



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche
Scientifique



Université Abbès Laghrour -khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Sciences Agronomiques

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION : Biotechnologies végétales

Thème

**Contribution à la détermination du nombre de chromosomes de
l'espèce endémique de l'Algérie « *Salvia balansae* Noë ex Coss. »**

Présenté par :

BEZZA Nadia

BEGAGA Messaoud

Soutenu le : 28 Juin 2017

Jury de soutenance

Président : Mr. ZERIEB. A

MCB Univ. Khenchela

Promotrice : M^{elle}. BOUZIANE .Z

MAA Univ. Khenchela

Examineur: Mr. RAHAL. K

MAA Univ. Khenchela

Promotion : Juin 2017

Remerciement

Notre première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله), pour nous donner la vie, le bénédicité et la force pour accomplir ce travail ; nos sincères remerciements aux Dieu le grand créateur qui nous a guidé dans nos pats pour arriver à ce stade là.

Notre remerciements les plus vifs s'adressent a notre encadreur Mm : BOUZIANE Zahira, pour la proposition de ce thème et l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Nous voudrions également exprimer notre remerciements à Mr. ZERAIB Azzeddine d'avoir accepté de présider le jury de la soutenance Mr. RAHAL Khaled et qui nous a fait l'honneur de juger notre travail.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous nos professeurs sans exception qui ont contribué à notre formation tout au long de ces Cinq ans.

Nous tenons également à remercier tous les membres de Laboratoire pédagogique de l'université de Khenchela pour leur aide.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

D'un sentiment plein d'amour, de sincérité et de fidélité, je dédie ce modeste travail :

À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre, À cette source de tendresse, de patience et de générosité, À ma mère !

À mon père qui n'a jamais cessé de m'encourager et me soutenir.

*À mes chères sœurs, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,
À mes chers frères, pour leur appui et leur encouragement, en leur souhaitant la réussite dans leur vie.*

À Ma chère binôme, pour tout ce qu'elle a fait pour la réussite de ce travail.

À qui je dois tout l'amour, avec tous mes vœux de les voir réussir dans leurs vies à mes chers amis : Katarache, Madi, Samir, Baha, Anis, Baha, Riad, Taha, Ali, Chawki...

À tous mes collègues de l'UNEA et des autres organisations étudiantes.

Au doyen de notre département : Mr, Khabthane.

À tout le personnel administratif ; Mr Siam, Mr Boubakar et chef des agents Azzedine.

À toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

Et enfin, À ma futur femme qui a toujours été à mes côtés.

Messaoud

Dédicace

A ceux que je ne pourrais jamais

Remercier assez

A la mémoire de mon cher père

A ma mère

A mon frère Houcine

Aux mes sœurs Loubna, Amira,

khouloud, Nardjes,

A mes chères Isra ; Rita

A ma grande mère

A mes amis Nadir, Sihem.

*A toute personnes que je porte dans le cœur et qui se reconnaîtront
car elles en font autant.*

.....
.....
.....

*Je vous dédie ce mémoire en guise de
reconnaissance car vous m'êtes si
chers que je ne peux que vous
offrir ce que j'ai appris de
mieux dans ma vie.*

NADLA

Sommaire

	Pages
LISTE DES FIGURES.....	I
LISTE DES TABLEAUX	II
INTRODUCTION GENERALE.....	02
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Généralités sur la famille des Lamiacées et le genre <i>Salvia</i>.....	05
1.1 Les Lamiacées	05
1.2 Intérêt économique de la famille des Lamiacées	07
1.3 Présentation du genre <i>Salvia</i> « Sauge »	08
1.3.1 Description botanique	09
1.3.2 Propriétés et utilisation des espèces du genre <i>Salvia</i>.....	09
2. Présentation de l'espèce étudiée.....	11
2.1 Taxonomie	13
2.2 Caractéristiques botaniques.....	13
3. Caryologie du genre <i>Salvia</i>	14
4. Notion d'endémisme	15
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES	
2.1 Matériel végétal	19
2.2 Méthodes	19
2.1 Conditions de la germination.....	19
2.2.2 Méthodes d'observation des méristèmes racinaires	20
2.2.3 Méthodes d'observation des boutons floraux	23
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
3-1 Etude des mitoses et méioses « Dénombrement chromosomique »	25
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	31
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	34
ANNEXES	

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Utilisations de quelques espèces du genre <i>Salvia</i>	10
02	Principales familles botaniques à endémisme	16

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
01	Quelques espèces de la famille des <i>Lamiacées</i>	06
02	Distribution géographique de <i>Salvia balansae</i>	11
03	Spécimen d'herbier de <i>Salvia balansae</i> collecté	12
04	Spécimen d'herbier de <i>Salvia balansae</i> collecté	12
05	Caractéristiques botaniques de <i>Salvia balansae</i>	13
06	plaques métaphasiques traitées à l'orceïne présentant le nombre de chromosomes ($2n=16$) de l'espèce <i>Salvia balansae</i> .	26
07	Comportement méiotique des individus de l'espèce <i>Salvia Balansae</i>	26
08	plaques métaphasiques traitées à l'orceïne présentant le nombre de chromosomes ($2n=17$) de l'espèce <i>Salvia balansae</i>	27

INTRODUCTION GENERALE

1- INTRODUCTION

Le bassin méditerranéen est considéré comme l'un des 33 points chauds de très forte biodiversité avec le plus grand nombre d'espèces endémiques. Cette région a été exposée à une influence anthropique prolongée rendant sa biodiversité sujette à un changement rapide (BENHEZIA, 2014).

Parmi ces espèces, 224 taxons sont des endémiques strictes à l'Algérie, 124 taxons sont à endémisme algéro-marocain et 58 taxons sont à endémisme algéro-tunisien (VELA ET BENHOUBOU, 2007).

Les taxons endémiques, occupent des aires géographiques plus réduites par rapport aux autres représentants proches sur le plan systématique et sont donc en général des espèces rares. Le sauvegarde du patrimoine génétique des espèces rares, et endémiques est devenu une nécessité face aux menaces d'une civilisation de plus en plus envahissante (RICHARDSON 1978, in FAVARGER et SILJAK-YAKOVLEV 1986).

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phytogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre à plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique (MOKKADEM, 1999).

Le genre *Salvia*, de la famille *Lamiacées* ou des *Labiées*, font partie de la gamme variée des plantes médicinales et aromatiques spontanées caractérisant la flore Algérienne.

Les espèces du genre *Salvia* genre occupent une place économique très privilégiée dans le monde entier. Elles sont d'une grande valeur économique, écologique et aussi un élément majeur de la pharmacopée traditionnelle (ISERIN, 2001).

Beaucoup d'elles sont dotées également de vertus thérapeutiques par le biais des métabolites secondaires qu'elles synthétisent et constituent une source inépuisable de principes actifs tels que les huiles essentielles. Ces derniers possèdent un large spectre

d'utilisation en phytothérapie et en aromathérapie pour traiter l'anxiété, la nervosité, et les insomnies, mais aussi pour soulager les rhumatismes et soigner les infections des voies respiratoires.

Les huiles espèces *Salvia* possèdent des propriétés antibactérienne et antifongique (BARICEVIC et BARTOL, 2000). Ils sont très utilisés dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie, etc. (KARAMAN et al. 2007).

La connaissance de ce patrimoine biologique endémique de notre pays est d'une importance capitale pour sa valorisation et sa conservation.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui constitue une première contribution à la caractérisation cytogénétique de l'espèce « *Salvia balansae* Noë ex Coss. » à travers le dénombrement de son nombre chromosomique, en utilisant des techniques de cytogénétique classique (coloration à l'orceïne), et technique d'étude du comportement méiotique des cellules mères du grain de pollen afin de d'avoir une idée sur le niveau de ploïdie de l'espèce.

Ainsi, outre l'introduction et la conclusion, le mémoire est structuré en trois chapitres. Le premier chapitre est une synthèse bibliographique basée essentiellement sur la présentation de l'espèce étudiée. Le deuxième chapitre comporte le matériel d'étude et les méthodes expérimentales appliquées. Les résultats et la discussion constituent le troisième chapitre.

CHAPITRE I
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

1- Généralités sur la famille des *Lamiacées* et le genre *Salvia*

1.1 Les *Lamiacées*

La famille des *Lamiacées* (*Lamiaceae*) est connue également sous le nom des labiées (Labiées, qui signifie "labié" en référence à la forme des lèvres des fleurs) (NAGHIBI *et al.* 2005 ; COUPLAN, 2000). Elle fait partie de l'ordre des *Lamiales* qui comprend environ 26 familles et plus de 20,000 espèces (OLMSTEAD, 2010) C'est l'une des premières à être distinguées par les botanistes (PISTRICK, 2002), et ceci par la particularité de ses caractères.

C'est la sixième plus grande famille des angiospermes dicotylédones, avec plus de 7000 espèces réparties dans le monde (BO LI *et al.* 2016). Ces espèces se concentrent surtout dans le bassin méditerranéen notamment : le thym, la lavande et le romarin (BOTINEAU, 2010).

Les espèces appartenant à cette famille sont généralement des plantes herbacées, des arbustes et très rarement des arbres ou des lianes, annuelles ou pluriannuelles, habituellement aromatiques à tiges quadrangulaires, feuilles en général, opposées sans stipules Les feuilles opposées, rarement verticillées ou alternées, simples à pennées ou composées, sans stipules (LIHSI *et al.* 1994). La multiplication se fait par le biais de rejets aériens (stolon) ou rhizomes.

Certaines espèces sont des xérophytes, adaptées à la sécheresse, ayant des feuilles dont les bords du limbe se replient sur l'épiderme inférieur avec des stomates qui se concentrent dans des creux protégés par d'abondants poils, ce qui représente un signe d'adaptation permettant la diminution de la déperdition d'eau.

Les lamiacées possèdent également un appareil sécréteur externe, constitué par des poils sécréteurs d'huiles essentielles ; l'essence élaborée s'accumule juste sous la cuticule qu'elle distend, ce qui fait qu'au moindre froissement, ces feuilles dégagent une forte odeur aromatique.

L'inflorescence est généralement composée, parfois par des fleurs solitaires ou en cyme, verticillée de deux à plusieurs fleurs. Les fleurs bisexuées, gamopétales, zygomorphes (HILAN *et al.* 2006).

Le calice est tubuleux ou en cloche persistant à cinq dents et deux lèvres; la lèvre supérieure tridentée ou entière; la lèvre inférieure bidentée ou quadri-dentée. La corolle a souvent deux lèvres; la lèvre supérieure bilobée rarement entière, la lèvre inférieure fragmentée de 3 à 5 lobes. Les étamines sont libres au nombre de deux à quatre, rarement apparentés (LIHSI *et al.* 1994). Le fruit est un tétramère diversement orné, enveloppés par le calice (GUIGNARD et DUPONT, 2004; BOTINEAU, 2010).

Ces caractères varient selon les genres : corolle presque régulière (*Mentha*) ou unilabiée (*Teucrium*); deux étamines (*Salvia*) (QUEZEL et SANTA, 1963 ; OZENDA, 1977). Selon QUEZEL et SANTA (1963), la famille des *Lamiaceae* est très importante dans la flore algérienne, mais certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces. (Fig. 1)



(A)



(B)



(C)

Fig. 1 : Quelques espèces de la famille des *Lamiacées* (A, *Salvia officinalis* ; B, *Thymus vulgaris* ; C, *Rosmarinus officinalis*) (site 1)

1-2 Intérêt économique de la famille des *Lamiacées*

Selon DUARTE et LOPEZ, (2007), la majorité des espèces appartenant à la famille des lamiacées présentent une grande importance économique. C'est l'une des principales sources de diverses herbes culinaires et aromes alimentaires tels que : *Rosmarinus*, *Origanum*, *Salvia*, *Thymus*, *Ocimum* et *Mentha*.

Dans l'industrie, on trouve le bois de teck (*Tectona*), l'huile de menthe poivrée le patchouli (*Pogostemon*).

De nombreuses *Lamiaceae* sont cultivées comme plantes ornementales, en raison de leur parfum et de leur aspect agréable. MEYER *et al.* (2004) ont cité quelques espèces du genre Savory (*Satureja hortensis*), *Ajuga*, *Monarda*, *Salvia* et *Coleus*.

En phytothérapie, la famille des *Lamiaceae* occupe une importante place. Elle regroupe un grand nombre de plantes aromatiques riches en métabolites secondaires qui sont prisés pour leurs vertus thérapeutiques. En effet, les infusions et décoctions de plusieurs espèces aromatiques de cette famille sont utilisées dans le traitement de diverses maladies (LAWRENCE, 1995).

Les huiles essentielles de nombreuses *Lamiaceae*, sont employées en pharmacie pour leur pouvoir thérapeutique. Un grand nombre de substances connues pour leurs diverses activités biologiques sont identifiées chez les espèces de cette famille, tels que les huiles essentielles, les terpenoïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes et qui ont des propriétés antibactériennes et antifongiques : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, (SOSA et TONN, 2006) et anti-inflammatoire de *Teucrium* et antioxydante de *Marrubium globosum*. (SARIKURKCU *et al.* 2008).

1-3 Présentation du genre *Salvia* « Sauge »

Le nom vernaculaire « sauge » est attribué aux différentes espèces aromatiques du genre *Salvia* (KAROUSOU et al. 2000).

Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie ; *Salvia* vient du latin « Salvare » qui, signifie «sauver» (BARAN, 2010; ULUBELEN, 2000 ; BARICEVIC et al. 2000; NICOLETTE et al. 2000; STANLEY et al. 2000).

Le genre *Salvia* est considéré comme étant le genre le plus large et le plus important de la famille des lamiacées (*Lamiaceae* ou *Labiatae*) (BAGCI et al. 2008 ; WALTER et al. 2002). Il rassemble, à lui seul, plus de 900 espèces identifiées autour du monde (BEKTAS et al. 2005 ; KIVRAK et al. 2009).

Il représente un groupe d'espèces cosmopolites, qui montre une gamme remarquable de variation morphologiques et génétiques selon leurs origines géographiques (PISTELLI, 2006).

Le genre *Salvia* est distribué dans trois régions principales dans le monde avec trois régions distinctes: l'Amérique centrale et l'Amérique du Sud (500 espèces), L'Asie occidentale (200 espèces) et l'Asie de l'Est (100 espèces) (WALKER et SYTSMA 2007).

L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (QUEZEL et SANTA, 1963). Toutefois, dix huit ont été déterminées: *Salvia Balansae* de Noé ; *S. officinalis* L. ; *S. Chudaei* Batt. et Trab. ; *S. triloba* L. fils ; *S. lavandulaefolia* Vahl. ; *S. Aucheri* Benth. ; *S. phlomoides* Asso. ; *S. Jaminiana* de Noé ; *S. verbenaca* (L.) Briq. ; *S. Horminum* L. ; *S. aegyptiaca* L. ; *S. silvestris* L. ; *S. tingitana* Ette. ; *S. Sclarea* L. ; *S. Æthiopis* L. ; *S. algeriensis* Desf. ; *S. Barrelieri* Ettling. et *S. argentea* L. (QUEZEL ET SANTA, 1963).

1-3-1 Description botanique

Le genre *Salvia* comprend des espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces. Les tiges sont généralement quadrangulaires inclinées comme les autres genres de la famille des lamiacées. Les feuilles sont généralement entières, mais parfois dentées ou pennées. Les hampes florales portent de petites bractées inégales (SCULLY, 2008).

Les fleurs se regroupent en inflorescences de type grappes ou panicules, et produisent généralement un joli étalage formé de fleurs dont les couleurs vont du bleu au rouge, et moins souvent du blanc au jaune.

Le calice est tubulaire ou en forme de cloche. La corolle est formée de deux lèvres. La lèvre supérieure est généralement entière ou à trois dents. La lèvre inférieure a généralement deux lobes.

Les étamines sont réduites à deux structures courtes avec deux cellules d'anthères, la cellule supérieure fertile, et l'inférieure stérile. Les fruits sont ovoïdes lisses ou oblongues et dans de nombreuses espèces ils ont un revêtement mucilagineux (SUTTON, 1999).

1-3-2 Propriétés et utilisation des espèces du genre *Salvia*

La majorité des espèces du genre *Salvia* sont utilisées à des fins diverses : aliments, médicaments, parfums et produits cosmétiques (BAGCI et al. 2008 ; KARAMAN et al. 2007). Dès l'antiquité, quelques espèces de ce genre ont servi à parfumer et à odorer les corps et les temples (ARSLAN et al. 2008).

Le genre *Salvia* est très utilisé en pharmacopée traditionnelle. Divers usages thérapeutiques sont connus depuis l'antiquité et ont été validés par des tests biologiques appropriés.

Les activités biologiques pour lesquelles les espèces de *Salvia* sont utilisées sont très diverses, on peut citer : les activités antimicrobiennes, anti inflammatoires, anticancéreuses (JOHNSON, 2011), spasmolytique, cholinergique, et cytoprotection et aussi, dans le traitement du cancer, la malaria, perte de mémoire, et antipaludique, analgésique, antipyrétique.

Antioxydant (CUVELIER *et al.* 1994 ; LIMA *et al.* 2007), anti hyperglycémique, Elles ont également des effets sur les problèmes nerveux et cardiovasculaires (BOUAZIZ *et al.* 2009). Les principales propriétés thérapeutiques de quelques espèces de *Salvia* sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Utilisations de quelques espèces du genre *Salvia* (in, KHENFAR, 2014)

Espèce	Utilisations
<i>Salvia officinalis</i>	Arômes. Remède efficace en gargarisme. Elle peut calmer les crises de la maladie d'Alzheimer et a une activité tranquillisante, antiseptique et astringente. Régularise le cycle menstruel, la transpiration, les bouffées de chaleur et modifications hormonales. Les feuilles séchées à fumer contre l'asthme, morsures, piqûres, diarrhées, sueurs nocturnes, Aphtes et angines (ISERIN, 2001). Une décoction de racines est utilisée en cas de maladies cardiaques et lors de la ménopause (SALHI <i>et al.</i> 2010).
<i>Salvia sclaréea</i>	L'huile essentielle est utilisée comme parfum dans des insectifuges, des insecticides, des traitements intérieurs contre les puces et les tiques pour les animaux domestiques et des désinfectants pour tapis. L'extrait sec utilisé comme agent du conditionnement de la peau pour les applications topiques et les feuilles fraîches sont utilisées dans les soupes pour la toux, la grippe, le nettoyage du sang, sur les blessures, pour les douleurs aux yeux et comme diurétique (MILLER, 1785).
<i>Salvia verbenaca</i>	Les feuilles en poudre sont utilisées en cataplasme pour traiter les plaies (SALHI <i>et al.</i> 2010).
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Traiter des affections causées par les troubles circulatoires (l'utérus : aménorrhées, règles douloureuses et fibromes). L'angine de poitrine, aggravée par l'angoisse et les stress présente en cas d'irritabilité et d'insomnies. Pour évacuer «la chaleur excessive», particulièrement celle du cœur et du foie. La racine et la pousse très utilisée pour la suppression de la stase sanguine, soulager les inflammations cutanées (la douleur, abcès, les furoncles et les ulcères), la promotion de la menstruation, tranquilisant le cerveau et le traitement des maladies cardio-vasculaires, hépatiques, rénales et cérébro-vasculaires (ISERIN, 2001 ; YUFEI, 2012 ; KABOUICHE, 2005).
<i>Salvia divinorum</i>	Elle est utilisée sous forme d'infusion comme un tonique ou remède pouvant guérir tous les maux. La feuille peut être appliquée sur le front du patient comme un cataplasme. Utilisée contre la diarrhée, l'anémie et les rhumatismes (DANIEL;SIEBERT, 1994).

2- Présentation de l'espèce étudiée « *Salvia Balancaea* Noë ex Coss »

Salvia balansae de Noë ex Coss. ; appelée également : Sauge ; En arabe : حيق الابل , بوشوشع , حشيشة كل بلية, (in Journal officiel Rup Alg , 2012) est une espèce endémique de l'Algérie, non cultivée protégée, collectée pour la première fois par *Balansae* et déterminée par Cosson et de Noé (DE NOÉ, 1855).

Selon la flore du Magreb en ligne, basée sur la flore de QUEZEL ET SANTA (1963), (site 2), l'espèce est présente est collectée dans deux localités en deux localités très distinctes :

- Un échantillon de plante était collecté en 1951 près de Mostaganem sur le littoral Nord-Ouest à Dahra à Pont du Cheliff (Oran) collectée sur un sol calcaire. (fig. 2) et (fig. 3)

Le taxon de Mostaganem représente une endémique à aire de distribution restreinte et les populations de cette localité sont en cours d'étude taxonomique (MOSTARI et al. 2016).

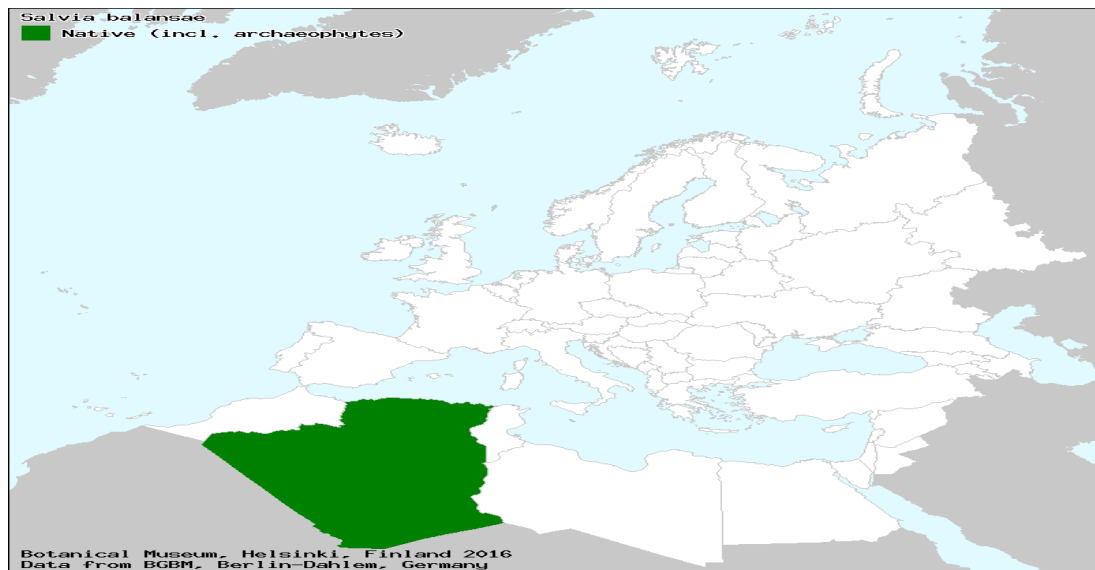


Fig. 2 : Distribution géographique de *Salvia balansae*

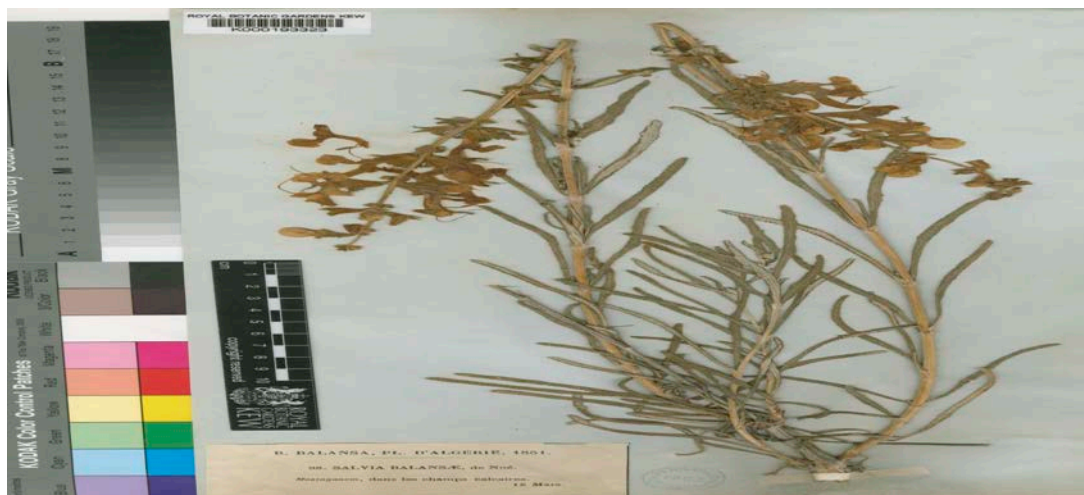


Fig. 3 : Spécimen d'herbier de *Salvia balansae* collecté (Mostaganem, 1851)
(site 3)

- Le deuxième échantillon de *Salvia balansae* était collecté en 1853, au niveau des Aurès dans les montagnes de l'Est proche la vallée de l'oued – Abdi, à hydous. (Batna), connue sou le nom de *Salvia balansae* Noé var *floribus caeruleis* (fig. 2) et (fig. 4).



Fig. 4 : Spécimen d'herbier de *Salvia balansae* collecté
(Site oud Abdi, 1853) (Site 4)

Les échantillons dans cette espèce sont conservés dans divers musées (France, Allemagne) et jardins botaniques en autres, le jardin botanique royal (Angleterre).

2-1 Taxonomie

La position systématique de *Salvia balansae* est la suivante :

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia balansae* de Noë ex Coss

2-2 Caractéristiques botaniques

La plante de *Salvia balansae* est plante annuelle, elle se présente sous forme d'arbuste de 30-70 cm, à feuilles gaufrées, tomenteuses en dessous, longues de 5- 10 cm. Les fleurs se regroupent en inflorescences de type grappes ou panicules, et produisent généralement un joli étalage formé de fleurs bleues. Le Calice est finement pubescent, fendu en 2 lèvres profondes. Corolle de plus de 2 cm de couleur. La floraison aura lieu au printemps avril – mai. Les graines sont petits, de couleur marron, mucilagineuses. (fig.5)



Fig.5: Caractéristiques botaniques de *Salvia balansae*,

A plante entière ; **B** : aspect des tiges et feuilles ; **C** : inflorescence ; **D** : aspect des graines (Photos personnelles, Mai 2017)

3- Caryologie du genre *Salvia*

Le genre *Salvia* est très étudié du point de vue nombre chromosomique. Diverses études cytogénétiques effectuées indiquent des nombres chromosomiques étonnamment diversifiés dans le genre.

Selon YAKOVLEVA (1933) ; HAQUE (1981), PALOMINO *et al.* (1986)., le genre *Salvia* semble être polybasique, avec différents groupes d'espèces dans différentes parties ayant des origines polyploïdes.

Ces espèces présentent des nombres chromosomiques de base différents allant de Les nombres sont $x = 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 18$ et 32 (YAKOVLEVA 1933).

Le genre semble avoir une grande variabilité par rapport aux nombres chromosomiques allant de $2n = 12$ à $2n = 64$ (SHEEL, 1931). Le plus faible a été observé chez l'espèce *S. hispanica*, par contre le plus grand est mentionné chez plusieurs espèces de *Salvia* exemple *S. cleistogama* (DELESTAIN, 1954) et *S. funerea* (EPLING *et al.* 1962).

AFZAL-RAFII (1976), indique que le groupe des espèces répartie en région méditerranéenne semble être caractérisé par $x = 7$, les espèces qui existent en Europe, en Russie, au Mexique, et en Argentine par $x = 11$ (PATUDIN *et al.* 1975; PALOMINO *et al.* 1986; ALBERTO *et al.* 2003) par $x = 11$ (PATUDIN *et al.* 1975). Les espèces étudiées en Californie étaient caractérisé par $x = 16$ (EPLING *et al.* 1962).

Selon BHATTACHARYA (1978), les nombres de base 7 et 8 semblent être les nombres primitifs à partir desquels les nombres de bases secondaires ont été établis et diversifiés à nouveau dans des régions différentes, dont le nombre de base 11 est commun dans de nombreuses espèces.

ALBERTO *et al.* (2003) ont reportés à partir de l'étude de 13 espèces non cultivées et cultivées en Argentine que leurs nombres chromosomiques vont de $2n = 22$ à $2n = 88$ dont mais le nombre de chromosomes de base le plus fréquent est $n = 11$ ou plus.

Le genre *Salvia* est considéré comme originaire dans la région méditerranéenne puis s'est disperser dans les zones tropicales et tempérées de l'Ancien et du Nouveau Monde (WU et Li, 1982). Les divers nombres de chromosomes de base dans le genre *Salvia* indiquent que les groupes d'espèces dans les différentes régions se sont différenciés indépendamment après la dispersion.

HAQUE ET GHOSHAL (1980) ; HAQUE (1981), ont trouvé également que de nombreuses espèces du genre *Salvia* présentent des variations extrêmes dans leurs chromosomes somatiques et méiotiques qui peuvent avoir des causes variées, y compris des différences génotypiques et environnementales.

HAQUE (1981), BORGEN (1980) et DÍAZ-LIFANTE et al. (1992), ont signalés l'apparition de différents nombres chromosomiques de base dans une même espèce du genre *Salvia*. Par exemple, chez *S. aegyptiaca* L., $2n = 12, 26$, chez *S. nemorosa* L., $2n = 14$ et 16 ont été rapportés par MIZIANTI et al. (1981) et GHAFFARI et CHARIAT-PANAHI (1985). Toutes ces données indiquent le rôle joué par la polyploïdie et l'aneuploïdie dans la diversification des espèces de *Salvia*.

4- Notion d'endémisme

L'endémisme est un terme qui a été utilisé en biologie végétale par De Candolle (1820). Cet auteur a introduit ce terme pour désigner certains genres, certaines familles ou encore certaines espèces qui n'apparaissent que dans un lieu précis et nulle part ailleurs.

Le terme endémique fait référence à l'habitat de l'espèce: habitat très localisé (un seul endroit du globe) et habitat caractérisé par des conditions environnementales particulières, spécifiques d'un type de milieu. FAVARGER et CONTANDRIOPOULOS (1961) ont proposé la première classification des plantes endémiques basée sur les données cytotaxonomiques.

Les espèces endémiques sont classées en quatre grandes catégories, en fonction du niveau de ploïdie.

SILJAK-YAKOVLEV et PERUZZI (2012), ont revu cette classification sur la base des données de cytogénétique classique et moléculaire.

Une espèce est dite endémique strict si on ne la retrouve que sur un type d'habitat très spécifique (sommets montagneux, prairies calcaires...) et jamais ailleurs. Ce type d'endémisme résulte principalement d'une restriction du spectre écologique (forte adaptation locale) d'une espèce en réponse à une intense compétition.

Une espèce endémique locale est une espèce que l'on ne trouve qu'en un seul endroit, d'aire très restreinte (une île perdue au milieu du Pacifique et nulle part ailleurs) (ANDERSON 1994).

Sur les 3139 espèces décrites par QUEZEL ET SANTA (1963) dans la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, ZERAIA (1983) dénombre 289 espèces assez rares, 647 rares, 640 très rares, 35 rarissimes et 168 endémiques. Le dénombrement aboutit à 1,07% espèces rarissimes, 20,23% d'espèces très rares et 19,23% d'espèces rares. Il apparaît ainsi que 40,53% (1286 espèces) de la flore algérienne est rare à très rare. La répartition des espèces endémiques en Algérie est très irrégulière selon les familles ; les mieux partagées de ce point de vue sont mentionnées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Principales familles botaniques à endémisme (QUEZEL, 1964)

Familles	Nombres d'espèces endémiques
<i>Composées</i>	42
<i>Caryophyllées</i>	25
<i>Légumineuses</i>	23
<i>Labiées</i>	22
<i>Scrofulariacées</i>	13
<i>Crucifères</i>	12
<i>Plombaginacées</i>	10
<i>Graminées</i>	10
<i>liliacées</i>	6

Les secteurs les plus remarquables pour l'endémisme sont la côte oranaise, suivie par la Petite Kabylie et la Grande Kabylie. En ce qui concerne les espèces rares, la Numidie littorale arrive en tête, suivie par la Mitidja d'Alger. Ces régions forment un point chaud régional méconnu (VELA et BENHOUHOU, 2007).

La famille des Labiées ou lamiacées regroupe à elle seule 22 espèces endémiques dont *Thymus numidicus*, *Salvia Balansae*.

Diverses explications ont été avancées concernant l'endémisme chez les espèces végétales (BELLEKHDAR, 1997) :

- **Explication géographique** qui fait appel à la structure orographique du pays et aux divers obstacles qui s'opposent à la dissémination des espèces : montagnes élevées, déserts etc. ;
- **Explication paléoclimatique** : la nature du climat pourrait aider à comprendre la particularité florale de certains sites et la survivance des espèces.
- **Explication génétique** qui tente de rapporter l'originalité de certaines espèces, sous espèces ou variétés endémique à des phénomènes d'hybridation et d'allopolyplœidie ou plus généralement à des modifications du patrimoine génétique.

CHAPITRE II
MATERIELS ET METHODES

2- Matériel et Méthodes

2-1 Matériel Végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est constitué de graines et de boutons floraux de l'espèce endémique de l'Algérie poussant dans des conditions naturelles « *Salvia balansae* Noë ex coss ». La récolte a été réalisée par Mr ZERIEB Azzedine, suite à une prospection des ressources génétiques de cette espèce (Juin, 2016 pour les graines et Avril, 2017 pour les boutons floraux).

La zone de prélèvement du matériel végétal (graines et boutons floraux) est appelée « Elhammame » (1255 m d'Altitude), de la commune d'Iche-emmoul », à coté de la route RW 45 qui lie la commune d'Arris et la commune d'Iche-emmoul dans la wilaya de Batna. « «

L'espèce « *Salvia balansae* » n'a jamais fait l'objet d'étude caryologique ou autres en Algérie, de ce fait, son nombre chromosomique est resté inconnu jusqu'à notre jour.

2- 2 Méthodes

2- 2-1 Conditions de la Germination

La mise en germination des graines de l'espèce étudiée est effectuée en deux étapes:

➤ Stérilisation

Elle se fait dans un mélange d'eau de javel (12°) et d'eau distillée (1:1) pendant une minute suivie d'un rinçage à l'eau distillée.

➤ Mise en germination

Les graines de l'espèce *Salvia balansae* sont mises à germer dans des boîtes de Pétri tapissées de papier filtre humide à température ambiante.

2-2-2 Méthodes d'étude des Méristèmes Racinaires

Différentes méthodes sont décrites pour l'étude des chromosomes, elles mettent en jeu l'application d'agents chimiques pour le prétraitement, la fixation et la coloration des cellules en divisions. Ces méthodes sont largement décrites dans le cahier des « Techniques de cytogénétique végétale » (JAHIER ,1992).

L'emploi d'une technique adéquate doit permettre une bonne séparation des chromosomes avec des détails morphologiques permettant le dénombrement correct du nombre chromosomique de l'espèce étudiée et l'établissement de son caryotype.

Dans notre étude, pour réaliser le dénombrement chromosomique de l'espèce *Salvia balasae* Noë ex Coss. dont le nombre chromosomique est inconnu, nous avons suivi les étapes suivantes :

➤ Prélèvement

Lorsque les apex racinaires atteignent environ 1 à 1,5 cm de longueur (c'est à ce stade que la zone de division cellulaire est plus active), les prélèvements sont effectués préférentiellement le matin à 8h, où la période est favorable à l'observation d'un grand nombre de divisions cellulaires.

➤ Prétraitement

Cette étape a pour but :

- de bloquer les divisions mitotiques en métaphase.
- de contracter les chromosomes.
- d'obtenir un grand nombre de plaques métaphasiques.

Dans notre cas, les méristèmes racinaires de l'espèce étudiée sont prétraités dans une solution saturée d' α - Bromonaphtalène à 1% ; c'est l'agent mitoclasique le plus utilisé en caryologie, en raison de sa facilité d'emploi et de son coût. Ils existent d'autres agents mitoclasiques tels que : 8 Hydroxy quinoléine, l'eau glaciale (0 °C) et la colchicine (0,05%).

Pour fixer le temps idéal pour tomber sur des un grand nombre de cellules en mitose et avoir des chromosomes de taille et de morphologie favorable pour réaliser le dénombrement de chromosomes en métaphase, nous avons essayé une gamme de temps de prétraitement allant de 15 minutes à 3 heures.

Après observation, le prétraitement pendant 15 minutes semble être meilleur. En parallèle, certaines cellules méristématiques sont également observées sans prétraitement.

➤ **Fixation**

Elle permet de détruire toute vie cellulaire. Elle doit avoir une action rapide pour bloquer toute évolution des divisions cellulaires et permettre de conserver l'intégrité structurale des chromosomes (JAHIER, 1992).

Les fixateurs utilisés sont très nombreux. Dans notre cas, les racines prétraitées et non prétraitées sont placées, pendant au moins 24 heures, dans une solution d'éthanol Acétique (3 :1) proposée par CARNOY (1886, in, JAHIER, 1992).

➤ **Hydrolyse**

Après fixation, les racines sont trempées dans de HCl (1N), ensuite chauffées à l'aide d'une bougie jusqu'à l'apparition des premières vapeurs (ISSOLAH, 2007).

Cette étape est généralement nécessaire pour obtenir ultérieurement un meilleur étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelle. L'agent le plus employé pour le ramollissement des tissus est l'acide chloridrique chauffé pendant quelques minutes selon les espèces. Son action peut être associée à celle d'enzymes.

L'hydrolyse dissout les sels pectiques de la lamelle moyenne et permet l'éclaircissement du cytoplasme. En outre, l'acide chloridrique libère les groupements aldéhydiques sur les molécules de sucre d'ADN par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose.

➤ **Coloration**

Afin de mettre en évidence les zones méristématiques, les racines hydrolysées sont trempées dans une solution de coloration composée de l'orceïne – lactopropionique (DYER, 1963). (Annexe)

L'observation au microscope peut commencer après 2 heures mais il est souhaitable de laisser plus longtemps à condition de ne pas dépasser les 8 jours. Lors notre étude, nous avons obtenu de meilleures cellules colorées en laissant nos racines dans la solution de coloration pendant 24 heures.

D'autres colorants peuvent également utilisés tels que Réactif de Schiff pendant 30 à 60 min à l'obscurité jusqu'à coloration intense.

Fréquemment, cette technique de coloration est appelée technique de FEULGEN car elle a été décrite pour la première fois par FEULGEN, (1926, in JAHIER, 1992).

Le réactif de Schiff présente la propriété de se fixer sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse pour donner une coloration rouge aux chromosomes.

➤ **Montage des lames**

La zone méristématique est écrasée dans une goutte de la même solution de coloration (Orceïne –lactopropionique) entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules.

➤ **Observation microscopique**

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

Les meilleurs plaques métaphasiques repérées sont photographiées à l'aide d'un photo-microscope « Optika ».

2-2-3 Méthodes d'observation des boutons floraux

Les analyses méiotiques sont effectuées sur les anthères de l'espèce étudiée « *Salvia balansae* ». L'étude des appariements chromosomiques en méiose est faite en prophase I et en métaphase I dans les cellules mères polliniques (CMP). La technique décrite par JAHIER (1992) permet un étalement parfait des associations chromosomiques, de déterminer et de confirmer le nombre chromosomique de base (X: nombre haploïde).

Les différentes étapes de cette technique sont les suivantes:

➤ Prélèvement

Les meilleurs moments de prélèvement des boutons floraux, à forte activité méiotique, sont réalisés en début de matinée (Température fraîche et humidité élevée).

➤ Fixation

Les jeunes boutons floraux sont fixés dans la solution de Carnoy I (Ethanol-acide acétique 3:1; V/V) pendant 48 heures et conservés à l'éthanol à 70 % à 4°C.

➤ Coloration

La coloration des boutons floraux se fait dans le réactif de Schiff pendant une demi-heure à l'obscurité et à température ambiante ou dans du carmin acétique à 1%. (annexe)

➤ Montage des lames

Les anthères placées sur une lame dans une goutte de carmin acétique 1%, sont disséquées sous une loupe binoculaire puis recouvertes avec une lamelle, on procède à l'étalement proprement dit en exerçant une forte pression avec le pouce sur la lamelle.

➤ Observation et photographie

Les observations et les photographies de meilleures préparations sont effectuées de la même manière que pour la coloration au des méristèmes racinaires.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

3- Résultats et discussion

3-1 Etude des mitoses et méioses « Dénombrement chromosomique »

Pour tous les individus d'une même espèce et pour toutes ses cellules somatiques, le nombre de chromosomes, examinés pendant la métaphase, est absolument constant. Ce nombre est représenté par le symbole $2n$, est dit nombre diploïde (de diplous, double) par opposition au nombre haploïde n (de haplous, simple), caractéristique des cellules sexuelles.

Chez un individu donné, le nombre de chromosome varie donc, du simple au double, des cellules sexuelles aux cellules somatiques (NOUGARE de, 1969).

La coloration de DYER (1963), réalisée sur les pointes racinaires de l'espèce « *Salvia balansae* Noë ex Coss » nous a permis pour une première contribution d'obtenir des plaques métaphasiques afin d'initier un premier comptage des chromosomes de cette espèce endémique de l'Algérie.

A partir de l'analyse des cellules mitotiques en métaphase provenant de plusieurs individus de l'espèce étudiée, nous avons remarqué que toutes les cellules observées étaient à l'état diploïde.

En effet, le dénombrement chromosomique des différentes plaques métaphasiques des cellules mitotiques obtenues montre qu'il existe une instabilité du nombre de chromosomes chez cette espèce.

Deux nombres chromosomiques et deux formules chromosomiques différentes sont déterminés, soit $2n=16$ et $2n=17$. Ceci est remarqué chez les cellules provenant d'individus différents et également au sein du même individu. (Fig. 6 et fig. 8)

De manière générale, il ressort que le nombre $2n= 16$ est le plus fréquemment observé dans les plaques métaphasiques des les individus étudiés.

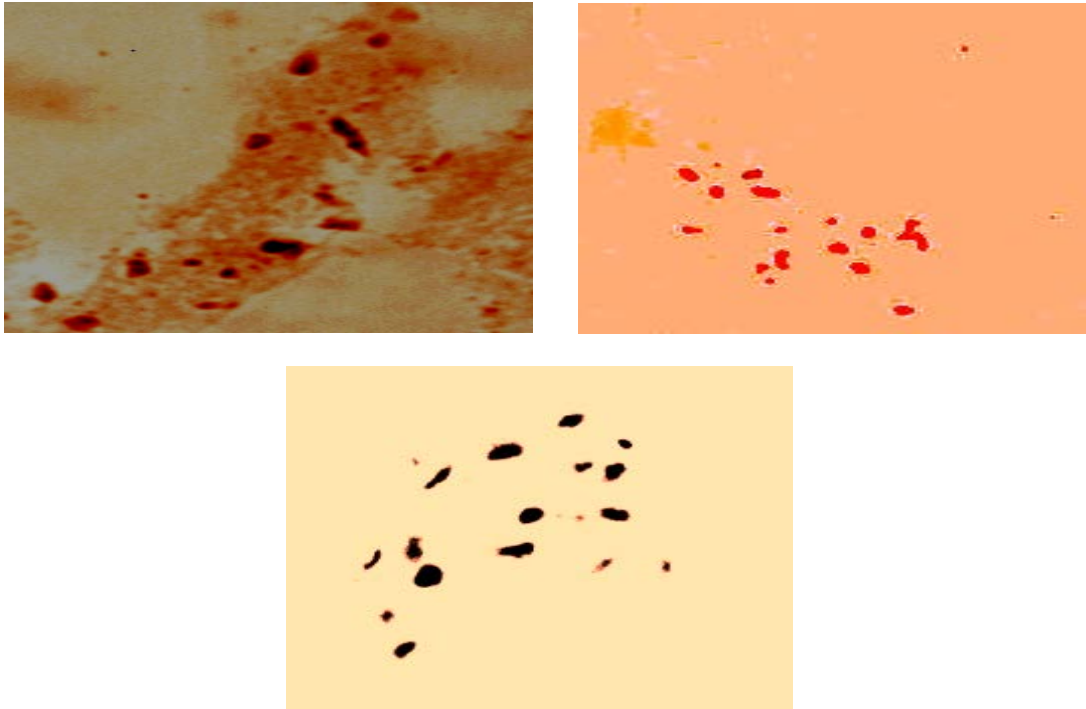


Fig. 6 : plaques métaphasiques traitées à l'orceïne présentant le nombre de chromosomes ($2n=16$) de l'espèce *Salvia balansae* (Photo personnelle)

Par ailleurs, les résultats obtenus à l'issue de l'étude de la méiose confirment ceux de la mitose, et donc l'espèce *Salvia balansae* présente un lot gamétique haploïde ($n = x = 8$) (Fig. 7)

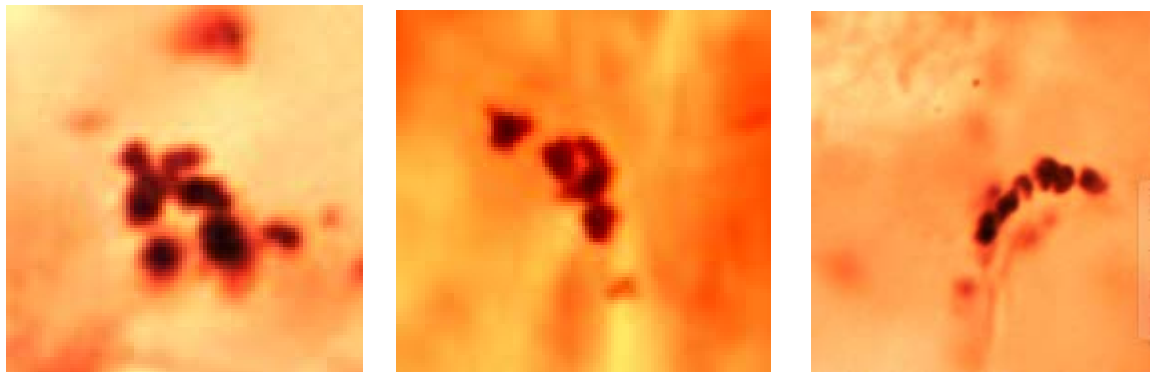


Fig. 7 : Comportement méiotique des individus de l'espèce *Salvia Balansae* ;
A, B: Diacynèse ; **C** : Métaphase I ($X=8$) (Photo personnelle)

L'apparition du nombre de base $x=8$ ne concorde pas avec les résultats de AFZALRAFII (1976), qui a indiqué que les espèces de *Salvia* d'origines Méditerranéennes sont caractérisées par un nombre chromosomique de base $X=7$, et semblent être en concordance avec ceux de AFZAL-RAFII (1979, 1971), qui a reconnu des $x=7$ et des $x=8$ sur des taxons de *S. officinalis* de la région méditerranéenne, un résultat similaire était trouvé pour *Salvia verbenaca* L. provenant du Nord de l'Espagne et du sud de la France.

AFZAL-RAFII (1976), suggère aussi que cette dysploïdie s'accompagne d'une localisation géographique particulière et pense que le nombre primitif est $X=7$, L'évolution se faisant dans le sens d'une progression de 7 à 8, ce qui expliquerait peut-être l'individualisation de nouveaux taxons.

Les résultats de la méiose, indique aussi que la nouvelle formule la garniture chromosomique de *Salvia balansae*, ($2n=17$) ne représente pas un deuxième nombre de base (X); le chromosome supplémentaire, nouvellement observé dans les cellules mitotiques de l'espèce n'est probablement pas de type A, mais il s'agit d'un chromosome surnuméraire B ou chromosome B. (fig.8)

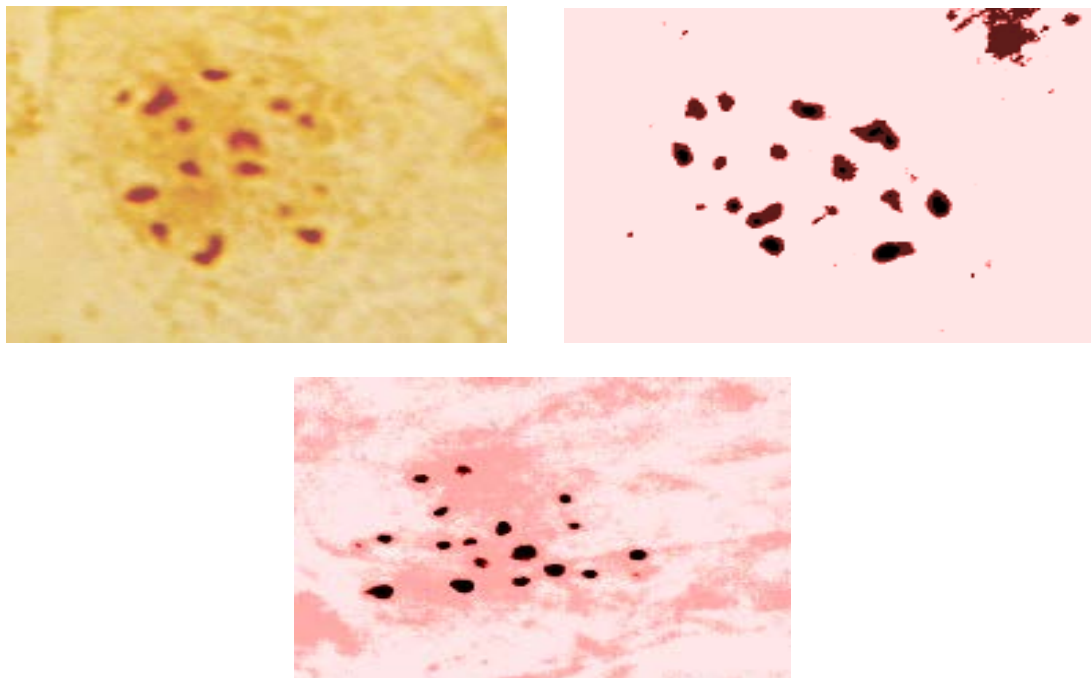


Fig. 8 : plaques métaphasiques traitées à l'orceïne présentant le nombre de chromosomes ($2n=17$) de l'espèce *Salvia balansae* (Photo personnelle)

Ces chromosomes sont également connus sous le nom de chromosomes accessoires rapportés dans environ 1300 espèces végétales et 500 espèces animales (CAMACHO *et al.*, 2000).

Selon GORENFLOT et RAINCU (1980), les chromosomes B sont d'habitude plus petits que les chromosomes A et la position de leur centromère est souvent terminale. Ils sont de type hétérochromatique et ne présentent pas d'homologie avec les chromosomes A (pas d'appariement à la méiose).

EHRENDORPER (1962), dans son étude sur la micro-évolution chez les Angiospermes, estime que des aberrations spontanées des chromosomes sont à l'origine des chromosomes accessoires ou chromosomes B et que plus de 15 % des individus diploïdes possèdent de tels chromosomes.

Le comportement cytologique de ces chromosomes B est très complexe ; il est caractérisé par une autorégulation intra et interindividuelles établissant un équilibre numérique dans la population qui en résulte.

D'après EHRENDORPER (1962), la différenciation structurale des chromosomes, ajoutée aux irrégularités de distribution des chromosomes, peut conduire à des changements du nombre chromosomique.

Les travaux effectués sur les chromosomes B ont souvent montré l'existence d'une corrélation entre leur présence et des facteurs écologiques spécifiques comme la quantité de pluie (HEWITT ET JOHN 1967), la température (HEWITT ET BROWN, 1970) ou la teneur en argile du sol (BOSEMARK, 1967).

Certains auteurs ont noté une corrélation entre le nombre de chromosomes B et les conditions défavorables de l'environnement (BENHIZIA, 2014).

Dans notre étude, la présence des chromosomes B chez l'espèce *Salvia balansae* pourrait être liée aux conditions du milieu dont une altitude élevée (1255m) et un climat semi-aride.

La présence des chromosomes B est fréquemment observée dans les caryotypes des espèces du genre *Salvia* (AFZAL-RAFII 1976; MERCADO *et al.* 1989; NAKIPOĞLU 1993 a, b; ALBERTO *et al.* 2003; MARTIN *et al.* 2008, 2009; WANG *et al.* 2009).

NAKIPOĞLU (1993b), à partir d'une étude portant sur 4 espèces de *Salvia* poussant en Turquie (*S. viridis* L., *S. glutinosa* L., *S. virgata*, *S. argentea* et *S. verbenaca*) avait également trouvé des formules chromosomiques différentes, suggère que les différents nombres de chromosomes indiquent que l'aneuploïdie se produit dans ces espèces.

Il a indiqué également que le nombre de chromosomes B pourrait varier en fonction des différentes populations et des formes cultivées de ces espèces même s'ils ne différaient pas de manière morphologique. De plus, il a été indiqué que les différences dans les chromosomes B peuvent être dues à des caractéristiques différentielles et aux structures du sol.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion et Perspectives

Au cours de ce travail nous avons pu avoir une connaissance cytogénétique assez importante du génome de l'espèce *Salvia balansae* Noë ex Coss., endémique de l'Algérie collectée du site « Elhammame » (Commune d'Iche-emmoul, région des Aurès, proche de Oued Abdi); en appliquant des techniques de cytogénétiques conventionnelles telles que : la coloration au à l'orceïne lactopropionique, qui permet de faciliter le dénombrement chromosomique des espèces, et la méiose qui traite leurs comportements méiotiques, et confirmer leurs niveau de ploïdies.

Au niveau chromosomique, le prétraitement des racines à l' α Bromonaphtaène, et à la coloration à l'orceïne, ont mis mettre en évidence des plaques métaphasiques mitotiques pour notre espèce étudiée. Des plaques métaphasiques sont également obtenues sans prétraitement.

D'après nos résultats, nous avons constaté que :

L'espèce *Salvia balansae*, se trouve à l'état diploïde avec ($n=8$). Elle présente deux formules chromosomiques ($2n=16$; $2n=17$), dont la première est la plus abondante chez les individus étudiés.

En effet, l'étude du comportement méiotique des cellules mères du grain de pollen nous a permis de confirmer le niveau de ploïdie. Le nombre de base présent dans le lot gamétique des individus étudiés de notre espèce est ($x=8$).

A l'issue des résultats de la mitose, nous avons mis en évidence également chez quelques cellules métaphasiques des individus étudiés, la présence d'un chromosome surnuméraire ou chromosome B, ce qui justifie le deuxième nombre chromosomique ($2n=17$). Ce dernier n'était pas reconnu dans les cellules méiotiques.

Le degré de spiralisation des chromosomes (inefficacité du prétraitement), leurs petites tailles, et le manque de temps durant l'expérimentation, constituent les limites rencontrées pour continuer notre travail et établir le caryotype de l'espèce.

Ce travail constitue une première ébauche de l'étude l'espèce naturelle *Salvia balansae*, qui pousse spontanément et uniquement en Algérie, et nous a permis connaître des nouvelles données de base sur l'organisation du génome de cette espèce.

Mais, il reste incomplet, il serait mieux de l'enrichir par des études ultérieures pour confirmer avec exactitude le nombre de base , déterminer la formule chromosomique de l'espèce , effectuer des mesures de la taille des chromosomes, et établir enfin son caryotype représentatif. Ainsi, de montrer l'importance de l'étude cytogénétique dans la valorisation de cette ressource génétique et dans sa classification.

En perspectives, il conviendrait alors de :

- Mettre au point, le temps de prétraitement idéal qui donnera les meilleurs plaques métaphasiques pour continuer la réalisation du caryotype de l'espèce pour avoir une idée détaillée sur la taille du génome ;
- Elargir l'étude de la mitose et de la méiose sur d'autres individus d'autres provenances situées aux Aurès, et autres tels que les échantillons poussant à Mostaganem.
- Effectuer une comparaison entre leurs caryotypes pour mieux connaître le génome de cette plante, et confirmer le nombre de ploïdie de l'espèce .
- Etudier les facteurs du milieu d'origine de cette espèce qui semble avoir un effet très remarquable sur la variabilité caryologique qui existent au sein de l'espèce et essayer de comprendre le processus de son évolution.

ANNEXES

Composition des solutions utilisées

1- α Bromonaphtalène 1%

Diluer 1ml d' α Bromonaphtalène dans 100 ml d'eau distillée.

2 - Solution de coloration « Orceïne lactopropionique »

❖ Solution mère de l'orceïne

Mélanger 2g d'orceïne dans 100ml d'acide lactique et 50ml d'acide propionique. Par la suite, cette solution est filtrée et conservée à l'abri de la lumière.

❖ Dilution

Au moment de l'emploi, la solution mère est diluée comme suit :

- 45% de la solution mère ;
- 55% d'eau distillée ;
- 1/20 en volume d'HCl.

3- Carmin acétique à 1%

Dans un grand erlenmeyer, porter 1 litre d'eau acétique (45% acide acétique) à ébullition. Verser 10 g de carmin et faire mijoter la solution pendant 5 min Laisser décanter jusqu'à refroidissement. Filtrer.

Additionner quelques gouttes de perchlorure de fer dans la solution obtenue pour accentuer l'intensité de la coloration. La solution de carmin ainsi obtenue, se conserve très longtemps dans un flacon en verre fumé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

AFZAL Z. 1976 . Etude cytotaxonomique et phylogenetique de quelques *Salvia* de la region Mediterranean: group *Salvia officinalis* L. Bulletin de la Société Botanique de France, 123: 515-324.

ALBERTO C.M., SANZO A.M. & XIFREDA C.C., 2003. Chromosomal studies in species of *Salvia* (Lamiaceae) from Argentina. Botanical Journal of Linnean Society, 141: 483-490.

ANDERSON S., 1994. Area and endemism. The Quarterly Review of Biology, 69.

ARSLAN I., & CELIK, A. 2008. Chemical composition and antistaphylococcal activity of an endemic *Salvia chrysophylla* Stapf. naturally distributed Denizli province (Turkey) and its vicinity. Pak. J. Bot , 40 (4), pp. 1799-1804.

-B-

BAGCI E., & KOKAK, A. 2008. Essential oil composition of the aerial parts of two *Salvia* L. (*S. multicaulis* Vahl. Enum and *S. tricochlada* Benth) Species from east Anatholian region (Turkey). International journal of science and technology , 3 (1), pp. 13-18.

BARAN P., OZDEMIR, C., & AKTAS, K. 2010. Structural investigation of the glandular trichomes of *Salvia argentea*. Biologia , 65 (1), pp. 33-38.

BARICEVIC, D., & BARTOL, T. 2000. Pharmacology: The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. Dans E. K. Spiridon, SAGE: The genus *Salvia* (pp. 143-184). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.

BEKTAS T., SERPIL D., SERDAL, A., ERDOGAN, M., & CENGIZ, S. 2005. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. Fitoterapia (82), pp. 237–246.

BELLEKHDAR J. 1997. Pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaire, Paris, Edit. Ibis Press, 764 p.

BENHIZIA-GOUDJIL H., 2014. Caractérisation cytogénétique classique et moléculaire de trois espèces endémiques du genre *Hedysarum* L. Thèse de doctorat. Université Mentouri Constantine 73P.

BHATTACHARY S., 1978. Study of some Indian members of the genus *Salvia* with references to the cytological behavior. *Cytologia*, 43:317-324.

BO LI., PHILIP D. CANTINO, RICHARD G. OLMSTEAD, , GEMMA L. C. BRAMLEY, CHUN-LEI XIANG, ZHONG-HUI MA, YUN-HONG TAN , DIAN-XIANG ZHANG 2016 . A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its sub familial classification, *Scientific Reports*, www.nature.com/scientificreports.

BORGEN L., 1980. Chromosome numbers of Macaronesian flowering plants III. *Bot. Macaron.*, 7:

BOTINEAU M., 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, Lavoisier, Paris. 1021-1043p.

BOUAZIZ M., THABET Y., SAMI S., DHOUIB A. 2009. Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L cultivated in Tunisia. *Food and chemical toxicology*, 47: 2755-2760.

-C-

COUPLAN F. 2000. Dictionnaire étymologie de botanique .Nestlé (Ed). Luisane. Paris,

CUVELIER M. E., BERSET, C., & RICHARD, H.1994. Antioxydant constituents in sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, pp. 665-669.

-D-

DE CANDOLLE A.P., 1820. Essai élémentaire de géographie botanique. Strasbourg.

DELESTAING N., 1954. Contribution à l'étude cytologique du genre *Salvia*. *Reu.. Cyt. et Biol, vég.*, 15 (3), 195-236.

DE NOÉ F., 1855. Notes et observations sur quelques espèces nouvelles de Labiées de la flore de l'Algérie et de la régence de Tunis. *Bull. Soc. Bot. France* 2:

DÍAZ-LIFANTE Z., LUQUE T. and SANTA BÁRBARA C.1992 . Chromosome numbers of plants collected during Iter Mediterraneum II in Israel. *Bocconea, Monographiae Herbarii Mediterranei Panormitani.*, 3: 229-250.

DUARTE M. R., & LOPEZ, J. F. 2007. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* , 17 (4), pp. 549-556.

-E-

EPLING C., LEWIS H. & RAVEN P.H., 1962 . Chromosomes of *Salvia*, section *Audibertia*. *Aliso*, 5: 217-221.

-F-

FAVARGER C., CONTANDRIOPOULOS J., 1961. Essai sur l'endémisme. *Bull. Soc. Bot.Suisse.*, 71: 384- 408.

FAVARGER C., SILJAK-YAKOVLEV S., 1986. A propos de la classification des taxons endémiques basée sur la cytotaxonomie et la cytogénétique. Colloque international de botanique pyrénéenne, La Cabanasse (Pyrénées-Orientales). Société Botanique de France. Groupement Scientifique Isard. Paris, pp: 287-303.

-G-

GHAFFARI S.M. and CHARIAT-PANAHI M.S., 1985. Chromosome counts of some angiosperms from Iran. *Iran. J. Bot.*, 3: 67-73

GUIGNARD J. L. & DUPONT F., 2004. *Botanique systématique*. Masson, Paris. 13ième éd., PP 189- 194.

-H-

HAQUE M.S. & GHOSHAL K.K., 1980. Karyotypes and chromosome morphology in the genus *Salvia* Linn. *Cytologia*, 45: 627-640.

HAQUE M.S., 1981. Chromosome numbers in the genus *Salvia* Linn. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Section B, Biological Sciences*, 47: 419-426.

HILAN C., SFEIR R., JAWISH D., & AITOUR S., 2006. Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des lamiaceae. *Lebanese Science Journal* , 7 (2), pp. 13-22.

-I-

ISERIN P., 2001-Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2ème Ed.14. Paris.335p.

-J-

JAHIER J., 1992. Techniques de cytogénétique végétale. INRA. Paris. Pp. 57-67.

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 03 . 2012. Décret exécutif n° 12-03 du 10 Safar 1433 correspondant au 4 janvier 2012 fixant la liste des espèces végétales non cultivées protégées.

-K-

KARAMAN, Ş., ILCIM, A., & ÇOMLEKÇIOĞLU, N., 2007. Composition of the essential oils of *Salvia aramiensis* Rech. Fil. and *Salvia cyanescens* Bois. *And Bal. Pak. J. Bot* , 39 (1), pp. 169-172.

KAROUSOU R., HANLIDOU E., & KOKKINI S., 2000. The sage plants of greece: distribution and infraspecific variation. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 27-46). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.

KHENFER S., MEDJOUEL M., 2014. Evaluation biologique des extraits des plantes à caractères médicinales récoltés dans la région du sud algérienne. Mémoire de Licence. Université kasdi Merbah, Ouargla. 35P

KIVRAK I., DURU M. E., OZTURK M., MERCAN N., HARMANDAR M., & TOPÇU G., 2009. Antioxydant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food chemistry* , doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.069. Article in press.

-L-

LAWRENCE B. M., 1995. Essential oils. Allured Publishing Corporation, Carol Stream.

LEE, Y. N., 1967. Chromosome numbers of flowering plants in Korea (i). *J. Korean Cult. Res. Inst.* 11: 455-478.

LIHSI W., & HEDGE I. C., 1994. LAMIACEAE (唇形科 chun xing ke). *Flora of China* , 17.

LIMA C.F., PATRICIA C., VALENTAO R., ANDRADE P.B., SEABRA.R.M., FERNANDES- FERREIRA.M., ET PEREIRA-WILSON C., 2007. Water and méthanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induce oxidative damage. *Chemiobiological interaction.*, **167** : 107-115.

-M-

MEYER S., REEB C., BOSDEVEIX R. 2004. *Botanique Biologie et Physiologie Végétales.* Editions Maloine, Paris.

MIZIANTI M., FREY L. & MIREK Z., 1981 .Contribution to the knowledge of the chromosome numbers of Polish vascular plants. *Frag. Flor. et Geobot.*, 27: 19-29.

MOKKADEM, A. 1999. Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. *Vie et Nature*, 7, pp. 24–26.

MOSTARI A., MOUSSA L., VELA2 E., 2016 Données préliminaires pour l'évaluation des menaces selon les critères de la liste rouge UICN de *Salvia balansae* (Lamiaceae), endémique d'Algérie. XV OPTIMA Meeting, Montpellier (France), 6-11 June.

-N-

NAGHIBI F., MOSADDEGH M., MOHAMMADI MOTAMED S & GHORBANI A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, Iran, *J. Pharm. Res.* 2, 63-79.

NICOLETTE P., MELAINE-JAYNE H., HOUGHTON P., & ELAINE P. 2000. Why sage may be a wise remedy: effects of salvia on the nervous system. Dans E. K. Spiridon, *Sage: The genus Salvia* (pp. 207-223). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.

-O-

OLMSTEAD, R. G. A SYNOPTICAL CLASSIFICATION OF THE LAMIALES, VERSION 2.2. 2010. Available at: http://my-plant.org/sites/default/files/lamiales_classn.v.2.2_0.pdf. (Accessed: 20 November 2012).

OZENDA PAUL, 1977. *Flore du Sahara.* CNRS (France), PP 263-266.

-P-

PALOMINO G., MERCADO P. & RAMAMOORTHY T.P. 1986. Chromosomes of *Salvia* subgenus *Calosphaea* (Lamiaceae), a preliminary report. *Cytologia*, 51: 381-386.

PATUDIN A.V., YURTSEV V.N. & PAKALIN D.A. 1975. Chromosome number in some species of *Salvia* L. (Lamiaceae). *Bot. Zhurn.*, 60: 529-534.

PISTELLI L. 2006. Photochemicals from lamiaceae: from nutraceuticals to Hallucinogens. International symposium The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy: 22-25 February 2006.

PISTRICK K., 2002. Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 211-225.

-Q-

QUEZEL P., & SANTA S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Paris, France: éd CNRS, 603 p.

QUEZEL P., 1964. L'endémisme dans la flore de l'Algérie in *Compte rendu sommaire des séances de la société de Biogéographie* n°323, 324, 325. P:137-149.

-R-

.-S-

SARIKURKCU C., TEPE B., DAFERERA D., POLISSIOU M., HARMANDAR M . 2008. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methan extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (lamiaceae) three different chemical assays, *Biores. Technol.*, 99:4239-4246

SCHEEL M. 1931. Kariologische Untersuchung der Gattung *Salvia*.. *Bot .Arch.*, 32, 148-208.

SCULLY R. 2008. KEY TO LAMIACEAE OF COLORADO (Mint Family). Colorado, USA: Univ Colorado Press.

SILJAK-YAKOVLEV S., PERUZZI L., 2012. Cytogenetic characterization of endemics: past and future. *Plant biosystems*, 146(3): 694-702.

SOSA M. E., TONN C. E. 2006. Plant secondary metabolites from Argentinean semiarid lands: bioactivity against insects. *Phytochem. Rev.*, 7(1):3-24

SUTTON J. 1999. *The Gardener's Guide to Growing Salvias*. Portland, Oregon: Timber Press, 160p.

STANLEY G., & SIMPSON E. J. 2000. Antioxidants from *Salvia officinalis*. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 185-192). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.

-T-

-U-

ULUBELEN A. 2000. Chemical constituents: Terpenoids in the genus *Salvia*. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 55-68). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.

-V-

VELA E., BENHOUBOU S., 2007. Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *C. R. Biologies*. 330: 589–605.

-W-

WALKER J. B., KENNETH, J., TREUTLEIN J., & WINK M. 2007. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Menthae. *American Journal of Botany*, 91 (7), pp. 1115–1125.

WALKER J. B., & SYTSMA K. J. 2007. Staminal evolution in the genus *Salvia* (Lamiaceae): molecular phylogenetic evidence for multiple origins of the staminal lever. *Ann. Bot.* **100**, 375–391.

WALTER S. J., CHRISTOPHER S. C., ELIZABETH A. K., & PETER S. 2002. *Botanique systématique: une perspective phylogénétique* (éd. traduite). Paris, France: De Boeck Universirty pp. 50–299.

WU C.Y. & LI H.W., 1982. On the evolution and distribution in Labiatae. *Acta Botanica Yunnanica*, 4: 97-118.

-Y-

YAKOVLEVA S. V. 1933. Karyological investigations of some *Salvia* species ; Bull. Appl. Bot. Genet. Pl. Breed. Tome II, 5, 13-207.

-Z-

ZERAIA L., 1983. Liste et localisation des espèces assez rares, rares et rarissimes. I.N.F. Alger. 136 p.

Sites

Site 1 : [https://fr.wikipedia.org/wiki/No%C3%A9_\(film\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/No%C3%A9_(film))

Site 2 : <http://www.ville-ge.ch/cjb/flore/html/QSv2-LABIEES.htm>

Site 3 : <http://www.kew.org/herbcatimg/97820.jpg>

Sites 4 : <http://www.kew.org/herbcatimg/97936.jpg>,

Résumé

L'objectif de notre étude est de réaliser pour la première fois le dénombrement chromosomique de l'espèce endémique de l'Algérie « *Salvia Balansae* Noë ex Coss. ». Le travail de comptage des chromosomes est porté sur des échantillons (graines et boutons floraux) collectés sur le site « Elhammame » (Commune d'Iche-emmoul, région des Aurès, proche de Oued Abdi). Nous avons pu avoir des données de base concernant l'organisation génomique de l'espèce par le biais de deux méthodes de cytogénétique classiques (coloration à l'orceïne), qui constitue un outil important pour le dénombrement chromosomique des espèces, et l'étude de la méiose des cellules mères du grain de pollen qui permet de confirmer le nombre gamétique de base (x). Nos résultats ont montré que l'espèce *Salvia Balansae* est diploïde ; deux nombres chromosomiques sont mis en évidence ($2n=16$; $2n=17$) dont le premier est le plus abondant chez les individus étudiés. L'étude de la méiose a confirmé l'existence d'un seul nombre de base ($x=8$; $2n=2x=16$), et a indiqué que les cellules indiquant le nombre ($2n=17$), présentent alors un chromosome surnuméraire : Chromosome B

Mots clés : Dénombrement chromosomique, Coloration, Méiose, Mitose, *Salvia Balansae* Noë ex Coss.

Abstract

The aim of our study is to achieve for the first time The chromosomal enumeration of the endemic species of Algeria « *Salvia Balansae* Noë ex Coss. ». The work of chromosomes counting is carried on samples (seeds and flower buds) collected from the region of « Elhamame » (community of Iche-emmoul, region of Aurès, near Oued Abdi). We could have background information concerning the genomic organization of the species by means of two classical cytogenetic methods (colouring by the orceïne), which is an important tool for the chromosomal enumeration of species, and the study of the meiosis of pollen grain's mother cells which allows to confirm the gametic base number (x). Our results has revealed that the species *Salvia Balansae* is diploid; two numbers are shown ($2n=16$; $2n=17$) that the first one is the most founded in the individuals' studies. Yet, the study of meiosis has confirmed only one base number ($x=8$; $2n=2x= 16$), and pointed out that the cells that contains the number ($2n =17$), presenting a supernummary chromosome : Chromosome B

Key words:

Chromosomal enumeration, coloring, meiosis, mitosis, *Salvia Balansae* Noe ex Coss.

ملخص:

الهدف من دراستنا هو حساب للمرة الأولى العدد الكروموزومي للنوع المستوطن في الجزائر « *Salvia Balansae Noë ex Coss.* » حساب الكر وموسومات يعتمد على عينات بذور وبراعم الزهور مجمع من منطقة الحمام (« Elhammame » بلدية ايش أمول. منطقة الاوراس. قرب واد عبدي تمكننا من الحصول على معطيات أساسية تخص التنظيمات الجينية للنوع « *Salvia Balansae Noë ex Coss* » بواسطة طريقتين متعلقتين بالعلم التقليدي للوراثة الخلوية (التلوين بالاورسيين) والذي يعتبر وسيلة هامة لحساب الكر وموسومات الخاصة النوع بالإضافة إلى دراسة الانقسام النصفى للخلايا الأم لحبوب الطلع و التي تسمح من التأكد من العدد القاعدي للأعراس النتائج المتحصل عليها تثبت أن عدد الكر وموسومات مضاعف عند النوع « *Salvia Balansae Noë ex Coss.* » نوعين من الكروموزومات ظهرت:

حيث الأول هو الأكثر تواجدا عند الأفراد المدروسة ($2n=17$; $2n=16$)

دراسة الانقسام النصفى أكدت تواجد نوع واحد أساسي:

$$N=X=8$$

وأظهرت أن الخلايا الحاملة للعدد الكروموزومي

تحمل كروموزوم إضافي يدعى : كروموزوم ب ($2n=17$)

Noms et Prénoms : BEZZA Nadia

BEGAGA Messoud

Titre : Contribution à la détermination du nombre de chromosomes de l'espèce endémique de l'Algérie « *Salvia balansae* Noë ex Coss. »

Diplôme : Master (Biotechnologies et Amélioration des plantes)

Résumé

L'objectif de notre étude est de réaliser pour la première fois le dénombrement chromosomique de l'espèce endémique de l'Algérie « *Salvia Balansae* Noë ex Coss. ». Le travail de comptage des chromosomes est porté sur des échantillons (graines et boutons floraux) collectés sur le site « Elhammame » (Commune d'Iche-emmoul, région des Aurès, proche de Oued Abdi). Nous avons pu avoir des données de base concernant l'organisation génomique de l'espèce par le biais de deux méthodes de cytogénétique classiques (coloration à l'orceïne), qui constitue un outil important pour le dénombrement chromosomique des espèces, et l'étude de la méiose des cellules mères du grain de pollen qui permet de confirmer le nombre gamétique de base(x). Nos résultats ont montré que l'espèce *Salvia Balansae* est diploïde ; deux nombres chromosomiques sont mis en évidence ($2n=16$; $2n=17$) dont le premier est le plus abondant chez les individus étudiés. L'étude de la méiose a confirmé l'existence d'un seul nombre de base ($x=8$; $2n=2x=16$), et a indiqué que les cellules indiquant le nombre ($2n=17$), présentent alors un chromosome surnuméraire : Chromosome B

Mots clés : Dénombrement chromosomique, Coloration, Méiose, Mitose, *Salvia Balansae* Noë ex Coss.

Département des sciences de la nature et de la vie

Directrice de recherche M^{elle}: **Bouziane Zahira** enseignante à l'université de Khenchela

Membre du jury:

Président : Mr. ZEREIB A. M.C.B Univ . Khenchela

Examineur : Mr. RAHAL K. M.A.A Univ. Khenchela