

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ÉCOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE – EL HARRACH- ALGER

المدرسة الوطنية العليا للزراعة - الحراش - الجزائر

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle en Sciences Agronomiques

Département : Productions Végétales

Spécialité : Production et Amélioration Végétales

Option : Ressources Génétiques et Amélioration des Productions Végétales

**Délimitation d'espèces au sein du complexe *Medicago murex* : approche intégrative
par analyses morphométriques et marqueurs microsatellites**

Présentée par : *DJEDID Khadidja Imene*

Soutenu Publiquement le 10 /06/2026

Devant le jury composé de :

Président :	M. HADDAD B.	MCA (ENSA, El Harrach)
Directeur de thèse :	M ^{me} LAOUAR M.	Pr. (ENSA, El Harrach)
Co-directeur de thèse :	M. CASTIGLIONE S.	Pr. (UNISA, Salerno, Italie)
Examineurs :	M ^{me} BENHOUHOU S.	Pr. (ENSA, El Harrach)
	M ^{me} . AISSIOU F.	MCA (USTHB, Bab Ezzouar)
	M ^{me} . OURARI M.	Pr. (Université de Bejaia)
	M ^{me} HADJ ARAB H.	MCB (USTHB, Bab Ezzouar)

SOMMAIRE

	Table des matières	PAGE
Dédicaces		
Remerciements		
RÉSUMÉ		
ABSTRACT		
الملخص		
Liste des tableaux		
Liste des figures		
Liste des formules		
Liste des abréviations		26
INTRODUCTION GÉNÉRALE		1
CHAPITRE I I		4
Etat de l'art		4
I. Genre <i>Medicago</i> : diversité, importance et défis taxonomiques		5
1 Présentation générale du genre <i>Medicago</i>		5
1.1. Position systématique		5
1.2. Distribution géographique et centres de diversité		6
1.3. Importance agronomique, écologique et potentiel bioactif des <i>Medicago</i> : focus sur <i>M. murex</i>		6
2 Complexité taxonomique du genre <i>Medicago</i>		7
2.1. Sources de confusion taxonomique		7
2.1.1. Variation morphologique continue et plasticité phénotypique		8
2.1.2. Polyploïdie et dysploïdie et hybridation interspécifique		8
2.2. Évolution historique des classifications taxonomiques		9
3 Analyse bibliométrique et identification du gap de recherche : le cas du complexe <i>M. murex</i>		9
II. Contexte biogéographique méditerranéen et évolution des légumineuses		14
III. Complexes d'espèces chez <i>Medicago</i> : concepts et cas d'étude		14
1 Concept et délimitation des complexes d'espèces		14
2 Exemples de complexes étudiés dans la section <i>Spirocarpos</i> du genre <i>Medicago</i>		15
IV. Complexe <i>Medicago murex</i> : description, écologie et caractérisation		15
1 Composition et nomenclature		15
2 Description botanique comparative des cytotypes du complexe <i>M. murex</i>		18
2.1. <i>Medicago murex</i> Willd. (cytotype 2n=14)		18
2.2. <i>Medicago heterocarpa</i> Spach. ex Dur. (cytotype 2n=16)		18
3 Répartition géographique et exigences pédoclimatiques		20
4 Hypothèses évolutives sur les relations entre les cytotypes		23
5 Historique détaillé de la confusion nomenclaturale du complexe <i>M. murex</i>		23
5.1. Fondements de la confusion (1802-1873) : du typus de Willdenow aux premières synthèses		23
5.1.1. Analyse détaillée du typus de Willdenow : preuves morphologiques de son appartenance au cytotype 2n = 14		23
5.1.2. Premières subdivisions taxonomiques (1810-1843) : de Bertoloni à Moris		27
5.1.3. Absence du cytotype 2n = 16 dans la littérature jusqu'en 1815		28
5.1.4. Première description documentée du cytotype 2n = 16 : contribution de Durieu de Maisonneuve (1849-1850)		30
5.1.5. Tentatives de synthèse du XIXe siècle et l'intervention d'Urban		33
5.2. Paradigme de l'espèce polymorphe et la révolution cytogénétique (1870-1989)		33
5.2.1. Découverte des deux cytotypes et leurs caractères associés		33
5.2.2. Tentative de correction nomenclaturale de 1989 : le rôle méconnu d'Abdelguerfi et Guittonneau		33
5.3. Paradoxe de la période contemporaine (1991-présent) : le réexamen erroné de 1991 et inversion nomenclaturale		34
5.3.1. Adoption paradoxale d'une nomenclature inversée		34
5.3.2. Apports et limitations des approches moléculaires		35
V. Approches morphologiques pour la délimitation taxonomique		35
1 Caractères diagnostiques traditionnels chez <i>Medicago</i>		35
2 Approches statistiques modernes en morphométrie		36
VI. Marqueurs moléculaires pour l'étude de la diversité et de la délimitation taxonomique		36
1 Diversité des approches moléculaires chez <i>Medicago</i>		37
2 Transférabilité des marqueurs et marqueurs neutres contre sous sélection		37
3 Génomes chloroplastiques : conservation et diversification chez les légumineuses		38
4 Implications pour l'étude du complexe <i>M. murex</i>		38
		39

CHAPITRE III

*Validation de l'efficacité des marqueurs microsatellites pour la discrimination et l'étude de la diversité génétique au sein du genre *Medicago** **39**

Introduction **39**

I. Aperçu sur les méthodes utilisées **41**

II. Principaux résultats **42**

CHAPITRE III **44**

*Décryptage de la diversité morphologique au sein d'un complexe d'espèces par combinaison des outils statistiques : Étude de cas sur *Medicago murex*-*heterocarpa* illustrant la complémentarité des approches analytiques* **44**

RÉSUMÉ **44**

Introduction **48**

1 Matériel végétal **49**

2 Distribution géographique et caractéristiques des sites d'origines **49**

3 Le site expérimental **53**

4 Dispositif expérimental et la conduite de la culture **53**

5 Caractères morphologiques étudiés dans les conditions expérimentales **55**

6 Traitement des données et analyses statistiques **60**

6.1. Statistiques descriptives **61**

6.1.1. Tests des outliers et visualisation des données **61**

6.1.2. Corrélation entre les caractères **61**

6.1.3. Estimation de l'héritabilité (H^2) des caractères quantitatifs **61**

6.1.4. Indice de différenciation morphologique (Q_{st}) **62**

6.2. Analyses multivariées **63**

6.2.1. Analyse NMDS (Non-metric Multidimensional Scaling) **63**

6.2.2. Analyse des Correspondances Multiples (ACM) **64**

6.2.3. Analyse Factorielle Discriminante (AFD) **64**

6.2.4. Analyse Factorielle des Données Mixtes (FAMD) **66**

6.2.5. Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) **67**

6.3. Modélisation statistique **69**

6.3.1. Régression logistique multinomiale (GLiM) **69**

6.4. Analyses morpho-environnementales **72**

6.4.1. ACP des variables environnementales **73**

6.4.2. ACP des traits morphologiques avec variables environnementales supplémentaires **73**

6.4.3. Analyse de Redondance (RDA) **73**

6.4.4. Matrice des distances morphologiques **73**

6.4.5. Test de Mantel **74**

6.4.6. Analyse de surface de tendance **74**

Résultats **75**

I. Fondements de la variabilité morphologique dans le complexe *Medicago murex* **75**

I.1. Analyses morphologiques comparatives inter-taxons et statistiques descriptives **75**

I.1.1. Caractères numériques **75**

I.1.2. Caractères catégoriels **81**

I.2. Caractères discriminants **88**

I.2.1. Caractères quantitatifs **88**

I.2.2. Caractères catégoriels **88**

I.3. Analyse de la structure hiérarchique de la variabilité morphologique **89**

I.3.1. Décomposition de la variance par GLMM **89**

I.3.2. Indices de différenciation quantitative (QST) **92**

I.3.3. Héritabilité des caractères morphologiques **93**

I.4. Corrélation entre caractères morphologiques **94**

I.4.1. Variables numériques **94**

Corrélations positives significatives **94**

Corrélations négatives significatives **94**

I.4.2. Variables catégorielles **95**

II. Caractérisation multivariée et structuration des taxons du complexe *Medicago murex* **96**

II.1. Ordination multidimensionnelle non-métrique (NMDS) **96**

II.2. Analyse des Correspondances Multiples (ACM) **100**

II.3. Analyse Factorielle Discriminante **103**

II.4. Analyse Factorielle de Données Mixtes (FAMD) **106**

II.5. Classification hiérarchique ascendante **110**

III. Analyse discriminante par régression logistique multinomiale **114**

III.1. Validation préliminaire des hypothèses du modèle de régression multinomiale **114**

III.1.1. Analyse des distributions et des relations entre variables **114**

III.1.3.	Linéarité du logit pour les variables continues	116
III.1.4.	Règle empirique pour la taille de l'échantillon	117
III.2.	Construction et optimisation du modèle	117
III.2.1.	Gestion du déséquilibre des classes	117
III.2.2.	Stratégie de sélection des variables pour la conception du modèle	119
III.3.	Résultats et interprétation du modèle final	121
III.3.1.	Sélection des caractères morphologiques discriminants dans la délimitation des taxons formant le complexe <i>Medicago murex</i>	121
III.3.2.	Évaluation des performances du modèle	123
1	Métriques d'ajustement global	123
2	Métriques de classification (matrice de confusion, sensibilité, spécificité par taxon et aire sous la courbe ROC multi-classe)	124
III.3.3.	Validation du modèle	125
III.3.4.	Calibration du modèle	127
III.3.5.	Validation par approche complémentaire basée sur l'algorithme XGBoost	130
IV.	Étude des interactions entre variabilité morphologique et conditions environnementales chez le complexe <i>Medicago murex</i>	135
IV.1.	Structure des variables environnementales d'origine des accessions	135
IV.2.	Analyse globale de covariation morphologie-environnement	136
IV.2.1.	Analyse de composantes principales par taxons	136
IV.2.2.	Analyse de Redondance (RDA et db-RDA)	137
IV.3.	Différenciation morphologique inter-populationnelles au sein du complexe d'espèces	138
IV.4.	Variation intra-taxon des relations morphologie-environnement	140
IV.5.	Analyse spatiale des variations morphologiques (Analyse de surface de tendance pour la détection des gradients spatiaux)	140
IV.6.	La date de floraison : un trait clé sous influence environnementale	141
	Discussion des résultats	142
1	Fondements de la variabilité morphologique dans le complexe <i>Medicago murex</i>	143
1.1.	Décomposition de la variance (GLMM) et accord avec la littérature	143
1.2.	Différenciation quantitative et contrôle génétique des caractères	145
1.3.	Analyse intégrée des caractères morphologiques	145
1.4.	Signification évolutive des caractères diagnostiques	146
2	Caractérisation multivariée et structuration des taxons du complexe <i>Medicago murex</i>	147
2.1.	Convergence des approches multivariées pour la validation des taxons	147
2.2.	Caractères morphologiques diagnostiques révélés par les analyses multivariées	148
2.3.	Structure multidimensionnelle de la différenciation	149
2.4.	Position intermédiaire récurrente de <i>M. heterocarpa</i> épineux	150
2.5.	Interprétation des processus évolutifs au sein des populations formant le complexe <i>M. murex</i>	151
3	Analyse discriminante par modèle de régression logistique multinomiale	153
3.1.	Justification méthodologique et performance du modèle	153
3.2.	Identification et hiérarchie des caractères morphologiques discriminants	155
3.3.	Validation du modèle multi-approches et calibration	156
3.4.	Implications taxonomiques et évolutives par suite de la modélisation	158
4	Étude des interactions entre variabilité morphologique et conditions environnementales chez le complexe <i>Medicago murex</i>	159
4.1.	Structuration environnementale et morphologique : une influence dépendante de l'échelle	159
4.2.	Mécanismes adaptatifs et configurations spatio-temporels	160
4.3.	Plasticité phénotypique versus différenciation génétique : implications évolutives et taxonomiques	161
	Conclusion	163
	CHAPITRE IV	250
	Exploration de la diversité, de la structure génétiques et des relations évolutives au sein du complexe <i>Medicago murex</i> par marqueurs microsatellites : signaux nucléaires versus chloroplastiques	250
	Introduction	165
I.	Matériels et méthodes	167
1	Matériel végétal et échantillonnage	167
2	Extraction et purification de l'ADN génomique	167
3	Sélection et validation des marqueurs microsatellites	167
3.1.	Marqueurs microsatellites nucléaires (n-SSR)	167
3.2.	Marqueurs microsatellites chloroplastiques (cp-SSR)	168
4	Amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	168
4.1.	Stratégie du marquage fluorescent	168
4.2.	Stratégie d'analyse des marqueurs : PCR et co-chargement pour l'électrophorèse capillaire	169

4.3.	Protocole d'amplification pour les marqueurs nucléaires (n-SSR)	169
4.4.	Protocole d'amplification pour les marqueurs chloroplastiques (cp-SSR)	171
4.5.	Contrôle de qualité de l'amplification PCR	171
5	Électrophorèse capillaire et génotypage	171
5.1.	Préparation des échantillons pour l'électrophorèse capillaire	171
5.2.	Analyse par séquenceur automatique	172
5.3.	Génotypage et détermination de la taille des allèles	172
5.4.	Validation et vérification manuelle des génotypes	172
5.5.	Contrôle qualité et gestion des erreurs de génotypage	172
6	Taille des échantillons pour les analyses génétiques	173
7	Analyses statistiques	173
7.1.	Diversité génétique intra-populationnelle (SSR nucléaires et chloroplastiques)	173
7.2.	Différenciation inter-populationnelle (SSR nucléaires et chloroplastiques)	174
7.3.	Analyse des haplotypes chloroplastiques	174
7.4.	Analyse moléculaire de la variance (AMOVA)	175
7.5.	Test d'isolement par distance (Test de Mantel)	176
7.6.	Analyse en coordonnées principales (PCoA)	176
7.7.	Analyse discriminante des composantes principales (DAPC)	177
7.8.	Structure avec le package LEA	177
7.9.	Analyses de relations génétiques par la méthode Neighbor-Joining	178
II.	Étude de la diversité et de la structure génétiques des populations de <i>Medicago murex</i> avec les marqueurs SSR nucléaires	179
	Résultats	179
1	Transférabilité et diversité des microsatellites nucléaires	179
2	Test de neutralité et équilibre génétique	180
3	Diversité génétique intra-population	181
3.1.	Hétérozygotie observée et attendue	181
3.2.	Le taux d'autogamie	182
3.3.	Distribution des allèles privés	182
3.4.	Indices de fixation	182
4	Etude de la différenciation génétique inter-populations formant le complexe <i>M. murex</i>	183
4.1.	Statistiques F de Wright	183
4.2.	Distances génétiques inter-populationnelles	183
4.3.	Flux géniques	185
5	Analyse moléculaire de variance (AMOVA) pour les marqueurs nucléaires	185
6	Test de Mantel	187
7	Analyse en coordonnées principales (PCoA) pour les marqueurs microsatellites nucléaires	187
8	Structure génétique par DAPC des populations de <i>Medicago murex</i>	191
9	Analyse de structure génétique	198
10	Analyses de relations de proximité génétiques basées sur les marqueurs SSR nucléaires par la méthode Neighbor-Joining	201
	Discussion	205
III.	Étude de la diversité et de la structure génétiques des populations de <i>Medicago murex</i> avec les marqueurs SSR chloroplastiques	215
	Résultats	215
1	Caractérisation des marqueurs SSR chloroplastiques	215
1.1.	Polymorphisme et contenu informatif des loci	215
2	Diversité génétique des haplotypes chloroplastiques	215
2.1.	Diversité haplotypique et richesse allélique	215
2.2.	Déséquilibre de liaison multilocus	216
2.3.	Distribution géographique et spatiale des haplotypes	217
3	Structure et différenciation inter-populations	219
3.1.	Distances génétiques de Nei	219
3.2.	Indices de différenciation (FPT)	219
3.3.	Test d'isolement par distance pour les marqueurs microsatellites chloroplastiques	222
4	Analyses multivariées de la structure génétique	222
4.1.	Analyse en coordonnées principales (PCoA) pour les marqueurs microsatellites chloroplastiques	222
4.2.	Analyse des résultats de la DAPC pour la caractérisation de l'ADN chloroplastique de populations de <i>Medicago murex</i>	226
4.2.1.	Choix du nombre optimal d'axes PCA pour les marqueurs chloroplastiques	226
4.2.2.	Identification des clusters génétiques	227
4.2.3.	Analyse du scatter plot DAPC et différenciation des clusters chloroplastiques	227
4.2.4.	Analyse du compoplot : structure des populations et admixtion chloroplastique	228

4.2.5.	Allèles chloroplastiques discriminants	230
5	Analyse des relations génétiques basées sur les marqueurs chloroplastiques	231
5.1.	Méthode Neighbor-Joining	231
5.2.	Relations génétiques et structuration spatiale	233
6	Tests de neutralité et signaux démographiques	235
	Discussion	235
	Caractères des marqueurs cpSSR	235
	Diversité et richesse haplotypiques	236
	Déséquilibre de liaison multilocus	236
	Structuration génétique, hiérarchique et géographique	237
	Structuration hiérarchique révélée par l'AMOVA	237
	Isolement par distance des lignées maternelles	238
	Ordination et assignation génétiques : différenciation des lignées maternelles	238
	Relations génétiques et différenciation évolutive	239
	Démographie résilience évolutive et implications pour la conservation	241
	Conclusion	243
	Discussion générale : Intégration des caractérisations morphologiques et moléculaires dans le complexe <i>Medicago murex</i>	244
1	Corrélation entre caractérisation morphologique et caractérisation moléculaire par SSR nucléaires	244
2	Corrélation entre caractérisation morphologique et caractérisation moléculaire par cpSSR	246
3	Comparaison entre caractérisations moléculaires par marqueurs SSR nucléaires et chloroplastiques	247
4	Scénarios évolutifs et les implications taxonomiques du complexe <i>Medicago murex</i>	248
	CONCLUSION GENERALE	256
	Validation des hypothèses et réponse à la problématique	256
	Implications nomenclaturales et taxonomiques	256
	Perspectives de recherche futures	257
	Contributions et portée de la recherche	258
	Références bibliographiques	259
	Liste des annexes	308

RÉSUMÉ

Le complexe *Medicago murex*, légumineuse fourragère méditerranéenne, fait l'objet d'une controverse taxonomique depuis plus de deux siècles. Au cœur de cette controverse se trouvent deux cytotypes reproductivement isolés ($2n=14$ et $2n=16$) qui présentent des caractères morphologiques corrélés, mais dont la délimitation nomenclaturale prête à confusion. Cette thèse vise à résoudre l'ambiguïté nomenclaturale en réattribuant les noms scientifiques à l'aide d'une approche intégrative combinant, pour la première fois, des analyses morphologiques statistiquement robustes et une caractérisation moléculaire à l'aide de marqueurs microsatellites nucléaires et chloroplastiques. Une étape préliminaire de validation, conduite sur 11 espèces de *Medicago* représentatives de trois sections taxonomiques majeures du genre, a permis d'évaluer le pouvoir discriminant et la complémentarité informationnelle des marqueurs n-SSR et cp-SSR, confirmant leur efficacité pour la différenciation taxonomique au sein du genre. Par la suite, dix-sept populations méditerranéennes représentant les trois taxons présumés du complexe (*M. murex*, *M. heterocarpa* forme épineuse et forme non épineuse) ont été caractérisées pour 15 traits morphologiques et analysées moléculairement à l'aide des marqueurs précédemment validés, sept loci nucléaires (n-SSR) et cinq loci chloroplastiques (cp-SSR). Des analyses morphologiques multivariées (NMDS, MCA, DFA, FAMD, HCA) et une régression logistique multinomiale ont permis d'identifier des traits diagnostiques fiables, tels que le nombre de sillons sur les gousses, la forme des feuilles mûres, le rapport pédoncule/pétiole et le nombre de dents sur les feuilles. Cela a permis de différencier les taxons avec un taux de précision supérieur à 90 %. Les analyses moléculaires ont confirmé l'existence de trois entités génétiquement distinctes avec des taux d'attribution de 98,93 % pour les n-SSR et de 95,88 % pour les cp-SSR. Parmi les autres conclusions importantes, citons une grande diversité génétique (97 allèles nucléaires, 85 haplotypes chloroplastiques), un système de reproduction autogame fort (92 % d'autofécondation) et une différenciation importante entre les populations ($F_{st} = 0,311$ pour n-SSR ; $\Phi_{PT} = 0,430$ pour cp-SSR). La concordance partielle entre les compartiments génomiques chloroplastiques et nucléaires ($r = 0,455$) suggère une histoire évolutive complexe impliquant une divergence allopatrique, un flux génétique asymétrique et une capture chloroplastique. Cette étude confirme que deux des trois entités sont des espèces biologiques véritablement distinctes. De plus, les résultats montrent qu'elles nécessitent des révisions nomenclaturales. Contrairement aux désignations courantes dans les flores actuelles, cette recherche montre que *Medicago heterocarpa* Spach (1849) devrait être prioritaire et désignée pour le cytotype $2n=16$ au lieu de *Medicago murex* Willd. (1802). En outre, *Medicago murex* Willd. (1802) devrait être désigné pour le cytotype $2n=14$ au lieu de *Medicago sphaerocarpos* (1810). En ce qui concerne la troisième entité, le statut de *M. heterocarpa* inerme en tant qu'espèce distincte reste à confirmer. Enfin, cette recherche fournit également des bases essentielles pour la conservation et la valorisation continues du complexe *Medicago murex* en tant que ressource génétique fourragère d'importance agronomique majeure dans le contexte méditerranéen.

Mots-clés : *Medicago murex*, *Medicago heterocarpa*, complexe d'espèces, taxonomie intégrative, microsatellites, nucléaire, chloroplastique, diversité génétique, morphométrie, révision nomenclaturale, légumineuses fourragères, bassin méditerranéen.

ABSTRACT

The *Medicago murex* complex, a Mediterranean forage legume, has been the subject of taxonomic controversy for over two centuries. At the heart of the controversy lie two reproductively isolated cytotypes ($2n=14$ and $2n=16$) that exhibit correlated morphological traits but confusing nomenclatural delimitation. This thesis aims to resolve the nomenclatural ambiguity by reattributing the scientific names as supported by an integrative approach combining, for the first time, statistically robust morphological analyses and molecular characterization using nuclear and chloroplast microsatellite markers. To confirm the microsatellite markers chosen for this study as sufficient for nomenclatural reattribution of the *Medicago* species and for validation of the molecular experimental protocol, a preliminary validation step was conducted on 11 *Medicago* species representative of three major taxonomic sections of the genus. Consequently, the molecular characterization of the evaluated species corroborated the discriminating sufficiency and informational complementarity of n-SSR and cp-SSR markers, confirming their effectiveness for taxonomic differentiation within the genus. Subsequently, seventeen Mediterranean populations representing the three presumed taxa (*M. murex*, *M. heterocarpa* *spiny* form, and *spineless* form) were characterized for 15 morphological traits and analyzed molecularly using the previously validated markers, seven nuclear loci (n-SSR) and five chloroplast loci (cp-SSR). Multivariate morphological analyses (NMDS, MCA, DFA, FAMD, HCA) and multinomial logistic regression identified reliable diagnostic traits, such as number of grooves on pods, mature leaves shape, peduncle/petiole ratio, and number of leaf teeth. This enabled taxa's discrimination with an accuracy rate exceeding 90%. Molecular analyses confirmed the existence of three genetically distinct entities with assignment rates of 98.93% for n-SSR and 95.88% for cp-SSR. Other key findings include high genetic diversity (97 nuclear alleles, 85 chloroplast haplotypes), a strong autogamous reproductive system (92% selfing), and substantial differentiation among populations ($F_{st}=0.311$ for n-SSR; $\Phi_{PT}=0.430$ for cp-SSR). Partial concordance between chloroplast and nuclear genomic compartments ($r=0.455$) suggests a complex evolutionary history involving allopatric divergence, asymmetric gene flow, and chloroplast capture. This study confirms two of the three entities as genuinely distinct biological species. What's more, the results show that they require nomenclatural revisions. In contrast to prevailing designations within current floras, this research shows that *Medicago heterocarpa* Spach (1849) should be prioritized and designated for the $2n=16$ cytotype instead of *Medicago murex* Willd. Furthermore, *Medicago murex* Willd. (1802) should be designated for the $2n=14$ cytotype instead of *Medicago Sphaerocarpos* (1810). Regarding the third entity, the status of *M. heterocarpa* var. *inermis* as a distinct species is yet to be confirmed or not. Finally, this research also provides essential foundations for the continued conservation and valorization of the *Medicago murex* complex as a forage genetic resource with major agronomic importance in the Mediterranean context.

Keywords: *Medicago murex*, *Medicago heterocarpa*, species complex, integrative taxonomy, microsatellites, nuclear, chloroplast, genetic diversity, morphometric, nomenclatural revision, forage legumes, Mediterranean basin.

المخلص

يُعد مركب الأنواع *Medicago murex*، الذي ينتمي إلى الفصيلة البقولية العلفية في منطقة البحر الأبيض المتوسط، موضوعاً لجدل تصنيفي مستمر منذ أكثر من مئتي عام. يتمحور هذا الجدل حول وجود نمطين خلويين معزولين تكاثرياً ($2n=14$) و ($2n=16$) يظهران سمات شكلية مترابطة، ولكن تبقى أسماؤهما العلمية ملتبسة وغير دقيقة. تهدف هذه الأطروحة إلى حسم هذا الغموض عبر إعادة إسناد الأسماء العلمية باستعمال منهج متكامل يجمع لأول مرة بين تحليلات التوصيف المورفولوجي من الناحية الإحصائية و التوصيف الجزيئي باستعمال واسمات الميكروساتليت النووية والبلاستيديّة. وللتأكد من ملاءمة وفعالية واسمات الميكروساتليت المختارة لإعادة الإسناد الاسمي وللتحقق من صحة البروتوكول الجزيئي، أجريت خطوة تحقق أولية على 11 نوعاً من جنس *Medicago* تمثل ثلاثاً من أهم أقسامه التصنيفية. وقد أكدت النتائج أن التوصيف الجزيئي يدعم القدرة التمييزية والتكامل المعلوماتي لواسمات n-SSR و cp-SSR، مما يثبت فعاليتها في التمييز التصنيفي داخل الجنس. بعد ذلك، تم وصف سبع عشرة عشيرة تمثل الوحدات التصنيفية الثلاث المفترضة (*M. heterocarpa*، *M. murex*) الشكل الشانك والشكل الأملس) بخمس عشرة خاصية شكلية، وتم تحليلها باستخدام سبعة مواقع نووية (n-SSR) وخمسة مواقع بلاستيديّة خضراء (cp-SSR). وقد مكّنت التحليلات الإحصائية المورفولوجية متعددة المتغيرات (CHA، FAMD، AFD، ACM، NMDS) والانحدار اللوجستي متعدد الحدود في تحديد صفات تشخيصية موثوقة (عدد الأخاديد على القرون، شكل الأوراق المكتملة النمو، نسبة طول السويقة الزهرية على طول عنق الورقة، عدد أسنان الوريقات) مما سمح بتمييز دقيق بين الوحدات التصنيفية المفترضة يتجاوز 90%. كما كشفت التحليلات الجزيئية وجود ثلاث كيانات وراثية متميزة في مركب الأنواع بمعدلات انتساب بلغت 98,93% لـ nSSR و 95,88% لـ cpSSR. يتمتع التنوع الوراثي بمستويات مرتفعة (97 أليلاً نووياً، 85 نمطاً فردانياً بلاستيدياً)، إضافة إلى نظام تكاثري يغلب عليه التلقيح الذاتي بنسبة 92%. كما بينت التحليلات وجود تمايز وراثي كبير بين العشائر ($r = 0.455$) إلى تاريخ تطوري معقد يشمل التباعد الجغرافي، والتدفق الجيني غير المتمثل، والتقاط البلاستيديات. وتؤكد هذه الدراسة أن اثنتين من الكيانات الثلاث تمثلان نوعين بيولوجيين حقيقيين، وأنهما يتطلبان مراجعة اسمية دقيقة. وعلى خلاف ما تذكره التصنيفات النباتية السائدة، تُظهر النتائج أن *Medicago heterocarpa* Spach (1849) يجب أن تُسند إلى النمط الخلوي $2n=16$ ، وأن *Medicago murex* Willd. (1802) يجب أن تُسند إلى النمط الخلوي $2n=14$ بدلاً من *Medicago sphaerocarpos* (1810). أما بالنسبة للكيان الثالث، فإن وضع *M. heterocarpa inerme* كنوع مستقل لا يزال غير مؤكد. وتوفر هذه الدراسة أساساً علمياً مهماً لاستمرار جهود الحفاظ على الموارد الوراثية العلفية وتأمينها ضمن مركب *Medicago murex*، لما لها من أهمية زراعية كبرى في السياق المتوسطي.

الكلمات المفتاحية: *Medicago murex*، *Medicago heterocarpa*، مركب الأنواع، التصنيف التكامل، المكروسات النووية، SSR، التنوع الوراثي، القياسات المورفولوجية، المراجعة التسمية، البقوليات العلفية، حوض البحر الأبيض المتوسط.