 2009**).

1.2. Chromosomes

On peut envisager deux états fonctionnels du génome pendant le cycle cellulaire:

- Un état décondensé pendant l'interphase, où l'ADN est visible en microscopie optique sous la forme de chromatine dans le noyau et permettant l'expression des gènes

- Un état condensé au moment de la division, où chaque molécule d'ADN est compactée sous la forme d'un chromosome avec perte provisoire de la fonction transcriptionnelle. De ce point de vue, le chromosome au sens microscopique n'est donc pas un élément stable de la cellule mais une structure dynamique et transitoire (**Dictionnaire de Médecine Flammarion, 1991**) (**Malan et Romana, 2012**) (**Figure, 6**).

Chapitre II : Cytogénétique

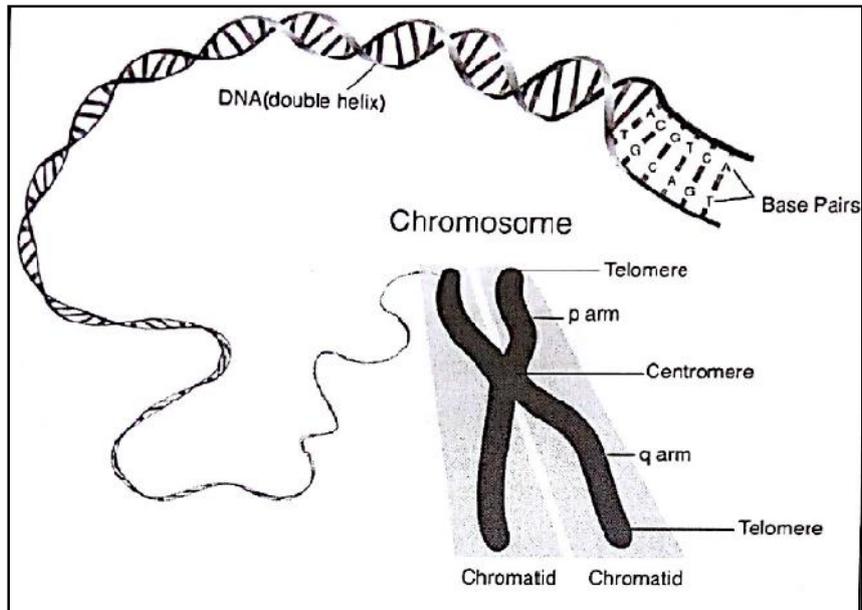


Figure 6: Structure de chromosome (<http://www.cdhgenetics.com/genetic-overview.cfm>).

Les chromosomes ce sont des structures en forme de bâtonnets faites de chromatine (matériel génétique) nucléaire, visibles pendant la division cellulaire. Sur chaque chromosome sont alignés les gènes dans un ordre fixe. Chaque chromosome porte une zone de constriction primaire dénommée centromère ; c'est le point de liaison des deux chromatides sœurs. Les segments chromosomiques situés de part et d'autre du centromère constituent les deux bras du chromosome. La position du centromère permet de distinguer un bras court ou proximal (bras p) et un bras long ou distal (bras q) (Anthony *et al.*, 2002).

Les chromosomes se classifient en quatre types suivant leur forme qui est déterminée par la position du centromère:

1.2.1. Chromosomes métacentriques: le centromère est en position centrale (position médiane) ce qui lui donne des bras de longueurs à peu près égales.

1.2.2. Chromosomes sub-métacentriques: le centromère est presque en position centrale; les chromatides de ce chromosome présentent des bras de longueur inégale (un petit bras «p» et un long bras «q»).

1.2.3. Chromosomes acrocentriques: le centromère est plus proche de l'une des deux extrémités (les télomères); le bras court est très bref.

Chapitre II : Cytogénétique

1.2.4. Chromosomes télocentrique: présente un centromère très proche de ses télomères. En cas de perte du centromère (anomalie), le chromosome est dit **acentrique**. D'autres anomalies peuvent provoquer l'apparition d'un chromosome possédant deux centromères nommé: **chromosome dicentrique**. Celui-ci est instable et peut se casser (lors de la méiose) (**Lemondet et Clement, 1983**) (**Figure 7**).

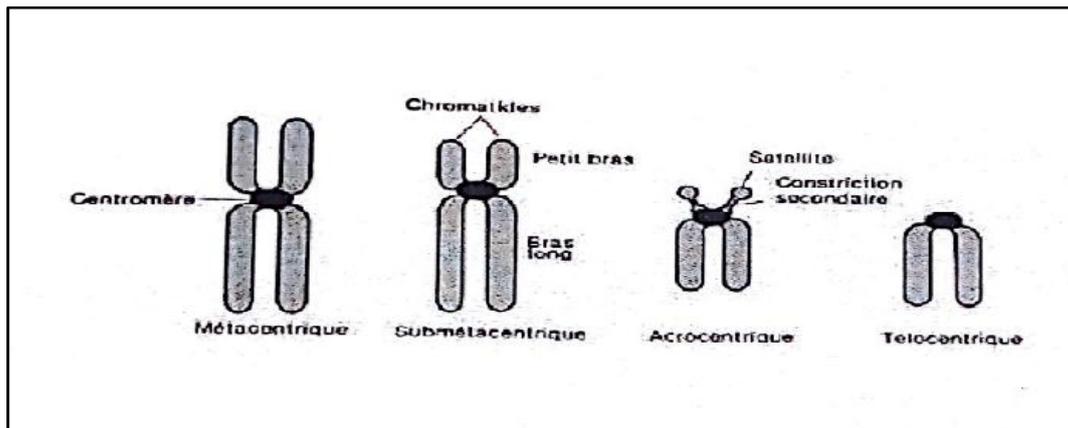


Figure 7 : Présentation schématique des différents types de chromosomes (**Andre et al., 1983 in Halmi, 2010**).

2. Les étapes de la mitose

La mitose est un processus critique pour tous les organismes eucaryotes (organismes avec un noyau cellulaire) et fournit une base pour la reproduction asexuée. Le matériel génétique est partagé entre les cellules filles durant la division nucléaire (=caryocinèse), le résultat est la production de deux noyaux fils contenant chacun une composition chromosomique identique à celle de la cellule mère. La caryocinèse est suivie par une division du cytoplasme (=cytocinèse), les organites qui y baignent se répliquent eux même et leur prolifération permettra la reconstitution du cytoplasme dans les cellules filles (**Pascal, 2010**).

La taille des cellules filles correspond à environ la moitié de celle de la cellule mère mais la quantité d'ADN de chaque cellule fille est équivalente à celle de la cellule mère permettant ainsi une reproduction conforme et répartition égale de l'information génétique. Ce processus étant bien régulé, toute dérégulation aboutira à une production anarchique et désordonnée

Chapitre II : Cytogénétique

des cellules qui perdent les caractéristiques de la cellule mère productrice et engendrant le développement des tumeurs et des néoplasies (Pascal et Anne, 2009) (Pascal, 2010).

La mitose subdivise en quatre phases : (Cueep, 2006) (Figure 8)

2.1. La prophase

Le début de la prophase est caractérisé par l'individualisation des chromosomes, qui par la suite vont s'épaissir et se raccourcir ; chaque chromosome est constitué de deux chromatides-sœurs soudées par leurs centromères. Les deux centrosomes accompagnés de microtubules constituent des asters qui migrent vers les deux pôles opposés de la cellule. Les microtubules exercent une tension sur les chromosomes et dirigent leurs mouvements pendant la division cellulaire. Ces microtubules et les protéines associées constituent le fuseau ou le filament .

Les débris de l'enveloppe nucléaire ne sont plus visibles au microscope photonique. Cette phase dure environ quarante minutes.

2.1.1. La pro-métaphase est caractérisée par la polymérisation de nombreux microtubules. Ces derniers s'allongent en direction des centromères des chromosomes dont le but de capturer les chromosomes un par un et les placer à l'équateur du fuseau .

2.2. La métaphase

Les chromatides-sœurs condensées sont reliées à chacun des pôles de la cellule par leur centromère et vont se placer dans le plan équatorial de la cellule situé à mi-chemin entre les pôles du fuseau. Cette phase est très courte, elle ne dure que cinq minutes.

2.2. L'Anaphase

C'est une phase très rapide. Au cours de cette phase, il se produit un raccourcissement des fibres chromosomiques. Cela entraîne une traction qui s'exerce sur les centromères des chromosomes. A la suite d'un clivage du centromère, les 2 chromatides de chaque chromosome se séparent, les 2 chromosomes-fils (chromosomes monochromatidiens) ainsi formés s'éloignent l'un de l'autre. L'anaphase est donc caractérisée par l'ascension polaire de deux lots identiques de chromosomes. La séparation des deux copies de l'information génétique se produit alors, c'est le phénomène de caryocinèse. La séparation des deux lots

Chapitre II : Cytogénétique

identiques de chromatides se produit jusqu'à ce que ces dernières soient parvenues aux pôles du fuseau.

2.3. La télophase

Les chromosomes séparés arrivent aux pôles et les microtubules kinétochoriens disparaissent. Les chromosomes commencent à se dérouler et à se décondenser. Deux nouvelles membranes nucléaires apparaissent des deux lots de chromosomes-fils. Les nucléoles commencent à réapparaître.

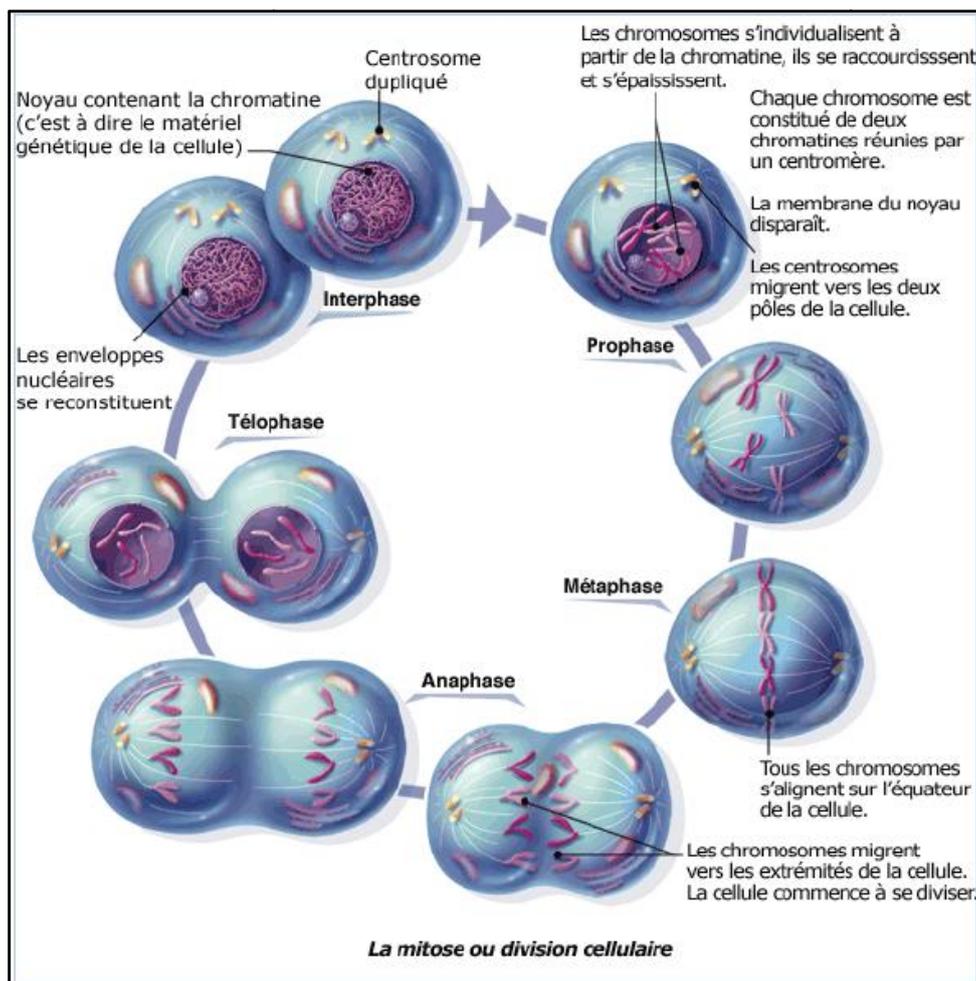


Figure 8: Les étapes de la mitose (Danielson, 2014)

Chapitre II : Cytogénétique

3. Polyploïdie dans *Artemisia herba-alba*

Les polyploïdes sont des organismes individuels qui possèdent plus deux jeux de chromosomes, chez les polyploïdes il faut distinguer les **autopolyploïdes** (composés de multiples jeux provenant d'une même espèce), et **allopolyloïdes** comportant des jeux de chromosomes issus de deux espèces différentes ou plus. Les changements de parties de jeux de chromosomes aboutissant à l'état d'**aneuploïdie**.

Exemples: **Monosomique (2n-1), Trisomique (2n+1) (Griffiths et al., 2010).**

La polyploïdie est l'un des principaux mécanismes évolutifs chez les plantes (**Otto et Whitton, 2000; Soltis et Soltis, 2000; Cui et al., 2006**). Ce mécanisme est très courant dans le genre *Artemisia*, où les niveaux de ploïdie jusqu'à 16x ont été signalés (**Pellicer et al., 2010a**). Les populations polyploïdes nord-africaines d'*Artemisia herba-alba* reflètent un processus de différenciation du génome chez cette espèce. La même situation dans les populations Ibériques a conduit à la prise en compte de deux taxons, séparés soit à des niveaux spécifiques soit à des niveaux sous-spécifiques [2x: *Artemisia valentina* Lam., *Artemisia herba-alba* ssp. *valentina* (Lam.) Mascl. ; 4x: *Artemisia aragonensis* Lam., *Artemisia herba-alba* ssp. *Artemisia herba-alba*], bien que leur distinction morphologique soit très difficile (**Vallès, 1987**). Cependant, la polyploïdie n'est pas le seul mécanisme d'évolution du génome. D'autres mécanismes modifiant la taille, la forme et le nombre de chromosomes, ont été examinés plus tôt par **Darlington (1937), Stebbins (1971), Levin (2002) et Schubert et Lysak (2011)** . Les translocations robertsoniennes et les fissions centriques peuvent entraîner une réduction ou une augmentation du nombre de chromosomes (dyploïdie descendante / ascendante). D'autres mécanismes tels que les insertions, les additions, les délétions, les inversions et les translocations réciproques peuvent modifier la taille et la morphologie des chromosomes.

4. Les outils cytogénétiques classique et moléculaire

4.1. Denombrement des chromosomes et établissement et analyse du caryotype

Le nombre de chromosomes est normalement constant au sein d'une même espèce et morphologie de chaque paire chromosomique est caractéristique, mais ce nombre peut varier

Chapitre II : Cytogénétique

à l'intérieur d'un groupe (tribu, famille ou genre) et même au sein d'une espèce (**Essad, 1957**).

Il est possible d'obtenir par cellule un caryotype, forme de dessin ou représenté sous de photographie de chaque paire chromosomique.

L'ensemble de ces caryotypes permet d'établir une « carte d'identité chromosomique » ou caryogramme ou idiogramme, représentation schématique du génome haploïde. Elle peut être recherchée:

- Pour des raisons d'ordre taxonomique correspondant alors à l'acquisition d'un nouveau critère de classification,
- Pour l'analyse de lignées d'addition ou de substitution, de mono ou de polysomie,
- Pour l'étude des remaniements chromosomiques.

Après les observations au microscope optique et l'acquisition des images des métaphases mitotiques, il est possible d'établir un caryotype. Les chromosomes sont classés par ordre décroissant de longueur et la position du centromère (**Kundan, 2010**).

4.2. La cytométrie en flux

Les techniques de cytométrie se sont développées pour mesurer la quantité d'ADN du noyau ou déterminer la taille du génome (**Siljak-yakovlev *et al.*, 2002**), et estimer le niveau de ploïdie (**Kamaté *et al.*, 2004**).

Le principe de cette technique consiste à traiter la suspension de noyaux par colorant fluorescent, puis les noyaux sont passés au travers d'un rayon laser qui excite le colorant. La fluorescence émise est analysée par une photoélectrique.

5. La cytogénétique moléculaire

Le caryotype mis au point en 1956, n'est désormais plus l'examen de première intention pour l'exploration des anomalies chromosomiques associées à une déficience intellectuelle et/ou aux malformations congénitales. Depuis la fin des années 80, les cytogénéticiens ont à leur disposition de nouvelles techniques alliant l'établissement du caryotype et la biologie

Chapitre II : Cytogénétique

moléculaire dont le niveau de résolution se situe à une échelle intermédiaire : la cytogénétique moléculaire.

Les techniques de la cytogénétique moléculaire reposent sur le principe de l'hybridation de la molécule d'ADN avec une séquence complémentaire variable en fonction de la technique utilisée et la pathologie étudiée. Les principales méthodes de cette discipline sont l'Hybridation in situ Fluorescente « FISH » (examen ciblé nécessitant la connaissance préalable du locus étudié) et l'Hybridation Génomique Comparative « CGH » (étude pangénomique ne détectant que les déséquilibres génomiques) (**Principes de génétique humaine , 1998**) (**Lamoril *et al.*, 2008**).

5.1.Hybridation in situ

La cytogénétique moléculaire est une nouvelle approche morphologique qui utilise à la fois les outils de la biologie moléculaire et de la cytogénétique. La principale technique utilisée actuellement est l'hybridation in situ fluorescente (FISH, de l'anglais fluorescence in situ hybridization) qui consiste en l'hybridation de sondes froides d'ADN sur des lames de préparations cytogénétiques de cellules métaphasiques ou interphasiques et sa révélation par fluorescence (**Abdelmoula *et al.*, 2000**).

Les premières techniques d'hybridation in situ sur chromosomes datent de 1969 lorsque Gall et Pardue ont utilisé un ARN ribosomique radioactif pour détecter la présence de gènes d'ADN ribosomique sur des chromosomes d'amphibiens (**Gall et Pardue, 1969 in Bougoutaia, 2018**). Mais le véritable essor de la technique de cytogénétique moléculaire date des années 1986-1988 avec l'utilisation de sondes dites froides non radioactives et le développement de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) (**Pinkel *et al.*, 1986 ; Pinkel *et al.*, 1986**).

Les sondes utilisées dans la FISH sont des fragments d'ADN simple brin, marqués par fluorescence.

Les domaines d'application de la technique de FISH sont multiples. Chez les plantes elle est utilisée pour : l'analyse du caryotype et de ses anomalies, l'analyse de la structure et de l'évolution du génome, l'étude de l'expression des gènes et la localisation des séquences introduites chez les plantes transformées (**Abdeddaim, 2010**).

Chapitre II : Cytogénétique

6. La cytogénétique classique

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19^{ème} siècle, mais c'est surtout à partir de 1920 que la cytogénétique s'est développée et son importance n'a cessé de croître par la suite (**Jahier, 1992**).

La technique classique de Feulgen permet de construire un caryotype pour chaque espèce. L'étude des caryotypes se fait généralement en métaphase mitotique où les chromosomes sont bien individualisés et présentent la meilleure morphologie. A ce stade on peut les dénombrer, mesurer leur taille et observer leur morphologie, localiser les constriction primaires (centromères) ou secondaire (organisateur nucléolaire). Les variations du nombre chromosomique, les chromosomes surnuméraires ou chromosomes B sont ensuite identifiées par l'analyse du caryotype (**Abdeddaim, 2010**). Un caryotype est souvent représenté par une plaque métaphasique issue d'une prise de vue microscopique, un caryogramme et un idiogramme. Le caryogramme qui consiste, à partir d'une photographie d'une cellule en métaphase, à arranger les chromosomes homologues, par ordre décroissant de longueur. L'idiogramme est la représentation idéale des chromosomes selon un diagramme établi à partir des mesures statistiques d'au moins 5 plaques métaphasiques. Il est le plus souvent haploïde. Dans le cas où il existe une homéologie (non homologie) entre les chromosomes d'une paire, il est souhaitable de présenter un idiogramme diploïde (**Goudjil-Benhizia, 2014**). Différentes méthodes ont été employées pour localiser le centromère, ce qui a engendré l'apparition de diverses nomenclatures de morphologie chromosomique. Parmi ces nomenclatures, celle de **Levan et al. (1964)** reste la plus consensuelle.

7. Techniques de dénombrement chromosomique

Pour l'étude des chromosomes lors de la mitose, le matériel d'étude est constitué de semences germées, de plantes ou de tissus en culture in vitro placés dans des conditions permettant une croissance active.

L'étude caryologique consiste à renseigner les mitoses somatiques sur des méristèmes racinaires de jeunes germinations. Différentes méthodes sont décrites pour l'étude des chromosomes, elles mettent en jeu l'application d'agents chimiques pour le prétraitement, la

Chapitre II : Cytogénétique

fixation et la coloration des cellules en divisions. Ces méthodes sont largement décrites dans le cahier des « Techniques de cytogénétique végétale » (**Jahier et al., 1992**).

A partir du prélèvement, 7 phases principales sont distinguées dans la réalisation des préparations (**Jahier, 1992**).

7.1.Le prétraitement

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

-Bloquer les divisions mitotiques au stade métaphase (stade où les chromosomes ont une meilleure morphologie pour être colorés, dénombrés).

-Contracter les chromosomes.

Les agents utilisés sont : la colchicine et l'eau froide (0-2°C).

L' α -bromonaphthalène, la 8-hydroxy-quinoléine et l' α -bromonaphthalène est le plus utilisé en raison de sa facilité d'emploi et de son coût.

7.2.La fixation

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

Les fixateurs utilisables sont très nombreux. Ceux qui sont utilisés dans les techniques décrites sont : L'acide acétique et les " fluids " I (Le Carnoy I= Ethanol – Acide acétique (3:1) et II (Le Carnoy II= Ethanol – Chloroforme – Acide acétique (6:3:1) proposés par **Carnoy (1886) in Jahier (1992)** et la solution d'alcool-acide propionique (éthanol-acide propénoïque (3:1) plus 1g/100ml de la chlorure ferrique) .

7.3.Le stockage

Il est possible de différer les autres phases. Le matériel peut être conservé pendant plusieurs mois dans l'éthanol, le plus souvent est l'éthanol 70%. Certains fixateurs comme le Carnoy I peuvent également servir de solution de stockage (**Carnoy, 1886 in Jahier, 1992**).

Chapitre II : Cytogénétique

7.4.L'hydrolyse

Cette étape est généralement nécessaire pour obtenir ultérieurement un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelle. L'hydrolyse permet de dissoudre le ciment pectique de la lamelle moyenne et l'éclaircissage du cytoplasme. En outre, l'acide chlorhydrique libère les groupements aldéhydiques sur les molécules de sucre de l'ADN par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose (**Carnoy, 1886 in Jahier, 1992**). L'hydrolyse permet aussi le ramollissement des tissus du méristème et facilite ainsi leur écrasement (**Bougoutaia, 2018**).

7.5.La coloration

Le nombre, la morphologie et la structure des chromosomes peuvent être visualisés par un microscope après une coloration optimale. Un colorant de bonne qualité colore spécifiquement les chromosomes, différencie l'euchromatine et l'hétérochromatine, et fournit un cytoplasme clair. Les méthodes de coloration suivantes ont été largement utilisées :

7.5.1. Le réactif de Schiff : préparé à partir de la fuchsine basique est le colorant le plus utilisé. Il se fixe sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse pour donner une coloration rouge aux chromosomes. Fréquemment, cette technique de coloration est appelée technique «Feulgen» car elle a été décrite pour la première fois par **Feulgen (1926) in Jahier, 1992** .

7.5.2. Acéto-orcéine : une solution d'acéto-orcéine à 1% est préparée à partir de l'orcéine 1g dessous par ébullition dans 100 ml d'acide acétique diluée à 45% puis laissée refroidir, agiter et filtrer .

7.5.3. Acéto-Carmine (Carmine acétique): une solution d'acéto-carmine à 1% est préparée de la même manière que celle d'acéto-orcéine en remplaçant l'orcéine par carmine.

7.5.4. Alcoolique acide chlorhydrique Carmine (Alcoholic-Hydrochloric Acid-Carmine): Développée par **Snow (1963) in Jahier (1992)** . Dans un bichre contenant 15ml d'eau distillée, on met 4g de carmine et 1ml d'HCL concentré, Bouillir le mélange doucement pendant environ 10 minutes avec une agitation fréquente. Après le refroidissement on ajoute 95ml d'éthanol à 85% et on filtre.

Chapitre II : Cytogénétique

7.5.5. Lacto-Propionique-Orcéine: utilisé par **Dyer (1963) in Jahier (1992)**. Elle est utilisée surtout avec les plantes contenant des chromosomes petits et nombreux. Préparée par dilution de 2 d'orcéine dans un mélange égale d'acides lactique et propionique, puis filtré et diluée à 45%.

D'autres colorants sont aussi utilisés pour la coloration des chromosomes tels que : Giemsa, Fuchsine phéniquée (*CarbolFuchsin*), Nigrosine, Carmin acétique ferrique.

7.5.6. Ecrasement et montage

La majorité des techniques présentées concernent les mitoses dans les méristèmes racinaires dans ce cas la zone méristématique hydrolysée et colorée est isolée, déposée sur une lame dans une goutte d'eau acétique ou de carmin acétique et écrasée entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules. Cette dissociation est plus difficile si les tissus ont été préalablement stockés dans l'alcool pendant une longue durée et si la quantité de tissu déposée est importante. Il faut éviter un écrasement trop violent car il y a risque d'éclatement des cellules et donc d'observation de cellules incomplètes. Puis, afin d'assurer un bon étalement des chromosomes un léger chauffage de la lame est conseillé avant d'exercer une pression homogène sur la lamelle. (**Carnoy, 1886 in Jahier, 1992**).

7.5.7. Observation

Les chromosomes végétaux ont une longueur moyenne d'environ 6µm. Les cellules en division sont repérées rapidement au microscope photonique à l'aide d'un objectif de faible grossissement (G=10 généralement). L'observation des chromosomes est faite à un grossissement supérieur. Le plus souvent, les combinaisons (oculaire x objectif) utilisées donnent des grossissements compris entre 1000 et 1500. L'observation peut être différée de quelques jours par la réalisation d'un montage temporaire. Celui-ci, obtenu en lutant la lamelle avec de la dissolution de caoutchouc pour éviter un dessèchement trop rapide de la préparation. La conservation des préparations pendant plusieurs années peut être souhaitée pour de nombreuses raisons (lames de démonstrations, possibilité d'étudier ultérieurement le matériel dans un autre objectif ...). Il est alors nécessaire de réaliser des montages permanents. (**Carnoy, 1886 in Jahier, 1992**).

Chapitre III:

Stress et stress salin chez les plantes

1. Introduction

De type méditerranéen, le climat algérien se caractérise principalement par la variabilité intra et inter-annuelle des précipitations et du régime thermique. Les stress climatiques, comme le déficit hydrique, les températures extrêmes, deviennent très communs à mesure qu'on pénètre à l'intérieur du pays. Ces stress affectent le développement et la production des cultures (**Baldy, 1974; Mekhlouf et al., 2006**) particulièrement la culture des céréales (**Baldy, 1974; Abbassenne, 1997; Fella et al., 2002; Annichiarico et al., 2002; Annichiarico et al., 2006**). Ceci est surtout valable pour les hautes plaines orientales, qui sont habituellement présentées comme un terroir dominé par les céréales pluviales (**Abbas et Abdelguerfi, 2005**). Les stress climatiques imposent une limite à l'expression du potentiel de production des cultivars utilisés (**Amokrane et al., 2002**).

2. Définition du stress

Selon **Jones et al., (1989)**, un stress désigne à la fois l'action d'un agent agresseur et les réactions qu'il entraîne dans l'organisme agressé, une force qui tend à inhiber les systèmes normaux. D'autre part, les stress environnementaux nés de la fluctuation des facteurs abiotiques (sécheresse, salinité, température) affectent les conditions de croissance, le développement et le rendement des plantes (**Madhava et al., 2006**).

3. Types de stress

On peut distinguer deux types du stress dans la nature :

3.1. Le stress biotique:

Dû à une agression par un autre organisme : insectes, animal, ... Etc (**Hopkins, 2003**). Ils sont nombreux et ont pour origine les virus, les organismes phytophages et les pathogènes. Afin d'y faire face, la plante met en place un système de défense qui fait intervenir une chaîne de réactions. Les protéines végétales défensives produites font office de rempart contre les agents nuisibles (**Shilpi et Narendra, 2005**).

Chapitre III: Stress et stress salin chez les plantes

3.2. Le stress abiotique

Il est dû principalement à des facteurs environnementaux comme la sécheresse, les températures extrêmes, excès d'eau (asphyxie racinaire), la salinité...

On peut citer quelques types des stress abiotiques qui peuvent affectés les végétaux :

3.2.1. Le stress hydrique: provoqué par un déficit en eau constituant un menace permanent pour la survie des plantes, néanmoins, beaucoup d'entre elles produisent des modifications morphologiques et physiologiques qui leurs permettent de survivre dans les régions de faible pluviosité et dont la teneur en eau des sols est peu élevée (**Hopkins, 2003**).

3.2.2. Le stress thermique: provoqué par la température, c'est l'un des facteurs les plus limitant et qui conditionne la production et la croissance des plantes.

3.2.3. Le stress salin: le stress salin est défini comme une concentration excessive en sel. Le terme stress salin s'applique surtout à un excès des ions, en particulier Na^+ et Cl^- (**Hopkins, 2003**).

3.2.3.1. Le stress salin

Munns *et al.*, (2006) mentionnent que le feuillage de l'orge soumise au stress salin est affecté dès l'imposition du stress par l'effet du manque d'eau et non par l'effet ionique du sel. Les effets ioniques ne sont visibles qu'une semaine à 10 jours après imposition du stress salin. Dans le cas où le niveau de stress est intense et que la plante possède une faible capacité d'exclusion des ions mis en cause (Na^+ et Cl^-) les effets apparaissent sur les feuilles âgées où les ions Na^+ et/ou Cl^- s'accumulent dans le cytoplasme et induisent l'inhibition enzymatique. Ils affectent aussi la structure de la membrane, déshydratent la cellule après que la vacuole soit fortement concentrée. Les mécanismes contrôlant la tolérance sont de deux types: ceux minimisant l'entrée des ions toxiques et ceux minimisant l'accumulation des ions toxiques dans le cytoplasme. Les espèces halophytes possèdent les deux mécanismes. Elles excluent les ions toxiques et les compartimentent aussi dans la vacuole où ils font le moins de dégâts. La salinité devient de plus en plus un important facteur limitant la production des végétaux dans les zones arides et semi arides. La tolérance à ce type de stress est considérée comme une caractéristique quantitative sous contrôle génétique de gènes mineurs (**Cuin *et al.*, 2008**). L'amélioration de la résistance à ce type de stress selon le processus de sélection classique est peu efficace (**Houshmand *et al.*, 2005**). Des stratégies alternatives sont

Chapitre III: Stress et stress salin chez les plantes

recherchées dont entre autre la production des plantes transgéniques (**Moose et Mumm, 2008**) ; la régénération de plantes acquérant la tolérance à la salinité après sélection in vitro (**Bouharmont, 1989**). L'utilisation d'un matériel végétal obtenu par sélection in vitro demeure cependant une alternative controversée. En effet s'il est facile de sélectionner des lignées cellulaires tolérantes à la salinité in vitro, la tolérance acquise se perd une fois ce matériel végétal est utilisé en milieu peu ou non salin (**Santos et al., 2000**).

4. Perception du stress

Les récepteurs du signal sont des molécules qui vont émettre une cascade de signaux pour permettre la transmission du signal au niveau intracellulaire et ainsi activer les facteurs de transcription qui induiront à leur tour l'activation/la régulation de gènes spécifiquement impliqués dans la réponse au stress (**Panjabi-Sabharwal et al., 2010 in Khader et Zitouni, 2017**).

Les cellules végétales ne possèdent pas un récepteur spécifique d'un stress donné, mais plutôt un ensemble de récepteurs qui vont être sollicités par les différentes composantes du stress (**Lemzeri, 2007**).

Les mécanismes de perception puis de signalisation via une transduction de signaux et de messagers afin d'activer les diverses réponses physiologiques et métaboliques, y compris l'expression de gènes de réponse au stress (**Chinnusamy et Zhu, 2003 ; Chinnusamy et al., 2005; Mahajan et al., 2008**).

Les conditions de stress abiotiques constituent une source de signaux complexes pour les cellules. Un seul type de stress correspond à des variations physiques et/ou chimiques, ces composantes représentant pour la plante des informations différentes. Par exemple, une diminution de la température entraîne des contraintes mécaniques, un changement dans l'activité des macro-molécules, ainsi que des modifications des conditions osmotiques du milieu extra-cellulaire (**Lemzeri, 2007**).

Des voies de signalisation sont activées en réponse aux stress environnementaux. La réponse au stress (salin ou hydrique) est initiée quand une plante perçoit un déficit hydrique au niveau cellulaire. La reconnaissance du signal va conduire à l'activation de voies de transduction du signal qui seront à l'origine de modification de l'expression

Chapitre III: Stress et stress salin chez les plantes

des gènes du métabolisme et de l'ajustement de la quantité d'eau au niveau cellulaire (Panjabi-Sabharwal *et al.*, 2010).

5. Transduction du signal

Les végétaux perçoivent les signaux environnementaux et les transmettent à la cellule pour activer des mécanismes de réponses. La voie de transduction du signal commence par la perception au niveau de la membrane végétale, suivie par la production de seconds messages et de facteurs de transcription. Ces facteurs contrôlent alors l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress, incluant des changements morphologiques, biochimiques et physiologiques (Roeder, 2006).

6. Effets de la salinité sur la germination des graines:

La germination est régulée par des caractéristiques génotypiques mais aussi par les conditions environnementales et en particulier par la disponibilité de l'eau dans le sol et la présence de sels (Ndour et Danthu, 2000). Ainsi, la germination des graines est le stade le plus sensible aux stress salin et hydrique (Boulghalagh *et al.*, 2006). On peut considérer que la plupart des plantes sont plus sensibles à la salinité durant leurs phases de germination et de levée (Maillard, 2001). Parmi les causes de l'inhibition de la germination en présence du sel, la variation de l'équilibre hormonal (Debez *et al.*, 2001). Plusieurs auteurs ont montré un retard de la germination causé par la salinité chez plusieurs espèces (Benata *et al.*, 2006), même chez des plantes halophiles (Belkhoja et Bidai, 2004 ; Rahmoune *et al.*, 2008). Des travaux effectués sur des halophytes ont montré que l'effet inhibiteur du NaCl sur la germination serait essentiellement de nature osmotique, le sel empêchant l'imbibition de la graine (Debez *et al.*, 2001).

La germination des plantes, qu'elles soient halophytes ou glycophytes, est affectée par la salinité. Selon l'espèce, l'effet dépressif peut être de nature osmotique ou toxique :

- Les effets osmotiques se traduisent par l'inaptitude des graines à absorber des quantités suffisantes en eau pour les ramener à leur seuil critique d'hydratation, nécessaire au déclenchement du processus de germination ;

Chapitre III: Stress et stress salin chez les plantes

- Les effets toxiques sont liés à une accumulation cellulaire de sels qui provoquent des perturbations des enzymes impliquées dans la physiologie des graines en germination, présence continue de chlorure de sodium (NaCl) dans le milieu de culture entraîne une augmentation d'une part de l'épaisseur des limbes (ce qui deviendrait un élément limitant dans la porosité stomatique) et d'autre part des vitesses d'ouverture des stomates.

La photosynthèse étant réduite chez les plantes cultivées en milieu salin. **Munns (1993)** a tout d'abord pensé que cet effet dépressif serait à l'origine de la diminution de la croissance. Toutefois, comme cette croissance diminue plutôt que la photosynthèse et, à long terme, elle décline davantage que cette dernière ; il a alors considéré que l'accumulation de carbone par les plantes serait affectée par la salinité à cause d'une réduction de l'indice foliaire plutôt que du taux de la photosynthèse.

Le sel peut également provoquer la modification de la densité des stomates, du nombre et du diamètre des vaisseaux du xylème chez les halophytes, ou accélérer le cycle biologique avec changement de la voie métabolique de fixation du carbone (**Levigneron et al., 1995**).

7. Effet de la salinité sur la croissance et le développement des plantes:

Les effets de la salinité sur la croissance des plantes varient en fonction du type de salinité, de la concentration du sel, de l'espèce, de la variété, de l'organe de la plante, ainsi que de son stade végétatif (**Levigneron et al., 1995**). Les effets de la salinité se manifestent principalement par une diminution de la croissance de l'appareil végétatif, caractérisé par la faible ramification, le faible diamètre des organes, le nombre réduit des nœuds et les réductions du nombre de feuilles et de la longueur de la tige et par conséquent l'augmentation du rapport racine/tige (**Meloni et al. 2001**).

L'analyse de la réponse d'une plante au stress salin, montre que la réduction de la croissance se déroule en:

- une réponse rapide face à l'augmentation de la pression osmotique à l'extérieur.
- une réponse plus lente en raison de l'accumulation de Na⁺ dans les feuilles.

Chapitre III: Stress et stress salin chez les plantes

Dans la première phase osmotique, (qui commence immédiatement après l'augmentation de la concentration du sel à un niveau seuil de la solution du sol). Le taux de la croissance diminue d'une façon significative (**Munns, 1993**).

8. La physiologie de la germination des graines:

Au cours de la germination, la graine se hydrate et consomme de l'oxygène pour oxyder ses réserves en vue d'acquies l'émergence nécessaire. La perméabilité du tégument et le contact avec les particules du sol conditionnent l'imbibition et la pénétration de l'oxygène. Les réserves de toute nature sont digérées (**Michel, 1997**).

9. Les conditions optimales de germination des graines:

9.1. Condition interne de la germination:

Avant la germination, la graine doit répondre à de nombreuses conditions internes qui sont :

La maturité c'est-à-dire que toutes les parties qui la constituent soient complètement différenciées morphologiquement (**Heller, 2000**).

La deuxième condition est la disponibilité de l'amidon, des protéines, des lipides, et des nutriments pour l'embryon de la graine à travers l'activité des enzymes et des voies spécifiques (**Miransari et Smith, 2009**).

La troisième condition est la longévité des semences, autrement dit, la durée pendant laquelle les semences restent vivantes et gardent leur pouvoir germinatif.

Cette dernière condition varie considérablement en fonction des espèces (**Heller, 2000**).

9.2. Condition externe de la germination :

La graine exige la réunion des conditions extérieures favorables à savoir l'eau, l'oxygène, la température et la lumière.

9.2.1. L'eau :

elle est absolument nécessaire, en son absence, la graine reste sèche et peut conserver longtemps sans changer d'état liquide (**Chaussat *et al.*, 1975**).

Chapitre III: Stress et stress salin chez les plantes

9.2.2. L'oxygène :

En même temps que l'imbibition, on constate que les graines qui étaient en vie ralentie, se remettent à respirer. Selon **(Soltner, 2007)** l'oxygène est indispensable à la germination.

Une faible quantité d'oxygène peut être suffisante pour permettre la germination **(Mazliak, 1982)**.

9.2.3. La température :

La température compatible avec la germination s'inscrit dans une gamme assez large (sous réserve que la semence ne soit pas dormante) **(Heller *et al.*, 2006)**.

9.2.4. La lumière :

La lumière agit de manière différente sur les espèces. Elle inhibe la germination des graines à photosensibilité négative et stimule celles-ci à photosensibilité positive **(Anzala, 2006)**. Les espèces indifférentes à la photosensibilité sont rares **(Heller *et al.*, 1990)**.

En conclusion, humidité, chaleur, oxygénation et exposition à la lumière sont les maîtres mots d'une germination efficace.

Chapitre IV:

Matériel et Méthodes

1. Matériel

La partie expérimentale a été réalisée dans le laboratoire de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Ziane Achour de Djelfa.

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des akènes germés d'*Artemisia herba-alba* récoltés dans des sacs en papier durant la fin du mois de janvier et le début de février 2019, dans deux stations situées dans les zones de Chaïba (wilaya de Biskra) et de Taadmit ; localité de Ben Hamed (wilaya de Djelfa) (**Figure 9**).

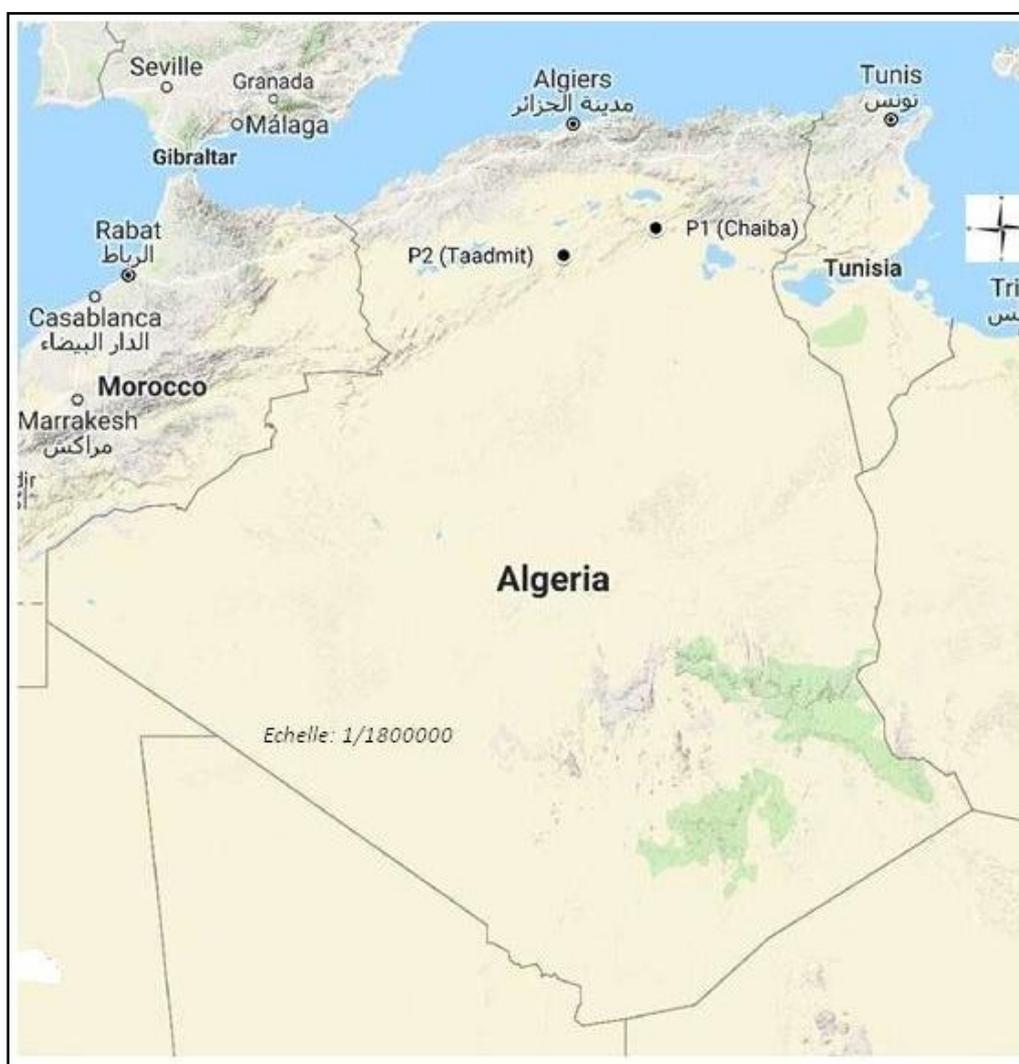


Figure 9: Situation géographique des deux stations de prélèvement (**Fond de carte; Source google Map**)

Chapitre IV: Matériel et Méthodes

Les données géographiques et climatiques des deux stations de prélèvement sont consignées dans les **tableaux 1 et 2**.

Tableau 1: Données géographiques des stations de prélèvement des échantillons d'*Artemisia herba-alba*

Station	Code	Données géographiques		
		Lat. N	Long.	Altitude
Chaiba (Biskra)	P1	34°50'10"	04°56'00"E	430m
Ben-Hamed (Djelfa)	P2	34°20'19"	02°53'21" E	1220 m

Tableau 2: Données climatiques des stations de prélèvement des échantillons

d'*Artemisia herba-alba*

Station	P (mm)	M (°C)	m (°C)	ETP (mm)	P/ETP	Q3	*Climat
P1	186	35,3	2,5	1297	0,14	19,5	AIf
P2	237	34,5	0,5	1201	0,20	23,9	ASf

***Climat** : Classes des étages bioclimatiques sont définies selon le climagramme d'Emberger (1955).

Légende :

a) P = Pluviosité moyenne annuelle en mm, **M** = Moyenne des maxima quotidiens du mois le plus chaud, **m** = :moyenne des minima quotidiens du mois le plus froid, **ETP** = Évapotranspiration, **P/ETP**= indice d'aridité ; **Q3** = Quotient pluviothermique d'Emberger (1955), modifié par Stewart (1969) pour l'Algérie et le Maroc ; Q3 = 3,43 P/M-m, où M et m sont exprimés en °C.

b) ASf = Aride Supérieur à hiver frais, **AIf** = Aride Inférieur à hivers frais.

a) Sources des données climatiques: Bougoutaia (2009) ; Le Houérou, (1995), (<https://fr.climate-data.org>)

NB. : En raison du manque des données pour la station P1 de Chaiba, nous avons considéré les donnée de la station la plus proche, à savoir la stations de Ouled Slimane (M'sila).

2. Méthodes

2.1. Dénombrement des chromosomes

Différentes méthodes sont décrites pour l'étude des chromosomes, elles mettent en jeu l'application d'agents chimiques pour le prétraitement, la fixation et la coloration des cellules

en divisions. Ces méthodes sont largement décrites dans le cahier des « Techniques de cytogénétique végétale» (**Jahier, 1992**).

2.1.1. Germination des graines

Les akènes *Artemisia herba-alba* sont triés à l'aide d'une loupe binoculaire « vu leur taille très petite» et mises à germer à l'obscurité dans des boîtes de pétri tapissées de papier absorbant et imbibées d'eau distillée à une température ambiante.

2.1.2. Prélèvement des apex racinaires:

Le prélèvement des apex d'une longueur de 1 à 1.5cm racinaires a eu lieu 4 à 6 jours après la mise en germination des akènes.

2.1.3. Le prétraitement:

L'agent utilisé est une solution de colchicine à une concentration de 0,05% (0,05g de colchicine dans 100 ml d'eau distillée) pendant 2h 45min à la température ambiante.

2.1.4. La fixation:

Après prétraitement, les apex racinaires sont fixés dans le Carnoy I (3V.Ethanol absolu – 1V. Acide acétique glacial), à pendant 48h.

Une conservation dans l'Ethanol 70% à 4°C a été effectuée pour certains échantillons qui n'ont pas été passés directement à l'hydrolyse.

2.1.5. L'hydrolyse:

L'hydrolyse est effectuée dans le HCL (1N) pendant 2 à 4 mn à 60°C.

2.1.6. La coloration:

La coloration a été effectuée à l'aide de l'acéto-orcéine 2 % pendant un temps variable de 1h à 24h.

2.1.7. Écrasement et montage:

L'écrasement est effectué selon la méthode de **Jahier (1992)**. Les apex colorés sont sectionnés et déposés sur une lame dans une goutte de carmin acétique à 1% ou bien dans de l'acide acétique à 45%. La préparation est recouverte d'une lamelle et écrasée doucement en tapotant

Chapitre IV: Matériel et Méthodes

à l'aide d'une tige en bois. L'étalement peut être accentué par un léger chauffage en passant rapidement la lame au dessus d'une flamme.

2.1.8. Observation microscopique:

Les cellules en division sont repérées au microscope photonique à l'aide d'un objectif de faible grossissement (X 10) puis au grossissement (X 40) pour une bonne visualisation de l'image. Le dernier grossissement est celui de l'objectif (X 100) à immersion.

Les meilleures plaques sont photographié par un appareil photos.

2.2. Effet du stress salin

Cet essai a porté sur des graines d'*Artemisia herba alba* récoltées dans les stations de Chaiba (W. de Biskra), et Taadmit; localité de Benhamed (W. de Djelfa).

L'essai de germination a concerné l'effet de différentes concentrations salines de chlorure de sodium (NaCl) et de chlorure de calcium (CaCl₂) sur l'évolution de germination des graines d'*Artemisia herba alba* dans chaque population

Les graines sont mises à germer dans des boites de Pétri stériles, contenant deux couches de papier Wattman imbibé avec différentes concentrations (0, 50, 100 et 150 mM) des deux sels solubles (NaCl et CaCl₂). Ces catégories de concentrations choisies se situent dans la gamme de celles signalées par **Halitim, (1988)** pour les différents sols dans les parcours arides algériens.. Pour chaque traitement, 100 graines sont réparties en quatre lots (répétitions) de 25 graines chacun, et placées dans des boites de Pétri arrosées de 10 ml de chaque solution de sel. Le papier Wattman est imbibé à chaque fois qu'il est nécessaire par l'eau distillée pour maintenir une humidité suffisante et permanente pour la germination.

Le test de germination a été réalisé pendant 24 jours, sous un régime de température alternatif. Le cycle alternant de températures jour / nuit comprend 20 heure à 12 °C à l'obscurité et 4 heures à 25 °C à la lumière. Le nombre de graines qui ont germé a été compté régulièrement. L'apparition d'une radicule de 1 à 2 mm a été adoptée comme critère d'émergence de la germination. Le test de germination a été réalisé sur un plan complet randomisé.

2.3. Analyses statistiques

Les paramètres statistiques analysés sont :

2.3.1. La précocité de germination ou temps de latence (TL)

La précocité de germination, ou le temps de latence (TL) : signifie le début de la germination, est exprimé en jours.

En général, chaque espèce dispose d'une précocité de germination spécifique à sa nature (**Dadach, 2016**). Car même placée dans les mêmes conditions expérimentales, le début d'apparition de la radicule à travers la membrane n'aura pas lieu en même temps chez toutes les graines (**Renard et Quillec, 1975**). Ce paramètre est déterminé lorsque nous observons les premières graines germées. Dans ce cas, la précocité de la germination est exprimée par le nombre de jours nécessaires pour le déclenchement de la germination et qui correspondent à l'intervalle de temps entre le semis des graines et les premières graines germées (**Belkhodja, 1996**).

2.3.2. Taux final de germination (TFG)

Le taux final de graines germées (TFG) ou capacité de germination exprimé en % : Sur la base du nombre total de graines utilisées (Nt), nous calculons le pourcentage final ou maximum des graines germées (Ni) selon la relation :

$$\text{TFG} = Ni \times 100 / Nt$$

Ce paramètre constitue le meilleur moyen d'identification des conditions environnementales qui présentent la limite physiologique de germination des graines (**Maraghni et al., 2010**)

2.3.3. Temps moyen de germination (TMG)

La vitesse de germination permet d'exprimer l'énergie de germination responsable de l'épuisement des réserves de la graine. C'est la variation dans le temps des taux de germination dès l'apparition de la première pointe de la radicule d'une ou des graines jusqu'à la stabilité de la germination, s'exprimant par le taux de germination obtenu à un moment donné (**Dadache, 2016**). Elle peut s'exprimer par différentes méthodes :

Chapitre IV: Matériel et Méthodes

Le temps moyen de germination (TMG) se calcule de la façon suivante selon **Redondo-Gomez et al. (2007)** :

$$\text{TMG} = \sum i (N_i \times D_i) / N$$

Où N_i est le nombre de graines germées au jour i , D_i est la période de germination en jours, et N est le nombre total de graines germées

2.3.4. Cinétique de germination (CG)

La cinétique de germination est une courbe de germination qui décrit le déroulement de la germination du lot de semences considéré placé dans des conditions bien précises. Elle représente le plus souvent l'évolution des pourcentages de germination cumulés en fonction du temps. Cette cinétique est établie à partir des taux cumulés de graines germées ; c'est-à-dire la variation des taux de germination en fonction du temps exprimé en jour (**Dadach, 2016**).

Les courbes de germination donnent une idée complète de l'évolution de la germination d'un lot de semences placées dans des conditions déterminées (**Mguis et al., 2011**).

Une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA) a été réalisée à l'aide du programme Statistica v6 pour tester les effets des populations (P), des concentrations (C) et de leur interaction (P × C) sur les paramètres TL, TFG et TMG.

Le test de Bonferroni a été appliqué ($P < 0,01$) pour déterminer les groupes homogènes statistiquement.

Les histogrammes ont été réalisés à l'aide du programme Excel 2007.

Chapitre V:

Résultats et Discussion

1. Résultats

1.1. Nombre de chromosomes

Le présent travail constitue une contribution dans l'étude cytogénétique par une technique classique réalisé sur deux populations d'*Artemisia herba alba* en provenance des zones de Chaiba (wilaya de Biskra) et Taadmit ; localité de Ben Hamed (Wilaya de Djelfa).

1.1.1. Germination des graines :

Après 3 à 6 jours de la mise en germination des akènes, on a obtenu des racines d'une longueur de 1 à 1,5 cm qui sont optimales à l'utilisation pour les différentes étapes d'observation de méristèmes racinaires (**Figure 10**).

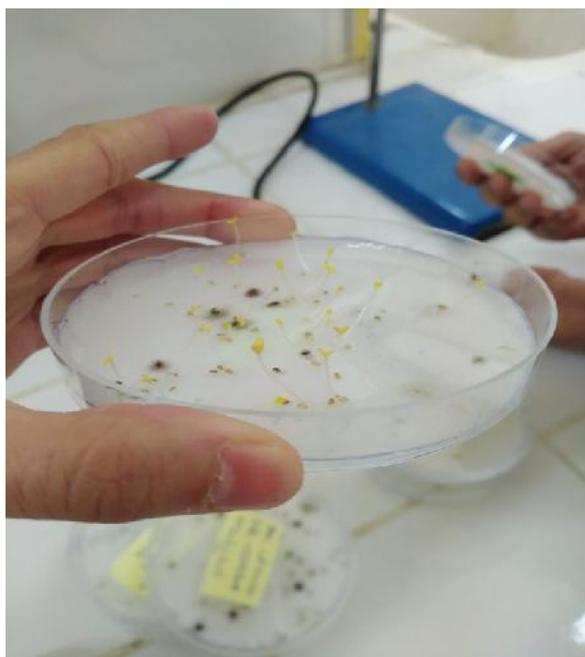


Figure 10: Germination des akènes d'*Artemisia herba-alba* (après 10 jours) (population Chaiba)

1.1.2. Observation au microscope optique

Les observations au microscope ont été effectuées sur l'ensemble des cellules issues des deux populations étudiées dans les mêmes conditions,

Chapitre V : Résultats et Discussion

La zone méristématique (apex racinaire) colorée est isolée et déposée sur une lame dans une goutte de Carmen-acétique (45 %), et écrasée entre une lame et une lamelle puis observée au microscopique optique.

1.1.3. Dénombrement chromosomique

Dans les apex où les cellules en division sont nombreuses et sur les quels on a effectué un écrasement adéquat, on a observé de bonnes plaques métaphasiques qui contiennent des chromosomes avec leur meilleure morphologie et bien séparés les uns des autres.

La coloration des apex racinaires à l'orcéine 2 % nous a permis de distinguer deux nombres chromosomiques somatiques ($2n$) significativement différents chez *Artemisia herba-alba*; $2n = 18$ chromosomes confirmé chez la population P1 de Chaiba et $2n = 36$ chromosomes chez la population P2 de Taadmit (**Figures 11**)

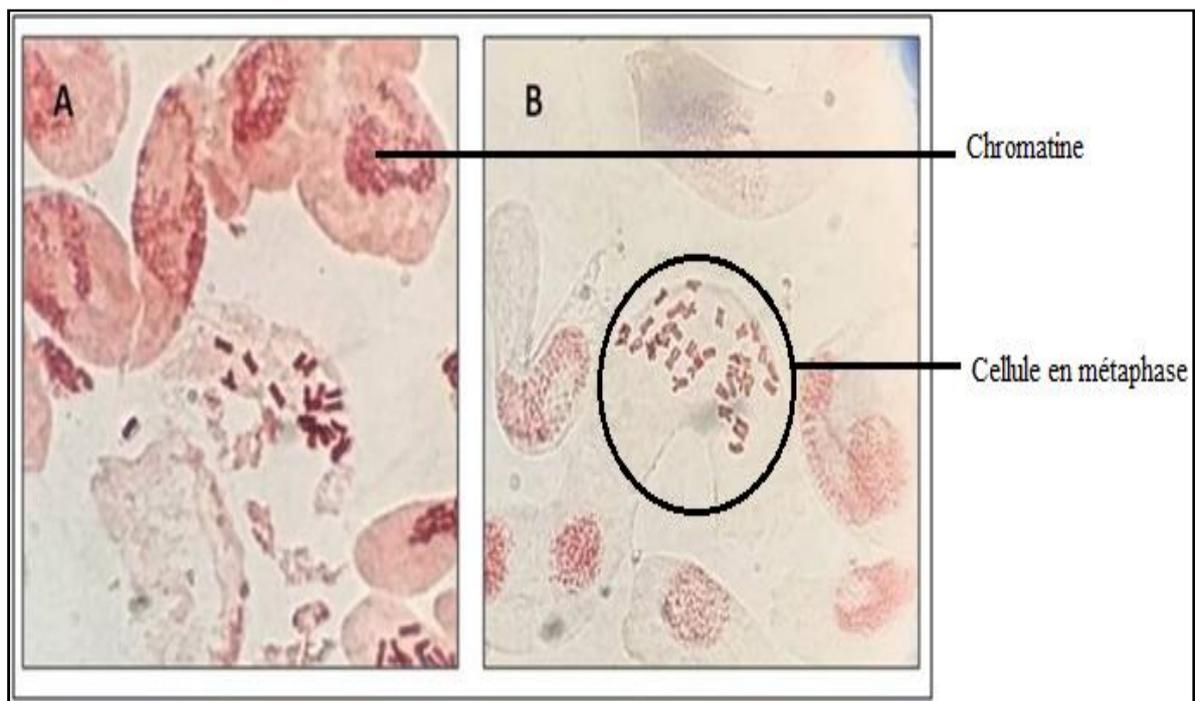


Figure 11 : Plaques métaphasiques de la population de Chaiba ($2n=18$; A) et la population de Taadmit ($2n = 36$; B) (G x100)

1.2. Résultats de l'effet du stress salin sur la germination des graines

1.2.1. Effet du stress salin sur le temps de latence (TL) des graines

Le temps de latence sous l'effet des deux sels (NaCl et CaCl₂) varié entre 6 et 7 jours pour toutes les concentrations salines dans les deux cytotypes, à l'exception de la population de Chaiba (P1) où nous avons enregistré un TL relativement court (4,7 jour) à la concentration C1 du CaCl₂.

Les valeurs les plus élevées de TL sont 7 jours, enregistrées à C3 pour les deux sels (**Tableau 3**).

Tableau 3: réaction entre le TL et les différentes concentrations salines du NaCl

Cytotype	Concentration	NaCl	CaCl ₂
		TL ± ET (jour)	TL ± ET (jour)
P1	C0 (0mmol)	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0
	C1 (50mmol)	6,3 ± 0,5	4,7 ± 2,0
	C2 (100mmol)	6,3 ± 0,5	6,2 ± 0,5
	C3 (150mmol)	6,5 ± 0,6	6,5 ± 0,6
P2	C0 (0mmol)	6,3 ± 0,5	6,2 ± 0,5
	C1 (50mmol)	6,5 ± 0,6	6,2 ± 0,5
	C2 (100mmol)	6,3 ± 0,5	6,7 ± 0,5
	C3 (150mmol)	7,0 ± 0,0	7,0 ± 0,0

L'analyse de la variance de TL sous l'effet du NaCl ne montre pas de différences significative pour les deux facteurs considérés (population et concentration saline), ni pour leurs interactions (**Tableau 4**).

Chapitre V : Résultats et Discussion

Tableau 4 : Analyse de la variance à deux facteurs de l'effet du NaCl sur le temps de latence (TL) dans les deux cytotypes d'*Artemisia herba-alba* ($\alpha = 0,05$)

Source de variabilité	SC	DDL	MC	F	P
Pop	0,50	1,00	0,50	2,40	0,13
C	1,75	3,00	0,58	2,80	0,06
Pop x C	0,25	3,00	0,08	0,40	0,75

L'analyse de l'effet du CaCl₂ sur le TL, a révélée des différences significatives entre les deux populations (F = 5,42 ; P < 0,05), ainsi que entre les différentes concentrations salines (F = 3,39 ; P < 0,05) (**Tableau 5**)

Tableau 5 : Analyse de la variance à deux facteurs du temps de latence (TL) sous l'effet du CaCl₂ dans les deux cytotypes d'*Artemisia herba-alba* ($\alpha = 0,05$)

Source de variabilité	SC	DDL	MC	F	P
Pop	3,78	1,00	3,78	5,42	0,03
C	7,09	3,00	2,36	3,39	0,03
Pop x C	1,84	3,00	0,61	0,88	0,47

Le test de Bonferroni montre que les deux populations sont séparées en deux groupes homogènes selon les valeurs de TL sous l'effet de CaCl₂ (**Tableau 6**).

Tableau 6: Test de Bonferroni des groupes homogènes selon les valeurs de la variable TL sous l'effet du CaCl₂ ($\alpha = 0,05$)

Pop.	TL	Groupe 1	Groupe 2
P1	5,88	****	
P2	6,56		****

1.2.2. Taux final de germination (TFG)

1.2.2.1. Effet du NaCl sur le TFG

L'effet du NaCl sur le TFG dans les deux populations est illustré dans la **figure 12**. Le TFG diminue quand l'intensité de la salinité augmente dans le milieu, sauf pour le traitement témoin (C0) des deux populations et la concentration C1 pour la population P1, où nous avons observé un TFG faible, ceci est dû au développement des champignons sur les graines germées. La population de Taadmit (P2) montre une tolérance remarquable vis-à-vis l'effet stressant du NaCl en comparaison avec la population de Chaiba (P1), traduite par un TFG supérieur pour tous les traitements.

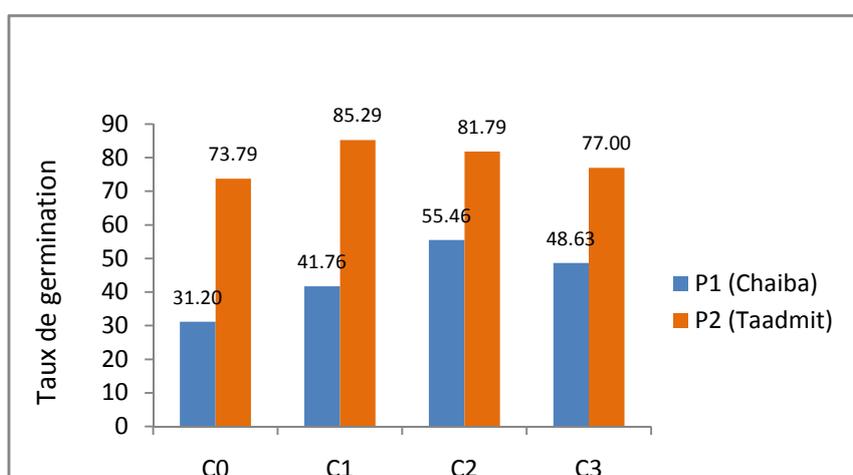


Figure 12 : Effet du NaCl sur le taux final de germination (TFG) des graines d'*Artemisia herba-alba* dans les deux cytotypes

L'analyse de la variance à deux facteurs du TFG des graines d'*Artemisia herba - alba* a montré une différence significative entre les deux populations ($F = 61,68$; $P < 0,05$). Cependant, les différents niveaux des concentrations salines (C) et leurs interactions (P x C) n'ont pas exercé un effet significatif sur le TFG pour les deux populations ($P > 0,05$) (**Tableau 7**).

Chapitre V : Résultats et Discussion

Tableau 7 : Analyse de la variance à deux facteurs de l'effet du NaCl sur le taux final de germination des graines dans les deux cytotypes d'*Artemisia herba-alba* ($\alpha = 0,05$)

Source de variabilité	SC	DDL	MC	F	P
Pop	9914,61	1,00	9914,61	61,68	0,00
C	1097,10	3,00	365,70	2,28	0,11
Pop x C	498,02	3,00	166,01	1,03	0,40

Le test de Bonferroni montre clairement que les deux cytotypes sont bien séparés en deux groupes homogènes selon les valeurs du TFG sous l'effet du sel NaCl (**Tableau 8**).

Tableau 8: Test de Bonferroni des groupes homogènes dans les deux cytotypes selon les valeurs de la variable TFG sous l'effet du NaCl ($\alpha = 0,05$)

Cytype	TFG	Groupe 1	Groupe 2
P1	44,26	****	
P2	79,47		****

1.2.2.2. Effet du CaCl₂ sur le TFG

L'allure de l'histogramme de l'effet du CaCl₂ sur le TFG dans la **figure13** est semblable à celle de l'effet du NaCl sur le TFG. Ce dernier diminue quand l'intensité de la salinité augmente dans le milieu, excepté pour les traitements C0 où nous avons observé un TFG faible, ceci est dû au développement des champignons sur les graines germées. Les valeurs du TFG sont dans leurs globalités supérieures dans les individus de la population de Taadmit que dans les individus de la population de Chaiba.

Chapitre V : Résultats et Discussion

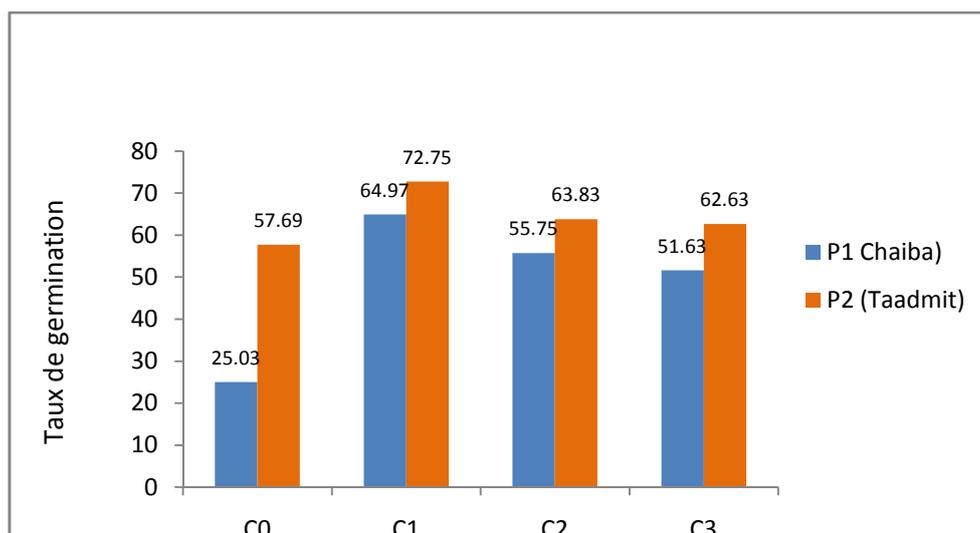


Figure 13 : Effet du CaCl_2 sur le taux final de germination (TFG) des graines d'*Artemisia herba-alba* dans les deux populations

La comparaison des moyennes par le test ANOVA du TFG sous l'effet du CaCl_2 montre une différence significative entre les deux populations ($F = 10,16$; $P < 0,05$), ainsi que entre les différents niveaux des concentrations salines (C) ($F = 9,47$; $P < 0,05$). En revanche, les interactions des deux facteurs (P x C) n'ont pas exercé un effet significatif sur le TFG pour les deux populations ($P > 0,05$) (**Tableau 9**).

Tableau 9 : Analyse de la variance à deux facteurs de l'effet du CaCl_2 sur le taux final de germination des graines dans les deux populations d'*Artemisia herba-alba* ($\alpha = 0,05$)

Source de variabilité	SC	DDL	MC	F	P
Pop	1420,52	1,00	1420,52	10,16	0,00
C	3970,35	3,00	1323,45	9,47	0,00
Pop x C	470,89	3,00	156,96	1,12	0,36

Le test de Bonferroni sépare les deux populations en deux groupes homogènes selon les valeurs du TFG sous l'effet du sel CaCl_2 (**Tableau10**).

Tableau 10: Test de Bonferroni des groupes homogènes dans les deux populations selon les valeurs de la variable TFG sous l'effet du CaCl₂ ($\alpha = 0,05$)

Cytotype	TFG	Groupe 1	Groupe 2
P1	49,34	****	
P2	62,67		****

1.2.2.3. Effet du NaCl sur le Temps Moyen de Germination (TMG)

Les plus faibles TMG sous l'effet du NaCl sont enregistrés chez les témoins (C0). Cependant, les TMG les plus longs sont notés à la concentration C2 (6,40 jours) pour la population P1, et à la concentration C3 (9,05 j) pour la population P2 (**Figure 14**).

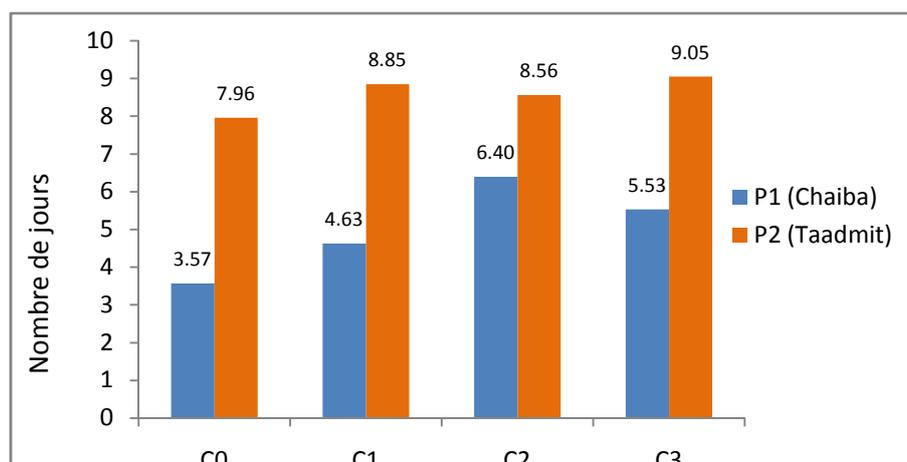


Figure 14: Effet des différentes concentrations salines de NaCl sur le TMG des graines d'*Artemisia herba-alba* dans les deux populations

Le test ANOVA à deux facteurs montre une différence significative du TMG ($F = 23,72$; $P < 0.05$) entre les deux populations sous l'effet stressant du NaCl. En revanche, les concentrations salines (C) et leurs interactions (C x P) n'ont exercé un effet significatif sur les variations du TMG, (**Tableau 11**).

Chapitre V : Résultats et Discussion

Tableau 11 : Analyse de la variance à deux facteurs du TMG sous l'effet de différentes concentrations salines du NaCl chez les deux populations d'*Artemisia herba-alba* ($\alpha = 0,05$)

Source de variabilité	SC	DDL	MC	F	P
Pop	102,18	1,00	102,18	23,72	0,00
C	14,19	3,00	4,73	1,10	0,37
Pop x C	6,13	3,00	2,04	0,47	0,70

Le test de Bonferroni sépare les deux populations en deux groupes homogènes selon les valeurs du TMG sous l'effet du sel NaCl (**Tableau 12**).

Tableau 12: Test de Bonferroni des groupes homogènes selon les valeurs de la variable TMG sous l'effet du NaCl ($\alpha = 0,05$)

Pop.	TFG	Groupe 1	Groupe 2
P1	5,03	****	
P2	8,60		****

1.2.2.4. Effet du CaCl₂ sur le Temps Moyen de Germination (TMG)

Les plus faibles TMG, sous l'effet de différentes concentrations salines de CaCl₂ sont enregistrés chez les témoins (C0). Cependant, les plus longs TMG sont notés à C1 pour les deux populations P1 (7,45 jours) et P2 (9,05 jours) (**Figure 15**).

Chapitre V : Résultats et Discussion

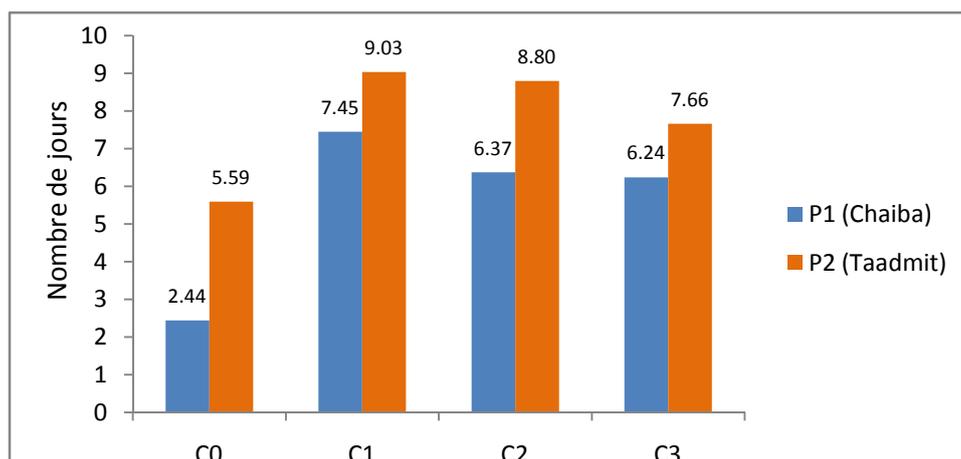


Figure 15 : Effet des différentes concentrations salines de CaCl_2 sur le TMG des graines d'*Artemisia herba-alba* dans les deux populations

L'ANOVA à deux facteurs de l'effet du stress salin montre une différence significative du TMG entre les deux populations ($F = 13,00$; $P < 0,01$), ainsi que entre les différentes concentrations salines ($F = 9,79$; $P < 0,01$). Par contre, l'interaction des deux facteurs n'a pas exercé un effet significatif sur les variations du TMG (**Tableau 13**).

Tableau 13 : Analyse de la variance à deux facteurs du TMG sous l'effet du CaCl_2 chez les deux populations d'*Artemisia herba-alba* ($\alpha = 0,05$)

Source de variabilité	SC	DDL	MC	F	P
Pop	36,86	1,00	36,86	13,00	0,00
C	83,31	3,00	27,77	9,79	0,00
Pop x C	3,86	3,00	1,29	0,45	0,72

Les deux populations sont statistiquement séparées en deux groupes homogènes selon les valeurs du TMG sous l'effet du CaCl_2 (**Tableau 14**).

Tableau 14: Test de Bonferroni des groupes homogènes selon les valeurs de la variable TMG sous l'effet du CaCl_2 ($\alpha = 0,05$)

Pop.	TFG	Groupe 1	Groupe 2
P1	5,63	****	
P2	7,77		****

1.2.3. Cinétique de germination (CG)

Les cinétiques de germination des graines d'*Artemisia herba-alba* des deux populations sous l'effet de différentes concentrations salines croissantes de NaCl et CaCl₂ sont illustrées dans les quatre courbes de la **figure 16**. Ces courbes représentent les taux de germination cumulés pour une période de 24 jours. L'allure des courbes de CG des deux populations sous l'effet des concentrations salines sont très semblables pour chaque sel et reflètent une réponse identique des individus de la population. L'analyse de cette cinétique montre globalement trois phases ; une première phase de latence, due à l'imbibition des graines, une deuxième phase exponentielle où l'on assiste à une accélération de la germination et enfin une troisième phase caractérisée par un palier indiquant un arrêt de germination. La phase de latence dure de 6 à 7 jours chez les deux cytotypes sous l'effet de différentes concentrations salines, excepté pour la concentration C1 de CaCl₂ pour la population de Chaiba (P1), où nous avons constaté une phase de latence relativement courte (4,7 jours moyens). La phase exponentielle de germination commence à partir du 6ème jour et se subdivise en deux sous-phases; une première sous-phase qui dure 8 jours (du 5ème au 13ème jour) sous l'effet du NaCl et seulement 6 jours (du 6ème au 12ème jour) sous l'effet du CaCl₂, et marquée par une vitesse de germination relativement ralentie, suivie par une deuxième sous-phase de germination courte (2 à 3 jours) avec une vitesse de germination très accélérée, avant d'atteindre la phase stationnaire où la germination s'arrête après un maximum de germination. Au fur et à mesure que la salinité augmente, l'allure de cette courbe est modifiée dans le sens d'un étirement, se traduisant par un retard et un ralentissement de la vitesse de germination, jusqu'à l'arrêt total de germination à partir du 24ème jour pour tous les traitements.

Chapitre V : Résultats et Discussion

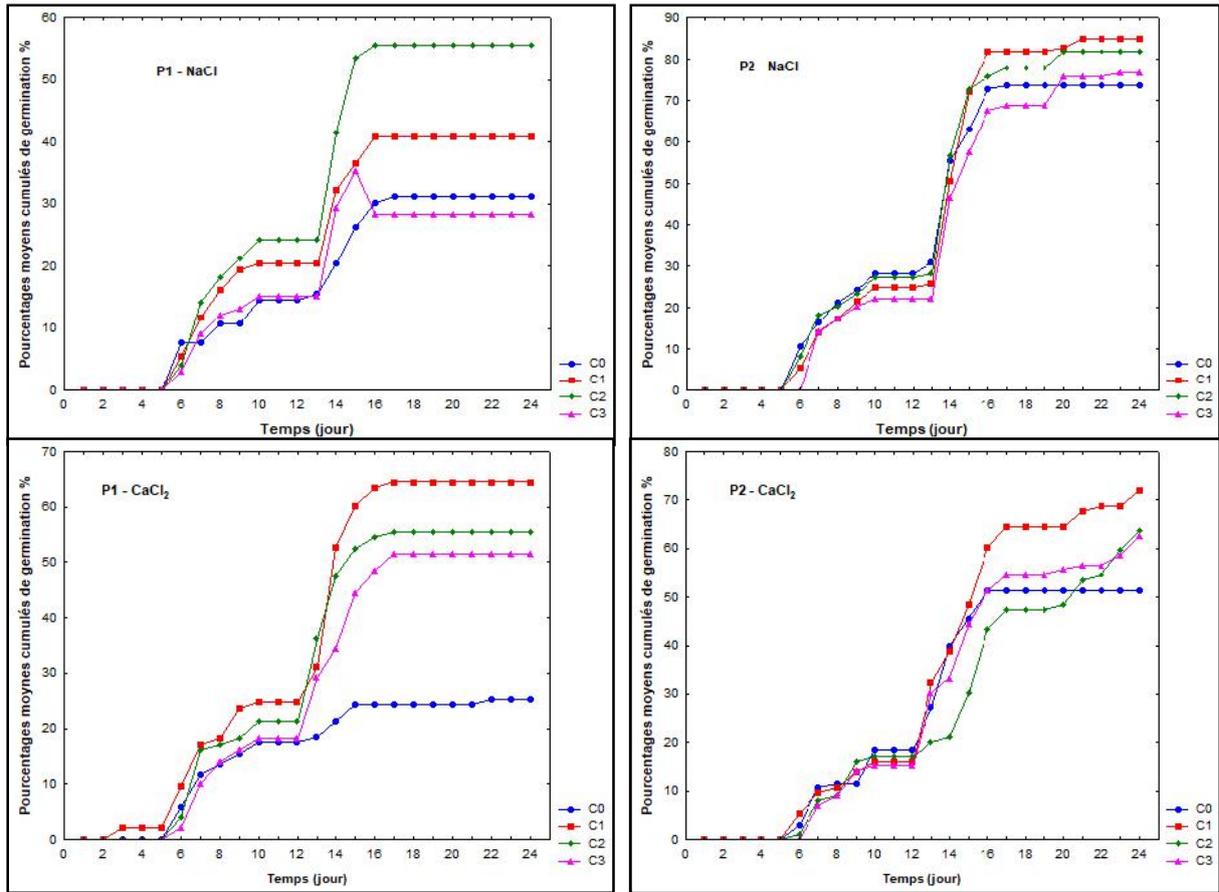


Figure 16 : Cinétique de germination des graines d'*Artemisia herba-alba* des deux cytotypes P1 et P2 sous l'effet de différentes concentrations de NaCl et CaCl₂

2. Discussion

2.1. Nombre de chromosomes et niveaux de ploïdie

Les techniques de cytogénétique, dont le dénombrement chromosomique constitue la première étape, sont utilisées pour la reconnaissance de la variabilité génétique au sein des espèces et établir des relations phylogénétiques entre espèces d'un même genre ou entre genres d'une même famille (**Graham et Cavalcanti, 2001**).

Dans le genre *Artemisia*, le nombre de chromosomes somatiques ($2n$) varie de 14 à 144 (**Vallès et al., 2011**). Deux nombre chromosomiques de base caractérisant ses membres sont : $x = 9$, présent dans tous les sous-genres d'*Artemisia*, et $x = 8$ limité à certains taxons du sous-genre (*Absinthium*, *Artemisia* et *Dracunculus*) (**Pellicer et al., 2007; Vallès et al., 2011**).

Dans ce travail, nous avons procédé au comptage chromosomique par l'utilisation de la technique classique de dénombrement chromosomique par coloration à l'orceine 2% comme méthode d'investigation de la variabilité génétique de deux populations d'*Artemisia herba-alba* (P1 : Chaiba et P2, Taadmit).

Les résultats du comptage chromosomique effectué dans les deux populations ; P1 et P2 ont révélé l'existence de deux nombres chromosomiques ; $2n = 18$ chromosomes dans la population P1 (Chaiba) et $2n = 36$ chromosomes dans la population P2 de Taadmit. Ces résultats sont en accord avec les travaux précédents effectués sur ce taxon dans l'Afrique du nord et la Péninsule ibérique, et qui ont déjà révélé l'existence de deux niveaux de ploïdie chez l'espèce *Artemisia herba-alba* (**Kawatani et Ohno, 1964; Valdés-Bermejo et Gómez, 1976; Fernández et al., 1979; Vallès, 1987; Ouyahya et Viano, 1988; Ferchichi, 1997 ; Bougoutaia et al., 2016 ; Bougoutaia, 2018**).

En Algérie, les travaux de dénombrement chromosomique réalisés sur des différentes populations d'armoise blanche ont confirmé l'existence du cytotype tétraploïde ($2n=36$). C'est le cas des travaux de **Bougoutaia et al., (2016)** sur 22 populations distribuées dans le centre et l'Est Algérien, **Betina (2004)** sur 8 populations dans le centre et l'est algériens, **Tarfaoui (2012)** sur les populations d'Oued Sdeur, **Senouci et Hadroug (2013)** sur des populations de Taadmit et **Benyahia et Mehdad (2014)** sur la population d'Ain Ouessara.

Chapitre V : Résultats et Discussion

Le cytotype diploïde $2n=18$ a été signalé pour la première fois en Algérie par **Bougoutaia et al. (2016)** dans les régions de El-Hamel, Zerarka, Ben Srour et Ouled Slimane (W. de Msila), Baniane (W. de Biskra) et Tifelfal (W. de Batna).

Les deux cytotypes (diploïde et tétraploïde) possèdent deux formes très proches et très affines, de telle sorte que, pour un botaniste de terrain, il n'y a qu'un seul taxon. Les différences qui les séparent ne sont pas plus grandes que celles qui se rencontrent entre populations, voire entre individus d'une même population (**Ferchichi, 1997**).

Nous indiquons que une coexistence des deux cytotypes dans la même population a été signalée en Algérie (**Bougoutaia et al., 2016**) et dans la partie nord du bassin méditerranéen ; dans la Péninsule Ibérique (**Valdés-Bermejo et Gómez, 1976; Fernández et al., 1979; Vallès, 1987; Torrell et al., 2003**).

2.2. Effet du stress salin sur la germination des graines

L'influence de la salinité au cours de la germination est une réponse directe de l'embryon au stress salin. Elle est directement liée à une sélectivité efficace du plasmalemmes à l'égard de l'ion sodium. Cette sélection au stade embryonnaire est associée à une accumulation de calcium par la graine lors de la phase de maturation (**Groome et al., 1991**).

Les quantités excessives de sels solubles dans les sols ont une influence négative sur le taux de germination des espèces, en particulier dans les zones arides et semi-arides (**Nedjimi et al., 2014**). Selon **Dubey et Sharma, (1990)**, la salinité affecte la germination des graines de différentes manières; à savoir, la prévention de l'imbibition de semences d'eau nécessaire à l'activité métabolique (effet osmotique), la toxicité ionique spécifique sur la viabilité de l'embryon, et le blocage de l'hydrolyse enzymatique des réserves de l'endosperme.

Artemisia herba-alba est une espèce qui se multiplie par semences. La germination des akènes sous l'effet de la salinité a fait l'objet de plusieurs travaux (**Benrebiha et al., 2011; Nedjimi et Zemmiri, 2019**).

Les résultats de test de germination, ont montré que malgré l'effet négatif de la salinité des deux sels NaCl et CaCl₂, les graines d'*Artemisia herba-alba* étaient capables de germer sous

Chapitre V : Résultats et Discussion

toutes les concentrations salines, mais avec des taux variables selon le degré de salinité, le type de sel et la provenance de la population

Les résultats du temps de latence (TL) sous l'effet stressant de NaCl varié entre 6 et 7 jours, pour les deux populations sans aucune différence dans la réponse des deux populations vis-à-vis l'effet stressant de ce sel. Cependant, pour CaCl₂, les résultats du temps de latence (TL) confirment la différence entre les deux populations d'une part, et l'effet moins toxique du CaCl₂ d'autre part. Un TL relativement court (4,7 jour) chez la population de Chaiba (P1) a été enregistré à la concentration C1. Cependant, pour la population de Taadmi (P), le plus court TL enregistré est 6,2 jours pour C0 et C1. Ces résultats sont en accord avec **White et Broadley, 2003**), ayant rapporté que le chlorure de calcium (CaCl₂) est le sel le moins toxique sur la germination des graines d'*Artemisia herba-alba*. Cela serait dû au rôle bénéfique du calcium dans le maintien de l'intégrité de la membrane, la régulation de la sélectivité en ions et la réduction des fuites de la membrane.

L'effet de la salinité de NaCl sur la germination des deux populations étudiées a montré que les taux finaux de germination (TFG) ont été obtenus à C2 (55, 46 %) et C1 (85,29 %) pour les deux populations P1 et P2 respectivement. Tandis que pour le sel CaCl₂, les meilleurs TFG ont été obtenus à la concentration C2 avec 64,97 % pour P1, et 72,75 % pour P2. Au-delà de ces concentrations, une diminution significative des taux finaux de germination a été constatée pour la concentration C3 (150 mM) des deux sels pour les deux populations. Les plus faibles taux moyens de germination finaux maximums ont été enregistrées chez le témoin dans les deux populations, sur lesquelles nous avons constaté un fort développement des champignons, et ce malgré le prétraitement avec l'hypochlorite de sodium 8%, que nous avons appliqués sur les échantillons pendant un temps de 20 min. Nos résultats sont proches de ceux de **Nedjimi et Zemmiri, (2019)**, dans leur étude sur une population d'*Artemisia herba-alba* de Moudjbara (Djelfa), ayant constaté que les meilleurs pourcentages de germinations sous l'effet CaCl₂ (78%) sont enregistrés à C1 (50 mM). En revanche, et pour le sel NaCl, ils ont obtenus le meilleur pourcentage de germination (42 %) avec la concentration C1 (50 mM).

La comparaison des comportements des deux populations vis-à-vis l'effet stressant des deux sels montre une tolérance remarquable de la population de Taadmit au stress salin traduite par des taux moyens de germination finaux maximums plus élevés par rapport à la population de Chaiba et ce pour les deux sels.

Chapitre V : Résultats et Discussion

La vitesse de germination exprimée par le temps moyen de germination (TMG) sous l'effet stressant des deux sels NaCl et CaCl₂, montre que les plus longs TMG sont enregistrés chez la population P2 de Taadmi, alors que les plus courts TMG sont enregistrés chez la population P1 de Chaiba

Les tests de Bonferroni des groupes homogènes ont montré clairement que les deux populations sont bien séparés en deux groupes homogènes, selon les valeurs de TL, TFG et TMG, sous l'effet des deux sels NaCl et CaCl₂ séparément. Cela nous laisse à penser que cette tolérance à la salinité de la population de Taadmit est d'origine génétique. Les résultats de dénombrement chromosomique confirment la variabilité génétique entre les deux populations ; la population de Chaiba est une diploïde avec un nombre chromosomique $2n = 18$ chromosomes, et la population de Taadmit est une population tétraploïde, avec un nombre chromosomique $2n = 36$ chromosomes.

Chapitre VI:

Discussion générale

Discussion générale

La polyploïdie est reconnue comme une étape importante dans la diversification évolutive des plantes à fleurs (**Lewis, 1980; Levin, 1983; Stebbins, 1985**). Selon **Husband et al. (2013)**, les espèces polyploïdes sont marquées par une distribution davantage dans des environnements extrêmes en comparaison avec des diploïdes, ce qui était souvent attribué à une plus grande résistance au froid et à la tolérance aux longues photopériodes. Ces propos supportent aussi les conclusions de **Boussaid (2013)** pour une meilleure adaptation des polyploïdes de *Stipa tenacissima* de l'Algérie aux environnements extrêmes.

En Algérie, selon **Bougoutaia (2018)**, les cytotypes diploïdes d'*Artemisia herba-alba* sont distribués exclusivement dans des conditions arides et sahariennes, alors que les cytotypes tétraploïdes présentent une distribution spatiale plus large couvrant presque toute la steppe Algérienne (excepté pour le grand sud où ce cytotype n'a pas été rencontré) avec une grande adaptation aux variations des conditions hydriques et thermiques allant de l'aride inférieur tempéré jusqu'au semi-aride inférieur froid.

Plusieurs travaux ont montré que la polyploïdie modifiait les fonctions physiologiques ou l'expression des gènes chez des espèces végétales supérieures telles que le maïs (*Zea mays*), la pomme de terre (*Solanum phureja*), le blé (*Triticum aestivum*) et le *Paulownia australis*. (**Stupar et al., 2007; Riddle et al., 2010; Yang et al., 2014; Dong et al., 2017**). La polyploïdie a également été considérée comme un outil important pour améliorer la tolérance au sel chez les plantes (**Xue et al., 2015; Ruiz et al., 2016**).

Le stress dû au sel est l'un des principaux stress abiotiques et peut inhiber la croissance, le développement et la productivité des plantes en raison des effets du stress osmotique, de la toxicité des ions, de l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène, etc. (**Takemura et al., 2000; Grattan et Grieve, 1999**). Des concentrations élevées en sel (NaCl) entraînent le flétrissement et la mort des feuilles des plantes (**Marques et al., 2013**).

Les résultats de l'étude cytogénétique classique par le dénombrement des chromosomes ont révélé deux nombres chromosomiques ; $2n = 18$ chromosomes dans la population de Chaiba (Biskra), située sur une altitude de 430 m, et marquée par un climat de type aride inférieur frais, et $2n = 36$ chromosomes dans la population de Taadmit, située sur une altitude de 1220

Chapitre VI : Discussion générale

m et marquée par un climat de type aride supérieur frais. Bien que la population de Chaiba soit située dans un climat sec, les conditions écoclimatiques de la station de Taadmit sont plus sévères en raison de la rudesse de l'hiver, dont la moyenne de la température minimale du mois de janvier atteint 0,5 °C.

L'effet inhibiteur des deux sels (NaCl et CaCl₂) sur la germination des graines de deux populations d'*Artemisia herba-alba* et qui a été évalué par quatre paramètres (TL, TFG, TMG, CG), a montré une tolérance exceptionnelle de la population de Taadmit (tétraploïde) aux effets stressant des deux sels en comparaison avec la population de Chaiba (diploïde). Nos résultats sont en accord avec les données les plus récentes de **Wu et al., (2019)**, ayant démontré que les tétraploïdes sont plus tolérants à la salinité que les diploïdes chez la betterave à sucre (*Beta vulgaris*). Ils sont en accord aussi avec ceux de **Wang et al. (2013)** ayant démontré que les plantes de robinier (acacia) tétraploïde (*Robinia pseudoacacia*) présentaient une tolérance au sel supérieure à celle de plantes diploïdes. **Xue et al. (2015)** ont également constaté que la tolérance au sel de plantes de pomme tétraploïde (*Malus domestica*) était supérieure à celle de plantes diploïdes.

Chez *Arabidopsis thaliana*, il a été démontré que les plantes tétraploïdes avaient une accumulation de K⁺ élevée et une accumulation réduite de Na⁺ dans les feuilles par rapport aux plantes diploïdes exposées au stress salin (**Chao et al., 2013**). Dans le blé tendre, les cultivars hexaploïdes naturels et synthétiques accumulent également plus de K⁺ et moins de Na⁺ dans les feuilles et affichent une tolérance au sel supérieure à celle des tétraploïdes (**Schachtman et al., 1992; Yang et al., 2014**). Ces résultats impliquent que l'amélioration de la tolérance de la ploïdie à la salinité est liée à la fois à l'augmentation de K⁺ et à la réduction de l'accumulation de Na⁺, maintenant ainsi l'homéostasie ionique dans les tissus végétaux (**Chao et al., 2013; Yang et al., 2014**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Artemisia herba-alba est un excellent arbuste fourrager largement distribué dans les parcours steppiques algériens. Au plan cytogénétique, ce taxon se présente sous deux formes de ploïdie ; le cytotype diploïde ($2n = 2x = 18$), et le cytotype tétraploïde ($2n = 4x = 36$). Les deux formes existaient en Algérie.

La présente étude visait à étudier l'influence des deux sels solubles (NaCl et CaCl₂) sur la germination des graines dans deux cytotypes d'*Artemisia herba-alba* récoltés dans les régions de Chaiba (Biskra) et Taadmi (Djelfa)

Le dénombrement des chromosomes nous a permis de distinguer deux nombres chromosomiques somatiques ($2n$) significativement différents chez *Artemisia herba-alba*; $2n = 18$ chromosomes confirmé chez la population de Chaiba et $2n = 36$ chromosomes chez la population de Taadmit.

Les résultats de test de germination ont montré que, malgré l'effet négatif de la salinité des deux sels ; NaCl et CaCl₂, les graines d'*Artemisia herba-alba* étaient capables de germer dans toutes les concentrations salines, mais avec des taux variables selon le degré de salinité, le type de sel et la provenance de la population.

L'effet inhibiteur des deux sels, et qui a été évalué par quatre paramètres (TL, TFG, TMG, CG), a montré une tolérance exceptionnelle à la salinité de la population de Taadmit (tétraploïde) en comparaison avec la population de Chaiba (diploïde). Cette tolérance du cytotype tétraploïde a été confirmée remarquablement par des valeurs de TFG plus élevées pour toutes les concentrations salines.

En conclusion, nos résultats suggèrent que le cytotype tétraploïde présente une tolérance à la salinité supérieure à celle du cytotype diploïde chez *Artemisia herba-alba*

Comme perspectives, et afin de mieux comprendre cette espèce sur le plan écologique et génétique, nous émettons les recommandations suivantes :

- Une prospection des populations tétraploïdes et leurs limites potentielles de répartition en Algérie s'avèrent nécessaires pour toute stratégie de conservation et d'exploitation.

Conclusion et perspectives

- Renforcement de la stratégie de mises en défens, et de réfléchir à la mise en place d'une collection (Pastorium) des individus d'*Artemisia herba-alba* de différentes régions, notamment les tétraploïdes pour conserver les ressources génétiques de ce taxon.
- Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour extrapoler ces résultats des conditions de laboratoire aux conditions sur le terrain.

Références Bibliographiques

Abbas, K. et Abdelguerfi, A. 2005. Perspectives d'avenir de la jachère pâturée dans les zones céréalières semi-arides. *Fourrages* (2005) 184, 533-546.

Abbassenne, F. 1997. Etude génétique de la durée des phases de développement et leur influence sur le rendement et ses composantes chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse magister, INA Alger, 81p.

Abdeddaim, B. K. K. 2010. Etude de deux cytotypes de *Lygeum spartum* L. par approches pluridisciplinaires : Palynologie, Cytogénétique classique et moléculaire. Thèse d'Etat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran – Mohamed Boudiaf. 99p

Abdelmoula, N. B., Portnoi, M-F., Vialard, F., Amouri, A., Akker, J. V. & Taillemite, J.L. 2000. Les techniques de cytogénétique moléculaire : principes et progrès. *Médecine / Sciences*, 16 : 1405-11

Aidoud, A. 1988. Les écosystèmes steppiques à armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso) : Caractères généraux. Biocénose : Bulletin d'écologie terrestre. CRBT. Alger. Tome 3. N° 12, année 1988

Aidoud, A., Le Floc'h, E. & Le Houérou, H.N. 2006. Les steppes arides du nord de l'Afrique. Science et changements planétaires. Sécheresse. Volume 17, Numéro 1, 1930. Alger

Aidoud, A. 1989-Contribution à l'étude des écosystèmes pâturés (Haute plaines Algéro-Oranaises. Algérie). Thèse doctort en Science, univ. Sci Tech. H. Boumadiène. 240p.

Aidoud, A. 1983 : Contribution à l'étude des écosystèmes steppiques du sud 3ème cycle, univ, sci, tech, Houari Boumédiène, Alger.

Amokrane, A. Bouzerzour, H. Benmahammed A. et Djekoun, A. 2002. Caractérisation des variétés locales, syriennes et européennes de blé dur évaluées en zone semi-aride d'altitude. *Sciences et Technologie*, Université Mentouri Constantine. Numéro spécial D, 33-38.

Annichiarico, P. Chiari, T., Bazzani, F. Bellah, F. Doucene, S. Yallaoui-Yaici, B. Abdellaoui, Z. Belloula, B. Bouazza, L. Bourmel, L. Hamou, M. Hazmoue, T. Kelkouli, M., Ould Said, H. et Zerargui, H. 2002. Response of durum wheat cultivars to Algerian environments -II. Adaptive traits. *Journal of Agriculture and Environment*. 96:189-208.

Annichiarico, P. Bellah, F. et Chiari, T. 2006. Repeatable genotype x location interaction and its exploitation by conventional and GIS- based cultivar recommendation for durum wheat in Algeria. *European Journal of Agronomy*. 24:70 81.

Anonyme .1999.-*Artemisia* (les armoises) au jardin (En ligne) disponible sur le site <http://plantes-vivaces.leclodarmoise.com/artemisia/consulte03/03/2014> .

Anthony Griffiths, J.F., David Suzuki, T., Chrystelle, S. 2002: Introduction à l'analyse génétique. De Boeck Supérieur, Paris. 860p.

Anzala ,F.J.2006. Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (zeamays) : étude de la voie biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs. Thèse de doctorat. Université d'Angers. 148p

Ayad ,N., Hellal ,B., Hellal ,T., Rahmani, A. et Bensmira, Z.2014. Qualités nutritionnelles de l'armoise blanche des parcours steppiques du sud de la préfecture de Tlemcen. Revue Ecologie-Environnement (10) ; Pp. 71-74

Baldy ,G. 1974. Contribution à l'étude fréquentielle des conditions climatiques et de leurs influences sur la production des principales zones céréalières d'Algérie. *INRA Département de bioclimatologie. Ministère de l'Agriculture. 170 pages*

Belkhodja ,M., Bidai ,Y. 2004. Réponse des graines d'Atriplex halimus L. à la salinité au stade de la germination. Sécheresse 4(15) :331-334.

Belkhodja M. 1996. Action de la salinité sur le comportement physiologique, métabolique, minéral et recherche des marqueurs moléculaires chez la fève (*Vicia faba* L.). Thèse de doctorat d'état en science naturelle. Université d'Es-Senia. Oran. 255p.

Bellkader ,D.2006-Plantes médicinales au Maghreb. Ed Le Fennec, Casablanca, Maroc.389p.

Benata ,H., Berrichi ,A.B., Reda Tazi ,M., Abdelmoumen ,H., Misbah El Idrissi ,M. 2006. Effet du stress salin sur la germination, la croissance et le développement de trois espèces légumineuses : *Acacia tortilis* var. *raddiana*, *Leucaena leucocephala* et *Prosopis juliflora*. Le Premier Congrès National sur l'Amélioration de Production Agricole Settat (Recueil des résumés).

Bendjalali,B., Richard,H.1980 :Etude de quelques peuplements d'armoise blanche du Maroc. *Artemisia herba alba*, Rivista Italiana E.P.P.O.S, LXII, (2)-69-74.

Benrebiha, F. Torchit, N. Bouchenak, F. Chaouia,C.2011: Effet du stress salin sur la germination et la croissance de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso). Journal Agrobiologia-N01.Vol 01 N01.pp 37-40.

Benyahia, O.et Mahdad, Z.2014. Dénombrement chromosomique de deux population d'*Artemisia herba alba* dans la région de Ain-Oussera (wilaya de Djelfa) et Zerarka (wilaya de M'sila). Université Ziane Achour de Djelfa.

Betina, S. 2004. Etude du genome de l'armoise blanche Algérienne *Artemisia herba-alba* Asso. Mémoire de magister en biotechnologie végétale. Université Mentouri, Constantine. Faculté des Sciences. Département des Sciences de la nature

Bougoutaia ,Y.2018- Étude du complexe *Artemisia herba-alba* Asso d'Algérie par des approches pluridisciplinaires: cytogénétique classique, cytogénétique moléculaire, phylogénie et phylogéographie. Thèse Doctorat. Université des Sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf.

Bougoutaia, Y., Garcia, S., Garnatje, T., Kaid-Harche, M., Vallès, J., 2016. Genome size, chromosome number, and rDNA organisation in Algerian populations of *Artemisia herba alba* (Asteraceae), a basic plant for animal feeding facing overgrazing erosion. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 73 (2), e043.

Bouharmont ,J. 1989.Utilisation de la variation somaclonale *in vitro* pour l'amélioration du riz. *11ème journée scientifique du Réseau AUPELF .UREF de biotechnologie végétale. Paris AUPELF .UREF-John libbey Eurotext.*

Bouldjadj ,R. 2009-*Etude de l'effet antidiabétiques et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'Artemisia gerba alba Asso chez des rats rendus diabétiques par streptozotocine.* Mémoire Magister en Biologie Cellulaire et Moléculaire., Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Mentouri Constantine, 111p.

Boulghalagh ,J., Berrichi ,A., El Halouani H., Boukroute ,A. 2006. Effet des stress salin et hydrique sur la germination des graines du jojoba (*Simmondsia chinensis* [link] schneider).Recueil des résumés. Le Premier Congrès National sur l'Amélioration de Production Agricole, Settat, Maroc, 24 p.

Boussaid, M. 2013. Diversité des populations naturelles de *Stipa tenacissima* L en Algérie: Approches Phénotypique, Caryologique et Moléculaire. *Thèse de doctorat. Université des sciences de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.*

Boutekjenet,C. 1987: Contribution à l'étude chimique d'*artémisia herba alba*, projet de fin d'étude en génie chimique. Ecole nationale polytechnique Alger.

Chao DY, Dilkes B, Luo H, Douglas A, Yakubova E, Lahner B, Salt DE (2013) Polyploids exhibit higher potassium uptake and salinity tolerance in *Arabidopsis*. *Science* 341:658–659

Chaussat ,R., Ledebunff ,Y.1975. La germination des semences. Ed. Bordars, Paris, 232p.

Cueep., 2006- La mitose. Ed Département Sciences Bahija Delattre.23p.

Cui ,L., Wall ,P.K., Leebens-Mack ,J.H., Lindsay ,B.G., Soltis ,D.E., Doyle ,J.J. Soltis ,P.S., Carlson genome duplications throughout the history of flowering plants.*Genome Research*, 16:738-749.

Cuin ,TA. SA. Betts, R. Chalmandrier,S. Shabala. 2008. Root's ability to retain K+ correlates with salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, **59**: 2697-2706

Dadach, M. 2016. Recherche des conditions optimales de la germination des graines de quelques labiées du mont de Tessala (Ouest Algérien) et perspectives de conservation. Thèse de doctor. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbas.

Darlington, C. D. 1937. Recent advances in cytology. J. & A. Churchill, London.

Debez ,A., Chaibi ,W., Bouzid ,S. 2001. Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Agriculture*. 2(10) : 8-135

Dictionnaire de Médecine Flammarion. Médecine- Sciences Flammarion 4e édition 1991.

Djaballah ,F.2008- *Effet de deux méthodes d'aménagement «Mise en défense et plantation» sur les caractéristiques et nutritives des parcours steppiques de la région de Djelfa.* Thèse magister Agronomie Saharienne., Université Kasdi Merbahi Ourgla.141p.

- Djebaili, S. 1984.** Steppe Algérienne. Phytosociologie et écologie. Ed. Office des Publications Universitaires, 1. Place centrale de Ben Aknoun (Alger). 159 P
- Dong Y, Fan G, Zhao Z, Xu E, Deng M, Wang L, Niu S (2017)** Transcriptome-wide profiling and expression analysis of two accessions of *Paulownia australis* under salt stress. *Tree Genet Genomes* 13:97
- Dubey, R.S., Sharma, K.N., 1990.** Behaviour of phosphatases in germinating rice in relation to salt tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry* 28, 17–26.
- Essad ,S.1957.** La polyploïdie et ses aspects évolutifs en relation avec l'amélioration des plantes. *Ann. Amel. Plants* (2), 199-22p
- Fellah ,A. Bouzerzour ,H. Benmahammed ,A. et Djekoun ,A. 2002.** Selection pour améliorer la tolérance aux stress abiotiques chez le blé dur (*Triticum durum*, Desf.). *Actes IAV*, 22: 161-168.
- Ferchichi, A. 1997.** Contribution à l'étude cytotaxonomique et biologique d'*Artemisia herbaalba* Asso en Tunisie présaharienne. *Acta Botanica Gallica*, 144: 145-154.
http://dx.doi.org/10.1080/12538078.1997.1051_5761
- Fernández, C. J. Munoz, C. F. & Ortiz, V.A.1979.** Numeros cromosomicos para la flora espanola. *Lagascalía*, 9 (1) : 115-130
- Francis ,J.2001-**Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed Robert Laffont 2001, ISBN 2221092074 .
- GORIS,A.1967** : Manuel de botanique, édition Vigot Frères.
- Goudjil-Benhizia, H. 2014.** Caractérisation cytogénétique classique et moléculaire de trois espèces endémiques du genre *Hedysarum* L. Thèse d'Etat. Université de Constantine I.81
- Graham, S.A., Cavalcanti, T.B. 2001.** New chromosome counts in the Lythraceae and a review of chromosome numbers in the family. *Syst. Bot.* 26:445-439.
- Grattan, S.R., Grieve, C.M., 1999.** Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Sci. Hortic.* 78, 127–157.
- Griffiths ,A., Wassler ,S., Lewontin ,R., Carrol ,S.2010-**Introduction à l'analyse génétique. Ed. De Boeck Université., Paris.Pp:557-558.
- Groome M.C., Axler S.R., Gifford D.J. 1991.** Hydrolysis of lipid and protein reserves in loblolly pine seeds in relation to protein electrophoretic patterns following imbibition. *Physiol. Plant.* 83: 99- 106.
- Halitim, A., 1988.** Arid soils in Algeria. OPU press, Algiers, Algeria [384 p.].
- Harry ,M.2001:** Cénétique moléculaire et évolutive. Maloine. Paris. P15.
- Heller ,R., Esnault ,R. et Lance ,C.2006.** Physiologie végétale, développement 6ème Edition de l'Abrégé, Editions Dunod, Paris, 294p.

- Heller ,R., Esnault ,S. et Lance ,C.1990.** physiologie végétale, Masson Paris, 16p.
- Henni ,M .2004-**Etude l'adsorption des métaux lourds (Zn^{+2} , Cu^{+2}) par l'Armoise blanche. Mémoire Magister en chimie des Matériaux. Université Ibn Khaldoun de Tiare .74p.
- Hopkins ,W.G.2003-** physiologie végétale.2ème édition De Boeck, Bruxelles, 514p.
- Houmani, M., Houmani, Z., Skoula, M., 2004.** Intérêt d'Artemisia herba alba Asso dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes. Acta Botanica Gallica 151, 165–172.
- Houshmand,S. A. ,Arzanib, SAM. ,Maibodyb,M.,Feizic. 2005.** Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from *in vitro* and field experiments. *Field Crops Res.*, **91**: 345–354.
- Hurabielle,M., Malsot,M., Paris,M. 1981:** Contribution à l'étude chimique de deux huiles d'Artémisia : Artémisia herba alba asso et Artémisia vulgaris linnaeus; intérêt chimiotaxonomique, rivista italiana E.P.P.OS, LXIII (6), 296299
- Husband, B. C., Baldwin, S. J. & Suda, J. 2013.** The Incidence of Polyploidy in Natural Plant Populations: Major Patterns and Evolutionary Processes. Plant Genome Diversity. Volume 2. Physical Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes. Springer Wien Heidelberg. New York Dordrecht London. 978-3-7091-1159-8. doi 10.1007/978-3-7091-1160-4
- Jahier ,J.1992-** Technique de Cytogénétique Végétale. Ed. INRA.Paris .181p
- Jahier, J., Chèvre, A.M., Eber F., Delourme, R. & Tanguy, A. M. 1992.** Techniques de cytogénétique végétale. INRA éd. Paris. 184p.
- Kamté ,K., Brown ,S., Durand ,P., Bureau ,M.J., Nay de D et Trich ,H.T., 2004.** Nuclear DNA Content and base composition in 28 taxa of Mus. Genome, 44: 622-627.
- Kawatani, T. & Ohno, T. 1964.** Chromosome number in Artemisia. Bulletin of the National Institute of Hygienic Sciences, 82: 183-193
- Khader ,F. et Zitouni ,F.2017.** Variation du comportement physiologique et biochimique chez deux espèces du genre Artemisia (Artemisia herba alba et Artemisia campestris) sous la contrainte saline. Mémoire Master académique. Département des Sciences Agronomique. Université Mohames Boudiaf-M'sila.
- Kundan ,S., and Anupan ,S.(2010)-**The Genus Artemisia: A Comprehensive Review. J. Pharm. Biol.Pp:1-9
- Lamoril,J .,Ameziane,N., Deybach,J-C .,Bouizegarème,P., Borgard,M.** Notions, de génétique moléculaire pour Comprendre l'hérédité, Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, Volume23, Issue 6, December 2008, pages 331-352
- Le Floc'h ,E.1983.** Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Editions Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.

Le Floch, H. 1989.- Biologie et écologie des principaux taxons dans "Essai de synthèse sur la Végétation et la phyto-écologie tunisiennes: I. Eléments de botanique et de phyto-écologie".p193

Lemondé, A., Clément, D.1983: Biologie Cellulaire et moléculaire. Presses Université Laval. Paris.Pp396-398

Lemzeri, H.2007, Réponses écophysiologicals de trois espèces forestières du genre *Acacia*, *Eucalyptus* et *Schinus* (*A. cyanophylla*, *E. gomphocephala* et *S. mölle*) soumises à un stress salin, diplôme de magistère, Ecologie végétale, Université MENTOURI Constantine,127 P.

Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220. <http://dx.doi.org/10.1111/j.16015223.1964.tb01953.x>

Levigneron, A., Lopez, F., Varisuyt, G., Berthomieu, P et Casse-Delbar, T.1995. Les plantes face au stress salin. *Cahier d'agriculture* 4: 263-273.

Levigneron, A., Lopez, F., Varisuyt, G., Berthomieu, P., Fourcroy, P. et Francine, C. D.1995 - Les plantes face au stress salin. *Cahiers agricultures*, 4: 263-73

Levin, D. A. 2002. The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford University Press, New York

Levin, D.A.,1983. Polyploidy and novelty in flowering plants. *Am. Nat.* 122:1–25

Lewis, W. H., 1980. Polyploidy in angiosperms: dicotyledons, pp. 268–241 in *Polyploidy, Biological Relevance*, edited by W.H.Lewis. Plenum Press, New York.

Liu, S.Y., Chen, S.M., Chen, Y., Guan, Z.Y., Yin, D.M., Chen, F.D., 2011. In vitro induced tetraploid of *Dendranthema nankingense* (Nakai) Tzvel. shows an improved level of abiotic stress tolerance. *Sci. Hort.* 127, 411–419. 123

Maftil, N.1992-Plantes aromatiques et médicinales. Ed. Verlet N de Nyons Pub.3rd Intsymp on aromatic and medicinal plants Nyons. France.1991.249-287p.

Mahajan, S., Tuteja, N.2005, Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Arch. Biochem. Biophys.* 444: 139 - 158.

Maillard, J. 2001. Le point sur □ Irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risques et recommandations. *Handicap International*, 34p.

Malan, V., Romana, S.2012. Diagnostic des anomalies chromosomiques par CGH array en pathologie constitutionnelle : la fin du caryotype en première intention *Archives de Pédiatrie*, Volume 19, Issue 4, April 2012, Pages 437-442

Mansour, S.2014 : Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales: *Artemisia absinthium L*, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboïdes*-Etude in vivo-. *Thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.*30p

- Maraghi M., Gorai M., Neffati M. 2010.** Seed germination at different temperatures and water stress levels, and seedling emergence from different depths of *Ziziphus lotus*. South African Journal of Botany 76: 453–459
- Marques, E.C., de Freitas, P.A.F., Alencar, N.L.M., Prisco, J.T., Gomes-Filho, E., 2013.** Increased Na⁺ and Cl⁻ accumulation induced by NaCl salinity inhibits cotyledonary reserve mobilization and alters the source–sink relationship in establishing dwarf cashew seedlings. Acta Physiol. Plant. 35, 2171–2182.
- Marta ,R., Ana ,Q., Belén ,M-A., Pablo ,A., Raphaël ,M., Luis ,N., Eduardo ,P-M., Mary-Rus ,M-C. (2016)** Effects of salinity on diploid (2x) and doubled diploid (4x) *citrus macrophylla* genotypes. Sci Horti 207:33–40
- Mazliak ,P.1982.** Physiologie végétale croissance et développement. Tome3 Ed. Hermann éditeurs des sciences et des arts collecte méthodes. Paris, 420p.
- Mekhlouf ,A. Bouzerzour ,H. Bemahammed ,A. Hadj Sahraoui ,A. et Harkati ,N. 2006.** Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum*, Desf.) au climat semi- aride. *Sécheresse* 17 (4) :507-513
- Meloni,D.A., Oliva,M.A., Ruiz,H.A., Martinez,C.A.2001** : Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. J. Plant Nutr. 24, 599-612.
- Mguis k., Albouchi A., Ben Brahim N., 2011.** Effect of temperature and salinity on germination of *Ruta graveolens* L. Acta Bot. Gallica 158(4): 645-652.
- Michel ,V.1997.** La production végétale, les composantes de la production Ed. Danger. Paris. 478p.
- Minansari ,M.,and Smith ,D. 2009.** Rhizobial Lipo Chito oligosaccharides and gibberlins Enhance Barley (*Hordeum vulgare* L.) Seed Germination. Volume: 8. (2) : 270 – 275.
- Mirjalili ,M.H., Tabatabaei ,S.M.F., Hadian ,J., Nejad ,S.E., and Sonboli,A.(2007)-** Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia Scoparia* from Iran. J. Essent. Oils. 19.Pp: 326-329 .
- Moose ,SP. RH .,Munns. 2008.** Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. *Plant Physiol.*, 147: 969-977.
- Mucciarelli ,M and Maffei ,M. (2002)-*Artamisia*:** Introduction to the Genus Vol. 18 Ed. Colin W.W.in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp:1076 .
- Munns ,R. RA. ,James,A. ,Lauchli. 2006.** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 57: 1025-1043.
- Munns ,R.1993.** Physiological processes limiting plant grown in saline soils some dogmas and hypotheses. *Plant Cell. Environ.* (16): 15 – 24.
- Nabli ,M.A.1989-**Essai de Synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB 1989 (Faculté des sciences de Tunis) ; Pp 186-188 .

Ndour ,P et Danthu ,P. 2000. Effet des contraintes hydrique et saline sur la germination de quelques acacias africains. Projet National de Semences Forestières du Sénégal. 11 p.

Nedjimi, B., Beladel, B., 2015. Assessment of some chemical elements in wild Shih (*Artemisia herba-alba* Asso) using INAA technique. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 2, 203–205.

Nedjimi, B., Mohammedi, N., Belkheiri, S., 2014. Germination responses of medic tree (*Medicago arborea*) seeds to salinity and temperature. *Agricultural Research* 3, 308–312.

Nedjimi,B et Zemmri, H (2018). Salinity effects on Germination of *Artemisia herba-alba* Asso: Important pastoral shrub North African Rangelands. *Rangeland Ecomogy et Management*. Pp: 189-194.

Nedjraoui ,D.1981- Adaptation de L'alfa (*Stipa tenacissima*) aux conditins stationnelles. Thèse Doctorat. USTHB, Alger.256p.

Negre ,R.1962. Petite flore des régions arides du Maroc occidental Tome II. Edi. C. N. R. S. Paris VII.

Oppenherimer ,H.R.1961. L'adaptation à la séchresse : le xérophytisme. Echange hydrique des plantes en milieux arides, UNESD, Paris, 115-153 p

Otto, S. P. & Whitton, J. 2000. Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*, 34: 401–437

Ourcival ,J.M.1992. Réponse de deux chamaephytes de la Tunisie présaharienne à différentes contraintes et perturbations. Thèse Doc. USTL. Montpellier, 167p .

Ouyahya ,A.1987. Systématique du genre *Artemisia* au Maroc. Thèse de Doctorat ès Sciences. Université d'Aix- Marseille III, page : 433.

Ouyahya, A. & Viano, J. 1988. Recherches cytogénétiques sur le genre *Artemisia* L. au Maroc. *Boletim da Sociedade Broteriana série 2*, 61: 105-124

Ozenda,P.1985 : Flore du Sahara, 2ème éd CNRS, (France), 441pp.

Pascal ,H., Anne ,B,11.2009 - Multiplication cellulaire Mémo-guide de biologie et de physiologie humaines, Pp 48-52

Pascal ,H.2010. La cellule Mémo-guide infirmier (2e édition), P 6-9.

Pellicer, J., Garcia, S., Garnatje, T., Hidalgo, O., Korobkov, A. A., Dariimaa, Sh. & Vallès J. 2007. Chromosome counts in Asian *Artemisia* L. (Asteraceae) species: From diploids to the first report of the highest polyploid in the genus. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 153: 301–310

Pellicer, J., Garnatje, T., Molero, J., Pustahija, F., Siljak-Yakovlev, S. et Vallès, J. 2010a. Origin and evolution of the South American endemic *Artemisia* species (Asteraceae): Evidence from molecular phylogeny, ribosomal DNA and genome size data. *Australian Journal of Botany*, 58: 605-616. <http://dx.doi.org/10.1071/BT10047>

Pelt ,J.M.1994. Métabolites secondaires et principes actifs ; leurs rôles dans la vie des plantes. 1er colloque international : La Pharmacopée Arabo-Islamique hier et aujourd'hui. Rabat.

Pinkel, D., Straume, T. & Gray, JW. 1986. Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity, fluorescence hybridization. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 83: 2934-8

Pottier,G.1981. Artémisia herba alba Flore de Tunisie: angiospermes- dicotylédones gamopétales, 1012p.

Pouraty,Y.1974 : Propriétés éco-physiologiques associées à l'adaptation d'artémisia herba alba, plante d'intérêt pastoral au milieu désertique, thèse du 3ème cycle à l'université de Paris.

Principes de génétique humaine, Biofutur Volume 1998, Issue 183, November 1998, pages53

Quezel ,P. et Santa ,S.1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. C.N.R.S. Ed., France.

Rahmoune ,C., Maalem ,S., Kadri ,K. et Ben Naceur ,M. 2008. Etude de l'utilisation des eaux fortement salées pour l'irrigation des plantes du genre Atriplex en zones semi arides. Revue des régions arides, 21(2): 924-929.

Redondo-Gomez S., Mateos-Naranjo E., Wharmby C., Davy C.J., Figueroa M.E. 2007. Bracteoles affect germination and seedling establishment in Mediterranean population of Atriplex portulacoides. Aquatic Botany 86: 93-96.

Renard J.L., Quillec G. 1975. L'Helminthosporiose du cocotier. Etudes préliminaires. Oléagineux 30(5): 209-213

Riddle ,N.C., Jiang ,H., An L, Doerge ,R.W, Birchler ,J.A (2010) Gene expression analysis at the intersection of ploidy and hybridity in maize. Theor Appl Genet 120:341–353

Saleh, B., Allario, T., Dambier, D., Ollitrault, P., Morillon, R., 2008. Tetraploid citrusrootstocks are more tolerant to salt stress than diploid. C. R. Biol. 331, 703–710.

Samouelian ,F., Gandin ,V., Boccara ,M.2009. Génétique moléculaire des plantes. Quae Ed.,208p.

Santos ,CV. G. ,Brito,G. ,Pinto,MAC. ,Fonseca,M. ,Henrique. 2000. In vitro plantlet regeneration of *Olea europaea ssp. Madernsis Scientia Hort.*, 97:83-87.

Schachtman DP, Lagudah ES, Munns R (1992) The expression of salt tolerance from *Triticum tauschii* in hexaploid wheat. Theor Appl Genet 84:714–719

Schmidt ,T., Kubis ,S., Heslop-Harrison ,J.S.1995. Analysis and chromosomal localization of retrotransposons in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) LINEs and TY1-copia-like elements as major components of the genome. Chromosome Research, 3:335-345.

Schubert, I. & Lysak, M.A. 2011. Interpretation of karyotype evolution should consider chromosome structural constraints. Trends in Genetics, 27:207–216

Segal ,R., Feurtein,I., Danin,A. 1987: chemotypes of artemisia herba albain Israel based on their sesquiterpene lactone and essential oil constitution, *Biochemical systematics and Ecology*, 15,(4), 411-416.

Senouci, L et Hadroug ,S.2013. Dénombrement chromosomique chez l'Armoise Blanche (*Artemisia herba alba*) dans la region de Taadmit (wilaya de Djelfa).

Shilpi &Narenda.2005 .cold salinity and drought t stress.

Siljak-Yakovlev ,S., Cerbah ,M., Coulaud ,J., Stoian ,V., Brown ,S.C., Zoldod ,V., Jelenic ,S et Papes ,D.2002. Nuclear DNA Content , base Composition, heterochromatin and rDNA in *Picea omrika et Picea abies*. *Theor. Appl.Gent.*, 104:505-512.

Solaner ,D.1988-Les bases de la production Végétale «le sol».Ed. CSTA, Tome I.4669.

Soltis, D.E.& Soltis ,P.S.2000.The role of genetic and genomic attributes in the succes of polyploids. *Procceding of the National Academy of Sciences of United America*, 97:7051-4057.

Soltner ,D.2007. Les bases de la production végétale tome 3. La plante. Ed collection sciences et techniques agricole, paris, 304p.

Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold, London.

Stupar RM, Bhaskar P, Yandell B, Rensink WA, Hart AL, Ouyang S, Veilleux RE, Busse JS, Erhardt RJ, Buell CR, Jiang J (2007) Phenotypic and transcriptomic changes associated with potato autopolyploidization. *Genetics* 176:2055–2067

Takemura, T., Hanagata, N., Sugihara, K., Baba, S., Karube, I., Dubinsky, Z., 2000. Phys-iological and biochemical responses to salt stress in the mangrove *Bruguieragymnorhiza*. *Aquat. Bot.* 68, 15–28.

Tarfaoui ,S.2012. Dénombrement chromosomique chez l'*Artemisia herba alba* (Asso) de Ouad Sdeur (Djelfa). Mémoire Master . Université des sciences et de la teechnologie d'Oran Mohamed Boudiaf.43p.

Tastekin ,D., Atasever ,M., Adigûzel ,G., Keles ,M., Tastekin ,A.2006. Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba* in experimental hyoerglycaemic rats. *Bull Vet Inst Pulaury*, 50, Pp: 235-238

Torrell, M., Cerbah, M., Siljak-Yakovlev, S. & Vallès J. 2003. Molecular cytogenetics of the genus *Artemisia* (Asteraceae, Anthemideae): fluorochrome banding and fluorescent in situ hybridization. I. Subgenus *Seriphidium* and related taxa. *Plant Systematics and Evolution*, 239: 141- 153. <http://dx.doi.org/10.1007/s00606-0020259-0>

Valdés-Bermejo, E. & Gómez, G. J. 1976. Notas cariosistematicas sobre flora espanala, I. *Acta Bot. Malacitana*, 2 : 39-50

Vallès, J. 1987. Contribución al estudio de las razas ibéricas de *Artemisia herba-alba* Asso. *Boletim da Sociedade Broteriana série 2*, 60: 5-27

Vallès, J., Garcia, S., Hidalgo, O., Martin, J., Pellicer, J., Sanz, M. & Garnatje, T. 2011. Biology, Genome Evolution, Biotechnological Issues and Research Including Applied Perspectives in *Artemisia* (Asteraceae). In: Jean-Claude Kader and Michel Delseny, editors: Advances in Botanical Research, Vol. 60

Vernin ,G., Merad ,O., Vernin ,G.M.F., Zamkotsian ,R.M. and Parkanyi ,C. (1995). GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria. Dev. Food Sci. 37A pp: 147-205 .

Vincent, R. (2006). Recherche et étude de marqueurs moléculaires de la réponse au stress chez l'algue brune *Laminaria digitata*. Thèse de doctorat. Biologie. Université de Rennes 1. 237pp

White, P.J., Broadley, M.R., 2003. Calcium in plants. Annals of Botany 92, 487–511.

Wu.G-Q, Lin. L-Y, Jiao. Q, Li. S-J , 2019. Tetraploid exhibits more tolerant to salinity than diploid in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Acta Physiologiae Plantarum (2019) 41:52

Xue H, Zhang F, Zhang ZH, Fu JF, Wang F, Zhang B, Ma YY (2015) Differences in salt tolerance between diploid and autotetraploid apple seedlings exposed to salt stress. Sci Hortic 190:24–30

Xuea .H, Zhanga. F ,Zhanga.Z-H, Fub. J-F, Wangb. F, Zhanga.B , Maa.Y, 2015. Differences in salt tolerance between diploid and autotetraploid appleseedlings exposed to salt stress. Scientia Horticulturae 190 .pp: 24–30

Yang C, Zhao L, Zhang H, Yang Z, Wang H, Wen S, Zhang C, Rustgi S, von Weststein D, Liu B (2014a) Evolution of physiological responses to salt stress in hexaploidy wheat. Pro Natl Acad Sci USA 111:11882–11887

Yessef ,M. 1985. Contribution à l'étude de l'installation et de la survie de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.) : germination, développement des plantules et survies des différentes catégories d'individus. mémoire de 3ème cycle I.A.V. Hassan II. Rabat.

Yousfi ,M.2016. Contribution à la détermination d'un modèle d'exploitation d'un parcours steppe à base d'espèces autochtones par simulation de pacage. Thèse de Doctorat. *Département des Sciences agronomique*. Université Batna 1 El Hadj lakhder.

Résumé

Le dénombrement des chromosomes a révélé l'existence deux nombres chromosomiques somatiques ($2n$) chez *Artemisia herba-alba*; $2n = 2x = 18$ chromosomes confirmé chez la population de Chaïba (Biskra) et $2n = 4x = 36$ chromosomes chez la population de Taadmit (Djelfa).

Les résultats de test de germination, ont montré que malgré l'effet négatif de la salinité des deux sels NaCl et CaCl₂, les graines d'*Artemisia herba-alba* étaient capables de germer sous toutes les concentrations salines, mais différemment, selon le degré de salinité, le type de sel et la provenance de la population.

L'effet inhibiteur des deux sels sur la germination des graines de deux populations d'*Artemisia herba-alba*; évalué par quatre paramètres (TL, TFG, TMG, CG), a montré que les individus du cytotypé tétraploïde présentent une meilleure tolérance à la salinité en comparaison avec les individus du cytotypé diploïde.

Mots-clés : Algérie, *Artemisia herba alba*, Chromosome, Cytogénétique, Polyploïdie, Salinité,

Summary

Chromosome counting revealed the existence of two somatic chromosome numbers ($2n$) in *Artemisia herba-alba*; $2n = 2x = 18$ chromosomes confirmed in the population of Chaïba (Biskra) and $2n = 4x = 36$ chromosomes in the population of Taadmit (Djelfa).

The germination test results showed that despite the negative effect of the salinity of the two NaCl and CaCl₂ salts, the seeds of *Artemisia herba-alba* were able to germinate under all saline concentrations, but differently, depending on the degree of salinity. salinity, the type of salt and the origin of the population.

The inhibitory effect of both salts on germination of seeds of two populations of *Artemisia herba-alba*; evaluated by four parameters (TL, TFG, TMG, CG), showed that the individuals of the tetraploid cytotype have a better tolerance to salinity in comparison with individuals of the diploid cytotype.

Keywords: Algeria, *Artemisia herba alba*, Chromosome, Cytogenetics, Polyploidy, Salinity.

ملخص:

سمح لنا تعداد الكروموسوم بالتمييز بين رقمين (2 ن) للكروموسومات مختلفين بدرجة كبيرة في *Artemisia herba-alba* ؛ $2n = 2x = 18$ كروموسومات مؤكدة في عشيرة الشعبية (بسكرة) و $2n = 4x = 36$ كروموسومات في عشيرة تعظيبت (الجلفة).

أظهرت نتائج اختبار الإنبات أنه على الرغم من التأثير السلبي للملوحة كل من NaCl و CaCl₂ ، فإن بذور *Artemisia herba-alba* كانت قادرة على الإنبات تحت جميع التركيزات المالحة ، ولكن مع معدلات متغيرة وفقاً لدرجة الملوحة ونوع الملح ومصدر العشيرة النباتية.

التأثير المثبط لكل من الملح على إنبات البذور من اثنين من العشائر من *Artemisia herba-alba* و تقييمها بواسطة أربع معالم (TL, TFG, TMG, CG) ، أظهر أن الأفراد من النمط الخلوي الرباعي يظهرون مقاومة أفضل تجاه الملوحة مقارنة بأفراد النمط الخلوي المزدوج.

الكلمات المفتاحية: الجزائر، *Artemisia herba alba*، كروموسوم ، علم الوراثة الخلوية ، polyploidy ، ملوحة.