

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

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة – الحراش –

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH-ALGER



THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en sciences agronomiques

OPTION

Sciences et Techniques de Production Végétales

THEME

Etude de la variabilité morphologique et moléculaire de populations algériennes de *Medicago truncatula* Gaertn.

Présenté par :

M. AMOKRANE Mohamed Said Yanis

Jury :

Présidente

Mme MEKLIICHE L.

Pr. ENSA

Directeur

M. ABDELGUERFI A.

Pr. ENSA

Co- Directeur

Mme ABDELGUERFI-LAOUAR M.

M.R. INRAA

Examinatrice

Mme LOUANCHI M.

M.C. ENSA

Examineur

M. M'HAMMEDI BOUZINA M.

M.C. Univ. Chlef

Année universitaire : 2011-2012

Remerciements

Je remercie tout d'abord mes encadreurs M. Abdelguerfi Aissa et Mme Abdelguerfi-Laouar Meriem d'avoir suivi le travail de près et de m'avoir prodigué leurs conseils judicieux.

Je ne remercierai jamais assez Mme la directrice de l'ENSA pour m'avoir permis d'effectuer, en tant que Magistérant, un stage de courte durée sans lequel je n'aurais pas pu valoriser ce travail, comme il se doit.

Je remercie infiniment l'ENSA de Toulouse et particulièrement le laboratoire symbiose et pathologie des plantes, à leur tête le Professeur Laurent Gentzbittel grâce à qui ce travail pourra être jugé à sa juste valeur. Je tiens également à remercier tous les membres de l'équipe du laboratoire à commencer par Mme Cécile Ben, Mme Martina Rickauer, Pauline, Maoulida et Sondess, pour leur accueil, leur sympathie et leur soutien.

Je remercie également l'institution INRAA pour m'avoir reçu au sein de son laboratoire de physiologie et d'amélioration des plantes, comme je remercie le responsable de la station de Mehdi Boualem, M. Ait Hamou, et la responsable du laboratoire Mme Abed pour leur aide, tout au long de mon travail.

Je remercie Melle Semiani Yasmine, Mme Ramoul Nadjah pour leur apport conséquent tout au long de l'expérimentation.

Je remercie Mme Mekliche Leila d'avoir accepté de présider mon Jury.

Je remercie Mme Louanchi Meriem et M. Mhammedi Bouzina Mahfoud d'avoir bien voulu examiner mon travail.

Je remercie ma mère, mon épouse et ma petite sœur, pour leur soutien et leur aide pendant les moments difficiles et tout au long de ce travail.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Liste des Abréviations et des symboles

%	: Pourcent
°C	: Degré Celsius
10x	: 10 fois molaire
2D	: deux dimensions.
A.D.N.	: Acide désoxyribonucléique
ACM	: Analyse des correspondances multiples
ACP	: Analyse en composantes principales
AFCM	: Analyse factorielles en composantes multiples
AFLP	: Amplified fragment Length Polymorphism
ALT	: Altitude
ARN	: Acide ribonucléique
BIC	: Crière d'information Bayésien
C.D.B	: Convention sur la diversité biologique
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence, en français : digestion de produits d'amplification.
cm	: centimètre
CTAB	: Cetyl trimethyl Ammonium Bromide.
ddl	: Degré de liberté
Diam. gs	: Diamètre de la gousse
D/TGGE	: Temperature Gradient Gel Electrophoresis, ou Denaturing Gradient Gel Electrophoresis en français : Electrophorèse en gel à gradient de température ou Electrophorèse en gel à gradient de dénaturation.
EST	: Expressed Sequence Tags en français : Etiquettes de séquences exprimées.
Fis	: indice de consanguinité intra population
Fit	: indice de mesure de la réduction de l'hétérozygotie globale entre l'individu et la population théorique
Fst	: indice de diversification
G	: Gramme
GATT	: General Agreement on Tariffs and Trade, en français : Accord général sur les tarifs douaniers et le commerce
GL	: Groupe de liaison ou chromosome
Ha	: Hectares
He	: Expected Heterozygoty, en français : Hétérozygotie attendue.
Ho	: Observed Heterozygoty, en français : Hétérozygotie observée
INRAA	: Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeats, en français : Amplification intermicrosatellite.
Kb	: Kilo base ou 1000 bases
Kg	: kilogramme
L	: litre
Larg. ép.	: Largeur de l'épine au bord de la spire
Larg. totale	: Largeur totale de la graine
Larg. gr. hile	: Largeur de la graine au hile
LAT	: Latitude
Long. ép	: Longueur de l'épine
Long. gr.	: Longueur de la graine
Long. gs.	: Longueur de gousse
LONGIT	: Longitude
M.	: molaire
M.F.	: marqueur foliaire
MAAP	: Multiple Arbitrary Amplicon Profiling, en français : Profils d'amplification arbitraires multiples.
Max.	: maximum
Mb	: Million de base
MgCl ₂	: Chlorure de magnésium
ml	: millilitres
ml/l	: millilitre par litre
Mm	: millimètre
mM	: milliMolaire
Mpb	: Millions de paires de base
NaCl	: Chlorure de sodium
Nbre sp.	: Nombre de spires
Nbre gr. gs	: Nombre de graines par gousse
Ng	: nanogramme
ng/μl	: nanogramme/microlitre
NIAR	: National Institute of Agrobiological Resources
Nj	: Neighbour Joining

nm	: Nanomètre
OGM	: Organisme Génétiquement Modifié
PCR	: Polymorphisme Chain Reaction, en français : Réaction de Polymérisation en Chaîne.
pf	: Apparition de la première fleur
pH	: Potentiel hydrogène
PLU	: Pluviométrie
ppm	: Partie par million
Pr	: Probabilité
PVP	: Poly Vinyl Pyrrolidone.
QTL	: Quantitative Trait Locus, en français : Locus à effet quantitatifs
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SDS	: Sodium diéthylthiocarbamate.
SSCP	: Single Strand Conformation Profile (ou Polymorphism), en français : Polymorphisme de conformation simple brin.
SSR	: Simple Sequence repeats, en français : Répétition de séquences simples ou microsatellites.
STS	: Segence Tagged Site, en français : Séquence ciblée.
T.F.	: type de feuille
t/ha	: Tonnes par hectares
TE	: Tampon d'extraction
Tris-HCl	: Tris-Acide chloridrique.
tsp	: tours de spires
UTR	: unité transcritible
Var.	: variété
Vmax	: Vitesse maximum
w	: watt
µl	: microlitre
***	: Très hautement significatif

	Pages
Tableau 1 : Tableau représentant les différences de caractères des gousses de <i>M. truncatula</i> et <i>M. littoralis</i> (Lesins et Lesins, 1979)	8
Tableau 2 : Tableau représentant les rendements de la culture de blé suivant les précédents culturaux (Adem, 1974)	11
Tableau 3 : Composition chimique de différentes plantes fourragères	12
Tableau 4 : Tableau représentant les caractéristiques des principaux marqueurs selon De vienne, 1998	26
Tableau 5 : Tableau représentant les fréquences des microsattellites par millions de paires de base (Mpb) dans des séquences génomiques et EST chez cinq espèces de plantes (Mun et al. 2006)	29
Tableau 6 : Quantités nécessaires pour deux volumes de mixte réactionnels	40
Tableau 7 : Test du khi-2 pour la variable sens de rotation des spires	56
Tableau 8 : Tableau d'analyse de variance du temps d'apparition de la première fleur	70
Tableau 9 : Tableau représentant le nombre d'allèles par locus	109
Tableau 10 : Tableau représentant le nombre d'allèles par population	110
Tableau 11 : Hétérozygotie observée vs Hétérozygotie attendue	110
Tableau 12 : Résultat du test de Bartlett	111
Tableau 13 : Résultat du test t apparié	111
Tableau 14 : Tableau des indices des F statiques pour tous les marqueurs confondus	112
Tableau 15 : Significativité de la variance inter et intra population locus par locus et tous les locus confondus après test des permutations	114
Tableau 16 : Tableau des indices des F statistiques par marqueurs après test des permutations	114
Tableau 17 : Test de khi- 2 pour vérifier l'appartenance des variables supplémentaires aux 6 groupes de Kmeans	122
Tableau 18 : Liste et description des marqueurs SSR testés avec l'origine, le GL, les motifs, les séquences et le He qui les caractérisent	Annexe 5
Tableau 19 : Tableau d'analyse de variance longueur des gousses	Annexe 7
Tableau 20 : Tableau d'analyse de variance diamètre des gousses	Annexe 7
Tableau 21 : Tableau d'analyse de variance nombre de spires	Annexe 7
Tableau 22 : Tableau d'analyse de variance longueur d'épines	Annexe 7
Tableau 23 : Tableau d'analyse de variance largeur des épines au bord de la spire	Annexe 7
Tableau 24 : Tableau d'analyse de variance nombre de graine par gousse	Annexe 7
Tableau 25 : Tableau d'analyse de variance longueur de graines	Annexe 7
Tableau 26 : Tableau d'analyse de variance largeur de la graine au hile	Annexe 7
Tableau 27 : Tableau d'analyse de variance largeur total de la graine	Annexe 7
Tableau 28 : Tableau de la matrice des corrélations entre les variables quantitatives	Annexe 9
Tableau 29 : Tableau de répartition des populations en fonction des cinq groupes de Hill-Smith	Annexe 11
Tableau 30 : Tableau de répartition des lignées en fonction des cinq groupes de Hill-Smith	Annexe 11
Tableau 31 : Répartition des populations en fonction des six groupes de Hill-Smith	Annexe 11
Tableau 32 : Répartition des lignées étudiées en fonction des six groupes de Hill-Smith	Annexe 11
Tableau 33 : Répartition des populations et lignées étudiées en fonction du nombre optimal déterminé par la méthode BIC	Annexe 12
Tableau 34 : Répartition des modalités pluviométriques en fonction du nombre optimal de groupes déterminé par la méthode BIC	Annexe 12
Tableau 35 : Répartition des modalités Relief en fonction du nombre optimal de groupes déterminé par la méthode BIC	Annexe 12
Tableau 36 : Répartition des variétés de Heyn (1963) en fonction du nombre optimal de groupes déterminé par la méthode BIC	Annexe 12
Tableau 37 : Relation entre la structure génétique des populations et différents facteurs écologique ou génétique	Annexe 12

Liste des figures

Pages

Figure 1 : Répartition des sites de provenance des populations de <i>M. truncatula</i> étudiées	33
Figure 2 : Répartition des génotypes de <i>M. truncatula</i> en fonction des groupes de marqueurs foliaires	45
Figure 3 : Répartition des gousses de <i>M. truncatula</i> étudiées selon le nombre de tours de spires	49
Figure 4 : Répartition des gousses de <i>M. truncatula</i> étudiées en fonction du sens de rotation des spires	50
Figure 5 : Répartition des gousses de <i>M. truncatula</i> en fonction de la compression des spires	51
Figure 6 : Répartition des gousses de <i>M. truncatula</i> en fonction de l'angle d'insertion des épines	53
Figure 7 : Répartition des gousses de <i>M. truncatula</i> en fonction de la divergence ou pas des épines	54
Figure 8 : Répartition des gousses de <i>M. truncatula</i> en fonction de la forme incurvée ou pas des épines	55
Figure 9 : Regroupement des individus de <i>M. truncatula</i> étudiés sur le plan 1 / 2 de l'ACM	57
Figure 10 : Regroupement des individus de <i>M. truncatula</i> étudiés sur le plan 1 / 3 de l'ACM	58
Figure 11 : Regroupement des individus de <i>M. truncatula</i> étudiés sur le plan 1 / 3 de l'ACM	59
Figure 12 : Regroupement des individus de <i>M. truncatula</i> étudiés sur le plan 2 / 3 de l'ACM	60
Figure 13 : Score de l'axe 1 pour l'ACM	61
Figure 14 : Score de l'axe 2 pour l'ACM	62
Figure 15 : Score de l'axe 3 pour l'ACM	63
Figure 16 : Regroupement des génotypes étudiés en fonction de l'angle d'insertion des épines	64
Figure 17 : Regroupement des génotypes étudiés en fonction des types de marqueurs foliaires relevés	65
Figure 18 : Regroupement des génotypes étudiés en fonction de la pluviométrie des sites d'origine	66
Figure 19 : Regroupement des génotypes étudiés en fonction du relief des sites d'origine	67
Figure 20 : Box plot des variables qualitatives	68
Figure 21 : Mosaic plot entre les variables Compression des spires et formes des épines	69
Figure 22 : Mosaic plot entre les variables divergence des épines et forme des épines	70
Figure 23 : Figure représentant la boîte à moustache du temps d'apparition de la première fleur des populations étudiées	71
Figure 24 : Plot général de toutes les variables quantitatives	73
Figure 25 : Répartition des génotypes étudiés sur le Plan 1 / 2 de l'ACP	75
Figure 26 : Répartition des populations étudiées sur le plan 1 / 2 de l'ACP	76
Figure 27 : Cercle des corrélations plan 1 / 2	77
Figure 28 : Répartition des génotypes étudiés en fonction de la pluviométrie des sites d'origine	78
Figure 29 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1 / 3 de l'ACP	79
Figure 30 : Répartition des populations sur le plan 1 / 3 de l'ACP	80
Figure 31 : Cercle des corrélations plan 1 / 3	81
Figure 32 : Répartition des génotypes étudiés sur les plans 2 / 3 de l'ACP	82
Figure 33 : Répartition des populations étudiées sur le plan 2 / 3	83
Figure 34 : Cercle des corrélations plan 2 / 3	84
Figure 35 : Contribution des variables aux trois composantes	85
Figure 36 : Dendrogramme de distances entre les génotypes	86
Figure 37 : Dendrogramme de distances entre les variables	87
Figure 38 : Heat map, regroupement des génotypes en fonction des variables	88
Figure 39 : Pourcentage de représentation des variétés botaniques décrites sur la base de deux variables discriminantes au sein de l'effectif total selon Heyn (1963)	90
Figure 40 : Pourcentage de variétés décrites sur la base des 6 variables discriminantes au sein de l'effectif total selon les variétés botaniques de Heyn (1963)	91
Figure 41 : Pourcentage de représentation des variétés botaniques décrites par Urban (1873 <i>in</i> Lesins et Lesins, 1979) au sein de l'effectif total	93
Figure 42 : Regroupement des génotypes étudiés en 5 groupes homogènes selon Hill-Smith & Ward	94
Figure 43 : Regroupement des génotypes étudiés en 6 groupes homogènes selon Hill-Smith	95
Figure 44 : Score de l'axe 1 de Hill-Smith	96
Figure 45 : Score de l'axe 2 de Hill-Smith	97
Figure 46 : Cercle des corrélations Hill-Smith	99
Figure 47 : Représentation des groupes homogènes selon la méthode des Kmeans	100
Figure 48 : Dendrogramme de Ward combinant les variables quantitatives et qualitatives	100
Figure 49 : Superposition et regroupement des génotypes de Hill-Smith et Kmeans	101
Figure 50 : Superposition et regroupement des génotypes en fonction de Hill-Smith et Ward	101
Figure 51 : Schéma de l'hétérozygotie observé vs attendu	111
Figure 52 : Histogramme des simulations représentant la structure entre populations	113
Figure 53 : Dendrogramme cluster de distances génétiques entre lignée (méthode CAH)	115
Figure 54 : Diagramme de distances génétiques selon NJ	116
Figure 55 : Projection des populations sur les plans 1 / 2 de l'ACP	116
Figure 56 : Contribution des allèles dans l'information contenue au niveau de l'axe F1 de l'ACP	117
Figure 57 : Contribution des allèles dans l'information contenue au niveau de l'axe F2 de l'ACP	117

Figure 58 : Détermination du nombre optimal de groupes par la méthode BIC.	118
Figure 59 : Répartition des 6 groupes de Kmeans en fonction du diagramme Nj	119
Figure 60 : Répartition des 6 groupes de Kmeans par la CAH	119
Figure 61 : Nouvelle répartition des populations en fonction des 6 groupes de kmeans sur le plan 1/2	120
Figure 62 : Mosaic plot entre les 6 groupes de Kmeans et la pluviométrie	121
Figure 63 : Mosaic plot entre les 6 groupes des Kmeans avec le relief des sites d'origine	121
Figure 64 : Mosaic plot entre les 6 groupes des Kmeans avec les variétés botaniques de Heyn (1963)	122
Figure 65 : Répartition des populations étudiées sur la carte pluviométrique du Nord de l'Algérie	Annexe 1
Figure 66 : Répartition des populations étudiées sur la carte des reliefs du Nord de l'Algérie	Annexe 1
Figure 67 : Répartition des populations étudiées sur la carte des sols du Nord de l'Algérie Durand, 1954	Annexe 1
Figure 68 : Gel 1 test ADN sur gel d'agarose à 1%	Annexe 4
Figure 69 : Gel 2 test ADN sur gel d'agarose à 1%	Annexe 4
Figure 70 : Gel 1 Test MTIC 503, MTIC 511 et MTIC 535 (22-12-2008)	Annexe 6
Figure 71 : Gel 2 Test MTIC 559, MTIC 563 et MTIC 564 (23-12-2008)	Annexe 6
Figure 72 : Gel 3 Test MTIC 640, MTIC 770 et MTIC 1172 (24-12-2008)	Annexe 6
Figure 73 : La boîte à moustache pour le diamètre de la gousse des populations étudiées	Annexe 8
Figure 74 : La boîte à moustache pour la longueur de gousse des populations étudiées	Annexe 8
Figure 75 : La boîte à moustache pour le nombre de graines par gousse des populations étudiées	Annexe 8
Figure 76 : La boîte à moustache pour la longueur de l'épine des gousses des populations étudiées	Annexe 8
Figure 77 : La boîte à moustache pour la largeur de l'épine des gousses des populations étudiées	Annexe 8
Figure 78 : La boîte à moustache pour la longueur de graines des populations étudiées	Annexe 8
Figure 79 : La boîte à moustache pour la largeur de la graine au hile des populations étudiées	Annexe 8
Figure 80 : La boîte à moustache pour la largeur totale de la graine des populations étudiées	Annexe 8
Figure 81 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1 / 2 en fonction du relief des sites d'origine	Annexe 10
Figure 82 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1 / 2 en fonction des sols des sites d'origine	Annexe 10
Figure 83 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1 / 3 en fonction de la pluviométrie des sites d'origine	Annexe 10
Figure 84 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1 / 3 en fonction du relief des sites d'origine	Annexe 10
Figure 85 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1 / 3 en fonction des sols des sites d'origine	Annexe 10
Figure 86 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 2 / 3 en fonction de la pluviométrie des sites d'origine	Annexe 10
Figure 87 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 2 / 3 en fonction de la pluviométrie des sites d'origine	Annexe 10
Figure 88 : Répartition des génotypes étudiées sur le plan 2 / 3 en fonction du relief des sites d'origine	Annexe 10
Figure 89 : Représentation des valeurs propres des axes de l'ACP	Annexe 12
Figure 90 : Contribution des allèles dans l'information contenue au niveau de l'axe F3 de l'ACP	Annexe 12
Figure 91 : Projection des génotypes sur le plan 1 / 2 de l'ACP en fonction de la variable supplémentaire pluviométrie	Annexe 12
Figure 92 : Projection des génotypes sur le plan 1 / 2 de l'ACP en fonction de la variable supplémentaire relief	Annexe 12
Figure 93 : Projection des génotypes sur le plan 1 / 2 de l'ACP en fonction de la variable supplémentaire variété Heyn, (1963)	Annexe 12
Figure 94 : Nouvelle répartition des populations en fonction des 6 groupes de Kmeans sur le plan 1 / 3 de l'ACP	Annexe 12

	Pages
Photo 1 : Essai en serre après transfert des fertiles pots en pot de 5 kg	35
Photo 2 : Prélèvement de jeunes feuilles	37
Photo 3 : Réduction en poudre des feuilles séchées	37
Photo 4 : Phase d'incubation	38
Photo 5 : Agitation manuelle pendant 15 minutes	38
Photo 6 : Pipetage du surnageant à la pipette	38
Photo 7 : Ajout de l'isopropanol au surnageant	39
Photo 8 : Centrifugation à vitesse maximale	39
Photo 9 : Marqueur foliaire de <i>M. truncatula</i> du type 1	45
Photo 10 : Marqueur foliaire de <i>M. truncatula</i> de type 2	46
Photo 11 : Marqueur foliaire de <i>M. truncatula</i> de type 3	46
Photo 12 : Marqueur foliaire de <i>M. truncatula</i> de type 4	47
Photo 13 : Gousse à sens de rotation sénestre (ALG 212-17)	50
Photo 14 : Gousse à sens de rotation des spires dextre (ALG 226-73)	50
Photo 15 : Gousse à spires compressées (ALG 212-17)	51
Photo 16 : Gousse à spires non compressées (ALG 234-102)	51
Photo 17 : Gousse à épines dont l'angle d'insertion est intermédiaire (ALG 265-157)	52
Photo 18 : Gousse à épines dont l'angle d'insertion est de 90° (ALG 212-17)	52
Photo 19 : Gousse à épines divergentes (ALG 348-301)	53
Photo 20 : Gousse à épines non divergentes (ALG 226-75)	53
Photo 21 : Gousse à épines non incurvées (ALG 226-73)	54
Photo 22 : Gousse à épines incurvées (ALG 348-301)	54
Photo 23 : Test de germination population 222.2	Annexe 2
Photo 24 : Test de germination population 255.1	Annexe 2
Photo 25 : Test de germination population 230.4	Annexe 2
Photo 26 : Test de germination population 300.1	Annexe 2
Photo 27 : Test de germination population 327.2	Annexe 2
Photo 28 : Test de germination population 432.1	Annexe 2
Photo 29 : Test de germination population 336.1	Annexe 2
Photo 30 : Test de germination population 448.1	Annexe 2
Photo 31 : Test de germination population 449.3	Annexe 2
Photo 32 : Test de germination population 452.4	Annexe 2
Photo 33 : Test de germination population 452.1	Annexe 2
Photo 34 : Test de germination population 230.2	Annexe 2
Photo 35 : Test de germination population 234.1	Annexe 2
Photo 36 : Test de germination population 252.1	Annexe 2
Photo 37 : Test de germination population 236.3	Annexe 2
Photo 38 : Test de germination population 265.1	Annexe 2
Photo 39 : Test de germination population 300.5	Annexe 2

Liste des annexes

- Annexe 1** : Répartition des populations de *M. truncatula* sur les cartes des isohyètes, des reliefs et des sols du Nord de l'Algérie
- Annexe 2** : Photos du test de germination (10-11-07)
- Annexe 3** : Liste des lignes ressemées (06-04-2009)
- Annexe 4** : Tests de la qualité d'ADN sur gel d'agarose à 1 %
- Annexe 5** : Présentation des marqueurs SSR reçus
- Annexe 6** : Test du polymorphisme des marqueurs sur gel d'agarose à 3 %
- Annexe 7** : Tableaux d'analyse de variance
- Annexe 8** : Boîtes à moustache des variables quantitatives
- Annexe 9** : Matrice des corrélations
- Annexe 10** : Projection des lignées sur les plans de l'ACP en fonction des variables supplémentaires
- Annexe 11** : Tableaux de répartitions selon Hill-Smith
- Annexe 12** : Figures et tableaux de la partie moléculaire
- Annexe 13** : Protocole et matériels utilisés dans la partie moléculaire

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION.....	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
Chapitre I : Présentation de <i>M. truncatula</i> Gaertn.....	3
I. Appartenance de <i>M. truncatula</i>	3
II. Caractérisation morphologique.....	4
II.1. Classification selon Urban	5
II. 2. Classification selon Heyn.....	5
III. Distinction entre <i>M. truncatula</i> et <i>M. littoralis</i>	6
IV. Répartition des <i>M. truncatula</i> Gaertn.....	8
IV.1. A travers le monde.....	8
IV.2. En Algérie.....	8
V. Habitat	9
V.1. Altitude.....	9
V.2. Pluviométrie.....	9
V.3. Sol.....	9
V.4. pH.....	10
VI. Intérêt de <i>Medicago truncatula</i>	10
Chapitre II : Diversité biologique	14
I. Définition de la diversité biologique ou biodiversité	14
II. Sources de la biodiversité	14
III. Menaces pesant sur la biodiversité	15
IV. Importance de la protection de la biodiversité	19
Chapitre III : Techniques de biotechnologie végétale	21
I. Définition de la biotechnologie	21
II. Objectif des biotechnologies végétales	21
III. Extraction d'A.D.N. (Manual for DNA extraction in plants, 1998).....	21
III.1. Principe de l'extraction d'ADN	22
III.2. Quantités d'échantillons extraits	23
III.3. Age du matériel	23
III.4. Broyage	24
III.5. Vitesse et temps de centrifugation	24
IV. Marquage moléculaire	24
IV.1. Définition d'un marqueur génétique	24
IV.2. Présentation d'un "bon" marqueur génétique	24
IV.3. Présentation des différents types de polymorphisme (Selon De vienne, 1998)	25
IV.3.1. Polymorphisme de séquence	25
IV.3.2. Polymorphisme insertion délétion	26
IV.3.3. Polymorphisme de nombre de répétitions	26
IV.4. Caractéristiques des principaux marqueurs	26
IV.5. Présentation des microsatellites	26
IV.6. Révélation des microsatellites	27
IV.7. Utilisation des microsatellites	27
IV.8. Les microsatellites chez <i>Medicago truncatula</i>	27
MATERIELS ET METHODES.....	32
I. Matériel Végétal	32

II. Méthodes.....	34
II.1. Partie étude morphologique	34
II.1.1. Mise en place et déroulement de l'essai en serre	34
II.1.2. Les caractères étudiés	36
II.1.2.1. Les marqueurs foliaires	36
II.1.2.2. La forme de la feuille	36
II.1.2.3. L'apparition de la première fleur	36
II.1.2.4. Les caractères discriminants des gousses	36
II.2. Partie étude moléculaire	37
II.2.1. Extraction d'ADN	37
II.2.2. Amplification d'ADN par PCR microsatellite	40
II.2.2.1. Composition du mixte réactionnel	40
II.2.2.2. Programme de la PCR	40
II.2.3. Révélation des amplifias.....	40
II.2.4. Choix des ADN à tester	41
II.2.5. Choix des marqueurs SSR-EST	41
III. Analyse de données	41
III.1. Analyse de la partie morphologique	42
III.1.1. Analyse des données qualitatives	42
III.1.2. Analyse des données quantitatives	42
III.1.3. Etude de l'effectif en fonction des variétés botaniques	43
III.1.4. Analyse des données quantitatives et qualitatives réunies	43
III.2. Analyse de la partie moléculaire	44
RESULTATS ET DISCUSSION	45
Chapitre I : Etude morphologique	45
I. Etude des caractères qualitatifs	45
I.1. Etude du caractère marqueur foliaire chez <i>M. truncatula</i>	45
I.2. Etude des gousses.....	48
I.2.1. Etude du nombre de tours de spires (nombre de tsp.)	48
I.2.2. Etude du sens des spires	49
I.2.3. Etude de la compression des spires	50
I.3. Etude des épines.....	51
I.3.1. Etude de l'angle d'insertion des épines.....	52
I.3.2. Etude de l'orientation des épines	53
I.3.3. Etude de la forme des épines	54
I.4. Etude des graines.....	55
I.5. Test du khi-2.....	55
I.6. Analyse en composante multiple (ACM).....	56
I.6.1. Plan 1 / 2	56
I.6.2. Plan 1 / 3	57
I.6.3. Plan 1 / 4	58
I.6.4. Plan 2 / 3	59
I.6.5. Dispersion des individus au niveau des axes	60
I.7. AFCM	63
I.7.1. AFCM et variables morphologiques	63
I.7.2. AFCM et données du milieu	65
I.8. box plot	67
I.9. Table de liaisons entre variables	69
II. Analyse quantitative	70
II.1. Analyse de variance	70
II.1.1. Tableau d'analyse de variance	70

II.1.2. Boite à moustache	71
II.2. Analyse des corrélations (test de Pearson)	72
II.2.1. Plot général des corrélations	72
II.2.2. Matrice des corrélations	73
II.3. Analyse des résultats de l'analyse en composante principale (ACP)	75
II.3.1. Etude du plan 1 / 2	75
II.3.2. Etude plan 1 / 3	78
II.3.3. Etude du plan 2 / 3	81
II.3.4. Contribution des variables aux trois premiers axes	84
II.3.5. Dendrogramme de distances entre les génotypes	85
II.3.6. Dendrogramme de distances entre variables	86
II.3.7. Heat map	87
III. Regroupement des populations en fonction des différentes variétés botaniques	89
III.1. Sur la base des gousses	89
III.2. Sur la base des épines	91
IV. Analyse des données quantitatives et qualitatives réunies (Analyse de Hill-Smith)	93
IV.1. Regroupement des lignées en fonction du Test de Hill-Smith	93
IV.2. Score axe 1 selon Hill-Smith	95
IV.3. Score axe 2 selon Hill-Smith	96
IV.4. Cercle des corrélations Hill-Smith	97
IV.5. Test Kmeans	99
IV.6. Dendrogramme de Ward	100
IV.7. Superposition des analyses effectuées	101
Chapitre II : Discussion de l'étude morphologique.....	102
I. Discussion de l'analyse des variables qualitatives.....	102
I.1. Discussion de l'étude des marqueurs foliaires	102
I.2. Sens d'enroulement des spires.....	103
I.3. Les pines.....	103
II. Discussion de l'analyse des variables quantitatives	103
II.1. Temps d'apparition de la première fleur.....	103
II. 2. Corrélation entre facteur du milieu et variables morphologiques.....	105
II.2.1. Temps d'apparition de la première fleur.....	105
II.2.2. Autres caractères morphologiques	106
II.3. Appartenance aux différentes variétés botaniques	106
III. Etude de la diversité	106
III.1. Variabilité inter populations (intra espèce)	107
III.2. Variabilité intra population	108
Chapitre III : Etude moléculaire.....	109
I. Etude des génotypes	109
I.1. Nombre d'allèles	109
I.1.1 Nombre d'allèles par locus	109
I.1.2. Nombre d'allèles par population	109
I.2. Etude de l'hétérozygotie.....	110
I.2.1. Significativité de la différence entre H_e et H_o	111
II. Mesure et test de la structure des populations	112
II.1. Test de la structure entre populations	112
II.2. Test des permutations.....	113
III. Etude des distances génétiques	114
III.1. Projection des populations sur les plans 1 / 2 de l'ACP.....	114
III.2. Contribution des SSR à l'information contenue au niveau des axes.....	115
III.3. Projection des lignées en fonction des variables supplémentaires	115

IV. Détermination du nombre de groupes optimal	118
V. Visualisation de ces groupes	118
VI. Tables de liaison entre les 6 groupes de Kmeans et les variables supplémentaires	120
VI.1. Variable pluviométrie des sites d'origine	120
VI.2. Variable relief des sites d'origine	120
VI.3. Variable variétés Heyn (1963)	120
VII. Test de khi- 2	122
Chapitre IV : Discussion de l'étude moléculaire.....	123
I. Nombre d'allèles.....	123
II. Discussion de l'étude de l'hétérozygotie	123
III. Discussion des F statistiques.....	124
IV. Etude de la variance intra population vs inter populations	125
V. Lien entre génotypes et variables supplémentaires.....	126
V.1. Pluviométrie.....	126
V.2. Relief.....	126
V.3. Variété selon Heyn (1963).....	126
CONCLUSION.....	127
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	130
ANNEXES	

Introduction

Introduction

Pour la taxinomie et la distinction entre taxons, certaines différences morphologiques peuvent parfois suffire. Quelquefois, un seul caractère observable permet de différencier une espèce ou un groupe d'espèces (couleur de la corolle, type de gousse, etc.). Mais le cas le plus commun est le chevauchement des taxons; dans ce cas, un ensemble de caractères doit être considéré pour caractériser les espèces (Lesins et Lesins, 1979).

Les principaux travaux de classification des espèces du genre *Medicago* reposent sur des composants morphologiques tels que la feuille et ses caractéristiques, le fruit et la semence, les cotylédons, la fleur, les grains de pollen, les nodules et d'autres critères comme le nombre chromosomique, les défenses chimiques, etc. (Polhill *et al.*, 1981 *in* Chebbi *et al.*, 1995).

Plusieurs travaux ont décrit l'espèce *M. truncatula*. Dans un premier temps, l'espèce fut décrite uniquement sur le plan morphologique. De fait, elle a été décrite la première fois en 1791 par Gaertner (Heyn, 1963), par la suite d'autres taxinomistes l'ont présentée dans différents ouvrages et travaux et des différences au niveau de sa caractérisation ont été notées.

Par ailleurs, certains taxinomistes comme Moris (1837, *in* Heyn, 1963), Lowe (1868, *in* Heyn, 1963) et Urban (1873, *in* Heyn, 1963) eurent du mal à classer certaines variantes de l'espèce du fait de certains croisements intra et inter spécifiques, nous citerons par exemple le croisement relevé par Lesins et Lesins (1979) entre *M. littoralis* et *M. truncatula*, qui appartiennent au complexe *M. tornata*, *M. littoralis* et *M. truncatula*. Plus récemment, Ellwood *et al.* (2006) ont travaillé sur les trois variétés botaniques décrites par Heyn (1963) et grâce à la biologie moléculaire, ils en ont conclu que la variété *tricycla* se détache clairement des deux autres variétés alors que la variété *longispina* pouvait être une variante de la variété *truncatula*. En effet, ces travaux pourraient remettre en cause des classifications existant depuis un certain nombre d'années.

Ajouté à cela, des travaux concernant l'autoécologie de l'espèce ont révélé une certaine hétérogénéité au niveau des résultats obtenus. De fait, il semblerait que l'espèce pousse sur des milieux variés, ce qui lui procure le statut d'espèce ubiquiste.

Par ailleurs, l'espèce *M. truncatula*, au vu, entre autres, de son génome relativement petit, s'est vue attribuer le statut de plante modèle au niveau génomique et moléculaire pour les études biologiques sur les légumineuses (Thoquet *et al.*, 2002 *in* Ellwood, 2006 ; Young *et al.*, 2003 ; Kulikova *et al.*, 2001 ; Ané *et al.*, 2008).

Du fait de l'ampleur qu'a pris l'espèce, de son importance sur le plan agronomique, pédologique, et zootechnique (Adem, 1974) et afin de caractériser le patrimoine phytogénétique qui a été conservé au niveau de l'ENSA, depuis 1976 (thèse d'ingénieur de M. Abdelguerfi), il nous a semblé important d'étudier la variabilité morphologique et moléculaire de 81 populations algériennes de *Medicago truncatula* Gaertn.

Pour cela nous avons organisé notre document en trois parties :

- La première représentant l'étude bibliographique se scinde à son tour en trois chapitres :
Le premier consistant en la présentation de *M. truncatula*, le second synthétise des travaux sur la diversité biologique et le troisième présente les techniques de biotechnologie végétale.
- La seconde partie, qui est la partie Matériels et Méthodes, a consisté à expliquer l'organisation du travail sur le terrain et le choix des variables à étudier, l'organisation du travail au laboratoire et les différentes étapes avant l'obtention de l'out put (révélation des amplifias). Cette partie comporte également, les analyses que nous avons effectuées ainsi que leurs explications.
- La troisième et dernière partie, intitulée résultats et discussion, est subdivisée à son tour en 4 chapitres. Le premier porte sur l'étude des résultats morphologiques, le second consiste en la discussion de ces résultats, le troisième est consacré à l'étude des résultats moléculaires et le dernier est réservé à la discussion de ces résultats.

Etude

Bibliographique

Chapitre I : Présentation de *M. truncatula* Gaertn.

I. Appartenance de *M. truncatula*

Les légumineuses sont une large famille composée de plus de 650 genres et 18 000 espèces dont *M. truncatula* fait partie. Cependant, elles arrivent seulement en deuxième position en termes d'importance des superficies cultivées (Ellwood, 2006).

Selon Damerval (1983) le genre *Medicago* L. (55 espèces environ) est un genre de légumineuses très étudié. Certaines espèces vivaces (*M. falcata* L., *M. glomerata* Balbis., *M. glutinosa* M.B., ...) ont déjà fait l'objet de nombreuses recherches en raison de leurs relations phylogéniques avec *M. sativa* L., la luzerne cultivée. Les espèces annuelles sont toutefois aussi intéressantes en raison de leur cycle de vie rapide et de leur adaptation aux conditions méditerranéennes leur permettant de supporter une faible pluviométrie. De là de nombreuses études ont été menées aussi bien au niveau international que national afin de mieux les connaître.

Le genre *Medicago* appartient au groupe *Galeoid*, groupe des légumineuses tempérées, en compagnie des genres *Melilotus*, *Trifolium*, *Pisum*, *Vicia*, *Sesbania*, et *Lotus*. Il appartient ensuite à la famille des *Trifolieae*, sous-famille des *Papilionoideae* (Doyle, 2001, in Ellwood, 2006). Selon Prosperi *et al.* (1995), *M. truncatula* appartient au sous genre des *Spirocarpos*, section *Pachyspirae*.

Selon Damerval (1983), le regroupement en unités taxonomiques de rang supérieur basé sur des caractères couvrant un aspect aussi étroit du phénotype ne peut pas être considéré comme la preuve de relations évolutives. Les caractères classiques ayant trait au fruit et à d'autres caractéristiques, comme la pérennité, le nombre chromosomique, la présence de dents sur la foliole médiane, les dimensions et la pubescence de cette foliole et de la tige, au total 75 variables, ont fait l'objet d'analyses numériques (Small, 1981 in Damerval, 1983). Les 55 espèces considérées recouvrent tout le genre *Medicago* ; d'une part 12 groupes ont pu être reconnus dont certains correspondent aux sections systématiques classiques; d'autre part des espèces n'appartenant pas aux mêmes unités taxinomiques ont été rapprochées.

Toutefois, les affinités interspécifiques dégagées par ces analyses restent faibles et la connaissance du genre nécessite l'étude d'un ensemble plus divers de caractères.

Parmi, ceux-ci les caractères biochimiques et en particulier protéiques sont des caractères de choix pour le systématicien (Gottlieb, 1977 in Damerval, 1983).

Actuellement, avec l'avènement de la biologie moléculaire et l'utilisation des marqueurs moléculaires les taxonomistes vont de plus en plus dans les détails puisqu'ils ne se contentent plus d'une classification basée sur des caractères phénotypiques, mais souvent ils remettent en question ces classifications par les résultats issus de l'étude moléculaire.

II. Caractérisation morphologique

Selon Heyn (1963), *M. truncatula* a été décrit la toute première fois en 1791 par Gaertner (Gaertn.) dans le De Fruct. 2 : 350. Ensuite, il a été présentée en 1792 dans le Lam Encycl. Method 3 : sous le nom de *M. tribuloides*. Enfin, Urban en 1873 a apporté des modifications à la description faite par Gaertner dans Verh. Bot ver. Brandenb : 67.

A partir de là, Heyn (1963) a décrit *M. truncatula* comme une plante fourragère annuelle herbacée à port soit érigé soit rampant d'une longueur variant entre 15 et 30 cm. Toutefois, des différences concernant ce caractère existent selon les auteurs. En effet, Lesins et Lesins (1979) signalent que sa longueur varie entre 15 et 80 cm et peut aller jusqu'à 120 cm. Tutin *et al.* (1968), dans leur présentation de *M. truncatula*, ont signalé qu'il avait plus de 50 cm de long. Alors que Prosperi *et al.* (1995) ont trouvé qu'il ne dépassait pas les 60 cm.

Toujours selon Heyn (1963), les ramifications commencent près de la base. Son feuillage a une longueur de 8 à 15 cm et ses folioles ont 7 à 12 mm de large. Les feuilles y sont trifoliolées et les folioles sont généralement tronquées, cunéaires à obovales, parfois lancéolées et rarement incisées.

Le pédoncule porte une à deux fleurs rarement trois. Ces dernières font 6 à 8 mm de long et leur calice est duveteux et finement denté. La corolle est deux fois plus petite que le calice dans lequel se forment les jeunes gousses. Néanmoins, Prosperi *et al.* (1995) relèvent que l'inflorescence de *M. truncatula* peut porter jusqu'à 5 fleurs. Quezel et Santa (1962), quant à eux, ont noté que le nombre de fleurs portées par le pédoncule variait de 3 à 7 fleurs.

Selon Nègre (1961), *M. truncatula* est une sténotherophyte c'est-à-dire qu'à partir du premier bouton floral jusqu'au premier fruit fertile, il se passe 20 à 30 jours.

Selon Jafri et El Gadi (1980), *M. truncatula* est très polymorphe spécialement sur le plan des caractères des gousses. En effet, selon Quezel et Santa (1962), Heyn (1963), sa gousse, courte ou longue, est pourvue d'épines, souvent pubescente, parfois glabrescente, rarement glabre. La hauteur moyenne de ses gousses varie entre 6 et 12 mm (Heyn, 1963) et leur diamètre va de 3 à 6 mm (Quezel et Santa 1962) et elles durcissent à maturité.

Toujours selon Heyn (1963), les gousses sont pourvues de spires plus ou moins compressées entre elles, allant de deux tours et demi à 8 tours. Tandis que, pour Nègre (1961), le nombre de tours de spires varie de 2 à 8 et pour Tutin *et al.* (1968), il varie de 3 à 6 tours.

Pour leur part, Lesins et Lesins (1979) signalent que les gousses de *M. truncatula* disposent d'épines, dont le nombre varie de 7 à 11 par rangée et dont la longueur oscille entre 1 et 4 mm. Elles sont parfois incurvées à l'extrémité mais sont souvent de forme conique à la base, ce qui s'explique par leur enfoncement dans un tissu spongieux qui se trouve sur la face externe de la gousse et qui peut les

recouvrir jusqu'à l'extrémité (pointe). Les épines lorsqu'elles sont insérées au niveau de la gousse peuvent former un angle de 90°, 130° voire 180° avec la surface de la spire.

Les graines sont réniformes, d'une longueur (la moitié correspondant à la taille de la radicle) variant entre 2.5 mm et 4.5 mm et d'une largeur de 1.3 à 2.5 mm. Leur nombre va de 1 à 2 par spires. Elles ont un tégument dont la couleur peut différer également, puisqu'il a été relevé les couleurs jaune pâle, jaune et brunâtre.

Toujours, selon Lesins et Lesins (1979), le nombre chromosomique de *M. truncatula* est $2n = 16$

II.1. Classification selon Urban

Urban (1873 in Lesins et Lesins, 1979) a scindé les *M. truncatula* en deux variétés sur la base de la longueur de leurs épines :

a- *M. truncatula* var. *breviaculeata* Urb. :

Cette première variété a des épines aussi longues que la largeur au bord de la spire. Les épines connaissent une insertion à 90° au niveau de cette variété.

b- *M. truncatula* var. *longeaculeata* Urb. :

Cette deuxième variété a des épines plus longues que la largeur au bord de la spire. Urban (1873 in Lesins et Lesins, 1979) a inclu dans ce groupe ce qu'il considère comme contraintes telles que les gousses avec les épines accrochées, les petites gousses velues droites et les gousses avec des épines froissées. Certains auteurs ont pris ces contraintes comme étant des critères de classification.

Il a noté que dans ces deux variétés de *M. truncatula* les spires des gousses pouvaient être enroulées aussi bien dans le sens de rotation des aiguilles d'une montre que dans le sens opposé. Toutefois, selon Simon (1965 in Lesins et Lesins, 1979), le sens d'enroulement des spires le plus dominant chez *M. truncatula*, est le sens senestre celui qui va de droite à gauche, c'est-à-dire le sens contraire de rotation des aiguilles d'une montre (selon la désignation de Lesins et Lesins, 1979). Il semblerait toujours selon ce même auteur que ce caractère soit lié à un seul gène.

II. 2. Classification selon Heyn

Des variations existant au niveau de plusieurs caractères de l'espèce ont été utilisées par plusieurs botanistes afin de regrouper *M. truncatula* en variétés botaniques similaires. Parmi eux nous avons Heyn (1963), qui les a classées en trois variétés :

a- *Medicago truncatula*. var. *truncatula* :

Cette première variété est caractérisée par une gousse de cinq à huit tours de spires dont la hauteur est de 7 à 12 mm et dont la longueur est supérieure à son diamètre. Les spires sont fortement collées à plat les unes aux autres. Enfin, les épines ne sont pas incurvées ou elles le sont légèrement ; elles sont

épaisses à leurs bases ; la plupart sont plutôt courtes ; elles forment un angle de 90° avec la surface des spires.

b- *Medicago truncatula* var. *longispina* :

Cette variété pour sa part, se distingue par une longueur de gousse inférieure ou égale à son diamètre et une hauteur allant de 7 à 10 mm. Les spires sont au moins au nombre de cinq, plutôt desserrées les unes des autres. Les épines sont minces, incurvées mais pas collées à plat à la gousse même lorsque la gousse est à maturité.

c- *Medicago truncatula* var. *tricycla* :

Enfin, la variété *tricycla* est particulièrement différente des deux autres, par le nombre de tours de spires de sa gousse qui va de deux tours et demi à quatre tours. De plus, ces dernières ne sont pas fortement collées les unes aux autres et leur diamètre va de 6 à 8 mm. Les épines sont légèrement divergentes et rarement collées de près à la gousse.

III. Distinction entre *M. truncatula* et *M. littoralis*

Les deux espèces que sont *M. truncatula* et *M. littoralis*, appartenant au complexe d'espèces *M. truncatula*, *M. tornata* et *M. littoralis*, sont tellement proches que plusieurs botanistes Moris (1837 in Heyn, 1963), Lowe (1868 in Heyn, 1963) et Urban (1873 in Heyn, 1963) eurent du mal à les classer, car ils étaient conscients de l'existence de spécimen qui ne pouvaient être classés dans l'une ou l'autre espèce. Pour pallier le problème, Lowe (1868 in Heyn, 1963) a tenté de classer *M. littoralis* comme étant une variété de *M. truncatula*.

Toutefois, Urban (1873 in Lesins et Lesins, 1979) a tout de même réussi à les séparer en se basant sur deux caractères qui sont :

- La taille du pédoncule qui est supérieure à celle du pétiole chez *M. littoralis*, alors que l'inverse est vrai chez *M. truncatula*.
- La suture dorsale chez les gosses matures est d'un niveau plus élevé que les veines latérales chez *M. truncatula*, tandis qu'elle est au même niveau chez *M. littoralis*

Par ailleurs, l'une des difficultés rencontrées c'est qu'en Palestine par exemple, la forme intermédiaire entre *M. truncatula* et *M. littoralis* présente des gosses similaires aux gosses de *M. truncatula* var. *longispina*, alors qu'à Chypre la forme intermédiaire présente des gosses ressemblant plutôt aux gosses de *M. truncatula* var. *truncatula*. Ce qui nous laisse penser qu'un fort taux d'hybridation existe entre *M. littoralis* et la variété de *M. truncatula* présente dans la région (Heyn, 1963).

Heyn (1963), afin de réussir à scinder définitivement les deux espèces, a effectué un échantillonnage dans des milieux où seule une des deux espèces existait, ce qui lui a permis d'étudier différents caractères morphologiques tels que :

- La longueur des branches,
- la forme des folioles, la longueur du feuillage,
- le ratio pédoncule/ pétiole,
- le nombre de fleurs par inflorescence, la forme du calice,
- les gousses (leurs diamètres, la position de la suture dorsale par rapport à la veine latérale et surtout l'angle d'insertion de leurs épines).

Les principaux résultats qui en sont ressortis sont :

- Les branches de *M. littoralis* sont situées à un niveau inférieur par rapport à celles de *M. truncatula*.
- La forme des folioles est cunéaire chez *M. littoralis* alors qu'elle est largement obovale chez *M. truncatula*
- l'angle d'insertion des épines par rapport à la surface de la spire est d'environ 90° voire un peu plus chez *M. truncatula*, alors que celui de *M. littoralis* est aux alentours de 180° ou légèrement moins.
- Les gousses de *M. truncatula* sont pubescentes (voir tab. 1).
- Le diamètre des spires de *M. littoralis* (3-7 mm) comme la longueur des folioles (3-8 mm) sont inférieurs à ceux de *M. truncatula* qui sont respectivement de (7-12 mm) et (8-15 mm).

Selon les observations de Lesins et Lesins (1979), les gousses matures de *M. truncatula* disposent de plus de tissus spongieux à leurs surfaces que *M. littoralis*, ce qui entraîne l'enfoncement de l'épine à l'intérieur de la gousse jusqu'à son extrémité dans certains cas. Par contre, chez *M. littoralis* le tissu spongieux peut être entièrement absent mais s'il existe il ne recouvre pas plus de la moitié de l'épine.

Dans le tableau 1 ci-dessous, Lesins et Lesins (1979) résumant les principales différences qui existent entre *M. littoralis* et *M. truncatula* puisqu'ils les ont regroupées en quatre points :

- La position relative de la suture dorsale par rapport à la veine latérale : elle est supérieure chez *M. truncatula*.
- l'angle d'insertion des épines : il est très variable chez *M. truncatula* mais la majorité possède un angle d'insertion intermédiaire entre 90 et 180°.
- les poils sur les gousses : les gousses de *M. truncatula* sont dans la plupart des cas (91 %) glabres.
- l'insertion des épines dans le tissu spongieux : dans 98 % des cas, plus de la moitié de l'épine est recouverte par le tissu spongieux chez *M. truncatula*.

Tableau 1 : Tableau représentant les différences de caractères des gousses de *M. truncatula* et *M. littoralis* (Lesins et Lesins, 1979)

Espèce	La position relative de la suture dorsale par rapport à la veine latérale (%)		Angle d'insertion des épines (%)			Poils sur les gousses (%)		Insertion des épines dans le tissu spongieux (%)		
	Supérieure	Même niveau	90°	180°	Intermédiaire	Absents	Présents	absent	A moitié	Plus de la moitié
<i>M. truncatula</i>	89	11	20	16	64	91	9	0	2	98
<i>M. littoralis</i>	8	92	0	31	69	2	98	58	30	12

IV. Répartition des *M. truncatula* Gaertn.

IV.1. A travers le monde

Selon Heyn (1963), Lesins et Lesins (1979), *M. truncatula* serait présent au Portugal, en Espagne, en Corse, en Sardaigne, en Italie, en Yougoslavie, en Grèce et au niveau de ses Archipels, en Turquie, à Chypre, en Syrie, au Liban, en Palestine, à l'île de Madère (Portugal), aux îles Canaries, au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Egypte et dans la région du Caucase. *M. truncatula* est considéré comme étant une plante adventice dans une partie du centre et du nord de l'Europe.

Selon Nègre (1961), il serait présent dans le bassin méditerranéen de Madère à l'Iran. Tutin *et al.* (1968), pour leur part, ont noté que son aire de présence est la région méditerranéenne avec des foyers dans l'Ouest de la France et au Portugal. Jafri et El Gadi (1980) ont également signalé qu'il a une distribution méditerranéenne en plus d'une présence dans les régions saharo-arabes jusqu'en Syrie.

Pour Chaulet (1995), le centre d'origine des luzernes (pérennes et/ou annuelles) est situé dans le croissant fertile et leur aire de diversification et le bassin méditerranéen.

Enfin, pour Ellwood (2006), elle est une espèce native du Bassin Méditerranéen mais elle s'est largement propagée à travers le monde suivant les flux migratoires des populations européennes.

En conclusion, nous pouvons clairement dire que l'espèce est originaire du Bassin Méditerranéen au vu de son aire de répartition comme s'accordent à le dire les auteurs sus-cités. Toutefois, cette aire s'est vue élargie en raison des flux migratoires des populations et de leurs bétails, en plus de l'intérêt que *M. truncatula* s'est vue accordée par les différents chercheurs.

IV.2. En Algérie

Quezel et Santa (1962) ont rencontré l'espèce sur les sables maritimes et de l'intérieur et dans le tell. Selon Adem (1974), *M. truncatula* aurait été trouvé dans les zones assez arides notamment les zones steppiques.

Enfin, Nègre (1956) a déclaré que *M. truncatula* est une espèce commune dans le Maghreb et possède une large répartition en Algérie. Ce qui explique qu'elle ait été prospectée dans toutes les zones agroclimatiques du territoire national (Abdelguerfi *et al.*, 1988).

V. Habitat

V.1. Altitude

Selon Abdelguerfi et Laouar (1999), *M. truncatula* serait fortement présent à haute altitude. De fait pour Abdelguerfi (1978), l'espèce ne semble être très présente qu'au delà de 100 m d'altitude. Pour sa part, Seklani *et al.* (1996) a signalé que *M. truncatula* se trouverait en Tunisie entre 250 et 575 m d'altitude. Cependant, sa fréquence diminuerait au-delà de 800 m (Abdelguerfi, 1978 ; Zeghida, 1987).

Ceci est en opposition avec les résultats de Nègre (1956), de Carneiro et Serrão, (1996) et de Posperi *et al.* (1995). En effet, Nègre (1956) a trouvé que l'espèce étudiée au Maroc était absente des sommets rifins et atlasiques, tandis que Carneiro et Serrão (1996) ont trouvé que l'espèce n'était présente au Portugal qu'à des altitudes inférieures à 300 m. Enfin, pour Posperi *et al.* (1995) elle serait présente en France qu'à de basses altitudes.

V.2. Pluviométrie

Il semblerait également que les *M. truncatula* en Algérie se trouvent sous toutes les pluviométries (Adem, 1974 ; Abdelguerfi, 1978) contrairement à ce qu'ont signalé Carter (1975 *in* Abdelguerfi, 1978), Zeghida (1987), Carneiro et Serrão (1996), Seklani *et al.* (1996). En effet, pour Carter (1975 *in* Abdelguerfi, 1978), ils ne se trouveraient qu'entre 150 et 450 mm. Pour Zeghida, (1987), ils seraient concentrés entre les isohyètes 250 et 1000 mm, pour Carneiro et Serrão, (1996), ils ont été relevés à une pluviométrie comprise entre 500 mm et 899 mm avec plus de 66 % entre 700 et 900 mm. Enfin, pour Seklani *et al.* (1996), ils se trouveraient entre 250 et 400 mm de pluies.

Bouedjmate, (1996) a révélé qu'au Maroc la fréquence de l'espèce *M. truncatula* augmenterait entre les isohyètes 300 et 600 mm et les sites sur lesquels l'espèce était présente connaissent une pluviométrie moyenne de 433 mm.

Au Maroc, Mc Comb (1986 *in* Rekika, 1993) limite la présence de *M. truncatula* var. *tricycla* aux régions recevant annuellement moins de 300 mm de pluie. Boumard (1989 *in* Rekika, 1993) relève qu'en Espagne, l'espèce se retrouve dans les zones les moins arrosées.

Selon Chaulet, (1995), *M. truncatula* var. *tricycla* serait effectivement présente dans les zones les moins arrosées de l'Algérie.

Toujours selon Seklani *et al.* (1996), les pluies et l'altitude seraient les variables les plus discriminantes pour la répartition des espèces de *Medicago* annuelles. Alors que pour Bouedjmate (1996), l'espèce *M. truncatula* serait indifférente aux conditions édapho-climatiques.

V.3. Sol

Pour ce qui est des sols sur lesquels les *M. truncatula* sont les plus répandues, il semblerait qu'il y ait une préférence pour les sols à texture moyenne à fine. Néanmoins, elles ne sont pas absentes des sols à

texture grossière. Ceci rejoint les résultats de, Andrew et Hely (1960 *in* Mefti, 2001), Heyn (1963), Carneiro et Serrão (1996), d'une part, et de Adem (1974) et Carter (1975 *in* Abdelguerfi, 1978) d'autre part. Ceux-ci ont trouvé respectivement cette espèce sur les sols alluviaux, les terres noires et les « terra rosa » de fine texture voire parfois plus ou moins gypseux. Pour Le Houerou (1959 *in* Rekika, 1993), les *M. truncatula* se retrouveraient sur les sols alluviaux et basaltiques et les sols lourds à moyens. Ces résultats sont en concordance également avec les résultats de Nègre (1961), qui a trouvé que *M. truncatula* préférait les sols de limons fins ou d'argiles assez humides.

Selon les travaux de Abdelguerfi (1978), l'espèce préfère les sols assez calcaires (plus de 20 % de Ca total) mais pauvres en sodium, bien qu'elle tolère les teneurs élevées en sodium (400 ppm). Ces résultats ont été confortés par ceux de Prospero *et al.* (1995). En effet, ce dernier a affirmé que l'espèce préférait les sols à texture fine et riche en calcaire puisque selon lui *M. truncatula* se présente sur les sols lourds, marneux et argileux. On notera également que Carneiro et Serrão (1996) dans leurs travaux ont trouvé que l'espèce *M. truncatula* était présente surtout sur les sols alluvionaux et calcaires au Portugal.

Par ailleurs, les travaux de Glatzel (1985 *in* Mefti, 2001), effectués au Maroc, montrent que l'espèce semble adaptée à une large gamme de conditions édapho-climatiques ce qui ne contredit pas les auteurs sus-cités.

V.4. pH

Selon Adem (1974), Prospero *et al.* (1989 *in* Rekika, 1993), *M. truncatula* préférerait les sols alcalins à pH allant de 7.6 à 8.6 et les luzernes annuelles seraient absentes à pH de 5.7 (Andrew et Hely, 1960 *in* Adem, 1974). Pour Bounedjmate (1996) l'espèce a également une réponse variable aux sols acides. De fait, elle croît en association avec *M. polymorpha* sur sols alcalins lourds (Ewing 1983 *in* Rekika, 1993).

VI. Intérêt de *Medicago truncatula*

Du fait de l'appartenance de *M. truncatula* au groupe des luzernes annuelles, les chercheurs s'y sont intéressés depuis un certain nombre d'années, afin de trouver une alternative, d'une part à la luzerne pérenne *M. sativa* qui est, selon eux, trop exigeante en eau et pas suffisamment productive en cas de sécheresse, surtout dans les pays à été chaud et sec, et d'autre part, à la jachère travaillée dont les méfaits sont nombreux.

A partir de là, un certain nombre d'études ont révélé l'intérêt de ces annuelles. En effet, selon Adem (1974), les luzernes annuelles permettent de lutter contre l'érosion puisqu'elles se ressèment naturellement. Ceci entraîne un couvert végétal quasi permanent, dans le cas des assolements blé-luzerne annuelle, par la même occasion une meilleure conservation et un accroissement des réserves organiques.

Des travaux ont été menés par Poste (1969 *in* Adem, 1974) en Australie occidentale, sous une pluviométrie de 300 à 350 mm et sur un sol limono-sableux, afin de comparer 3 luzernes annuelles, un trèfle souterrain et une luzerne pérenne. Après 4 années d'exploitation par le pâturage, les rendements en blé ont été relevés et sont exprimés en pourcentage des rendements obtenus après végétation spontanée (tab. 2). Il est constaté que l'arrière effet de la luzerne pérenne est moindre que celui des luzernes annuelles.

Tableau 2 : Tableau représentant les rendements de la culture de blé suivant les précédents cultureaux (Poste, 1969 *in* Adem, 1974)

Précédent cultural	Rendements en blé	
	1 ^{ère} année	2 ^{ème} année
<i>M. truncatula</i>	132	118
<i>M. littoralis</i>	132	138
<i>M. scutellata</i>	120	118
Trèfle souterrain	131	130
Luzerne	118	116
Végétation spontanée	100	100

Tadmor (1971 *in* Adem, 1974), pour sa part, a étudié dans le désert du Negev sous une pluviométrie de 90 mm les possibilités de valoriser les eaux de ruissellement par des espèces annuelles. Parmi les espèces testées, les *Medicago* annuelles se sont révélées très intéressantes puisqu'elles ont produit sur 9 ans 20 tonnes de matières vertes/ha et 3 à 5 tonnes de matière sèche/ha. D'autre part, les espèces testées (*M. hispida*, *M. truncatula*, *M. rotata* et *M. scutellata*) avaient une très bonne persistance après neuf ans.

Après les luzernes annuelles les blés sont plus propres, car les ovins qui les pâturent préfèrent les graminées aux *Medicago*. Les *Medicago* qui subsistent seront éliminées par un désherbage approprié (Adem, 1974).

Il a été constaté également que les blés étaient moins sensibles aux parasites notamment les *Rhizoctonia*. Ceci s'explique par le fait que le sol après une culture de *Medicago* est très bien structuré engendrant un meilleur enracinement de la culture suivante (Adem, 1974).

Une simplification des travaux du sol est également constatée, puisque le labour est supprimé avant fourrage et au printemps si la culture de luzerne est conduite à la place d'une jachère travaillée. De ce fait, une économie d'énergie et d'engrais azotés (grâce à la fixation symbiotique) est réalisée.

Pour ce qui est de l'intérêt zootechnique des luzernes annuelles, il n'est plus à démontrer car, d'une part, ce sont des plantes à très fortes valeurs nutritives (Riker, 1973 *in* Adem, 1974 ; Launders, 1971 *in* Adem, 1974) (tab. 3) et, d'autre part, parce qu'elles procurent un fourrage directement pâturable par les petits ruminants dont les effets apparaissent visiblement sur le poids vif des agneaux qui les préfèrent aux jachères pâturées (Taaroufi, 1972 *in* Abbas *et al.*, 2006).

Tableau 3 : Composition chimique de différentes plantes fourragères (Riker, 1973 *in* Adem, 1974 ; Lauanders, 1971 *in* Adem, 1974)

Espèces	Humidité (%)	Protéines brutes (%)	Cellulose brute (%)	Cendres (%)	Extractif non azoté (%)	Matière grasse (%)
<i>M. hispida</i>	10.1	12.6	26.3	7.2	41.2	3.1
<i>M. truncatula</i>	14.7	19.8	20.6	10.3	32.4	1.6
Luzerne pérenne	10.9	14.5	26.1	8	38.1	2.3

M. truncatula, qui est moins exigeant en eau, apparaît comme étant plus riche en protéines que la luzerne pérenne qui elle est très demandeuse de fortes doses d'irrigation.

M. truncatula est aussi très intéressant sur le plan de la digestibilité puisqu'il a le plus faible taux de cellulose brute. Cette digestibilité élevée est obtenue par une coupe avant floraison (Pearce, 1969 *in* Adem, 1974).

La valeur nutritive des gousses de *M. truncatula* s'avère également très intéressante pour les cheptels pâturant entre Juin et Octobre dans les zones semi-arides, puisqu'elles sont composées de 67.5 % de protéines et de 17.9 % de cellulose brute (Vercoe et Pearce, 1969 *in* Adem, 1974).

M. truncatula a une teneur en œstrogène dont l'intérêt est certain, puisqu'il a été constaté un rallongement des tétines des brebis nourries à base de cette plante. Les tests ont montré que *M. truncatula* est équivalent à 55 ppm de Coumestrol (Millinton, 1964 *in* Adem, 1974).

De ce fait, selon Crawford *et al.* (1989 *in* Ellwood, 2006) et pour les raisons que nous venons de donner, plus de 50 millions d'hectares utilisent les *Medicago* dans le système céréale-pâturage ley-farming.

Enfin, depuis l'avènement de la biologie moléculaire l'espèce *Medicago truncatula* a réussi à attirer l'attention des chercheurs et dès lors son statut a évolué. En effet, la plante s'est hissée au rang de plante modèle au niveau génomique et moléculaire pour les études biologiques sur les légumineuses (Cook, 1999 ; Kulikova *et al.*, 2001 ; Oldroyd et Geurts, 2001 *in* Wang et Grusak, 2005 ; Thoquet *et al.*, 2002 *in* Ellwood, 2006 ; Young *et al.*, 2003 ; Ané *et al.*, 2008). Ceci s'explique par la petitesse de son génome entre 460 Mb et 550 Mb (selon les auteurs) qui plus est organisé de manière efficiente (Kulikova *et al.* 2001 ; Kulikova *et al.*, 2004 *in* Mun *et al.*, 2006), sa nature diploïde et quasi autogame ($2n=16$) et par son cycle de vie relativement court.

De ce fait, les luzernes annuelles de manière générale et *M. truncatula* en particulier permettraient de remplacer en Algérie la jachère travaillée du printemps qui à elle seule occupait près de 880 000 ha en 2006 et 948 177 ha en 2009 soit environ 10 % de la superficie agricole utile (MADR, 2006 ; 2009). Ceci est d'autant plus intéressant, lorsqu'on connaît les dégâts et les inconvénients de cette dernière, en l'occurrence, l'absence de pâturage, l'érosion, la destruction de la matière organique, et contrairement à

ce que l'on pense les pertes en eau. Elles permettraient alors aussi bien d'augmenter la production laitière qu'animale en procurant un aliment de qualité riche en protéine.

Les différences certaines existant au sein de l'espèce *M. truncatula* constituant les différentes variétés et citées par plusieurs auteurs tels qu'Urban (1873 in Lesins et Lesins, 1979), Heyn (1963), Lesins et Lesins (1979) nous amènent à parler de la diversité biologique et de son importance au niveau mondial.

Chapitre II : Diversité biologique

I. Définition de la diversité biologique ou biodiversité

La biodiversité a été remarquée dès l'Antiquité. Lorsqu'on observe le monde vivant, on constate que les êtres sont différents les uns des autres (Gouyon, 1994).

Diverses définitions et explications plus ou moins équivalentes, plus ou moins développées ont été données à la biodiversité par la communauté scientifique. Nous relèverons parmi celles-ci :

Tout d'abord, celle donnée par la *Convention de Rio sur la Diversité Biologique* (C.D.B.) en 1992, le terme diversité biologique signifie **la variabilité des organismes de toute origine** y compris, entre autres, les écosystèmes terrestres, marins et autres écosystèmes aquatiques et les complexes écologiques dont ils font partie ; cela comprend la diversité au sein des espèces et entre espèces ainsi que celle des écosystèmes.

Ensuite, pour Gouyon (1994), la biodiversité s'observe à quatre niveaux :

- Le premier est la complexité, la biodiversité est effectivement un ensemble de phénomènes qui évoque la complexité. Pour expliquer ce concept il évoque la comparaison entre un éléphant et une bactérie, l'éléphant à lui seul compte plus de diversité qu'une bactérie car il comporte plus de lignées cellulaires ;
- Le second est la plasticité : en effet, un même organisme peut produire plusieurs formes en fonction de l'environnement ;
- Le troisième est la composante génétique, c'est-à-dire l'existence de génotypes différents ;
- Le quatrième c'est la richesse spécifique qui est étudiée en écologie.

Enfin, pour Hazard *et al.* (2004) la biodiversité se décline classiquement en 3 niveaux : écosystémique, spécifique et génétique. La diversité génétique au sein d'un groupe d'individus d'une même espèce quantifie la part héritable des différences observées entre ces individus. Elle résulte de différences entre gènes exprimés. Bien que présentée comme comprenant trois niveaux, la diversité spécifique et le concept d'espèce prédominent lorsqu'il s'agit de caractériser la biodiversité. La diversité génétique est prise en compte lorsqu'il s'agit de protéger des espèces ou des populations menacées afin de palier les effets négatifs de la consanguinité qui peuvent précipiter leur disparition.

Toutefois, beaucoup ne voient en la biodiversité qu'une résurgence de domaines d'étude périmés : zoologie, botanique, systématique, histoire naturelle. Pour les tenants exclusifs des disciplines dures, biochimie, biologie moléculaire et cellulaire, pour le monde médical, passé l'effet d'annonce, la mode s'évanouira (David, 1997).

II. Sources de la biodiversité

La biodiversité est analysée dans les populations naturelles, les communautés écologiques, les écosystèmes. La biologie moléculaire a permis de connaître les parentés entre espèces et d'établir les

phylogénies. Elle a révélé un extraordinaire polymorphisme des populations naturelles. L'outil génétique fournit des marqueurs précieux pour analyser la structure des populations dans l'espace et le temps (David, 1997).

L'étude des communautés implique de comprendre les caractéristiques morphologiques, physiologiques et comportementales de chaque espèce, caractéristiques définies au niveau des phénotypes mais qui ne se ramènent pas à une analyse génétique simple. Enfin, au niveau des écosystèmes, les interactions sont encore plus nombreuses et complexes (David, 1997).

Les niveaux successifs d'intégration des processus biologiques (molécules, cellules, organismes, populations et écosystèmes) font apparaître des propriétés émergentes qui ne se déduisent pas des propriétés des niveaux inférieurs. Rappelons que c'est au niveau des populations que s'exerce la sélection naturelle, moteur essentiel de l'évolution, et que s'est organisée la biodiversité. Si les propriétés émergentes ne sont guère prévisibles, elles n'en sont pas moins fondées sur les caractéristiques des niveaux inférieurs et programmées par les génomes (David, 1997).

Le terme de "flux de gènes" (ou "flux génique" ; en anglais *gene flow*) est généralement employé pour désigner le passage efficace de gènes d'une population dans une autre (Futuyama, 1998 *in* Ronfort *et al.*, 2005). Il peut également s'appliquer aux échanges de gènes entre individus au sein d'une même population. Les flux géniques ont généralement lieu au sein d'une même espèce, bien que différents exemples de flux de gènes interspécifiques existent (Arnold, 1997 *in* Ronfort *et al.*, 2005). Dans tous ces cas, ils jouent un rôle majeur dans l'organisation spatiale de la diversité génétique et représentent à ce titre une force évolutive importante. Chez les plantes, **les flux de gènes** résultent de la pollinisation, de la dispersion des graines et, éventuellement, de la dispersion de propagules ou d'organes végétatifs. Les modalités de dispersion des graines et du pollen dépendent de nombreux paramètres : certains liés à la biologie de l'espèce, d'autres aux caractéristiques environnementales inhérentes aux sites et aux populations concernées. Appréhender les flux de gènes nécessite donc des études au cas par cas pour chaque espèce. L'étude des modalités de flux géniques chez les plantes cultivées est relativement récente et concerne principalement : i) la détermination de la distance minimale à respecter entre champs cultivés pour éviter que leurs plantes n'échangent du pollen et, ii) l'analyse des possibilités de flux de gènes depuis les champs cultivés vers les formes sauvages apparentées, présentes dans le milieu naturel. Au cours des dernières années, ces études se sont intensifiées pour évaluer les risques liés à la culture de plantes transgéniques (Jenczewski *et al.*, 2003 *in* Ronfort *et al.*, 2005 ; Ellstrand, 2003 *in* Ronfort *et al.*, 2005).

III. Menaces pesant sur la biodiversité

Nous commencerons cette partie par deux citations, la première est de Maris (2010) : « A l'origine de la crise actuelle de la biodiversité, il y a des choix humains : surconsommation, intensification de

l'agriculture, gaspillage énergétique. Mais si le problème environnemental était d'un tout autre ordre ? S'il résidait d'abord dans les représentations et les valeurs sur lesquelles s'est fondée notre modernité ? Quelle est la place des êtres humains dans la nature ? Quelles sont leurs responsabilités à son endroit ?... »

La seconde est de Pascal (2008) : « *Extinction is forever !* C'est vraiment la seule chose durable prévisible ... »

Plusieurs raisons peuvent expliquer la disparition de certaines espèces et populations naturelles, nous avons bien sûr des effets liés à la sélection naturelle qui entraîne la perte progressive de certaines espèces, mais nous avons également des effets anthropiques qui eux accélèrent et accentuent cette perte de la biodiversité, qui comme l'a signalé Pascal en 2008 est irréversible.

On relèvera donc les cas d'origine humaine les plus parlants qui ont été notés jusqu'ici et qui ont fait prendre conscience à la communauté scientifique du monde entier de l'importance de prendre en compte la biodiversité d'un milieu donné avant de prendre une décision quelconque. Ceci est d'autant plus vrai dans les milieux et zones sensibles comme les zones arides ou semi-arides, où nous nous trouvons, qui sont déjà malmenées par le climat rude qui y sévit et avec tout ce qu'elles connaissent comme érosion éolienne, hydrique etc.

Cette prise de conscience est d'ordre mondial, car en effet, l'histoire et la géographie de l'agriculture et de l'amélioration des plantes sont à l'origine des enjeux économiques et politiques de la conservation des ressources génétiques. En effet, les principaux producteurs de plantes alimentaires et industrielles (firmes multinationales et pays industrialisés) dépendent des Etats du Tiers-Monde car ces derniers renferment la plus grande partie de la diversité phytogénétique. Des chiffres sont avancés, parfois excessifs, mais ils traduisent bien la réalité du problème. Ainsi d'après Brac de la Périère (1990 *in* Chaulet, 1995), l'Australie et les Etats-Unis en dépendent complètement, l'Europe en dépendrait à 90%. Cela tient au fait que les centres d'origine de la majorité des espèces cultivées se situent au Proche Orient, en Afrique, en Chine, en Asie Occidentale, dans les îles du Pacifique, en Amérique Centrale et en Amérique du Sud, selon les travaux de Vavilov et ceux de Harlan (Pernès et Lourd, 1984 *in* Chaulet 1995).

Les catastrophes que la biodiversité a connues sont également mondiales et remontent déjà à un certain nombre d'années. Au nombre des facteurs d'origine anthropique identifiés actuellement comme responsables de cette érosion, figure en seconde place, après la modification des milieux, l'introduction de taxons hors de leur aire de répartition spontanée (Pascal *et al.*, 2000).

Vers les années 1960, des groupes de scientifiques ont souligné les menaces concernant les ressources génétiques végétales (Pernès, 1984). En 1970, les ravages causés par l'helminthosporiose sur les cultures de maïs aux USA ont permis de mettre en évidence la vulnérabilité des cultures modernes (Jain, 1977 *in* Chaulet, 1995).

Les progrès considérables réalisés en amélioration des plantes, pour répondre entre autres aux exigences des utilisateurs ou des consommateurs, ont abouti à une "triple raréfaction génétique" : moins d'espèces cultivées, moins de cultivars par espèce et moins de polymorphisme génétique intra-cultivar (Jain, 1977 *in* Chaulet, 1995 ; Pernès, 1984). De ce fait, les plantes sont moins capables de réagir positivement aux aléas d'un environnement qui change sans cesse. Parce qu'elles sont devenues performantes sur le plan agronomique, la majorité des plantes cultivées ont dépassé leurs zones d'origine et prennent la place d'anciennes espèces cultivées (Brown, 1978 *in* Chaulet, 1995). Par la suite, les variétés locales ont souvent été remplacées par de nouvelles variétés (Brac de la Périère, 1990 *in* Chaulet, 1995). A ce propos, Abdelkefi *et al.* (1996) ont relevé qu'en Tunisie l'installation de l'agriculture européenne, performante grâce au machinisme, à l'innovation technique et tout particulièrement à l'utilisation des « variétés à haut rendement » avait contribué à réduire dangereusement la base de la variabilité génétique des Blés, alors que la Tunisie, a été reconnue par Vavilov, lors de son passage en 1925, comme centre de diversification secondaire des Blés et qu'elle recelait une gamme de variétés très étendue et adaptée aux différentes conditions climatiques et édaphiques (Vavilov, 1951 *in* Abdelkefi *et al.*, 1996).

Par ailleurs, 75 % de la production mondiale de soja provient des Etats-Unis et dérive seulement de 6 génotypes introduits de Chine d'où l'espèce est originaire, selon les travaux de Harlan (Jain, 1977 *in* Chaulet, 1995).

D'autres pratiques qui ont induit la perte de la biodiversité au niveau Maghrébin ont pu être relevées par Abdelkefi *et al.* (1996), nous noterons donc entre autres :

- L'expansion spatiale de l'agriculture européenne qui avait eu pour conséquences le refoulement des populations locales vers des zones fragiles (particulièrement les versants), entraînant une forte pression sur le couvert végétal et ouvrant ainsi la voie à l'érosion sous toutes ses formes. Cette extension territoriale s'était exercée lourdement, grâce à la motorisation, sur les zones de parcours et le domaine forestier. Le défrichement avait entamé dangereusement le fragile équilibre écologique existant dans les différents étages bioclimatiques. La pratique de la culture sèche ou *dryfarming* associée à la dénudation des sols, sans restitution d'éléments fertilisants, exposaient les couches arables aux différents agents érosifs et épuisaient rapidement leur fertilité ;
- Le pastoralisme en Tunisie centrale et méridionale, ou encore en Algérie participe pour une large part dans l'érosion génétique. Le surpâturage contribue à une raréfaction d'espèces vivaces et à une élimination sélective des plantes annuelles appréciées avant leur fructification ;
- Le déboisement, pour le charbonnage ou l'usage domestique, ou pour d'autres raisons touche particulièrement les végétaux ligneux ;
- La surexploitation de la nappe alfatière a fait régresser ses superficies ;

- L'installation d'une culture arboricole sur d'ancienne steppe a entraîné un déséquilibre profond du milieu, donnant prise à l'érosion éolienne et à la formation de dunes de sables mobiles (Nabli, 1989 *in* Abdelkefi *et al.*, 1996) ;
- La mécanisation entretient, facilite et élargit le rayon d'action de la céréaliculture itinérante et épisodique dans un système steppique ne supportant nullement l'utilisation de la charrue tractée. Le labour profond dans ces régions, en plus de la dégradation systématique et irrémédiable du couvert végétal, expose les sols dénudés aux différents agents érosifs. Sur un sol où la couverture végétale est réduite après l'été, les violents orages d'automne provoquent un ruissellement important entraînant une perte considérable de sol arable (suivant les cas de 2 à 3 t/ha soit 0,15 à 0,23 mm/an jusqu'à 20 t/ha soit 1,5 mm/an) (Le Houérou, 1969 *in* Abdelkefi *et al.*, 1996). La machine, instrument indispensable pour améliorer la productivité, n'est donc pas un outil neutre, elle peut avoir des effets pervers dans un écosystème à équilibre fragile.

La mondialisation a également un rôle dans la dégradation et la perte de la diversité, c'est ce qui ressort du projet de rapport de la commission de l'agriculture et du développement rural du parlement européen datant du 29-10-2010. En effet, l'Union accuse un déficit en protéagineux dû aux accords du GATT et du Blair House de 1992. De fait, un retard y a été accusé et, en une décennie, une baisse de 30 % de la production des légumes secs et de 12 % en soja. Dès lors, la superficie des terres arables dédiée aux protéagineux n'excède pas les 3 % et la production consommée au sein de l'Union ne dépasse pas les 30 %. Donc 70 % des protéagineux consommés au sein de l'Union proviennent essentiellement des importations du Brésil et des USA, sous forme de tourteaux de soja et de gluten de maïs. Cette forte dépendance de l'extérieur et la forte volatilité des produits agricoles que connaissent les marchés mondiaux ont contraint l'Union sous couvert de protection de l'environnement, à lancer un programme de relance des protéagineux **locaux**. En effet, pour produire ce dont a besoin l'Union il faut environ 20 millions d'hectares issus entre autres de la destruction de la forêt amazonienne entraînant une perte de la biodiversité et un accroissement des gaz à effet de serre. De plus, ce programme révèle qu'en plus de protéger la diversité aussi bien au niveau européen que mondial, il permet par exemple à la France un gain d'environ 100 millions d'euros par an d'engrais.

Fort heureusement, la mouvance pour la protection de la diversité s'est vite étendue ensuite, car des études ont montré que l'impact de ces actes n'allait pas être ressenti à un niveau régional mais plutôt à un niveau mondial. Elle a fait prendre conscience à la communauté mondiale, de la valeur intrinsèque de la diversité et de ses éléments constitutifs sur les plans environnemental, génétique, social, économique, scientifique, éducatif, culturel, récréatif et esthétique. Elle a également permis une prise de conscience quant à l'importance de la diversité biologique pour l'évolution et pour la préservation des écosystèmes qui entretiennent la biosphère.

IV. Importance de la protection de la biodiversité

L'enjeu de la gestion de la biodiversité peut être représenté par un domaine de "viabilité" ; deux limites encadrent ce domaine et correspondent à trop ou trop peu de brassage génétique, limites au-delà desquelles le potentiel adaptatif des espèces est en danger (Hazrad *et al.*, 2004).

C'est à la fin des années quatre-vingts, début des années quatre-vingt-dix, qu'un mouvement de préservation de la nature et de la vie sous toutes ses formes se concrétisait dans un cadre légal. Ce mouvement allait dans le sens contraire des pratiques de l'époque qui tendaient à normaliser, uniformiser voire breveter le vivant, ce qui menaçait la diversité des espèces végétales, animales, microbiennes, ainsi que les écosystèmes qu'elles composaient.

Selon le préambule de la C.D.B. de 1992, chaque partie contractante :

Affirmant que la conservation de la diversité biologique est une préoccupation pour toute l'humanité,

Réaffirmant, que les Etats sont souverains sur les ressources biologiques,

Réaffirmant également que les Etats sont responsables de la conservation de leur diversité biologique et de l'utilisation durable de leurs ressources,

Préoccupée par le fait que la diversité biologique s'appauvrit par suite de certaines activités de l'homme et conscientes du fait que les renseignements et les connaissances sur la diversité biologique font généralement défaut et qu'il est nécessaire de développer d'urgence les moyens scientifiques, techniques et institutionnels propres à assurer le savoir fondamental nécessaire à la conception des mesures appropriées et à leur mise en œuvre,

Notant en outre que la conservation de la diversité biologique exige essentiellement la conservation *in situ* des écosystèmes et des habitats naturels ainsi que le maintien et la reconstitution de populations viables d'espèces dans leur milieu naturel, sans oublier les mesures *ex situ*, de préférence dans le pays d'origine, qui revêtent également une grande importance,

Consciente du fait que la conservation et l'utilisation durable de la diversité biologique revêtent la plus haute importance pour la satisfaction des besoins alimentaires, sanitaires et autres de la population de la planète, qui ne cesse de croître, et que l'accès aux ressources génétiques et à la technologie ainsi que leur partage sont de ce fait indispensables,

Déterminée à conserver et à utiliser durablement la diversité biologique au profit des générations présentes et futures.

Se doit, sous réserve de la législation nationale et en coopération avec d'autres parties contractantes, selon qu'il convient, de conserver, de prospecter, de collecter, de caractériser, d'évaluer et de mettre en place une documentation sur les ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, 2009).

Dans les années 1970, de nombreuses campagnes de récolte d'échantillons ont été réalisées, à travers le monde, en privilégiant la quantité des lots à la qualité des semences ou des informations relatives à ces dernières (Cauderon, 1980 *in* Chaullet, 1995). Très vite, des dizaines de milliers d'échantillons ont été stockés dans des banques de gènes, mais ils n'ont pas été utilisés pour des raisons financières notamment. Le niveau réel d'emploi est inférieur à 1 % du contenu des collections (Hamon *et al.*, 1993 *in* Chaullet, 1995). Il est alors apparu nécessaire d'avoir des collections de petite taille, contenant un minimum de redondance tout en permettant la meilleure représentation possible de la diversité génétique totale, c'est la notion de "core collection".

C'est dans ce cadre là que s'insère notre travail. Il fait suite à un travail de prospection, d'établissement de collection, de conservation *ex situ* réalisé depuis 1976 de la part du Pr. Abdelguerfi A. au niveau de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA ex : INA). Il consiste dans un premier temps à étudier et à caractériser le phénotype de 81 populations réparties sur 520 individus issus de cette prospection (1976).

Dans un deuxième temps, il nous permettra d'étudier le génotype de la plante et sa variabilité par *la technique des microsatellites* (qui sera décrite ultérieurement), surtout que de nombreux auteurs, dont Prospero et Génier (1996), ont révélé que la diversité génétique exploitable pour des programmes de sélection apparaît particulièrement importante chez les espèces fourragères et, depuis de nombreuses années, celle des populations naturelles est d'ailleurs largement prospectée. En effet, **les populations naturelles de ces espèces** représentent aussi une source originale et essentielle de variabilité, en raison de l'importance de l'adaptation environnementale chez les plantes fourragères (Prospero et Génier, 1996). De fait, chez les plantes fourragères, la variabilité génétique disponible est plus importante que chez d'autres espèces de grande culture (céréales, maïs, oléoprotéagineux ...).

Enfin, le but de notre travail sera de multiplier les génotypes qui ont été obtenus dans une serre de l'Institut National de Recherche Agronomique -INRAA (Conservation *ex situ*), en vue d'approfondir nos recherches.

Ceci nous amène au dernier chapitre de notre étude bibliographique qui porte sur les différentes techniques de biotechnologie végétale.

Chapitre III : Techniques de biotechnologie végétale

I. Définition de la biotechnologie

Quand on parle de biotechnologies, l'esprit se tourne tout de suite vers les produits transgéniques, c'est-à-dire vers les OGM (organismes génétiquement modifiés). La technique avec laquelle on produit les OGM est l'ingénierie génétique. Mais, dans le champ des biotechnologies entrent également les cultures *in vitro* et l'analyse génomique (Rotili, 2001).

Selon l'article 2 de la C.D.B. (1992), la biotechnologie c'est toute application technologique qui utilise des systèmes biologiques, des organismes vivants ou des dérivés de ceux-ci, pour réaliser ou modifier des produits ou des procédés à usages spécifiques.

II. Objectif des biotechnologies végétales

L'objectif étant d'obtenir de meilleurs résultats en terme de quantité et de qualité, la plupart des applications développées actuellement concernent la résistance aux herbicides, la protection des cultures contre les maladies et les ravageurs, l'amélioration des critères technologiques et la production de molécules à haute valeur ajoutée (industrie, médecine) (Goupillon, 1996).

III. Extraction d'A.D.N.

De manière simpliste, l'extraction d'ADN nécessite le respect des étapes suivantes (NIAR, 1998) :

- 1- Broyage des tissus ;
- 2- Extraction de l'ADN à l'aide d'un tampon d'extraction comprenant un agent tensio-actif CTAB par exemple [agent qui a la capacité d'abaisser l'énergie libre des interfaces (huile/eau)] ;
- 3- Destruction et élimination des impuretés telles que les pigments et les protéines à l'aide de chloroforme (phénol/chloroforme), etc. ;
- 4- Précipitation de l'ADN ;
- 5- Rinçage de l'ADN et élimination de l'agent tensio-actif et des sels ;
- 6- Nouvelle dissolution de l'ADN ;
- 7- Décomposition de l'ARN à l'aide d'ARNase.

En réalité la quantité et la composition en polysaccharides et en composés phénoliques varient en fonction du type de plante. La meilleure méthode d'extraction peut donc échouer si l'on change de plante.

Par exemple, si la plante contient une large quantité de composés phénoliques, un agent réducteur ou un adsorbant de composés phénoliques est ajouté au tampon d'extraction(TE).

Différents protocoles peuvent être élaborés en faisant varier seulement les composants du tampon d'extraction.

Nous noterons tout d'abord que si l'agent tensio-actif du TE est le CTAB, l'ADN pourra être séparé des impuretés comme les polysaccharides et les protéines par le changement de la concentration des sels de la solution (exemple NaCl de 0.5M à 0.7M). De cette manière on obtient un ADN fortement purifié sans utiliser de résidus phénoliques. Par ailleurs, l'ajout d'un antioxydant, d'un agent réducteur et d'un adsorbant de composés phénoliques au niveau du TE est souvent judicieux dans le cas de plantes fortement composées de phénols.

Ensuite, l'utilisation d'agent tensio-actif anionique SDS, peut être une solution dans le cas de cellules riches en polysaccharides, car la méthode CTAB dans ce cas de figure pourrait ne pas extraire un ADN fortement purifié.

Enfin, une méthode d'extraction à l'aide d'un protocole CTAB amélioré, consisterait à mettre les échantillons dans un TE avec une pression osmotique ajustée afin d'éviter l'éclatement du noyau, puis à rincer à plusieurs reprises à l'aide d'un tampon de lyse afin d'éliminer les impuretés du cytoplasme. Ce n'est qu'après le rinçage que le TE composé de CTAB est ajouté afin de détruire le noyau et libérer l'ADN. Cette méthode est utilisée dans le cas de plantes ligneuses et d'arbres fruitiers dont les cellules sont riches en polysaccharides.

Les plantes herbacées peuvent subir les différentes techniques mais la plus intéressante ne peut être que celle qui serait la mieux adaptée aux moyens dont on dispose.

III.1. Principe de l'extraction d'ADN

Selon NIAR (1998), le principe de la méthode utilisant le CTAB est le suivant :

Les principaux composés du TE sont le Tris-HCl, l'EDTA, le CTAB, le NaCl. Il est important de souligner que l'ADN est stable lorsque le pH est à 8. Toutefois, dans le milieu où sont placés les échantillons, le pH varie en raison des acides organiques issus de la vacuole ce qui peut altérer la qualité de l'ADN. Le Tris-HCl sert donc à éviter les changements brutaux de pH.

L'EDTA, pour sa part, est un agent chélate qui absorbe les cations. Dans ce cas de figure les Ca⁺⁺ nécessaires à l'activation de l'ADNase sont capturés et le risque que cette dernière entre en activité et dégrade l'ADN extrait est réduit.

Le CTAB qui est un agent tensio-actif cationique s'associe à l'ADN qui est chargé négativement dans la solution. Lorsque la concentration des sels est supérieure à 0.7 M le complexe ADN-CTAB est dissout dans la solution et lorsque celle-ci est inférieure à 0.7 M le complexe est précipité. Ceci s'explique par le fait que l'association du TE à l'échantillon augmente la concentration en sel qui atteint voire dépasse les 0.7 M, entraînant une dissolution du complexe CTAB-ADN. L'addition du NaCl permet donc le contrôle de la concentration en sel de la solution. Le mercaptoéthanol ou le PVP sont également souvent ajoutés dans le TE afin de protéger l'ADN. Toutefois, l'addition de tous ces réactifs peut entraîner l'effet inverse occasionnant la destruction de l'ADN.

Par ailleurs, le chloroforme et l'isomyalalcool sont ajoutés dans le but d'insolubiliser les impuretés comme les protéines et les pigments. L'isomyalalcool est également un agent moussant qui permet de protéger l'ADN en maintenant la mousse de la solution lors du mixage. Après la centrifugation trois phases sont obtenues, la phase supérieure contenant l'eau et l'ADN, la phase intermédiaire qui comprend les protéines et certains résidus, enfin la phase inférieure qui contient le chloroforme. Toutefois, dans certains cas la phase supérieure peut contenir des impuretés telles que les résidus de protéines ou encore quelques pigments. De ce fait l'opération peut être renouvelée une seconde fois.

L'extraction peut provoquer une perte de CTAB entraînant une baisse de sa concentration dans la solution. 10 % de CTAB pourraient être ajoutés pour compenser les pertes. Par cette action la concentration de CTAB est maintenue à 1 % dans le milieu. Un tampon de précipitation ne comprenant pas de sels est ajouté ce qui conduit à la réduction de la concentration en sels et en la précipitation du complexe CTAB-ADN. A cette étape l'ARN est également précipité au même titre que l'ADN.

La solution peut être mise à incubation en ajoutant du TE-NaCl ne contenant pas le CTAB, afin que ce dernier puisse être séparé de l'ADN. Si de l'ARNase est ajouté l'ARN présent sera alors digéré.

Lorsque l'isopropanol est ajouté, l'ADN se sépare de toutes associations. En effet, l'ADN est précipité aussi bien dans l'éthanol que dans l'isopropanol et ceci en présence de Na⁺ et de K⁺. Dans ce cas, l'ARN n'est pas précipité en raison de sa dégradation en nucléoside triphosphate. L'ADN précipité est rincé alors à l'aide d'éthanol à 70 % afin de supprimer le CTAB et le NaCl. Le choix de la solution d'éthanol à 70 % se justifie par le fait que l'ADN ne s'y solubilise pas, mais il s'y précipite.

Une fois que l'éthanol est évaporé l'ADN est suspendu à nouveau et il est stocké au froid.

III.2. Quantités d'échantillons extraits

Les quantités peuvent varier suivant les proportions données dans le protocole. De ce fait, si le protocole est établi suivant une quantité de 2 g et que la quantité disponible est de 1g les quantités de réactifs devront être réglées proportionnellement, c'est-à-dire qu'ils devront dans ce cas présent être réduits de moitié.

Toutefois, les paramètres de centrifugation et d'incubation ne devront pas changer.

III.3. Age du matériel

Il existe des plantes pour lesquelles le stade de développement importe peu pour le prélèvement tel que le riz. Toutefois, l'utilisation de jeunes feuilles est plus recommandée, particulièrement pour le pois tropical. Evidemment, il existe des exceptions, pour les citrus il est recommandé de travailler sur des feuilles durcies. Enfin dans le cas où l'extraction ne fonctionne pas, il est demandé d'utiliser des tissus issus de différentes parties de la plante et à différents stades de développement (NIAR, 1998).

III.4. Broyage

Dans plusieurs protocoles d'extraction d'ADN, le broyage des tissus est obtenu après une plongée dans de l'azote liquide ou après une lyophilisation. Toutefois, on peut obtenir le même résultat après un séchage à 60°C environ pendant un laps de temps bien déterminé qui varie en fonction de la plante. 30 minutes pour le soja sont nécessaires et près de deux heures pour le riz. L'élévation de la température de manière continue peut endommager l'ADN. Selon que l'on utilise des feuilles fraîches ou séchées, la quantité de CTAB à mettre dans le TE doit différer, car l'eau contenue dans les plantes peut faire varier le poids des tissus d'une fois à deux fois, entraînant une dissolution du CTAB (NIAR, 1998).

III.5. Vitesse et temps de centrifugation

Un contrôle strict n'est pas recommandé après le mélange de l'échantillon au chloroforme ou à l'isomyalcool pour faire précipiter l'ADN. De ce fait, l'utilisation d'une centrifugeuse basse vitesse ou à grande vitesse importe peu. Toutefois, la quantité d'ADN extraite dans le premier cas et l'efficacité de séparation des impuretés peuvent être faibles (NIAR, 1998).

IV. Marquage moléculaire

IV.1. Définition d'un marqueur génétique

Selon De vienne (1998) un marqueur génétique est un marqueur polymorphe qui renseigne sur :

- le génotype de l'individu qui le porte : c'est-à-dire que les marqueurs sont utilisés en génétique des populations.
- le génotype d'un (de) locus voisin(s) : les applications vont ici du clonage positionnel à la sélection assistée par marqueurs.

Les plus courants de ces marqueurs génétiques sont, selon une terminologie consacrée, les *marqueurs morphologiques*, les *marqueurs moléculaires* (au niveau de l'ADN) et les *marqueurs biochimiques* (isozymes, protéines). Toutefois, le terme de marqueur biochimique peut également désigner selon le contexte un stade de différenciation ou un état physiologique.

IV.2. Présentation d'un "bon" marqueur génétique

Toujours, selon De vienne (1998) un marqueur génétique "idéal" est :

- polymorphe : la matière première du généticien est la variabilité ;
- multiallélique : c'est-à-dire possédant plusieurs allèles (donc des séquences d'ADN différentes) sur un même locus (Plomion, 2003) ;
- codominant : l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents homozygotes, il peut être distingué de chacun des homozygotes parentaux ;

- non épistasique : son génotype peut être "lu" à partir de son phénotype quel que soit le génotype aux autres locus. La codominance et la non épistasie peuvent être respectivement définies comme l'absence d'interaction intra et interlocus ;
- "neutre" : les substitutions alléliques au locus marqueur n'ont pas d'autres effets phénotypiques (et donc éventuellement sélectifs) que ceux qui permettent de déterminer son génotype. Dans leur très grande majorité les polymorphismes moléculaires sont neutres ;
- insensible au milieu : le génotype peut être inféré à partir du phénotype quel que soit le milieu.

Les marqueurs morphologiques répondent mal à ces critères. Peu polymorphes, en général dominants, ils interfèrent souvent avec d'autres caractères et peuvent être influencés par le milieu. En outre, même s'ils sont très nombreux, chez certaines espèces, peu d'entre eux peuvent être conjointement polymorphes dans une descendance donnée.

En revanche, les marqueurs moléculaires et biochimiques ont, pour la plupart, toutes ces qualités. Les limitations majeures des isozymes sont le faible nombre de locus susceptibles d'être révélés (rarement plus de 30 à 40 locus chez le riz et le maïs, et tous ne sont pas polymorphes dans un fonds génétique donné) et le fait qu'il y ait une certaine spécificité d'organes : tous les enzymes ne sont pas présents ou actifs dans tous les organes. Les protéines polymorphes révélées en électrophorèse bidimensionnelle peuvent être plus nombreuses, mais dépendent également de l'organe considéré. Au contraire, les marqueurs au niveau de l'ADN sont en nombre quasiment illimité et sont indépendants du stade ou de l'organe analysé, puisque l'ADN est le même dans tous les tissus. De plus, ils ont l'avantage d'être plus directement utilisables pour les applications ultérieures en biologie moléculaire.

IV.3. Présentation des différents types de polymorphisme

Selon De vienne (1998), sur le plan moléculaire on peut classer le polymorphisme en trois catégories :

IV.3.1. Polymorphisme de séquence

Le polymorphisme de séquence peut naturellement être mis en évidence par séquençage de fragments homologues. Mais en dépit des progrès de l'automatisation, cette technique reste lourde, notamment lorsque le taux d'erreurs acceptables reste faible. Le séquençage d'allèles ne constitue donc pas aujourd'hui une méthode de routine lorsqu'on s'intéresse conjointement à un nombre de locus. On a donc recours à des méthodes indirectes, non exhaustives mais beaucoup plus rapides, fondées sur la détection de différences :

- de sites de restriction ;
- de conformation ;
- de stabilité ;
- de sites d'hybridation d'amorces oligonucléotidiques.

Les méthodes développées pour la détection des trois premiers types de différences (RFLP, PCR ciblée puis CAPS pour le 1^{er} type, PCR ciblée puis SSCP pour le deuxième type, PCR ciblée puis D/TGGE pour le 3^{ème}) fournissent des marqueurs codominants qui sont révélés individuellement.

IV.3.2. Polymorphisme insertion délétion

C'est un polymorphisme dû à l'insertion ou à la délétion d'une ou de plusieurs bases au niveau de la région du génome reconnue par la sonde.

IV.3.3. Polymorphisme de nombre de répétitions

C'est le polymorphisme rencontré dans le cas de marqueurs microsatellites (tab. 4).

IV.4. Caractéristiques des principaux marqueurs

Tableau 4 : Tableau représentant les caractéristiques des principaux marqueurs (De vienne, 1998)

Marqueurs	Neutralité	Nombre	Codo-minance	Spécificité du locus(1)	Poly-morphisme	Stade Organe(2)	Technicité	Séquence codante
Morpho-logiques	Non	limité	Rare	Oui	Faible	Oui	Faible	-
Isozymes	Oui	≤ 30	Oui	Oui	Faible	Oui	Faible	Oui
Protéines (2D)	Oui	≤ 100	Oui	Oui	Faible	Oui	Moyenne	Oui
RFLP	Oui	≈illimité	Oui	Oui	Elevé	Non	Elevée	Oui ou non
Micro-satellites	Oui /Non	Quelques milliers	Oui	Oui	Très élevé	Non	Elevée(3)	Non
MAAP	Oui	≈illimité	Non	Non	Très élevé	Non	Faible	Oui ou non
ISSR	Oui	≈illimité	Non évalué	Non	Très élevé	Non	faible	Non
AFLP	Oui	≈illimité	Non	Non	Très élevé	Non	Moyenne	Oui ou non
STS	Oui	limité	Oui	Oui	Modéré	Non	Elevée(1)	Oui

(1) dans cette colonne on distingue les technicités qui révèlent les locus marqueurs individuellement (ou en très petit nombre) de celles qui les révèlent en masse

(2) Marqueurs dont la mise en évidence est attachée à un ou quelques stades-organes particuliers.

(3) pour les microsatellites et les STS, le développement d'amorces pour de nombreux locus informatifs est très lourd techniquement et financièrement, mais ensuite les analyses de routine se font beaucoup plus rapidement qu'en RFLP.

IV.5. Présentation des microsatellites

Les microsatellites, ou SSR (Simple Sequence Repeats) sont constitués de répétitions en tandem de motifs mono-, di-, tri- ou tétranucléotidiques, les plus courants sont (A)_n, (TC)_n, (TAT)_n, (GATA)_n, etc., la valeur de n pouvant aller de quelques unités à plusieurs dizaines. De tels motifs sont en outre très abondants chez les Eucaryotes, c'est-à-dire qu'un microsatellite donné peut être présent à des milliers d'exemplaires dans le génome d'une espèce. Chez les végétaux supérieurs on estime par exemple qu'il y aurait en moyenne un microsatellite dinucléotidique tous les 30 à 100 kb avec une densité semblable pour les tri- et tétranucléotidiques (Morgante et Olivieri, 1993 *in* De vienne, 1998). Outre leur distribution sur l'ensemble du génome, ce qui fait l'intérêt des microsatellites en génétique c'est leur polymorphisme extrêmement élevé. Ce polymorphisme ne réside pas dans la séquence proprement dite mais dans le nombre de répétitions de ces motifs simples (Decroocq, 2003). Il s'agit ici donc d'un polymorphisme de nombre d'unités. Chez le soja par exemple, des séries alléliques pouvant

aller jusqu'à 26 ont été décrites dans un groupe d'une centaine de génotypes (Rongwen *et al.*, 1995 in De vienne 1998).

IV.6. Révélation des microsatellites

En raison du nombre élevé de microsatellites et pour obtenir des profils lisibles, c'est la PCR qui va être mise à profit pour les révéler individuellement, fournissant des marqueurs spécifiques de locus, codominants et hautement polymorphes. En effet, si un microsatellite donné n'est pas spécifique d'un locus donné, les régions flanquantes, par contre, le sont. Une paire d'amorces spécifiques de ces régions flanquantes amplifiera donc ce seul microsatellite (motif microsatellitaire), dont le seul polymorphisme de longueur sera révélé par électrophorèse en gel d'agarose si les différences de longueur entre allèles sont importantes (De vienne, 1998), ou si ce sont des motifs tri ou tétra nucléotides (Decroocq, 2003), ou plus couramment en gel d'acrylamide.

Le locus microsatellite est donc défini par un couple d'amorces PCR qui amplifie une région unique du génome contenant un motif répété. (Decroocq, 2003),

Les microsatellites constituent d'excellents marqueurs génétiques, avec les avantages de la PCR pour la révélation en routine (De vienne, 1998).

IV.7. Utilisation des microsatellites

Depuis déjà le début des années quatre-vingt-dix, les microsatellites ont été utilisés pour la cartographie de plusieurs espèces : le maïs (Senior et Heun, 1993 in De vienne, 1998), le soja (Morgante *et al.*, 1994 in De vienne, 1998), le riz (Wu et Tanksley, 1993 in De vienne, 1998), l'orge (Sagai Maroof *et al.*, 1994 in De vienne, 1998) et pour des analyses de diversité chez la vigne (Thomas *et al.*, 1994 in De vienne, 1998), le riz (Yang *et al.*, 1994 in De vienne, 1998). Enfin, leur intérêt en génétique des populations a été examiné par Jarne et Lagoda (1996 in De vienne, 1998).

IV.8. Les microsatellites chez *Medicago truncatula*

Mun *et al.* (2006) ont trouvé que sur 1236 microsatellites testés sur l'espèce *M. truncatula* les motifs (AT)_n, (AG)_n et (AAT)_n étaient ceux qui révélaient une plus grande diversité allélique.

Des estimations suggèrent que 1 à 5 % des plants EST contiennent des SSR dont la longueur dépasse les 18 nucléotides (Kantety *et al.*, 2002 in Mun *et al.*, 2006), c'est pourquoi nous avons vu le développement de marqueurs EST-SSR chez un large éventail de plantes (Cordeiro *et al.*, 2001 in Mun *et al.*, 2006 ; Kantety *et al.*, 2002 in Mun *et al.*, 2006 ; Sharapova *et al.*, 2002 in Mun *et al.*, 2006) dont *Medicago spp* (Julier *et al.*, 2003 in Mun *et al.*, 2006).

Les SSR sont souvent plus abondants dans les régions non codantes des séquences génomiques, offrant ainsi une source inépuisable de marqueurs génétiques pour le séquençage des régions génomiques (Cardle *et al.*, 2000 in Mun *et al.*, 2006).

Mun *et al.* (2006) ont classé les microsatellites en deux catégories selon leurs longueurs, la classe I était supérieure ou égale à 20 paires de bases (pb), la seconde avait une taille comprise entre 12 et 19 pb. Il explique cela par la corrélation positive entre le taux de mutation et la longueur des SSR (Ellegren, 2004 *in* Mun *et al.*, 2006). Les SSR dont la taille est supérieure à 20 pb sont fortement sujets aux mutations (Temnykh *et al.*, 2001 *in* Mun *et al.*, 2006) tandis que les microsatellites dont la taille est comprise entre 12 et 19 pb sont modérément sujets aux mutations (Pupko et Graur, 1999 *in* Mun *et al.*, 2006).

Le tableau 5 ci-dessous montre que les SSR de la classe II (12-19 pb) sont les plus abondants et apparaissent presque à la même fréquence chez les cinq espèces avec une densité moyenne d'un microsatellite chaque 0.6-0.7 Mpb.

Chez *Medicago truncatula*, les répétitions hexa- et heptanucléotidiques représentent 65 % des courts microsatellites (classe II) génomiques. Les di- et pentanucléotides sont les moins fréquents.

Chez toutes les espèces étudiées par Mun *et al.* (2006), les dinucléotides de la classe I (long) sont les plus fréquents. Pour le reste des nucléotides de la classe I, des taux faibles ont été relevés au profit des nucléotides de la classe II.

Pour la classe I, les mononucléotides arrivent en seconde position en termes d'abondance. Toutefois, chez le soja (soybean), le riz (rice) et le Lotus, ce sont les trinucleotides qui arrivent en seconde position de cette classe.

Parmi les conclusions qui ont pu être tirées par Mun *et al.* (2006), nous retiendrons que la plupart des SSR des régions transcritibles se trouvent au niveau des fractions 3'- et 5'- non traduites et au sein des introns avec la plus grande fréquence au niveau de l'extrémité 5' non traduite, avec une plus grande présence respectivement des motifs di-, penta-, hexa- et heptanucléotide.

Les microsatellites de classe I sont plus nombreux chez le soja (1.5 à 2.5 fois) que chez le reste des espèces ceci s'expliquerait par la plus grande taille du génome de cette espèce, il y a donc une corrélation entre la taille du génome et la présence des microsatellites de classe I.

Kruglyak *et al.* (1998 *in* Mun *et al.*, 2006), Katti *et al.* (2001 *in* Mun *et al.*, 2006), ont proposé que les fréquences inférieures des longs versus courts SSR pouvaient résulter d'une pression de sélection contre les sites mutagènes au sein du génome. Il est possible que la polyploidie chez le soja puisse réduire la sélection contre les longs microsatellites en raison de la redondance des régions homologues.

Tableau 5 : Tableau représentant les fréquences des microsatellites par millions de paires de base (Mpb) dans des séquences génomiques et EST chez cinq espèces de plantes (Mun *et al.*, 2006)

Plant species	Sequence length (Mbp)	G/C content (%)	Frequency of class II SSRs (SSR/Mbp)								Average distance (kbp)	Frequency of class I SSRs (SSR/Mbp)								Average distance (kbp)
			Mono-	Di-	Tri-	Tetra-	Penta-	Hexa-	Hepta-	Octa-		Mono-	Di-	Tri-	Tetra-	Penta-	Hexa-	Hepta-	Octa-	
Genomic sequences																				
<i>M. truncatula</i>	77.13	33.4	184.2	43.7	98.8	128.2	44.1	812.7	270.6	88.1	0.6	19.7	37.5	9.5	4.0	6.0	2.4	3.1	0.7	12.1
Soybean	20.15	36.0	75.9	52.4	96.5	119.9	31.4	749.4	256.7	73.5	0.7	6.1	63.0	43.2	3.5	3.9	1.4	7.4	0.3	7.8
<i>L. japonicus</i>	26.92	36.6	62.7	47.0	118.4	101.08	36.3	821.5	284.2	85.9	0.6	1.2	24.0	11.4	4.8	5.3	5.8	5.6	1.0	16.9
Arabidopsis	119.10	36.0	103.0	57.5	138.0	92.2	29.1	732.4	223.1	70.4	0.7	11.7	21.4	9.1	1.4	2.9	1.5	5.8	0.7	18.4
Rice	474.66	43.5	44.8	69.3	204.7	127.6	37.9	804.1	232.6	85.3	0.6	2.3	29.8	13.9	7.0	7.9	3.7	2.4	0.8	14.7
Bulk EST sequences																				
<i>M. truncatula</i>	100.93	41.1	3.8 ^a	34.8	167.7	69.0	20.4	760.1	161.7	37.8	0.8	0.7 ^a	16.6	12.3	4.5	4.8	6.0	1.5	0.1	21.6
Soybean	157.92	43.5	4.3 ^a	39.8	170.3	70.2	16.0	865.7	131.4	32.7	0.8	0.8 ^a	20.1	12.4	2.1	2.9	5.4	2.6	0.3	21.5
<i>L. japonicus</i>	13.92	47.3	1.4 ^a	59.1	326.4	59.3	18.8	1015.2	127.5	46.0	0.6	0.0 ^a	20.3	35.6	3.2	5.4	17.6	2.4	0.1	11.8
Arabidopsis	83.36	43.1	6.1 ^a	49.1	217.6	60.0	12.8	697.8	133.4	36.9	0.8	1.3 ^a	8.1	11.9	0.9	0.8	1.0	0.7	1.1	38.8
Rice	135.30	49.5	27.5 ^a	41.6	409.8	122.2	27.7	879.8	145.1	54.3	0.6	1.7 ^a	10.2	24.1	5.2	6.7	5.8	0.7	0.1	18.4
NCBI unigene sequences																				
<i>M. truncatula</i>	3.56	60.4	3.1 ^a	24.2	113.3	67.2	21.4	688.8	146.7	47.8	0.9	1.1 ^a	6.2	9.0	3.9	3.9	3.1	1.4	0.0	34.9
Soybean	10.10	43.9	2.2 ^a	30.4	96.0	61.6	13.5	597.3	143.9	44.6	1.0	0.3 ^a	12.2	7.4	1.6	1.5	2.2	1.9	0.3	37.0
<i>L. japonicus</i>	4.34	43.4	2.5 ^a	23.9	113.3	71.4	16.1	682.5	173.3	43.3	0.9	0.5 ^a	9.7	7.6	1.4	3.7	5.1	1.6	0.7	33.2
Arabidopsis	33.54	39.7	1.3 ^a	39.9	235.8	43.6	11.7	670.1	116.0	34.4	0.9	0.2 ^a	6.6	15.9	0.9	1.2	1.7	0.7	0.4	36.3
Rice	47.78	49.9	6.8 ^a	38.5	477.10	98.6	33.7	952.1	156.0	58.4	0.6	0.5 ^a	12.0	39.7	4.9	8.3	7.7	1.6	0.2	13.4

Class II SSRs: mono- ($T = 3.43$, $P < 0.01$), penta- ($T = 4.60$, $P < 0.01$), hepta- ($T = 8.74$, $P < 0.01$), and octanucleotide ($T = 7.40$, $P < 0.01$) repeats are more abundant in genomic compared to EST data. Class I SSRs: only heptanucleotide repeats are significantly different in abundance between genomic and EST data sets ($T = 3.27$, $P < 0.01$). Mono-, mononucleotide repeats; Di-, dinucleotide repeats; Tri-, trinucleotide repeats; Tetra-, tetranucleotide repeats; Penta-, pentanucleotide repeats; Hexa-, hexanucleotide repeats; Hepta-, heptanucleotide repeats; Octa-, octanucleotide repeats.

Pour ce qui est des motifs microsatellites (AAT)_n et (AG)_n, ils sont surreprésentés au niveau des fractions EST et génomiques des espèces de légumineuses, mais ils sont sous représentés chez les espèces *Arabidopsis* et riz. Néanmoins, chez cette dernière, c'est le motif (GGC)_n qui est le plus dominant (Mun *et al.*, 2006).

Au niveau du génome des eucaryotes des accumulations de répétitions de motifs ont été notées en faveur d'un clivage en taxon-spécifique. (Toth *et al.*, 2000 in Mun *et al.*, 2006 ; Katti *et al.*, 2001 in Mun *et al.*, 2006), dans notre cas nous avons légumineuses vs *Arabidopsis* et riz. Mais cette théorie n'est pas suffisante à elle seule pour expliquer le phénomène. En effet, il faut ajouter à cela une pression de sélection positive comme les préférences d'usage dans certains codons, dans des exons ou bien l'effet régulateur de microsatellites dans les régions non codantes, pour pouvoir expliquer l'accumulation de certains motifs dans des taxa-spécifiques.

Contrairement à la définition des microsatellites, qui les décrit comme une répétition de 1-6 pb de long (Tautz, 1989 in Mun *et al.*, 2006), Mun *et al.* (2006) ont montré qu'ils pouvaient aller jusqu'à 7 et 8 pb. Les hepta et octa-nucléotides sont plus fréquents au niveau de la classe II. Ces motifs de 7 et 8 pb sont également plus faibles dans les exons. Les 7 pb sont les seconds plus abondants motifs de la classe II, ils sont aussi abondants que les tetra, penta et hexanucleotide motifs de la classe I SSR.

Chez *M. truncatula*, la distribution des SSR se trouve majoritairement dans les fractions non transcrites du génome ou encore dans les portions non traduites du génome (UTR et introns). Les quelques motifs microsatellites présents dans les exons sont riches en AT, et en trinuécléotides (Mun *et al.*, 2006). Ceci s'oppose aux résultats obtenus sur le riz, chez qui il a été trouvé des motifs riches en GC, et les trinuécléotides ont été observés au niveau des exons (Cho *et al.*, 2000 in Mun *et al.*, 2006).

Lazrek *et al.* (2009) ont révélé dans une étude sur une collection tunisienne de *M. truncatula* la présence de microsatellites neutres et non neutres. Les microsatellites non neutres ont une corrélation avec la pluviométrie, ce qui laisse imaginer une corrélation avec un gène lié à l'efficacité de l'utilisation de l'eau, une autre corrélation a pu être démontrée mais d'un plus faible niveau avec le paramètre altitude. Ces corrélations s'expliquent par le fait que les populations choisies soient issues de sites bien définis dont les variables éco-environnementales sont optimisées. Avec une stratégie d'échantillonnage randomisé, le nombre de SSR non neutres aurait été plus faible.

Il est considéré que les marqueurs SSR sont des marqueurs neutres car ils sont situés essentiellement dans les zones non codantes du génome (Lazrek *et al.*, 2009). Toutefois, chez le maïs Vigoureux *et al.*, 2002 in Lazrek *et al.*, 2009 ont démontré que les SSR pouvaient être affectés par des pressions de sélection (naturelle ou pas), et certains SSR pouvaient être non neutres du fait de leur linkage avec des gènes sélectionnés. Vigoureux *et al.* (2005 in Lazrek *et al.*, 2009) ont relevé que les SSR qui se trouvaient près de QTL de domestication étaient non neutres.

Selon Lazrek *et al.* (2009), la différence de conditions éco-environnementales augmente le taux de SSR non neutres. Selon ce même auteur, les SSR neutres des *M. truncatula* ont montré une faible diversité génétique et un plus grand nombre de fixation d'allèles que les SSR non neutres. Lazrek *et al.* (2009), expliquent cela par l'origine de la diversité et de la distribution. Par contre, dans le cas des SSR neutres la diversité au sein de *M. truncatula*, provient seulement des mutations, de l'évolution génétique et des migrations.

Matériel et Méthodes

I. Matériel Végétal

Le matériel végétal qui a été étudié est issu d'une prospection, provenant de différents étages bioclimatiques du territoire national (fig. 1), sur laquelle M. Abdelguerfi de l'ENSA ex INA a réalisé sa thèse d'ingénieur en 1975-76. Trois autres cartes ont été réalisées (voir annexe 1) afin d'illustrer la répartition des populations en fonction de la pluviométrie, des reliefs et des sols des sites de collectes.

Comme nous l'avons signalé précédemment notre matériel végétal est composé de 81 populations. Chaque population est subdivisée en lignes¹ (de 2 à 5 suivant la population), soit un total de 256 lignes. Pour chaque ligne nous avons pris deux plants, ce qui nous amène à un total de 512 plants.

Des tests de germination ont été effectués au préalable sur des individus issus de cette prospection, en date du 2 novembre 2007, afin de vérifier la faculté germinative des graines. Il a été constaté, alors, que leur conservation, sous forme de gousses, en température ambiante depuis plus de trente ans n'a affecté en rien leur qualité (voir photos en annexe 2). Ceci s'explique par la dormance des graines de *Medicago* qui leur procure une longévité importante comparée à celle de semences d'autres cultures. De fait, la levée de dormance ne se fait que par une action mécanique ou chimique qui altère le tégument externe de la graine.

Nous avons pris comme lignées de référence la A17, la DZA45.5, la DZA315.16, la A20, la F83005.5, la F83005.9 et la TN8.3, car elles ont été très étudiées au niveau méditerranéen et des données les concernant sont disponibles. Ces lignées sont des lignées parentales de plusieurs cartes génétiques développées au niveau du laboratoire du Pr. Gentzbittel à l'ENSA de Toulouse.

¹ La ligne correspond à des gousses provenant d'un même plant ou de plants voisins

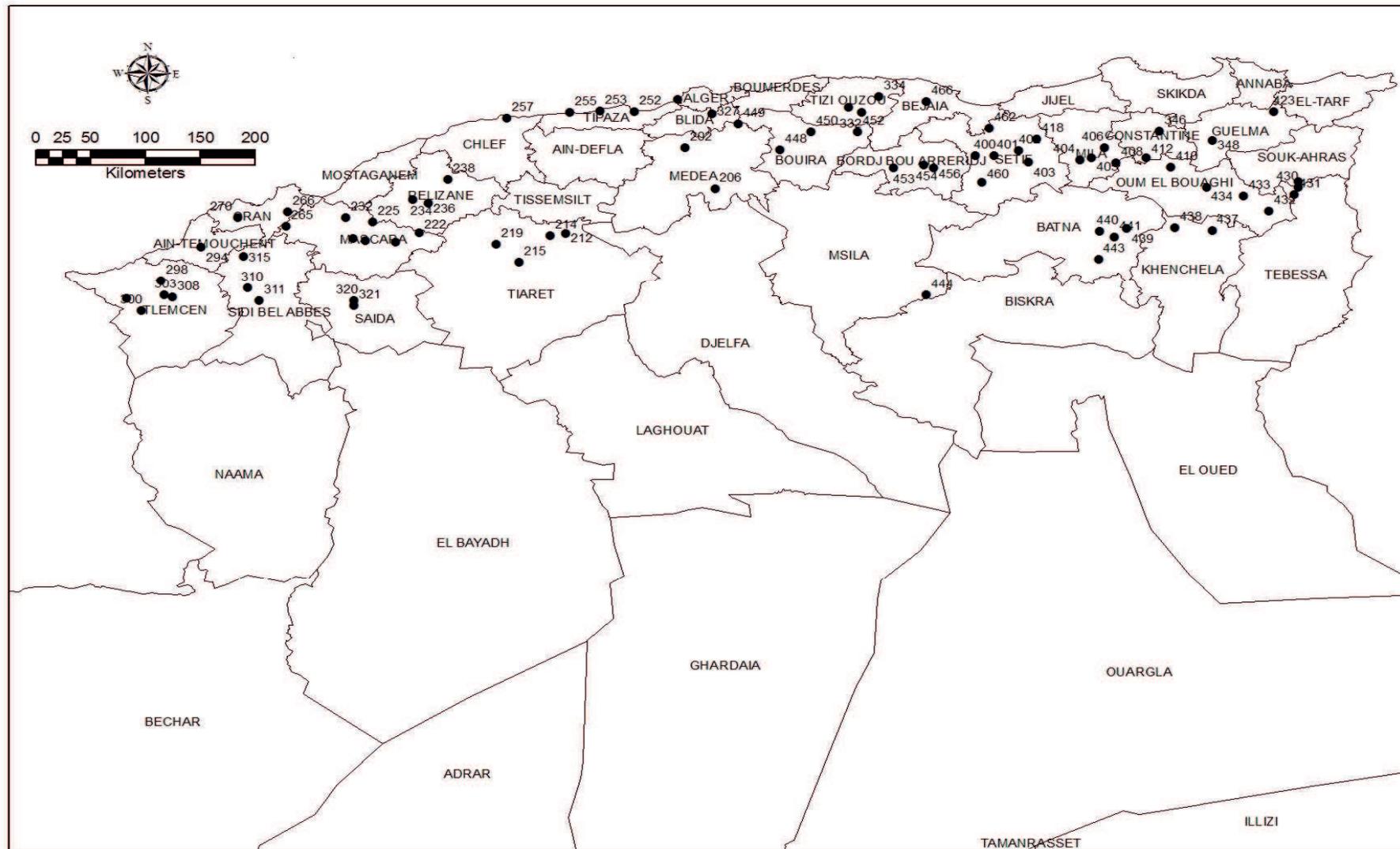


Figure 1 : Répartition des sites de provenance des populations de *M. truncatula* étudiées

II. Méthodes

Afin d'étudier la variabilité morphologique et moléculaire chez 81 populations algériennes de *M. truncatula*, nous avons scindé notre travail en deux parties. La première partie correspond à la mise en place de la culture en pots sous serre contrôlée et au suivi des caractères morphologiques.

La seconde qui s'est déroulée en chevauchement avec la première, a consisté en l'extraction des ADN des plants qui ont levé et en leur génotypage à l'aide de marqueurs microsatellites « SSRs ».

II.1. Partie étude morphologique

II.1.1. Mise en place et déroulement de l'essai en serre

L'essai a été mis en place le 1^{er} mars 2008 à la station INRAA de Mehdi Boualem. Le protocole adopté est un dispositif en randomisation totale à raison de deux plants par ligne. Il a consisté en la germination d'environ 3 à 6 graines par ligne, dans deux fertilpots comportant un mélange de terre et de terreau avec respectivement les proportions de 2/3 et 1/3. Le mélange terre/terreau a été stérilisé pendant 24 heures dans une étuve à 120°C, afin de se prémunir de toutes attaques cryptogamiques (pythium, etc) pouvant altérer la levée.

Les fertilpots ont été mis dans des bassines (43 bassines) afin de minimiser leur dessèchement et ont été disposés en **randomisation totale** sur une plaque au niveau d'une serre contrôlée.

Au bout de 30 jours, un nouveau semis a été réalisé dans les fertilpots pour lesquels il n'y a pas eu de levée (06 avril). Cette date a été tardive car la levée a été lente (15 jours après pour certains plants). Ceci s'expliquerait par une hétérogénéité au niveau de la profondeur de semis ou une altération au moment de la scarification, ou encore par un excès d'eau dû à l'irrigation automatique. La liste des populations qui n'ont pas levé suite au premier semis est jointe en annexe 3.

Après que les plants aient atteint un stade de développement suffisamment important (3 à 5 feuilles trifoliolées) nous avons procédé à un démariage qui consistait à ne laisser qu'un plant par fertilpot.

Au début du mois de mai, nous avons effectué un transfert des fertilpots dans des pots de 5 kgs, à raison de deux fertilpots par pot. Nous avons donc placé dans un même pot deux plants appartenant à la même ligne de prospection. A partir de là, nous avons transféré tous nos plants dans une serre plus grande pouvant les contenir (voir photo 1).



Photo 1 : Essai en serre après transfert des fertilpots en pots de 5 kgs.

Juste avant le début de la maturation des gousses et après avoir constaté des pertes importantes au niveau de ces dernières (chutes) qui sont dues d'une part, à l'arrosage à l'aide d'un tuyau et d'autre part au manque d'espace au niveau de la serre, nous avons procédé à l'enroulement de chaque plant dans une compresse, dans le but d'arrêter la déperdition.

A la maturation complète des gousses et après le dessèchement des plants, nous avons procédé à la collecte et au stockage des gousses de chaque plant séparément dans des petits sacs en papier.

Cependant, il est important de dire que tout au long de l'essai des attaques de pucerons, d'oïdium et enfin d'acariens ont été constatées.

Tout d'abord, les pucerons ont fait leur apparition alors que les plants étaient encore en fertilpots, des traitements à l'aide de Ciatirin à raison de 2.5 ml/5l d'eau ont été réalisés, après 3 traitements réalisés à 15 jours d'intervalle les pucerons ont été maîtrisés.

Ensuite, l'oïdium est apparu après le transfert des plantules en pot et le changement de serre. Néanmoins, il a été rapidement contenu grâce au fongicide utilisé le 21 mai 2008, du triadimenol (Vidan25 EC) à raison de 1 ml /5l.

Enfin, l'attaque d'acariens a été la plus ravageuse et malgré des traitements à répétition (trois en tout dont le 1^{er} s'est fait le 08 juin 2008) espacés de 15 jours à l'aide d'un acaricide Vilmorin à un dosage de 10 ml/l, comme recommandé par le fabricant, de nombreux plants ont été décimés.

Par ailleurs, un des constats qui a été fait au cours de notre essai, c'est qu'au niveau de quelques individus des feuilles de couleur bleue-verte voire violacée sont apparues. Il semblerait que cela soit dû à un problème physiologique notamment à une carence en cuivre. Nous n'y avons pas remédié car le phénomène n'a pas pris des proportions alarmantes.

II.1.2. Les caractères étudiés

Les caractères qui ont été étudiés tout au long de cette phase sont :

II.1.2.1. Les marqueurs foliaires

Nous avons caractérisé nos plants (génotypes) de *M. truncatula* en fonction de la présence ou pas de marqueurs foliaires, de la forme, de la position et de la couleur de ces derniers. Ce caractère est intéressant à étudier à plus d'un titre comme nous l'expliquerons dans la partie discussion des résultats de l'étude morphologique.

II.1.2.2. La forme de la feuille

Il a été constaté également durant notre essai que deux types de feuilles ont caractérisé nos individus. Ce sont les feuilles simples et les feuilles dentées. Nous avons donc étudié nos génotypes en fonction de ce critère. Le type 1 correspondant aux feuilles simples et le type 2 correspondant aux feuilles dentées.

II.1.2.3. L'apparition de la première fleur

C'est la durée calculée de la germination jusqu'à l'apparition de la première fleur. Ce caractère revêt une très grande importance, d'une part, pour la production de semences et, d'autre part, pour la qualité du fourrage. De plus, selon les travaux réalisés antérieurement, il s'est révélé être le caractère le plus corrélé aux facteurs éco-environnementaux des sites d'origine, comme la pluviométrie et l'altitude, ce que nous tenterons de vérifier dans notre étude.

II.1.2.4. Les caractères discriminants des gousses

Voici les caractères discriminants pour lesquels nous avons opté en nous référant à Heyn (1963) et à Lesins et Lesins (1979) :

- Sens des spires,
- Nombre de tours de spires,
- Diamètre et épaisseur de la gousse,
- Nombre de graines/gousse,
- Forme des épines,
- Longueur des épines,
- Type d'insertion des épines.

Pour ce qui est de la graine nous avons retenu :

- La longueur,
- La largeur totale,
- La largeur au hile.

Ce choix se justifie par la volonté de répartir les génotypes étudiés que nous avons récoltés suivant la classification proposée par Heyn (1963), suivant également, la classification d'Urban (1873 *in* Lesins et Lesins, 1979) qui classent les variétés botaniques de *M. truncatula* selon la longueur et le type d'insertion des épines au niveau des spires. Par ailleurs, il nous permettra de voir si des formes non décrites auparavant par les auteurs sus-cités ont été rencontrées.

II.2. Partie étude moléculaire

II.2.1. Extraction d'ADN

Au cours de nos travaux nous avons réalisé des extractions d'ADN sur 496 génotypes suivant le protocole de Laouar (2005). Ce protocole s'articule de la manière suivante :

1- Trois jeunes feuilles trifoliolées par individu sont collectées, mises dans un tube Eppendorf de 2 ml (photo 2) et passées à l'étuve durant une nuit à 65°C.



Photo 2 : Prélèvement de jeunes feuilles

2- Le lendemain, les feuilles séchées sont réduites en poudre à l'aide d'un vortex (photo 3).

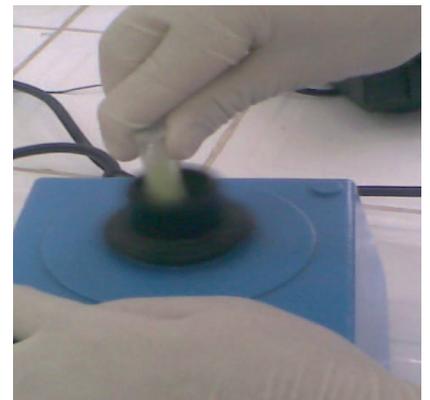


Photo 3 : Réduction en poudre des feuilles séchées

3- Après la réduction des feuilles on y ajoute 1 ml de tampon d'extraction.

4- On laisse incuber pendant 20 minutes dans un bain marie à 65°C (photo 4).



Photo 4 : Phase d'incubation

5- On additionne 600 µl de chloroforme puis on agite vigoureusement à la main pendant 15 minutes à température ambiante (photo 5)



Photo 5 : Agitation manuelle pendant 15 minutes

6- Au bout des 15 minutes, les tubes Eppendorf sont mis à centrifuger pendant 10 minutes par groupe de 12.

7- Après la centrifugation, la phase supérieure aqueuse est transférée dans un nouveau tube à la pipette sans entraîner l'interface (photo 6).



Photo 6 : Pipetage du surnageant à la pipette

8- Au surnageant, on ajoute 600 μ l d'isopropanol (photo 7) à température ambiante (à cette étape il est recommandé de travailler par groupe de 6 tubes maximum). Puis on centrifuge brièvement (20 secondes à vitesse maximale). Toutefois, avant de mettre les tubes dans la centrifugeuse, il est également recommandé de bien les secouer un par un.

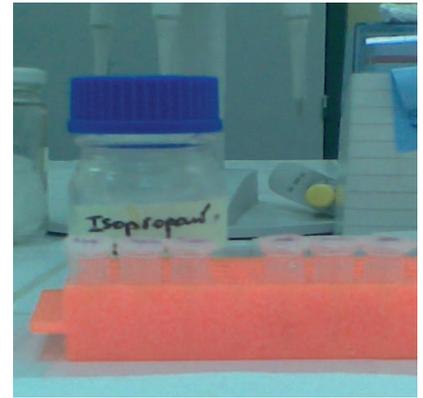


Photo 7 : Ajout de l'isopropanol au surnageant

9- Le surnageant est jeté en le versant directement à partir du tube puis on ajoute dans ce dernier 500 μ l d'éthanol à 70 % pour le rinçage du culot.

10- Une dernière centrifugation est effectuée pendant 10 minutes à vitesse maximale (photo 8), le surnageant est jeté en versant le tube. Les tubes sont centrifugés à nouveau brièvement afin d'en éliminer tout le surnageant à l'aide d'une pipette.



Photo 8 : Centrifugation à vitesse maximale

11- On laisse sécher pendant 15 minutes à température ambiante puis on suspend le culot à nouveau dans 50 μ l d'eau distillée stérile.

Après une nuit de stockage au réfrigérateur, 5 μ l d'ARNase sont ajoutés dans les tubes afin d'éliminer les ARN qui apparaissent sous forme de smires à la révélation du gel, après une brève centrifugation les ADN sont stockés dans un congélateur (à -20°C).

Avant de réaliser les PCR, plusieurs tests permettant de vérifier la qualité des ADN ont été effectués, notamment des électrophorèses sur gel d'agarose à 1 %, des photos à l'aide de polaroids ou encore à l'aide d'appareils photos numériques ont été prises (voir annexe 4).

L'ensemble des ADN extraits a été passé au spectrophotomètre sous les deux longueurs d'onde 260 et 280 nm, dans le but d'en vérifier la pureté ($1,8 \geq A_{260}/A_{280} \leq 2,0$).

II.2.2. Amplification d'ADN par PCR

II.2.2.1. Composition du mélange réactionnel de PCR

L'amplification à l'aide des marqueurs microsatellites a été réalisée suivant le protocole utilisé par Ghérardi *et al.* (1998). En effet, le protocole préconise un volume final de 25 µl/tube. Toutefois, un test de PCR à volume finale de 20 µl s'est révélé positif et a été effectué dans le but d'économiser les produits entrant dans le volume du mixe réactionnel. Donc, il a été opté pour le protocole à volume final de 20 µl au lieu de 25 µl (voir tab. 6).

Tableau 6 : Deux protocoles de préparation de mixe réactionnel pour PCR-SSR

Produits	Volume final de 25 µl	Volume final de 20 µl
Eau distillée et stérilisée	14 µl	10.9
Tampon 10x	2.5 µl	2
Mgcl2 (solution mère 50mM)	0.8 µl	0.64
DNTP (1.25mM)	4 µl	3.2
Amorces (50ng/ µl)	2 µl	1.6
Taq (5u/ µl)	0.2 µl	0.16
ADN (30ng/ µl)	1.5	1.5
Volume final	25	20

En comparant l'enzyme taq commerciale (Invitrogen) à celle produite au niveau d'un laboratoire, les tests effectués avec tous les marqueurs SSR ont révélé que les ADN testés présentaient une meilleure amplification dans la majeure partie des cas avec la taq Invitrogen, bien que pour certains marqueurs l'amplification soit indifférente au type de taq utilisée dans le mixe réactionnel.

II.2.2.2. Programme de la PCR

Le programme introduit au niveau du thermocycler de type Gene amp PCR system 9700, est celui cité par Ghérardi *et al.*, (1998) qui comporte les étapes suivantes :

- a- 4 minutes à 94°C (dénaturation)
 - b.1/ 30 secondes à 94°C (dénaturation)
 - b.2/ 30 secondes à 55°C (Hybridation).
 - b.3/ 30 secondes à 72°C (Elongation)
- b- Les étapes b.1 à b.3 répétées 40 fois
- c- 6 minutes à 72°C. (Elongation finale).

Toutefois, pour certains marqueurs la stringence a été diminuée par la diminution de la température d'hybridation à 50°C.

Le nombre total de PCR réalisé s'élève à 12 PCR.

II.2.3. Révélation des amplifias

Une fois les amplifias obtenus, la révélation se fait à l'aide d'une électrophorèse verticale dans une cuve de type Eps 3501 XL, sur un gel d'acrylamide à 6% avec une puissance de 70 w pendant une

durée d'une heure et trente minutes à deux heures suivant la taille du marqueur. Les dépôts s'effectuent en mélangeant du bleu de formamide, de l'eau et de l'amplifia. Toutefois, une dénaturation pendant 5 minutes à 94°C à l'aide du thermocycler précède le dépôt.

Le gel est composé de 64 puits dont trois sont occupés par le marqueur de taille. Suivant le marqueur MTIC utilisé une dilution optimale a été trouvée.

Néanmoins, pour pallier le problème de manquants les dilutions de dépôt ont été réajustées, en concentrant l'amplifia dans le mixe, et des PCR ont été refaites après ajustement de la concentration d'ADN.

A l'issue de notre expérimentation, nous avons réalisé un nombre total de gels d'acrylamide de 26.

II.2.4. Choix des ADN à tester

Sur les 496 génotypes dont l'ADN a été extrait, seulement 137 ont été testés sur le plan moléculaire. Ceci s'explique par le fait qu'à l'issue de la première année de suivi sur terrain la culture a subi plusieurs attaques de ravageurs, comme nous l'avons souligné précédemment, engendrant des pertes conséquentes et après l'essai de régénération de deuxième année seulement 137 génotypes ont pu être récoltés. Ce sont donc ceux-ci, pour lesquels nous avons de la semence et qui ont fait l'objet de notre étude moléculaire.

II.2.5. Choix des marqueurs SSR-EST

Lazrek *et al.* (2009) ont travaillé sur 18 marqueurs SSR à partir desquels ils ont conclu qu'il pouvait exister des marqueurs neutres et non neutres. Nous avons testé ces marqueurs sur 12 individus (dont la qualité d'ADN est vérifiée) dans les conditions du laboratoire de l'INRAA. Le fruit de l'amplification a été révélé en premier sur gel d'acrylamide dont 9 marqueurs (MTIC 503, 511, 535, 559, 563, 564, 640, 770 et 1172) avaient montré une bonne amplification. Une autre révélation a été réalisée sur gel d'agarose à 3 %, afin de déterminer les cinq les plus polymorphes (voir annexe 6) qui ont fait l'objet de cette étude.

L'analyse des données a porté sur 9 marqueurs SSR. 4 SSR (MTIC 243, 268, 308 et 535) ont été étudiés dans le cadre de la thèse d'ingénieur de Mezioud (2011) et les 5 restants ont été amplifiés et passés sur gel d'acrylamide dans le cadre de ce mémoire en l'occurrence les MTIC 559, 503, 511, 563 et 640. Ces marqueurs représentent sept groupes de liaison (GL) de la plante. Seuls les marqueurs représentant le GL2, n'ont pas été étudiés.

III. Analyse des données

Pour étudier nos différents résultats nous avons focalisé nos analyses sur deux niveaux, le premier est celui des populations, le second est celui des plants (génotypes).

III.1. Analyse de la partie morphologique

Les résultats de la partie morphologique ont fait l'objet d'un pull d'analyses à l'aide du logiciel R dont la version est R2.12.0. Ces analyses sont scindées en fonction du type de variables. Nous avons commencé par les variables quantitatives, ensuite nous sommes passé à l'analyse des variables qualitatives, enfin nous avons terminé par une analyse combinant les deux types de variables.

III.1.1. Analyse des données qualitatives

Nous avons commencé par effectuer pour chaque variable des histogrammes en fonction des différentes modalités la composant.

Ensuite, nous avons effectué des tests de khi2, afin de voir s'il y avait une structuration particulière au sein de l'effectif étudié ou bien si la présence des différents caractères au sein de l'effectif, est due au hasard.

Après cela, nous sommes passé aux différentes analyses multivariées. De fait, nous avons effectué une ACM, dans laquelle nous avons vu la projection des modalités sur les plans composés des axes donnant le plus d'informations. Nous avons ensuite la fonction score des trois premiers axes. Par ailleurs, nous avons effectué une AFCM pour tenter de regrouper nos variables en fonction des facteurs du milieu ou de certains caractères morphologiques. De plus, nous avons voulu schématiser la fréquence de présence de notre effectif en fonction des différentes modalités, pour ce faire, nous avons réalisé un box plot. Enfin, nous avons réalisé un mosaic plot afin de voir s'il pouvait exister une structuration entre nos modalités et cela en les prenant deux à deux.

III.1.2. Analyse des données quantitatives

Nous avons effectué tout d'abord les analyses monovariées suivantes :

- L'analyse de variance : Nous avons effectué une comparaison des moyennes variable par variable entre populations et entre génotypes.
- La boîte à moustache pour chaque variable quantitative : Elle nous permet de voir clairement, l'amplitude de l'expression d'un phénotype par ces valeurs minimales et maximales, afin d'observer la tendance des populations algériennes étudiées par le biais des médianes,
- Le test de corrélation : Ce test a pris en charge toutes les variables quantitatives (biométriques, apparition de la première fleur et éco-environnementales) deux à deux. Par ailleurs, à partir du plot général des corrélations nous avons pu schématiser les corrélations entre ces différentes variables.

Nous avons effectué ensuite, les analyses multivariées suivantes :

- ACP : Nous avons effectué des ACP sur les plans comprenant le plus d'informations. Nous avons représenté les populations et les génotypes sur ces plans et le cercle des corrélations nous a permis de voir comment les individus étaient projetés sur les différents plans. Nous avons également tenté

de regrouper les variables quantitatives en fonction de variables supplémentaires que sont les variables du milieu des sites d'origine et les variétés botaniques décrites par Heyn (1963). Par ailleurs, à l'aide d'un histogramme nous avons mis en avant les variables contribuant le plus aux différents axes.

- Nous avons effectué un dendrogramme de distances entre les différents génotypes étudiés sur la base des caractères morphologiques seulement. De plus, nous avons effectué un dendrogramme de distance entre les variables prises en compte pour l'étude morphologique.
- Pour terminer, nous avons réalisé la « heat map » qui consiste à réunir les génotypes étudiés en fonction des caractères qui les unissent.

III.1.3. Etude de l'effectif en fonction des variétés botaniques

Afin de voir la présence ou pas de nouvelles formes non décrites par les taxinomistes, nous avons sur la base de leur description tenté de regrouper notre effectif en fonction des différentes variétés botaniques. Des histogrammes ont été alors réalisés pour illustrer nos résultats.

III.1.4. Analyse des données quantitatives et qualitatives réunies

Cette analyse peut se faire par le biais de l'analyse de Hill-Smith qui consiste à rechercher une variable de synthèse la plus reliée possible aux variables originelles, au sens du coefficient de détermination si la variable est numérique ou du rapport de corrélation si elle est qualitative. La somme (ou la moyenne) de ces indicateurs de liaison est maximisée. Le processus peut être itéré en cherchant une deuxième variable de synthèse non corrélée qui optimise le même critère.

Cette analyse nous a permis de projeter notre effectif sur un plan qui est celui de Hill-Smith. Ensuite, nous avons relevé les scores des deux axes 1 et 2. Enfin, nous avons montré à l'aide du cercle de corrélation de Hill-Smith le regroupement de nos différentes variables.

Les tests de Kmeans et de Ward ont été réalisés afin de confirmer le nombre de groupes obtenu par l'analyse de Hill-Smith.

Donc, Kmeans est un algorithme se basant sur la similarité des groupes, cette méthode consiste à regrouper n variables en k groupes ($k < n$), dans lesquels chaque observation appartient au cluster dont la moyenne est la plus proche. La méthode consiste donc à trouver le centre naturel des observations appelé également centroïde. De fait, la méthode Kmeans consiste à réduire la somme des carrés intra groupes. Le choix du nombre des K clusters est déterminant car un mauvais choix induit une mauvaise qualité d'information. Le test de Ward a le même principe que Kmeans, c'est-à-dire regrouper les individus les plus similaires possibles dans des groupes.

III.2. Analyse de la partie moléculaire

Pour ce qui est de la partie moléculaire les analyses effectuées ont été les suivantes :

Le calcul du :

- Nombre total de génotypes,
- Nombre d'allèles par locus,
- Nombre d'allèles par populations,
- L'hétérozygotie observée « Ho » par locus,
- L'hétérozygotie attendue « He » par locus,
- Le calcul des Fst global, puis marqueur par marqueur, afin de tester et de mesurer la structure des populations.

Nous avons effectué plusieurs tests dont :

- le test de Bartlett, consistant à comparer l'homogénéité des variances des indices « He » au « Ho »,
- le test t apparié, pour vérifier si la moyenne des « Ho » est significativement inférieure à celle des « He ».
- le test de Monte Carlo : par ce test, nous allons voir si la structure entre populations est significative, un test de Gstat est effectué dans lequel des simulations aléatoires sont implémentées. Dans notre cas le nombre de simulations est de 99.
- le test des permutations : il est effectué 1000 permutations de génotypes au sein des populations auxquelles ils appartiennent pour vérifier s'il existe une variance intra et entre populations marqueur par marqueur.

Sur la base des fréquences alléliques nous avons calculé la variance locus par locus.

Nous avons projeté sur le plan de l'ACP les génotypes étudiés, pour ce qui est des valeurs manquantes, elles ont été remplacées par les moyennes par population. Par ailleurs, nous avons tenté de regrouper les génotypes en fonction des variables supplémentaires [pluviométrie, variété selon Heyn (1963) et relief].

A partir de là, nous avons établi le dendrogramme des clusters des génotypes étudiés, nous nous sommes penché sur la composition des groupes, nous avons voulu selon Kmeans déterminer le nombre de groupes que l'on pouvait obtenir, ensuite par la méthode Bic nous avons déterminé le nombre **optimal** de groupes que l'on pouvait obtenir. Ces groupes ont été placés sur l'arbre de NJ ou suivant une classification ascendante hiérarchique (CAH). Enfin, nous avons testé par le khi2, si la présence des variables au sein de ces groupes étaient fortuites ou pas.

Comme pour la partie étude morphologique des mosaic plot ont été réalisés pour voir le degré de liaison des génotypes avec certaines variables.

Résultats

et

Discussion

Chapitre I : Etude morphologique

I. Etude des caractères qualitatifs

I.1. Etude du caractère marqueur foliaire chez *M. truncatula*

Sur les 70 populations et 4 lignées de référence répétées deux fois soit les 254 génotypes dont les observations étaient complètes, il a été relevé huit groupes de marqueurs foliaires différents comme le montre la figure 2 ci-dessous. De fait, 4 types de marqueurs bien distincts les uns des autres (voir les photos 9, 10, 11 et 12 qui suivent) ont pu être observés sur les génotypes étudiés.

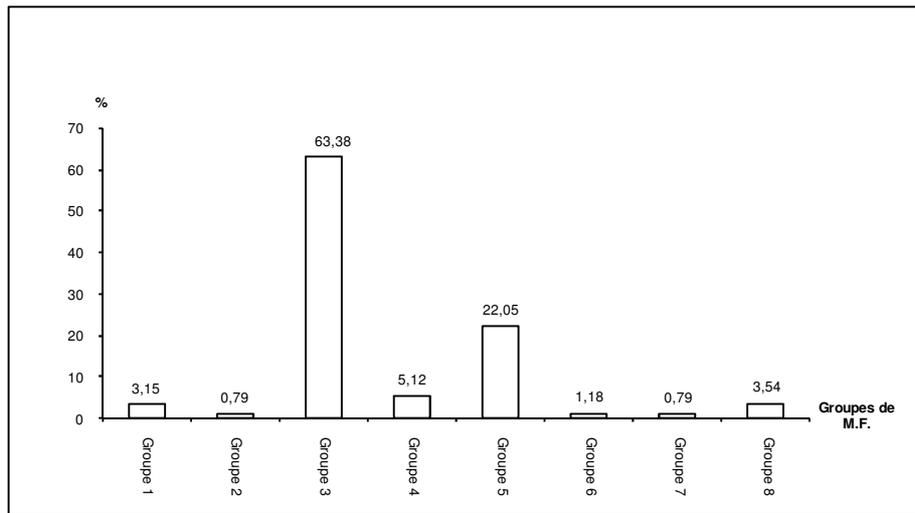


Figure 2 : Répartition des génotypes de *M. truncatula* en fonction des groupes de marqueurs foliaires

Groupe 1 : M.F. de position proximale à basale, en forme de tache

Il correspond à des taches blanches à la base de la foliole. Ce marqueur a été présent chez 3.15 % de l'effectif étudié, soit les 8 génotypes suivants : ALG 232.91, ALG 232.92, ALG 234.97, ALG 234.98, ALG 234.99, ALG 234.100, ALG 257.153, ALG 257.154.



Photo 9 : Marqueur foliaire de *M. truncatula* du type 1

Groupe 2 : M.F. de position centrale, en forme de taches

Il correspond à des taches blanches au centre de la foliole, sur la nervure principale. Ce marqueur pour sa part a été trouvé chez 0.79 % des génotypes étudiés, soit seulement les 2 génotypes suivants : ALG 265.157 et ALG 432.406.



Photo 10 : Marqueur foliaire de *M. truncatula* de type 2

Groupe 3 : M.F. de position variable, en forme de petits points

Il est représenté par des petits points grenat répartis sur toute la foliole. Ce marqueur est sans conteste le marqueur le plus répandu puisqu'il est présent chez près de 63.39 % des génotypes soit 161 génotypes. Il comprend entre autres les génotypes suivants : ALG 202.5, ALG 206.10, ALG 299.180, ALG 346.292, etc. ainsi que les lignées de référence suivantes : F83005.9, F83005.5 et la DZA 45.5



Photo 11 : Marqueur foliaire de *M. truncatula* de type 3

Groupe 4 : M.F. de position distale, en forme de tache

Enfin, ce dernier type est caractérisé par de grosses taches grenat sur la nervure centrale de la foliole et il est situé au sommet de cette dernière. Il apparaît dans notre étude dans 5.12% des cas soit les 13 génotypes suivants : ALG 212.17, ALG 214.21, ALG 214.22, ALG 214.25, ALG 214.26, ALG 300.189, ALG 300.190, ALG 431.403, ALG 443.448, ALG 443.450, ALG 444.456, ALG 452.479, ALG 454.490.



Photo 12 : Marqueur foliaire de *M. truncatula* de type 4

Groupe 5 : Absence de M.F.

Ce groupe arrive en seconde position et il représente 22.05 % des génotypes étudiés soit 56 génotypes. Nous noterons la présence entre autres des génotypes suivants dans ce groupe : ALG 206.11, ALG 222.39, ALG 346.285 et la lignée témoin A20

Groupe 6 : Combinaison entre le groupe 4 et le groupe 2

Il est présent chez 1.18 % des génotypes étudiés soit les 3 génotypes suivants : ALG 432.405, ALG 441.441, ALG 441.442

Groupe 7 : Combinaison entre le groupe 3 et le groupe 1

Il est présent chez 0.79 % des génotypes étudiés, soit les 2 génotypes suivants : ALG 234.95, ALG 234.96.

Groupe 8 : Combinaison entre le groupe 3 et le groupe 2

Ce dernier groupe représente 3.54 % des génotypes étudiés. Comme le montre l'histogramme, des 3 groupes combinant deux types de M.F. c'est le groupe avec l'effectif le plus riche et il comprend les 9 génotypes suivants : ALG236.106, ALG 236.107, ALG 236.108, ALG 236.109, ALG 236.110, ALG 252.123, ALG 257.150, ALG 311.217, ALG 311.218.

Des résultats intéressants peuvent ressortir de l'étude des M.F. Tout d'abord, on notera que le groupe 3 est le plus ubiquiste puisqu'il est présent sur 57 sites brassant tous les étages bioclimatiques l'humide, le subhumide, le semi-aride et l'aride. Il est présent au Nord, au Centre, à l'Est et à l'Ouest du pays.

Le second résultat qui ressort de l'étude des M.F. c'est la présence de plus d'un (1) marqueur foliaire par site de collecte, ce qui signifie l'existence d'une variabilité intra population. Ces résultats sont en concordance avec ceux obtenus par Chaulet (1995).

Le troisième et dernier résultat est que les génotypes dépourvus de M.F. sont également bien répartis sur le territoire national, il semble alors difficile de corréliser la présence de M.F. avec les facteurs du milieu.

I.2. Etude des gousses

Dans notre étude de la morphologie de l'espèce *M. truncatula* nous avons choisi notamment d'étudier les gousses, car les différents botanistes tels que Heyn (1963) et Lesins et Lesins (1979), ayant étudié l'espèce, se sont fortement basés sur les phénotypes des gousses pour pouvoir répartir l'espèce en différentes variétés botaniques. De ce fait, les caractères qui nous ont semblé les plus pertinents pour pouvoir étudier nos populations sont tout d'abord, le nombre de tours de spires. Ce caractère est selon nous le plus important car il permet d'ores et déjà de distinguer la variété *tricycla* des deux autres variétés *truncatula* et *longispina*. Ensuite, nous avons la mesure de la longueur et du diamètre de la gousse. Enfin, nous avons la compression ou pas des spires.

I.2.1. Etude du nombre de tours de spires (nombre de tsp.)

Pour étudier le caractère nombre de tsp., il nous a semblé bon de scinder nos observations en classe. De fait, nous avons obtenu huit (8) classes, allant de 2 à 5.5 tsp (fig. 3), avec un intervalle de 1/2 tsp. entre chaque classe. Ces résultats sont en concordance avec ceux de Nègre (1961), puisque ce dernier dans sa présentation de *M. truncatula* a relevé que le nombre de tsp. était compris dans l'intervalle [2-8].

Le premier résultat qui ressort de notre étude du nombre de tsp. est que tout d'abord nous avons plus de 82 % des gousses qui présentent un nombre de tsp. compris dans l'intervalle [2.5, 4] ce qui classerait les génotypes dont elles sont issues dans la variété *tricycla*. En, effet, ceci serait vrai, si et seulement si, on se contente de ce seul caractère pour établir notre classification tout en se basant sur la classification de Heyn (1963). Or, comme nous allons le voir par la suite, ce serait une grossière erreur de le faire.

Le second résultat obtenu de l'étude du nombre de tsp. est qu'un peu plus de 13 % des gousses étudiées ont un nombre de tsp. de 2 ou de 4.5. Ce nombre de tsp. ne correspond à aucun nombre de tsp. relevé sur les variétés de *M. truncatula* décrites par Heyn, (1963) ou Lesins et Lesins (1979), pour cela, il aurait dû être soit compris dans l'intervalle [2.5, 4], soit supérieur ou égal à 5 tsp.

Le troisième résultat est qu'un peu plus de 4 % seulement, présentent un nombre de tsp. de 5 ou de 5.5. Ce qui ne nous permet pas de distinguer entre les deux variétés *longispina* ou *truncatula* sur la base de ce seul caractère (fig. 3).

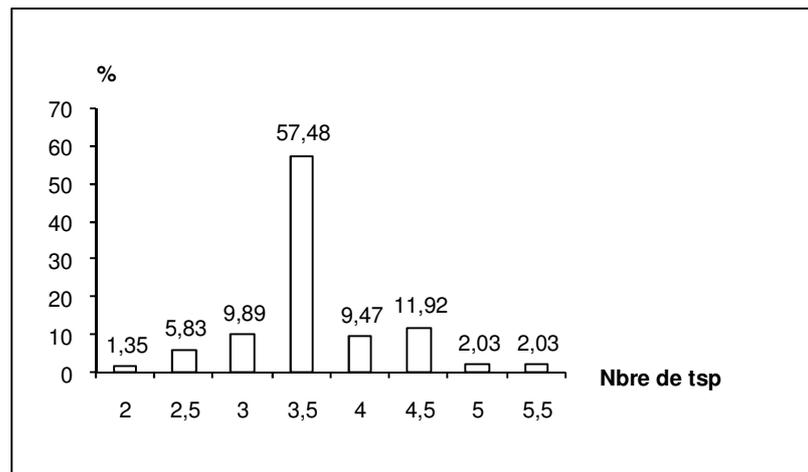


Figure 3 : Répartition des gousses de *M. truncatula* étudiées selon le nombre de tours de spires

L'autre résultat qui ressort clairement de l'étude du caractère nombre de tsp. chez les 65 populations algériennes de *M. truncatula* récoltées et dont les données étaient complètes, c'est que 7 populations seulement présentent des gousses de plus de 5 tsp. et sur ces 7 populations, il n'existe pas de populations appartenant entièrement à l'une ou l'autre des variétés *truncatula* ou *longispina* (c'est-à-dire qu'il n'existe pas de gousses qui dépassent les 8 tsp.).

Les 7 populations dont les génotypes présentent un nombre de tsp. supérieur à 5 sont la ALG232, ALG234, ALG236, ALG252, ALG253, ALG300 et la ALG410 et sur ces 7 populations nous avons relevé une variabilité intra population concernant ce caractère, puisque nous avons relevé différentes valeurs du nombre de tsp. suivant les génotypes qui composent la population. Plus encore, nous avons relevé une différence du nombre de tsp. au sein de mêmes génotypes, en l'occurrence les génotypes ALG252.126, ALG252.127, puisque nous avons trouvé chez chacune d'elles 4 et 5 tsp..

Enfin, selon Damerval, (1983), la lignée A20 serait une *M. truncatula* var. *longispina*, alors que selon Clarkson & Russel (1975), ce serait une *M. truncatula* var. *truncatula*, ce qui signifierait que le nombre de tsp. serait supérieur à 5. Alors que nous, nous avons obtenu un nombre de tsp. de 3.5. Deux explications peuvent être données à cela, la première serait que le nombre de tsp. ne serait pas pris en considération pour la classification et donc une autre classification serait utilisée, ce qui est peu probable. La seconde est que la lignée n'a pas eu le temps de se développer suffisamment ? Pour supprimer tous les doutes, concernant les résultats obtenus, il faudrait multiplier le nombre d'observations sur un même génotype (ce qui n'a pas été fait en raison du nombre important de génotypes que l'on a voulu tester au départ) ou encore effectuer des répétitions dans le temps, afin de confirmer les résultats que l'on a obtenus au cours de notre essai.

I.2.2. Etude du sens des spires

A partir de la figure 4, nous remarquons que la proportion des gousses dont le sens de rotation des spires est dextre (voir photo 14) est légèrement inférieure à celui des gousses dont le sens de rotation des spires est sénestre (voir photo 13) soit respectivement 49.7 % contre 50.3 %.



Photo 13 : Gousse à sens de rotation sénestre (ALG212-17)



Photo 14 : Gousse à sens de rotation des spires dextre (ALG226-73)

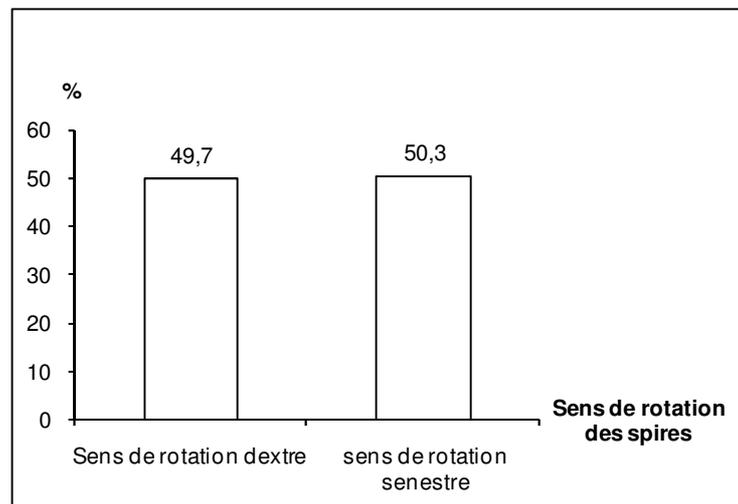


Figure 4 : Répartition des gousses de *M. truncatula* étudiées en fonction du sens de rotation des spires

De la même manière, un autre résultat peut ressortir de l'étude du sens de rotation des spires c'est l'uniformité du sens de rotation des spires au sein de 39 populations sur les 70 populations étudiées. Ceci peut se justifier dans près de 20 % des cas, soit chez 14 populations, par le fait que les gousses soient issues du même génotype. Toutefois, chez les 25 populations restantes, la variabilité est suffisamment respectée, et la population est au moins représentée par deux génotypes.

I.2.3. Etude de la compression des spires

La figure 5 montre que la majorité des gousses étudiées ont les spires compressées à moyennement compressées (voir photo 15) soit 76.84 %, contre 23.16 % qui ne les ont pas (voir photo 16).

Nous avons regroupé les spires compressées à moyennement compressées car le jugement reste très subjectif et très aléatoire, dépendant de la personne et du temps qu'elle a passé à travailler.



Photo 15 : Gousse à spires compressées
(ALG 212-17)



Photo 16 : Gousse à spires non compressées
(ALG 234-102)

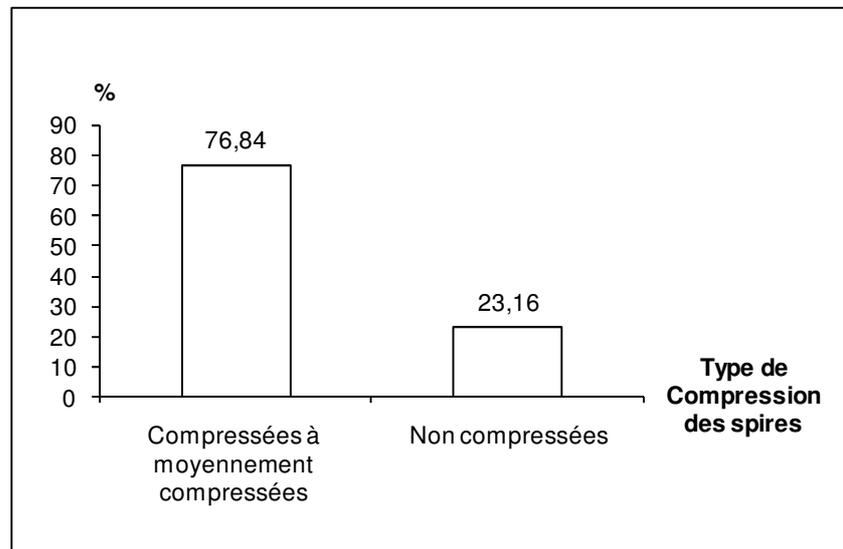


Figure 5 : Répartition des gosses de *M. truncatula* en fonction de la compression des spires

I.3. Etude des épines

Une étude sur les épines des gosses a été effectuée et les caractères qui ont été pris en compte sont la largeur au bord de la spire et la longueur des épines (caractères quantitatifs), la forme et le sens de ces dernières. Ces caractères ont permis à Urban (1873 in Lesins et Lesins, 1979) de proposer une classification de l'espèce *M. truncatula* en deux autres variétés botaniques, en l'occurrence les variétés *longeaculeata* et *breviaculeata*. Un troisième caractère tout aussi important que les deux que nous venons de citer a été pris en compte dans notre étude des épines, car il rentre aussi bien dans la classification des *M. truncatula* selon Heyn que dans celle proposée par Urban, il correspond à l'angle d'insertion formé par les épines et la surface des spires. Ce caractère est d'autant plus important que

l'une des distinctions que l'on peut faire entre les variétés *truncatula* et *longispina* c'est que la variété *truncatula* a des épines dont l'angle d'insertion est de 90°.

I.3.1. Etude de l'angle d'insertion des épines

L'étude de ce caractère a permis la répartition des gousses de *M. truncatula* étudiées en trois groupes distincts (fig. 6) :

Le groupe 1 : celui-ci, est composé des gousses dont l'angle d'insertion des épines est compris entre 90° et 180°, environ 130° (voir photo 10). Il regroupe la majorité des gousses soit 79.29 %.

Le groupe 2 : correspond au groupe dont l'épine et la surface des spires forment un angle de 90° (voir photo 11), et ce groupe arrive en seconde position avec 14.03%.

Le groupe 3 : ce dernier groupe est représenté par les gousses dont les épines forment un angle de 180° avec la surface des spires, ce groupe est le moins représenté puisqu'il ne constitue que 6.68 % des gousses étudiées.

Ces proportions viennent confirmer en partie les résultats obtenus par Lesins et Lesins (1979), selon lesquels la majeure partie des *M. truncatula* étudiées ont un angle d'insertion intermédiaire (130° environ), suivi des *M. truncatula* dont l'angle d'insertion est de 90°. L'angle d'insertion de 180° est dans notre cas comme dans le cas de l'étude citée par Lesins et Lesins (1979) le moins répandu.



Photo 17 : Gousse à épines dont l'angle d'insertion est intermédiaire (ALG 265-157)

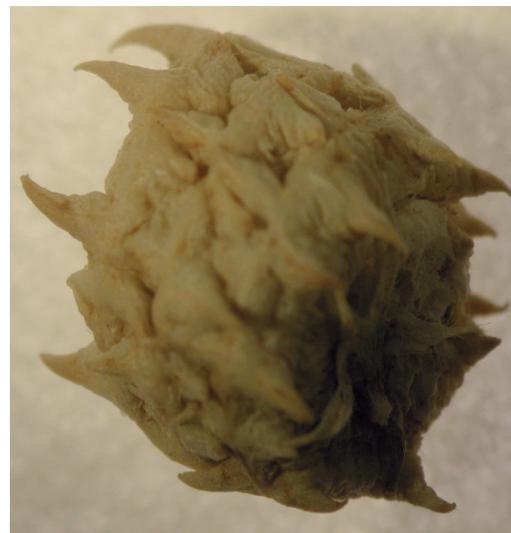


Photo 18 : Gousse à épines dont l'angle d'insertion est de 90° (ALG 212-17)

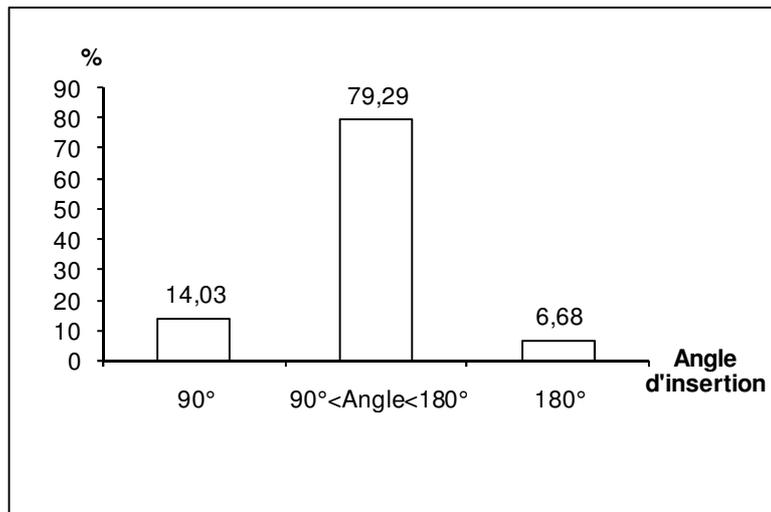


Figure 6 : Répartition des gousses de *M. truncatula* en fonction de l'angle d'insertion des épines

I.3.2. Etude de l'orientation des épines

Comme le montre la figure 7, les épines au niveau des gousses étudiées présentent aussi bien une orientation non divergente (constante), c'est-à-dire les épines de la même spire sont orientées dans la même direction, qu'une orientation divergente, c'est-à-dire que les épines vont dans tous les sens.

Toutefois, il apparaît de manière limpide que l'écrasante majorité des gousses étudiées (78,92 %) présente la forme divergente contre seulement 21,08 % des gousses qui présentent la forme non divergente.



Photo 19 : Gousse à épines divergentes
(ALG 348-301)



Photo 20 : Gousse à épines non divergentes
(ALG 226-75)

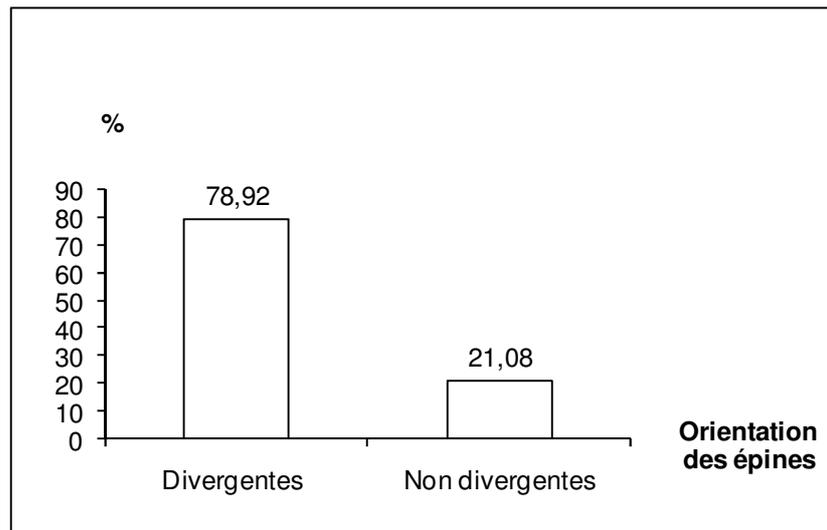


Figure 7 : Répartition des gousses de *M. truncatula* en fonction de la divergence ou pas des épines.

I.3.3. Etude de la forme des épines

Dans l'étude de la forme des épines, un écart aussi important que dans le cas de l'étude du sens des épines est apparu. En effet, près de 82 % des gousses ont porté des épines de forme incurvée contre un peu plus de 18 % qui ont des épines droites (fig. 8).

Ceci nous laisse penser qu'il existerait un lien très fort entre les deux derniers caractères étudiés, en l'occurrence l'orientation des épines et la forme de ces dernières. Nous tenterons de vérifier cela ultérieurement par un mosaic plot (fig. 22).



Photo 21 : Gousse à épines non incurvées (ALG 226-73)



Photo 22 : Gousse à épines incurvées (ALG 348-301)

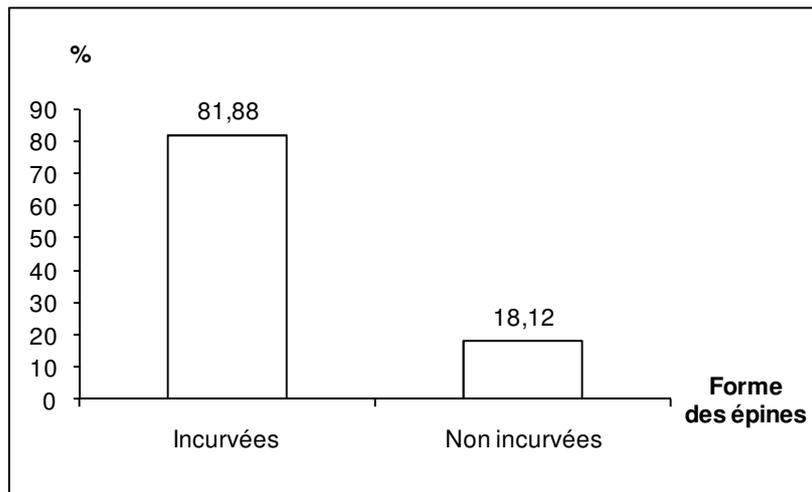


Figure 8 : Répartition des gousses de *M. truncatula* en fonction de la forme incurvée ou pas des épines

I.4. Etude des graines

Nous n'avons pas étudié de caractères qualitatifs concernant les graines, toutefois une étude de la biométrie des graines nous a également semblé intéressante à réaliser même si les études effectuées jusque là, n'ont pas pu montrer de différences bien distinctes à partir de ce caractère entre les variétés connues jusqu'ici. Nous aborderons donc l'étude des graines au niveau de l'analyse des caractères quantitatifs : analyse de variance et analyse multivariée (analyse en composante principale, Hill-Smith).

I.5. Test du khi-2

Tous les tests du khi-2 effectués ont révélé une répartition aléatoire des caractères qualitatifs au sein de l'effectif de *Medicago truncatula* étudié.

En effet, on remarque que le khi-2 calculé est systématiquement supérieur à la p-valeur et donc nous ne pouvons dire que les gousses étudiées suivent les proportions que nous avons prédéfinies.

Le tableau 7 suivant, présente les résultats du test pour le caractère sens de rotation des spires. Nous avons pris comme hypothèse H_0 à vérifier, la probabilité de 0,5 pour que les gousses aient un sens de rotation des spires dextre et la probabilité de 0,5 pour que le sens soit sénestre, c'est-à-dire que nous avons 50 % de chance de trouver chez les gousses étudiées le sens dextre et 50 % de chance de trouver le sens sénestre. Malheureusement, on remarque que le X^2 est largement supérieur à la p-value au seuil de 5 %, ce qui nous conduit à rejeter l'hypothèse H_0 , c'est-à-dire que la présence de l'un ou l'autre des caractères est fortuite au niveau de l'effectif étudié, au seuil de 5 %. Toutefois, on remarque que le khi-2 calculé est inférieur au khi-2 théorique au seuil de 1 %, nous aurions pu accepter l'hypothèse H_0 , si la p-valeur de 0,01300 était inférieure ou égale à la valeur de 0.01.

Tableau 7 : Test du khi-2 pour la variable sens de rotation des spires

X ² calculé	ddl	p-valeur	X ² théorique P=0,05	X ² théorique au P=0,01
6,1687	1	0,01300	3,84	6,64

I.6. Analyse en composante multiple (ACM)

I.6.1. Plan 1/2

A partir du plan 1/2 de l'ACM et comme le montre la figure 9, on remarque en premier lieu que les gousses étudiées peuvent être regroupées en fonction de certains caractères qualitatifs, notamment le type de feuille²(TF). En effet, les barycentres des groupes sont bien séparés.

En deuxième lieu, on relève que le groupe originaire des sites à pluviométrie inférieure à 200mm se détache clairement du lot sur ce plan. Ce groupe est composé uniquement des génotypes issus de la population ALG444.

En troisième lieu, on remarque que seulement deux génotypes, en l'occurrence le génotype ALG234.95 et le ALG 234.96 portent le MF de type 7.

En quatrième lieu, on peut dire que les autres variables qualitatives ne nous permettent pas une bonne ségrégation des gousses. Car on relève une superposition des groupes entre eux et un rapprochement de leurs barycentres.

Enfin, on remarque que les deux variables divergence (orientation des épines) et forme des épines semblent avoir à peu près la même tendance.

² Pour rappel le caractère Type de feuille (TF) nous renseigne sur les feuilles dentées ou pas.

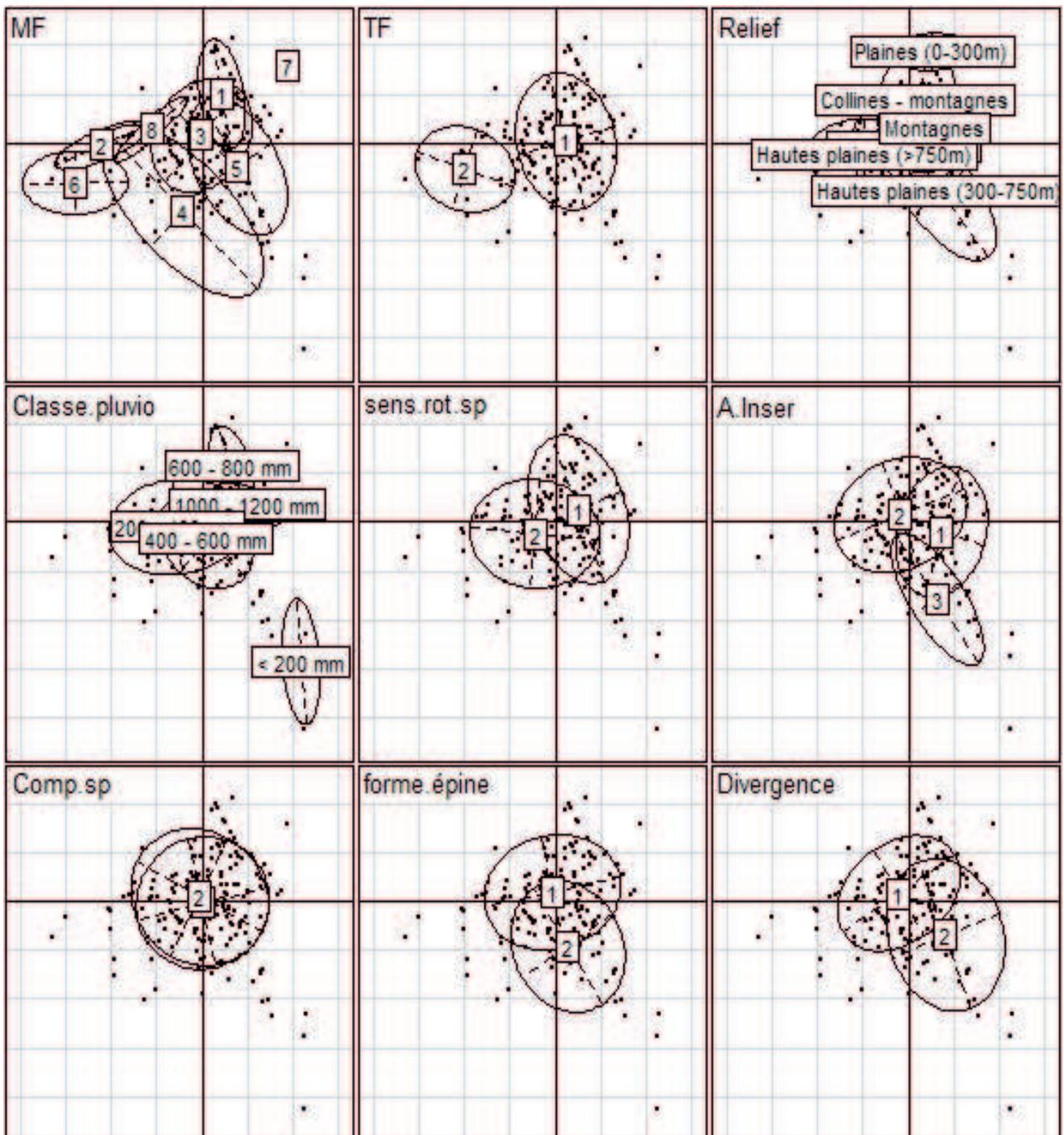


Figure 9 : Regroupement des individus de *M. truncatula* étudiés sur le plan 1/2 de l'ACM

I.6.2. Plan 1/3

Sur le plan 1/3 et comme on peut le voir sur la figure 10, la variable TF nous permet toujours d'assez bien caractériser nos gousses, le marqueur foliaire de type 7 se sépare bien du lot car il n'est bien sûr pas fortement représenté. Le marqueur foliaire de type 6 se sépare des autres marqueurs mais il reste tout de même très proche de ces derniers. On note également sur ce plan que les gousses issues de la classe pluviométrique < 200mm se sépare du lot.

Comme pour le plan 1/2, le reste des caractères qualitatifs ne peut permettre la séparation des groupes. En effet, les groupes se superposant, les gousses situées à l'intersection peuvent appartenir à l'un ou l'autre des groupes composant la variable.

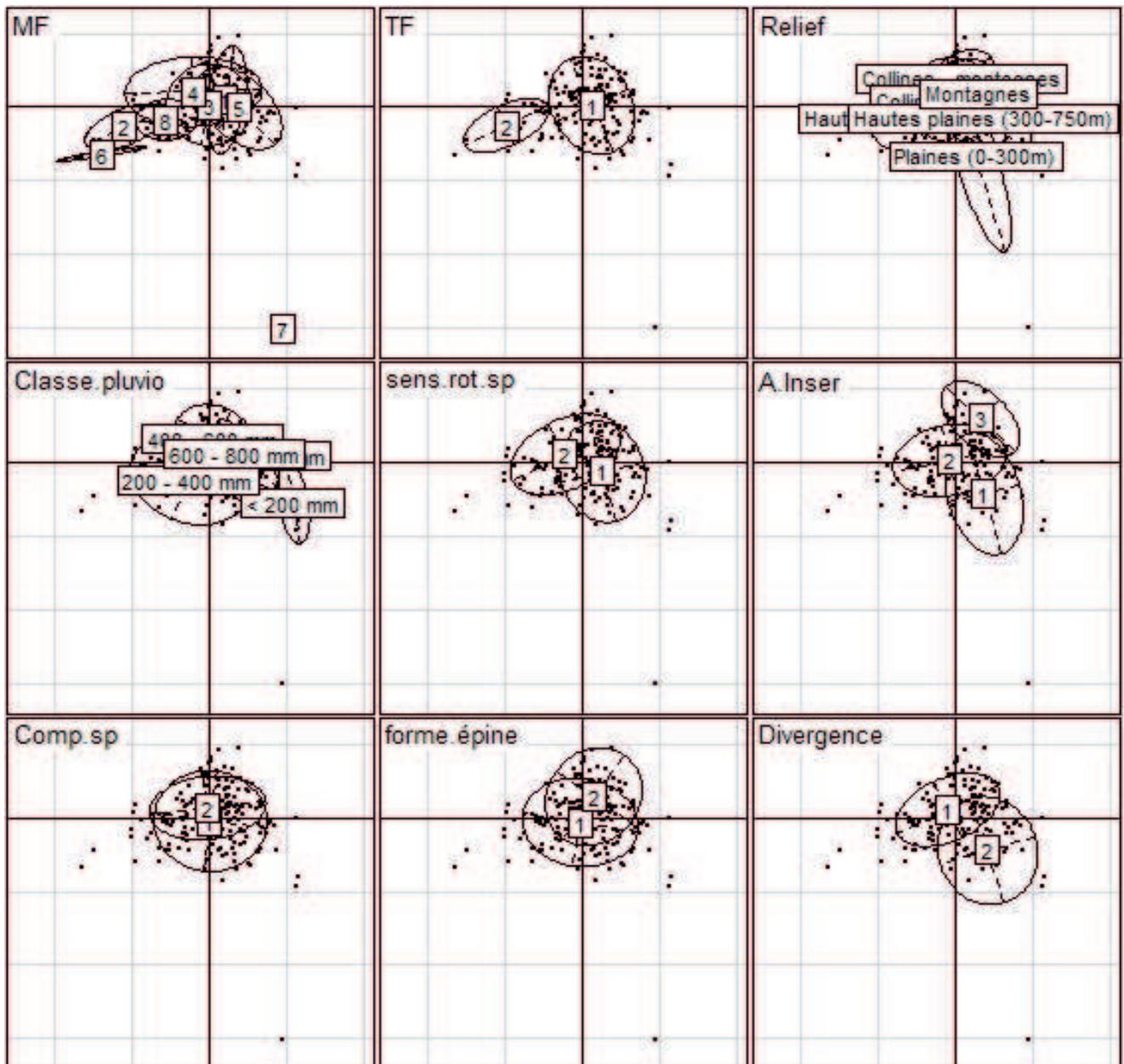


Figure 10 : Regroupement des individus de *M. truncatula* étudiés sur le plan 1/3 de l'ACM

I.6.3. Plan 1/4

Le plan (1/4) de l'ACM montre lui aussi que le type de feuille, les marqueurs foliaires et la classe pluviométrique permettent de bien séparer les groupes ou certains groupes étudiés.

Donc en plus de ce qui a été noté précédemment, nous relevons que le groupe 1000-1200 mm se détache du lot au niveau de la variable classe pluviométrique et que le groupe montagne de la variable relief se détache du centre du plan (fig. 11).

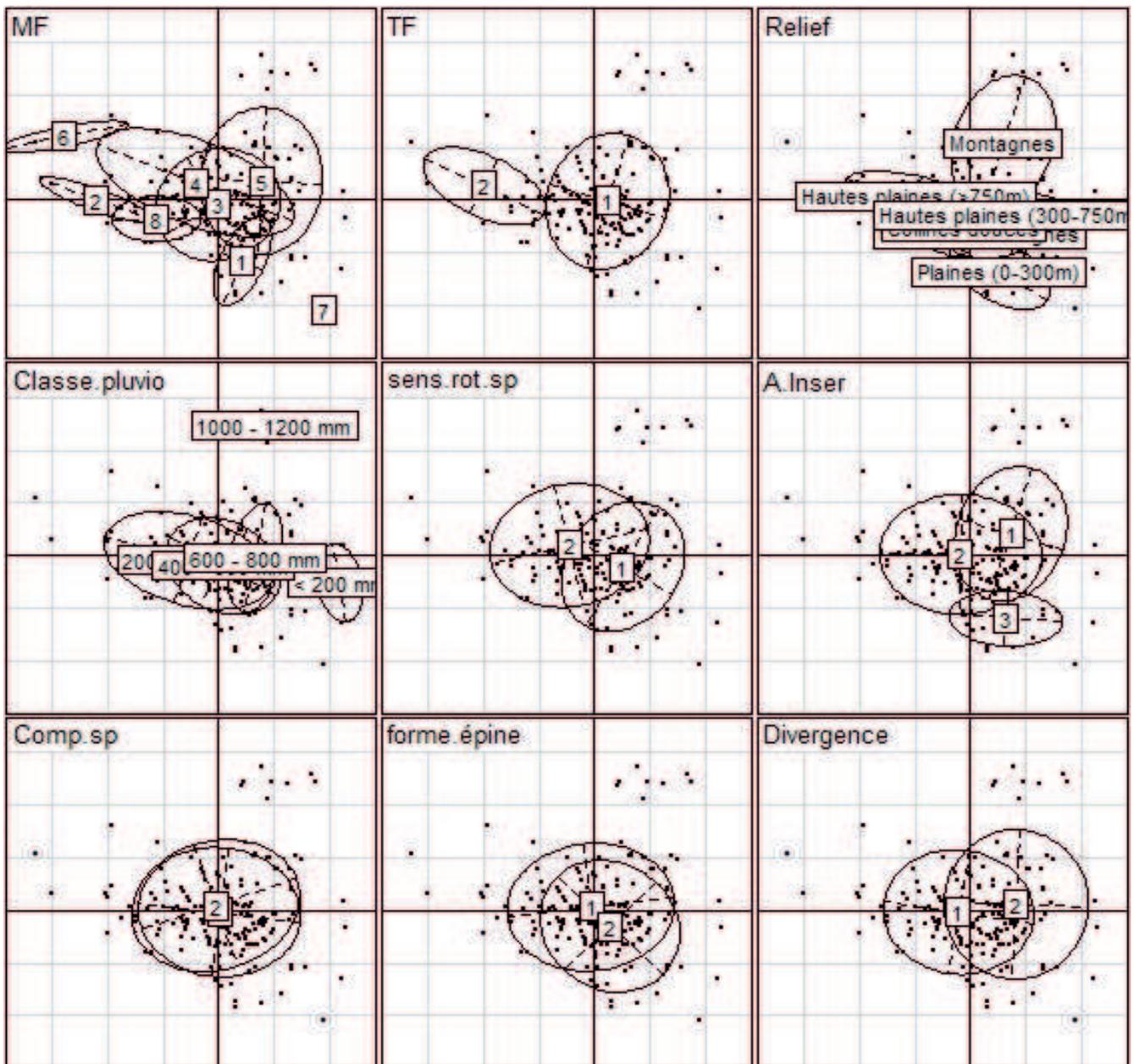


Figure 11 : Regroupement des individus de *M. truncatula* étudiés sur le plan 1/4 de l'ACM

I.6.4. Plan 2/3

Sur le plan 2/3 et comme le montre la figure 12, les groupes composant la variable type de feuille se sont superposés et ne permettent plus de séparer nos individus. Le marqueur foliaire de type 6 se rapproche du centre du plan et se confond avec les autres groupes.

Toutefois, le groupe pluviométrie inférieure à 200 mm reste toujours bien distinct des autres groupes composant la variable classe pluviométrique.

Le groupe 3 de la variable angle d'insertion s'est bien séparé des deux autres groupes, alors qu'il s'enchevêtrait légèrement avec ces derniers sur les plans précédents.

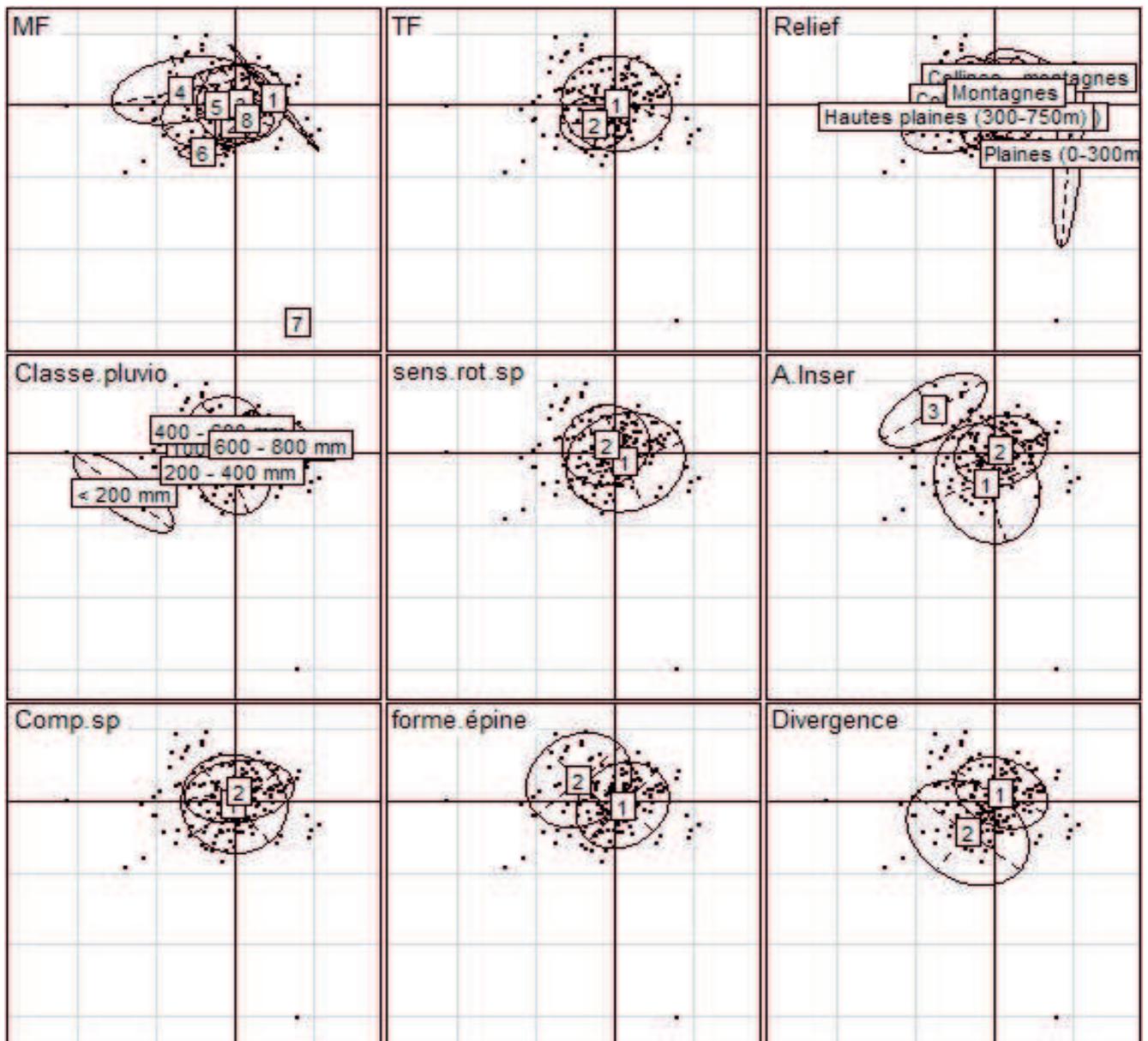


Figure 12 : Regroupement des individus de *M. truncatula* étudiés sur le plan 2/3 de l'ACM

1.6.5. Dispersion des individus au niveau des axes

La figure 13 ci-dessous correspondant au score de l'axe 1 de l'ACM, permet d'expliquer la dispersion des points au niveau de l'axe 1 de l'ACM. L'idéal aurait été d'obtenir un maximum de points sur la bissectrice ou du moins suffisamment proches de la bissectrice avec un espacement relativement important entre les groupes c'est-à-dire les parallèles, pour pouvoir dire que nos groupes sont bien distincts et que les variables prises sont discriminantes.

On remarque donc que sur cet axe 1 seuls la variable TF avec ces deux groupes, le type 7 de marqueur foliaire et à un degré moindre le type 2 et 6 de la même variable et la classe pluviométrique (< à 200mm) se détachent du lot et s'éloignent du centre du plan et des autres groupes des mêmes variables.

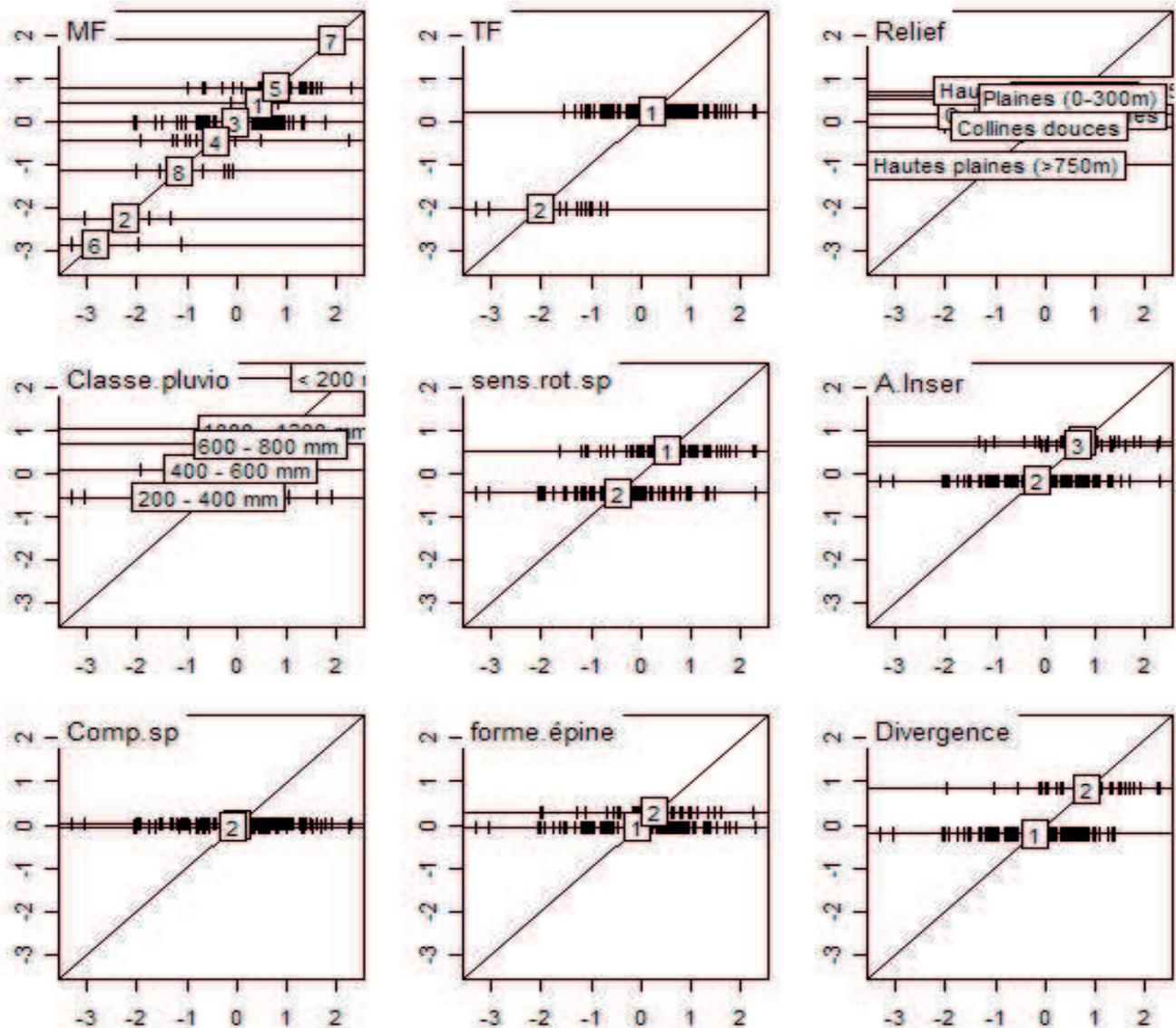


Figure 13 : Score de l'axe 1 pour l'ACM

La figure 14 représentant le score de l'axe 2 de l'ACM, nous permet de voir que le MF de type 7 reste très proche de la bissectrice. Le groupe appartenant à la pluviométrie < à 200mm reste très détaché des autres groupes l'angle d'insertion 3 est assez éloigné des autres groupes de la variable angle d'insertion.

Par ailleurs, on remarque que les variables 'forme des épines' et 'divergence' semblent avoir approximativement la même tendance.

Néanmoins, le type de feuille n'est plus aussi bien dispersé et ne permet plus de séparer entre les groupes 1 et 2 de cette même variable.

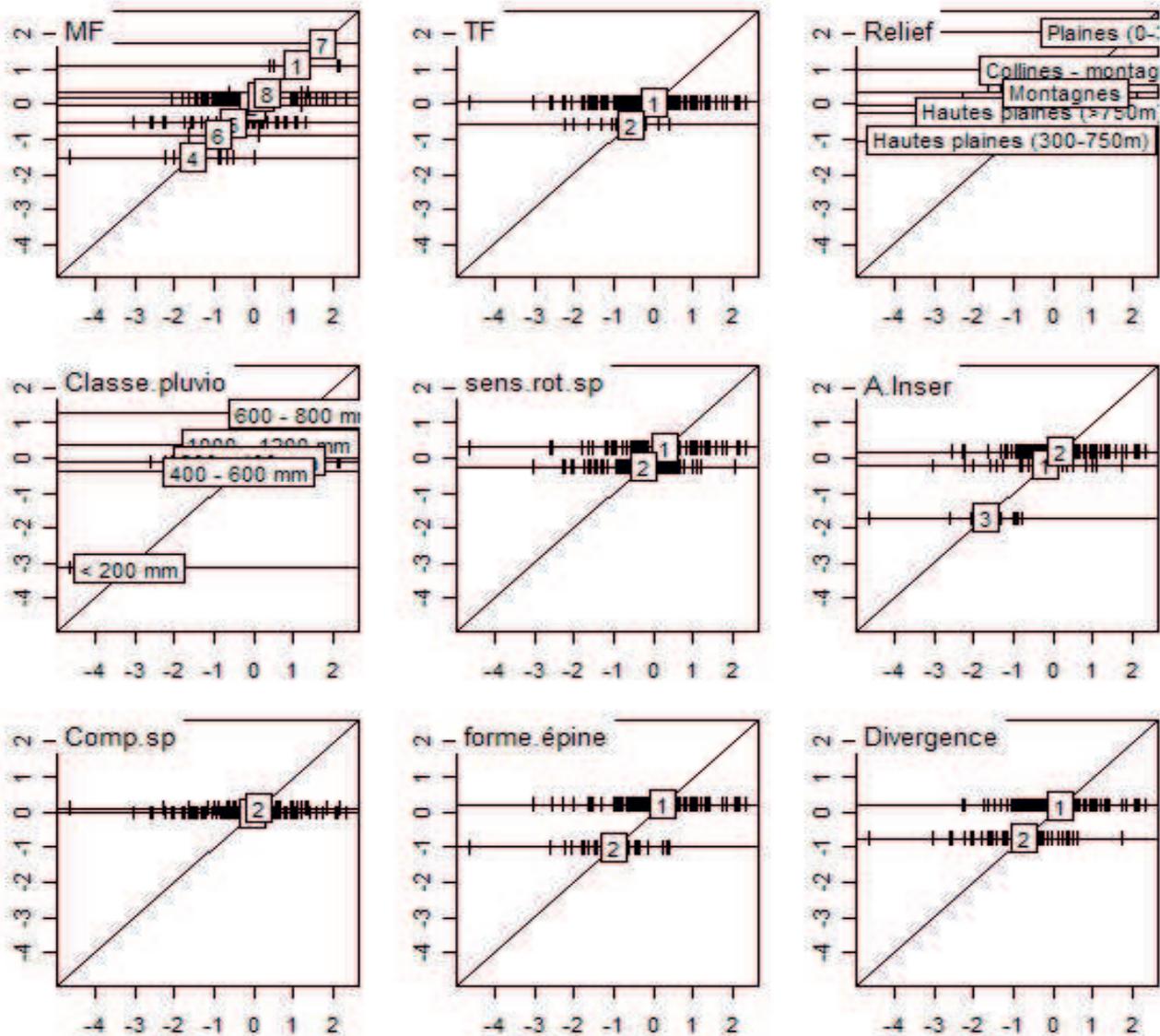


Figure 14 : Score de l'axe 2 pour l'ACM

La figure 15 révèle pour sa part que nous avons toujours une assez bonne dispersion concernant la variable type de feuille. De fait, les parallèles sont assez éloignées et les individus assez proches de la bissectrice.

On note également que les types 7, 2 et 6 de la variable marqueur foliaire se détachent plus ou moins des autres types.

Il est à noter par ailleurs, que le caractère type de feuille est assez bien schématisé et les parallèles sont assez bien séparées, si ce n'est qu'une partie des individus se dispersent sur toute la droite et peuvent donc s'entremêler sur le plan.

Sinon pour le reste des variables la dispersion est très proche du centre du plan et les différents groupes des différentes variables peuvent se confondre.

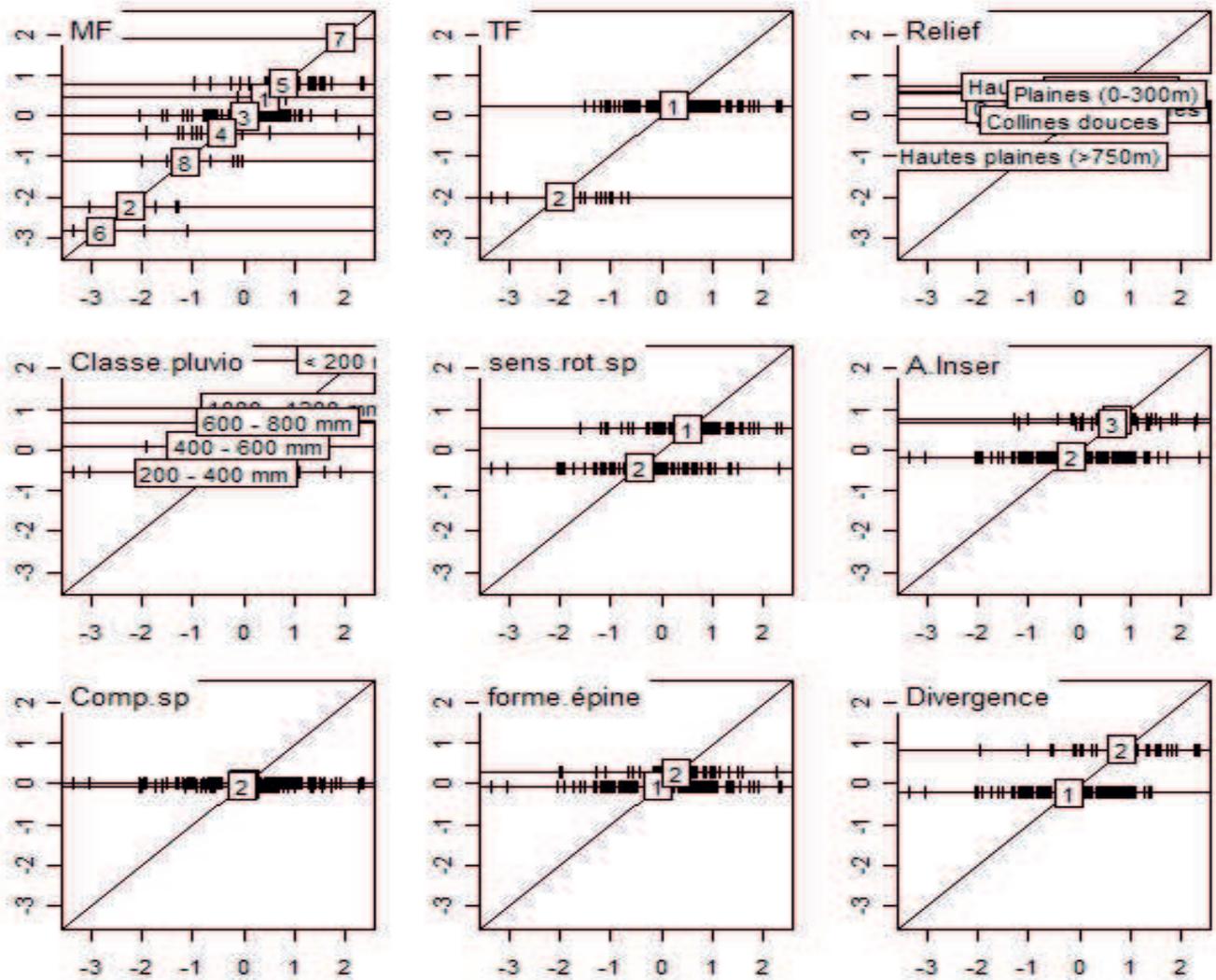


Figure 15 : Score de l'axe 3 pour l'ACM

I.7. AFCM

I.7.1. AFCM et variables morphologiques

La figure 16 suivante, nous permet de regrouper nos géotypes en fonction de la variable angle d'insertion, en effet mis à part quelques uns qui se trouvent aux extrémités des groupes la plupart se concentrent au centre du plan.

Les barycentres des groupes sont très proches surtout ceux des groupes 1 et 2 qui correspondent respectivement aux angles d'insertion 90° et environ 130° . On remarque également que le groupe 2 est le plus présent, et il est réparti sur tout le plan, il va de droite à gauche du plan.

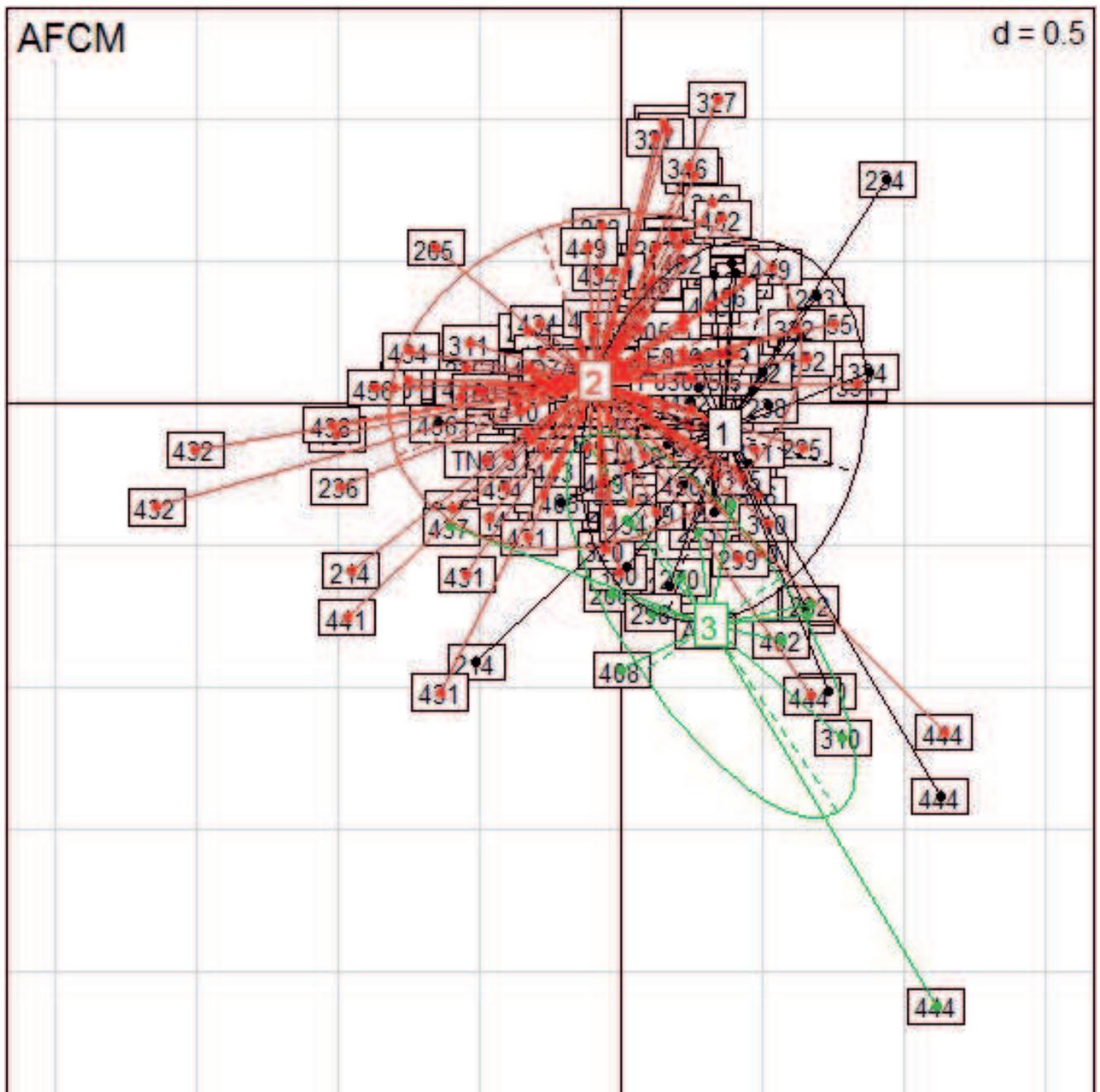


Figure 16 : Regroupement des génotypes étudiés en fonction de l'angle d'insertion des épines

La figure 17, quant à elle, nous permet de voir la répartition des génotypes en fonction des différents marqueurs foliaires relevés, on remarque donc qu'une même population peut porter différents marqueurs on remarque également que le marqueur de type 7 n'est présent qu'au niveau d'un seul génotype.

Comme au niveau des scores on remarque que les types 6 et 2 sont assez excentrés du centre du plan et sont présents au niveau de plusieurs populations.

Pour le reste des groupes de marqueurs leurs barycentres sont très proches les uns des autres et se superposent non loin du centre du plan.

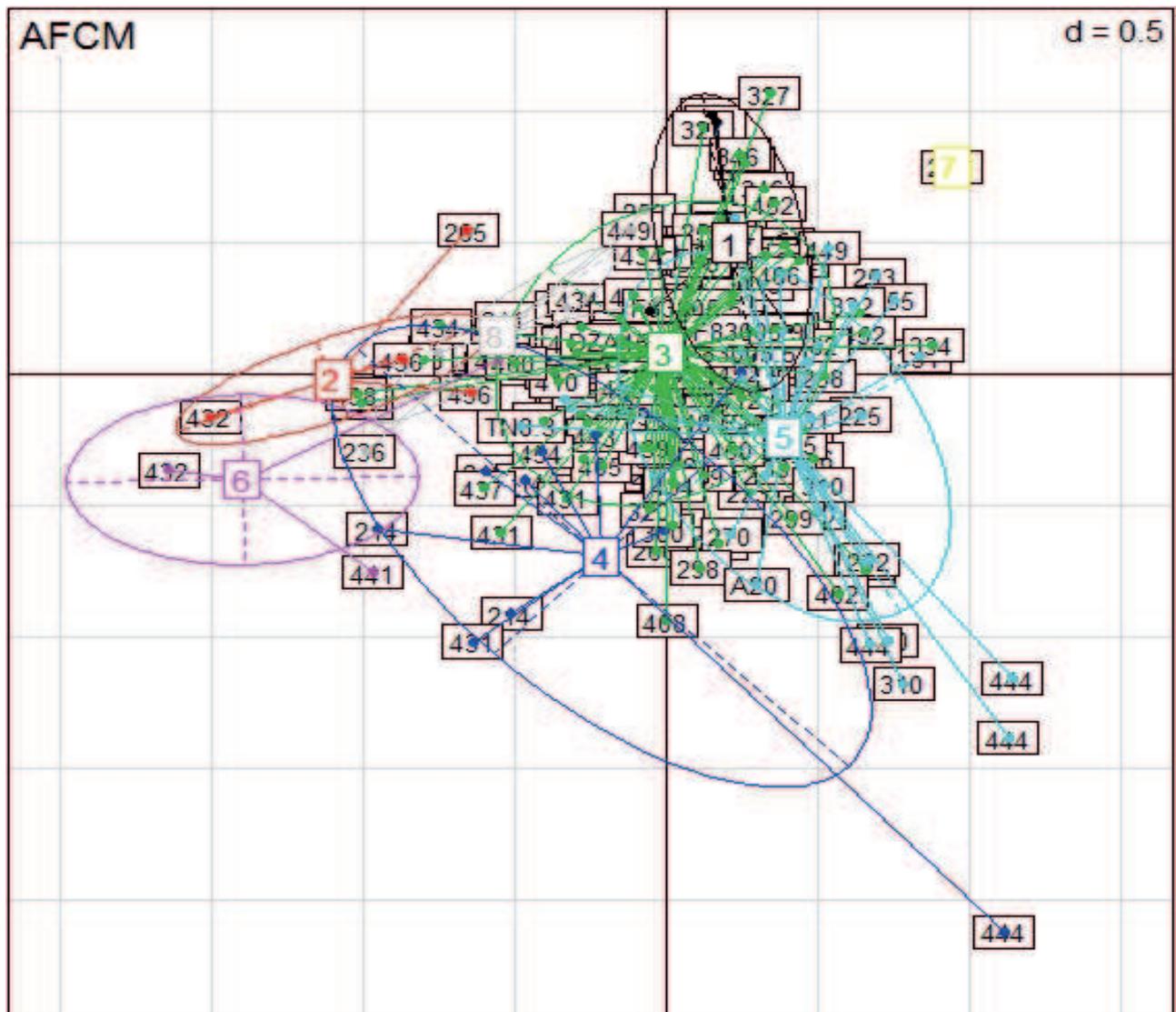


Figure 17 : Regroupement des génotypes étudiés en fonction des types de marqueurs foliaires relevés

I.7.2. AFM et données du milieu

La figure 18 nous permet de voir que les caractères qualitatifs sont difficilement liés à la pluviométrie des sites d'origine. En effet, seuls les génotypes issus du site dont la pluviométrie est inférieure à 200mm, soit la population ALG 444, s'éloignent des autres groupes. De fait, on note que les génotypes dont les sites ont une pluviométrie comprise entre 200-400mm et ceux issus des sites dont la pluviométrie est comprise entre 400 et 600mm sont au centre du plan et s'entremêlent fortement. Par ailleurs, on remarque que les génotypes dont la pluviométrie des sites d'origine est comprise entre 1000 et 1200mm se décalent légèrement du centre du plan et celles dont la pluviométrie est comprise entre 600 et 800mm se décalent un peu plus vers le haut.

On remarque par ailleurs qu'en fonction des sites il existe une très forte variabilité, c'est surtout le cas pour le groupe dont la pluviométrie est comprise entre 200 et 400mm de pluies et à un degré moindre pour le groupe 400-600mm de pluies. Ceci est mieux illustré au niveau du box plot qui va suivre.

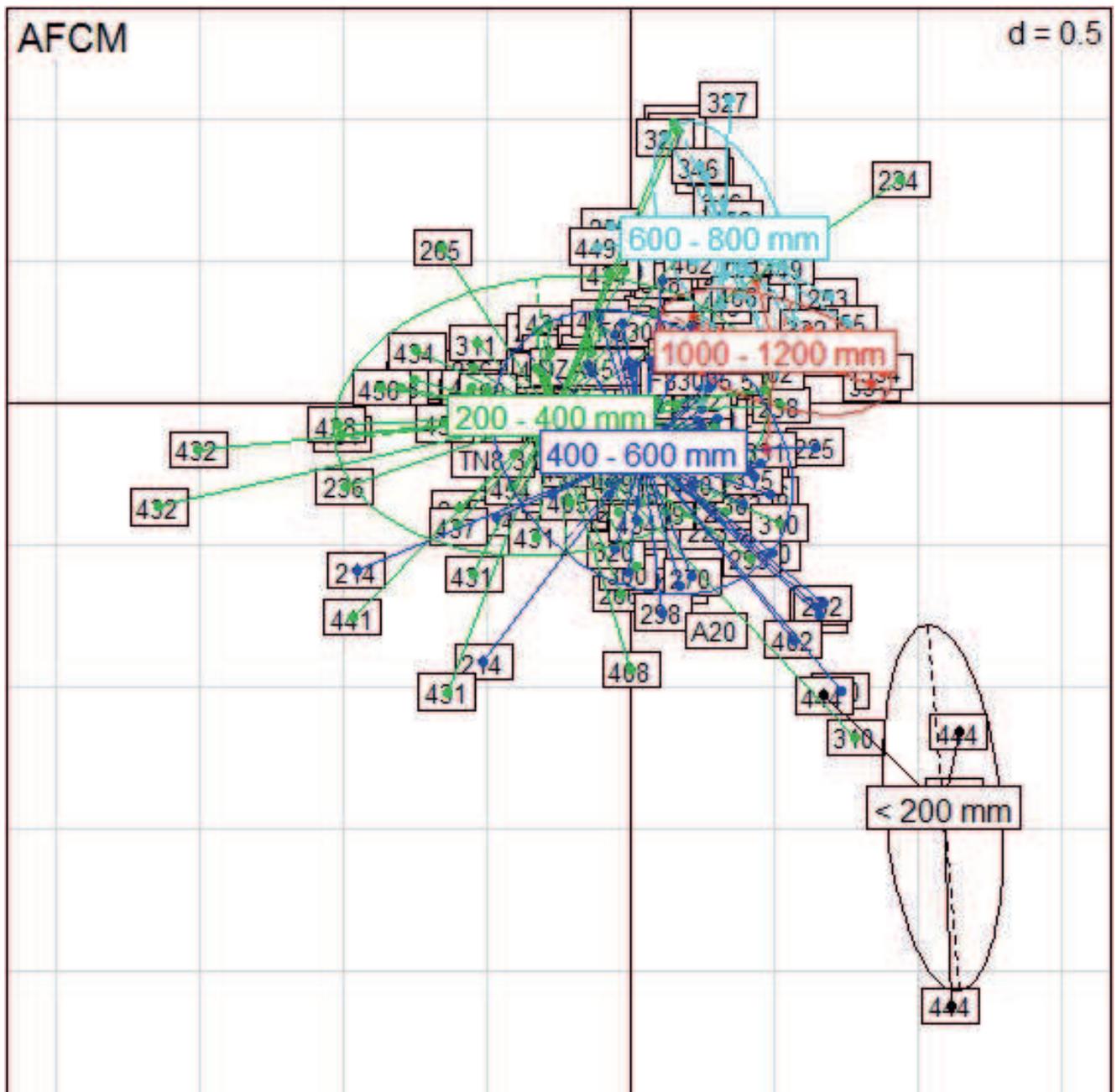


Figure 18 : Regroupement des génotypes étudiés en fonction de la pluviométrie des sites d'origine

On remarque à partir de la figure 19, également une très forte variabilité au niveau de chaque relief. Comme l'on remarque qu'il est difficile d'attribuer un caractère donné à un relief donné, du fait de la concentration des barycentres au centre du plan et le chevauchement des groupes entre eux. Il semblerait tout de même que le groupe issu des plaines dont l'altitude est comprise entre 0 et 300m se démarque des autres groupes puisqu'il est légèrement excentré, vers le haut.

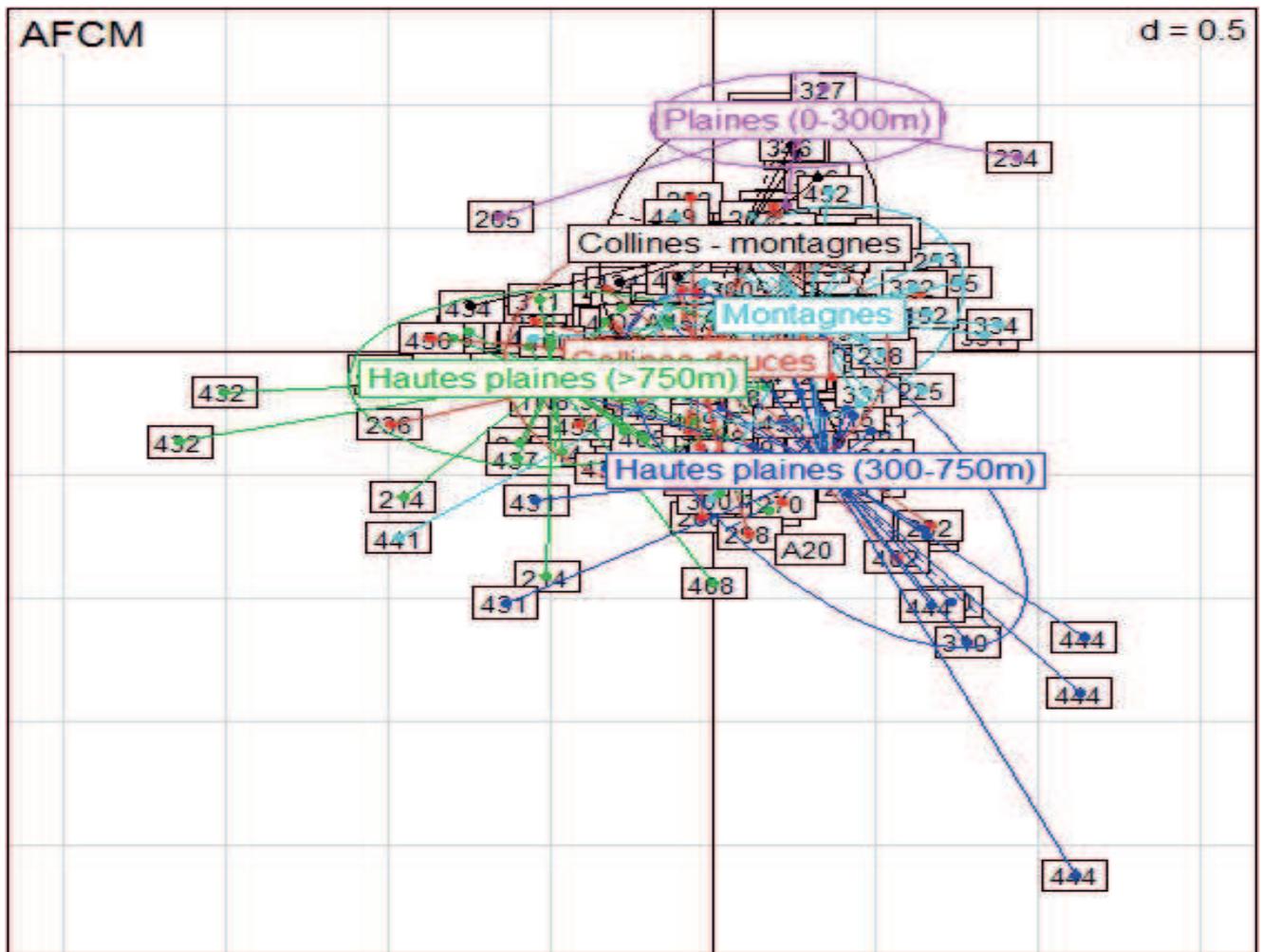


Figure 19 : Regroupement des génotypes étudiés en fonction du relief des sites d'origine

I.8. box plot

La figure 20 représentant le box plot de toutes les modalités, nous permet de voir comment nos individus se regroupent en fonction des différentes modalités prises en compte au cours de notre travail.

Chaque rectangle correspond à une variable qualitative donnée [Relief, Marqueur foliaire (MF), sens de rotation des spires (sens.rot.sp), etc.] et au sein de chaque barre les modalités qui la composent avec son étendu. En bas de la figure des barres, correspondant à la densité des individus, c'est-à-dire que là où les barres sont fortement réunies, il y a le maximum d'effectif.

On va donc voir tout d'abord, la liaison entre les caractères morphologiques et les facteurs du milieu des sites d'origine, ensuite on va voir les caractères morphologiques entre eux.

Pour ce qui est des corrélations entre les caractères morphologiques et les facteurs du milieu des sites d'origine, on trouve notamment :

- que le type de feuille 2 est absent des sites dont la pluviométrie est comprise entre 600 et 800mm et des sites dont la pluviométrie est inférieure à 200mm,

- que les MF de type 1, 2 et 6 sont absents des sites dont la pluviométrie est inférieure à 200mm, des sites dont la pluviométrie est comprise entre 600 et 800mm,
- que le MF de type 7 n'est présent qu'au niveau des sites à faible pluviométrie (inférieure à 200mm, et entre 200 et 400mm. Il n'est également présent qu'au niveau du relief dit : Hautes plaines (300-750m),
- pour le reste des caractères morphologiques, il ne semble y avoir aucune restriction avec les caractéristiques des sites d'origine en l'occurrence les facteurs Relief et classe pluviométrique,
- les individus issus des régions à forte pluviométrie sont dans la majeure partie des cas, à feuille de type 1 et avec des marqueurs foliaires de type 1, 3, 4 ou 5, avec une présence des autres caractères aléatoires,
- les individus issus des zones à faible pluviométrie sont quant à eux caractérisés par des feuilles de type 2 et des MF de type 3, 4, 5 et 7 (exclusivement relevé au niveau de ces sites) et une présence aléatoires pour les autres caractères.

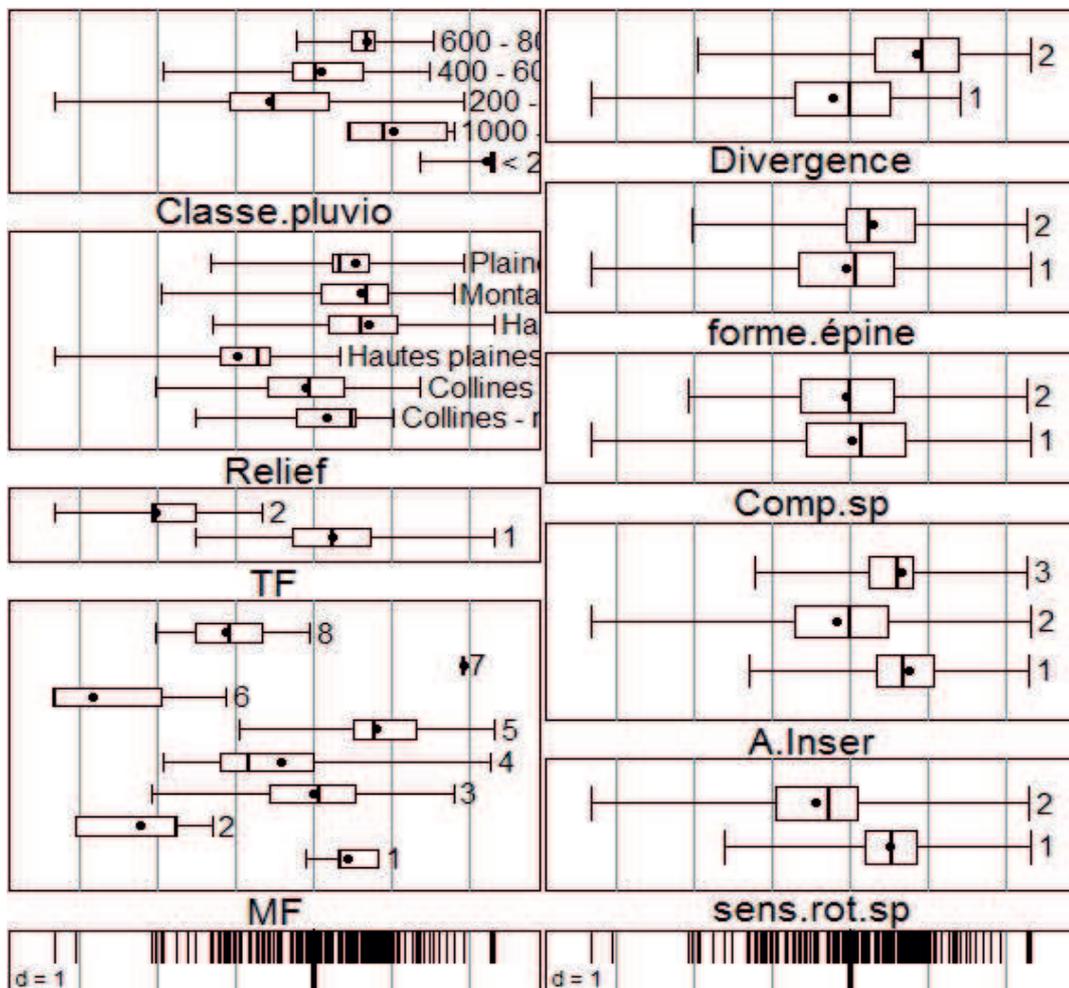


Figure 20 : Box plot des variables qualitatives

Nous abordons maintenant les liaisons entre les caractères morphologiques étudiés et nous relevons que suivant les individus étudiés tous les caractères qualitatifs peuvent être présents avec n'importe quel autre caractère.

I.9. Table de liaisons entre variables

La table de liaison entre variables consiste à étudier la relation existant entre les variables c'est-à-dire si cette relation est aléatoire et donc due strictement au hasard, ou bien si les deux variables sont dépendantes l'une de l'autre. En d'autres termes la table de liaison nous permet de voir la force liant les variables entre elles. Nous pouvons dire que les variables sont dépendantes les unes des autres à partir d'un résidu standardisé³ supérieur à deux.

Il n'existe pas de dépendance entre les variables compression des spires et forme des épines (fig. 21), par contre nous trouvons qu'il existe une forte dépendance entre les variables divergence des épines et la forme de ces dernières (fig. 22), ce qui confirme les hypothèses émises précédemment.

En effet, notre étude révèle que les épines incurvées sont dans la majeure partie des cas divergentes.

table(DZAred2Q\$Comp.sp, DZAred2Q\$forme.épine)

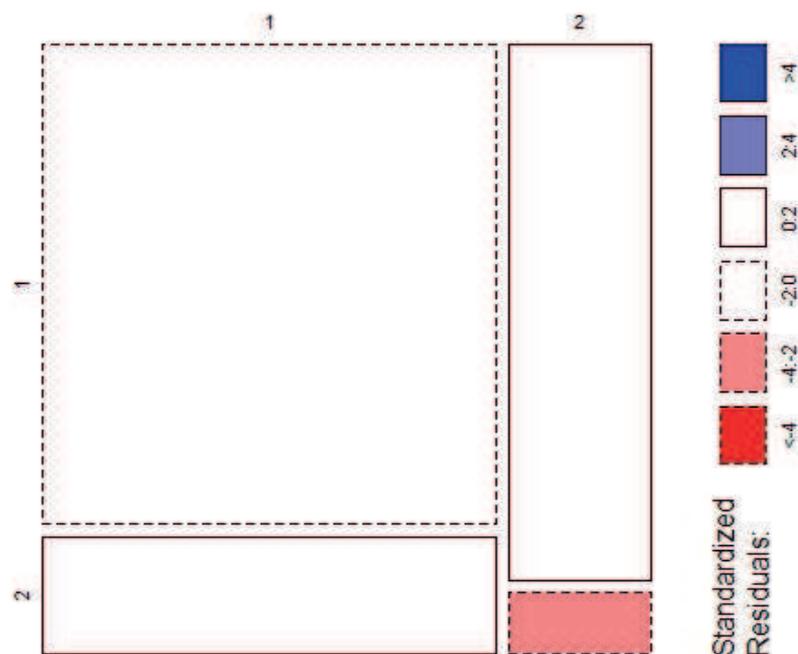


Figure 21 : Mosaic plot entre les variables Compression des spires et formes des épines

³ Le résidu correspond aux écarts entre les prédictions de la droite des moindres carrés et les observations. Le résidu standardisé correspond au résidu divisé par la racine carré de la variance.

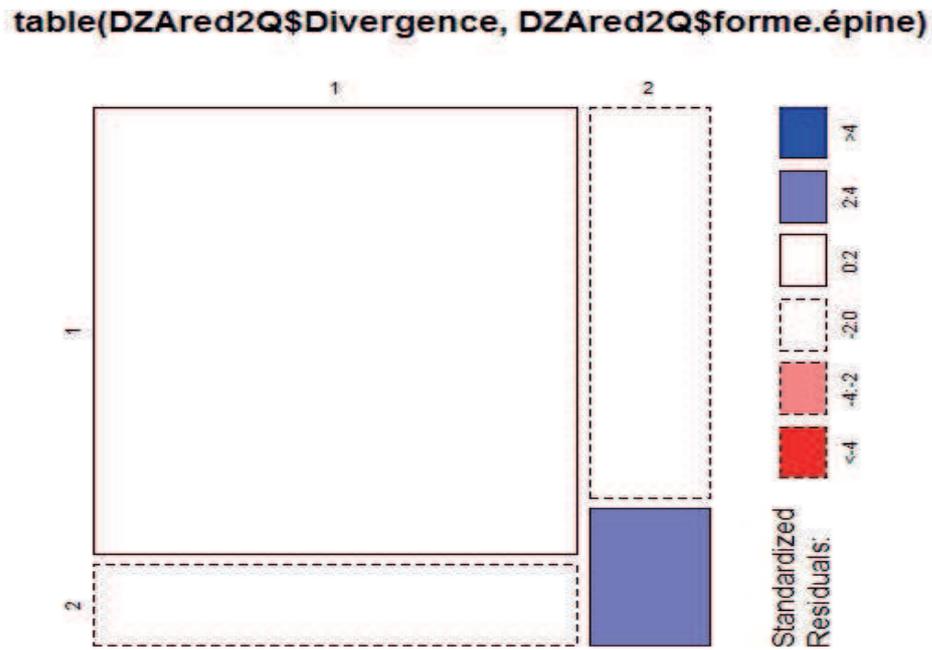


Figure 22 : Mosaic plot entre les variables divergence des épines et forme des épines

II. Analyse quantitative

II.1. Analyse de variance

II.1.1. Tableau d'analyse de variance

L'analyse de variance réalisée a permis de révéler une variance très hautement significative inter populations et intra populations (soit inter génotypes) pour tous les facteurs étudiés (voir exemple tableau 8), ces caractères sont au nombre de dix (10) et sont énumérés comme suit : temps d'apparition de la première fleur, diamètre des gousses, longueur des gousses, nombre de tours de spires, longueur de l'épine, largeur de l'épine au bord de la spire, longueur de la graine, largeur de la graine au hile (L.G.H.), largeur totale de la graine et nombre de graines par gousse.

Tableau 8 : Tableau d'analyse de variance du temps d'apparition de la première fleur

	Ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	75	223368	2978,24	21987,5	<2,2e-16	***
génotype	204	150716	738,8	5454,4	<2,2e-16	***
Résiduelle	1196	162	0,14			

64 observations supprimées en raison des manques.

II.1.2. Boîte à moustache

La figure 23 suivante nous permet de visualiser la variabilité existante inter et intra populations concernant le caractère temps d'apparition de la première fleur. En effet, la figure classe selon les médianes du temps de floraison, les populations ainsi que les lignées testées de la plus précoce à la plus tardive. Donc, à gauche de la figure nous avons les populations les plus précoces à droite nous trouvons les populations les plus tardives. Nous noterons que les lignées de référence se trouvent entre les populations naturelles, à l'exception des lignées DZA315.16 et TN 8.3 qui se trouvent à l'extrémité gauche de la figure. Par ailleurs, nous relevons plus d'une vingtaine de populations dont la médiane du temps de floraison est inférieure à la première lignée la plus précoce, en l'occurrence la DZA45.5. Cependant, la forte variabilité intra population nous oblige à être prudent, dans nos conclusions. Car si nous prenons la population ALG225 par exemple, la valeur maximale d'un de ses génotypes (supérieure à 100 jours) est plus tardive que la lignée DZA45.5. En fait, l'intérêt du box plot est, en plus d'observer la tendance des populations algériennes étudiées par le biais des médianes, de nous permettre de voir clairement l'amplitude de l'expression d'un phénotype par ces valeurs minimales et maximales.

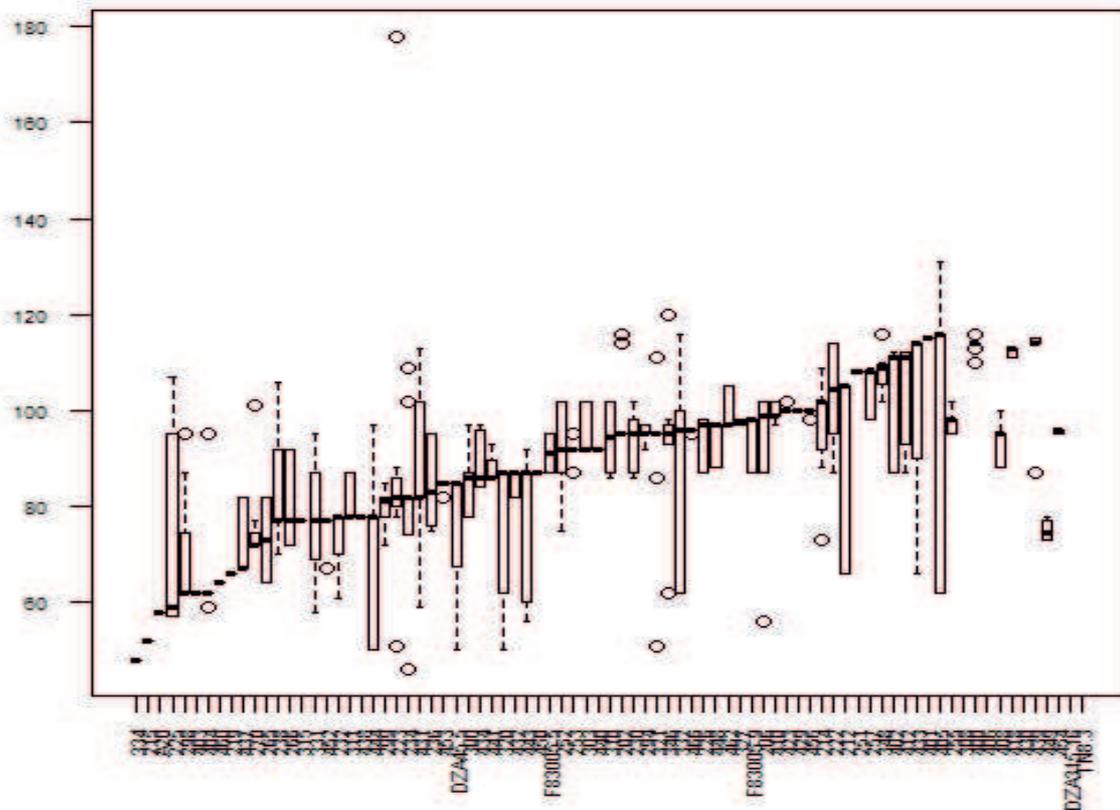


Figure 23 : Figure représentant la boîte à moustache du temps d'apparition de la première fleur des populations étudiées

II.2. Analyse des corrélations (test de Pearson)

II.2.1. Plot général des corrélations

La figure 24 schématise les corrélations qui existent entre nos différentes variables quantitatives. En effet, nous remarquons de manière générale que les corrélations obtenues sont plutôt faibles vu, d'une part, la forme irrégulière de la bissectrice (en rouge) et, d'autre part, l'éloignement de cette dernière des angles des carrés.

Ceci est d'autant plus remarquable, pour les corrélations des variables pluviométrie (PLU) et temps d'apparition de la première fleur (pf) avec le reste des variables étudiées.

Ces résultats peuvent s'expliquer entre autres, par la très forte variabilité intra population chez les populations naturelles étudiées, par la taille de l'effectif (222 génotypes appartenant à 71 populations) et par la répartition aléatoire des populations sur tout le Nord de l'Algérie. En effet, pour obtenir des corrélations plus élevées avec les facteurs du milieu d'origine il aurait mieux valu sélectionner les populations ou encore les génotypes à étudier suivant un gradient bien déterminé (thermique, pluviométrique, etc.).

Toutefois, bien que ces corrélations soient faibles et donc ne peuvent expliquer qu'une faible partie de la variabilité de nos caractères, elles sont dans bien des cas significatives, c'est-à-dire qu'elles ne sont pas dues au hasard. Ce qui nous amène à étudier la matrice des corrélations.

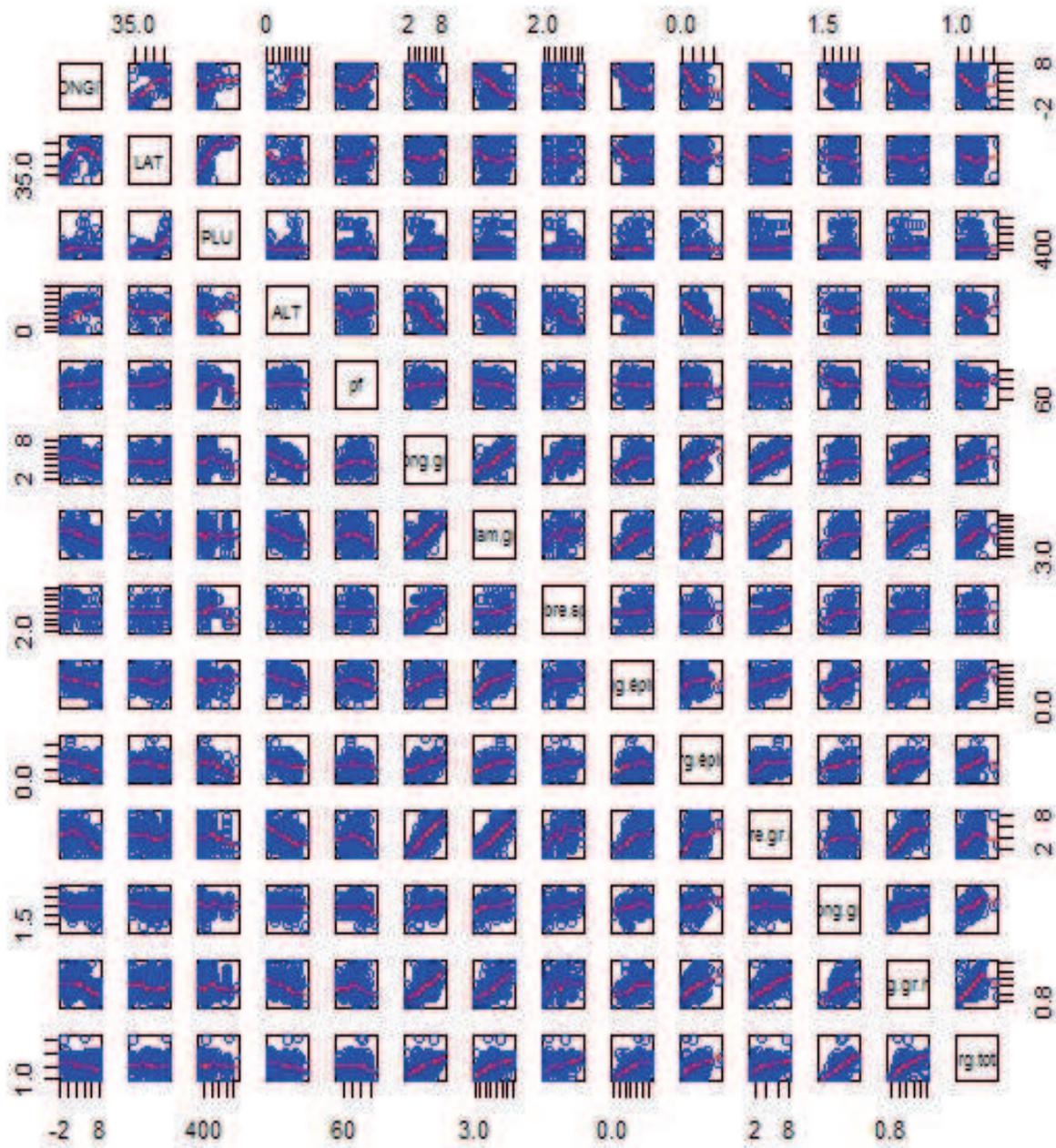


Figure 24 : Plot général de toutes les variables quantitatives

II.2.2. Matrice des corrélations (voir annexe 9)

Deux résultats nets ressortent de l'étude de la matrice des corrélations. Le premier étant la faiblesse du coefficient de corrélations, ce qui confirme les résultats révélés par le plot général des variables quantitatives ; le second étant la significativité de ce coefficient, ce qui ne laisse pas de doute sur l'existence d'un lien entre nos différentes variables.

On remarque en premier lieu que les corrélations sont significatives à 1% entre les différentes variables biométriques de la gousse, des épines et des graines, à une exception près. En effet, on ne

relève pas de corrélation significative entre les caractères longueur de la graine et nombre de graines par gousse, puisque la corrélation entre ces deux caractères n'est que de 0,07.

En deuxième lieu, on remarque que toutes nos variables sont corrélées à un degré de significativité de 1 % à la variable longitude du site d'origine, à l'exception de la variable apparition de la première fleur qui n'est corrélée qu'à 5 % et de la variable longueur de la graine qui n'est pas corrélée du tout. De plus, on constate que les corrélations sont négatives pour tous les caractères biométriques de la gousse des graines et des épines, c'est-à-dire que plus nous allons vers l'Est et plus les gousses, les graines, les épines sont petites et plus le nombre de graines par gousse est faible.

Un autre constat peut être fait, concernant les corrélations des variables étudiées avec la latitude du site d'origine. Seules les variables apparition de la première fleur, largeur des épines y sont corrélées à 1%, et seule la variable longueur de la graine y est corrélée à 5 %. Comme pour la variable longitude, on retrouve des coefficients de corrélations négatifs entre la variable latitude et les variables diamètre de la gousse, largeur des épines au bord de la spire, et les trois variables décrivant la graine ; plus nous allons vers les Sud plus ces caractères sont augmentés. De plus, ces coefficients sont quasiment nuls ou très proches de zéro.

Pour ce qui est de la variable pluviométrie du site d'origine, il n'existe de corrélation significative qu'avec la variable largeur de l'épine au bord de la spire, et le coefficient de corrélations entre ces deux variables est négatif, c'est-à-dire que les épines sont plus larges au niveau des sites à faible pluviométrie.

La variable altitude du site d'origine pour sa part, est corrélée à 1 % à toutes les variables biométriques, mis à part la variable longueur de la graine, comme elle n'est pas corrélée également à la variable apparition de la première fleur.

Nous arrivons enfin à la variable apparition de la première fleur qui est corrélée à 5 % aux variables longueur et diamètre de la gousse et à la variable longitude du site d'origine. Par ailleurs, elle est corrélée à 1 % à la variable latitude du site d'origine. Toutefois, la corrélation entre cette variable et le diamètre des gousses connaît un coefficient négatif entre elle et le diamètre des gousses ce qui signifie que les populations les plus précoces ont des gousses à diamètre élevé et vice versa.

Un autre résultat ressort de la matrice des corrélations, c'est que les populations les plus tardives sont celles provenant de l'Est et du Nord du pays.

Néanmoins, au vu de la faiblesse des coefficients de corrélation, ces résultats devront être vérifiés sur les plans de l'ACP et par les cercles de corrélation.

II.3. Analyse des résultats de l'analyse en composante principale (ACP)

II.3.1. Etude du plan 1/2

A partir du plan 1/2 (fig. 25), on constate que les génotypes étudiés sont regroupés autour du centre du plan à quelques exceptions près. En effet, quelques génotypes se séparent du lot, en l'occurrence les génotypes ALG 257.150, ALG 405.342, ALG 214.22, ALG 441.444, ALG 405.341, ALG 346.293, ALG 400.306 et ALG 434.418 d'une part et les génotypes ALG 252.128 et ALG 460.496 d'autre part.

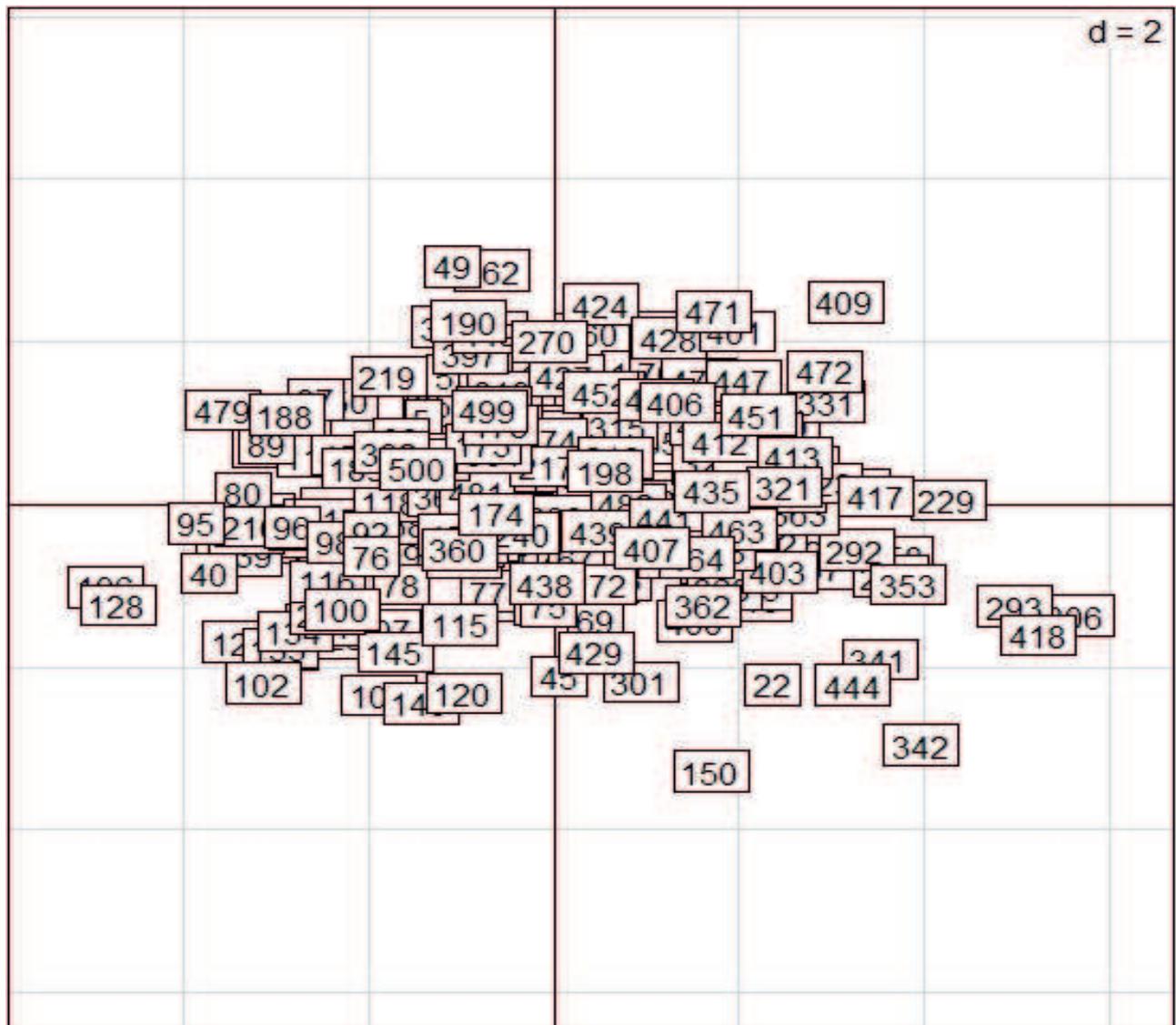


Figure 25 : Répartition des génotypes étudiés sur le Plan 1/2 de l'ACP

Si on se penche sur la projection des populations sur le plan 1/2 (fig. 26) deux résultats sont à noter :
 Le 1^{er} est la très forte diversité au sein d'une même population. En effet, la taille des ellipses de certaines populations confirme bien la présence d'une forte variabilité intra population.

Le second est que les centres de gravité des populations sont très proches du centre du plan et très proches les uns des autres, bien que se profilent légèrement deux groupes, le premier à gauche du plan le second à droite du plan. Ces derniers sont scindés par l'axe des « y ».

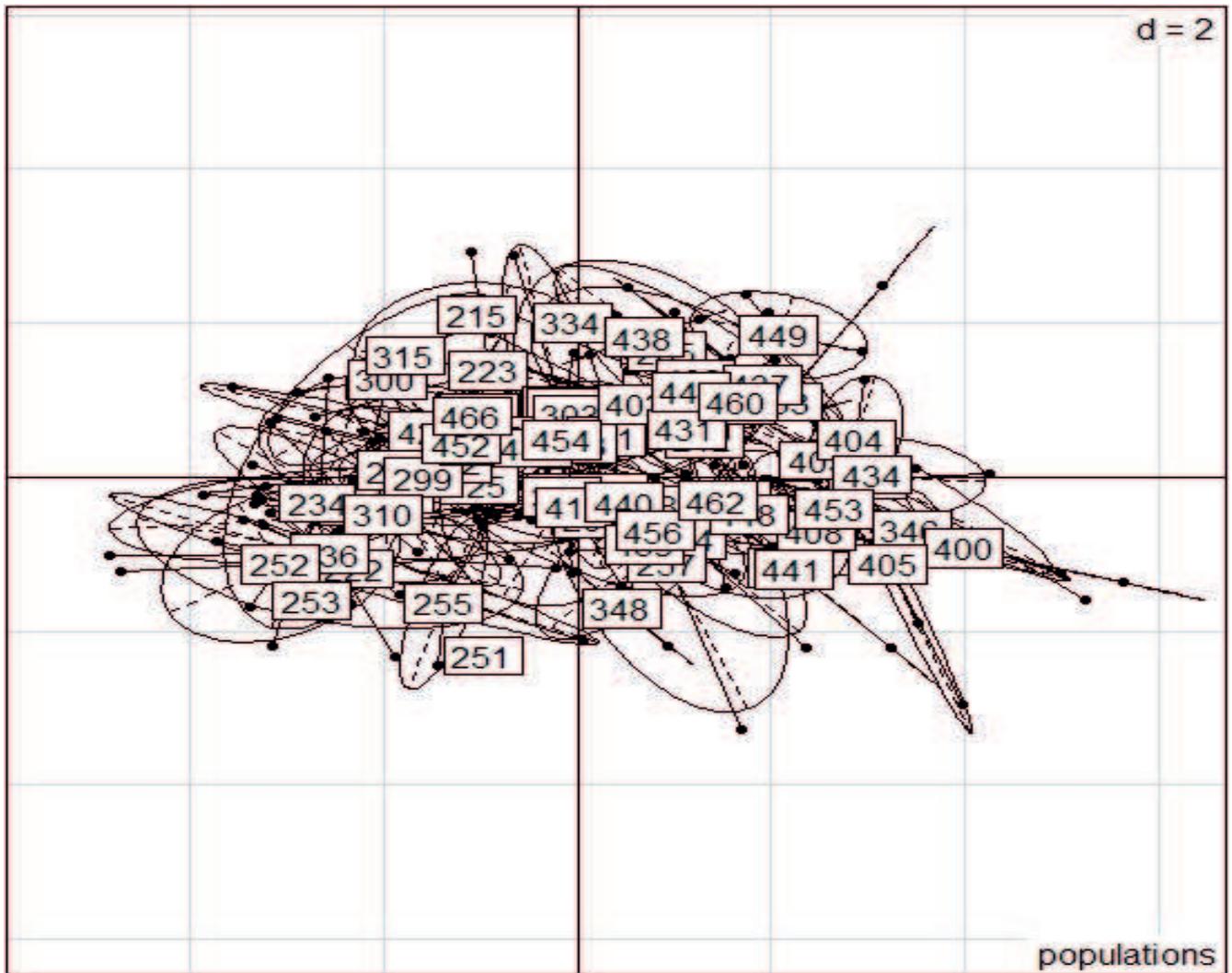


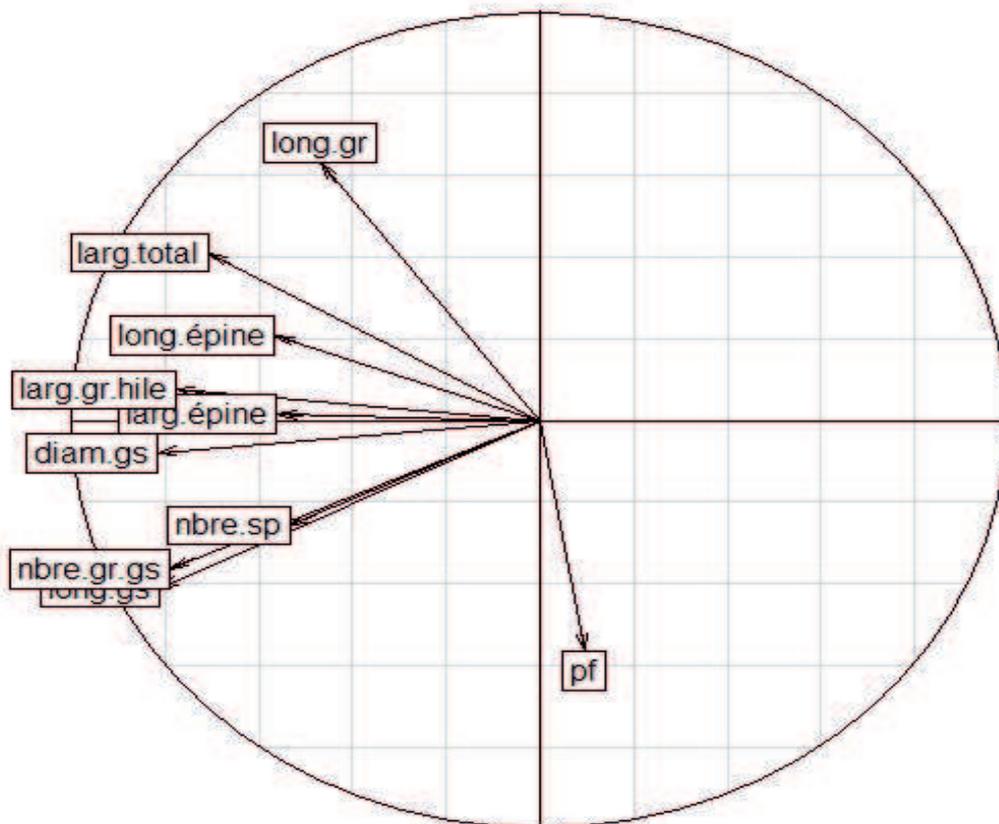
Figure 26 : Répartition des populations étudiées sur le plan 1/2 de l'ACP

Le cercle des corrélations du plan 1/2 (fig. 27) nous permet d'expliquer en fonction de quelles variables nos génotypes et populations sont regroupés. De ce fait, on peut dire qu'à gauche du plan nous retrouvons les génotypes à gosses de grandes tailles dont le nombre de tours de spires et le nombre de graines par gousse est élevé, dont les graines et les épines sont également de grande taille. Elles proviendraient essentiellement des sites des régions de l'Ouest du pays. Nous citerons par exemple les génotypes (comme ils sont présentés au niveau de la figure 25) : ALG 236.106, ALG 234.102, ALG 234.95, ALG 222.40 à l'exception de ALG 252.128 qui provient du centre.

A l'opposé on trouvera les génotypes à petites gosses, petites graines et petites épines qui proviendraient des sites qui se trouvent à l'Est du pays. Nous citerons par exemple les génotypes (toujours comme ils sont présentés au niveau de la figure 25) ALG433.409, ALG 346.293, ALG 434.418, ALG 408.353 à l'exception des génotypes ALG 321.229 et ALG 449.472 qui se trouvent respectivement dans le Centre Ouest (Saida) et le Centre du pays (Médéa).

En bas du plan 1 / 2 à droite, on retrouve les génotypes à floraison la plus tardive, nous citerons par exemple les génotypes ALG 348.301, ALG 257.150, ALG 348.301, ALG 439.429, ce ne sont pas les génotypes provenant des sites les plus arrosés.

Par opposition, les génotypes les plus précoces se trouvent en haut à gauche du plan et proviendraient de sites pas très arrosés, et se rapprocheraient des génotypes à caractères biométriques de grandes tailles. Nous citerons par exemple les génotypes ALG 223.49 et ALG 300.190.



Cercle des corrélations, plan 1/2

Figure 27 : Cercle des corrélations plan 1/2

Pour la réalisation de la figure 28 nous avons pris les modalités des pluviométries des sites d'origine en variable supplémentaire puis on a projeté nos génotypes en tentant de les regrouper en fonction de ces variables.

Malheureusement, aucun résultat clair ne se dégage de cette figure. Car tout d'abord, notre échantillonnage, ne s'est pas fait en fonction d'un gradient bien déterminé (Nord /Sud ou autres). Ensuite, le fait que nos populations soient naturelles, nous laissait deviner une très forte variabilité intra population. Ceci explique en partie l'impossibilité de lier nos caractères quantitatifs à la variable pluviométrique.

De plus, le nombre élevé de variables et d'individus pris en compte dans notre étude a pu également entraîner ce résultat.

Des résultats similaires ont été observés avec les autres variables supplémentaires que sont les variables Sol et Relief (voir annexe 10).

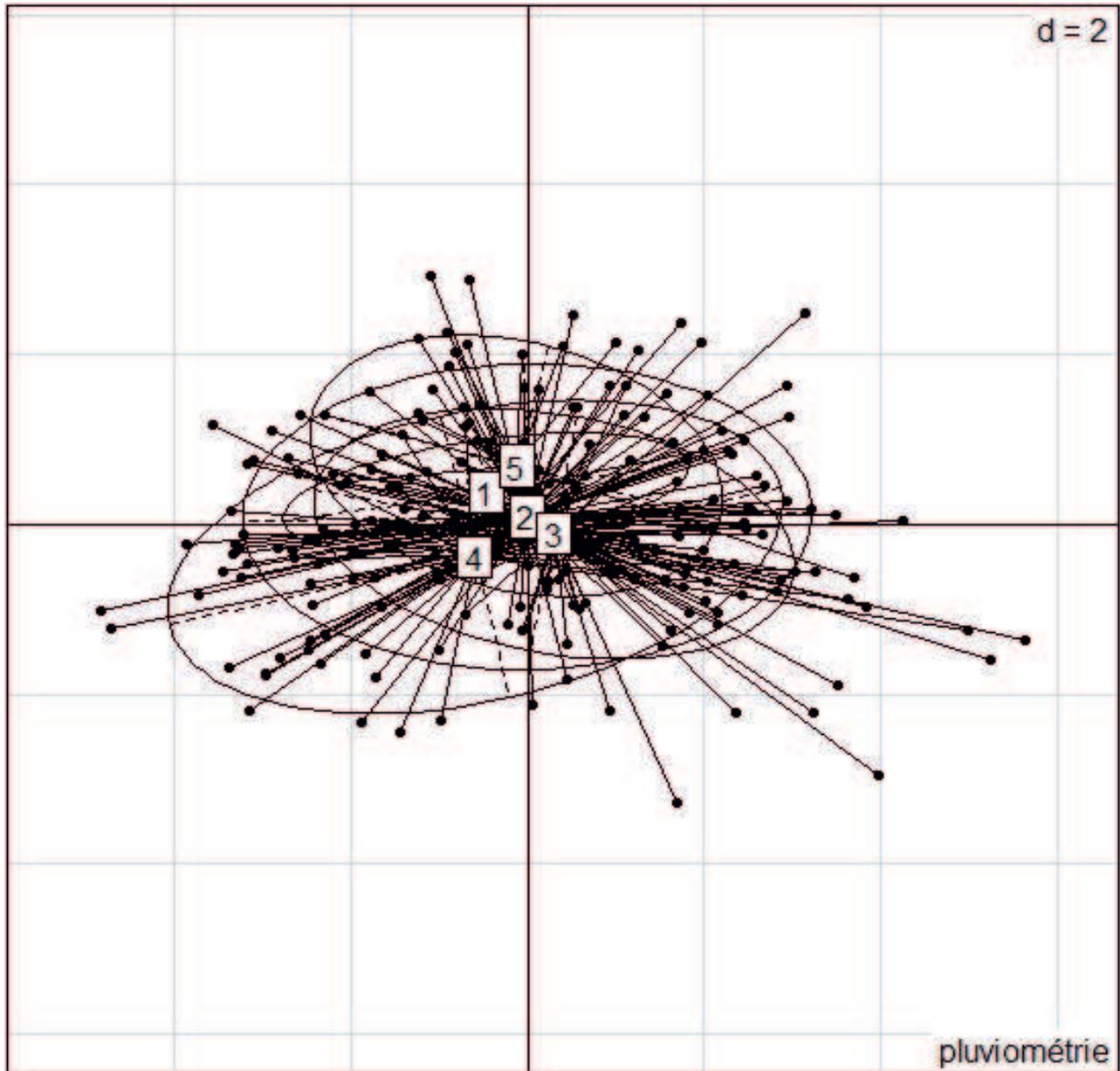


Figure 28 : Répartition des génotypes étudiés en fonction de la pluviométrie des sites d'origine

Légendes :

- | | | |
|------------------|----------------|-----------------|
| 1 : < 200mm | 3 : 400-600 mm | 5 : 1000-1200mm |
| 2 : 200 à 400 mm | 4 : 600-800mm | |

II.3.2. Etude plan 1/3

Sur le plan 1/3, on remarque toujours le même amas, comme on remarque également quelques génotypes qui se détachent du lot. Ce sont les génotypes ALG 206.12, ALG 444.456, ALG 403.321, ALG 441.444, ALG 321.229, ALG 434.418, ALG 400.306, ALG 346.293, ALG 410.360, ALG 252.128 et ALG 236.106 (fig. 29)

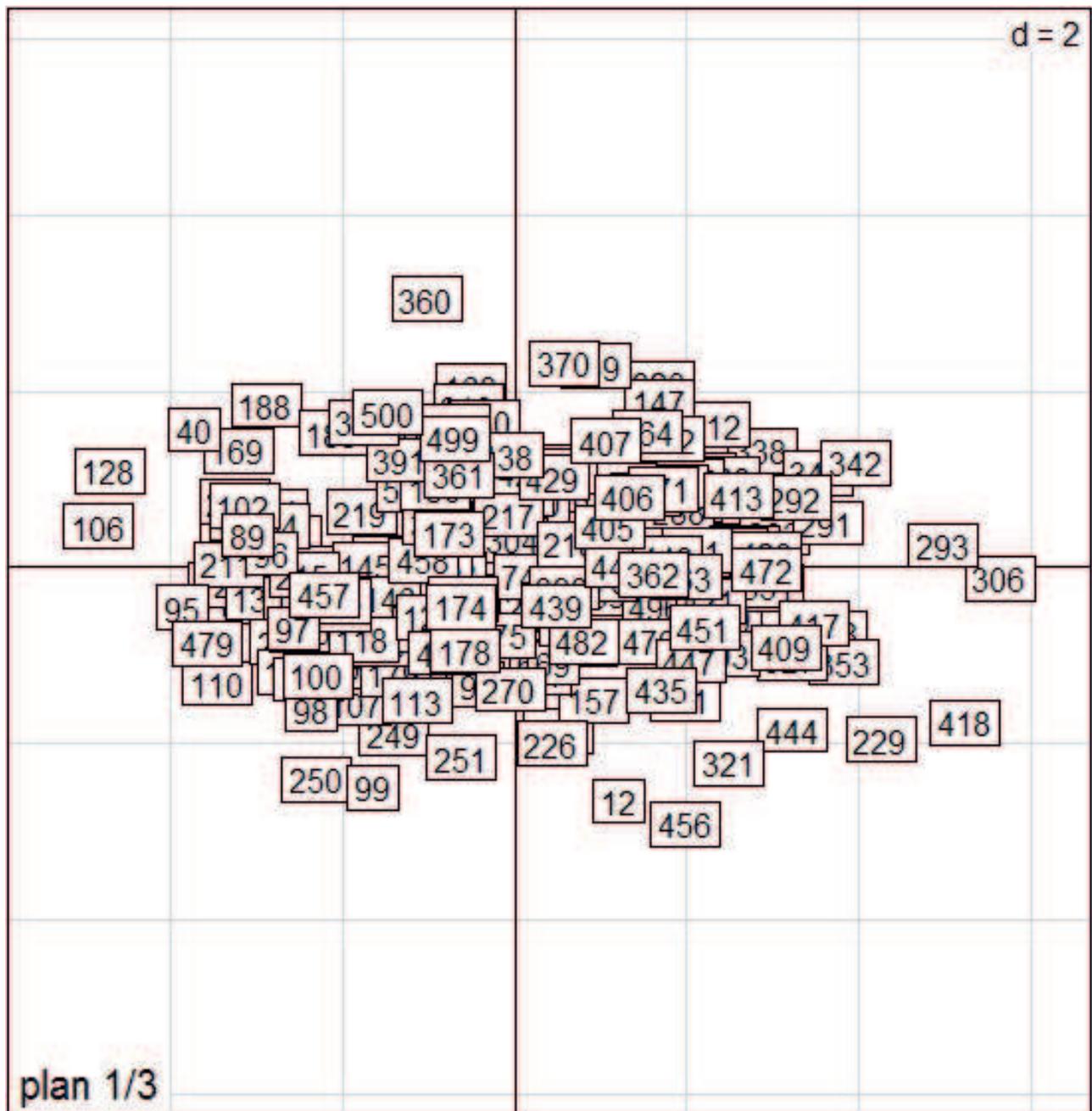


Figure 29 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1/3 de l'ACP

Lorsque l'on étudie le plan 1/3 (fig. 30) on observe mieux la variabilité qui existe intra population, car la taille des ellipses est plus visible et ces dernières s'entremêlent clairement.

Par contre, comme pour les génotypes ce plan ne permet pas de séparer entre les groupes de populations. On a donc l'impression d'avoir un seul et même groupe avec quelques valeurs de populations extrêmes, comme la population ALG 403 et ALG 418.

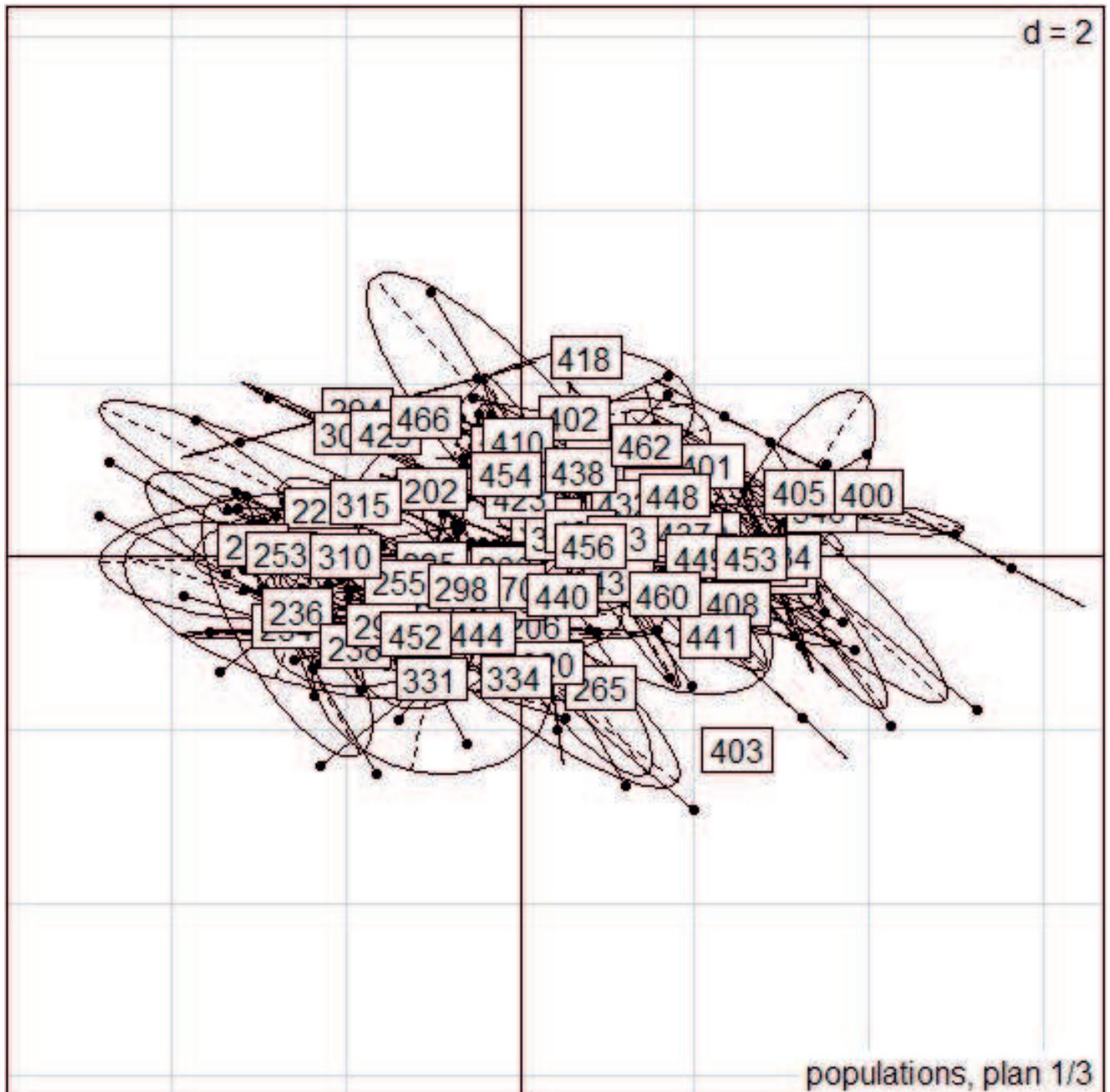
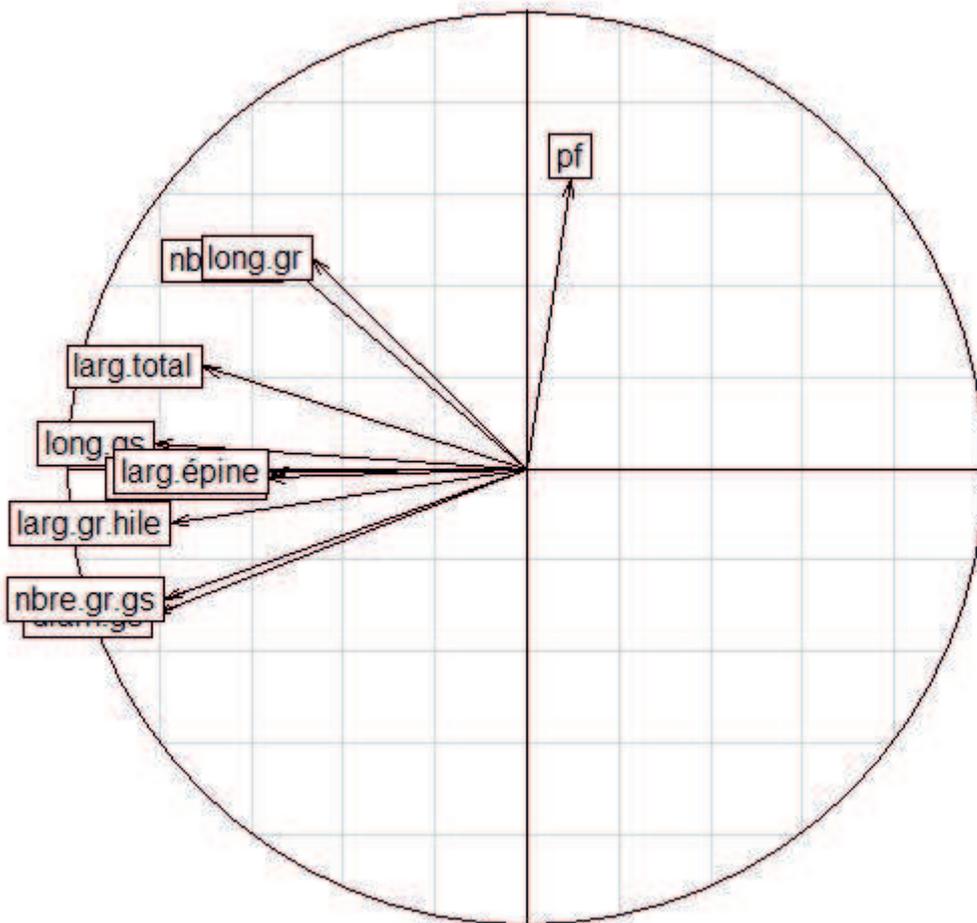


Figure 30 : Répartition des populations sur le plan 1/3 de l'ACP

On remarque à partir du cercle de corrélation du plan 1/3 (fig. 31) que les génotypes dont les gousses, les épines sont de grande taille se trouvent à gauche du plan et proviennent en majorité de sites situés à l'Ouest, à l'opposé on trouve les gousses, les épines, et les graines de petite taille et qui proviennent en majorité de l'Est, comme ce fut le cas pour le cercle de corrélation du plan 1/2.

On trouve également que la variable temps d'apparition de la première fleur n'est pas corrélée aux autres variables puisqu'elle forme quasiment un angle de 90° avec les autres variables.

Enfin, on retrouve cette fois-ci les génotypes à floraison tardive en haut à droite et les génotypes précoces en bas à gauche.



Cercle des corrélations, plan 1/3

Figure 31 : Cercle des corrélations plan 1/3

Comme pour le plan 1/2, il nous est difficile de corréliser nos génotypes avec les facteurs du milieu des sites d'origine, que cela soit la pluviométrie, les sols ou encore le relief des sites d'origine (voir annexe 10).

II.3.3. Etude du plan 2/3

Vu la taille de l'effectif (génotypes) et le nombre de variables étudiées, il nous a paru indispensable de voir la projection de nos génotypes sur un troisième plan, à savoir le plan 2/3 (fig. 32).

Une structuration en deux groupes devient à nouveau plus ou moins visible, les deux groupes sont scindés par rapport à l'axe des « x » et un plus grand nombre de génotypes se détachent du centre du plan et se placent tout autour. Nous citerons les génotypes ALG 444.456, ALG 234.99, ALG 331.250, ALG 223.49, ALG 266.162, ALG 443.449, ALG 410.360, ALG 405.342, ALG 257.150, ALG441.444 et ALG 206.12.

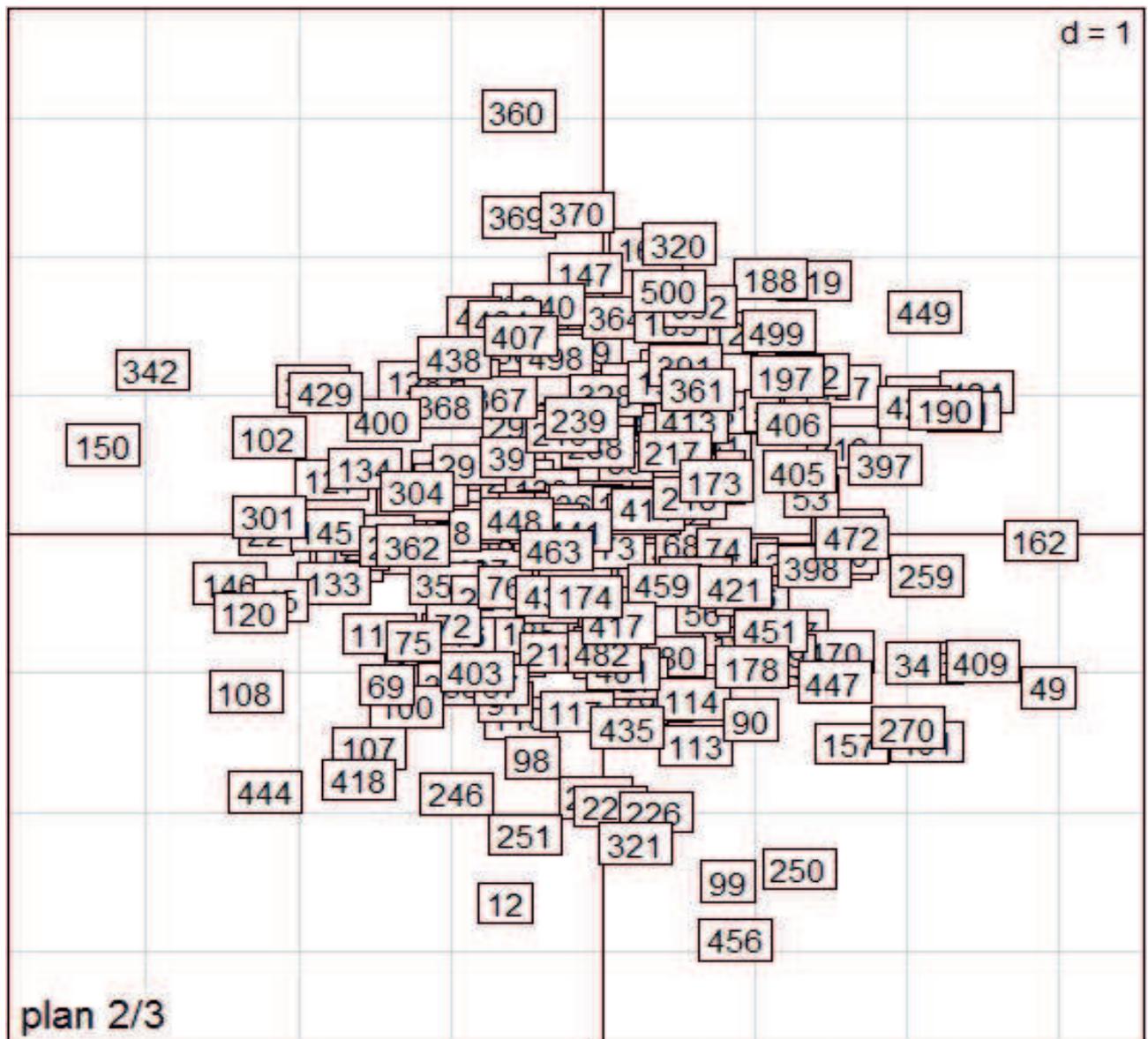


Figure 32 : Répartition des génotypes étudiés sur les plans 2/3 de l'ACP

Le plan 2/3 nous donne l'impression d'une structuration des populations en deux groupes comme ce fut le cas pour les génotypes. Ce plan-ci également permet de bien observer la variabilité existant au sein d'une même population.

Un constat intéressant peut être fait sur ce plan c'est que nous pouvons déduire deux groupes qui se séparent aussi bien par rapport à l'axe des « x » que par rapport à l'axe des « y » (fig. 33).

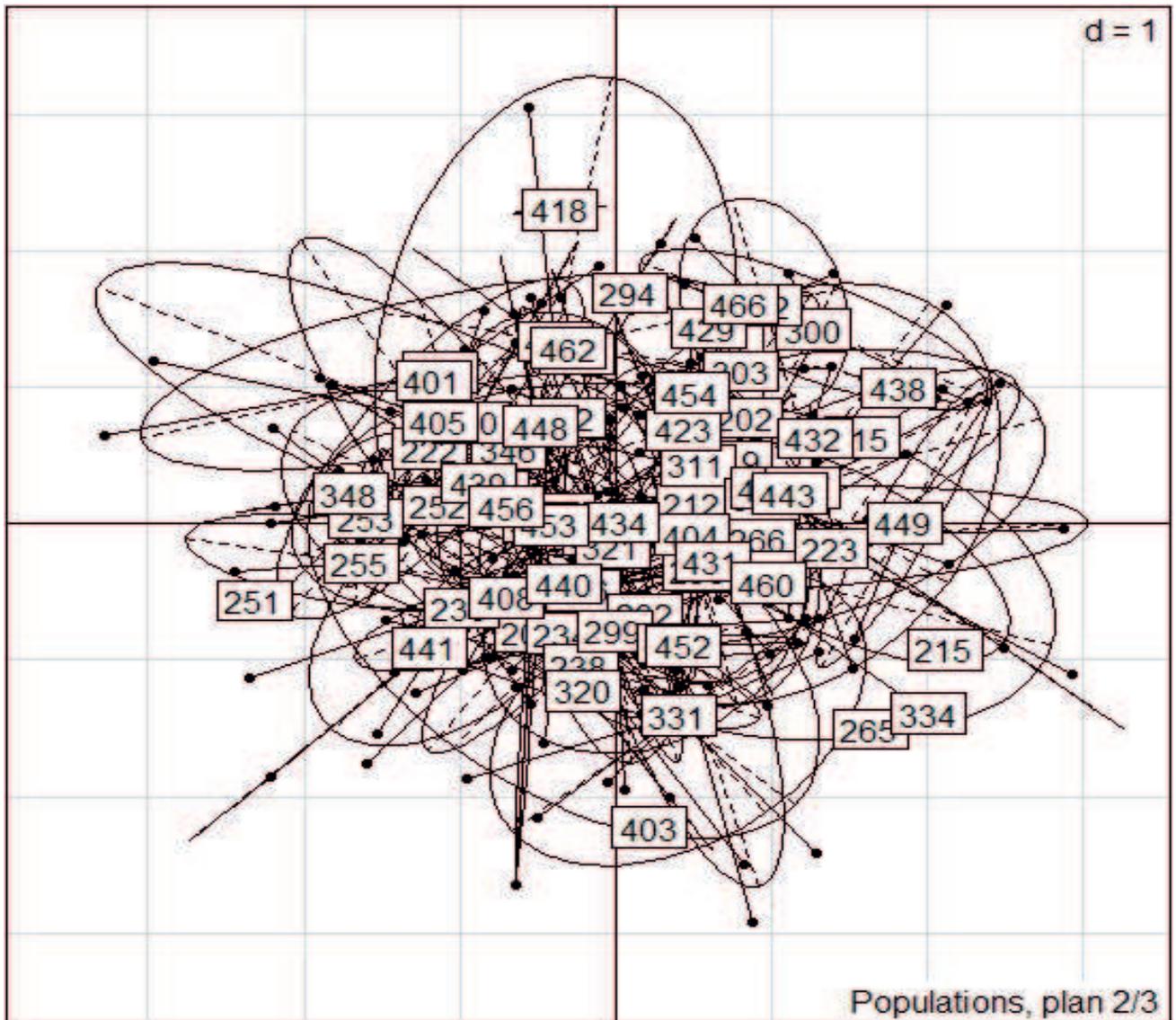


Figure 33 : Répartition des populations étudiées sur le plan 2/3

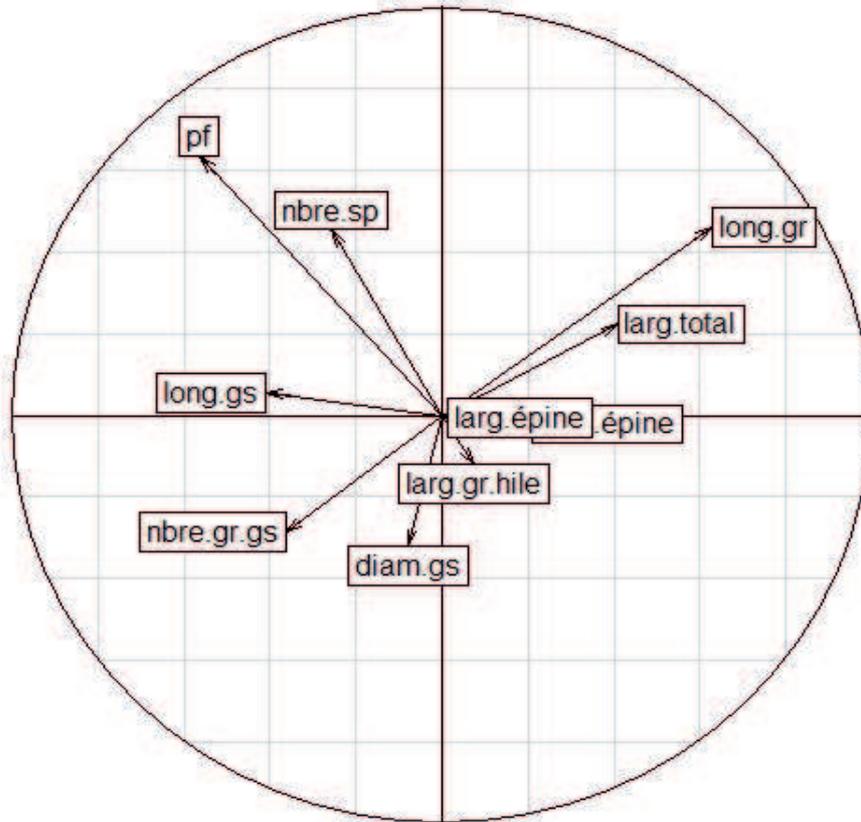
Le cercle des corrélations du plan 2/3 (fig. 34) révèle deux, trois voire quatre groupes de variables suivant que l'on divise notre plan par rapport aux deux axes ou en quartile.

Le 1^{er} groupe : il comprend les variables nombre de spires, longueur de la gousse et temps d'apparition de la première fleur. Il est orienté vers le quart de cercle qui se trouve en haut à gauche. Il est composé notamment des génotypes ALG257.150, ALG ALG405.342, ALG410.360, etc.

Le 2nd groupe : il comprend les variables diamètre de la gousse, nombre de graines par gousse. Il est situé en bas à gauche du cercle. Il comporte entre autres les génotypes ALG 331.246, ALG 236.108 et ALG 251.120.

Le 3^{ème} groupe : il est pour sa part composé des variables décrivant les épines, et de la largeur de la graine au hile. Il est situé en bas à droite du plan. Il regroupe entre autres les génotypes ALG 444.456, ALG334.270 et ALG 332.259.

Le 4^{ème} groupe : il comporte uniquement les variables largeur totale de la graine et longueur de cette dernière. Il est situé sur le dernier quart et est composé entre autres des génotypes ALG 443.449, ALG 300.188 et ALG 300.190.



Cercle des corrélations, plan 2/3

Figure 34 : Cercle des corrélations plan 2/3

II.3.4. Contribution des variables aux trois premiers axes

La figure 35 nous permet de constater que sur la composante 1, les variables diamètre de la gousse, longueur de la gousse, nombre de graines par gousse, largeur de la graine au hile, sont respectivement celles qui contribuent le plus à l'information contenue sur cet axe et la variable « pf » est celle qui contribue le moins.

Par contre, sur la composante 2, ce sont les variables longueur de la graine et la variable apparition de la première fleur « pf » qui contribuent le plus à l'information contenue sur cet axe. Nous noterons tout de même que la variable longueur de la gousse et largeur totale de la graine ont toujours un impact.

Sur la composante 3, les variables apparition de la première fleur « pf », longueur de la graine et nombre de spires sont celles qui contribuent le plus à l'information contenue sur cet axe.

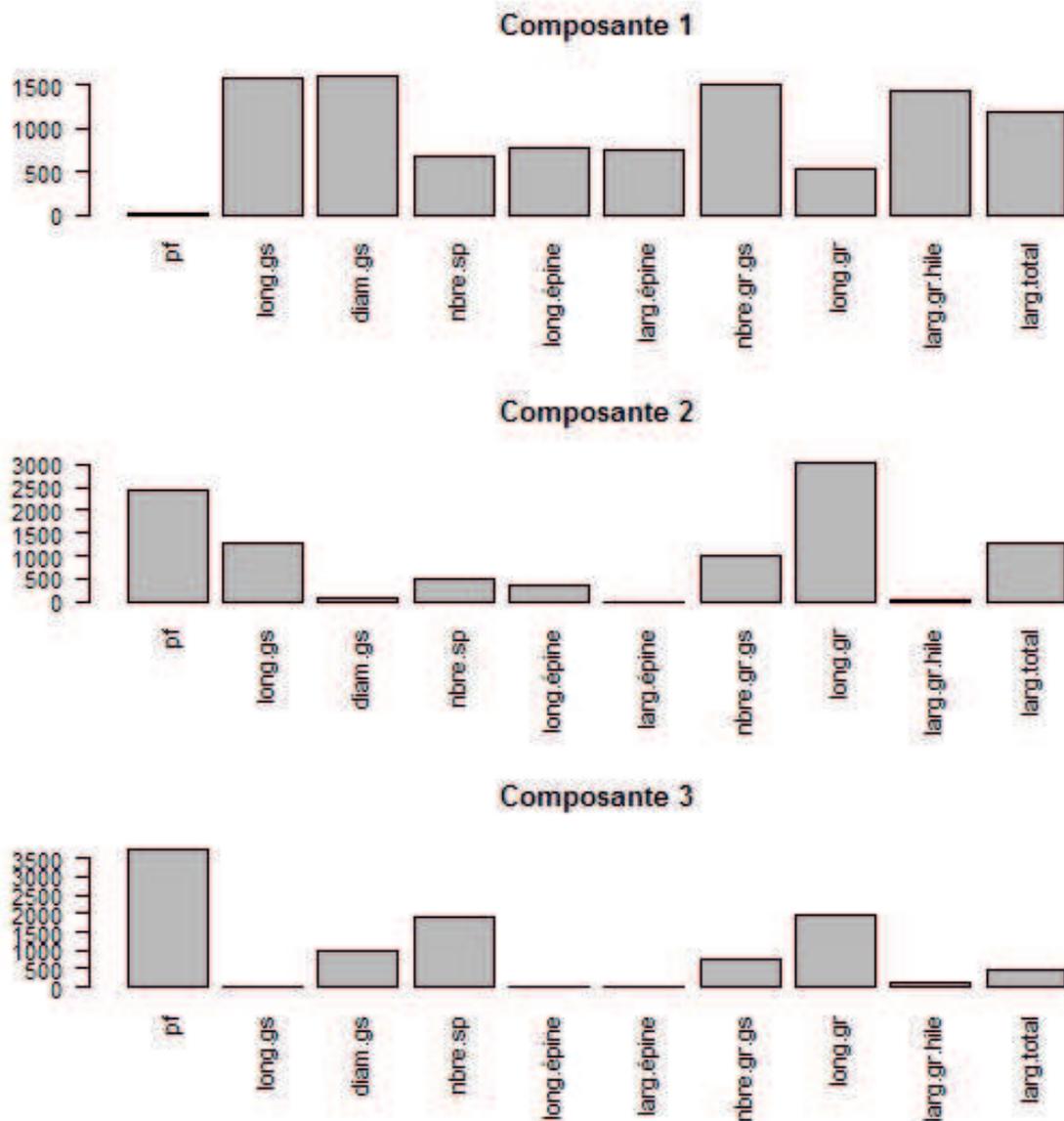


Figure 35 : Contribution des variables aux trois composantes

II.3.5. Dendrogramme de distances entre les génotypes

A partir du dendrogramme suivant (fig. 36) nous pouvons dire qu'en fonction de la distance choisie (lien moyen) nous avons deux, trois, quatre voire cinq groupes de génotypes à une distance de 600.

En effet, plus la distance tend vers zéro plus le lien entre les génotypes est fort et plus le nombre de groupes tend à se rapprocher du nombre de génotypes.

Malheureusement, vu le nombre de génotypes, il nous est très difficile de lire leurs noms sur ce dendrogramme.

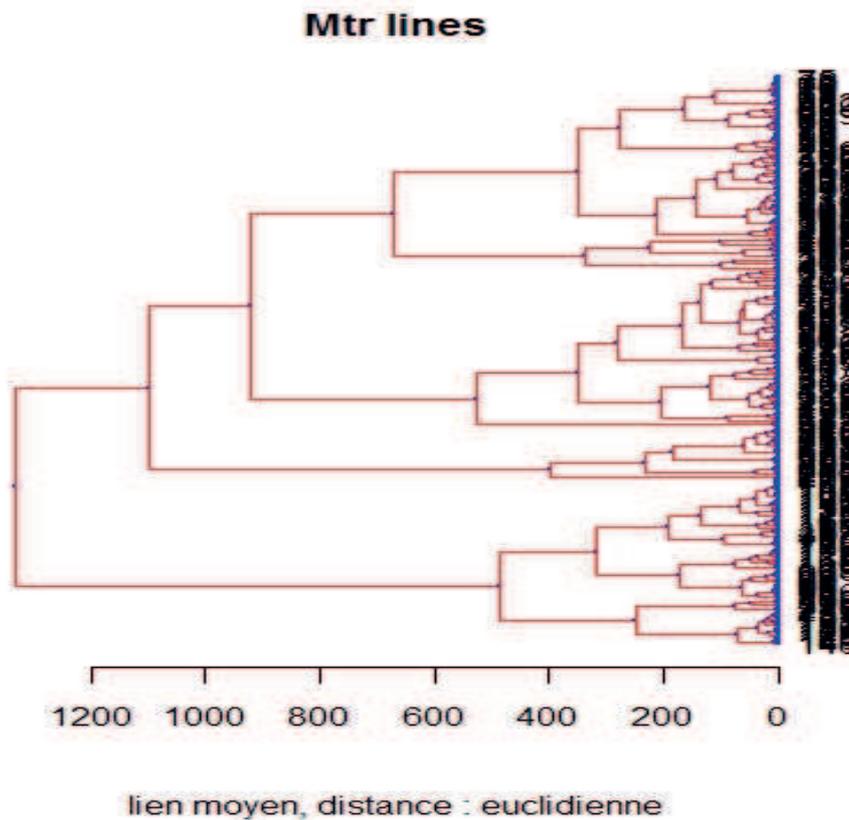


Figure 36 : Dendrogramme de distances entre les génotypes

II.3.6. Dendrogramme de distances entre variables

A partir du dendrogramme de distances entre les variables (fig. 37), on constate qu'il existe deux groupes de variables :

- Le premier correspond à la variable apparition de la première fleur et les variables caractérisant les sites d'origine (altitude, pluviométrie, longitude, latitude). De fait, la variable apparition de la première fleur est celle qui se rapproche le plus des variables liées aux sites d'origine. Bien que les corrélations ne soient pas très élevées, ces dernières demeurent positives.

- Le second regroupe les autres variables (biométriques). En se penchant sur le second groupe on trouve qu'il se divise à son tour en deux sous-groupes :

- * le 1^{er} sous groupe est composé des variables longueur de la graine, largeur totale de celle-ci et longueur de l'épine.

- * le 2nd sous groupe est composé des variables nombre de graines par gousse, longueur de la gousse, diamètre de la gousse, largeur de la graine au hile, largeur de l'épine au bord de la spire et nombre de spires. Les deux variables longueur de la gousse et nombre de graines par gousse sont les deux variables les plus proches et à un degré moindre le diamètre de la gousse ce qui illustre mieux les corrélations existantes entre ces trois variables. En effet, si on se réfère à la matrice des corrélations et si on prend ces variables deux à deux on trouve les trois coefficients de corrélation les plus élevés.

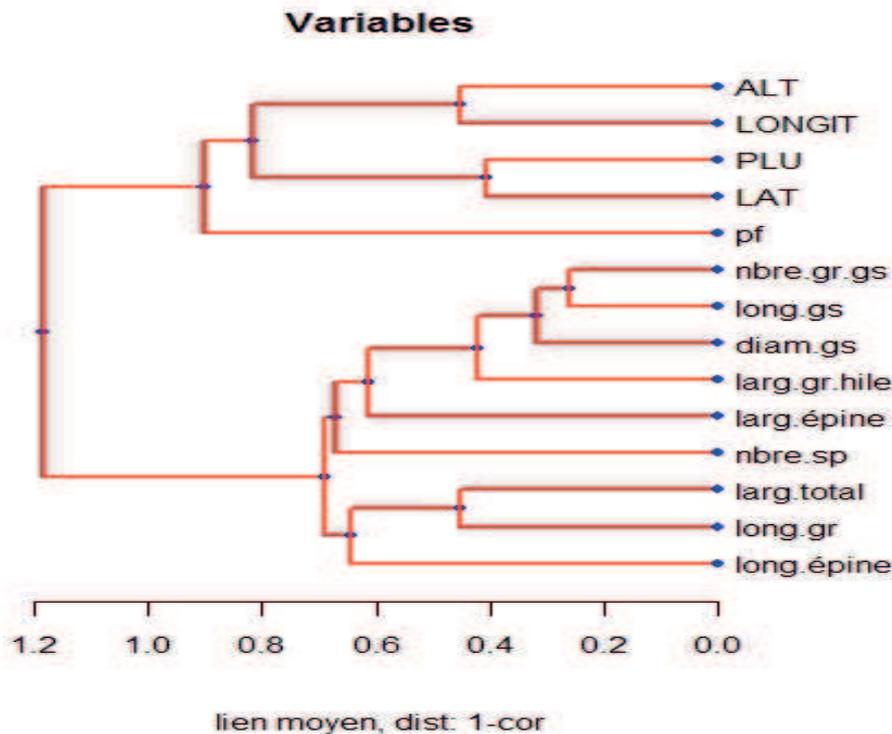


Figure 37 : Dendrogramme de distances entre les variables

II.3.7. Heat map

La heat map permet de regrouper les génotypes en fonction des variables quantitatives étudiées (fig. 38). En vert ce sont les caractères qui regroupent, en rouge, ce sont les caractères qui dissocient. Nous étudierons le dendrogramme de bas en haut.

Le 1^{er} groupe (en bas) : les génotypes y sont regroupés surtout par rapport aux deux variables Altitude et Longitude. Un peu moins par rapport aux variables temps d'apparition de la première fleur et la variable pluviométrie.

Le second groupe : Il est subdivisé à son tour en deux sous groupes :

* Le 1^{er} sous groupe : Les génotypes y sont liés par une ressemblance au niveau des caractères biométriques, en l'occurrence les caractères longueur de l'épine, longueur de la graine, largeur totale de la graine, nombre de spires, largeur de l'épine, largeur de la graine au hile, diamètre des gousses, longueur gousse et nombre de graines par gousse. Un peu moins par les variables temps d'apparition de la première fleur et la variable altitude.

* Le 2^{ème} sous groupe : est à son tour subdivisé en deux sous ensembles : Dans le premier sous ensemble le caractère longueur de l'épine, largeur totale de la graine et le caractère nombre de spires sont les caractères les plus unificateurs, les autres caractères biométriques jouent également un rôle mais à un degré moindre.

Le deuxième sous ensemble semble plus hétérogène vu que la couleur verte est parsemée de rouge, ce qui justifie le nombre important de sous grappes. Nous noterons tout de même que la contribution des variables biométriques et des variables liées aux sites diffèrent suivant le sous ensemble (ou la grappe).

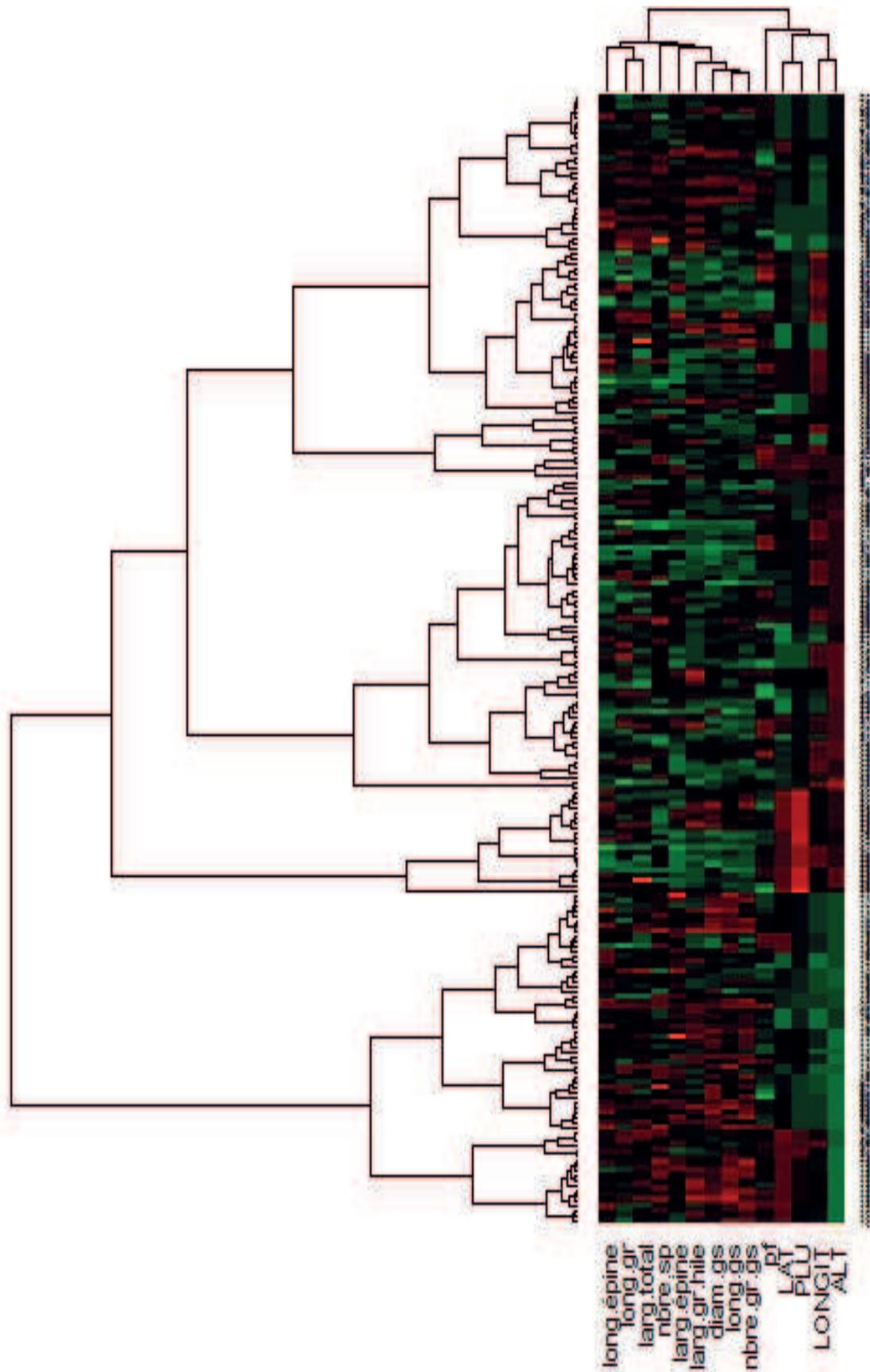


Figure 38 : Heat map, regroupement des géotypes en fonction des variables quantitatives

III. Regroupement des populations en fonction des différentes variétés botaniques

III.1. Sur la base des gousses

Pour obtenir cette classification nous nous sommes basé sur les deux caractères les plus discriminants que sont le nombre de tours de spires et la différence entre la longueur et le diamètre des gousses.

Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous et au niveau de la figure 39.

a- *M. truncatula* var. *tricycla*

Sur l'effectif total étudié de *M. truncatula* 83,4 % appartient à la variété *tricycla*. Comme l'a décrit Heyn (1963), cette variété présente un nombre de tours de spires compris entre 2,5 et 4 tours de spires.

b- *M. truncatula* var. *truncatula*

Dans notre étude la variété *truncatula* arrive en troisième position en termes de nombre d'individus présents, elle constitue 2,95 % de l'effectif total. Cette variété, selon Heyn (1963), est caractérisée par un nombre de tours de spires compris entre 5 et 8 tours de spires et une différence entre la longueur et le diamètre de la gousse positive c'est-à-dire que la longueur est supérieure au diamètre de la gousse.

c- *M. truncatula* var. *longispina*

Dans notre étude cette variété arrive en dernière position avec 0,85% de gousses observées. Pour sa part, la variété *longispina*, toujours selon Heyn (1963), est caractérisée par un nombre de tours de spires supérieur à 5 et une différence entre la longueur et le diamètre des gousses nulle ou négative, ce qui signifie que la longueur est inférieure ou égale au diamètre des gousses.

d- *M. truncatula* variété intermédiaire

On retrouve dans cette catégorie les gousses qui n'entrent pas dans les classifications sus-citées. La variété intermédiaire arrive en deuxième position en termes de nombre avec un pourcentage de présence de 12,80 %.

On aurait dû y retrouver donc les individus dont les caractéristiques sont les suivantes :

- un nombre de tours de spires de 2 et de 4,5.
- un nombre de tours de spires compris entre 5 et 8 et une longueur de gousse inférieure ou égale au diamètre des gousses.
- un nombre de tours de spires supérieur à 8 et une longueur strictement supérieure au diamètre des gousses.

Toutefois, dans notre étude, 100 % des individus composant la variété intermédiaire présentent le nombre de tours de spires de 2 ou 4,5. Les deux autres cas n'ont pu être relevés car nous n'avons jamais dépassé le nombre de tours de spires de 8. Donc, pour un nombre de tours de spires supérieur à 5 nous étions automatiquement devant la variété *truncatula* ou *longispina* suivant que la différence entre la longueur et le diamètre des gousses était positive, négative ou nulle.

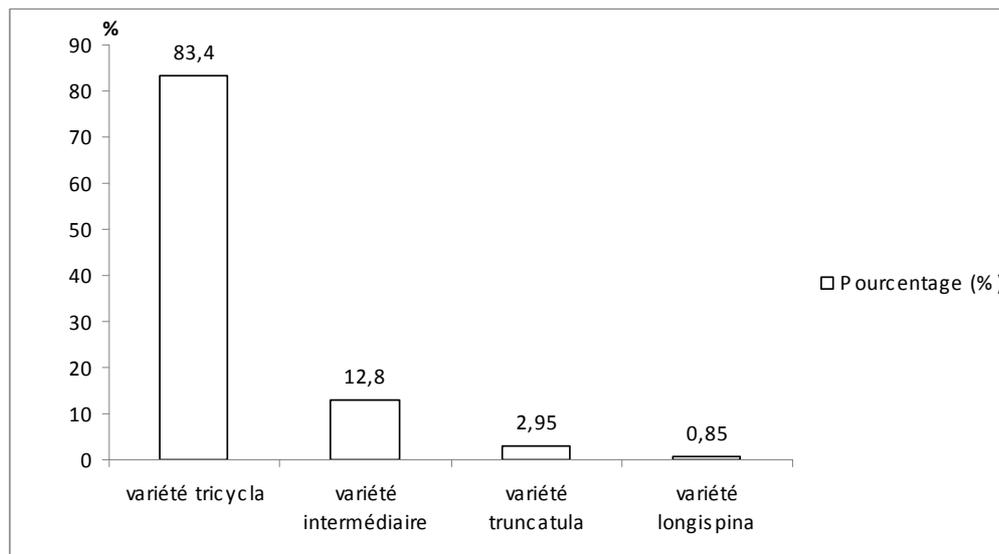


Figure 39 : Pourcentage de représentation des variétés botaniques décrites sur la base de deux variables discriminantes au sein de l'effectif total selon Heyn (1963)

Cependant, un test a été fait pour prendre en compte tous les caractères (soit 6) cités par Heyn (1963), les résultats sont illustrés au niveau de la figure 40.

On remarque une prédominance de la variété intermédiaire avec 83,71 % contre 12,8 % précédemment. Comme nous notons également une relégation à la deuxième position de la variété *tricycla* avec seulement 16,29 %. Enfin, un troisième constat a pu être fait et qui est l'absence des deux variétés *longispina* et *truncatula*.

Dans ce cas de figure, la variété intermédiaire va regrouper les gousses dont les caractéristiques sont :

- le nombre de tours de spires de 2 et 4,5,
- le nombre de tours de spires compris entre 2,5 et 4 et dont l'une des deux conditions est vérifiée ou les deux en même temps : les spires sont compressées et les épines sont non divergentes.
- le nombre de spires compris entre 5 et 8 dont au moins l'une des conditions est vérifiée : une longueur de gousse inférieure ou égale au diamètre des gousses ; des épines formant un angle d'insertion différent de 90° qui soient divergentes et incurvées ; des spires non compressées.
- le nombre de spires supérieur à 5, il suffit également qu'au moins une de ces conditions soient vérifiées : la longueur est strictement supérieure au diamètre ; les spires sont compressées ; les épines sont non incurvées.

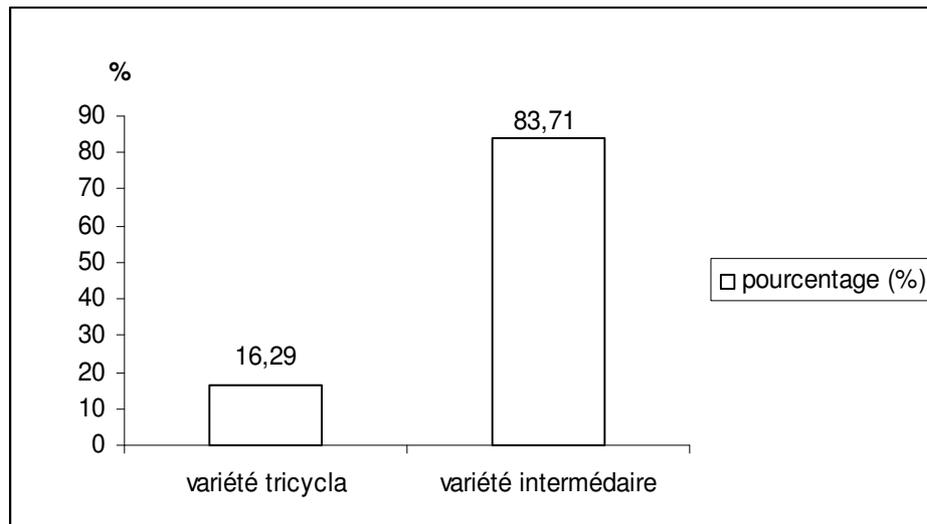


Figure 40 : Pourcentage de variétés décrites sur la base des 6 variables discriminantes au sein de l'effectif total selon les variétés botaniques de Heyn (1963)

III.2. Sur la base des épines

Sur la base des critères de classification d'Urban (1873 *in* Lesins et Lesins, 1979), nos populations peuvent se scinder en trois groupes, ces derniers chevauchent donc les variétés issues de la classification de Heyn (1963) et par conséquent, cette classification est moins précise. Toutefois, il nous a paru intéressant de mettre en évidence l'existence des différences entre ces deux classifications. La figure 41 nous montre la répartition des gousses étudiées en fonction de la classification d'Urban (1873 *in* Lesins et Lesins, 1979). On constate alors la prédominance de la variété *longeaculeata* avec plus de 94 %. La variété *breviaculeata* ne représente que 1,47 de l'effectif total. Un troisième groupe que nous nommerons variété « intermédiaire », car ne correspondant ni au premier ni au second groupe précédemment cité, se place entre les deux avec 4,03%.

a- *M. truncatula* var. *longeaculeata* Urb

En faisant abstraction des variétés botaniques de Heyn (1963), on remarque que cette variété, du fait de ses caractéristiques, est présente au niveau de toutes les populations étudiées sauf que certaines populations présentent, en plus, des gousses que l'on pourrait classer en variété *breviaculeata* ou variété intermédiaire.

Ceci explique donc le fort pourcentage de présence noté dans notre étude.

b- *M. truncatula* var. *breviaculeata* Urb.

On remarque pour cette variété une présence très faible, puisqu'elle ne correspond qu'à 1.47% des gousses étudiées. Ces gousses appartiennent aux populations ALG 206 (5 gousses), ALG 214 (une gousse), ALG 236 (3 gousses), ALG 238 (6 gousses), ALG 253 (une gousse), ALG 402 (une gousse), ALG 405 (une gousse), ALG 439 (une gousse).

c- variété intermédiaire

Les gousses qui n'entraient pas dans la classification faite par Urban (1873 *in* Lesins et Lesins, 1979), ont été regroupées sous l'appellation de variété intermédiaire. Nous les avons rencontrées dans les populations suivantes :

ALG232 (une gousse), ALG253 (2 gousses), ALG257 (une gousse), ALG266 (une gousse), ALG 294 (une gousse), ALG 299 (une gousse), ALG 310 (une gousse), ALG 321 (2 gousses), ALG 402 (2 gousses), ALG 404 (10 gousses), ALG 408 (2 gousses), ALG 431 (2 gousses), ALG 433 (3 gousses), ALG 434 (3 gousses), ALG 438 (2 gousses), ALG 443 (2 gousses), ALG 448 (4 gousses), ALG 449 (une gousse), ALG 453 (7 gousses) et ALG 460 (3 gousses).

Dans le cas de notre étude ces gousses avaient des épines dont les caractéristiques étaient les suivantes :

Divergentes dans 90 % des cas.

Pour ce qui est de l'angle d'insertion et de la courbure des épines nous avons eu respectivement 94% pour l'angle d'insertion intermédiaire et 80% pour les épines incurvées.

Néanmoins, le caractère qui nous a contraint à créer ce groupe intermédiaire c'est la différence entre la longueur et la largeur de l'épine au bord de la spire, et l'angle d'insertion que forme l'épine avec la surface de la spire.

En effet, Urban (1873 *in* Lesins et Lesins, 1979) n'a pas relevé les cas où la longueur est inférieure à la largeur au bord de la spire. Or, dans notre étude nous avons été confronté à ce cas à 6 reprises.

De plus, selon ce même auteur les gousses dont les épines sont aussi longues que larges au bord de la spire connaissent un angle d'insertion de 90° (soit la variété *breviaculeata*). Or, dans notre étude nous avons relevé que 44 gousses avaient les épines aussi longues que larges mais elles présentaient un angle d'insertion de 130° environ.

Il est vrai que ce groupe ne représente que 4 % du total des individus étudiés, mais il nous a paru bon de relever ces différences et puis il dépasse la variété *breviaculeata* qui elle ne constitue que 1,47 % de l'effectif total comme nous l'avons signalé auparavant.

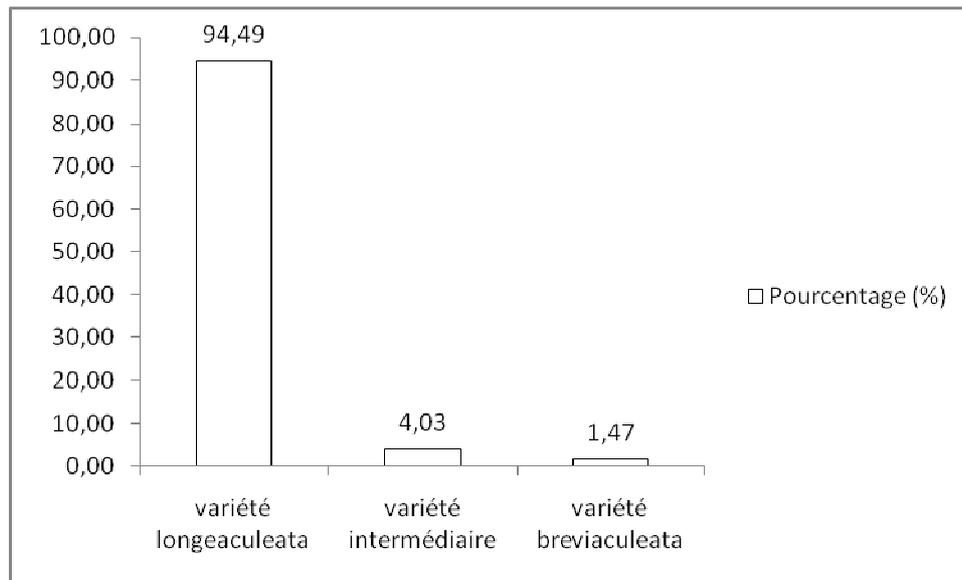


Figure 41 : Pourcentage de représentation des variétés botaniques décrites par Urban (1873 in Lesins et Lesins, 1979) au sein de l'effectif total

IV. Analyse des données quantitatives et qualitatives réunies (Analyse de Hill-Smith)

Afin d'effectuer cette analyse, nous avons pris uniquement les individus dont les données étaient complètes et nous les avons soumis à plusieurs tests :

IV.1. Regroupement des génotypes en fonction du Test de Hill-Smith

A partir du test de Hill-Smith nos individus forment cinq ou six groupes de manière assez nette (fig. 42 et fig. 43).

Toutefois, on trouve que sur les 70 populations, dont les données étaient complètes 41 populations sont réparties sur 2 à 3 groupes, avec tout de même une prédominance pour l'un des groupes, dans le cas où l'effectif est réparti sur cinq groupes. Le même constat est fait sur 51 populations lorsque nous subdivisons notre effectif en 6 groupes (tab. 29 et tab. 31 en annexe 11)

Ce qui confirme tout de même l'existence d'une variabilité intra population. Un autre constat peut être fait c'est qu'une seule population la ALG251 n'appartient à aucun des 5 ou 6 groupes.

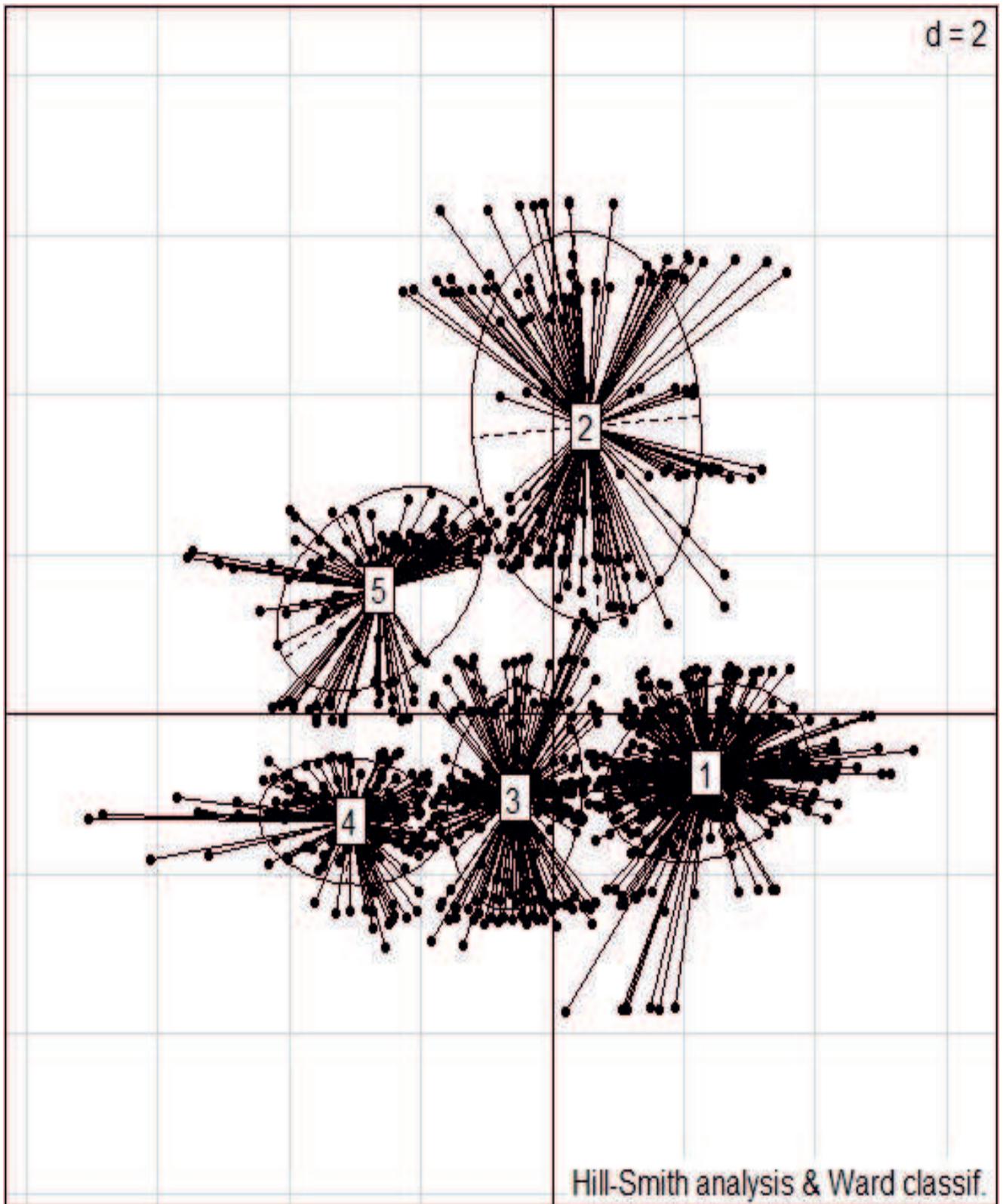


Figure 42 : Regroupement des génotypes étudiés en 5 groupes homogènes selon Hill-Smith et Ward

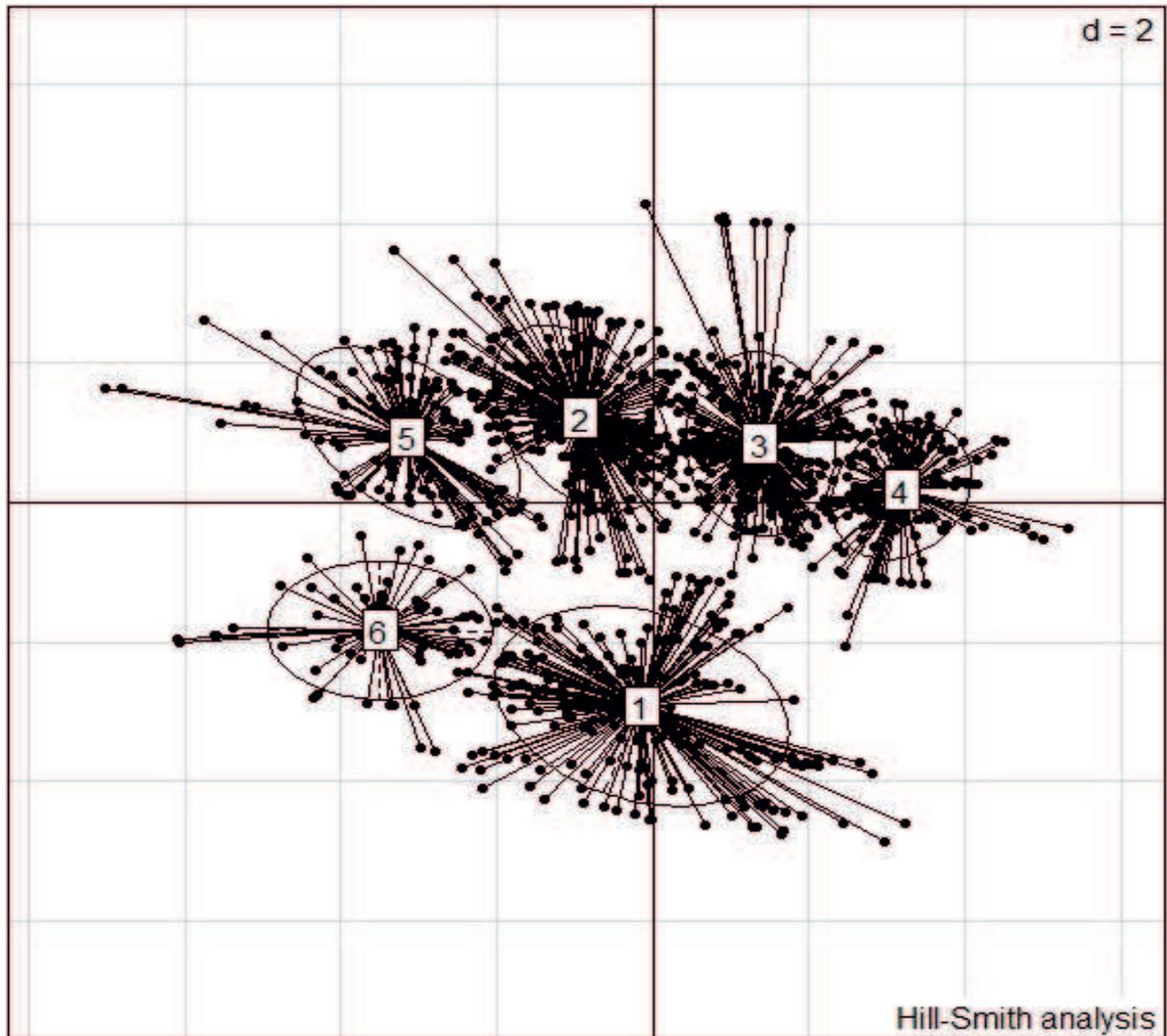


Figure 43 : Regroupement des génotypes étudiés en 6 groupes homogènes selon Hill-Smith

IV.2. Score axe 1 selon Hill-Smith

La figure 44, nous permet de voir comment est organisé le plan selon la méthode de Hill-Smith. On remarque que la plupart des variables qualitatives sont très proches de zéro en ordonnée, et s'étalent sur toute l'abscisse de la partie négative à la partie positive avec les centres de groupes se trouvant au niveau de la bissectrice. Toutefois, ceci n'est pas valable pour les deux variables marqueur foliaire (MF) et sol. En effet, pour ce qui est de la variable MF, on retrouve que le type 7 se trouve dans la partie négative des abscisses et des ordonnées, tandis que le type 6 se trouve à quasiment l'opposé au niveau des coordonnées (1.5, 1.5).

On remarque également que les variables quantitatives entre elles et les variables qualitatives entre elles sont corrélées positivement et les variables quantitatives avec les variables qualitatives sont corrélées négativement. Néanmoins il ne semble y avoir aucune corrélation de ces variables avec les variables PLU, LAT et SOL et à un degré moindre avec la variable long. Gr.

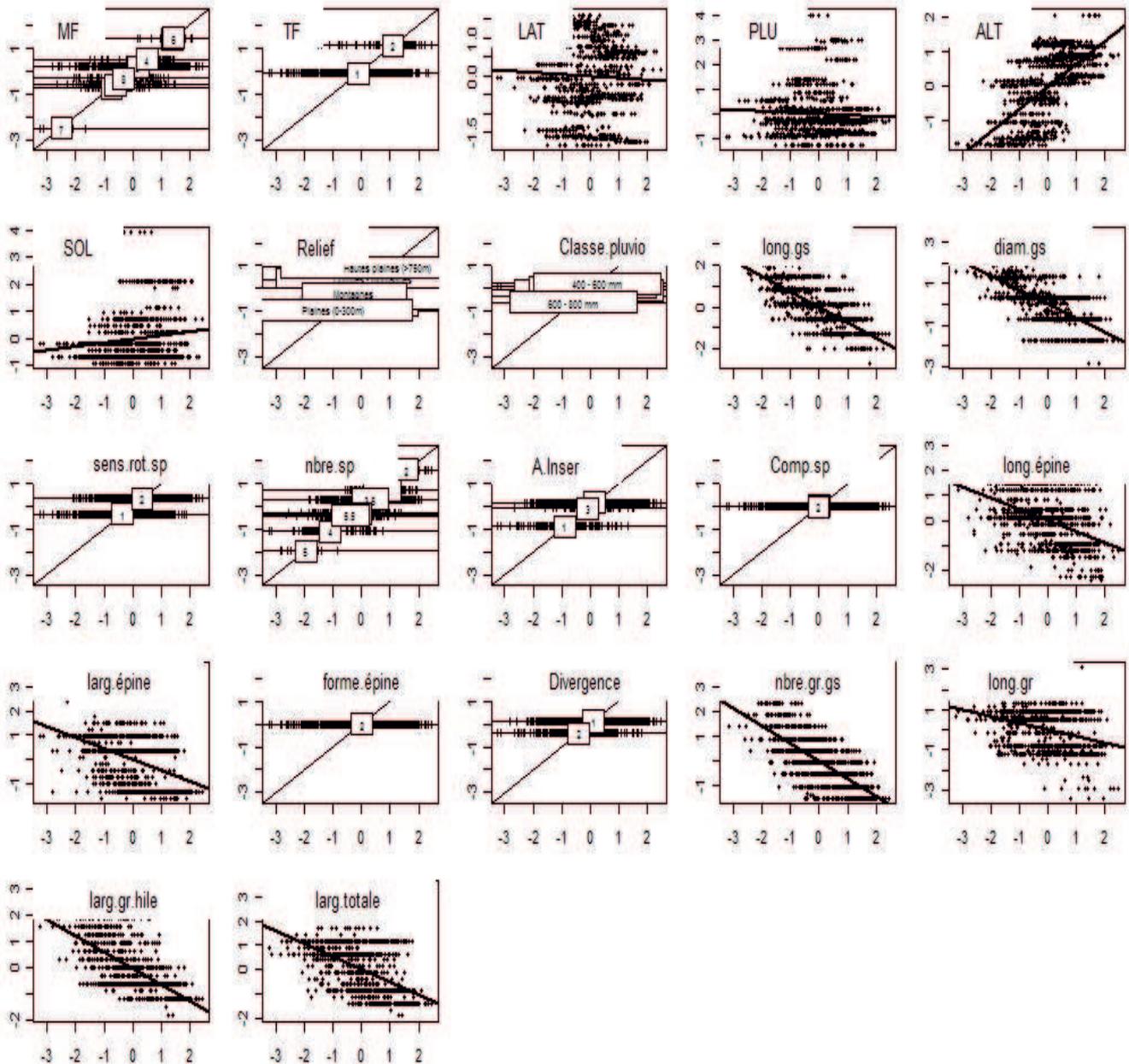


Figure 44 : Score de l'axe 1 de Hill-Smith

IV.3. Score axe 2 selon Hill-Smith

A partir de la figure 45, on remarque en premier lieu que les variables qualitatives sont toujours corrélées positivement entre elles. En second lieu, on remarque que les variables quantitatives et qualitatives ne semblent plus corrélées. En troisième lieu, il semble que les variables LAT et PLU soient corrélées négativement avec les variables qualitatives, alors que les variables ALT et SOL, ne sont pas ou le sont faiblement. En quatrième lieu, les variables quantitatives semblent avoir la même tendance. En cinquième lieu, on remarque que les gosses, les graines et les épines de grande taille se trouvent vers le haut, alors que les gosses, graines et épines de petite taille se trouvent au centre du plan. En sixième lieu, l'axe des « y » est le plus discriminant. Enfin, on remarque que les gosses avec un nombre de tours de spires de 4 proviennent du relief de 0 à 300m.

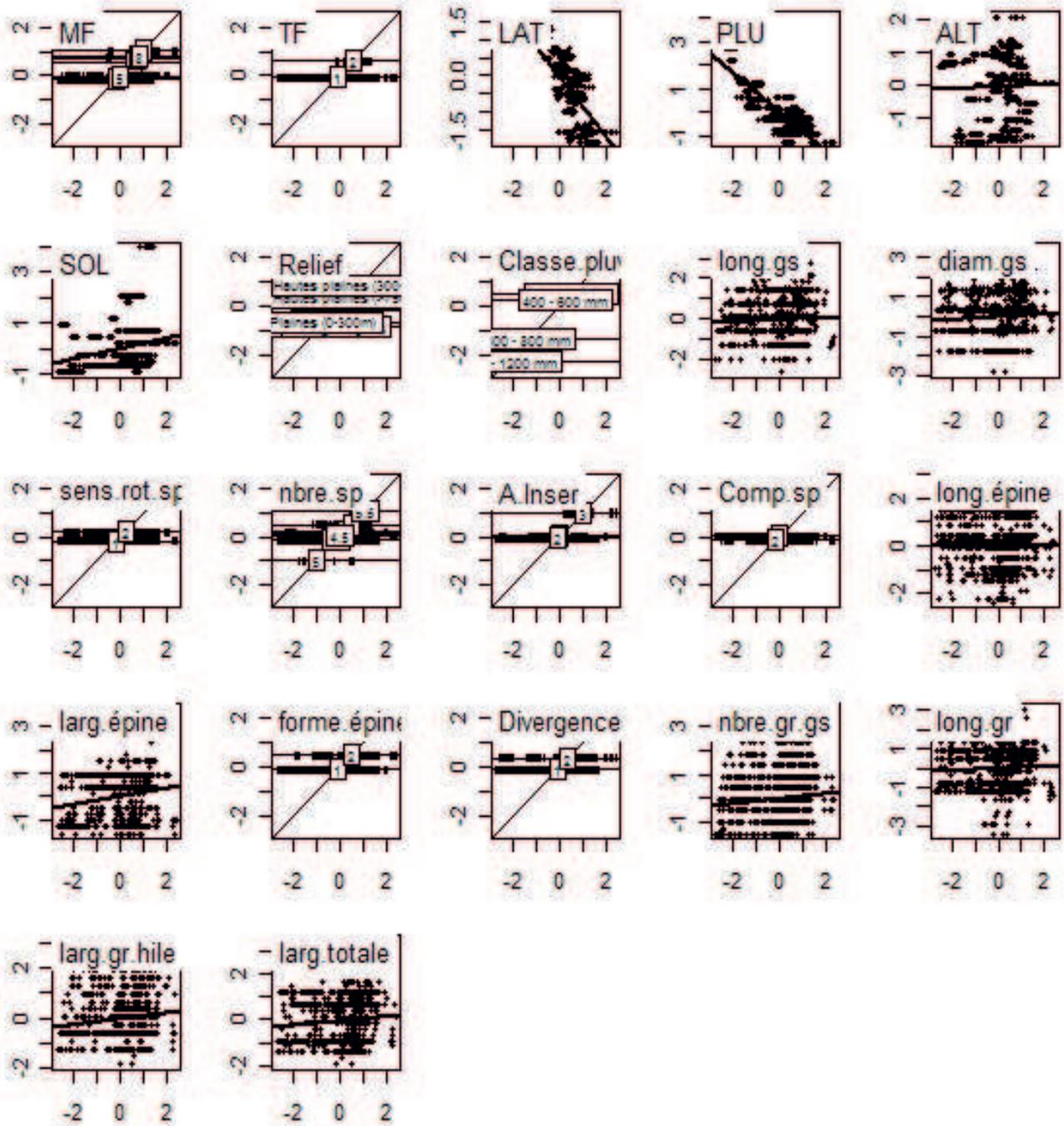


Figure 45 : Score de l'axe 2 de Hill-Smith

IV.4. Cercle des corrélations Hill-Smith

Le cercle des corrélations de Hill-Smith permet de constater comment les variables quantitatives et qualitatives sont corrélées entre elles et par la même occasion il nous permet de comprendre comment sont réunis les individus sur le plan de Hill et Smith.

On remarque à partir de la figure 46 suivante, le nombre élevé de modalités (pour les variables qualitatives) et de variables quantitatives étudiées. Il est de ce fait, difficile d'analyser le plan de Hill-Smith.

Nous allons tenter tout de même de le faire afin d'avoir au moins un aperçu sur la manière dont les groupes sont réunis :

Le 1^{er} groupe : Il est situé en haut à gauche du plan. Il comporte les variables et modalités suivantes :

- Pour le caractère nombre de tours de spire : on retrouve le nombre 4 et 5.5,
- On trouve les gousses non divergentes,
- On trouve la forme des épines non incurvées,
- On trouve les génotypes dont le MF est de type 7,
- On trouve la variable Relief Collines et Relief Hautes plaines,

Le 2nd groupe : Il est situé en bas à gauche et il est composé des variables :

- Sol de type 7, 1 et 9,
- PLU,
- nombre de tours de spires de 5,
- relief plaines de 0 à 300 m,
- MF de type 1,
- sens d'orientation dextre des spires,

Le 3^{ème} groupe : il est situé en bas à droite du plan et est composé des variables :

- relief collines-montagnes,
- nombre de tours de spires de 3.5,
- type de sol 10,
- l'angle d'insertion intermédiaire soit environ 130°,
- l'orientation des épines divergentes,

Le 4^{ème} et dernier groupe : Il est situé sur le dernier quart du plan et est composé des variables :

- TF 2 (soit non dentée),
- MF de type 6,
- Relief Hautes plaines,
- Nombre de tours de spires de 2.5,
- Sens de rotation des spires senestre.

Toutefois, un certain nombre de variables ne sont pas apparentes et il nous est impossible de déterminer leur position avec précision, on a donc préféré s'abstenir.

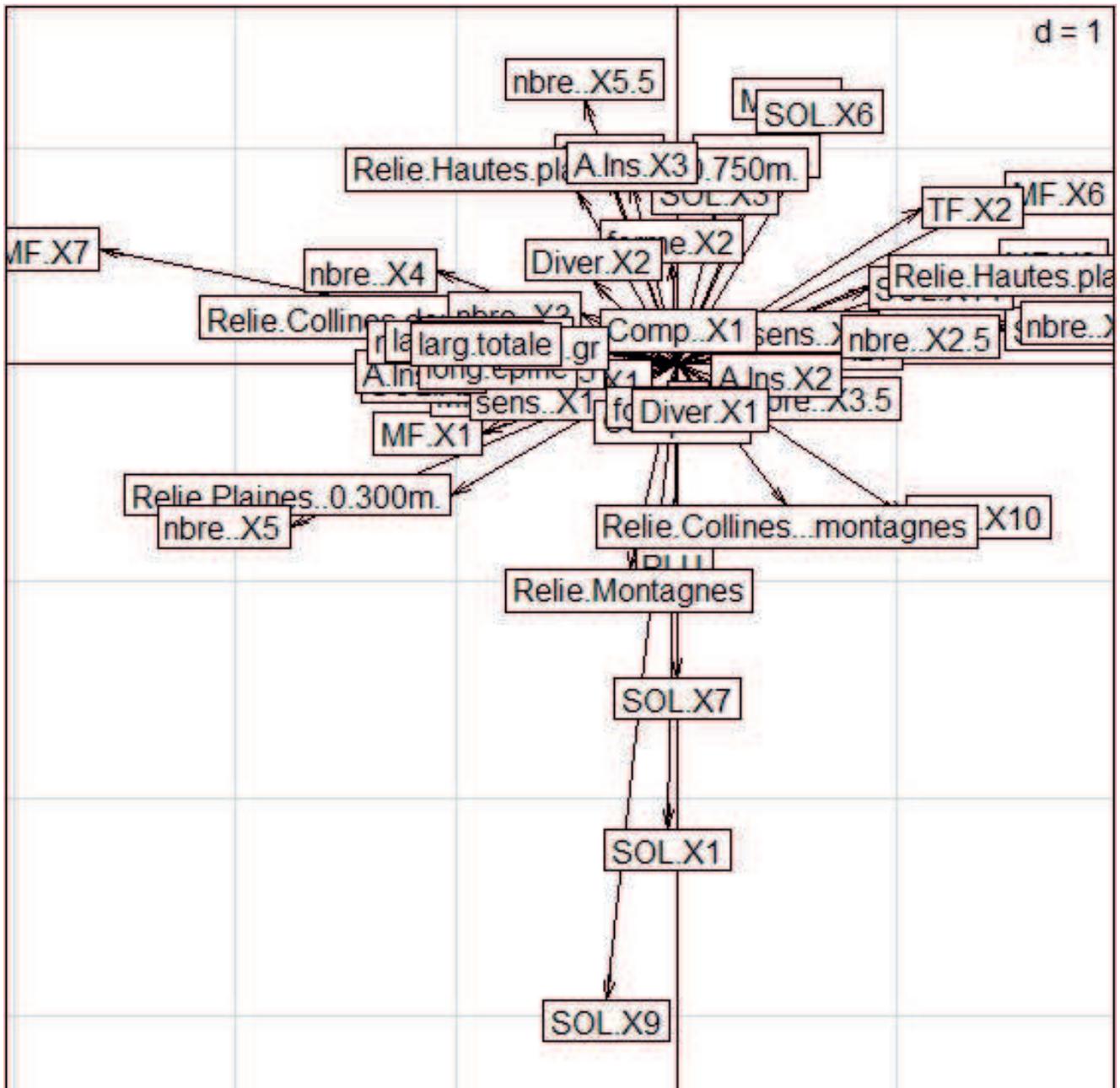


Figure 46 : Cercle des corrélations Hill-Smith

IV.5. Test Kmeans

On remarque à partir de la figure 47 que la majeure partie de l'effectif est située sur la diagonale on relève 5 groupes bien distincts.

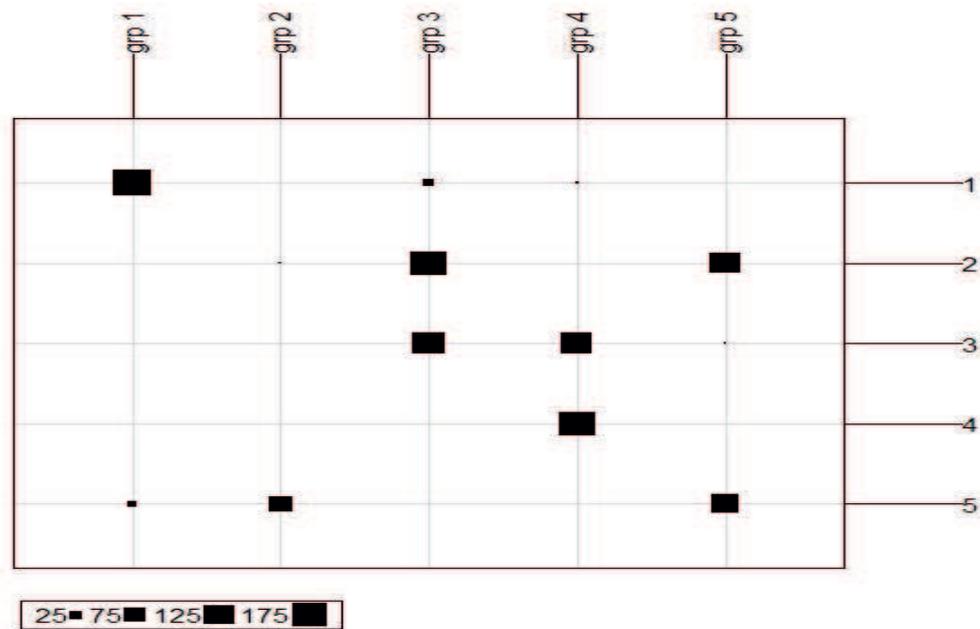


Figure 47 : Représentation des groupes homogènes selon la méthode des Kmeans

IV.6. Dendrogramme de Ward

On notera que l'analyse de Ward, permet également de déterminer environ cinq groupes à partir des génotypes de *M. truncatula* étudiés (fig. 48).

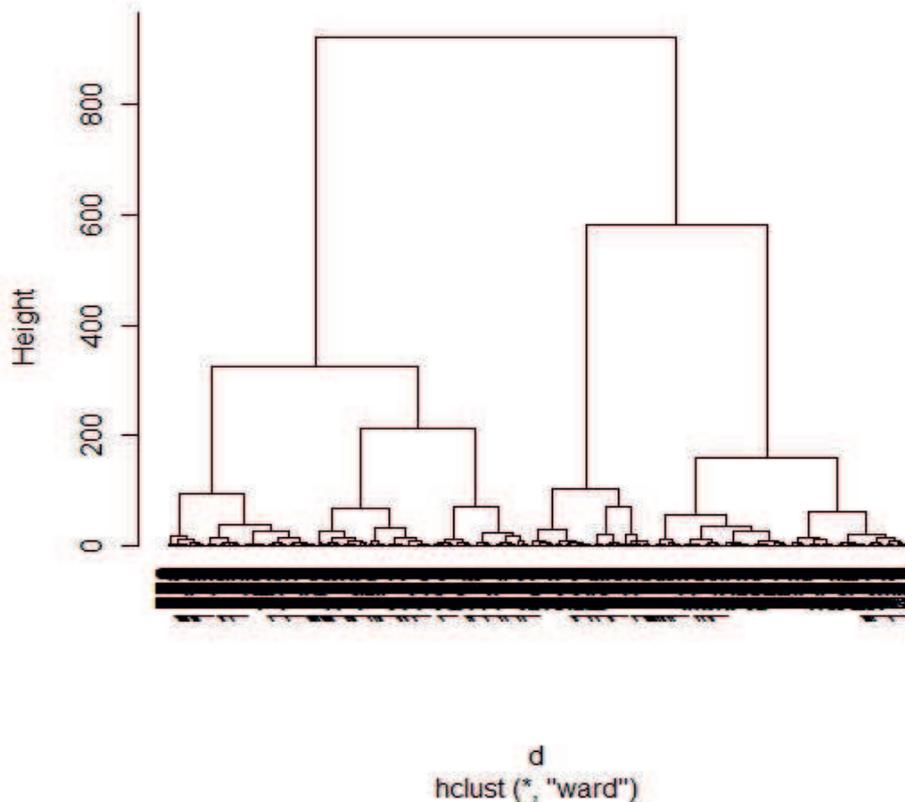


Figure 48 : Dendrogramme de Ward combinant les variables quantitatives et qualitatives

IV.7. Superposition des analyses effectuées

Les deux figures 49 et 50 qui suivent, confirment bien, la présence de cinq groupes scindant les génotypes de *M. truncatula* étudiés. Il restera à déterminer dans le cas de la poursuite de nos travaux les liens qui peuvent exister au sein de ces différents groupes.

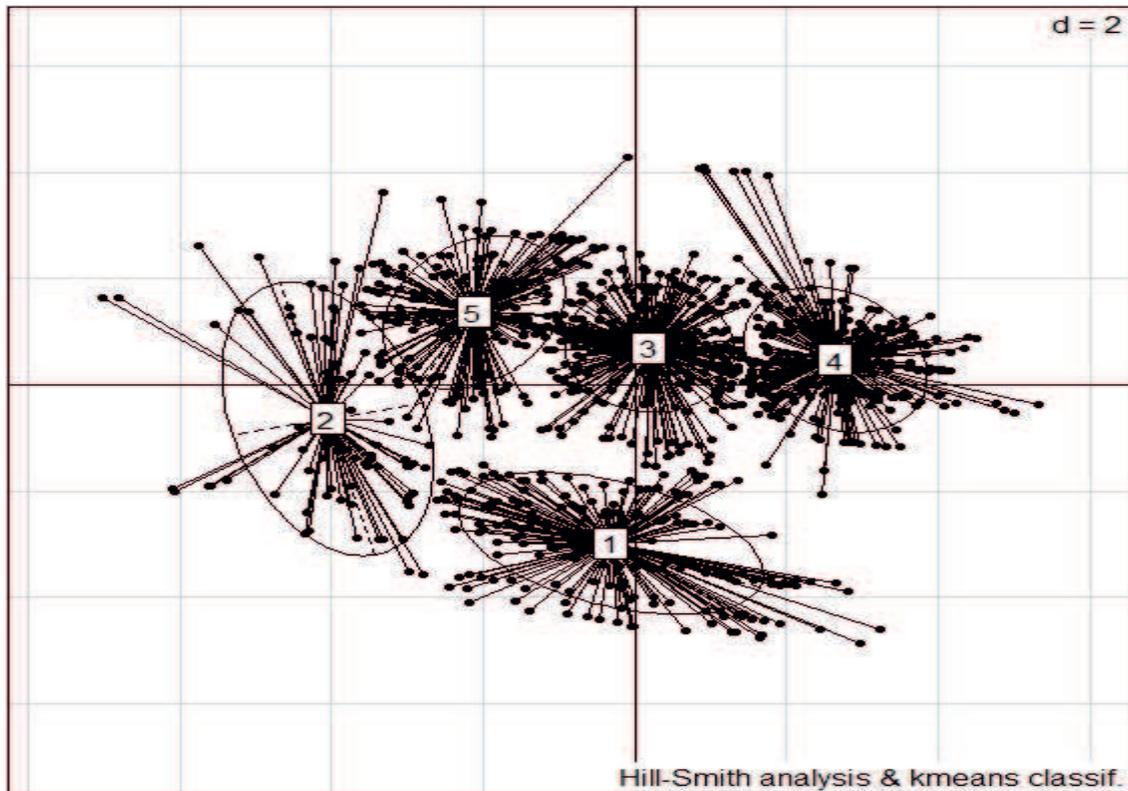


Figure 49 : Superposition et regroupement des génotypes selon Hill-Smith et Kmeans

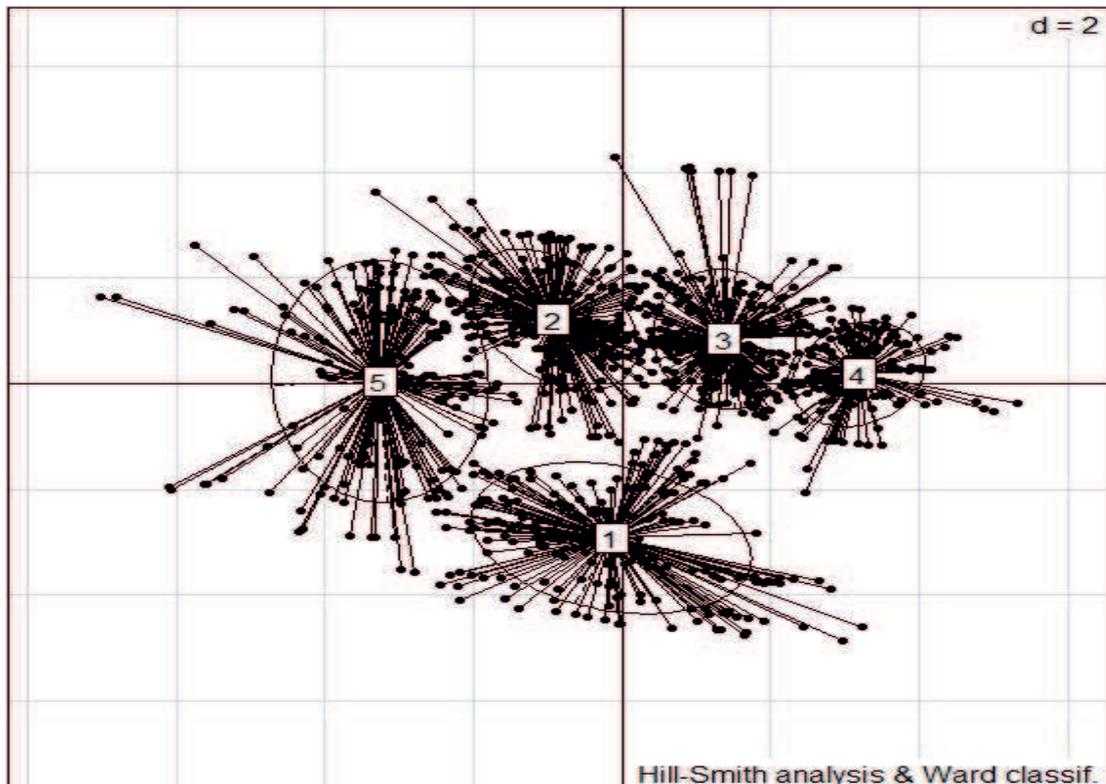


Figure 50 : Superposition et regroupement des génotypes selon Hill-Smith et Ward

Chapitre II : Discussion de l'étude morphologique

I. Discussion de l'analyse des variables qualitatives

Il a été constaté sur l'ensemble des caractères étudiés la présence d'une variabilité aussi bien inter qu'intra population

I.1. Discussion de l'étude des marqueurs foliaires

Trois raisons peuvent nous pousser à étudier les marqueurs foliaires. La première raison pour laquelle nous les avons étudiés, est que selon lesins *et al.* (1974 *in* Laouar, 2005), le caractère présence/absence de marqueurs foliaires est monogénique. De plus, ce caractère est héritable. En effet, selon Aitken et Drake (1941 *in* Nichols, 2005), la taille, la forme, la couleur des marqueurs foliaires ont été décrites comme étant un polymorphisme de caractères morphologiques héritable chez *Trifolium subterraneum* et cette hérabilité, dans notre cas, est maintenue grâce à la « quasi autogamie » de la plante.

La seconde raison est que selon Ibn tattou (1981), les marqueurs foliaires indiquent une nodulation efficiente, de ce fait ils peuvent jouer le rôle de marqueur génétique pour la sélection et l'amélioration du matériel végétal.

La troisième raison, c'est qu'ils sont visibles à l'œil nu et apparaissent très rapidement au cours du cycle de la plante et donc ils peuvent constituer un moyen rapide et non onéreux pour étudier la variabilité intra et inter populations.

Dans notre étude, près de 80 % des génotypes étudiés sur le plan morphologique ont présenté des marques sur les feuilles. Elles ont été classées en 4 types en fonction du positionnement, de la couleur et de la forme des marques. On a relevé les couleurs blanches et grenat et les positions supérieure, centrale, basale et éparpillée sur toute la feuille.

Un constat très intéressant a pu être fait lors de notre expérimentation, c'est la présence de deux types de marqueurs sur la même feuille, en l'occurrence le type 1 / type 3 et type 4 / type 2. Du fait de l'autogamie de la plante et de l'hérabilité de cette combinaison de marqueurs (deux années de suivi) Nous pouvons dire que les taches blanches et les taches grenat sont régies par deux allèles différents et donc la présence de l'un n'exclut pas la présence de l'autre. En effet, selon Hutton et Peak (1954 *in* Nichols, 2005), Tan et Collins (1987 *in* Nichols, 2005) chaque marqueur est contrôlé par un seul allèle à un seul locus avec trente allèles différents.

De plus, selon Mc Comb (1974) les taches blanches ou jaunes sur les folioles correspondent à des zones où les cellules palissadiques contiennent de la chlorophylle en quantité réduite et un espace sous épidermique rempli d'air, alors que les taches grenat ou pourpres sont dues à un pigment anthocyanique. La couleur et la position de ces taches mettent en jeu sept allèles d'un même gène. Le blanc est dominant et le jaune récessif. Quant à la position des taches, on a par ordre de dominance croissante : position supérieure > position centrale > position inférieure. Néanmoins, aucune explication écologique n'a été trouvée jusqu'ici concernant ces marqueurs (Nichols, 2005).

I.2. Sens d'enroulement des spires

Le caractère sens de l'enroulement des spires peut avoir un intérêt comme marqueur puisqu'il est contrôlé par un gène (Simon, 1965 *in* Lesins et Lesins, 1979) et le sens dextre est dominant tandis que le sens sénestre est récessif.

Nos résultats ont révélé que la majeure partie des gousses étudiées présentaient un sens sénestre. Toutefois, le test du khi-2 que nous avons effectué montre une répartition aléatoire au sein de l'effectif étudié.

I.3. Les épines

La présence ou pas des épines est également un caractère monogénique et le caractère présence des épines domine le caractère absence d'épines (Simon, 1965 *in* Lesins et Lesins, 1979).

Comme nos résultats l'attestent, la totalité des gousses étudiées sont pourvues d'épines.

II. Discussion de l'analyse des variables quantitatives

II.1. Temps d'apparition de la première fleur

Le succès d'une plante dans son environnement dépend de sa capacité à allouer les ressources nécessaires à son environnement, son maintien et sa reproduction dans des proportions appropriées (Nichols, 2005).

Le temps nécessaire à la maturation des premières graines est plus important comme caractère que le temps d'apparition de la 1^{ère} fleur pour la persistance des plantes annuelles méditerranéennes, mais le temps d'apparition de la première fleur est pris en substitution en raison de la difficulté des mesures du temps de maturation des graines (Nichols *et al.*, 1996 *in* Nichols, 2005).

Le temps d'apparition de la première fleur correspond à l'apparition du premier bouton floral sur la tige centrale (Aitken et Drake, 1941 *in* Nichols, 2005). Ce dernier détermine à son tour la capacité des rameaux secondaires à produire des boutons floraux (Nichols, 2005).

Les légumineuses méditerranéennes sont des plantes à jours longs avec un besoin en vernalisation et une initiation de la floraison par l'augmentation de la longueur du jour (Evans, 1959 *in* Nichols, 2005 ; Aitken, 1974 *in* Nichols, 2005).

Selon Clarkson et Russel (1975), la floraison chez la luzerne annuelle est régie par trois mécanismes : la vernalisation, la longueur du jour (les jours courts inhibent la floraison) et enfin l'augmentation des températures. Ce qui signifie que la rapidité de floraison dépend du degré de satisfaction de ces trois besoins par l'environnement.

Néanmoins, les espèces et les génotypes réagissent différemment vis-à-vis de la température et de la photopériode (Morley et Davern, 1956 *in* Nichols, 2005 ; Clarkson et Russel, 1975).

A partir de là, Nichols (2005) déduit que les individus à floraison précoce tendent à avoir de faibles besoins en vernalisation et en longueur de jour et une capacité à fleurir à de faibles températures.

Tandis que pour les variétés tardives la floraison est retardée par la non satisfaction d'un ou plus de ces besoins (vernalisation insuffisante et longueur du jour et températures post vernalisation faibles).

Par ailleurs, selon Clarkson et Russel (1975), avec une moyenne des températures journalières de 21,3°C, l'apparition de la première fleur chez *M. truncatula* cv. Jemalong arrivait à 100 jours, tandis que si la plante passait trois semaines de vernalisation à (1°C) la première fleur apparaissait après 38 jours seulement. Tandis que chez *M. scutellata* l'augmentation des températures journalières accélèrent l'apparition de la première fleur, vernalisation ou pas. Le gain lié à la vernalisation (1° C) pendant une semaine était d'environ 42 jours. Toutefois, ces mêmes auteurs ont remarqué qu'une période de vernalisation dépassant les 7 semaines pouvait avoir l'effet inverse sur le temps d'apparition de la première fleur, comme ils ont également constaté que les jours longs sans vernalisation avaient également un impact sur la floraison en raccourcissant le temps d'apparition de la première fleur.

Selon Clarkson et Russel (1976), les médiums n'ont aucun mécanisme d'évitement du stress hydrique. En effet, leur étude a révélé que si le stress se produisait avant la phase de floraison, celle-ci était retardée, par contre si elle se produisait pendant la floraison, la durée de cette dernière était raccourcie. Par exemple, chez l'espèce *M. truncatula* cv Jemalong, le temps de floraison a été raccourci de 53 jours à 27 jours.

Selon Seklani *et al.* (1996), les populations appartenant à l'espèce *M. truncatula* en Tunisie connaissent des précocités différentes comme c'est le cas également pour les populations que nous venons d'étudier, ceci permet de s'en servir en tant que plante de pâturage. En effet, ces espèces ont un rapport feuilles/tiges plus équilibré durant la période de pâture et produisent suffisamment de graines pour la régénération du couvert végétal.

Enfin, il nous a paru bon de relever une remarque très importante faite par Nichols (2005) et que nous avons pu confirmer au cours de notre expérimentation. Il n'existe aucune corrélation entre le temps d'apparition de la première fleur et les caractères de la graine. Néanmoins, les plus petites graines arrivent à maturité plus vite que les grosses graines (Francis et Gladstones, 1974 *in* Nichols, 2005 ; Percetti et Piano, 1994 *in* Nichols, 2005). Par conséquent les graines de petite taille peuvent remplacer jusqu'à une certaine mesure la précocité de floraison, cependant, des variations existant au sein de la même espèce ont été révélées (Tennant, 1965 *in* Nichols, 2005 ; Percetti et Piano, 1994 *in* Nichols, 2005). C'est pour cela que les déductions écologiques entre espèces sur la base du temps d'apparition de la première fleur doivent être faites avec prudence.

Ces résultats montrent l'intérêt de l'étude du caractère temps d'apparition de la première fleur chez les génotypes étudiés. En effet, ce travail constitue une caractérisation du patrimoine fourrager national, donc mieux le connaître c'est mieux adapter les zones de mise en culture de même que les pratiques culturales et par voie de conséquence éviter l'échec qui s'est produit avec les variétés introduites en

Algérie, surtout que les populations algériennes sont mieux adaptées aux conditions édapho-climatiques nationales puisqu'elles se sont maintenues par sélection naturelle.

II. 2. Corrélation entre facteur du milieu et variables morphologiques

II.2.1. Temps d'apparition de la première fleur

Le caractère temps d'apparition de la première fleur [temps de floraison (pf)] est le caractère le plus affecté par les changements environnementaux de toutes les stratégies pratiquées par les plantes annuelles (Ehrman et Cocks, 1996 *in* Nichols, 2005). En effet, pour une reproduction réussie les plantes doivent avoir accumulé suffisamment de biomasse pour pouvoir produire les graines en période sèche. Des modèles ont montré que des espèces provenant de sites à climat changeant et imprévisible fleurissent plus vite que celles provenant de régions stables. Si l'aridité est considérée comme une mesure imprévisible de l'environnement, nous déduisons que les plantes issues des régions dont les saisons de croissance sont courtes fleurissent plus tôt que les plantes issues des régions à longue saison de croissance (Cohen, 1976 *in* Nichols, 2005). Ces résultats sont effectivement en concordance avec les résultats que nous venons de présenter au niveau de la figure des corrélations et de la matrice des corrélations entre les différentes variables quantitatives. En effet, malgré la faiblesse des coefficients de corrélations, on retrouve que les coefficients de corrélation entre la variable temps d'apparition de la première fleur et les facteurs du milieu (longitude et latitude) sont tous deux significatifs à 5 % à l'exception des coefficients qui existent avec les variables altitude et pluviométrie, qui ne sont pas significatifs. La faiblesse des coefficients de corrélation s'explique notamment par le fait que nous n'ayons pas choisi nos populations par rapport à un gradient bien clair (thermique ou autre), par la variabilité intra population soit inter génotypes qui existe et par l'effectif important que nous avons eu à étudier.

Des résultats similaires ou en contradiction avec les nôtres ont pu être relevés au niveau de la bibliographie. En effet, selon Ehrman et Cocks (1996, *in* Nichols, 2005), Issolah et Abdelguerfi, (1999) il existe une corrélation entre la pluviométrie et le temps d'apparition de la première fleur. Par ailleurs, selon Bounedjmate (1996), les régions à pluviométrie élevée sélectionnent des types de *M. truncatula* à floraison tardive.

Alors que, Yahiaoui et Abdelguerfi (1999) ont révélé l'absence de corrélation entre la pluviométrie et le temps d'apparition de la première fleur et que Smith *et al.* (1995), ont trouvé que le trèfle aggloméré *Trifolium glomeratum* L. n'est pas fortement corrélé à la pluviométrie annuelle des sites d'origine. Par ailleurs, selon Palmer (1972), les moyennes du temps de floraison des populations de *Trifolium arvense* varie très fortement mais sans corrélation claire avec le régime pluvial des régions d'origine, ou avec la capacité de rétention de l'eau des sols. La variabilité inter et intra population de la même espèce suffirait pour permettre une différence d'adaptation (*adaptive divergence*) aux différentes

conditions du milieu, mais le manque de différence d'adaptation noté serait dû à une faible pression de sélection sur le caractère et qui serait surmontable par le pool de gènes des populations étudiées. L'écart entre 300 et 1200 mm serait normalement un gradient suffisant pour révéler une corrélation entre le temps de floraison et les précipitations. Mais le cycle de vie court de la plante permet d'éviter ces pressions intra population et par là maintient la variabilité intra population.

D'autres résultats, tels que ceux d'Ovalle *et al.* (1993 in Del Pozo *et al.*, 1995) montrent que le temps de floraison chez *M. polymorpha* est fortement corrélé à la latitude avec un ($r^2 = 0,79$). Ce qui confirme les résultats que nous avons obtenus.

II.2.2. Autres caractères morphologiques

Notre étude a révélé des résultats mitigés concernant les corrélations des caractères biométriques avec les facteurs du milieu comme le montre la matrice des corrélations.

Néanmoins, nos résultats sont en partie en concordance avec ceux de Tirichine et Abdelguerfi (1995), qui trouvent que le nombre de graines/gousse, le nombre de tours de spires chez *M. orbicularis* est corrélé avec les facteurs du milieu des sites d'origine. En effet, pour ces deux caractères nous ne trouvons de corrélations significatives qu'avec les facteurs longitude et altitude des sites d'origine.

Badri *et al.* (2007), pour leur part, ont également trouvé des corrélations entre les caractères quantitatifs et les facteurs écogéographiques des sites d'origine. Tout d'abord, *M. laciniata* a montré qu'il était plus corrélé à la texture du sol suivi des moyennes de pluies annuelles, enfin de l'altitude, tandis que pour *M. truncatula* c'est la moyenne des pluies annuelles qui arrivent en première position, suivie de l'altitude, de la matière organique et de la texture. Le résultat des corrélations entre *M. truncatula* et les facteurs écogéographiques montre un degré de plasticité phénotypique élevé de l'espèce. Par ailleurs, les corrélations significatives entre les caractères quantitatifs et les facteurs de l'environnement se justifient par une sélection hétérogène au niveau des différents sites.

II.3. Appartenance aux différentes variétés botaniques

Le test logique que nous avons effectué afin de classer les gousses étudiées en fonction des différentes variétés botaniques décrites par Heyn, (1963), Urban (1873, in Lesins et Lesins, 1979), ont révélé un nombre important de gousses que nous avons nommé « variétés intermédiaires » car elles ne correspondent pas tout à fait à la classification faite par les auteurs que nous venons de citer.

Toutefois, il serait bon de renouveler les tests sur plusieurs générations, multiplier les tests ADN afin de confirmer la présence réelle de nouvelles variétés non décrites jusqu'à présent.

III. Etude de la diversité

Selon Damerval (1983), les caractères nombre de spires, longueur de la graine, largeur de celle-ci (largeur totale, largeur au hile), nombre de graines par gousse sont des caractères polygéniques et concernent des niveaux phénotypiques complexes accessibles aux influences du milieu, ainsi qu'à la

sélection. De ce fait, ils peuvent très bien fournir des indications sur la diversité des milieux colonisés et sur les pressions de sélection auxquelles sont soumis les individus étudiés.

III.1. Variabilité interpopulation (intra espèce)

Toutes les analyses effectuées, au cours de cette partie morphologique, ont révélé la présence d'une variabilité inter population. A commencer par l'analyse de variance, les box plot, l'ACP et l'ACM. De fait, toutes révèlent une richesse au niveau de notre patrimoine phytogénétique.

Ces résultats ne sont pas étonnants puisque nous travaillons sur plus de 70 populations naturelles issues de tous les étages bioclimatiques et s'étalant sur tout le Nord de l'Algérie.

Langlet (1959 *in* Nichols, 2005) et Quinn (1987 *in* Nichols, 2005), ont révélé que lorsque des habitats sont aux extrémités de la résistance de l'espèce, ils produisaient des différences avec un continuum de variations entre les extrémités. Barbour *et al.* (1999 *in* Nichols, 2005) ont appelé la variation graduelle en fonction de la distance, variation écoclinale.

Ehrman et Cocks (1990 *in* Nichols, 2005) et Ehrman et Cocks (1996 *in* Nichols, 2005) ont trouvé une variation chez 89 légumineuses annuelles suivant un gradient d'aridité en Syrie, cette variation a été observée sur les caractères temps d'apparition de la première fleur, le nombre de graines par gousse, la taille des graines et sur le niveau de dormance.

Les variations liées aux écotypes ont été relevées chez plusieurs espèces fourragères méditerranéennes, comme chez *Trifolium subterraneum* (Piano *et al.*, 1993, 1996 *in* Nichols, 2005), *T. glomeratum* (Benett, 1997 *in* Nichols, 2005), *T. tomentosum* (Benett, 1998 *in* Nichols, 2005).

Selon Benett et Richardson (1986 *in* Nichols, 2005), il y a deux mécanismes par lesquels les espèces colonisatrices peuvent s'adapter à différents environnements, la plasticité phénotypique et la variation génétique. Le 1^{er} décrit la production de différents phénotypes par le même génotype en fonction de l'environnement sur lequel l'espèce pousse. Toutefois, la plasticité phénotypique a des limites et elle ne peut aller au-delà d'un certain intervalle de milieux (Clegg et Brown, 1983 *in* Nichols, 2005).

Par contre la variation génétique procure une plus grande opportunité pour l'adaptation à de nouvelles et vastes étendues d'environnements. La variation génétique est le fruit de la sélection naturelle, agissant sur les différents écotypes sélectionnés sur leurs habitats d'origine par l'évolution de ces derniers vers de nouveaux génotypes.

Lorsque la variation génétique des populations fondatrices est limitée ou absente nous parlons d'effet génétique Bottleneck (Nichols, 2005). Lorsque nous sommes face à une telle situation l'étendue de la différenciation des écotypes et l'évolution de nouveaux écotypes restent limitées (Benett, 1988 *in* Nichols, 2005 ; Warwick, 1990 *in* Nichols, 2005 ; Thompson 1999 *in* Nichols, 2005).

L'autofécondation tend à accroître l'effet Bottleneck, tandis que l'allofécondation tend au contraire à accroître la diversité génétique (Benett, 1988 *in* Nichols, 2005 ; Warwick, 1990 *in* Nichols, 2005). La plupart des autogames ne sont pas vraiment des cleistogames. Assez de croisements peuvent se

produire chez les autogames (Nichols, 2005). Nous citerons *Trifolium subteraneum* avec un taux de croisement 0.15% (Marshall et Broue, 1973 in Nichols, 2005). *Avena barbara* avec 2 % (Allard, 1975 in Nichols, 2005).

Allard (1975 in Nichols, 2005) a émis un postulat selon lequel les faibles niveaux de croisements sont cruciaux pour la naturalisation des espèces. Puisque les croisements créent de la diversité génétique sur laquelle la sélection naturelle agit. L'adaptation des génotypes est ensuite consolidée par l'autogamie des espèces.

De plus, l'autogamie agit comme barrière de flux génétique entre populations voisines présentes dans différents habitats. De ce fait, les gènes favorables peuvent être maintenus dans ces cas.

Selon Bennett (1999 in Nichols, 2005), des habitats variables sont nécessaires pour le maintien de la diversité génétique chez les autogames. Mais la variabilité des habitats est réduite aux limites de destruction des espèces (Venable et Brown, 1988 in Nichols, 2005).

Des études utilisant les différentes techniques de marquage (isozymes, ADN) ont révélé que la variation des espèces autogames était essentiellement due aux variations entre sites alors que celle des allogames pouvait contenir une certaine variation au niveau du même site (Andrews *et al.*, 1998 in Nichols, 2005 ; Pakniat *et al.*, 1997 in Nichols, 2005). Cependant, Bennett et Mathews (2003 in Nichols, 2005) ont trouvé un niveau élevé de variation intra population aussi bien chez les autogames que chez les allogames des espèces de *Trifolium*.

III.2. Variabilité intra population

Comme pour l'analyse inter population, l'analyse intra population a pu être révélée et confirmée par tous les tests statistiques, que nous avons effectués.

La variabilité intra population peut avoir plusieurs origines :

Selon Piano (1984 in Nichols, 2005), Piano *et al.* (1993 in Nichols, 2005), la variabilité intra population chez les populations italiennes de *Trifolium subteraneum* est une réponse adaptative à des microniches.

Les régions dont les températures et la pluviométrie sont favorables au développement d'une espèce connaissent également un taux de diversité intra population élevé.

De plus, la dureté des semences maintiendrait des générations qui ont existé précédemment dans le sol, les abeilles solitaires et autres insectes pollinisateurs jouent également un rôle dans le maintien de la variabilité intra population et dans la création d'individus hétérozygotes. Ajouté à cela, le rôle des mouvements de transhumances dans la création de la variabilité n'est plus à démontrer.

Chapitre III : Etude moléculaire

Après avoir étudié la diversité de nos populations sur le plan morphologique, et après avoir trouvé une variabilité certaine (variance THS) pour tous les caractères quantitatifs étudiés, nous avons voulu savoir à quoi pouvait être due cette variabilité ? Comme nous le savons l'expression du phénotype dépend du génotype, du milieu et de l'interaction des deux ($\sigma^2P = \sigma^2G + \sigma^2E + \sigma^2G \times E$), alors la question qui se pose est de savoir si cette variance du phénotype est due au génotype seul ? Ou bien si le milieu a la plus grosse part dans la variance totale ?

Par cette étude moléculaire nous avons également voulu savoir si on pouvait établir un lien entre certains facteurs éco-environnementaux du milieu d'origine, comme la pluviométrie et le relief et les différents génotypes ? Il a été aussi recherché l'existence ou pas de lien entre les génotypes et la classification de Heyn (1963).

Pour répondre à ces questions nous avons analysé les données de génotypage par marqueurs SSR de 137 plants (génotypes) appartenant à 69 populations. Pour le choix des marqueurs SSR nous nous sommes référés aux travaux de Lazrek *et al.* (2009), selon lesquels on pouvait avoir des marqueurs moléculaires, utilisés dans la cartographie génétique de *M. truncatula*, neutres et non neutres, en d'autres termes Lazrek *et al.* (2009) ont trouvé que certains marqueurs moléculaires pouvaient être liés à certains facteurs du milieu, comme l'altitude et la pluviométrie. Parmi les 9 marqueurs étudiés, il y a 4 marqueurs non neutres (MTIC503, MTIC511, MTIC535, MTIC559) et 5 marqueurs neutres (MTIC243, MTIC640, MTIC268, MTIC308 et MTIC563).

I. Etude des génotypes

I.1. Nombre d'allèles

I.1.1 Nombre d'allèles par locus

L'étude des 137 génotypes a révélé une différence entre locus au sein de l'effectif total (tab. 9). De fait, nous trouvons 16 allèles au niveau du locus 1, c'est le maximum observé, contre quatre allèles au niveau des locus 7 et 8. Nous avons donc en moyenne, un peu plus de 10 allèles/locus, soit un peu plus de 90 allèles différents notés sur les 9 locus étudiés. Donc le taux de locus polymorphes est de 100%. Ce résultat indique l'efficacité des locus microsatellites utilisés pour l'analyse de la diversité génétique des populations étudiées.

Tableau 9 : Tableau représentant le nombre d'allèles par locus

Locus	L1 MTIC559	L2 MTIC503	L3 MTIC511	L4 MTIC563	L5 MTIC640	L6 MTIC243	L7 MTIC268	L8 MTIC308	L9 MTIC535
Nombre d'allèles par locus	16	13	15	10	12	8	4	4	12

I.1.2. Nombre d'allèles par population

Le nombre total d'allèles par population pour l'ensemble des locus est représenté dans le tableau 10. Dès lors, on trouve en tête la population ALG236 avec 32 allèles, contre seulement 8 allèles pour la

population ALG460 et seulement 7 allèles pour la lignée F83005.5. On constate de fait une assez grande amplitude entre la population la plus riche et la plus pauvre.

Toutefois, ces résultats doivent être appréhendés avec prudence au regard du nombre d'observations par population qui est très variable (de 4 à 10). La richesse allélique d'une population, définie comme le nombre d'allèles présents à un locus donné, est connue pour dépendre de la taille de l'échantillon, puisque les chances de découvrir un nouvel allèle augmentent chaque fois qu'un nouvel individu est observé (Foulley et Ollivier, 2006).

Tableau 10 : Tableau représentant le nombre d'allèles par population (entre parenthèses, le nombre d'individus étudiés par population)

Populations	ALG 202 (1)	ALG 206 (2)	ALG 212 (1)	ALG 214 (3)	ALG 215 (1)	ALG 219 (1)	ALG 222 (2)	ALG 223 (5)	ALG 225 (3)
Nombre d'allèles	14	20	14	24	17	13	20	22	25
Populations	ALG 226 (5)	ALG 230 (3)	ALG 232 (1)	ALG 234 (4)	ALG 236 (4)	ALG 238 (2)	ALG 251 (1)	ALG 252 (4)	ALG 253 (3)
Nombre d'allèles	27	24	10	27	32	18	14	19	15
Populations	ALG 255 (3)	ALG 257 (1)	ALG 265 (1)	ALG 266 (2)	ALG 294 (2)	ALG 298 (1)	ALG 299 (2)	ALG 300 (2)	ALG 303 (1)
Nombre d'allèles	16	10	13	16	15	13	21	16	9
Populations	ALG 308 (1)	ALG 310 (3)	ALG 311 (1)	ALG 315 (1)	ALG 320 (2)	ALG 327 (1)	ALG 331 (5)	ALG 332 (1)	ALG 333 (1)
Nombre d'allèles	9	18	10	10	17	12	27	12	12
Populations	ALG 334 (1)	ALG 348 (1)	ALG 400 (1)	ALG 402 (1)	ALG 404 (1)	ALG 405 (3)	ALG 408 (3)	ALG 410 (1)	ALG 412 (3)
Nombre d'allèles	12	12	12	12	13	24	17	14	20
Populations	ALG 418 (2)	ALG 423 (1)	ALG 429 (2)	ALG 431 (3)	ALG 432 (1)	ALG 433 (1)	ALG 434 (1)	ALG 436 (1)	ALG 437 (1)
Nombre d'allèles	18	11	16	17	9	11	13	10	12
Populations	ALG 438 (1)	ALG 439 (4)	ALG 440 (1)	ALG 441 (1)	ALG 443 (3)	ALG 444 (3)	ALG 448 (1)	ALG 449 (2)	ALG 452 (2)
Nombre d'allèles	13	21	10	10	18	25	10	17	11
Populations	ALG 453 (1)	ALG 454 (1)	ALG 456 (2)	ALG 460 (1)	ALG 462 (1)	ALG 466 (1)	DZA45-5 (1)	DZA 315-16 (1)	F83005-5 (1)
Nombre d'allèles	9	10	11	8	9	11	10	8	7
Populations	F83005-9 (1)	TN8-3 (1)	A20 (1)	A17(1)					
Nombre d'allèles	10	10	13	13					

I.2. Etude de l'hétérozygotie

L'étude de l'hétérozygotie observée (h_o) vs attendue (h_e) par locus a tout d'abord révélé que sur les 9 locus 7 connaissent une h_o inférieure à h_e , ce qui est normal puisque la plante est, selon les auteurs, autogame à 97 % voire 99 %. Toutefois, on notera que sur deux des locus étudiés l'hétérozygotie observée était supérieure à l'hétérozygotie attendue, en l'occurrence les locus 4 et 6 (voir tab. 11 et fig. 51). Il ressort de notre étude pour l'ensemble des locus une hétérozygotie moyenne observée (h_o) de 0,45 inférieure à celle de l'hétérozygotie moyenne attendue (h_e) qui est de 0,74.

Tableau 11 : Hétérozygotie observée vs Hétérozygotie attendue

Locus	L1 MTIC559	L2 MTIC503	L3 MTIC511	L4 MTIC563	L5 MTIC640	L6 MTIC243	L7 MTIC268	L8 MTIC308	L9 MTIC535
Ho	0.2932331	0.2881356	0.5625000	0.9210526	0.1551724	0.7923077	0.2436975	0.1102362	0.6747967
He	0.7722313	0.8706909	0.8999634	0.8090182	0.8893059	0.6076627	0.6113975	0.3971418	0.8165444

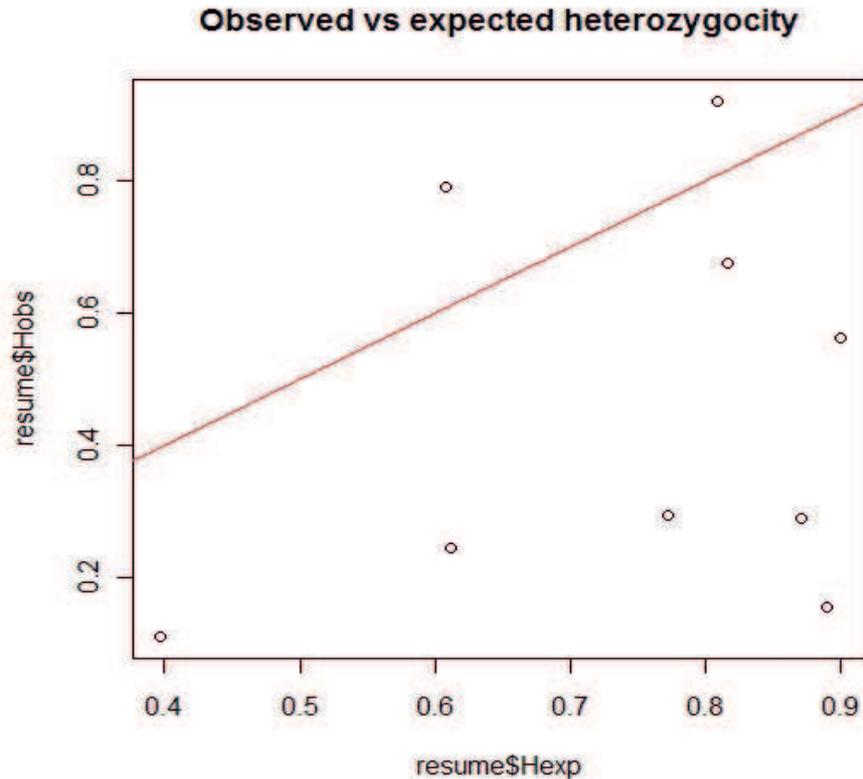


Figure 51 : Schéma de l'hétérozygotie observée vs attendue

I.2.1. Significativité de la différence entre h_e et h_o

Une question qui se pose est de savoir si l'hétérozygotie observée est inférieure à l'hétérozygotie attendue. Pour y répondre il faut d'abord tester l'homogénéité des variances par le test de Bartlett, ensuite voir par le test t apparié, si h_e est statistiquement différent de h_o .

a. Test de Bartlett's

A partir de ce test nous pouvons dire que les variances de h_o et h_e sont hétérogènes (tab. 12).

Tableau 12 : Résultat du test de bartlett

Test de Bartlett's K-carré	ddl	Valeur de p
2.2392	1	0,1345

b. Test t apparié

Il existe une réelle différence entre h_e et h_o et la moyenne de ces différences est égale à 0,29, elle est donc supérieure à zéro, il faut donc vérifier si ces moyennes sont statistiquement différentes. Ce résultat est normal car la plante est autogame (tab. 13)

Tableau 13 : Résultat du test t apparié

Valeur de t	ddl	Valeur de p
2.894	8	0,01004

II. Mesure et test de la structure des populations

Le tableau 14 nous donne les trois indices F statistiques F_{st} (pop/total), F_{it} (Ind/total) et F_{is} (ind/pop) dont les valeurs respectives sont de 0.29, 0.40 et de 0,16.

Tout d'abord, la valeur du F_{st} est très importante puisqu'elle dépasse le seuil de 0.25. Ce qui nous permettrait dans un premier temps de dire qu'il y a une forte structuration entre les différentes populations étudiées. Il reste quand même à confirmer cela par le test de Monte-Carlo.

La valeur $F_{st} = 0,29$ détermine que 71 % de la variabilité génétique totale est expliquée par la variation intra population et que 29 % de cette variabilité est attribuée aux différences entre populations de l'espèce.

La valeur du F_{it} semble élevée également, la valeur de F_{it} indique un déficit global d'hétérozygotes de 40 %, en tenant compte de l'ensemble des populations étudiées. Ce qui nous permet de dire qu'il y a un nombre restreint d'hétérozygotes observés comparé à l'hétérozygotie attendue au niveau de la population théorique.

L'Indice de fixation (F_{is}) est la mesure de l'écart entre la population d'individus trouvés à l'état hétérozygote (h_o) et l'hétérozygote attendu (h_e). La valeur du F_{is} nous indique que le coefficient de consanguinité est de 16%. Il y a également une bonne corrélation entre les génotypes et les individus au sein d'une même population du fait que la valeur n'est pas très élevée, il reste tout de même un déficit en hétérozygotie au niveau des sous populations.

Tableau 14 : Tableau des indices des F statiques pour tous les marqueurs confondus

	Pop	Ind
Total	0.2891918	0.3999424
Pop	0.0000000	0.1558094

II.1. Test de la structure entre populations

Par le test de Monte-Carlo nous allons voir si la structure entre populations est significative, un test de G_{stat} est effectué dans lequel des simulations aléatoires qui sont au nombre de 99 sont implémentées.

Le nombre d'observations pour le test est de 3341 situées à l'extrémité de l'histogramme (fig.52) et la valeur de p simulé est de 0.01. Nous pouvons conclure qu'il y a une structure significative entre nos populations.

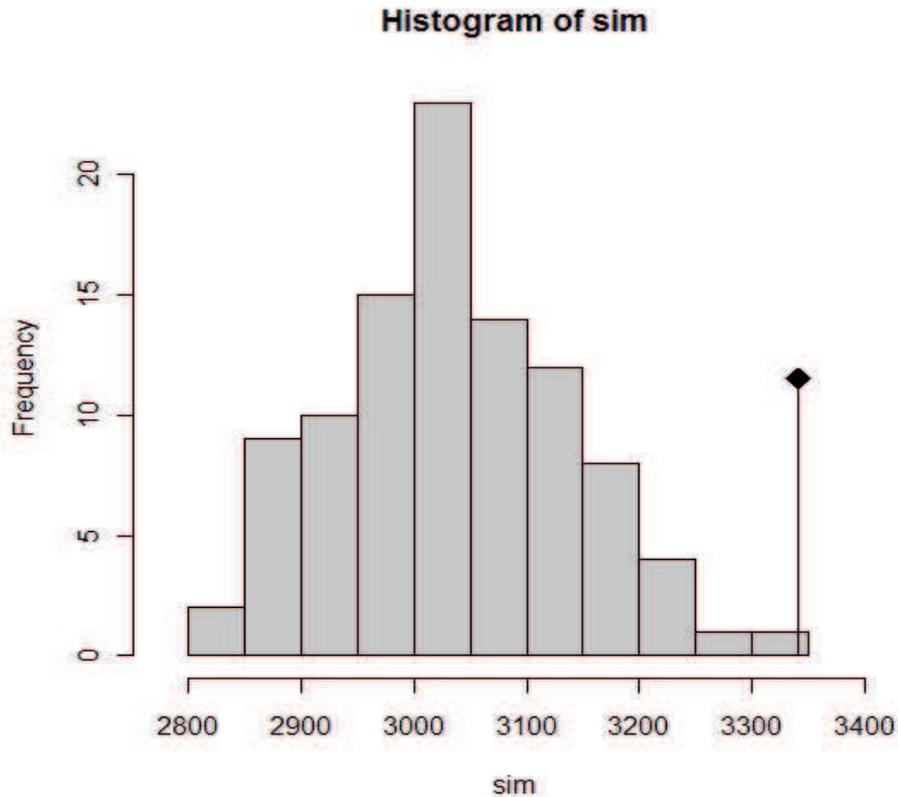


Figure 52 : Histogramme des simulations représentant la structure entre populations

II.2. Test des permutations

Il est effectué 1000 permutations pour vérifier s'il existe une variance intra population et inter populations, par locus et tous les locus confondus. Le résultat qui ressort de ce test, c'est qu'il n'existe pas de variance intra population significative puisque la valeur de p est égale à 1, mais qu'il existe bien des variances inter populations significatives voire très hautement significatives (tab. 15)

Le test des permutations nous a également permis d'étudier la structure entre populations (F_{st}), au sein de la population (F_{is}) et le déficit en hétérozygotie entre individus et populations théoriques (F_{it}), par locus et de manière globale (tab. 16).

On constate donc que le L5 est le locus le plus diversifié avec un F_{st} de 0,46, tandis que le L6 est celui qui est le moins diversifié, c'est-à-dire que les populations y sont le moins différenciées.

On notera également, que les F_{st} de chaque locus ont tous un degré de diversification modéré (L6) à important (L4, L8) voire très important (le reste des locus étudiés).

Pour ce qui est de l'indice F_{it} , nous pouvons dire qu'à l'exception des locus 4 et 6 qui connaissent un excédent en hétérozygotes observé par rapport à l'hétérozygotie globale (valeurs négatives) de la population théorique (effet d'outbreeding), le reste des locus connaissent une hétérozygotie attendue supérieure à l'hétérozygotie observée.

Enfin, pour ce qui est de l'indice Fis, il nous permet de voir qu'il y a en effet un excès d'hétérozygotes au niveau des populations à deux locus (L4 et L6), en raison des valeurs négatives des Fis au niveau de ces derniers. Par ailleurs, il nous permet de dire que pour le reste des locus l'hétérozygotie attendue dans une population est supérieure à l'hétérozygotie observée dans la même population.

Tableau 15 : Significativité de la variance inter et intra population locus par locus et tous les locus confondus après test des permutations

	Global	L1 MTIC559	L2 MTIC503	L3 MTIC511	L4 MTIC563	L5 MTIC640	L6 MTIC243	L7 MTIC268	L8 MTIC308	L9 MTIC535
Variance Intra-population	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Variance inter-population	0,003	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,003	0,001	0,038	0,001

Tableau 16 : tableau des indices des F statistiques par marqueurs après test des permutations

	Global	L1 MTIC559	L2 MTIC503	L3 MTIC511	L4 MTIC563	L5 MTIC640	L6 MTIC243	L7 MTIC268	L8 MTIC308	L9 MTIC535
Fst (pop/total)	0.29	0.42	0.28	0.29	0.17	0.46	0.11	0.36	0.23	0.21
Fit (ind/total)	0.40	0.62	0.67	0.38	-0.13	0.83	-0.30	0.60	0.73	0.18
Fis (ind/pop)	0.55	0.36	0.55	0.13	-0.36	0.68	-0.46	0.38	0.64	0.46

III. Etude des distances génétiques

A partir de la figure 53, on constate très clairement un nombre presque aussi important de groupes que de lignées. Néanmoins, entre les indices de dissimilarité 3 et 4 nous trouvons entre 3 et 4 groupes différents.

Comme pour la figure 53, la figure 54 laisse profiler 3 à 4 groupes scindant l'effectif étudié mais pas de manière très nette.

III.1. Projection des populations sur le plans 1 / 2 de l'ACP

A partir du plan 1 / 2 de l'ACP réalisée à partir des fréquences alléliques, il est difficile de voir des groupes se dessiner de manière nette, bien qu'il y ait entre 3 et 4 amas de populations qui semblent se profiler au niveau des quatre coins du plan.

Comme nous constatons également une assez grande diversité au sein des populations étudiées. En effet, la taille des ellipses nous rappelle les résultats obtenus au niveau de la partie morphologique (fig. 55).

III.2. Contribution des SSR à l'information contenue au niveau des axes

Il apparaît que ce sont les allèles 6 du locus 1 et les allèles 2 et 4 du locus 8, qui donnent le plus d'informations au niveau de l'axe F1 (fig. 56).

Tandis que pour l'axe F2, on constate que ce sont les allèles 1 et 3 du locus 7 qui contribuent le plus à l'information contenue au niveau de cet axe. (fig. 57).

III.3. Projection des lignées en fonction des variables supplémentaires

Lorsque nous projetons nos génotypes sur le plan 1/2 de l'ACP, en fonction des variables supplémentaires il nous est impossible de les répartir en fonction de ces dernières. En effet, les barycentres sont très proches du centre du plan. De plus, on constate que les différents groupes se superposent (fig.89, fig. 90 et fig. 91 en annexe 12).

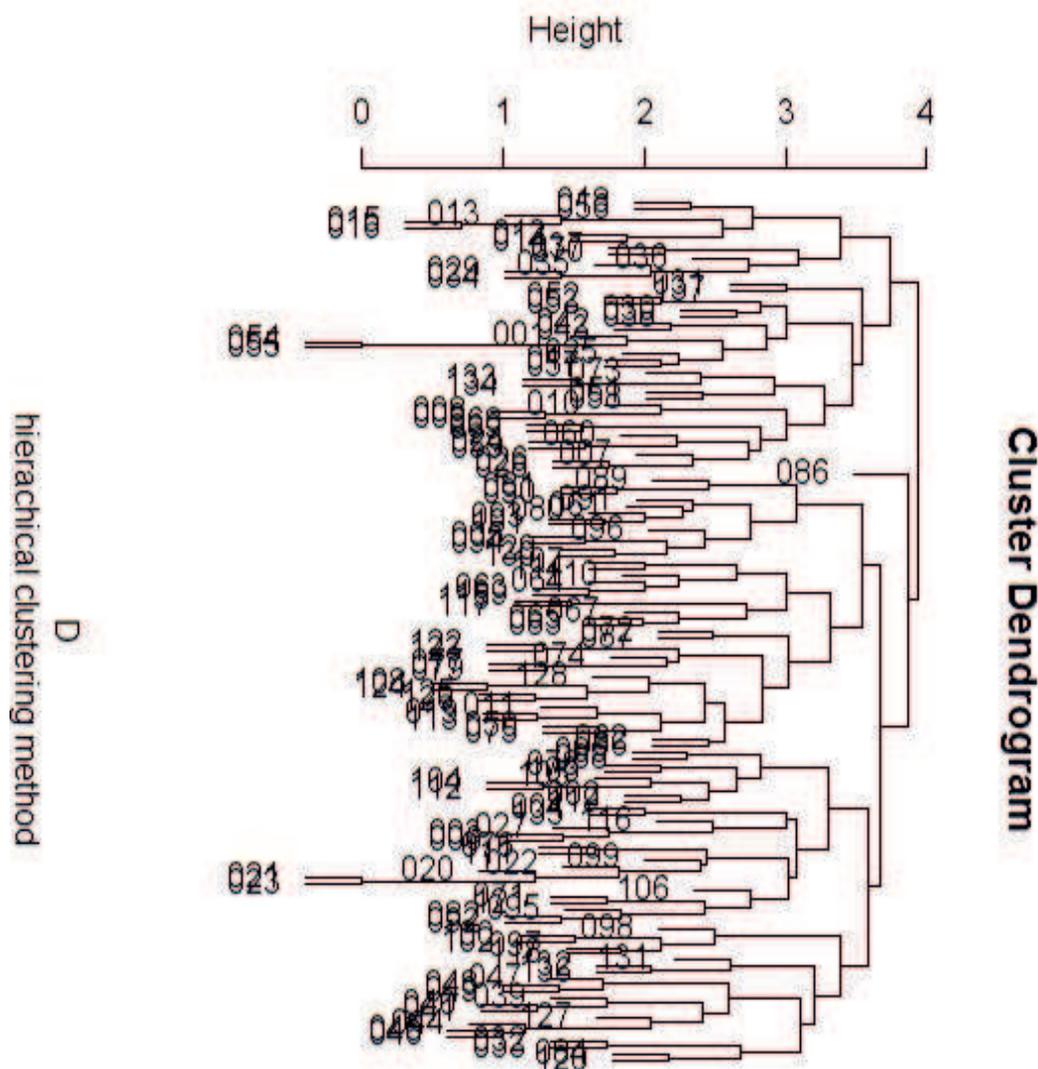


Figure 53 : Dendrogramme cluster de distances génétiques entre génotypes (méthode CAH)

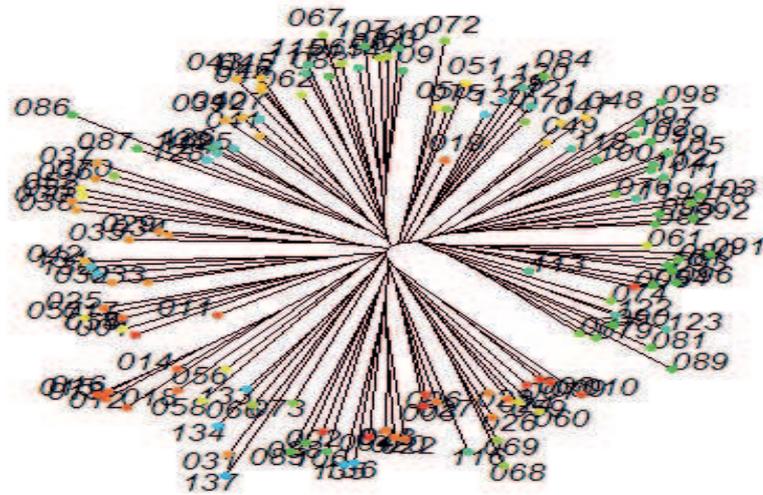


Figure 54 : Diagramme de distances génétiques selon NJ

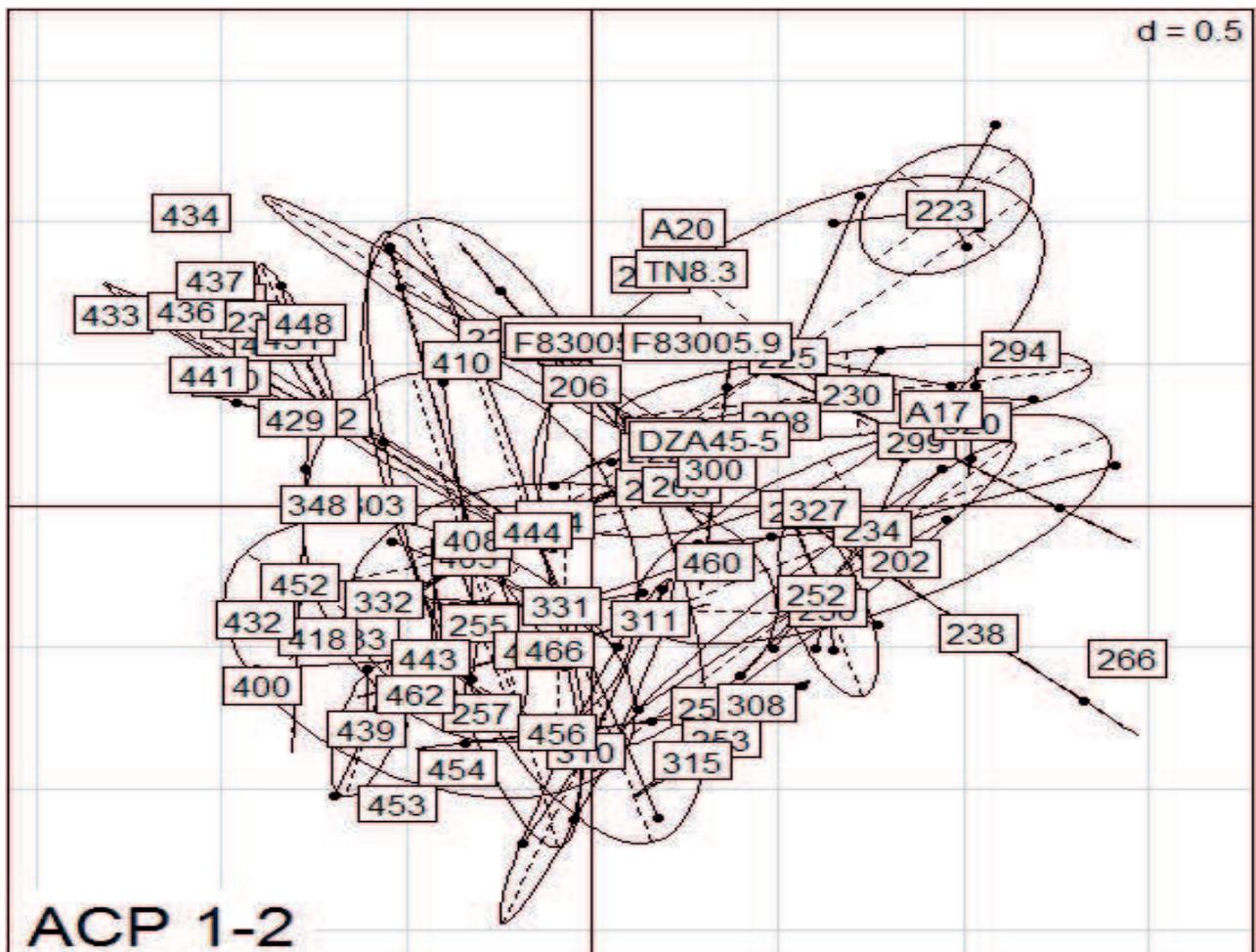


Figure 55 : Projection des populations sur les plans 1/2 de l'ACP

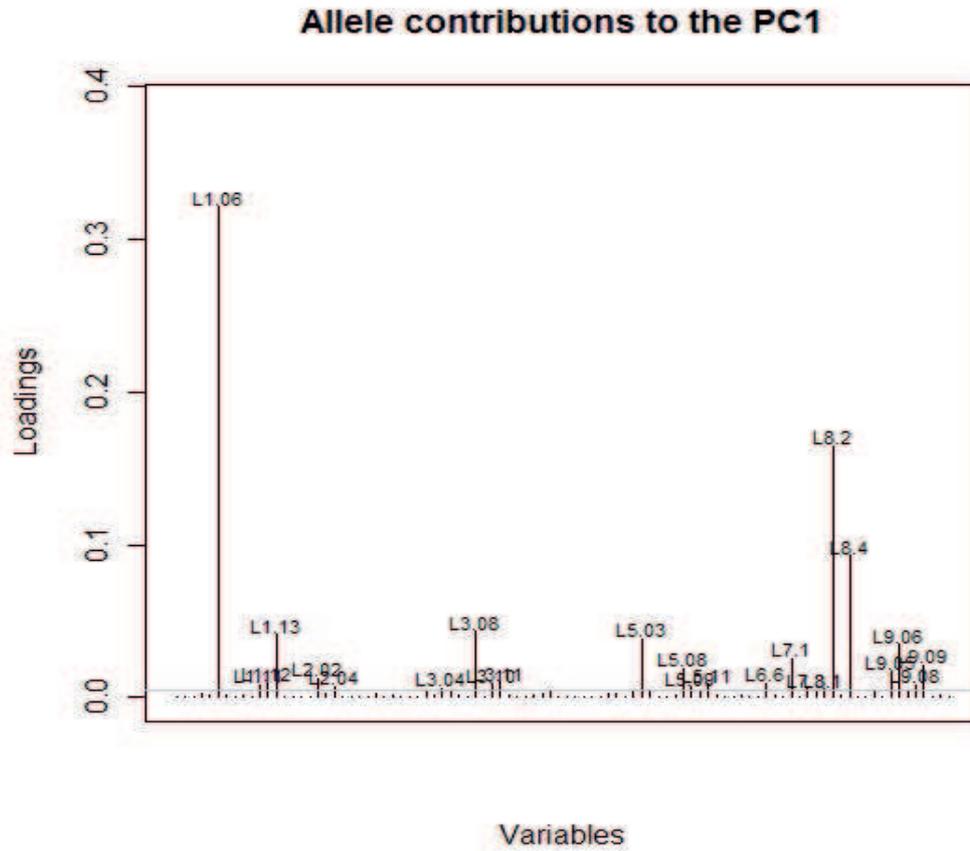


Figure 56 : Contribution des allèles dans l'information contenue au niveau de l'axe F1 de l'ACP

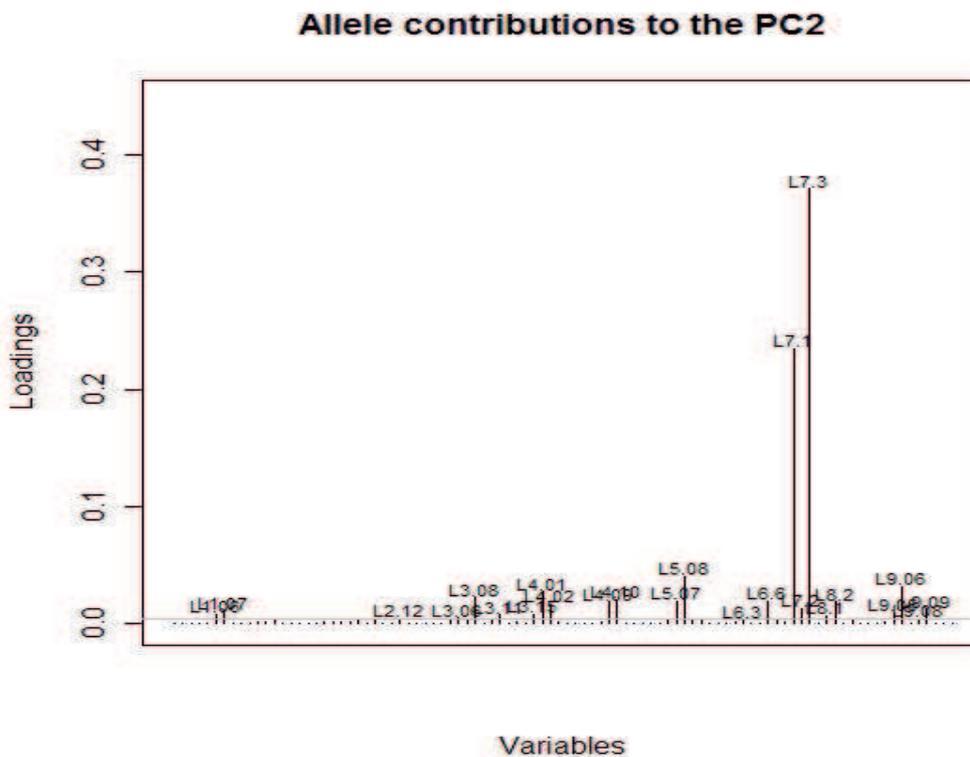


Figure 57 : Contribution des allèles dans l'information contenue au niveau de l'axe F2 de l'ACP

IV. Détermination du nombre de groupes optimal

La méthode BIC permet de déterminer un nombre optimal de groupes. En effet, le point le plus bas correspond au nombre de groupes optimal, c'est donc 6 groupes différents que nous devons former à partir de notre effectif. Le x présent sur la courbe représente le nombre actuel de grappes, nous pouvons dire donc que nous avons deux clusters (fig. 58).

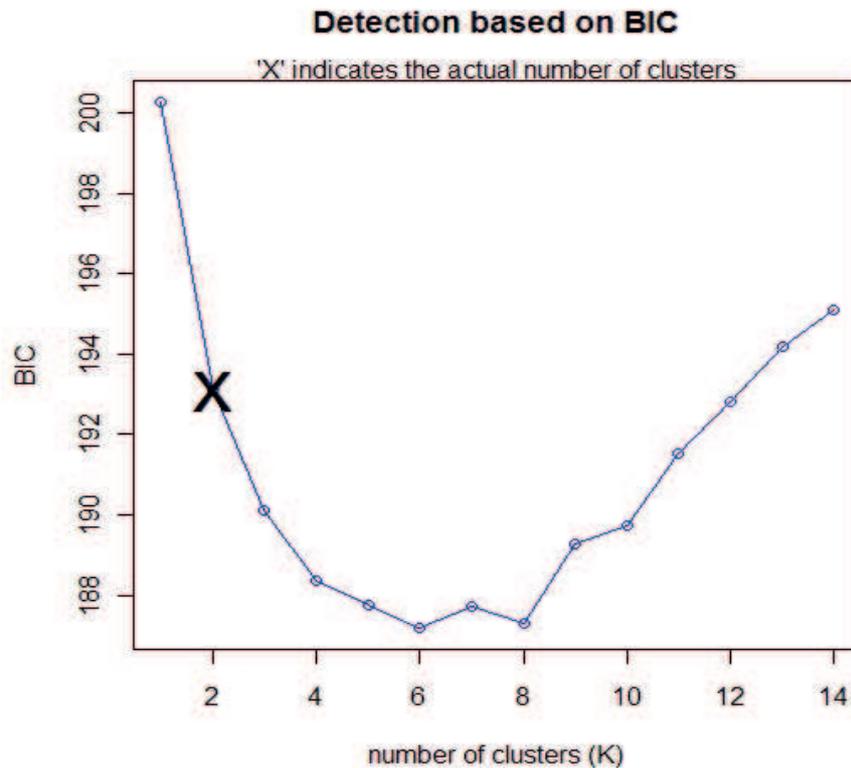


Figure 58 : Détermination du nombre optimal de groupes par la méthode BIC.

V. Visualisation de ces groupes

On remarque une meilleure répartition des génotypes composant notre effectif aussi bien sur le diagramme NJ (fig. 59), que sur le dendrogramme établi en fonction de la classification ascendante hiérarchique (fig. 60). Cette nouvelle distribution apparaît de manière plus nette également sur le plan 1/2 de l'ACP (fig. 61).

Par ailleurs, en raison du manque de répétitions par populations (33 populations dont le nombre de génotypes étudiés est égal à 1) il nous est difficile de voir la variabilité intra population. Néanmoins, sur les 16 populations étudiées dont le nombre de génotypes qui les composent est égal ou supérieur à trois 10 populations sont réparties sur plus de deux groupes (voir tab. 33 en annexe 12).

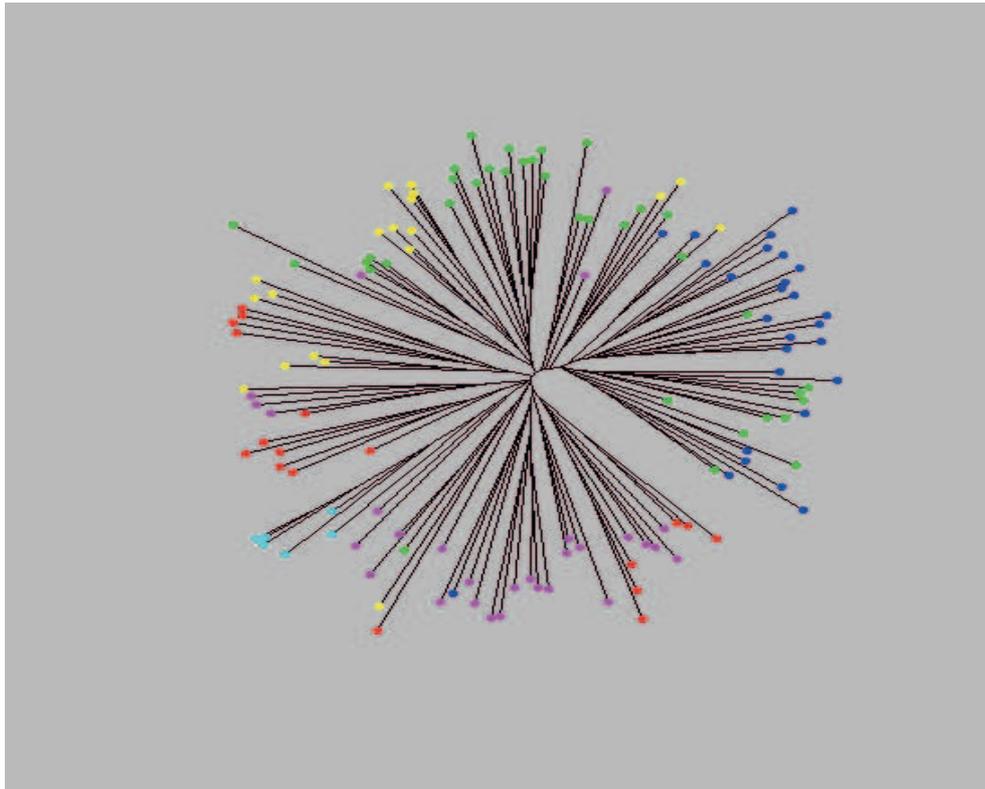


Figure 59 : Répartition des 6 groupes de Kmeans en fonction du diagramme NJ

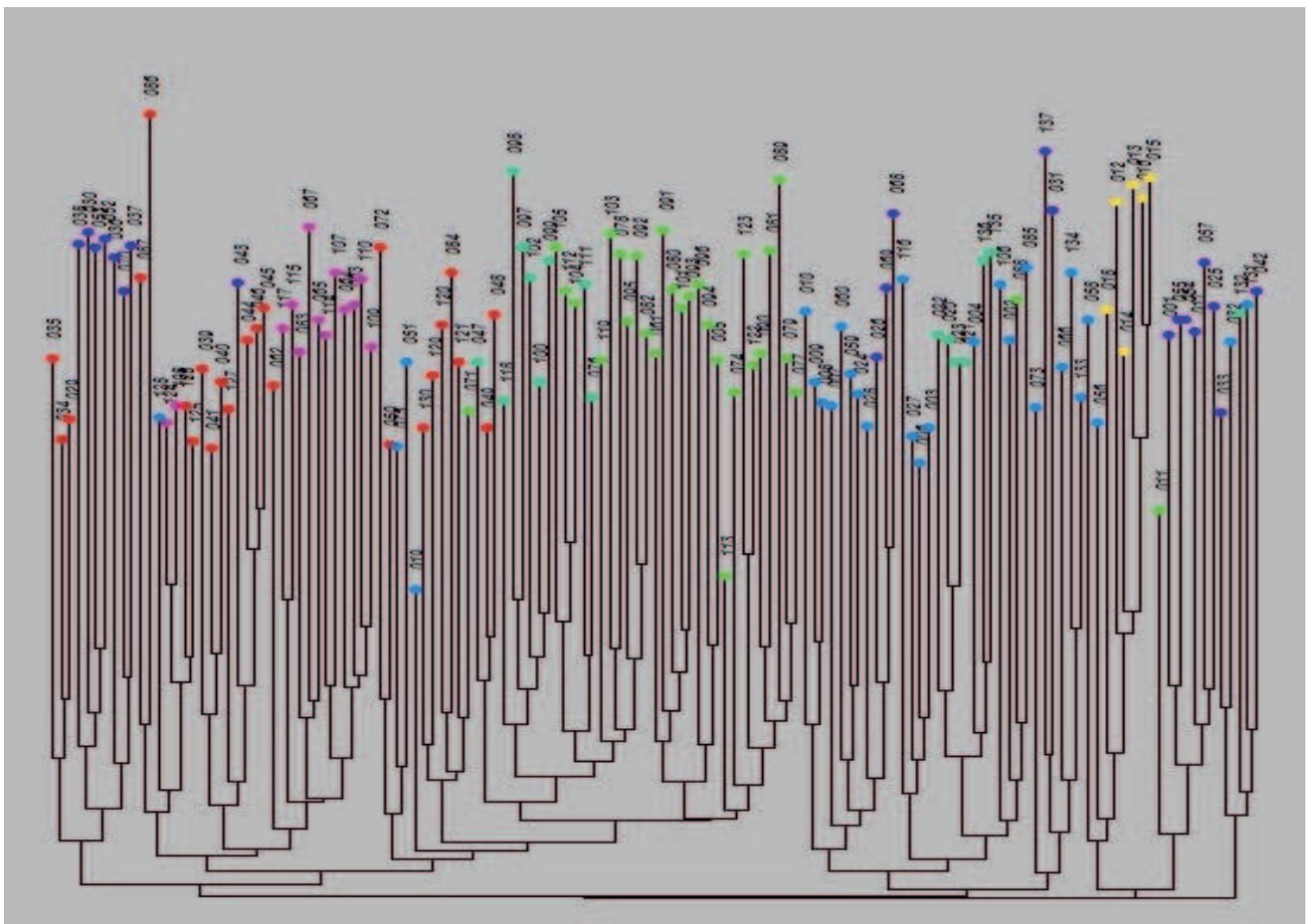


Figure 60 : Répartition des 6 groupes de Kmeans par la CAH

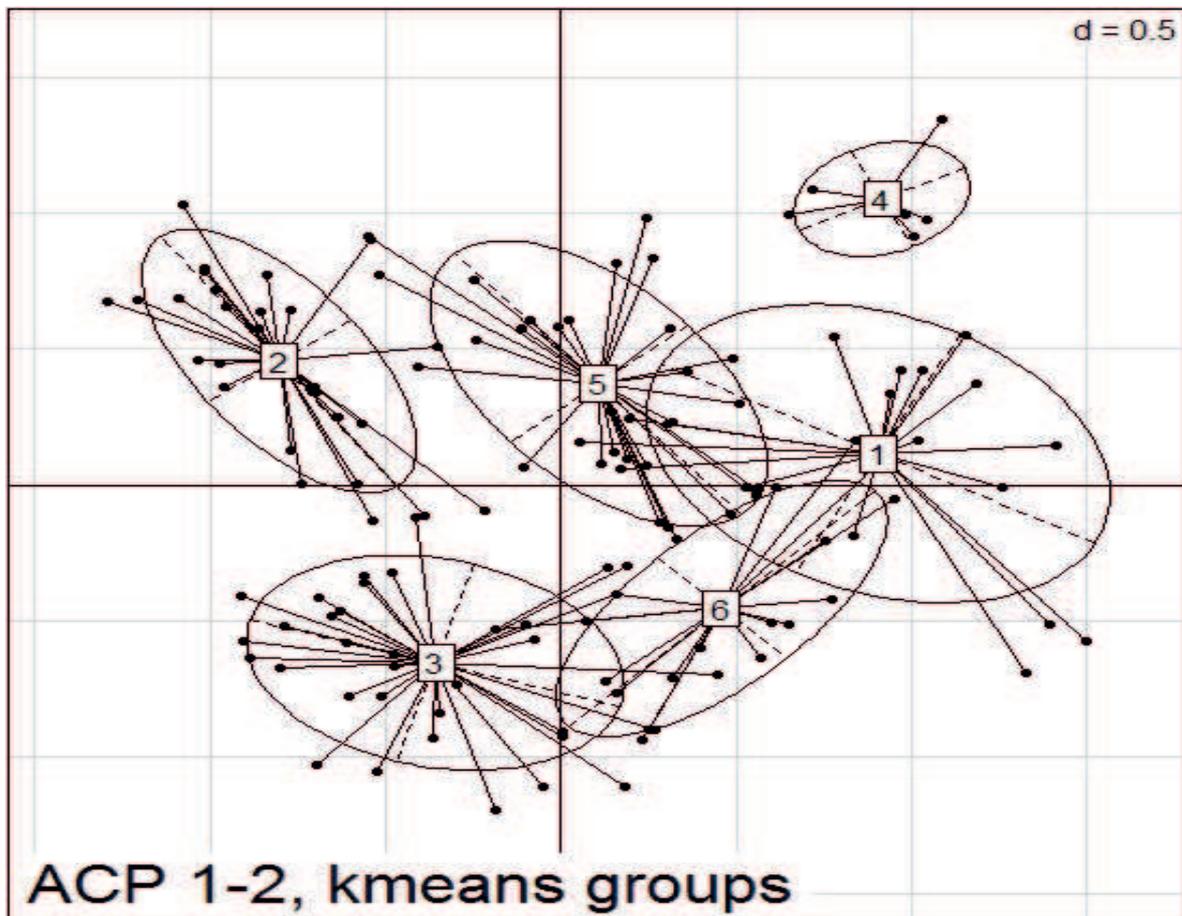


Figure 61 : Nouvelle répartition des populations en fonction des 6 groupes de Kmeans sur le plan 1 / 2

VI. Tables de liaison entre les 6 groupes de Kmeans et les variables supplémentaires

VI.1. Variable pluviométrie des sites d'origine

On constate de manière claire que deux de nos groupes en l'occurrence le groupe 2 et le groupe 6 sont liés respectivement à deux classes pluviométriques en l'occurrence les classes 600-800 mm et 400-600 mm. De plus, le lien existant entre le groupe 2 et la modalité 600-800 mm semble être fort (fig. 62).

VI.2. Variable relief des sites d'origine

De la même manière, on trouve cette fois-ci que les groupes 1, 2, 4 et 5, sont liés respectivement aux modalités de relief suivantes collines douces (pour le groupe 1 et 2), plaines de 0-300 m, hautes plaines 300-750 m et enfin la modalité Collines montagnes (fig. 63).

VI.3. Variable variétés Heyn (1963)

On arrive à trouver une liaison entre le groupe 2 et *M. truncatula* var. *truncatula* (fig. 64).

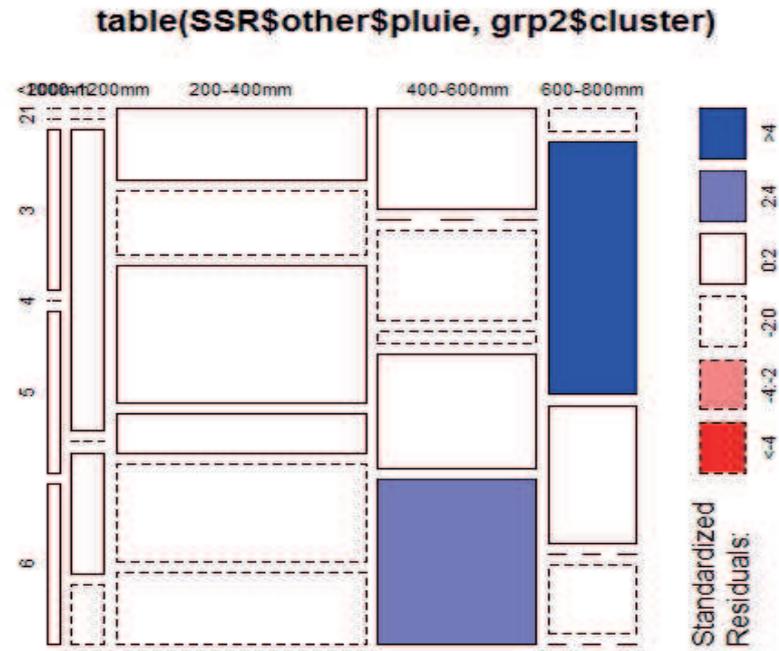


Figure 62 : Mosaic plot entre les 6 groupes de Kmeans et la pluviométrie

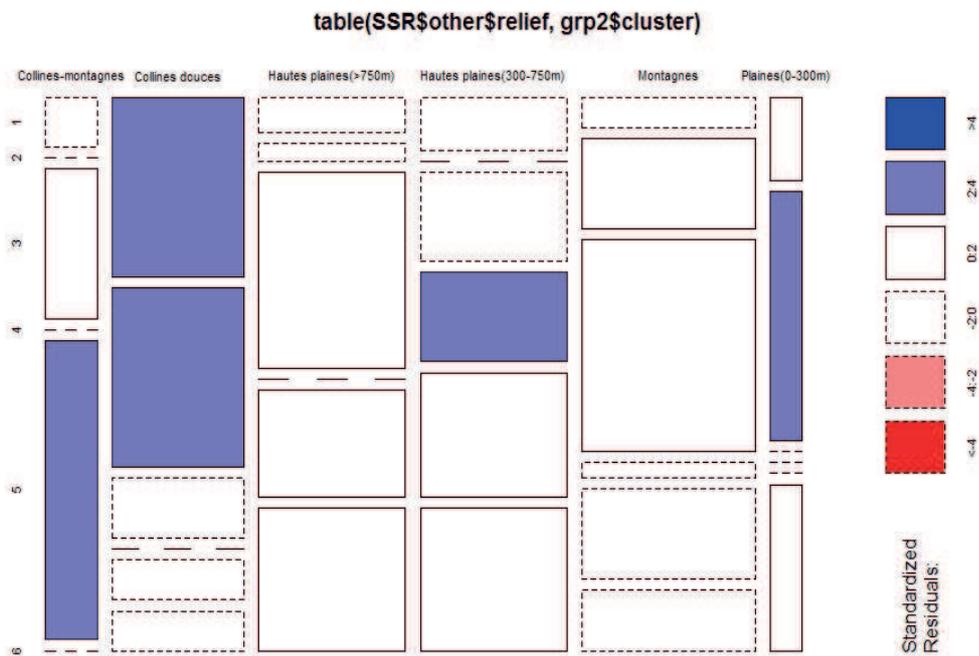


Figure 63 : Mosaic plot entre les 6 groupes des Kmeans avec le relief des sites d'origine

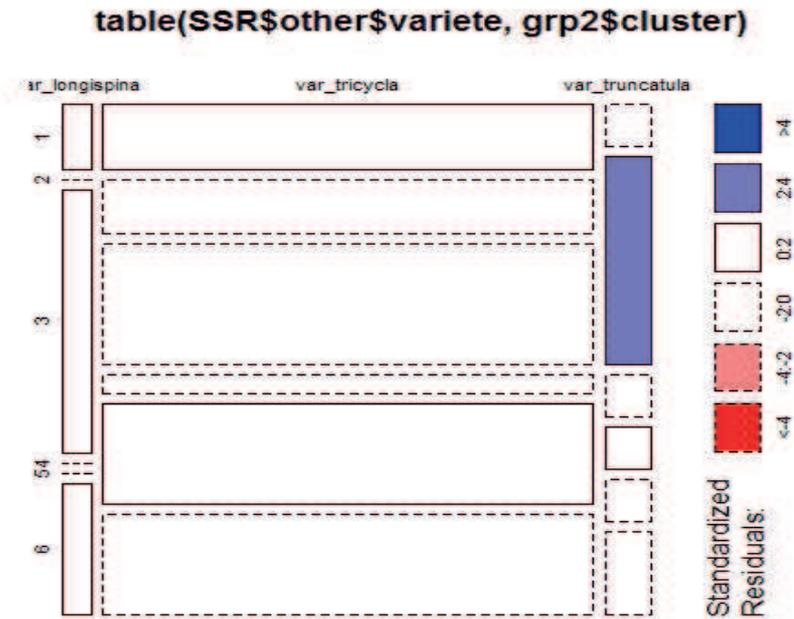


Figure 64 : Mosaic plot entre les 6 groupes des Kmeans avec les variétés botaniques de Heyn (1963)

VII. Test de khi- 2

Le test de khi-2 effectué pour vérifier l'appartenance des variables supplémentaires aux 6 groupes définis par la méthode BIC a révélé que l'appartenance des deux modalités écologiques (pluviométrie) aux deux groupes n'était pas fortuite.

Ce test a révélé également que l'appartenance de la variété *truncatula* n'est pas significative

Toutefois, l'appartenance des modalités Relief aux différents groupes précédemment cités est due au hasard.

Tableau 17 : Test de khi- 2 pour vérifier l'appartenance des variables supplémentaires aux 6 groupes de Kmeans

Variables supplémentaires	Khi-2	ddl	Valeur de p
Pluviométrie	51.0859	20	0.0001546
Relief	74.3621	25	8.489e-07
Variétés Heyn (1963)	16.6072	10	0.08352

Chapitre IV : Discussion de l'étude moléculaire

I. Nombre d'allèles

Au cours de notre analyse des 9 microsatellites on a trouvé 94 allèles, ce qui démontre une richesse allélique, qui est d'ailleurs supérieure à celle trouvée par Badri *et al.* (2007) qui a observé 68 allèles sur les 20 microsatellites testés chez *M. truncatula*. Nous avons donc en moyenne, un peu plus de 10 allèles/locus. Ronfort *et al.* (2006) ont obtenu une richesse allélique supérieure de 10,7 allèles. Toutefois, le nombre d'allèles chute à 5,8 lorsque les allèles rares sont supprimés.

II. Discussion de l'étude de l'hétérozygotie

Notre étude a révélé un indice d'hétérozygotie attendue « He » de 0,74. Ce résultat révèle une variabilité intra population élevée. Par ailleurs, ce résultat est supérieur à celui obtenu par Ronfort *et al.* (2006). En effet, ces derniers trouvent que la variabilité intra population est très élevée chez *M. truncatula*, en utilisant des marqueurs RAPD ils trouvent un indice d'hétérozygotie attendue « He » compris entre 0.10 et 0.24, alors qu'avec les microsatellites l'indice augmente pour avoisiner les 0.48. Toutefois, l'étude de Badri *et al.* (2007), n'a révélé aucun génotype hétérozygote (« ho » égale à 0), chez *M. truncatula*. Ces résultats sont en contradiction avec les nôtres. En effet, nous trouvons un « ho » moyen de 0.45. Toujours selon Badri *et al.* (2007), l'absence d'hétérozygotes est due à l'autofécondation (fixation complète) de la plante et même si un croisement entre deux individus se produit il s'annule au bout de deux à trois générations. L'effet de consanguinité (d'inbreeding) réduit la taille des populations et par conséquent il augmente l'effet de la dérive génétique.

Notre étude a révélé un excès d'hétérozygotes sur deux marqueurs qui est dû, plus probablement à des croisements entre individus appartenant à la même population ou à des populations très adjacentes. Selon Ronfort *et al.* (2005) les flux de gènes résultent de la pollinisation, de la dispersion des graines, éventuellement, de la dispersion de propagules ou d'organes végétatifs. Et suivant le facteur génétique ou écologique les indices de diversité intra population et de différenciation entre populations sont donnés (tab. 37 en annexe 12).

Par ailleurs, Ronfort *et al.* (2006) ont trouvé que la diversité génétique (he) est égale à 0,75. Des hétérozygotes ont été observés pour chaque locus étudié (ho>0), ce qui est en concordance avec les résultats que nous avons obtenus.

De plus, Stenoien *et al.* (2005) ont trouvé chez deux populations d'*Arabidopsis thaliana* norvégiennes, parmi les dix étudiées, des individus hétérozygotes. Ces résultats obtenus ne sont pas les premiers à montrer une variabilité intra population pour les marqueurs microsatellites. En effet, Berge *et al.* (1998 in Stenoien *et al.*, 2005) ont trouvé par exemple un niveau élevé de variabilité intra population des isozymes chez une population d'*A. thaliana*. D'autres études ont révélé des niveaux de variabilité élevés chez différentes espèces autogames Schoen et Brown (1991 in Stenoien *et al.*, 2005).

Néanmoins, l'indice ($h_e = 0,06$) qu'ont obtenu Stenoien *et al.* (2005), est selon eux un indice de la diversité génétique qui est relativement élevée pour une plante autogame. Il est bien en deçà de celui, que nous avons obtenu. Nous, pouvons expliquer cela par le fait que le nombre de populations qu'ils ont étudié est nettement plus faible que le nôtre (10 populations).

Notre étude a révélé un indice de diversité intra population par locus « h_e » compris entre 0.4 et 0.9. Cela révèle une assez grande variabilité entre locus, la valeur de « h_e » passant du simple au double. Toutefois, mis à part le L8 dont la valeur est en deçà des valeurs de « h_e » obtenues par Siol *et al.* (2008) (h_e compris entre 0,5 et 0,63) les valeurs que nous avons relevées sont égales pour le L6 et L7 et supérieures pour le reste des locus.

III. Discussion des Fstatistiques

Les indices F_{st} , F_{it} , varient d'un marqueur à l'autre, comme le montre le test des permutations (tab. 17). A partir de l'ensemble des locus les indices F_{st} , F_{it} , F_{is} (sur la population totale) sont respectivement de 0.29, 0.34 et de 0.16.

Nos résultats sont donc très proches de ceux de Chaulet (1995 *in* Bonin *et al.*, 1996), qui a obtenu pour les caractères moléculaires un F_{st} de 0,31 sur les populations algériennes de *Medicago truncatula* et un F_{st} de 0,35 pour les populations françaises et de ceux de Siol *et al.* (2008) qui ont trouvé un F_{st} compris entre 0,30 et 0,35 lorsque le nombre de sous populations de *M. truncatula* est élevé.

Par ailleurs, toujours concernant le F_{st} , nos résultats ne sont pas très éloignés de ceux obtenus par Bonin *et al.* (1996) et Ronfort *et al.* (2006) qui ont trouvé respectivement dans leurs travaux sur *M. truncatula* un F_{st} de 0.40 et de 0.39, dans le cas de Ronfort *et al.* (2006), les populations n'étaient éloignées que de 3 mètres.

Selon Chaulet (1995 *in* Bonin *et al.*, 1996), le F_{st} élevé chez les populations algériennes s'explique par tout d'abord la diversité d'habitats sur lequel les populations ont été collectées ensuite par la plus large superficie géographique étudiée. Ces résultats s'expliquent également, par l'autogamie de la plante. En effet, il y a plus de chance pour avoir des réponses corrélées à la sélection chez les autogames que chez les allogames, c'est pour cela qu'il est attendu de trouver une plus grande variation entre populations chez les autogames que chez les allogames suite à une sélection dirigée homogène Bonin *et al.* (1996).

Selon Badri *et al.* (2007), le F_{st} observé chez *M. laciniata* et *M. truncatula* est respectivement de 0,48 et 0,47. Ces résultats sont légèrement supérieurs aux nôtres et à ceux obtenus par Ronfort *et al.* (2006) et Bonin *et al.* (1996).

Toutefois, un résultat obtenu par Stenoien *et al.* (2005) a attiré notre attention. En effet, le F_{st} entre toutes les populations est égal à 0,88. Ce qui signifie que les populations sont suffisamment différenciées entre elles. Le fait que les F_{st} soient proches de 1 reflète la nature autogame de l'espèce. Les valeurs de F_{st} obtenues par Stenoien *et al.* (2005), sont deux fois plus élevées que les valeurs obtenues sur d'autres espèces autogames (Hamrick et Godt, 1989 *in* Stenoien *et al.*, 2005).

Pour ce qui est de l'indice de consanguinité F_{is} , de nombreux auteurs dans leurs travaux sur les autogames, ont obtenu des valeurs supérieures aux nôtres ($F_{is} = 0.16$ et de 0.55 après test de permutations). Tout d'abord, Stenoien *et al.* (2005) ont obtenu un F_{is} qui oscille entre $0,92$ et $0,97$. Ensuite, Bonin *et al.* (2001) ont également relevé un F_{is} de 95 à 97 % chez *M. truncatula*. Toutefois, ces résultats élevés s'expliquent par la faiblesse en nombre de l'effectif étudié par ces auteurs, 10 populations pour l'un et une population pour l'autre. De plus, Siol *et al.* (2008) indiquent que l'utilisation des SSR réduit la valeur du F_{is} .

IV. Etude de la variance intra population vs inter populations

Le test des permutations a révélé une variance intra population globale et marqueur par marqueur non significative, tandis que la variance inter populations est significative dans tous les cas de figure.

Ceci s'expliquerait, par le taux d'autogamie élevé des populations naturelles. Selon Siol *et al.* (2008), les populations naturelles françaises de *M. truncatula* connaissent un taux d'autogamie qui avoisine les 99% . Selon Pollak (1987) in Siol *et al.* (2008), l'autogamie réduit la variance intra population, car la consanguinité réduit l'efficacité des recombinaisons génétiques (Nordborg, 2000 in Siol *et al.*, 2008). De plus, l'autogamie augmente la variance inter populations en raison du faible taux de dispersion du pollen qui constitue l'un des facteurs les plus importants pour l'augmentation des flux géniques entre plantes. Des études sur les allozymes et les marqueurs moléculaires ont confirmé qu'un taux élevé d'autofécondation est associé à un faible taux de variation intra population et à un taux élevé de variation inter populations comparé aux espèces allogames (Hamrick et Godt, 1990 in Siol *et al.*, 2008 ; Schoenen et Brown, 1991 in Siol *et al.*, 2008).

Pour Siol *et al.* (2008), il existe un peu plus de variation de population à population au niveau de la diversité chez les espèces préférentiellement autogames que chez les espèces allogames. Ceci signifie que bien que le niveau de diversité génétique soit moyen à faible chez les espèces autogames, certaines populations peuvent receler un taux élevé de diversité génétique.

Bien que les flux de gènes entre plantes autogames soient rares, elles peuvent jouer un rôle dans l'organisation de la variation inter et intra population. Les hybrides issus de croisements entre différentes lignées peuvent se comporter de meilleure manière que leurs parents. En effet, l'hétérozygotie à un locus peut annuler l'expression de certains caractères récessifs voire délétères. De plus, les croisements suivis de plusieurs autofécondations peuvent donner naissance à des lignées recombinées affichant un large panel de nouveaux allèles recombinés entre locus (Siol *et al.*, 2008).

La variance intra population non significative, peut également trouver une explication dans le fait qu'un grand nombre de populations ne sont représentées que par un seul génotype (tab. 10).

V. Lien entre génotypes et variables supplémentaires

Les différentes tables de liaison (fig. 62, 63, 64) et le test du khi-2 effectués nous ont permis de voir d'une part, si le nombre de groupes optimal (06) permettait de regrouper les génotypes étudiés en fonction de trois variables supplémentaires, et d'autre part, si ces liens n'étaient pas seulement dus au simple fait du hasard.

V.1. Pluviométrie

On a trouvé un lien entre deux groupes et deux modalités, comme nous l'avons signalé auparavant. Toutefois, il semble que le lien existant entre le groupe 2 et la modalité 600-800 mm soit assez fort car le résidu standard est supérieur à 4. Ce qui selon nous expliquerait la significativité du test du khi-2 (tab. 17).

V.2. Relief

Par contre pour la variable Relief on a trouvé plus de deux groupes qui semblent liés à la variable relief du site d'origine. Néanmoins, le test du khi-2, ne s'est pas révélé significatif (tab. 18), car il semble que le groupe 2 contienne à un même niveau de résidu standard, deux modalités différentes (fig. 63).

V.3. variété selon Heyn (1963)

Enfin, pour ce qui est de la variable classification de *M. truncatula* selon Heyn (1963) et de son lien avec les groupes, on trouve cette fois-ci, que c'est la variété *truncatula* qui semble liée avec le groupe 2. Toutefois, le test de khi-2 a révélé que l'appartenance à ce groupe était fortuite.

Selon Ellwood *et al.* (2006) sur les 6 SSR testés, il n'existe pas de différences significatives entre *M. truncatula* var *longispina* et *M. truncatula* var *truncatula*, par contre la variété *tricycla* semble distincte des deux autres. De fait leur étude confirme le concept *M. truncatula* var *tricycla* (Heyn, 1963), mais pas celui de la variété *longispina*. Car le 1^{er} groupe se sépare bien au niveau de l'arbre NJ tandis que le second est éparpillé sur tout l'arbre. Ces auteurs ont donc supposé que la variété *longispina* était une variante de la variété *truncatula*.

Malheureusement, au stade de notre étude nous ne pouvons pas confirmer ou infirmer les résultats obtenus par Ellwood *et al.* (2006), car nous avons travaillé sur des populations dont la variance inter populations est importante aussi bien sur le plan morphologique que moléculaire et que la variance intra population est très élevée au point de vue morphologique.

Conclusion

Conclusion

Notre étude de la variabilité morphologique et moléculaire de populations algériennes de *M. truncatula* a révélé des résultats attendus au vu de la nature de la plante et des caractères quantitatifs et moléculaires étudiés, au vu également des travaux qui ont été réalisés par plusieurs auteurs algériens (équipe Abdelguerfi) ou étrangers et que nous avons cités à travers les différentes parties de ce document. Par ailleurs, on a pu aboutir à des résultats inattendus mais fort intéressants à mettre en valeur à plus d'un titre.

Toutes les analyses menées afin d'étudier la plante sur le plan morphologique, que cela soit pour les variables qualitatives ou quantitatives, ont révélé une variabilité inter et intra populations. Ces résultats sont entre autres dus à la richesse de l'effectif au nombre de 81 populations au départ et à la variété des sites d'origine sur le plan éco-géographique. En effet, par cet échantillonnage au niveau du Nord de l'Algérie, quasiment tous les étages bioclimatiques sont brassés. Ceci a ses avantages et ses inconvénients. Nous commencerons donc, par les avantages d'une telle étude, de fait elle permet d'avoir une idée sur la variabilité de populations naturelles de *M. truncatula*, elle nous permet de caractériser notre patrimoine phytogénétique, elle nous permet également d'établir des core-collections. Malheureusement, elle ne nous permet pas d'établir des corrélations nettes avec les facteurs du milieu, car les populations n'ont pas été collectées suivant un gradient éco-clinal bien déterminé, de plus on retrouve des redondances au niveau de chaque population, ce qui n'est pas mauvais en soi. En effet, cette richesse au niveau des populations permet de contourner l'effet d'une pression de sélection et de la dérive génétique due à l'autogamie de la plante, ce qui éviterait son extinction.

Malgré l'inconvénient lié à ce type d'échantillonnage (difficulté de trouver des groupes homogènes), il nous a été possible de révéler un lien au sein de notre effectif qui le scinde en 6 groupes bien distincts les uns des autres et ceci par le biais de l'analyse Hill-Smith, qui regroupe les deux types de variables (quantitatives et qualitatives). Toutefois, la nature exacte de ce lien restera à préciser lors de travaux futurs.

Par ailleurs cette caractérisation nous a permis de relever l'existence de variantes morphologiques que nous avons nommé dans notre travail variété intermédiaire, c'est un résultat intéressant mais qui devra être appuyé par des observations répétées dans le temps et dans l'espace et par des analyses plus poussées, afin de confirmer si ces variantes morphologiques, ne sont pas dues à un simple problème physiologique ou stress de quelque nature que ce soit.

Sur le plan moléculaire, nous sommes parvenu à mettre en relief l'existence d'une variabilité inter populations, qui est renforcée par le mode de reproduction de la plante partiellement autogame.

Nous avons également pu mettre en relief, l'absence de variance intra population par le test de permutations contrairement, aux caractères quantitatifs. Ces résultats rejoignent ceux de Bonin *et al.*

(1996). En effet, selon eux, *M. truncatula* se différencie plus au niveau des marqueurs quantitatifs qu'au niveau des marqueurs moléculaires. Cependant, ce résultat doit être quelque peu nuancé car dans notre effectif certaines populations n'étaient composées que d'une seule lignée.

On a pu trouver des hétérozygotes au sein de nos lignées voire un excès d'hétérozygotes sur deux locus. Ceci d'une part, confirme que la plante est partiellement autogame. D'autre part, que les marqueurs SSR sont liés à un niveau élevé de mutations (Flajoulot *et al.*, 2005).

Le résultat le plus important sur le plan moléculaire et qui devra faire l'objet de questionnements pour des travaux futurs, c'est la décomposition de l'effectif en 6 groupes. Ce nombre nous rappelle donc le nombre de groupes obtenu au niveau morphologique par la méthode de Hill-Smith. Donc, il semblerait qu'il y ait un lien entre les deux études moléculaires et morphologiques. Pour confirmer cette hypothèse nous devons étudier exclusivement les mêmes lignées sur le plan morphologique et moléculaire en tentant d'obtenir un maximum d'informations sur les sites telles que les températures mensuelles moyennes, les températures des mois les plus froids, les températures des mois les plus chauds, etc. et en prenant en considération d'autres caractères morphologiques et d'autres marqueurs moléculaires.

D'autres perspectives peuvent être données à ce travail. De fait, des études futures devraient nous permettre de comprendre quel est le lien qui peut exister entre ces différents individus.

Est-ce l'effet des variables du milieu d'origine ? Peu probable du fait de la variabilité qui est très hautement significative au sein même des populations.

Est-ce les distances géographiques entre ces mêmes populations ? En effet, certains auteurs ont trouvé qu'il existait des corrélations entre les distances génétiques et géographiques (Bedolla-Garcia et Lara-Cabrera, 2006). Pour certains, ce lien ne serait pas si évident (Ronfort *et al.*, 2006 ; Ellwood *et al.*, 2006).

Est-ce encore un gradient quelconque (thermique ou autre)?

Cette étude pourrait se faire dans un premier temps sur les 7 populations composées de 4 à 5 génotypes, des 69 populations algériennes étudiées sur le plan moléculaire. Ces 7 populations sont les : ALG223, ALG226, ALG 234, ALG 236, ALG 252, ALG 331 et ALG 439. En effet, les deux premières sont issues de l'Ouest algérien et elles proviennent des régions à pluviométrie comprise entre 200 et 400 mm / an. Les deux suivantes en l'occurrence les populations 234 et 236 proviennent du Nord-Ouest du pays où nous trouvons une pluviométrie identique aux régions dont sont issues les deux premières soit 200 à 400mm / an. Les populations ALG252 et ALG331 proviennent du centre du pays ; la première se situe au centre Ouest où les pluies annuelles moyennes du site de collecte sont comprises entre 600 et 800mm/an, alors que la seconde est originaire plus exactement du Centre-Est qui connaît des pluies comprises entre 800 et 1000mm. Enfin, la population ALG439 a été collectée à l'Est du pays où la pluviométrie est comprise entre 200 et 400mm.

Nous terminerons ce travail en disant que nos populations connaissent une variabilité aussi bien sur le plan morphologique que moléculaire et que la diversité génétique est généralement perçue comme augmentant la valeur adaptative des individus et des populations. Bonin *et al.* (2001) expliquent la diversité existant chez *M. truncatula* par des pressions de sélections (micro habitat) qui peuvent se produire au niveau des sous populations en maintenant la diversité au niveau des sous populations par le fait de favoriser certains génotypes plutôt que d'autres.

Pour leur part, Ellwood *et al.* (2006) expliquent la diversité ou le rapprochement que l'on peut faire entre populations éloignées géographiquement par les mouvements de transhumances ovins.

Enfin, pour Franklin (1980 *in* Hazard *et al.*, 2004), Hartl et Clark (1989 *in* Hazard *et al.*, 2004) la diversité génétique est à la base des réponses évolutives et adaptatives : plus elle est importante plus grand est le potentiel pour des changements évolutifs.

Références

Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ABBAS K., ABDELGUERFI-LAOUAR M., MADANI T., M'HAMMEDI BOUZINA M., ABDELGUERFI A., 2006.** La stratégie de lutte contre les feux de brousse dans la zone pastorale de la région de Tahoua (Niger), *in* Workshop International sur Diversité des Fabacées fourragères et de leurs symbiotes : Applications biotechnologiques, agronomiques et environnementales, pp 321-327, Alger, février 2006.
2. **ABDELGUERFI A., 1978.** Contribution à l'étude écologique des luzernes annuelles en Algérie, Th. de Magister, I.N.A., El Harrach.
3. **ABDELGUERFI A., CHAPOT J.Y., CONESA A.P., 1988.** Contribution à l'étude de la répartition des luzernes annuelles spontanées en Algérie selon certains facteurs du milieu. *Fourrages* 113 : 89-106.
4. **ABDELGUERFI A., LAOUAR M., 1999.** Autoécologie de légumineuses spontanées d'intérêt fourrager et/ou pastoral en Algérie. *In* Etienne M. (ed.), *Dynamics and sustainability of Mediterranean pastoral systems*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ. *Options Méditerranéennes*, v. 39: 97-101.
5. **ABDELKEFI A., BOUSSAÏD M., MARRAKCHI M., 1996.** Autres repères autres paysages. L'érosion génétique dans les milieux arides de la Tunisie. *Le Courrier de l'Environnement de l'I.N.R.A.*, n°27, avril 1996.
6. **ADEM L., 1974.** Etude du comportement des *Medicago* annuelles (écotypes locaux et populations étrangères) dans les régions de Sétif-Médéa-Tiaret et Alger ; Th. Ing. INA El Harrach.
7. **ANE J.-M., ZHU H., FRUGOLI J., 2008.** Recent advances in *Medicago truncatula* Genomics, Review Article. *International Journal of Plant Genomics*, Vol 2008, 11 pages.
8. **BADRI M., ILAHI H., HUGUET T., AOUANI M.E., 2007.** Quantitative and molecular genetic variation in sympatric populations of *Medicago laciniata* and *M. truncatula* (Fabaceae) : relationships with eco-geographical factors. *Genet. Res. Camb.* 89: 107-122.
9. **BEDOLLA GARCIA B.Y., LARA-CABRERA S. I., 2006.** An assessment of genetic diversity in *Desmodium sumichrastii* (Fabaceae) of central Mexico. *Can. J. Bot.*, 84: 876-882.
10. **BONNIN I., PROSPERI J.-M., OLIVIERI I., 1996.** Genetic Markers and Quantitative Genetic Variation in *Medicago truncatula* (Leguminosae) : A comparative Analysis of Population Structure. *Genetics* 143 : 1795-1805 (August, 1996).
11. **BONNIN I., RONFORT J., WOZNIACK F., OLIVIERI I., 2001.** Spatial effects and rare outcrossing events in *Medicago truncatula* (Fabaceae). *Molecular Ecology*, 10: 1371-1383.
12. **BOUNEDJMATE M., 1996.** Le point sur les travaux réalisés en amélioration des plantes sur les luzernes annuelles par le programme fourrages de l'Institut National de Recherche Agronomique du Maroc, *in* Genier G. (ed.), Proserpi J.M. (ed.). *Le genre Medicago en Méditerranée : bilan et perspectives de la recherche*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 1996, pp. 53-64.
13. **CARNEIRO J.P., SERRÃO M.G., 1996.** Programs for improvement of *Medicago sp* at ENMP-Portugal. Distribution of annual medics as related to soil properties and climatic conditions, *in* Genier G. (ed.), Proserpi J.M. (ed.). *Le genre Medicago en Méditerranée : bilan et perspectives de la recherche*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 1996, pp. 23-29 :
14. **CHEBBI H., PASCUAL-VILLALOBOS M.J., CENIS- J.L., CORREAL E., 1995.** Caractérisation morphologique et moléculaire des espèces ligneuses du genre *Medicago*. *Fourrages* (1995), 142 : 191-206.
15. **CHAULET E.M., 1995.** Diversité génétique des populations naturelles de luzernes annuelles (*Medicago sp.*) d'Algérie. Une espèce modèle : *M. truncatula* Gaertn. Doctorat en Sciences Agronomiques-Amélioration des plantes. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.
16. **CLARKSON N.M., RUSSEL J.S. 1975.** Flowering Responses to Vernalization and Photoperiod in Annual Medics (*Medicago spp.*). *Aust. J. Agric. Res.*, 26 : 831-8.
17. **CLARKSON N.M., RUSSEL J.S. 1976.** Effect of Water Stress on the Phasic Development of Annual *Medicago* species. *Aust. J. Agric. Res.*, 27 : 227-34.

18. **COMMISSION DE L'AGRICULTURE ET DU DEVELOPPEMENT RURAL DU PARLEMENT EUROPEEN, 2010.** Projet de rapport sur le déficit de l'Union en protéines végétales: quelle solution à un problème ancien? (2010/2111(INI)) datant du 29-10-2010, Ed. Parlement Européen, 12 p.
19. **COOK D.R., 1999.** *Medicago truncatula* - a model in the making! *Current Opinion in Plant Biology*, 2 : 301-304.
20. **DAMERVAL C., 1983.** Comparaison de six espèces de luzernes annuelles à l'aide de caractères biométriques et enzymatiques. *Agronomie*, 3 (10) : 971-982.
21. **DAVID J.-R., 1997.** La biodiversité : mode passagère ou révolution conceptuelle ? *Le courrier de l'environnement de l'INRA* n° 30, avril 1997.
22. **DECROOCQ S., 2003.** SSR : MICROSATELLITES, REPETITION DE SEQUENCES SIMPLES (*Simple Sequence Repeats*) in Principes des techniques de biologie moléculaire ; Ed. INRA ; pp 170-173.
23. **DEL POZO A., OVALLE C., AVENDANO J., 1995.** Time to flowering of *Medicago polymorpha* ecotypes and cultivars in response to temperature and photoperiod. In *Systèmes sylvopastoraux. Pour un environnement, une agriculture et une économie durables*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ. *Cahiers Options Méditerranéennes*, v. 12 : 33-36.
24. **DE VIENNE D., 1998.** Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales, Ed. INRA, 195 p.
25. **ELLWOOD S.R., D'SOUZA N.K., KAMPHUIS L.G., BURGESS T.I., NAIR R.M., OLIVER R.P., 2006.** SSR analysis of the *Medicago truncatula* SARDI core collection reveals substantial diversity and unusual genotype dispersal throughout the Mediterranean basin. *Theor. Appl. Genet.*, 112: 977-983.
26. **FLAJOULOT S., RONFORT J., BAUDOUIN P., BARRE P., HUGUET T., HUYGHE C., JULIER B., 2005.** Genetic diversity among alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars coming from a breeding program, using SSR markers. *Theor. Appl. Genet.*, 111 : 1420-1429.
27. **FOOD AND AGRICULTURAL ORGANISATION, 2009.** Traité international sur les ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Ed. Food and Agricultural Organisation. 68 p.
28. **FOULLEY J.L., OLLIVIER L., 2006.** Diversité génétique et richesse allélique : concepts et application à des races bovines. In : Treizièmes rencontres autour des recherches sur les ruminants, 6-7 décembre 2006, Paris, France, 227-230.
29. **GHÉRARDI M., MANGIN B., GOFFINET B., BONNET D. AND HUGUET T., 1998.** A method to measure genetic distance between allogamous populations of alfalfa (*Medicago sativa*) using RAPD molecular Markers. *Theo.Appl. Genet.*, 96 : 106-412.
30. **GOUPILLON C., 1996.** Les risques de la dissémination des plantes transgéniques pour l'environnement, in *Le courrier de l'environnement de l'INRA* n°27, avril 1996.
31. **GOUYON P.-H., 1994.** La biodiversité dans sa perspective historique, in *Le courrier de l'environnement de l'INRA* n°23, novembre 1994.
32. **HAZARD L., MALAVAL-CASSAN S., LAUGA B., 2004.** Maintenir le potentiel adaptatif des espèces prairiales pour conserver la diversité spécifique et fonctionnelle des prairies. *Fourrages*, 178: 193-206.
33. **HEYN C.C., 1963.** The annual species of *Medicago* L. Publications of Herbew University, Jerusalem, 54 p.
34. **IBN TATTOU M., 1981.** Biologie comparée de quelques *Medicago* annuelles. Etudes d'échantillons récoltés au Maroc (région de Taza) et de cultivars australiens, Th. Docteur de 3^{ème} cycle ; Ecologie générale et appliquée ; Académie de Montpellier. Université des Sciences et Techniques du Languedoc ; France ; 121 p.
35. **ISSOLAH R., ABDELGUERFI A. 1999.** Variability within 31 spontaneous populations of *Trifolium scabrum* L.; Nature of relations with factors of the site of origin. In Etienne M. (ed.) . *Dynamics and sustainability of Mediterranean pastoral systems*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ. *Cahiers Options Méditerranéennes*, v. 39 : 123-127

36. JAFRI S.M.H., EL GADI A., 1980. Flora of Libya, Ed. Al Faateh University, Faculty of science Department of Botany, Tripoli ; 304 p.
37. KULIKOVA O., GUALTIERIG., GEURTS R.A., KIM D.-J., COOK D., HUGUET T., DE JONG J. H., FRANSZ P. F., BISSELING T., 2001. Integration of the FISH pachytene and genetic maps of *Medicago truncatula*. *The Plant Journal*, 27(1): 49-58.
38. LAZREK F., ROUSSEL V., RONFORT J., CARDINET G., CHARDON F., AOUANI M.E., HUGUET T., 2009. The use of neutral and non-neutral SSRs to analyse the genetic structure of a Tunisian collection of *Medicago truncatula* lines and to reveal associations with eco-environmental variables. *Genetica*, 135 : 391-402.
39. LESINS K.A., LESINS I., 1979. Genus *Medicago* (Leguminosae), A Taxogenetic study, Ed. Dr. Junk bv The Hage-Boston-London. 228 p.
40. MARIS V., 2010. Philosophie de la biodiversité. Petite éthique pour une nature en péril., Ed. Buchet Chastel, in <http://www.franceculture.com/oeuvre-philosophie-de-la-biodiversite-petite-ethique-pour-une-nature-en-peril-de-virginie-maris.html> 20-02-2011
41. MC COMB J.A., 1974. Leaf Marks in *Medicago* with special reference to their inheritance in *Medicago truncatula*. *Aust. J. Bot.*, 22: 67-80.
42. MEFTI M., 2001. Etude du comportement et de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago polymorpha* L et *Medicago truncatula* Gaertn., Th. Magister. I.N.A. El Harrach.
43. MINISTERE de l'AGRICULTURE et du DEVELOPPEMENT RURAL, 2006. Statistiques Agricoles, Superficies et productions, Série B, Ed. Ministère de l'Agriculture et du développement Rural.
44. MINISTERE de l'AGRICULTURE et du DEVELOPPEMENT RURAL, 2009. Statistiques Agricoles, Superficies et productions, Série B, Ed. Ministère de l'Agriculture et du développement Rural.
45. MUN J.-H., KIM D.-J., CHOI H.-K., GISH J., DEBELLÉ F., MUDGE J.M DENNY R. , ENDRÉ G., SANURAT O., DUDEZ A.M., KISS G.B., ROE B, YOUNG N.D. AND COOK D.R., 2006. Distribution of microsatellites in the Genome of *Medicago truncatula*, A resource of Genetic Markers That Integrate Genetic and Physical Maps. *Genetics*, 172 : 2541-2555.
46. National Institute of Agrobiological Resources, 1998. MANUAL FOR DNA EXTRACTIONS in PLANTS, Technical Assistance Activities For Genetic Resources Projects, Ref. N° 11, March 1998, Japan International Cooperation Agency, Ed. National Institute of Agrobiological Resources, 42 p.
47. NEGRE R., 1956. Les luzernes du Maroc. Travaux Inst. Sc. Cher., Serv. Bot. 116 p.
48. NEGRE R., 1961. Petite flore des régions arides du Maroc occidental, Tome I, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, 413 p.
49. NICHOLS P., 2005. Reproductive strategies of Mediterranean annual legumes, Literature review, in <http://theses.library.uwa.edu.au/adtWU2005.0008/public/03chapter2>.
50. ORGANISATION des NATIONS UNIES, 1992. Convention sur la diversité biologique. Texte et Annexes. Ed. Organisation des Nations Unies. 34 p.
51. PALMER T.P. 1972. Variation in Flowering Time among and within Populations of *Trifolium arvense* L. in the New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*, 10 : 59-68.
52. PASCAL M., CLERGEAU P., LORVELEC O., 2000. Invasions biologiques et biologie de la conservation essai de synthèse. *Le courrier de l'environnement de l'INRA* n°40, juin 2000.
53. PASCAL M., 2008. En guise de conclusion : un envoi expéditions naturalistes, développement durable et géopolitique. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA* n°55, février 2008.
54. PERNES J. 1984. Centres de Ressources génétiques et formation des personnels de gestion. In Gestion des ressources génétiques des plantes. Tome 2 : Manuel. Lavoisier Tec et Doc, 295-326.
55. PLOMION C., 2003. SSR : Microsatellites, Repetition de Sequences Simples (*Simple Sequence Repeats*). Principes des techniques de biologie moléculaire ; Ed. I.N.R.A. ; pp 143-146.
56. PROSPERI J.-M., GUY P., GENIER G., ANGEVAIN M., 1995. Les luzernes ou le genre *Medicago*, in Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon, Ed. I.N.R.A., 219 p.

57. **PROSPERI J.-M., GENIER G., 1996.** Diversification des usages et diversité génétique : deux aspects complémentaires. *Fourrages*, 147 : 261-271.
58. **QUEZEL P., SANTA S., 1962.** Nouvelle flore de l'ALGERIE et des régions désertiques méridionales. Tome I, Ed. Centre National de Recherche Scientifique ; 558 p.
59. **REKIKI D., 1993.** Etude de la variabilité génétique d'écotypes de *Medicago truncatula* d'Algérie ; D.E.A. de Biologie et Agronomie. Op. : Amélioration des plantes. Univ. de Rennes I. E.N.S.A.R. de Rennes.
60. **RONFORT J., JENCZEWSKI E., MULLER M.H., 2005.** Les flux de gènes et leur impact sur la structure de la diversité génétique. Le cas des prairies. *Fourrages*, 182 : 275-286.
61. **RONFORT J., BATAILLON T., SANTONI S., DELALANDE M., DAVID J.L., PROSPERI J.-M., 2006.** Microsatellite diversity and broad scale geographic structure in a model legume : building a set of nested core collection for studying naturally occurring variation in *Medicago truncatula*. *BMC Plant Biology*, 6 : 28.
62. **ROTILI P., 2001.** L'avenir des biotechnologies. *Le courrier de l'environnement de l'INRA* n°42, février 2001.
63. **SEKLANI H., ZOGHLAMI A., MEZNI M., HASSEN H., 1996.** Synthèse des travaux de recherche réalisés sur les *Medicago* à l'Institut National de Recherche Agronomique de Tunisie. Genier G. (ed.), Prosperi J.M. (ed.), *The Genus Medicago in the Mediterranean region: Current situation and prospects in research*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 1996. pp. 31-37
64. **SIOL M., PROSPERI J.-M., BONNIN I., RONFORT J., 2008.** How multilocus genotypic pattern helps to understand the history of selfing populations : a case study in *Medicago truncatula*. *Heredity*, 100: 517-525.
65. **SMITH F.P., COCKS P.S., EWING M M.A., 1995.** Variation in the Morphology and Flowering Time of Cluster Clover (*Trifolium golmeratum* L.) and its Relationship to Distribution in Southern Australia. *Aust. J. Agric. Res.*, 46 : 1027-38.
66. **STENOIEN H., FENSTER C.B., TONTERI A., SAVOLAINEN O. 2005.** Genetic variability in natural populations of *Arabidopsis thaliana* in northern Europe. *Molecular Ecology*, 14: 137-148.
67. **TIRICHINE L., ABDELGUERFI A., 1995.** Phénologie et biométrie de quelques types de *Medicago orbicularis* (L) Bart. in . *Systèmes sylvopastoraux. Pour un environnement, une agriculture et une économie durables*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ. *Cahiers Options Méditerranéennes*, v. 12 : 17-20.
68. **TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BERGES N.A. MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A., 1968.** *Flora Europae* 2, Rosaceae to umbellifereae, Ed. Cambridge, 375 p.
69. **WANG H.L., GRUSAK M.A., 2005.** Structure and Development of *Medicago truncatula* Pod Wall and Seed Coat. *Annals of Botany*, 95 (5) : 737-747.
70. **YAHIAOUI S., ABDELGUERFI A., 1999.** Croissance et phénologie de quelques populations de *Medicago ciliaris* : Relation avec les conditions du milieu d'origine. In Etienne M. (ed.), *Dynamics and sustainability of Mediterranean pastoral systems*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ. *Cahiers Options Méditerranéennes* ; v. 39 : 107-110.
71. **YOUNG N.D., MUDGE J., ELLIS N. TH., 2003.** Legume genomes : more than peas in a pod. *Current Opinion in Plant Biology*, 6 : 199-204.
72. **ZEGHIDA A. 1987.** Possibilités et limites du matériel végétal d'introduction. Résultats d'expérimentation des écotypes locaux. *Céréaliculture*, 16 : 58-62.

Annexes

Annexe 1 : Répartition des populations de *M. truncatula* sur les cartes des isohyètes, des reliefs et des sols du Nord de l'Algérie

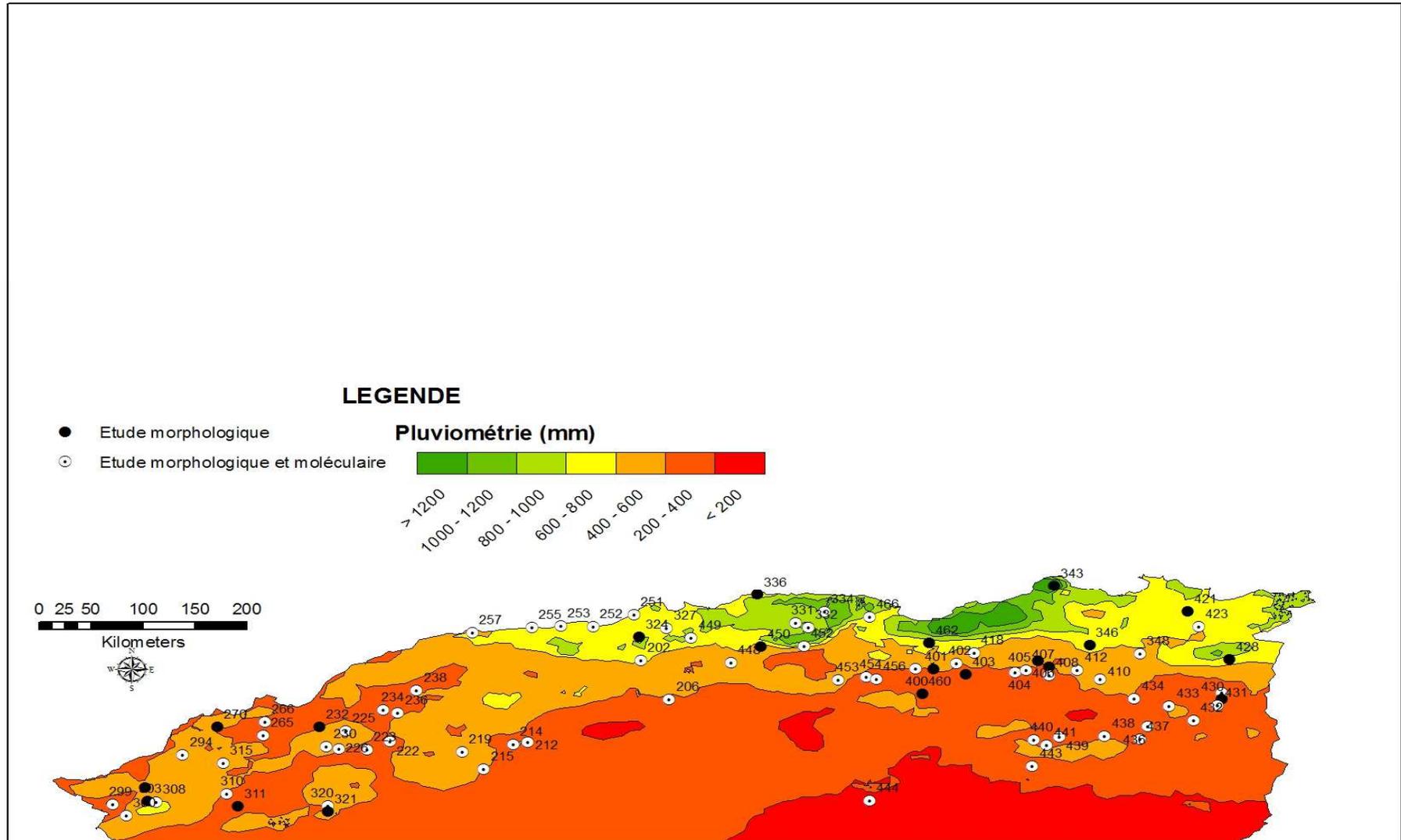


Figure 65 : Répartition des populations étudiées sur la carte pluviométrique du Nord de l'Algérie

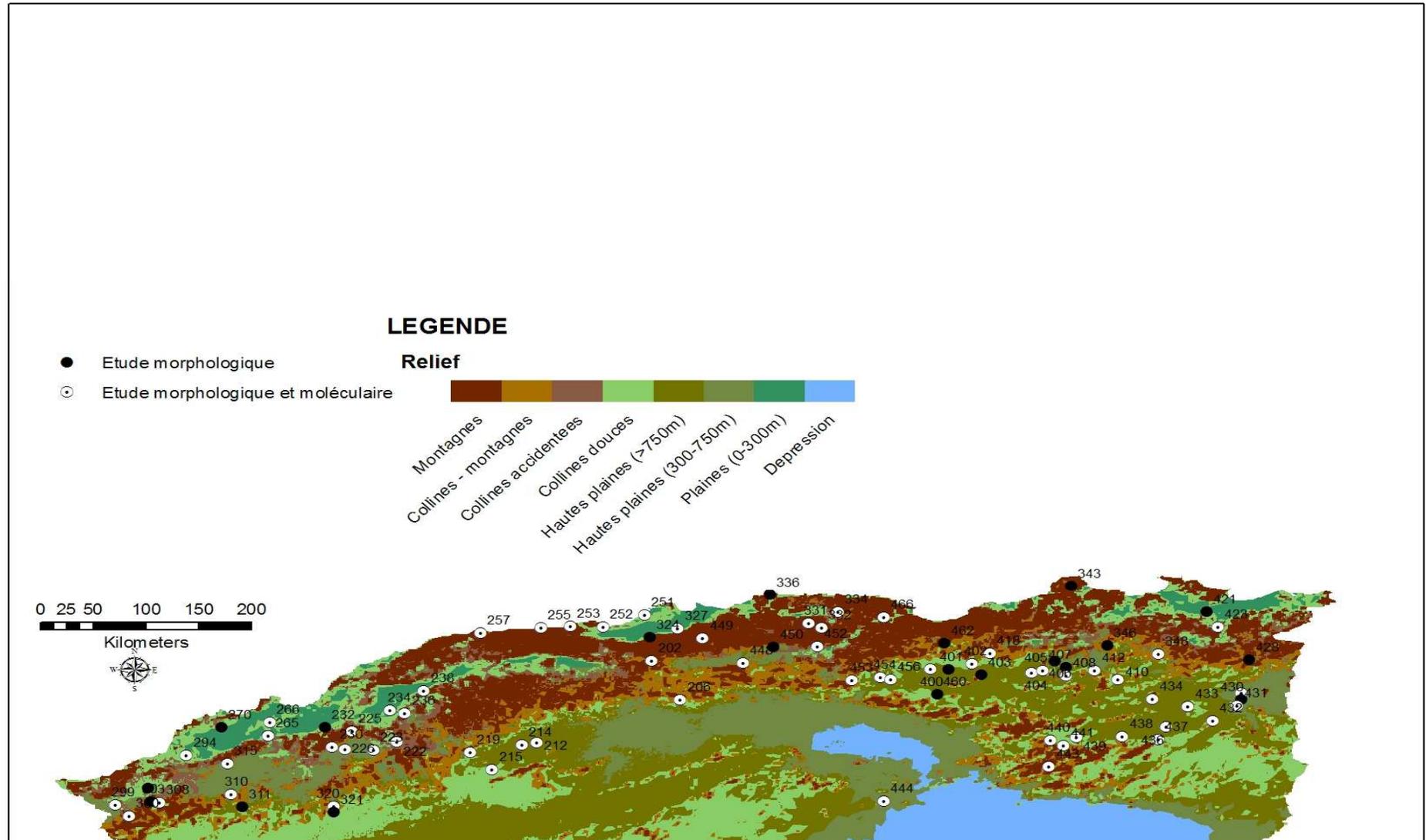


Figure 66 : Répartition des populations étudiées sur la carte des reliefs du Nord de l'Algérie

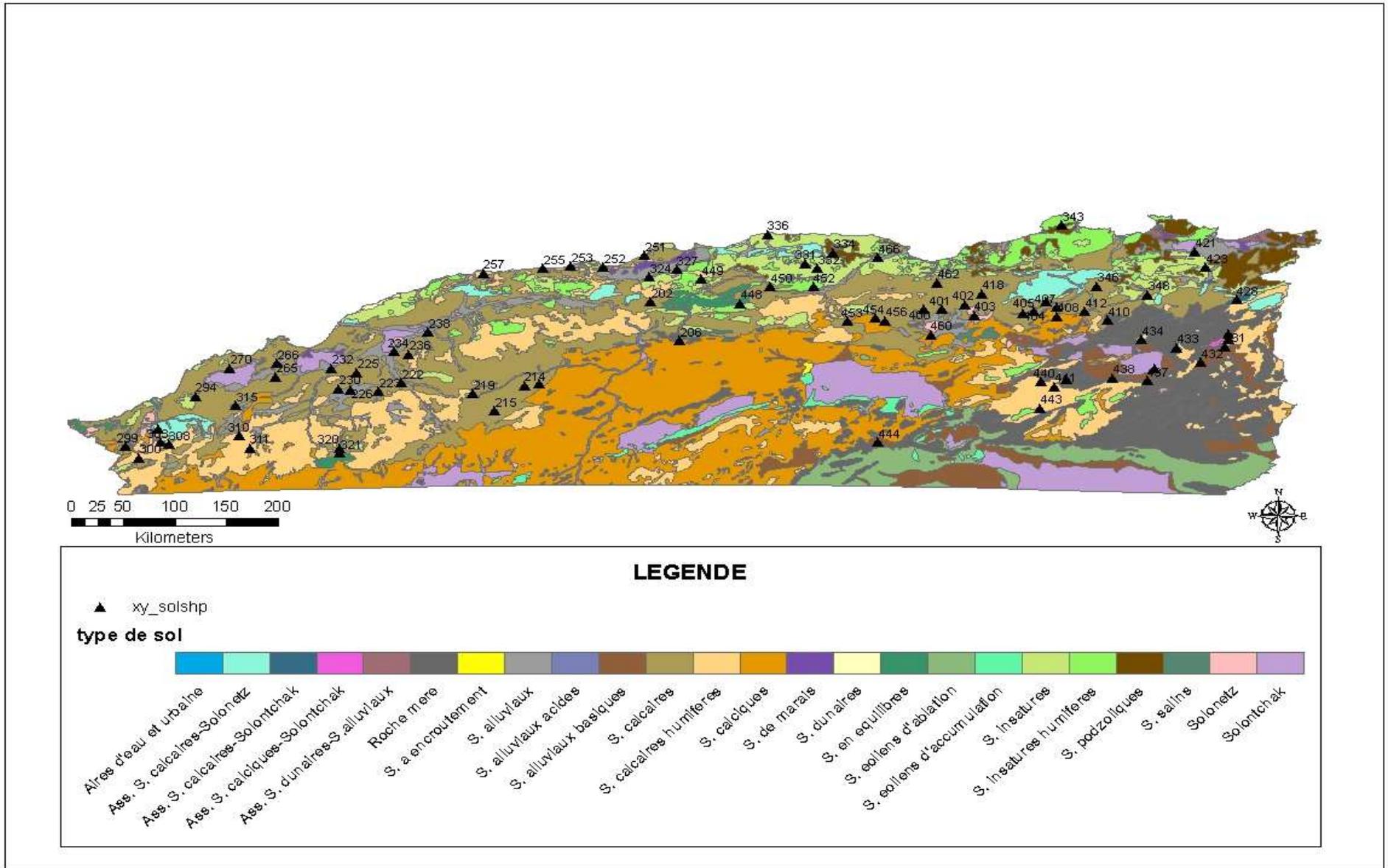


Figure 67 : Répartition des populations étudiées sur la carte des sols du Nord de l'Algérie Durand, 1954.

Annexe 2 : Photos du test de germination (10-11-07)



**Photo 23 : Test de germination population
ALG222.2**



**Photo 24 : Test de germination population
ALG255.1**



**Photo 25 : Test de germination population
ALG230.4**



**Photo 26 : Test de germination population
ALG300.1**



**Photo 27 : Test de germination population
ALG327.2**



**Photo 28 : Test de germination population
ALG432.1**



**Photo 29 : Test de germination population
ALG336.1**



**Photo 30 : Test de germination population
ALG448.1**



**Photo 31 : Test de germination population
ALG449.3**



**Photo 32 : Test de germination population
ALG452.4**



**Photo 33 : Test de germination population
ALG 452.1**



**Photo 34 : Test de germination population
ALG 230.2.**



**Photo 35 : Test de germination population
ALG 234.1.**



**Photo 36 : Test de germination population
ALG 252.1.**



**Photo 37 : Test de germination population
ALG 236.3.**



**Photo 38 : Test de germination population
ALG 265.1.**



**Photo 39 : Test de germination population
ALG 300.5**

Annexe 3 : Liste des lignes ressemées (06-04-2009)

ALG 202.1 ; ALG **202.2**, ALG **202.2** ; ALG 206.2 ; ALG 212.1 ; ALG 214.1 ; ALG **214.3**, ALG**214.3**,
ALG **219.1**, ALG **219.1** ; ALG 222.3 ; ALG 223.2 ; ALG 225.2 ; ALG 225.4 ; ALG 232.2 ;
ALG**234.1** ; ALG **234.1**; ALG 234.4; ALG **236.1**, ALG **236.1**; ALG 236.3; ALG **255.1**, ALG **255.1** ;
ALG 255.3 ; ALG 298.3 ; ALG 298.4 ; ALG 299.2 ; ALG 303.3 ; ALG 303.4 ; ALG 320.3 ;
ALG321.1 ; ALG 332.3; ALG 332.5; ALG **334.1**, ALG **334.1** ; ALG 336.2, ALG 343.4 ; ALG **343.5**,
ALG**343.5** ; ALG 346.1, ALG 402.1 ; ALG **402.2**, ALG **402.2** ; ALG 403.1 ; ALG 404.1 ; ALG**404.2**,
ALG **404.2** ; ALG 404.3 ; ALG 404.5 ; ALG 405.2 ; ALG **406.1**, ALG **406.1** ; ALG 406.2 ;
ALG**407.1**, ALG **407.1** ; ALG 408.3 ; ALG 410.2, ALG 418.3 ; ALG **428.1**, ALG **428.1**, ALG 428.2,
ALG431.3, ALG **433.2**, ALG **433.2** ; ALG 434.1 ; ALG 434.2 ; ALG 437.2 ; ALG 439.2 , ALG**439.5**,
ALG **439.5** ; ALG 440.1 ; ALG **449.2**, ALG **449.2** ; ALG 449.3 ; ALG 450.1 ; ALG 450.2 ;
ALG**453.2**, ALG **453.2**, ALG 454.2 ; ALG 460.2 ; DZA45.5 ;**TN8.3**,**TN8.3** ; A17.

Annexe 4 : Tests de la qualité d'ADN sur gel d'agarose à 1%

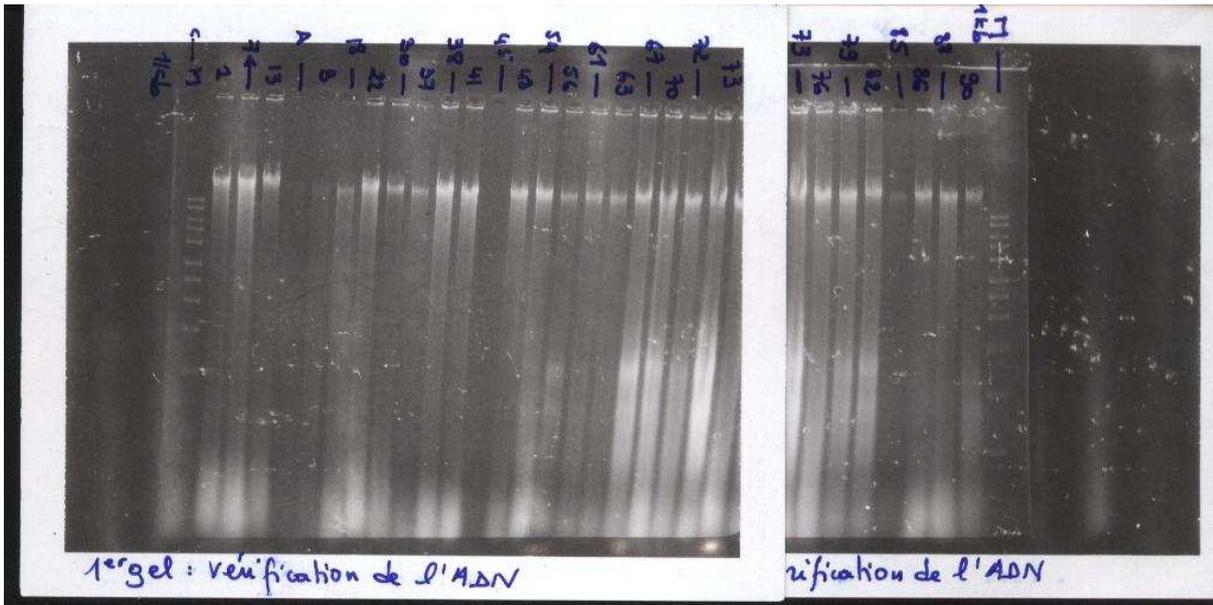


Figure 68 : Gel 1 test ADN sur gel d'agarose à 1 %

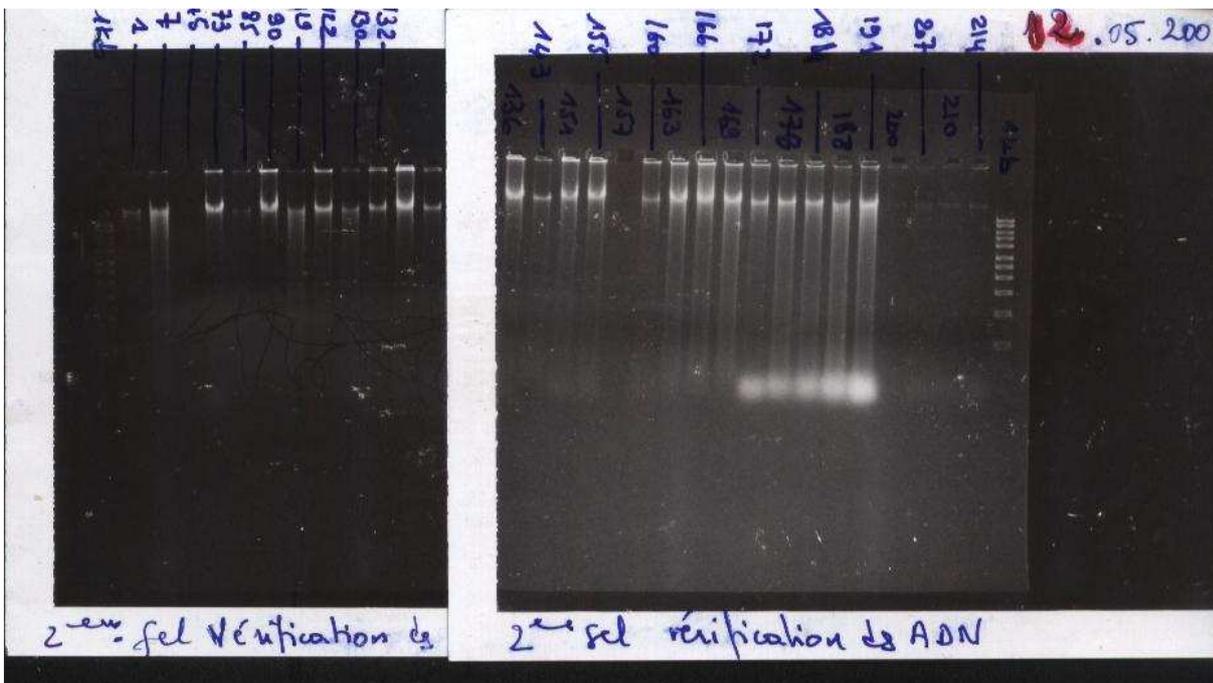


Figure 69 : Gel 2 test ADN sur gel d'agarose à 1 %

Annexe 5 : Présentation des marqueurs SSR reçus

Tableau 18 : Liste et description des marqueurs SSR testés avec l'origine, le GL, les motifs, les séquences et le He qui les caractérisent.

SSR	GL	Origine	Motif	Primer sequences (5'-3')	An	H _E
MTIC563	1	C	[CAA]8	AATTCCTTCGGCATCAACAC TGCCGAAATTGTTAGTTTGG	2	0.16
MTIC640	1	A	[GA]16	GGCCCAACCACAATTTTC CATAACTTCCAATAACTGCCA	6	0.42
MTIC564	2	C	[GA]13	GCCGATGGTACTAATGTAGG AAATCTTGCTTGCTTCTCAG	10	0.48
MTIC67	2	B	[AT]12	AGCAGCAAGAAGCACAAAGGT CAATGTGCGTGCATTGTGTA	7	0.28
MTIC128	3	B	[AC]9	GAGGTGGTCTTCTTTGTCG GGGTTCACTGTTCAAGGGTTG	3	0.26
MTIC535	3	B	[GGA]6	TTGGGAGGAGGGACTGAATA TCCCAAACCAAGGTTCTTCAT	5	0.35
MTIC559	4	B	[TTC]8	GGGTTTTTGATCCAGATCTT AGGTGGTCATACGAGCTC	6	0.33
MTIC297	4	B	[TAC]5	CTAAGCTTTGGCCATGTATC TGAAATGAGTTTGACTGAGG	7	0.51
MTIC511	5	C	[TTG]11	ATAAACTCCCCGCAACCATC GCCTGGTGGAACTGAACCTA	3	0.25
MTIC307	5	B	[TTG]6	ACTGCTAAGGCTGACTGATG GCAGTCATGTCCAATTCTCT	2	0.05
MTIC268	6	B	[CAT]9	GAGGATTCATTCTTCTTCCA ATTGTTCTAGGTTGGGTTT	2	0.13
MTIC243	6	B	[TGG]6	GGAGGAGGTTATAGGTTTGG TCAGTGCTCAGCATCTATGT	2	0.13
MTIC126	6	B	[AC]8	CCCAGTTGCAGACTCTCTCA GAAGGGTTTACCGGAGGAAG	2	0.05
MTIC503	7	A	[CT]16 [CA]7	CAATCACTGGAAGCAAGGT AGCCTGCTCATTTGTATTGC	4	0.47
MTIC1172	7	A	[TC]11, [AC]8	CCAACACAGTCACCTAACCAA GTTTCTCCATTGTTTCGTAGG	5	0.38
MTIC770	7	A	[TC]9	ACTGTTCCGTCCTTTCAATC TGAGTTCTTGTTTCCTTGTTA	4	0.55
MTIC80	8	B	[TC]8+12	TGTACATTTTCAACAGACAAAGCA GCCAAGACTGTGTTTGGTTTC	4	0.48
MTIC308	8	B	[TTC]6	CGAATGAGAGCAACCATTTA AATCCTGAATACCTCCGAGT	2	0.21

Annexe 6 : Test du polymorphisme des marqueurs sur gel d'agarose

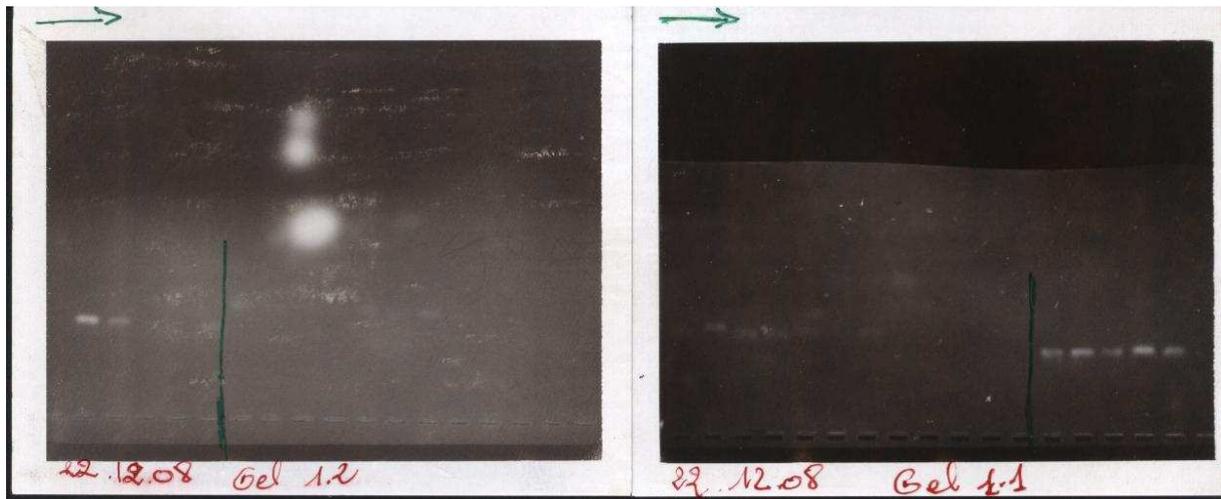


Figure 70 : Gel 1 Test MTIC 503, MTIC 511 et MTIC 535 (22-12-2008)



Figure 71 : Gel 2 Test MTIC 559, MTIC 563 et MTIC 564 (23-12-2008)

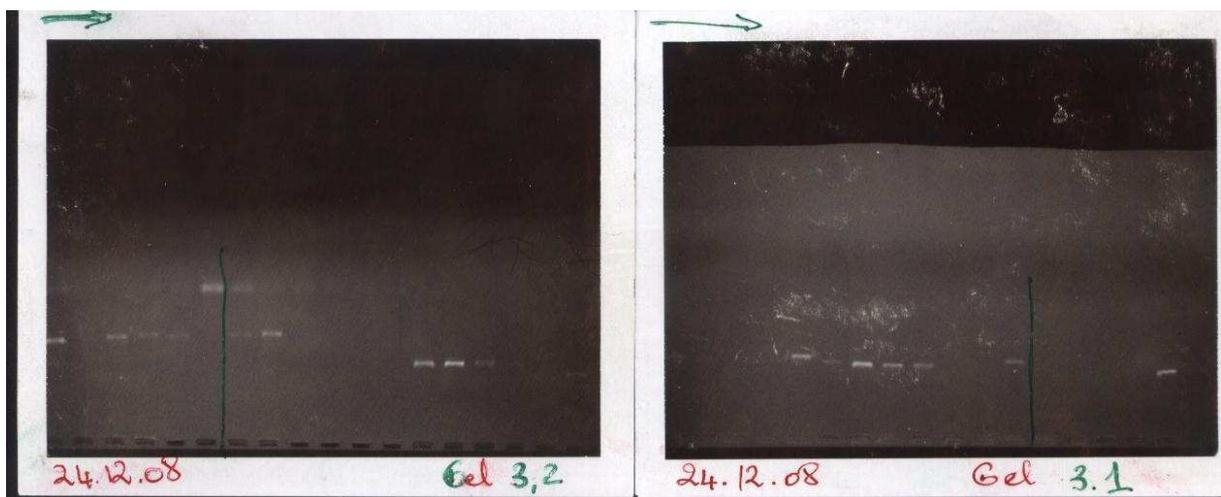


Figure 72 : Gel 3 Test MTIC 640, MTIC 770 et MTIC 1172 (24-12-2008)

Annexe 7 : Tableaux d'analyse de variance

Tableau 19 : Tableau d'analyse de variance longueur des gousses

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	76	1424,37	18,7417	17,7232	<2,2e-16	***
Génotype	216	526,42	2,4371	2,3047	<2,2e-16	***
Résiduelle	1247	1318,66	1,0575			

1 observation supprimée du fait d'un manquant

Tableau 20 : Tableau d'analyse de variance diamètre des gousses

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	76	590,18	7,7656	15,0533	<2,2e-16	***
Génotype	216	155,01	0,7176	1,3911	0,0004605	***
Résiduelle	1247	643,29	0,5159			

1 observation supprimée du fait d'un manquant

Tableau 21 : Tableau d'analyse de variance nombre de spires

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	76	296,712	3,9041	995,81	<2,2e-16	***
Génotype	216	1.2790	276,275	326,24	<2,2e-16	***
Résiduelle	1247	4,889	0,0039			

1 observation supprimée du fait d'un manquant

Tableau 22 : Tableau d'analyse de variance longueur d'épines

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	76	360,11	4,7382	17,6168	<2,2e-16	***
Génotype	216	161,32	0,7469	2,7769	<2,2e-16	***
Résiduelle	1247	335,40	0,2690			

1 observation supprimée du fait d'un manquant

Tableau 23 : Tableau d'analyse de variance largeur des épines au bord de la spire

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	76	105,843	1,39268	32,1129	<2,2e-16	***
Génotype	216	30,684	0,14235	3,2755	<2,2e-16	***
Résiduelle	1247	54,080	0,04337			

1 observation supprimée du fait d'un manquant

Tableau 24 : Tableau d'analyse de variance nombre de graine par gousse

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	75	2977,15	39,695	19,8530	<2,2e-16	***
Génotype	202	632,73	3,132	1,5666	6.693e-06	***
Résiduelle	1030	2059,44	1,999			

232 observations supprimées du fait des manquants

Tableau 25 : Tableau d'analyse de variance longueur de graines

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	75	62,883	0,83843	5,5250	<2,2e-16	***
Génotype	202	65,606	0,32478	2,1402	1,520e-14	***
Résiduelle	1027	155,851	0,15175			

235 observations supprimées du fait des manquants

Tableau 26 : Tableau d'analyse de variance largeur de la graine au hile

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	75	53,483	0,71311	12,6327	<2,2e-16	***
Génotype	202	17,213	0,08521	1,5095	3,465e-05	***
Résiduelle	1026	57,917	0,05645			

236 observations supprimées du fait des manquants

Tableau 27: Tableau d'analyse de variance largeur total de la graine

	ddl	Somme des Carrés	Carré Moyen	Valeur F	Pr >(F)	Degré de significativité
Population	75	52.225	0.69633	6.0854	<2,2e-16	***
Génotype	202	42.371	0.20976	1.8331	1.243e-09	***
Résiduelle	1026	117.400	0.11443			

236 observations supprimées du fait des manquants

Annexe 8 : Boîte à moustache des différentes variables quantitatives

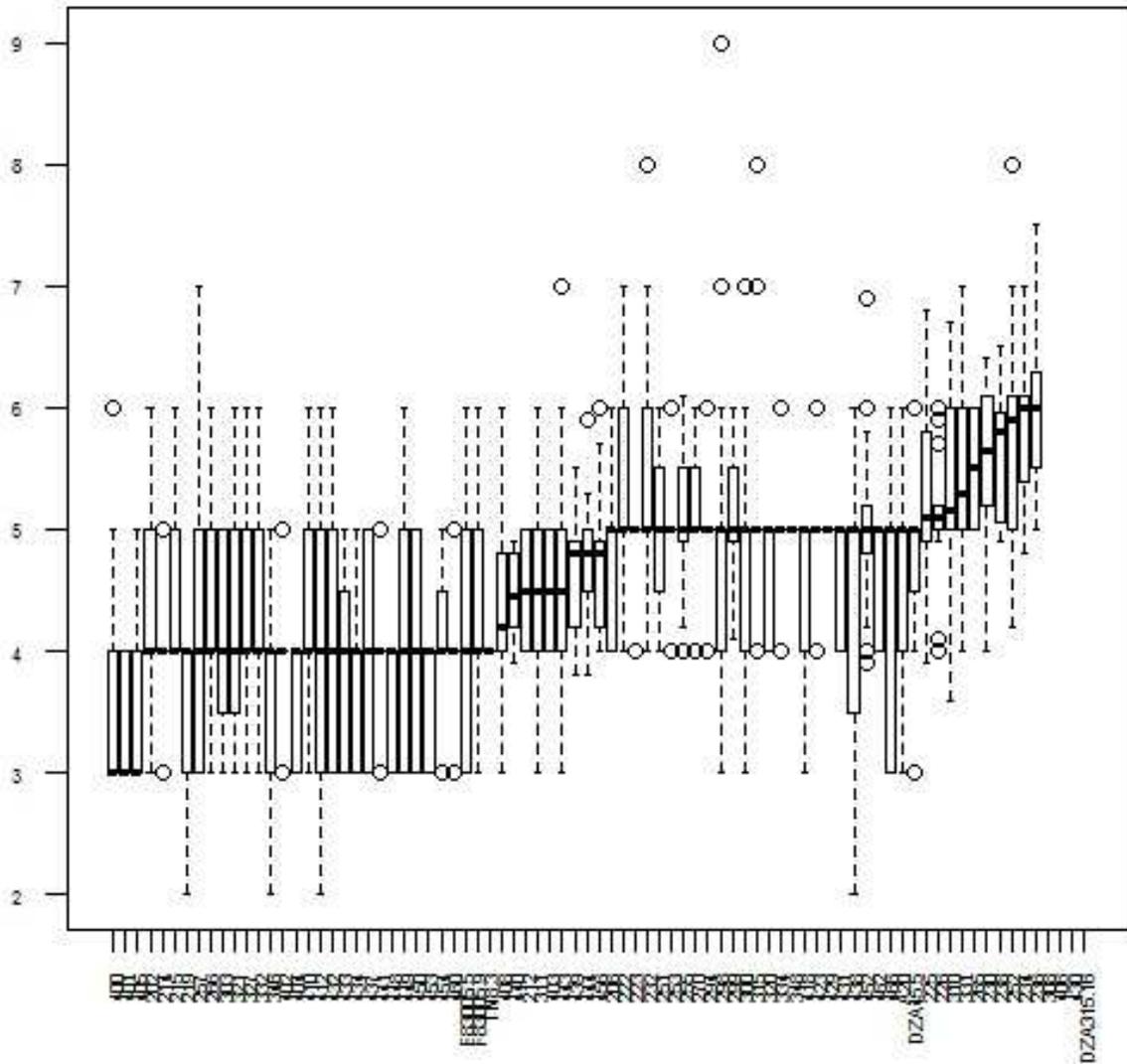


Figure 73 : La boîte à moustache pour le diamètre de la gousse des populations étudiées

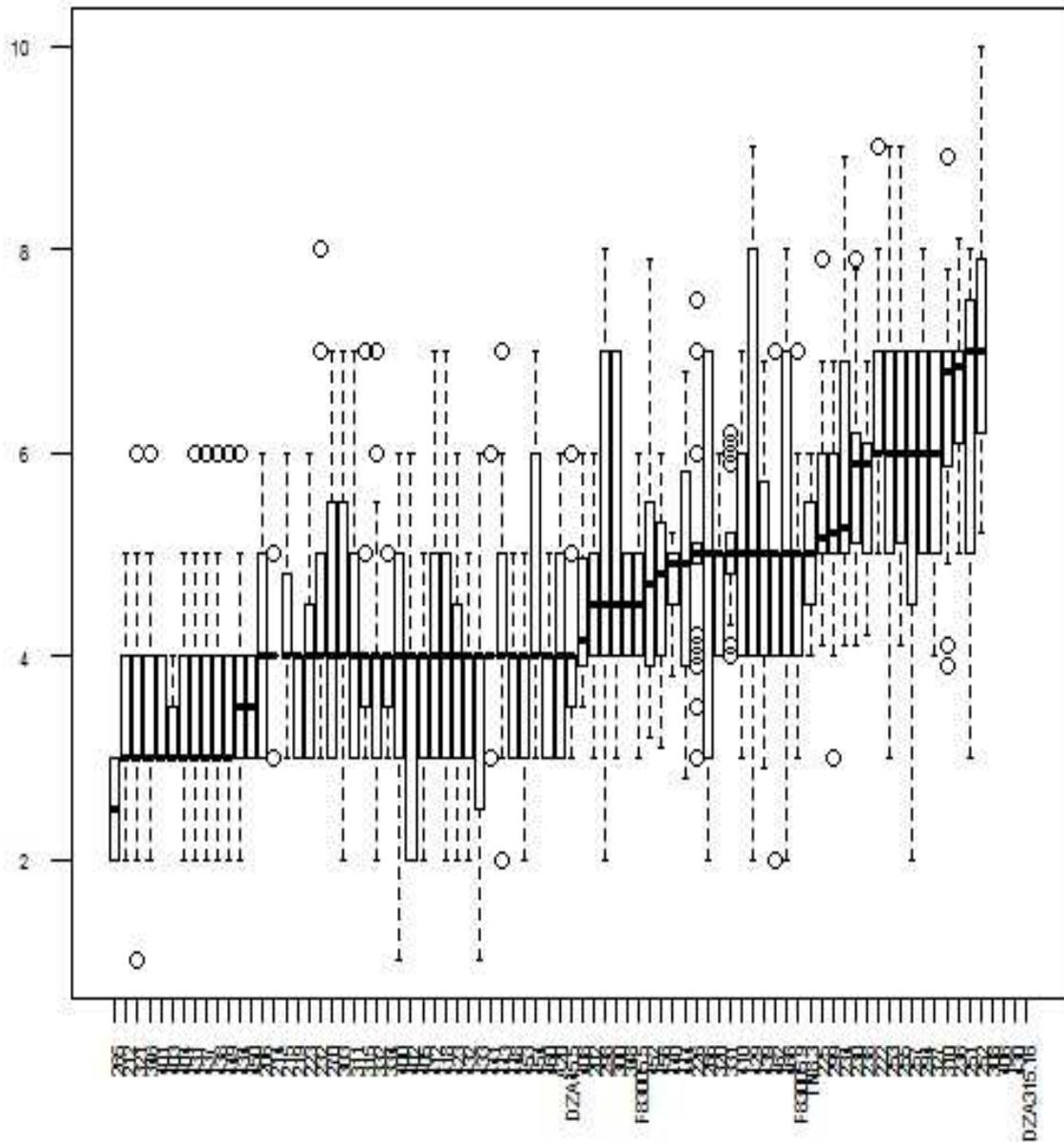


Figure 74 : La boîte à moustache pour la longueur de gousse des populations étudiées

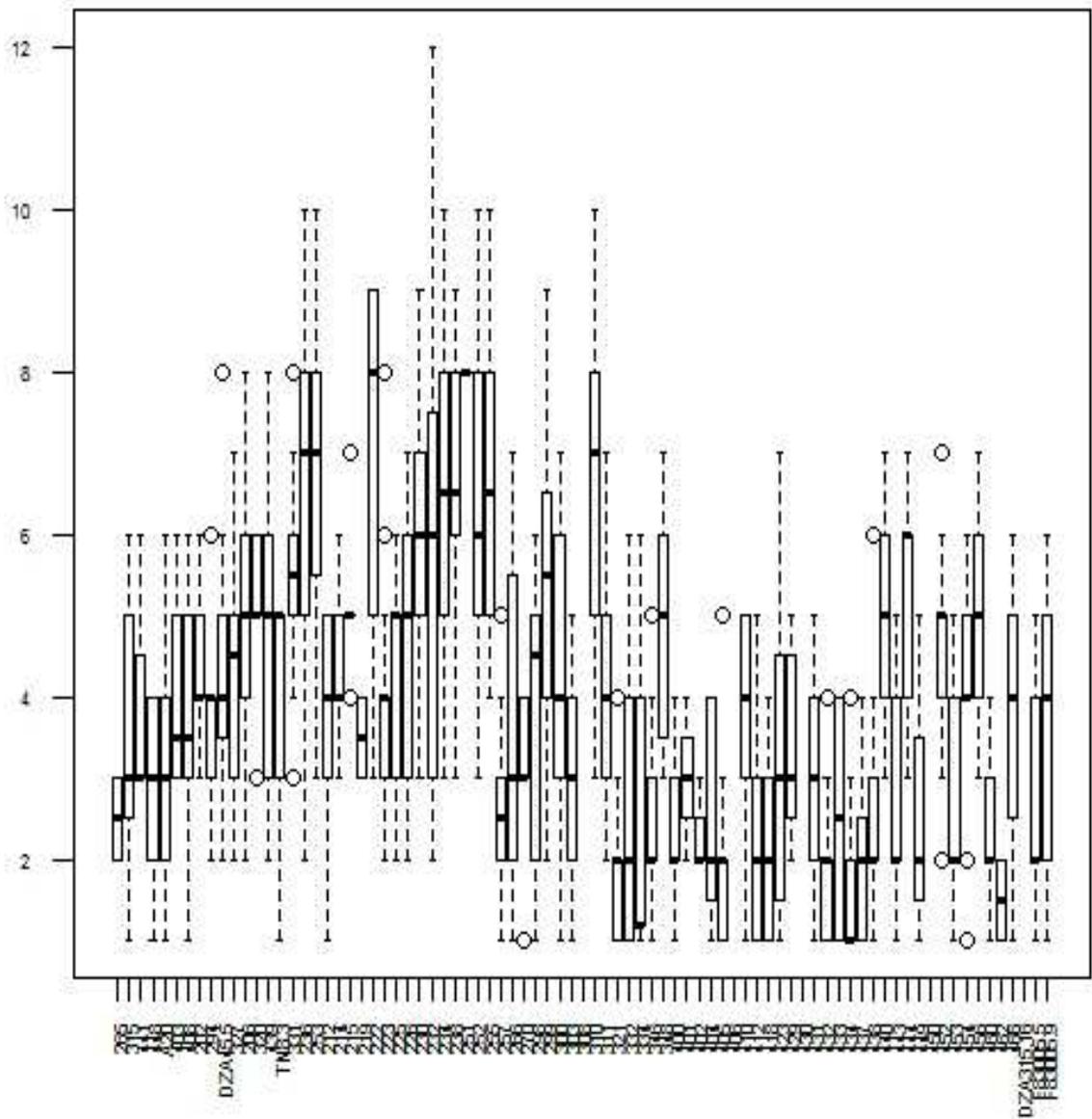


Figure 75 : La boîte à moustache pour le nombre de graines par gousse des populations étudiées

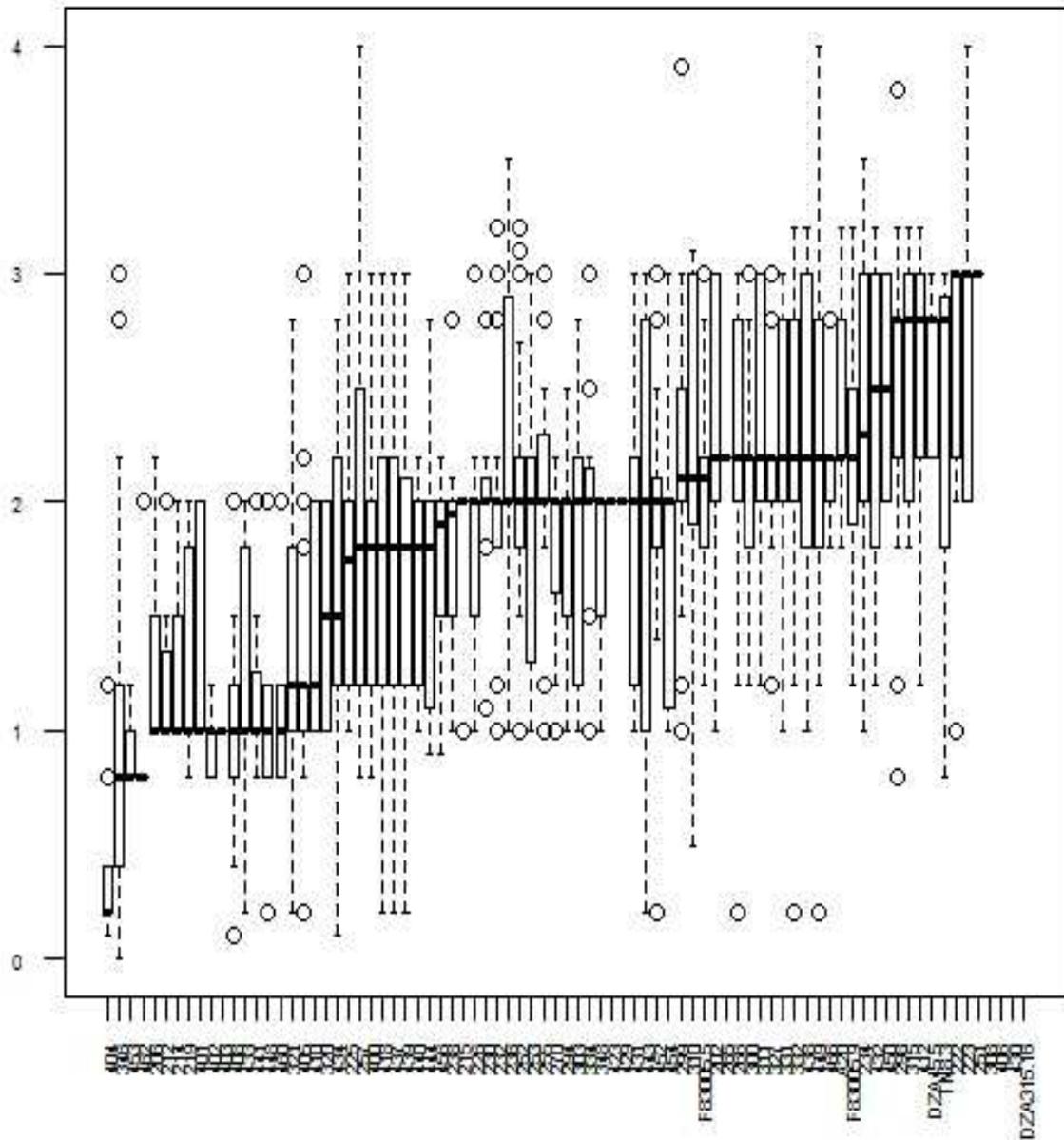


Figure 76 : La boîte à moustache pour la longueur de l'épine des gousses des populations étudiées

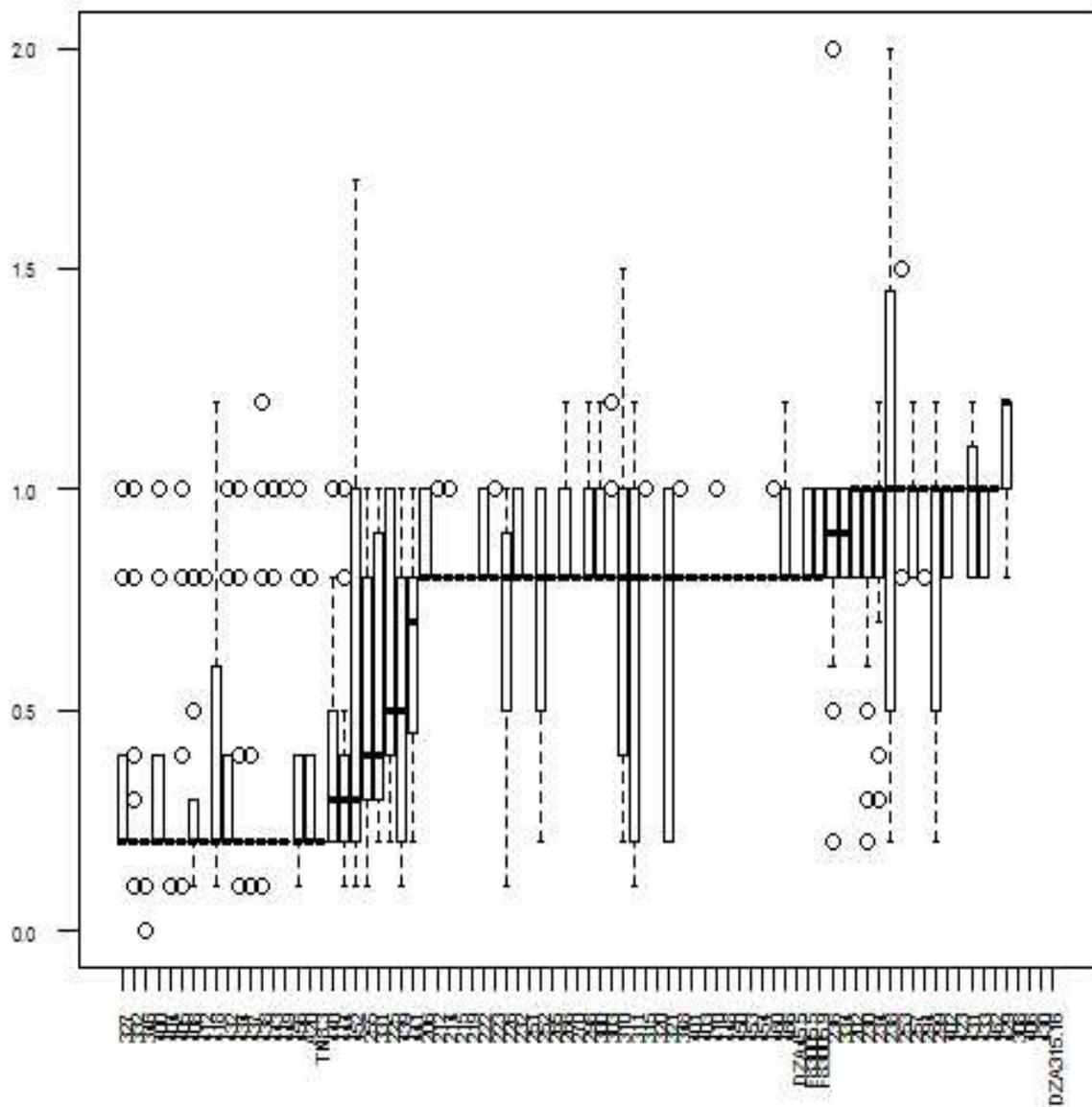


Figure 77 : La boîte à moustache pour la largeur de l'épine des gousses des populations étudiées

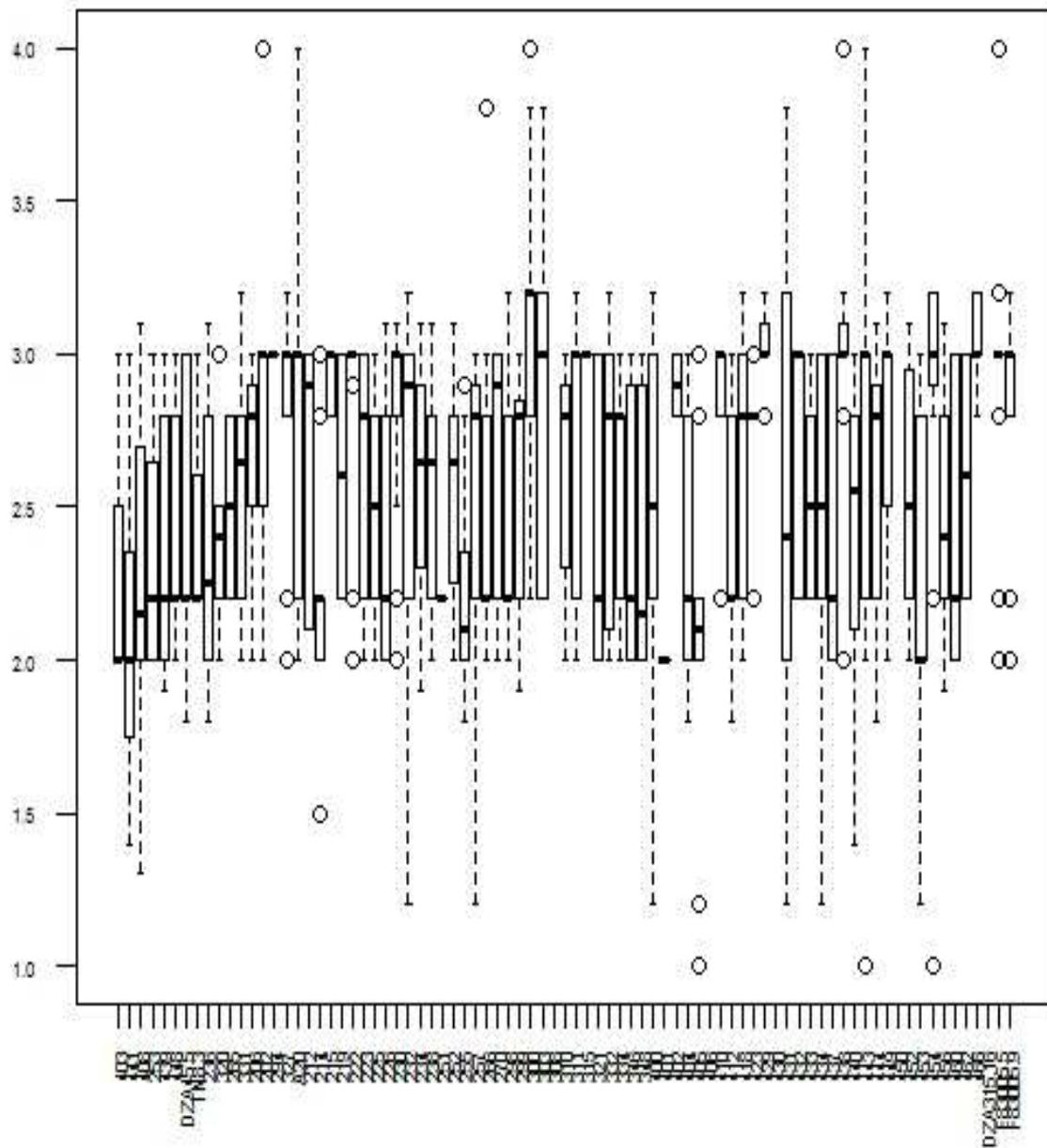


Figure 78 : La boîte à moustache pour la longueur de graines des populations étudiées

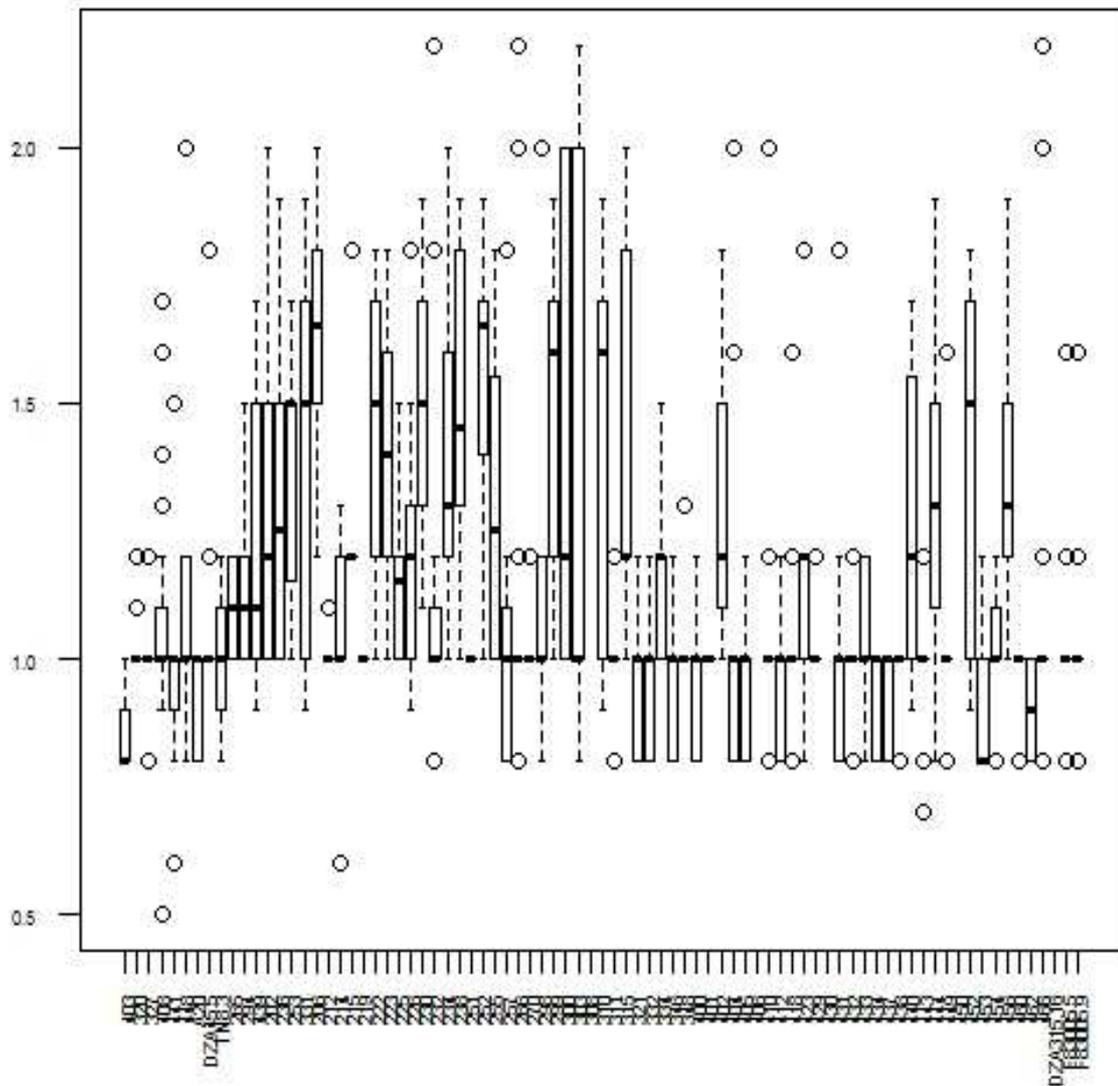


Figure 79 : La boîte à moustache pour la largeur de la graine au hile des populations étudiées

Annexe 9 : Matrice des corrélations

Tableau 28 : Tableau de la matrice des corrélations entre les variables quantitatives

	LONGIT.	LAT.	PLU.	ALT.	P.f.	Long.gs	Diam.gs	Nbre sp.	Long.ép.	Larg.ép.	Nbre gr.gs.	Long.gr	Larg.gr.hile	Larg.totale
LONGIT.	1	0,47(**)	0,17	0,55(**)	0,17(*)	-0,40(**)	-0,46(**)	-0,25(**)	-0,32(**)	-0,42(**)	-0,48(**)	-0,12	-0,43(**)	-0,31(**)
LAT.		1	0,59(**)	-0,09	0,18(**)	0,05	-0,09	0,01	-0,08	-0,13(*)	-0,05	-0,13(*)	-0,06	-0,11
PLU.			1	0,18(**)	0,01	-0,06	-0,01	-0,12	0,02	-0,23(**)	-0,07	0,00	-0,02	0,02
ALT.				1	0,04	-0,61(**)	-0,53(**)	-0,37(**)	-0,41(**)	-0,39(**)	-0,54(**)	-0,07	-0,39(**)	-0,29
Pf					1	0,12(*)	-0,16(*)	0,08	-0,08	-0,03	-0,07	-0,13	-0,10	-0,09
Long.gs						1	0,66(**)	0,54(**)	0,36(**)	0,39(**)	0,74(**)	0,18(**)	0,52(**)	0,42(**)
Diam.gs							1	0,27(**)	0,48(**)	0,36(**)	0,70(**)	0,23(**)	0,61(**)	0,45(**)
Nbre sp.								1	0,19(**)	0,20(**)	0,39(**)	0,28(**)	0,25(**)	0,27(**)
Long.ép.									1	0,18(**)	0,34(**)	0,29(**)	0,28(**)	0,43(**)
Larg.ép.										1	0,38(**)	0,24(**)	0,42(**)	0,35(**)
Nbre gr.gs.											1	0,07	0,60(**)	0,35(**)
Long.gr												1	0,35(**)	0,55(**)
Larg.gr.hile													1	0,56(**)
Larg.totale														1

** Signification des corrélations à 0,01

* Signification des corrélations à 0,05

Annexe 10 : Projection des géotypes sur les plans de l'ACP en fonction des variables supplémentaires

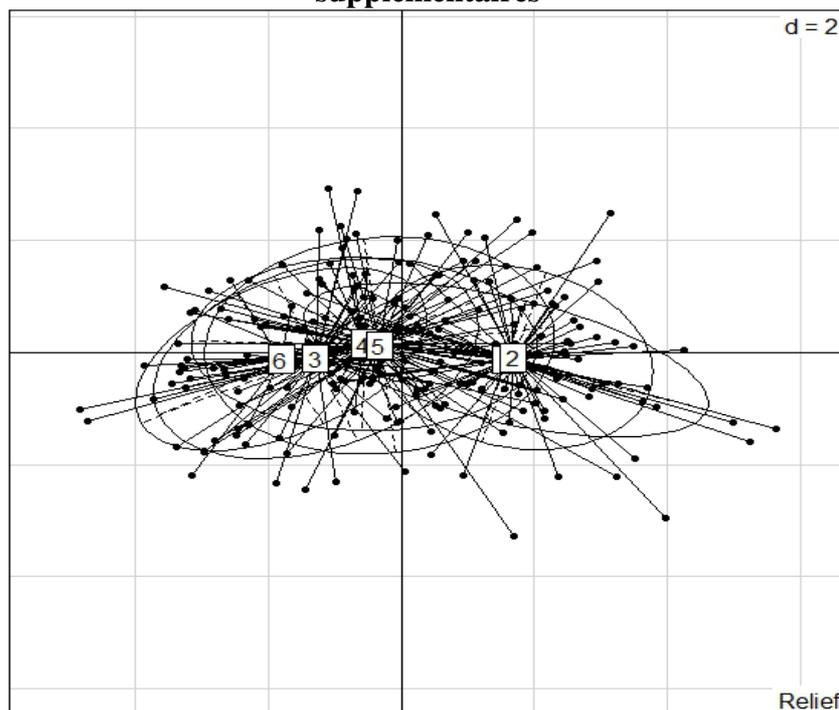


Figure 81 : Répartition des géotypes étudiés sur le plan 1 / 2 en fonction du relief des sites d'origine

Légendes

- | | | |
|-------------------------------|-----------------------------|----------------------|
| 1 : Collines-montages | 2 : Hautes plaines (>750 m) | 3 : Collines douces |
| 4 : Hautes plaines (300-750m) | 5 : Montagnes | 6 : Plaines (0-300m) |

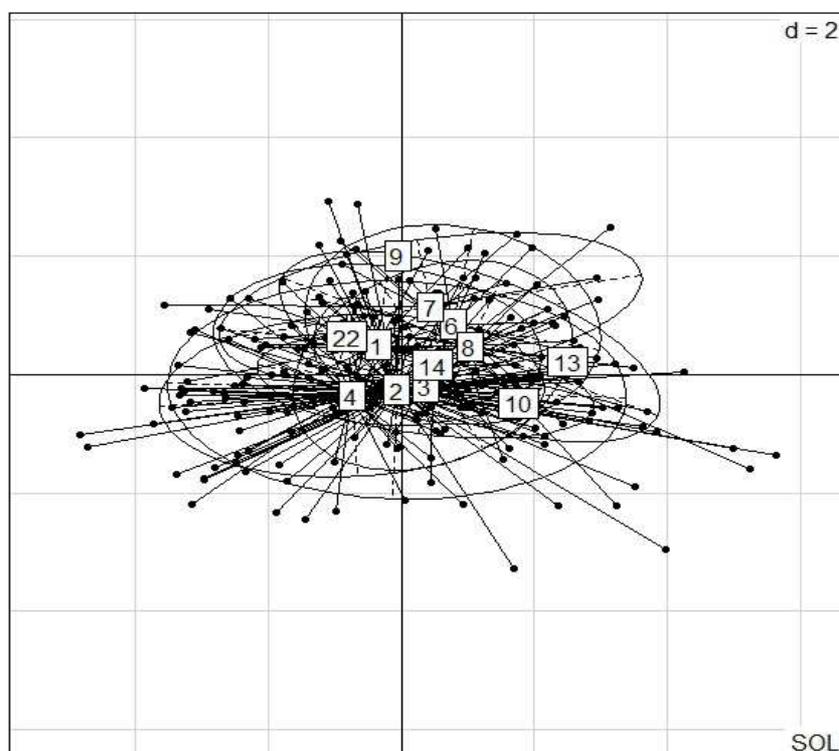


Figure 82 : Répartition des géotypes étudiés sur le plan 1 / 2 en fonction des sols des sites d'origine

Légendes

- | | | | | |
|--------------------------------|------------------------------|--|----------------------|------------------------|
| 1 : Sols insaturés
basiques | 2 : Sols calcaires | 3 : Sols calciques | 4 : Sols alluviaux | 5 : Sols alluviaux |
| 6 : Sols alluviaux | 7 : Sols insaturés humifères | 8 : Sols calcaires humifères | 9 : Sols podzoliques | 10 : Sols en équilibre |
| 11 : Solonetz | 12 : Roche mère | 13 : Association de sols calcaires et solonetz | | |

ACP : plan 1 / 3 variables supplémentaires

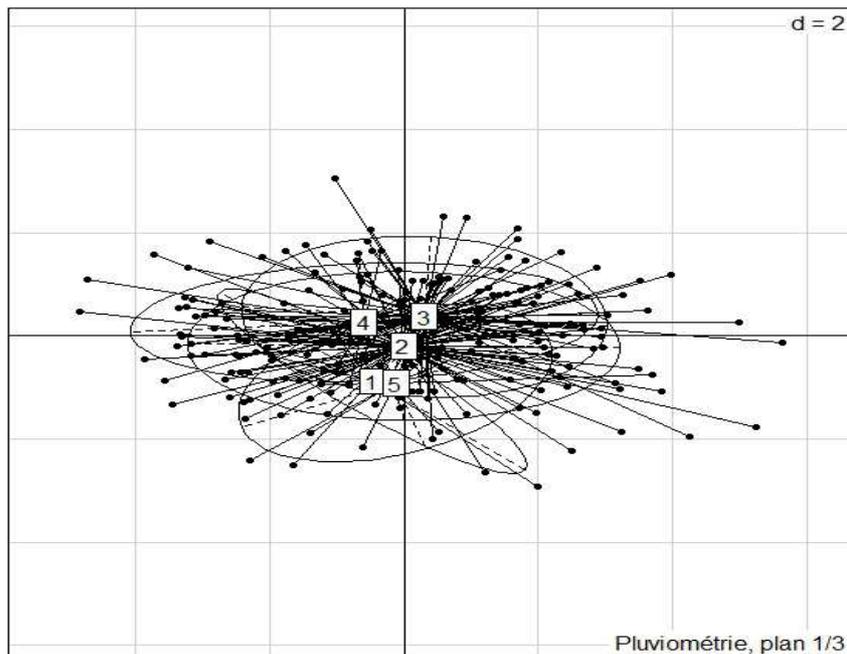


Figure 83 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1 / 3 en fonction de la pluviométrie des sites d'origine

Légendes

1 : <200 mm

4 : 600mm-800 mm

2 : 200-400mm

5 : 1000-1200 mm

3 : 400-600 mm

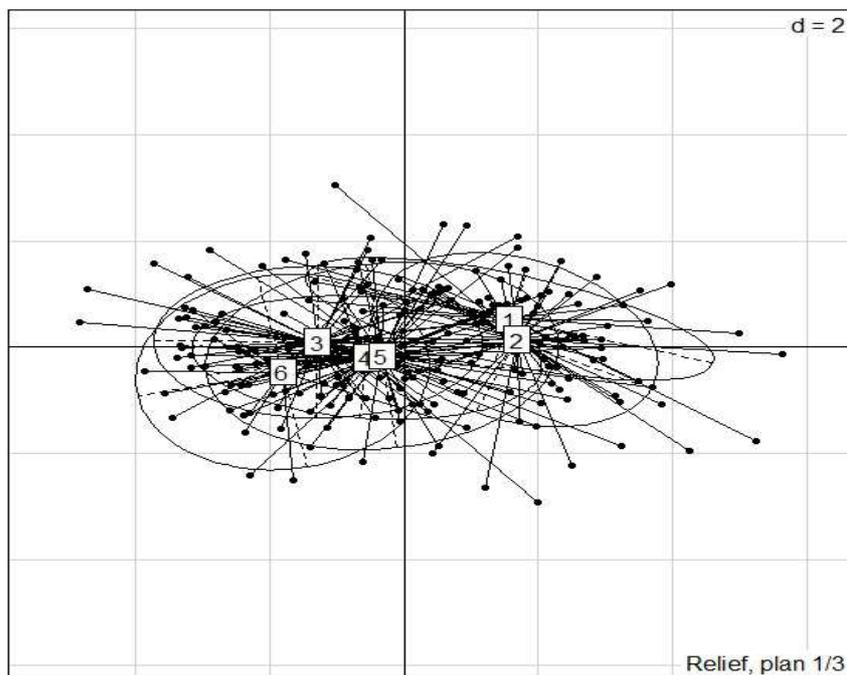


Figure 84 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 1 / 3 en fonction du relief des sites d'origine

Légendes

1 : Collines-montages

2 : Hautes plaines (>750 m)

3 : Collines douces

4 : Hautes plaines (300-750m)

5 : Montagnes

6 : Plaines (0-300m)

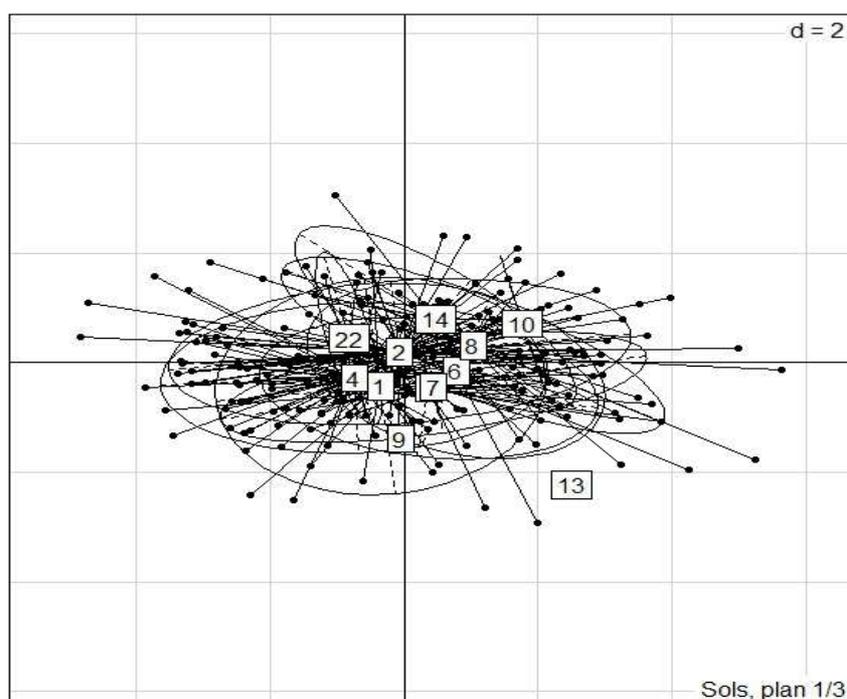


Figure 85 : Répartition des géotypes étudiés sur le plan 1 / 3 en fonction des sols des sites d'origine

Légendes

1 : Sols insaturés
basiques
13 : Solonetz

2 : Sols calcaires

7 : Sols insaturés humifères

14 : Roche mère

3 : Sols calciques

8 : Sols calcaires humifères

22 : Association de sols calcaires et solonetz

4 : Sols alluviaux

9 : Sols podzoliques

10 : Sols en équilibre

6 : Sols alluviaux

10 : Sols en équilibre

ACP : plan 2 / 3 variables supplémentaires

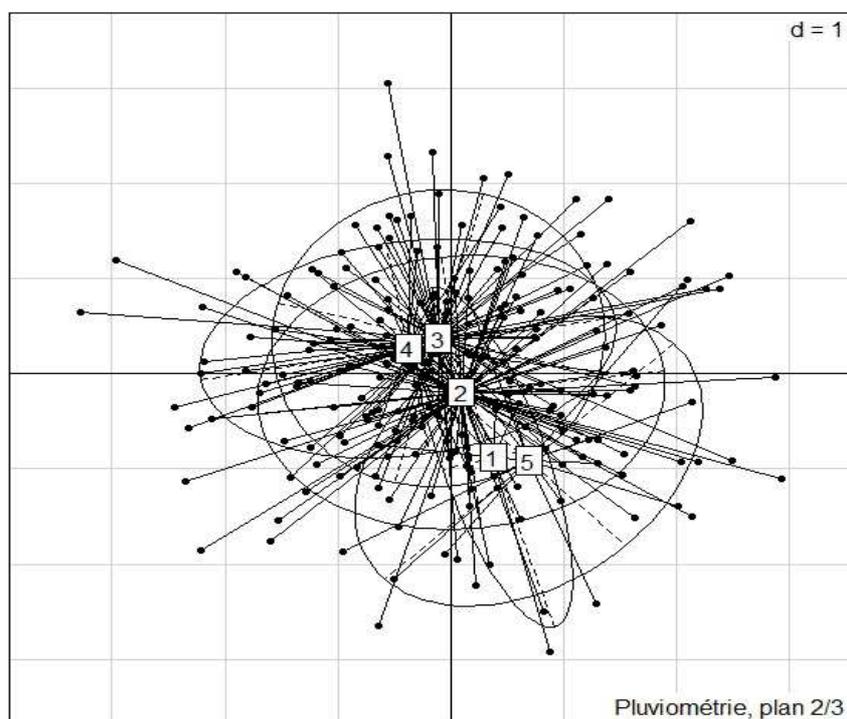


Figure 86 : Répartition des géotypes étudiés sur le plan 2 / 3 en fonction de la pluviométrie des sites d'origine

Légendes

1 : <200 mm
4 : 600mm-800 mm

2 : 200-400mm
5 : 1000-1200 mm

3 : 400-600 mm

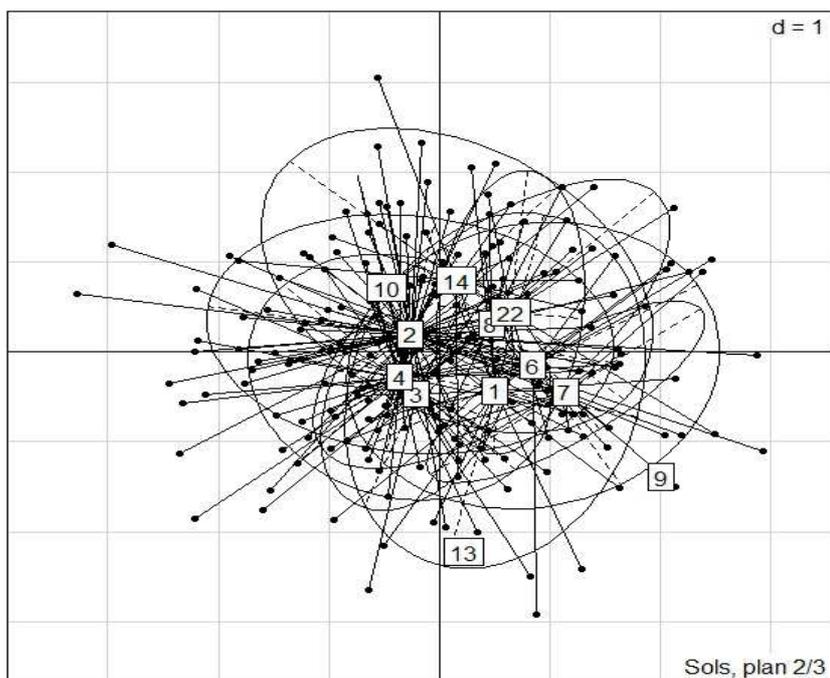


Figure 87 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 2 / 3 en fonction des sols des sites d'origine

Légendes

1 : Sols insaturés basiques	2 : Sols calcaires	3 : Sols calciques	4 : Sols alluviaux	6 : Sols alluviaux
13 : Solonetz	7 : Sols insaturés humifères	8 : Sols calcaires humifères	9 : Sols podzoliques	10 : Sols en équilibre
	14 : Roche mère	22 : Association de sols calcaires et solonetz		

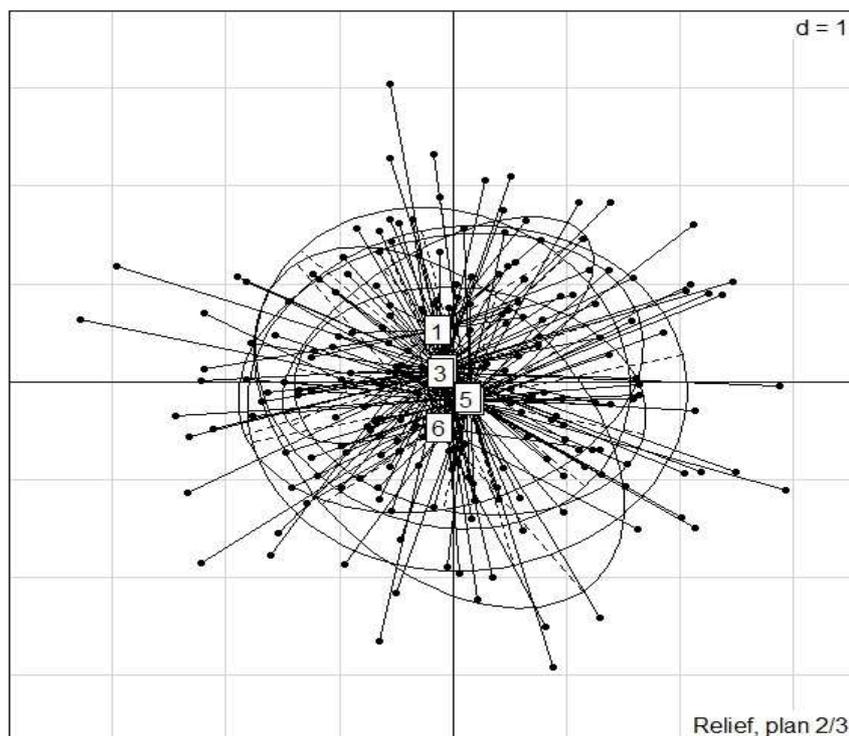


Figure 88 : Répartition des génotypes étudiés sur le plan 2 / 3 en fonction du relief des sites d'origine

Légendes

1 : Collines-montages	2 : Hautes plaines (>750 m)	3 : Collines douces
4 : Hautes plaines (300-750m)	5 : Montagnes	6 : Plaines (0-300m)

Annexe 11 : Tableaux de répartition selon Hill-Smith

Tableau 29 : Répartition des populations étudiées en fonction des cinq groupes de Hill-Smith

Populations	Groupe1	Groupe2	Groupe3	Groupe4	Groupe5
ALG 202	4	0	0	0	26
ALG 206	0	18	12	0	0
ALG 212	0	5	0	0	0
ALG 214	0	16	1	0	0
ALG 215	0	0	5	0	0
ALG 222	0	0	1	12	0
ALG 223	0	1	16	8	0
ALG 225	3	0	15	0	0
ALG 226	0	0	15	10	0
ALG 230	0	0	1	20	0
ALG 232	0	1	5	10	0
ALG 234	20	0	1	7	0
ALG 236	0	0	4	26	0
ALG 238	24	0	2	0	0
ALG 251	0	0	0	0	0
ALG 252	28	0	0	0	0
ALG 253	10	0	0	0	3
ALG 255	13	0	0	0	2
ALG 257	8	0	0	0	12
ALG 265	0	1	1	0	0
ALG 266	0	2	12	5	0
ALG 270	0	0	4	2	0
ALG 294	2	0	3	0	0
ALG 298	0	0	4	10	0
ALG 299	0	0	6	18	0
ALG 300	0	0	13	4	0
ALG 303	0	8	4	1	0
ALG 310	0	0	2	25	0
ALG 311	0	12	15	1	0
ALG 315	0	0	3	6	0
ALG 320	0	7	2	0	0
ALG 321	0	25	0	0	0
ALG 327	12	0	0	0	18
ALG 331	0	0	0	0	30
ALG 332	0	0	0	0	19
ALG 334	0	0	0	0	9
ALG 346	0	0	0	0	14
ALG 348	0	0	0	0	8
ALG 400	0	16	0	0	0
ALG 401	0	3	0	0	0
ALG 402	0	2	2	0	0
ALG 403	0	4	0	0	0
ALG 404	0	18	0	0	0
ALG 405	0	22	0	0	0
ALG 408	0	18	1	0	0
ALG 410	0	17	4	0	0
ALG 412	0	18	7	0	0
ALG 418	0	0	0	0	10
ALG 423	0	0	0	0	7
ALG 429	0	2	5	0	0
ALG 431	0	12	2	0	0
ALG 432	0	21	0	0	0
ALG 433	0	6	0	0	0
ALG 434	0	7	0	0	0
ALG 437	0	15	0	0	0
ALG 438	0	19	0	0	0
ALG 439	0	9	3	0	0
ALG 440	0	6	22	0	0
ALG 441	0	6	1	0	0
ALG 443	0	18	3	0	0
ALG 444	0	0	19	6	0
ALG 448	0	13	0	0	0
ALG 449	0	0	0	0	8
ALG 452	7	0	0	0	16
ALG 453	0	13	0	0	0
ALG 454	0	3	8	0	0
ALG 456	0	4	0	0	0
ALG 460	0	9	0	0	0
ALG 462	0	0	0	0	2
ALG 466	12	0	0	0	3

Tableau 30 : Répartition des génotypes étudiés en fonction des cinq groupes de Hill-Smith

Génotypes	Groupe1	Groupe2	Groupe3	Groupe4	Groupe5
ALG202-5	2	0	0	0	10
ALG 202-6	2	0	0	0	14
ALG 202-7	0	0	0	0	1
ALG 202-8	0	0	0	0	1
ALG 206-9	0	4	5	0	0
ALG 206-10	0	2	7	0	0
ALG 206-11	0	10	0	0	0
ALG 206-12	0	2	0	0	0
ALG 212-17	0	4	0	0	0
ALG 212-18	0	1	0	0	0
ALG 214-21	0	1	0	0	0
ALG 214-22	0	4	0	0	0
ALG 214-25	0	8	0	0	0
ALG 214-26	0	3	0	0	0
ALG 214-28	0	0	1	0	0
ALG 215-33	0	0	3	0	0
ALG 215-34	0	0	2	0	0
ALG 222-39	0	0	0	5	0
ALG 222-40	0	0	0	7	0
ALG 222-45	0	0	1	0	0
ALG 223-48	0	1	0	0	0
ALG 223-49	0	0	0	1	0
ALG 223-51	0	0	0	5	0
ALG 223-52	0	0	4	1	0
ALG 223-53	0	0	4	1	0
ALG 223-54	0	0	4	0	0
ALG 223-55	0	0	1	0	0
ALG 223-56	0	0	3	0	0
ALG 225-58	2	0	1	0	0
ALG 225-60	0	0	9	0	0
ALG 225-63	1	0	1	0	0
ALG 225-64	0	0	4	0	0
ALG 226-67	0	0	2	1	0
ALG 226-68	0	0	1	3	0
ALG 226-69	0	0	2	1	0
ALG 226-70	0	0	1	0	0
ALG 226-72	0	0	2	0	0
ALG 226-73	0	0	1	2	0
ALG 226-74	0	0	2	1	0
ALG 226-75	0	0	3	1	0
ALG 226-76	0	0	1	1	0
ALG 230-77	0	0	1	1	0
ALG 230-78	0	0	0	1	0
ALG 230-79	0	0	0	5	0

ALG 230-80	0	0	0	7	0
ALG 230-81	0	0	0	6	0
ALG 232-89	0	0	0	5	0
ALG 232-90	0	0	1	1	0
ALG 232-91	0	1	3	1	0
ALG 232-92	0	0	1	3	0
ALG 234-93	1	0	0	0	0
ALG 234-94	0	0	1	0	0
ALG 234-95	0	0	0	5	0
ALG 234-96	0	0	0	2	0
ALG 234-97	5	0	0	0	0
ALG 234-98	4	0	0	0	0
ALG 234-99	5	0	0	0	0
ALG 234-100	4	0	0	0	0
ALG 234-102	1	0	0	0	0
ALG 236-105	0	0	0	4	0
ALG 236-106	0	0	0	4	0
ALG 236-107	0	0	0	4	0
ALG 236-108	0	0	0	4	0
ALG 236-109	0	0	2	2	0
ALG 236-110	0	0	0	4	0
ALG 236-111	0	0	0	3	0
ALG 236-112	0	0	2	1	0
ALG 238-113	3	0	0	0	0
ALG 238-114	7	0	0	0	0
ALG 238-115	1	0	1	0	0
ALG 238-116	5	0	1	0	0
ALG 238-117	6	0	0	0	0
ALG 238-118	2	0	0	0	0
ALG 251-120	0	0	0	0	0
ALG 252-121	1	0	0	0	0
ALG 252-123	3	0	0	0	0
ALG 252-124	5	0	0	0	0
ALG 252-125	5	0	0	0	0
ALG 252-126	4	0	0	0	0
ALG 252-127	5	0	0	0	0
ALG 252-128	4	0	0	0	0
ALG 252-129	1	0	0	0	0
ALG 253-131	3	0	0	0	0
ALG 253-134	7	0	0	0	0
ALG 253-135	0	0	0	0	1
ALG 253-136	0	0	0	0	1
ALG 253-137	0	0	0	0	1
ALG 255-141	7	0	0	0	2
ALG 255-145	4	0	0	0	0
ALG 255-146	2	0	0	0	0
ALG 257-147	0	0	0	0	1

ALG 257-150	0	0	0	0	2
ALG 257-153	4	0	0	0	6
ALG 257-154	4	0	0	0	3
ALG 265-157	0	1	1	0	0
ALG 266-159	0	0	3	2	0
ALG 266-160	0	1	6	0	0
ALG 266-161	0	1	1	2	0
ALG 266-162	0	0	2	1	0
ALG 270-163	0	0	3	2	0
ALG 270-164	0	0	1	0	0
ALG 294-167	0	0	1	0	0
ALG 294-168	0	0	2	0	0
ALG 294-169	2	0	0	0	0
ALG 298-173	0	0	1	1	0
ALG 298-178	0	0	3	9	0
ALG 299-179	0	0	1	5	0
ALG 299-180	0	0	2	7	0
ALG 299-184	0	0	1	0	0
ALG 299-185	0	0	1	4	0
ALG 299-186	0	0	1	2	0
ALG 300-188	0	0	2	2	0
ALG 300-189	0	0	6	2	0
ALG 300-190	0	0	4	0	0
ALG 300-196	0	0	1	0	0
ALG 303-197	0	4	3	1	0
ALG 303-198	0	4	1	0	0
ALG 310-208	0	0	0	1	0
ALG 310-209	0	0	1	0	0
ALG 310-211	0	0	0	5	0
ALG 310-212	0	0	0	6	0
ALG 310-213	0	0	1	0	0
ALG 310-215	0	0	0	6	0
ALG 310-216	0	0	0	7	0
ALG 311-217	0	6	10	1	0
ALG 311-218	0	6	5	0	0
ALG 315-219	0	0	3	6	0
ALG 320-223	0	1	0	0	0
ALG 320-224	0	4	1	0	0
ALG 320-225	0	1	0	0	0
ALG 320-226	0	1	1	0	0
ALG 321-227	0	1	0	0	0
ALG 321-229	0	1	0	0	0
ALG 321-231	0	9	0	0	0
ALG 321-232	0	9	0	0	0
ALG 321-233	0	5	0	0	0
ALG 327-239	6	0	0	0	9
ALG 327-240	6	0	0	0	9

ALG 331-246	0	0	0	0	4
ALG 331-247	0	0	0	0	4
ALG 331-248	0	0	0	0	4
ALG 331-249	0	0	0	0	4
ALG 331-250	0	0	0	0	4
ALG 331-251	0	0	0	0	3
ALG 331-252	0	0	0	0	3
ALG 331-253	0	0	0	0	4
ALG 332-256	0	0	0	0	7
ALG 332-257	0	0	0	0	1
ALG 332-258	0	0	0	0	2
ALG 332-259	0	0	0	0	8
ALG 332-261	0	0	0	0	1
ALG 334-270	0	0	0	0	9
ALG 346-285	0	0	0	0	1
ALG 346-288	0	0	0	0	8
ALG 346-291	0	0	0	0	2
ALG 346-292	0	0	0	0	3
ALG 348-296	0	0	0	0	1
ALG 348-297	0	0	0	0	1
ALG 348-301	0	0	0	0	2
ALG 348-304	0	0	0	0	4
ALG 400-305	0	1	0	0	0
ALG 400-306	0	2	0	0	0
ALG 400-309	0	1	0	0	0
ALG 400-312	0	12	0	0	0
ALG 401-313	0	3	0	0	0
ALG 402-315	0	0	1	0	0
ALG402-319	0	0	1	0	0
ALG 402-320	0	2	0	0	0
ALG 403-321	0	4	0	0	0
ALG 404-327	0	15	0	0	0
ALG 404-328	0	2	0	0	0
ALG 404-334	0	1	0	0	0
ALG 405-337	0	1	0	0	0
ALG 405-338	0	2	0	0	0
ALG 405-340	0	8	0	0	0
ALG 405-341	0	9	0	0	0
ALG 405-342	0	2	0	0	0
ALG 408-350	0	8	1	0	0
ALG 408-353	0	2	0	0	0
ALG 408-355	0	5	0	0	0
ALG 408-356	0	3	0	0	0
ALG 410-357	0	1	0	0	0
ALG 410-360	0	4	3	0	0
ALG 410-361	0	9	1	0	0
ALG 410-362	0	3	0	0	0

ALG 412-363	0	4	0	0	0
ALG 412-364	0	0	3	0	0
ALG 412-365	0	3	1	0	0
ALG 412-367	0	5	2	0	0
ALG 412-368	0	6	1	0	0
ALG 418-369	0	0	0	0	3
ALG 418-370	0	0	0	0	7
ALG 423-379	0	0	0	0	7
ALG 429-391	0	0	3	0	0
ALG 429-392	0	1	2	0	0
ALG 429-393	0	1	0	0	0
ALG 431-397	0	2	1	0	0
ALG 431-398	0	2	1	0	0
ALG 431-400	0	2	0	0	0
ALG 431-401	0	2	0	0	0
ALG 431-403	0	4	0	0	0
ALG 432-405	0	7	0	0	0
ALG 432-406	0	14	0	0	0
ALG 433-407	0	5	0	0	0
ALG 433-409	0	1	0	0	0
ALG 434-412	0	3	0	0	0
ALG 434-417	0	2	0	0	0
ALG 434-418	0	2	0	0	0
ALG 437-421	0	14	0	0	0
ALG 437-424	0	1	0	0	0
ALG 438-427	0	9	0	0	0
ALG 438-428	0	10	0	0	0
ALG 438-429	0	4	1	0	0
ALG 439-435	0	2	0	0	0
ALG 439-438	0	3	2	0	0
ALG 440-439	0	6	22	0	0
ALG 441-441	0	3	1	0	0
ALG 441-442	0	1	0	0	0
ALG 441-444	0	2	0	0	0
ALG 443-445	0	0	1	0	0
ALG 443-447	0	3	0	0	0
ALG 443-448	0	4	0	0	0
ALG 443-449	0	3	1	0	0
ALG 443-450	0	1	0	0	0
ALG 443-451	0	4	0	0	0
ALG 443-452	0	3	1	0	0
ALG 444-456	0	0	7	0	0
ALG 444-457	0	0	0	3	0
ALG 444-458	0	0	2	1	0
ALG 444-459	0	0	10	2	0
ALG 448-463	0	6	0	0	0
ALG 448-464	0	7	0	0	0

ALG 449-469	0	0	0	0	1
ALG 449-471	0	0	0	0	4
ALG 449-472	0	0	0	0	3
ALG 452-479	4	0	0	0	0
ALG 452-481	2	0	0	0	6
ALG 452-482	1	0	0	0	10
ALG 453-487	0	10	0	0	0
ALG 453-488	0	3	0	0	0
ALG 454-489	0	1	6	0	0
ALG 454-490	0	2	2	0	0
ALG 456-494	0	4	0	0	0
ALG 460-496	0	9	0	0	0
ALG 462-498	0	0	0	0	2
ALG 466-499	10	0	0	0	3
ALG 466-500	2	0	0	0	0

Tableau 31 : Répartition des populations étudiées en fonction des six groupes de Hill-Smith

Populations	Groupe1	Groupe2	Groupe3	Groupe4	Groupe5	Groupe6
ALG 202	0	0	26	0	0	4
ALG 206	0	19	0	11	0	0
ALG 212	0	5	0	0	0	0
ALG 214	2	14	0	1	0	0
ALG 215	0	0	0	5	0	0
ALG 222	0	0	0	1	12	0
ALG 223	0	0	0	22	3	0
ALG 225	0	0	0	15	0	3
ALG 226	0	0	0	22	3	0
ALG 230	0	0	0	1	20	0
ALG 232	0	0	0	6	10	0
ALG 234	0	0	0	1	26	1
ALG 236	0	0	0	6	24	0
ALG 238	0	0	0	4	0	22
ALG 251	0	0	0	0	0	0
ALG 252	0	0	0	0	0	28
ALG 253	0	0	2	0	0	11
ALG 255	0	0	1	0	0	14
ALG 257	0	0	0	16	0	4
ALG 265	0	1	0	1	0	0
ALG 266	0	2	0	15	2	0
ALG 270	0	0	0	4	2	0
ALG 294	0	0	0	3	0	2
ALG 298	0	0	0	4	10	0
ALG 299	0	0	0	10	14	0
ALG 300	0	0	0	13	4	0
ALG 303	0	5	0	7	1	0
ALG 310	0	0	0	4	23	0
ALG 311	0	11	0	17	0	0
ALG 315	0	0	0	3	6	0
ALG 320	0	4	0	5	0	0
ALG 321	14	11	0	0	0	0
ALG 327	0	0	9	0	0	21
ALG 331	0	0	30	0	0	0
ALG 332	0	0	19	0	0	0
ALG 334	0	0	9	0	0	0
ALG 346	0	0	14	0	0	0
ALG 348	0	0	4	4	0	0
ALG 400	10	6	0	0	0	0
ALG 401	1	2	0	0	0	0
ALG 402	0	3	0	1	0	0
ALG 403	4	0	0	0	0	0
ALG 404	17	1	0	0	0	0
ALG 405	18	4	0	0	0	0

ALG 408	5	13	0	1	0	0
ALG 410	2	18	0	1	0	0
ALG 412	1	17	0	7	0	0
ALG 418	0	0	10	0	0	0
ALG 423	0	0	7	0	0	0
ALG 429	0	2	0	5	0	0
ALG 431	3	10	0	1	0	0
ALG 432	21	0	0	0	0	0
ALG 433	3	3	0	0	0	0
ALG 434	6	1	0	0	0	0
ALG 437	12	3	0	0	0	0
ALG 438	13	6	0	0	0	0
ALG 439	2	9	0	1	0	0
ALG 440	0	10	0	18	0	0
ALG 441	6	1	0	0	0	0
ALG 443	6	12	0	3	0	0
ALG 444	0	7	0	17	1	0
ALG 448	4	9	0	0	0	0
ALG 449	0	0	8	0	0	0
ALG 452	0	0	14	0	0	9
ALG 453	9	4	0	0	0	0
ALG 454	0	4	0	7	0	0
ALG 456	0	4	0	0	0	0
ALG 460	4	5	0	0	0	0
ALG 462	0	0	2	0	0	0
ALG 466	0	0	2	0	0	13

Tableau 32 : Répartition des géotypes étudiés en fonction des six groupes de Hill-Smith

Géotypes	Groupe1	Groupe2	Groupe3	Groupe4	Groupe5	Groupe6
ALG202-5	0	0	10	0	0	2
ALG 202-6	0	0	14	0	0	2
ALG 202-7	0	0	1	0	0	0
ALG 202-8	0	0	1	0	0	0
ALG 206-9	0	4	0	5	0	0
ALG 206-10	0	3	0	6	0	0
ALG 206-11	0	10	0	0	0	0
ALG 206-12	0	2	0	0	0	0
ALG 212-17	0	4	0	0	0	0
ALG 212-18	0	1	0	0	0	0
ALG 214-21	0	1	0	0	0	0
ALG 214-22	1	3	0	0	0	0
ALG 214-25	1	7	0	0	0	0
ALG 214-26	0	3	0	0	0	0
ALG 214-28	0	0	0	1	0	0
ALG 215-33	0	0	0	3	0	0
ALG 215-34	0	0	0	2	0	0
ALG 222-39	0	0	0	0	5	0
ALG 222-40	0	0	0	0	7	0
ALG 222-45	0	0	0	1	0	0
ALG 223-48	0	0	0	1	0	0
ALG 223-49	0	0	0	1	0	0
ALG 223-51	0	0	0	2	3	0
ALG 223-52	0	0	0	5	0	0
ALG 223-53	0	0	0	5	0	0
ALG 223-54	0	0	0	4	0	0
ALG 223-55	0	0	0	1	0	0
ALG 223-56	0	0	0	3	0	0
ALG 225-58	0	0	0	1	0	2
ALG 225-60	0	0	0	9	0	0
ALG 225-63	0	0	0	1	0	1
ALG 225-64	0	0	0	4	0	0
ALG 226-67	0	0	0	3	0	0
ALG 226-68	0	0	0	4	0	0
ALG 226-69	0	0	0	3	0	0
ALG 226-70	0	0	0	1	0	0
ALG 226-72	0	0	0	2	0	0
ALG 226-73	0	0	0	3	0	0
ALG 226-74	0	0	0	2	1	0
ALG 226-75	0	0	0	3	1	0
ALG 226-76	0	0	0	1	1	0
ALG 230-77	0	0	0	1	1	0

ALG 230-78	0	0	0	0	1	0
ALG 230-79	0	0	0	0	5	0
ALG 230-80	0	0	0	0	7	0
ALG 230-81	0	0	0	0	6	0
ALG 232-89	0	0	0	0	5	0
ALG 232-90	0	0	0	1	1	0
ALG 232-91	0	0	0	4	1	0
ALG 232-92	0	0	0	1	3	0
ALG 234-93	0	0	0	0	1	0
ALG 234-94	0	0	0	1	0	0
ALG 234-95	0	0	0	0	5	0
ALG 234-96	0	0	0	0	2	0
ALG 234-97	0	0	0	0	5	0
ALG 234-98	0	0	0	0	4	0
ALG 234-99	0	0	0	0	5	0
ALG 234-100	0	0	0	0	4	0
ALG 234-102	0	0	0	0	0	1
ALG 236-105	0	0	0	0	4	0
ALG 236-106	0	0	0	0	4	0
ALG 236-107	0	0	0	0	4	0
ALG 236-108	0	0	0	0	4	0
ALG 236-109	0	0	0	4	0	0
ALG 236-110	0	0	0	0	4	0
ALG 236-111	0	0	0	0	3	0
ALG 236-112	0	0	0	2	1	0
ALG 238-113	0	0	0	0	0	3
ALG 238-114	0	0	0	0	0	7
ALG 238-115	0	0	0	1	0	1
ALG 238-116	0	0	0	1	0	5
ALG 238-117	0	0	0	1	0	5
ALG 238-118	0	0	0	1	0	1
ALG 251-120	0	0	0	0	0	0
ALG 252-121	0	0	0	0	0	1
ALG 252-123	0	0	0	0	0	3
ALG 252-124	0	0	0	0	0	5
ALG 252-125	0	0	0	0	0	5
ALG 252-126	0	0	0	0	0	4
ALG 252-127	0	0	0	0	0	5
ALG 252-128	0	0	0	0	0	4
ALG 252-129	0	0	0	0	0	1
ALG 253-131	0	0	0	0	0	3
ALG 253-134	0	0	0	0	0	7
ALG 253-135	0	0	1	0	0	0
ALG 253-136	0	0	0	0	0	1
ALG 253-137	0	0	1	0	0	0

ALG 255-141	0	0	1	0	0	8
ALG 255-145	0	0	0	0	0	4
ALG 255-146	0	0	0	0	0	2
ALG 257-147	0	0	0	1	0	0
ALG 257-150	0	0	0	2	0	0
ALG 257-153	0	0	0	8	0	2
ALG 257-154	0	0	0	5	0	2
ALG 265-157	0	1	0	1	0	0
ALG 266-159	0	0	0	4	1	0
ALG 266-160	0	1	0	6	0	0
ALG 266-161	0	1	0	2	1	0
ALG 266-162	0	0	0	3	0	0
ALG 270-163	0	0	0	3	2	0
ALG 270-164	0	0	0	1	0	0
ALG 294-167	0	0	0	1	0	0
ALG 294-168	0	0	0	2	0	0
ALG 294-169	0	0	0	0	0	2
ALG 298-173	0	0	0	1	1	0
ALG 298-178	0	0	0	3	9	0
ALG 299-179	0	0	0	2	4	0
ALG 299-180	0	0	0	4	5	0
ALG 299-184	0	0	0	1	0	0
ALG 299-185	0	0	0	2	3	0
ALG 299-186	0	0	0	1	2	0
ALG 300-188	0	0	0	2	2	0
ALG 300-189	0	0	0	6	2	0
ALG 300-190	0	0	0	4	0	0
ALG 300-196	0	0	0	1	0	0
ALG 303-197	0	2	0	5	1	0
ALG 303-198	0	3	0	2	0	0
ALG 310-208	0	0	0	0	1	0
ALG 310-209	0	0	0	1	0	0
ALG 310-211	0	0	0	0	5	0
ALG 310-212	0	0	0	1	5	0
ALG 310-213	0	0	0	1	0	0
ALG 310-215	0	0	0	1	5	0
ALG 310-216	0	0	0	0	7	0
ALG 311-217	0	5	0	12	0	0
ALG 311-218	0	6	0	5	0	0
ALG 315-219	0	0	0	3	6	0
ALG 320-223	0	0	0	1	0	0
ALG 320-224	0	2	0	3	0	0
ALG 320-225	0	1	0	0	0	0
ALG 320-226	0	1	0	1	0	0
ALG 321-227	1	0	0	0	0	0

ALG 321-229	1	0	0	0	0	0
ALG 321-231	4	5	0	0	0	0
ALG 321-232	5	4	0	0	0	0
ALG 321-233	3	2	0	0	0	0
ALG 327-239	0	0	5	0	0	10
ALG 327-240	0	0	4	0	0	11
ALG 331-246	0	0	4	0	0	0
ALG 331-247	0	0	4	0	0	0
ALG 331-248	0	0	4	0	0	0
ALG 331-249	0	0	4	0	0	0
ALG 331-250	0	0	4	0	0	0
ALG 331-251	0	0	3	0	0	0
ALG 331-252	0	0	3	0	0	0
ALG 331-253	0	0	4	0	0	0
ALG 332-256	0	0	7	0	0	0
ALG 332-257	0	0	1	0	0	0
ALG 332-258	0	0	2	0	0	0
ALG 332-259	0	0	8	0	0	0
ALG 332-261	0	0	1	0	0	0
ALG 334-270	0	0	9	0	0	0
ALG 346-285	0	0	1	0	0	0
ALG 346-288	0	0	8	0	0	0
ALG 346-291	0	0	2	0	0	0
ALG 346-292	0	0	3	0	0	0
ALG 348-296	0	0	1	0	0	0
ALG 348-297	0	0	0	1	0	0
ALG 348-301	0	0	2	0	0	0
ALG 348-304	0	0	1	3	0	0
ALG 400-305	1	0	0	0	0	0
ALG 400-306	2	0	0	0	0	0
ALG 400-309	0	1	0	0	0	0
ALG 400-312	7	5	0	0	0	0
ALG 401-313	1	2	0	0	0	0
ALG 402-315	0	1	0	0	0	0
ALG402-319	0	0	0	1	0	0
ALG 402-320	0	2	0	0	0	0
ALG 403-321	4	0	0	0	0	0
ALG 404-327	14	1	0	0	0	0
ALG 404-328	2	0	0	0	0	0
ALG 404-334	1	0	0	0	0	0
ALG 405-337	1	0	0	0	0	0
ALG 405-338	1	1	0	0	0	0
ALG 405-340	5	3	0	0	0	0
ALG 405-341	9	0	0	0	0	0
ALG 405-342	2	0	0	0	0	0

ALG 408-350	3	5	0	1	0	0
ALG 408-353	2	0	0	0	0	0
ALG 408-355	0	5	0	0	0	0
ALG 408-356	0	3	0	0	0	0
ALG 410-357	0	1	0	0	0	0
ALG 410-360	0	7	0	0	0	0
ALG 410-361	0	9	0	1	0	0
ALG 410-362	2	1	0	0	0	0
ALG 412-363	0	4	0	0	0	0
ALG 412-364	0	0	0	3	0	0
ALG 412-365	1	2	0	1	0	0
ALG 412-367	0	5	0	2	0	0
ALG 412-368	0	6	0	1	0	0
ALG 418-369	0	0	3	0	0	0
ALG 418-370	0	0	7	0	0	0
ALG 423-379	0	0	7	0	0	0
ALG 429-391	0	0	0	3	0	0
ALG 429-392	0	1	0	2	0	0
ALG 429-393	0	1	0	0	0	0
ALG 431-397	0	2	0	1	0	0
ALG 431-398	1	2	0	0	0	0
ALG 431-400	1	1	0	0	0	0
ALG 431-401	1	1	0	0	0	0
ALG 431-403	0	4	0	0	0	0
ALG 432-405	7	0	0	0	0	0
ALG 432-406	14	0	0	0	0	0
ALG 433-407	2	3	0	0	0	0
ALG 433-409	1	0	0	0	0	0
ALG 434-412	2	1	0	0	0	0
ALG 434-417	2	0	0	0	0	0
ALG 434-418	2	0	0	0	0	0
ALG 437-421	12	2	0	0	0	0
ALG 437-424	0	1	0	0	0	0
ALG 438-427	4	5	0	0	0	0
ALG 438-428	9	1	0	0	0	0
ALG 438-429	0	5	0	0	0	0
ALG 439-435	2	0	0	0	0	0
ALG 439-438	0	4	0	1	0	0
ALG 440-439	0	10	0	18	0	0
ALG 441-441	3	1	0	0	0	0
ALG 441-442	1	0	0	0	0	0
ALG 441-444	2	0	0	0	0	0
ALG 443-445	0	0	0	1	0	0
ALG 443-447	1	2	0	0	0	0
ALG 443-448	2	2	0	0	0	0

ALG 443-449	0	3	0	1	0	0
ALG 443-450	1	0	0	0	0	0
ALG 443-451	2	2	0	0	0	0
ALG 443-452	0	3	0	1	0	0
ALG 444-456	0	7	0	0	0	0
ALG 444-457	0	0	0	2	1	0
ALG 444-458	0	0	0	3	0	0
ALG 444-459	0	0	0	12	0	0
ALG 448-463	3	3	0	0	0	0
ALG 448-464	1	6	0	0	0	0
ALG 449-469	0	0	1	0	0	0
ALG 449-471	0	0	4	0	0	0
ALG 449-472	0	0	3	0	0	0
ALG 452-479	0	0	0	0	0	4
ALG 452-481	0	0	5	0	0	3
ALG 452-482	0	0	9	0	0	2
ALG 453-487	7	3	0	0	0	0
ALG 453-488	2	1	0	0	0	0
ALG 454-489	0	2	0	5	0	0
ALG 454-490	0	2	0	2	0	0
ALG 456-494	0	4	0	0	0	0
ALG 460-496	4	5	0	0	0	0
ALG 462-498	0	0	2	0	0	0
ALG 466-499	0	0	2	0	0	11
ALG 466-500	0	0	0	0	0	2

Annexe 12 : Figures et tableaux de la partie moléculaire

Eigenvalues

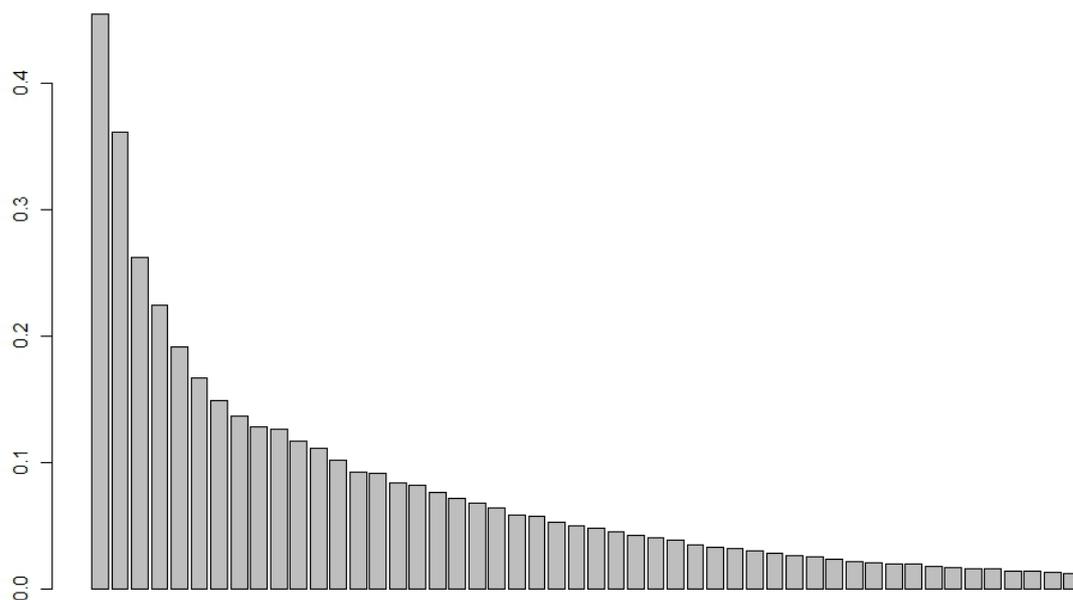


Figure 89 : Représentation des valeurs propres des axes de l'ACP

Allele contributions to the PC3

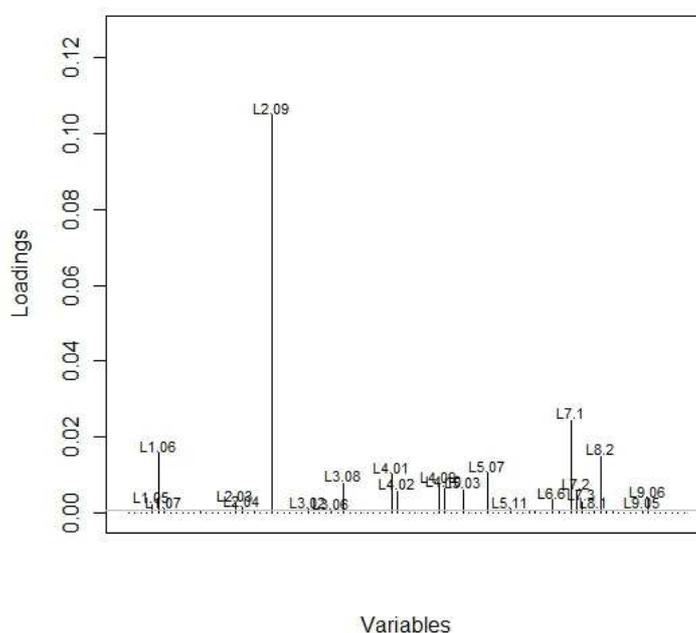


Figure 90 : Contribution des allèles dans l'information contenue au niveau de l'axe F3 de l'ACP

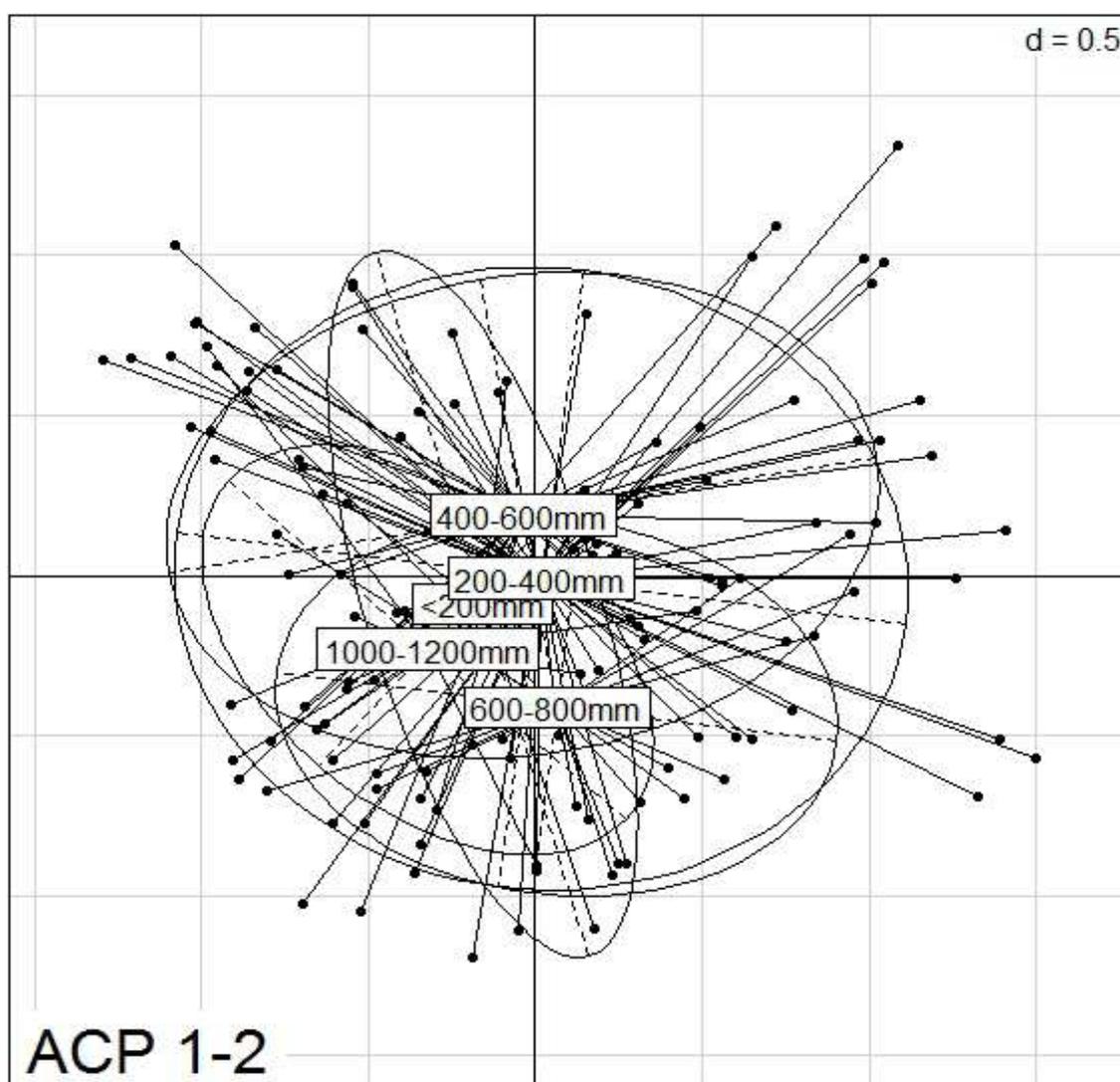


Figure 91 : Projection des géotypes sur le plan 1 / 2 de l'ACP en fonction de la variable supplémentaire pluviométrie

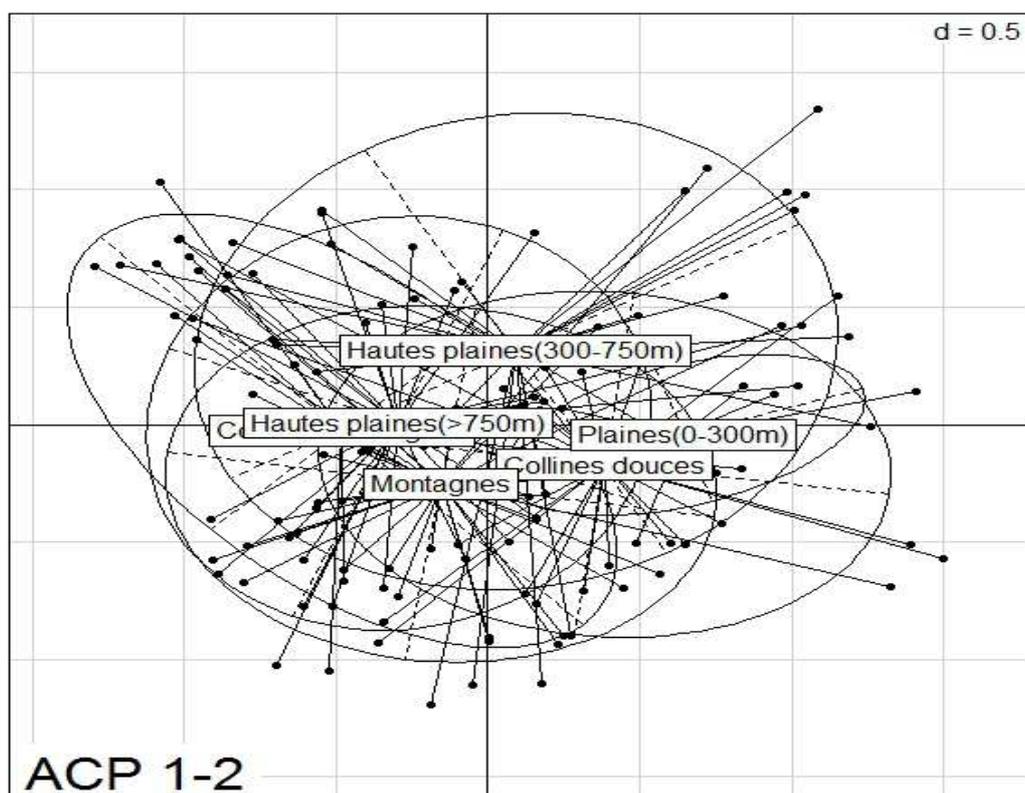


Figure 92 : Projection des géotypes sur le plan 1 / 2 de l'ACP en fonction de la variable supplémentaire relief

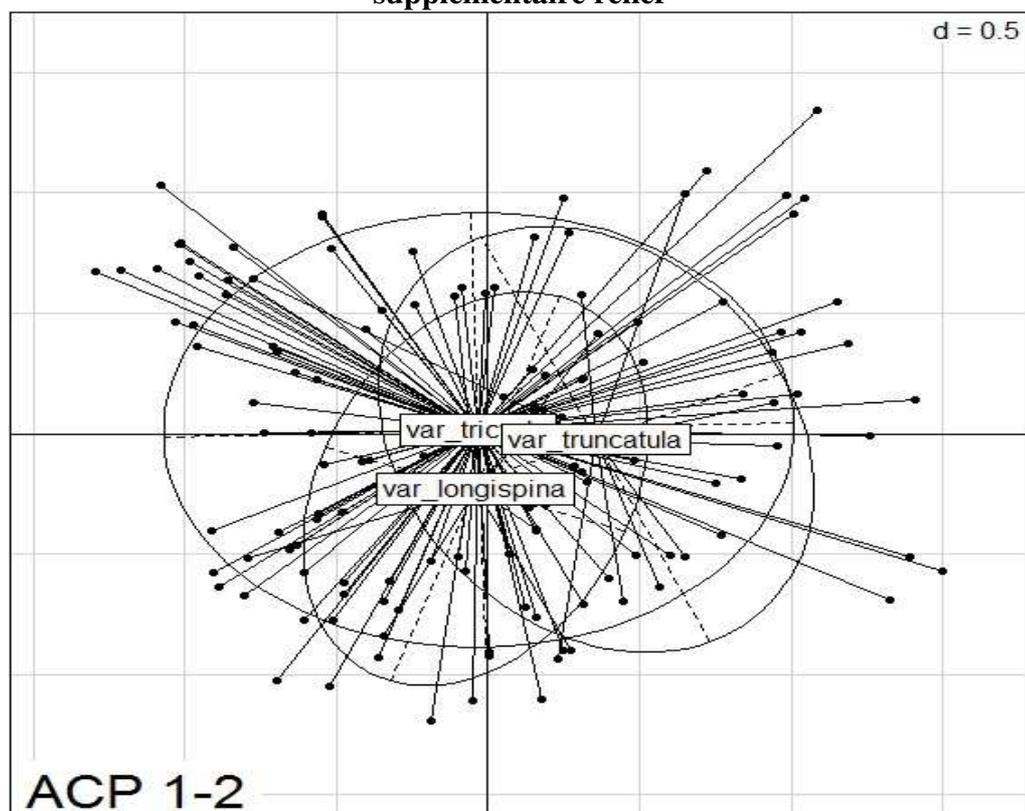


Figure 93 : Projection des géotypes sur le plan 1 / 2 de l'ACP en fonction de la variable supplémentaire variété Heyn, (1963)

Tableau 33 : Répartition des populations et lignées étudiées en fonction du nombre optimal déterminé par la méthode BIC

Populations et lignées étudiées	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
ALG202	0	0	0	0	1	0
ALG 206	2	0	0	0	0	0
ALG 212	1	0	0	0	0	0
ALG 214	2	1	0	0	0	0
ALG 215	0	0	0	0	1	0
ALG 219	0	0	0	0	1	0
ALG 222	0	0	0	0	2	0
ALG 223	0	0	0	0	0	5
ALG 225	1	0	0	0	1	1
ALG 226	5	0	0	0	0	0
ALG 230	1	0	0	0	2	0
ALG 232	1	0	0	0	0	0
ALG 234	1	0	2	0	1	0
ALG 236	0	0	3	0	1	0
ALG 238	0	0	1	0	1	0
ALG 251	0	0	1	0	0	0
ALG 252	0	0	4	0	0	0
ALG 253	0	0	3	0	0	0
ALG 255	0	1	2	0	0	0
ALG 257	0	0	0	1	0	0
ALG 265	1	0	0	0	0	0
ALG 266	0	0	0	0	2	0
ALG 294	0	0	0	0	2	0
ALG 298	1	0	0	0	0	0
ALG 299	1	0	0	0	1	0
ALG 300	2	0	0	0	0	0
ALG 303	0	1	0	0	0	0
ALG 308	0	0	0	1	0	0
ALG 310	0	0	0	3	0	0
ALG 311	0	0	0	1	0	0
ALG 315	0	0	0	1	0	0
ALG 320	0	0	0	0	2	0
ALG 327	0	0	1	0	0	0
ALG 331	1	2	0	2	0	0
ALG 332	0	1	0	0	0	0
ALG 333	0	1	0	0	0	0
ALG 334	0	1	0	0	0	0
ALG 348	0	1	0	0	0	0
ALG 400	0	1	0	0	0	0
ALG 402	0	1	0	0	0	0
ALG 404	0	1	0	0	0	0
ALG 405	1	0	1	1	0	0
ALG 408	1	0	0	2	0	0
ALG 410	0	1	0	0	0	0
ALG 412	0	3	0	0	0	0
ALG 418	0	2	0	0	0	0

ALG 423	0	1	0	0	0	0
ALG 429	0	2	0	0	0	0
ALG 431	0	3	0	0	0	0
ALG 432	0	1	0	0	0	0
ALG 433	0	1	0	0	0	0
ALG 434	0	1	0	0	0	0
ALG 436	0	1	0	0	0	0
ALG 437	0	1	0	0	0	0
ALG 438	1	0	0	0	0	0
ALG 439	0	0	0	4	0	0
ALG 440	0	1	0	0	0	0
ALG 441	0	1	0	0	0	0
ALG 443	0	2	0	1	0	0
ALG 444	1	1	0	1	0	0
ALG 448	0	1	0	0	0	0
ALG 449	0	1	1	0	0	0
ALG 452	0	2	0	0	0	0
ALG 453	0	0	0	1	0	0
ALG 454	0	0	0	1	0	0
ALG 456	0	0	1	1	0	0
ALG 460	1	0	0	0	0	0
ALG 462	0	1	0	0	0	0
ALG 466	0	0	1	0	0	0
DZA45-5	1	0	0	0	0	0
DZA315-16	1	0	0	0	0	0
F83005.5	1	0	0	0	0	0
F83005.9	1	0	0	0	0	0
TN8.3	1	0	0	0	0	0
A20	1	0	0	0	0	0
A17	0	0	0	0	1	0

Tableau 34 : Répartition des modalités pluviométriques en fonction du nombre optimal de groupes déterminé par la méthode BIC

Modalités pluviométriques	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
<200mm	0	0	1	0	1	1
1000-1200mm	0	0	5	0	2	1
200-400mm	9	8	17	5	12	9
400-600mm	8	0	7	1	9	13
600-800mm	1	11	6	0	3	0

Tableau 35 : Répartition des modalités Relief en fonction du nombre optimal de groupes déterminé par la méthode BIC

Modalités Relief	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
Collines-montagnes	1	0	3	0	6	0
Collines douces	9	9	3	0	2	2
Hautes plaines (>750m)	2	1	11	0	6	8
Hautes plaines (300-750m)	3	0	5	5	7	8
Montagnes	2	6	14	1	6	4
Plaines (0-300m)	1	3	0	0	0	2

Tableau 36 : Répartition des variétés de Heyn (1963) en fonction du nombre optimal de groupes déterminé par la méthode BIC

Variétés Heyn (1963)	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
var_longispina	1	0	4	0	0	2
var_tricycla	17	14	31	5	26	26
var_truncatula	1	5	1	1	1	2

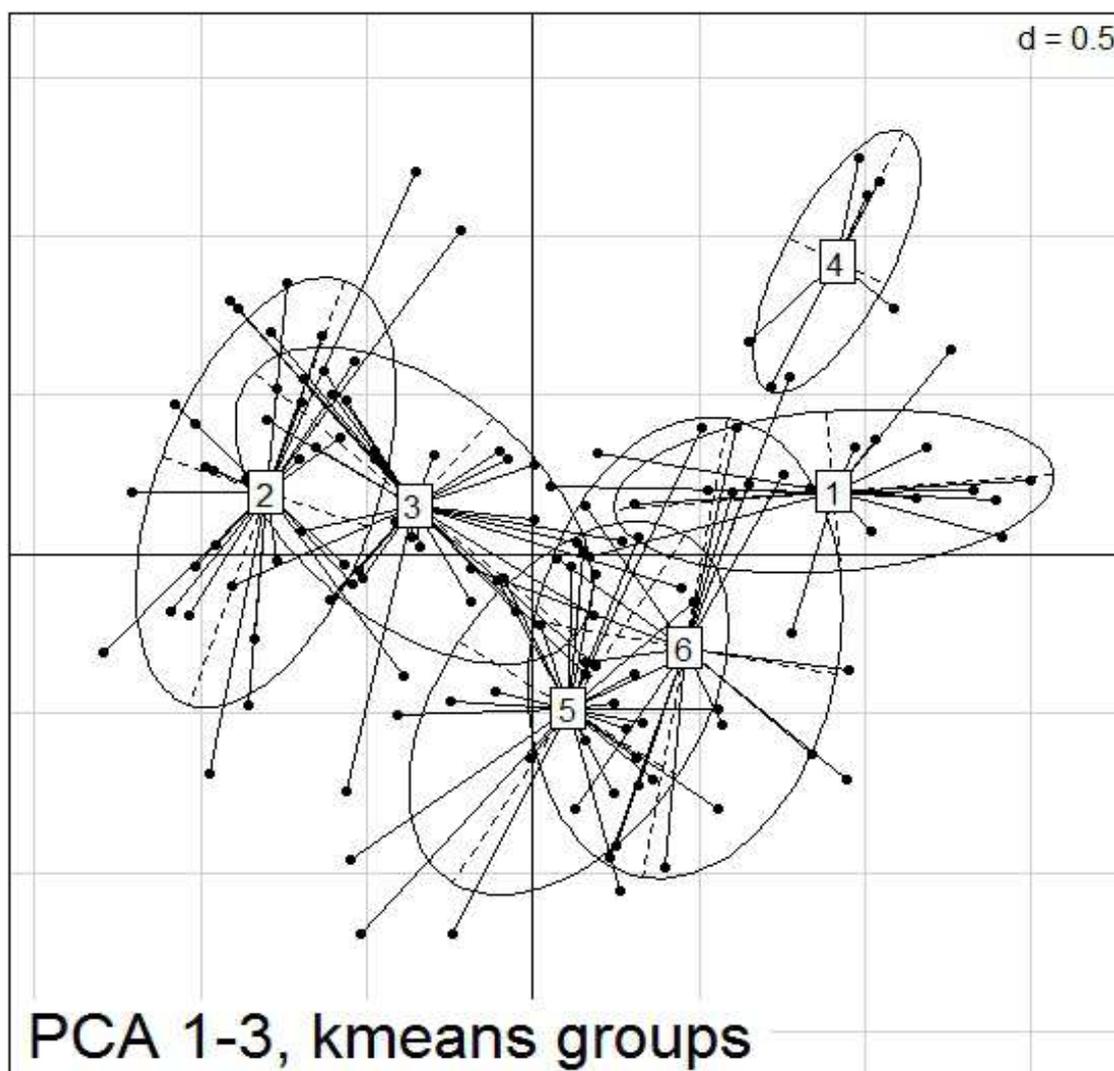


Figure 94 : Nouvelle répartition des populations en fonction des 6 groupes de Kmeans sur le plan 1 / 3 de l'ACP

Tableau 37 : Relation entre la structure génétique des populations et différents facteurs écologique ou génétique. La diversité intrapopulation est quantifiée par l'indice de diversité H_e ; la différenciation est mesurée entre populations (Hamrick et Godt, 1990 *in* Ronfort et *al.*, 2005, Loveless et Hamrick 1984 *in* Ronfort et *al.*, 2005) (écart type entre parenthèse).

Facteur écologique ou génétique	Nombre d'études	Diversité intrapopulation	Différenciation (Fst)
Système de reproduction			
Autogamie	78	0.149 (0.016)	0.510 (0.035)
Allogamie	258	0.250 (0.011)	0.165 (0.010)
Mixte	48	0.174 (0.044)	0.243 (0.059)
Mode de reproduction			
Sexué	352	0.229 (0.007)	0.225 (0.013)
Sexué/végétatif	54	0.236 (0.018)	0.213 (0.027)
Mécanismes de pollinisation			
Entomophile	124	0.243 (0.010)	0.197 (0.017)
Anémophile	134	0.259 (0.011)	0.099 (0.012)
Dispersion des graines			
Gravité	161	0.207 (0.011)	0.277 (0.021)
Vent	121	0.241 (0.011)	0.143 (0.020)
Explosion de l'inflorescence	23	0.217 ((0.023)	0.243 (0.048)
Animaux	18	0.243 (0.063)	0.983 (0.129)
Perennité			
Annualité (herbacée)	146	0.200 (0.012)	0.357 (0.024)
Pérennité (herbacée)	119	0.222 (0.013)	0.233 (0.019)

Annexe 13 : Protocole et matériels utilisés dans la partie moléculaire

Annexe 13.1. : Protocole Partie moléculaire et matériels utilisés

I. Préparation des DNTP

Les DNTP sont préparés à partir des solutions mères de 100mM

DNTP : 76 μ l H₂O +1 μ l DATP
 +1 μ l DTTP
 +1 μ l DCTP
 +1 μ l DGTP
 760ul d'H₂O +10 μ l DATP
 +10 μ l DTTP
 +10 μ l DCTP
 +10 μ l DGTP

Volume total préparé : 800 μ l DNTP

II. Préparation des amorces

X μ g+X μ l

1 μ g/1 μ l

1000 μ g/1 μ l diluer 20X 190 μ l H₂O+ 10 μ l d'amorces

1 μ l = 50ng/ul

380 μ l H₂O+10 μ lL+10 μ lR = 400 μ l d'amorces à 50 ng/ul

III. Préparation d'un gel agarose à 3.5%

250 ml d'H₂O+8,75g d'agarose+15 μ l de bromure d'éthidium

A utiliser TBE 0.5x :

Le voltage est de 110v.

IV. Préparation du tampon d'extraction

Pour 100 ml

2g de CTAB

10ml de Tris-Hcl 1M pH8

28ml de NaCl 5M

4ml d'EDTA 0,5M pH8

0,5ml de β mercaptoéthanol (à ajouter après autoclavage du tampon).

Après préparation le tampon se conserve à température ambiante.

V. Préparation du gel acrylamide

Dans une éprouvette mettre : 70 ml

Volume préparé	70 ml (petite plaque)
UREE	33.6 grs
TBE (10x)	7 ml
Acrylamide/bis	10.5 ml (6 %)
H ₂ O	Compléter à l'aide d'une pissette à 70 ml

Nettoyage des plaques

Plaque cuve

- Travailler sous la hotte
- Nettoyer à l'alcool absolu deux fois (deux fois à la verticale et deux fois à l'horizontale).
- Répartir 1.3 ml soit 1300 μ l de répulsif (frais) sur la plaque

- Etaler avec un papier : faire deux passages verticalement et horizontalement,
- Laisser agir 5 à 10 min, afin d'empêcher le gel de coller.

Outer plaque

- Changer de gants
- Laver à l'alcool absolu trois fois
- Mélanger dans un tube eppendorf

Ethanol 100%	0.6435 ml	0.6435 ml Alcool
Acide acétique		3.25 µl Ac. acétique
Silane	3.25 µl	

- Vortexer le tout
- Etaler très rapidement par point
- Laisser agir 5 min (permet au gel de rester coller à la plaque)
- Faire deux passages à l'alcool absolu

Coulage du gel

- Ajouter dans l'éprouvette contenant le gel du persulfate d'ammonium (10%) et 14 µl de Temed.
- Transvaser le tout dans un becher
- Couler le gel entre les deux plaques à débit constant, en évitant de faire des bulles
- Placer le peigne entre les deux plaques et serrer à l'aide pinces
- Laisser polymériser.

VI. Préparation des solutions de coloration

Volume préparé	Grande plaque	Petite plaque
Solution de fixation : (sur la paillasse) Acide acétique glacial H ₂ O milliQ	200 ml 1800 ml	160 ml 1440 ml
Solution de coloration : Nitrate d'argent à 5 % H ₂ O milliQ	40 ml 1960 ml	40 ml 1960 ml
Développement (2X) : Carbonate de Sodium H ₂ O milliQ	60 g 2000 ml	48 g 1600 ml

Les solutions de coloration doivent être préparées avant le dépôt et la migration et les solutions de carbonate de sodium avec 4 litres d'eau sont à conserver au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation.

VII. Préparation du tampon TBE 10x TBE → TBE 1x.

Dans une éprouvette 2 litres : 150ml TBE 10x et compléter avec H₂O ultra pure jusqu'à 1.5l.

Phase pré run.

- Passer la cuve sous l'eau du robinet pour éliminer l'acrylamide qui a débordé, et brosser le peigne à l'aide d'une brosse.
- Remplir les cuves de Tempon TBE 1x.
- Faire un pré run pendant 30min. 70W, 1670V, 300mA. Le peigne doit être enlevé au bout de 5 min.

En attendant la fin de la phase pré run :

La plaque de dépôt doit être préparé : 2µl PCR+ 8 µl eau+10 µl bleu formamide+Ladder 5 µl.

Dénaturation : 5 min à 94°C puis stocker sur de la glace.

Dépôt des échantillons

- Rincer la ligne de base pour chasser l'urée.
- Déposer les échantillons (3.5 µl pour 64 puits)
- Lancer la migration
- Mettre la plaque de verre (l'outerplaque) dans un bac, gel vers le haut et ajouter la solution de fixation (acide acétique), 20 min minimum sous agitation.
- Attention : récupérer la solution de fixation, pour fixer la coloration après le 2^{ème} développement.
- Faire 3 rinçages avec l'eau distillée 3min sous agitation.
- Sous la hotte : ajouter 3 ml (grande plaque de formaldéhyde de 37 % dans les 2 litres de solutions de coloration (nitrate d'argent)
- Mettre le gel dans la solution de coloration pendant 30min minimum, sous agitation.
- Ajouter dans les deux solutions de développement (carbonate de sodium à 4°C)

Thiosulfate de sodium (1 %)	400 µl
Formaldéhyde (37%)	2.4ml

- Egoutter le gel – Mettre le gel dans l'eau distillé à 4°C pendant 10 secondes en agitant manuellement.
- Sans égoutter, mettre le gel dans le 1^{er} bain de développement en agitant manuellement.
- Lorsque la coloration est suffisante ajouter la solution de fixation (acide acétique récupéré) dans le bain de développement. Bien mélanger et laisser 5 minutes sous agitateur.
- Rincer 2 à 3 fois dans l'eau pendant 5 min sous agitation, jusqu'à ce que l'eau s'écoule bien sur le gel.

Annexe 13.2. : Matériels utilisés

- Thermocycleur : type Gene amp PCR system 9700.
- Electrophorèse verticale : type Eps 3501 XL
- Electrophorèse horizontale : type Apelex ST210T.
- Scanner de gels : type AGFA SNAP SCAN 1236
- Centrifugeuse : type Hettich zentrifugen MIKRO 12-2K
- Vortex : type Fisher Bioblock Scientifi, Top Mix 11118
- Bain Marie : memmert wb-7
- Etuves :
 - o Memmert 600 : pour le materiel vegetal
 - o Memmert 700 : pour le sol
- Logiciel : Gel Pro analyser 32

Résumé

En raison, d'une part, de l'intérêt de l'espèce *M. truncatula* et de l'ampleur prise par cette dernière sur le plan moléculaire et, d'autre part, des difficultés qu'ont trouvées certains taxinomistes à différencier *M. truncatula* d'autres espèces et à différencier certaines des variétés de celle-ci, mais aussi du fait que l'espèce a une distribution assez large, ce qui peut lui permettre de s'adapter à différentes conditions édapho-climatiques, il nous a semblé intéressant d'étudier la variabilité morphologique et moléculaire de populations algériennes de *M. truncatula*. Pour cela, nous avons étudié des caractères qui nous ont semblé discriminants sur le plan morphologique, à l'issue d'une conduite de la culture sous serre de 81 populations algériennes ; nous avons structuré la diversité des 81 populations, par l'utilisation de 9 SSR ; la révélation a été faite sur gel d'acrylamide.

Pour la partie morphologique, les caractères quantitatifs et qualitatifs ont fait l'objet d'un pull d'analyses monovariées et multivariées les étudiant séparément. Enfin, une analyse de Hill-Smith nous a permis d'étudier les deux types de variables réunies.

Pour la partie moléculaire, les indices d'hétérozygotie, la variabilité par marqueur et globale, les Fstats et les corrélations des génotypes obtenues avec les facteurs du milieu et des tests du khi-2 ont également été réalisés.

Les résultats de l'étude morphologique auxquels nous sommes parvenus sont :

- L'existence de variabilité inter et intra populations pour tous les caractères quantitatifs,
- la faiblesse des coefficients de corrélation,
- la difficulté de regrouper nos lignées étudiées en fonction des variables supplémentaires,
- l'existence de 5 à 6 groupes bien distincts issus de l'analyse Hill-Smith.

L'étude de la partie moléculaire a révélé pour sa part :

- une hétérozygotie observée supérieure à l'hétérozygotie attendue sur deux locus (L4 et L6) et un excès d'hétérozygotes sur ces mêmes locus,
- une variance intra population non significative, contrairement à la variance inter populations,
- l'obtention de 6 groupes au niveau moléculaire par la méthode BIC,
- le test de khi-2 a confirmé l'appartenance de la variable pluviométrie aux 6 groupes de Kmeans.

Mots clés

M. truncatula, variabilité morphologique, variabilité moléculaire, analyse monovariée, analyse multi variée.

Summary

Because of, one hand, the interest of the *M. truncatula* species and its magnitude on the molecular level. Because of, the other hand, the difficulties found by the taxonomists to differentiate *M. truncatula* from other species and to differentiate some of its varieties, but also, due to its broad distribution, which may enable it to adapt to different soil and climatic conditions, it seemed to be appropriate to study the morphological and molecular variability of Algerian populations of *M. truncatula*. For this, we studied traits we felt discriminatory on the morphological level, after a crop conduction under a greenhouse of 81 Algerian populations ; we have structured the 81 population's diversity with 9 SSR markers, the revelation was done on acrylamid gel.

For the morphological part, the quantitative and qualitative traits were studied separately with univariate and multivariate analysis. Finally, a Hill-Smith analysis helps us to study the two kinds of traits together.

For the molecular part, heterozygosity indices, global variability and variability per marker, F indices, correlations between genotypes and environmental factors and khi-2 test were realized.

The results for the morphological part are :

- the presence of between and inside population variability for all the quantitative traits,
- the weakness but significant of correlation coefficient,
- the difficulties to join our lines with supplementary variable,
- the existence of 5 to 6 separate groups after the Hill-Smith analysis,

The study of the molecular part revealed :

- Observed Heterozygosity higher than expected Heterozygosity in two locus (L4-L6) and an excess of heterozygotes in these two locus,
- A non significant variability inside populations unlike to the between populations variability,
- The determination of 6 groups by the BIC method,
- The khi-2 test confirmed the belonging of the rainfall variable to the six groups.

Key words

M. truncatula, morphological variability, molecular variability, univariate analysis, multi variate analysis.

المخلص

بسبب قيمة نوع نبتة *M. truncatula* و المدى الكبير الذي وصلت إليه في الدراسة الجزئية، بسبب كذلك الصعوبات التي عرفها مصنفي النباتات في تفريقها عن غيرها من الأنواع و تمييز بعض أصنافها النباتية، وكذلك بسبب توزيعها العريض الذي قد يمكنها من تحمل ظروف مناخية و ترابية مختلفة ظهر لنا من المهم دراسة التنوع زجاجية المرفلوجي و الجزئي لعشيرات جزائرية من *M. truncatula*. لهذا الغرض درسنا على المستوى المرفلوجي الأشكال الأكثر تمييز بعد متابعة 81 عشيرة جزائرية تحت بيوت زجاجية، و نظم تنوعها باستعمال 9 SSR. تم الكشف على هلام الأكريلاميد.

في الجزء المرفلوجي تم دراسة الصفات الكمية و النوعية و تحليلها على حدة بتحليل أحادية و متعددة التغيرات. كما تم تحليل نوعي الصفات مع بعض بتحليل Hill-Smith في جزء الدراسة الجزئية تم دراسة H_E و H_o و التغير الكلي و لكل Fstats و مدى ارتباط ADN بخصائص المحيط

- وجود تغير بين و داخل العشيرات لكل الصفات الكمية
- ضعف معامل الارتباط رغم تعبيره
- صعوبة جمع الخطوط المدروسة بالمغيرات المضافة

وجود من 5 إلى 6 مجموعات متباينة بعد دراسة Hill-Smith النتائج التي وصلنا إليها بعد الدراسة الجزئية

- تغاير الزيوجت الملاحظ H_o أعلى من تغاير الزيوجت المتوقع عند L4 و L6 كما يظهر في هذين الموقعين فائض في *hétérozygotes*.
- التنوع داخل العشيرات غير معبر على عكس التنوع بين العشيرات
- التحصل على 6 مجموعات على المستوى الجزئي بدراسة BIC
- تحليل khi-2 معبر يثبت انتماء المغير تساقط الأمطار إلى 6 مجموعات Kmeans

الكلمات المفتاح

M. truncatula التنوع المرفلوجي التنوع الجزئي تحليل أحادية التغير تحليل متعددة التغير

