



Revue semestrielle – Université Ferhat Abbas Sétif 1

REVUE AGRICULTURE

Revue home page: <http://www: http://revue-agro.univ-setif.dz/>



Etude caryologique et moléculaire de deux populations algériennes d'*Artemisia herba alba* Asso. (Astraceae)

Y. Bougoutaia ¹, B. Nedjimi ², A. Adda ³, M. Kaid-Harche ⁴

¹Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Djelfa Cité Aïn Chih, BP 3117 Djelfa 17000 (Algérie).

²Laboratoire d'Exploration et de Valorisation des Écosystèmes Steppiques Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Djelfa Cité Aïn Chih, BP 3117 Djelfa 17000 (Algérie).

³Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abderrahmane Ibn Khaldoune, Tiaret (Algérie).

⁴Laboratoire des Productions, Valorisation Végétales et Microbiennes, Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences, Université des Sciences et de la Technologie, Mohamed Boudiaf, BP 1505, El M'naouar, Oran 31000 (Algérie).

Auteur correspondant: B. Nedjimi Tel.: + 213 662 128 131/Fax: + 213 27 900 201 E-mail: bnedjimi@yahoo.fr

ARTICLE INFO

Reçu : 05 – 09 - 2014

Accepté : 19 - 12 - 2014

Mots clés :

Artemisia herba-alba Asso.; Cytogénétique; Marqueur ISSR; Variabilité génétique ; Steppe algérienne.

Key words:

Artemisia herba-alba Asso.; Algerian steppe; Genetic variability; Marker ISSR.

RÉSUMÉ

Une caractérisation caryologique et moléculaire de deux populations d'*Artemisia herba-alba* Asso. (Astraceae) provenant de la zone de *Taadmit* et d'*Oued Sedar* (Djelfa, Algérie) a fait l'objet de ce travail. Le dénombrement chromosomique effectué sur les divisions mitotiques des cellules somatiques issues des apex racinaires a révélé un nombre chromosomique de $2n = 36$. L'analyse du matériel génétique par l'utilisation du marqueur génétique ISSR réalisé sur 18 individus de la provenance d'*Oued Sedar* indique que l'espèce est caractérisée par un polymorphisme moléculaire important.

ABSTRACT

Caryological and bimolecular study of two Algerian *Artemisia herba-alba* Asso. (Astraceae). Caryological and molecular characterization of *Artemisia herba-alba* Asso. (Astraceae) from two Algerian localities was presented. The chromosomal number carried out on somatic cells of apexes root revealed a basic number of $2n = 36$. The analysis of the genetic material of *Oued Sedar* province using ISSR genetic marker indicates that *A. herba-alba* was characterized by high molecular polymorphism.

1. Introduction

L'Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.) de la famille des Asteraceae est un ligneux bas de bonne valeur fourragère (Houmani et al., 2004) dont l'aire géographique s'étend depuis les Canaries et l'Espagne à l'Ouest, jusqu'au l'Ouzbekistan à l'Est, à travers tout l'Afrique du Nord et du Proche-Orient (Quézel et Santa, 1962). En dépit de sa bonne qualité pastorale, Cette espèce est aussi utilisée dans la médecine traditionnelle pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et pour abaisser l'hyperglycémie (Al-Khazraji et al., 1993).

Les études réalisées sur la variabilité morphologique de l'armoise blanche (Haouari et Ferchichi, 2008) et sur la composition chimique de ses huiles essentielles (Salido et al., 2004) ont révélé un niveau de polymorphisme élevé chez cette espèce. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à une étude caryologique et moléculaire de deux populations d'*Artemisia herba-alba* Asso. provenant des zones steppiques algériennes.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les échantillons ont été collectés en février 2013 dans la zone de *Taadmit* (34°20'19" latitude, 2°53'21" longitude et 1220m d'altitude) et d'*Oued Sedar* (34°28'27" latitude, 3°16'43" longitude et 1270m d'altitude) situées dans la steppe semi-aride algérienne (Fig. 1).

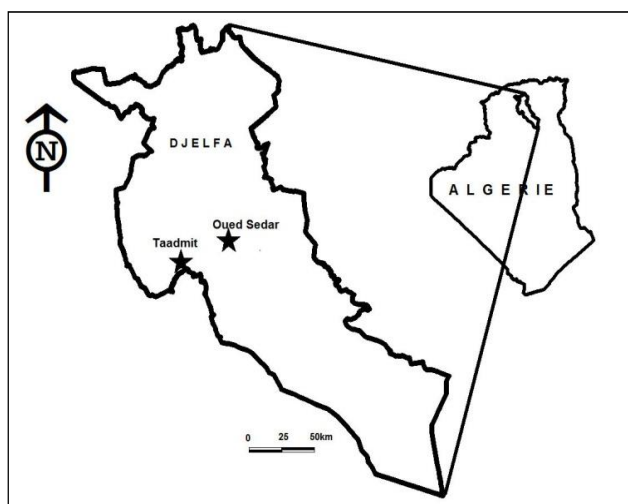


Figure 1. Carte de localisation des stations d'échantillonnage.

2.2. Dénombrement chromosomique

Après désinfection pendant 5 min dans l'hypochlorite de sodium à 12 %, suivi d'un rinçage à l'eau distillée, les graines (akènes) sont mises à germer à la température ambiante et à l'obscurité dans des boîtes de pétri tapissées de papier filtre imbibé d'eau distillée.

Après germination, les apex racinaires sont prélevés en début de la matinée et plongés dans une solution de Colchicine (0.05%) pendant 2h 30 min, suivi d'une fixation par le Carnoy I (3V d'éthanol pur / 1V d'acide acétique pur) pendant 24h à 4°C. Ils sont ensuite hydrolysés dans HCl (1N) à 60°C pendant 5min; puis colorés par le réactif de Schiff durant 24h à l'obscurité.

Après coloration, les zones méristématiques sont coupées puis déposées sur une lame dans une goutte de carmin acétique, écrasées entre lame et lamelle par une baguette en bois, un léger chauffage a été effectué pour un bon étalement de la préparation. Les lames préparées ont été observées au microscope photonique aux agrandissements 100x.

2.3. Extraction d'ADN

Pour la partie moléculaire, la récolte est réalisée systématiquement sur 18 individus d'armoise blanche de la zone d'*Oued Sedar* présentant un bon état végétatif apparent. L'extraction de l'ADN a été effectuée selon la méthode CTAB (Krizman et al., 2006). Des modifications ont été apportées à cette méthode en raison de la présence des métabolites secondaires dans l'armoise blanche (polyphénols, terpènes, résines ou polysaccharides) qui souvent empêchent une bonne extraction de l'ADN (Carmen, 2008). L'ADN obtenu est propre et aisément amplifiable. Pour le choix des amorces ISSR, plusieurs amorces ont été testées. L'amorce X14 Primer TRAR (GCC) 4 a été retenue dans les réactions d'amplification en donnant des bandes plus claires.

3. Résultats et discussion

3.1. Dénombrement chromosomique

Les fréquences de variations du nombre chromosomique calculées sur les individus issus des deux stations montrent que sur 34 cellules examinées pour la provenance de *Taadmit*, 62% ont un nombre $2n=36$, par rapport à 28% qui ont un nombre inférieur. Alors que pour la provenance d'*Oued Sedar*, 89.29 % des cellules analysées (94 cellules) possèdent un nombre de $2n=36$, par rapport à 10.71% qui ont un nombre inférieur (Fig. 2). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ferchichi (1997) effectués sur des populations tunisiennes d'armoise blanche. Cependant d'autres études cytologiques sur la même espèce réalisées en Espagne ont révélées l'existence d'un autre cytotype avec $2n = 18$ (Bermejo and Garcia, 1976).

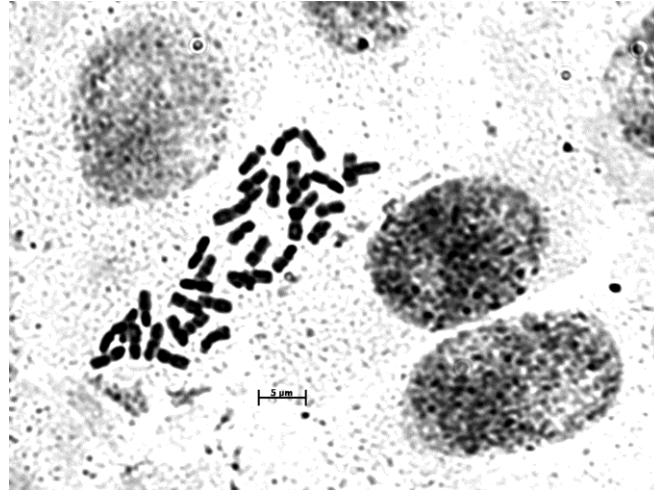


Figure 2. Comptage chromosomique d'*A. herba-alba* montrant 36 chromosomes différenciés (agrandissement 100x).

3.2. Caractérisation moléculaire (marqueur ISSR)

L'analyse des résultats obtenus de l'étude du marqueur moléculaire démontre que les bandes chez les 18 individus sont de tailles différentes (Fig. 3). En effet, les individus analysés présentent une variabilité génétique très marquée, prouvée par un peuplement d'amplifias de 47 bandes de tailles différentes. Les tailles de ces dernières vacillent entre des valeurs de 704 et 17348 paires de bases. Les valeurs obtenues indiquent que ce nombre se répartit à travers 13 bandes ayant des tailles de valeurs supérieures à 10000 paires de bases, 33 bandes présentent des valeurs vacillant entre 1172 et 6968 paires de bases et enfin une seule bande a dévoilé une taille d'une valeur inférieure à 1000 paires de bases.

La classification des 18 individus en utilisant le critère du marqueur ISSR comme critère de divergence génétique révèle l'existence de 14 groupes distincts. Ainsi, tous les individus se constituent en groupes différents, sauf les individus 5, 6, 13, 14 et 15 qui présentent une similitude génétique et se distinguent ainsi en un groupe homogène (Fig. 4). Cette variabilité indique que l'espèce *A. herba-alba* est caractérisée par une richesse génétique très marquée et que le marqueur moléculaire ISSR s'avère très efficace pour l'étude de son polymorphisme génétique. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Haouari et Ferchichi (2008) qui ont montré le même caractère de variabilité chez des populations tunisiennes d'armoise blanche. La variabilité génétique ainsi démontrée s'expliquerait essentiellement par les mutations spontanées affectant cette espèce. Le brassage génétique résultant du mode de reproduction de cette espèce serait également une cause explicative de la variabilité génétique existante.

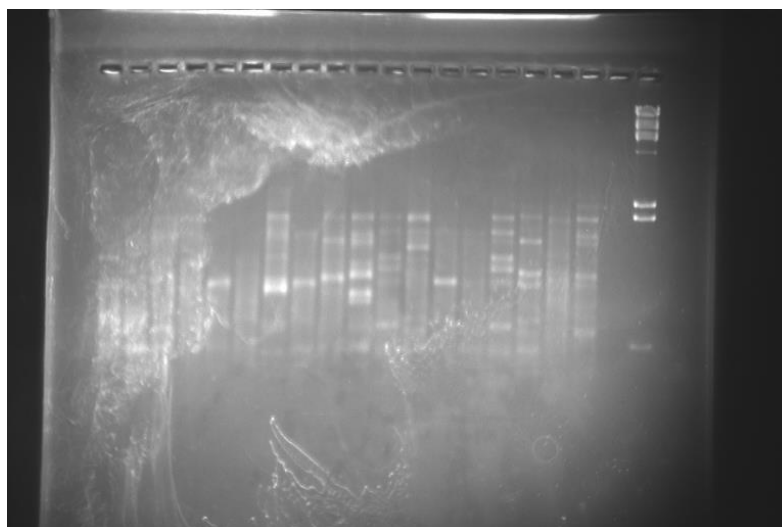


Figure 3. Bandes d'amplification ISSR des 18 individus d'*A. herba-alba* Asso.

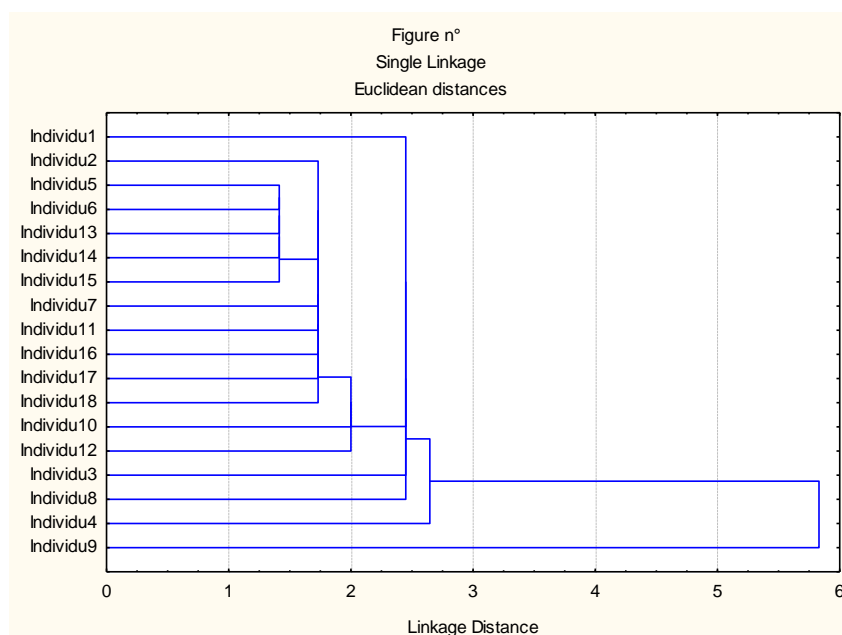


Figure 4. Dendrogramme basé sur la distance génétique représentant la relation entre les 18 individus issus de la provenance d' *Oued Sdeur*.

Conclusion

Ce travail a été réalisé dans le but d'une caractérisation caryologique et moléculaire de deux populations d'*A. herba-alba* provenant des zones de *Taadmit* et d'*Oued Sedar* (Djelfa) situées dans les hauts plateaux algériens. Le dénombrement chromosomique effectué sur les deux populations a révélé un nombre chromosomique $2n= 36$. L'analyse du matériel génétique par l'utilisation du marqueur génétique ISSR réalisé sur 18 individus de la provenance d'*Oued Sedar* indique que l'espèce est caractérisée par un polymorphisme moléculaire important.

Références bibliographiques

- Al-Khazraji, S.M., Al-Shamaony, L.A., Twajj, H.A.A., 1993. Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 40: 163- 166.
- Carmen, R., 2008. *Diversité génétique et réponse aux contraintes du climat : une étude de cas à partir de la biologie des populations de quinoa (Chenopodium quinoa WILL.) de Bolivie*. Th. Doc. Gembloux, 140 P.
- Ferchichi A., 1997. Contribution à l'étude cytotoxonomique et biologique d'*Artemisia herba-alba* Asso. en Tunisie présaharienne. *Acta Botanica Gallica* 144 :145-154.
- Haouari M., Ferchichi A., 2008. Study of genetic polymorphism of *Artemisia herba-alba* from Tunisia using ISSR markers. *African Journal of Biotechnology* 7 : 44-50.
- Houmani, M., Houmani, Z., Skoula, M., 2004. Intérêt de *Artemisia herba alba* Asso. dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes. *Acta Botanica Gallica* 151 : 165-172
- Krizman, M., Jakse, J., Baricevic, D., Javornik B., Prosek, M., 2006. Robust CTAB-Activated charcoal protocol for plant DNA extraction. *Acta agriculturae Slovenica* 8: 87 – 92.
- Quézel P. & Santa.S., 1962. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Ed. CNRS, Paris, 1165p.
- Salido, S., Valenzuela, L.R., Altarejos, J., Nogueras, M., Sanchez, A., Cano, E., 2004. Composition and intraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemistry Systematic Ecology* 32: 265-277.
- Bermejo, V., Garcia, G., 1976. Garcia, J. G., 1976. Notas cariosistematicas sobre flora espanala. *Acta Botanica Malacitana* 2 : 39-50.