

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Mentouri Constantine
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie
Ecole doctorale de biotechnologie végétale

MEMOIRE

En vu de l'obtention du diplôme de magistère

Thème

Appréciation de la diversité génétique du genre *Rétama* par les marqueurs biochimiques

Présenté par

Mahnane wahiba

Devant le jury :

Président : Bensari.M professeur à l'université Mentouri Constantine

Rapporteur : Khelifi.D professeur à l'université Mentouri Constantine

Examineurs : Merghem.R professeur à l'université Mentouri Constantine

Hamidechi.M.A Maitre de conférence université Mentouri Constantine

Année universitaire : 2009-2010

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de biochimie génétique et biotechnologie végétale – Université Mentouri Constantine.

J'adresse mes plus vifs remerciements et mon profond respect à mon encadreur Mr Khelifi.D professeur à l'université Mentouri Constantine pour sa prise en charge, sa disponibilité et sa patience.

Je remercie Mr Bensari.M professeur à l'université Mentouri Constantine pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury.

Mes sincères remerciements s'adressent à Mr Merghem.R professeur à l'université Mentouri Constantine pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à exprimer ma gratitude et mes remerciements à Mr Hamidechi.M.A maitre de conférences à l'université Mentouri Constantine pour avoir accepté de faire partie des membres du jury.

Je remercie également toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

I.ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Historique et présentation.....	2
---	----------

I.1.1.Les légumineuses	2
------------------------------	---

I.1.2.Les rétames	3
-------------------------	---

I.2-Description des rétames	3
--	----------

I.2.1.Morphologie	3
-------------------------	---

I.2.2.Génétique et caryologie	4
-------------------------------------	---

I.2.3.Systématique	5
--------------------------	---

I.2.4.Présentation des espèces.....	5
-------------------------------------	---

- <i>Rétama sphearocarpa</i>	5
------------------------------------	---

- <i>Rétama monosperma</i>	5
----------------------------------	---

- <i>Rétama reatam</i>6
------------------------------	----

I.2.5.Distribution géographique des rétames	6
---	---

I.2.6.Capacité symbiotique des rétames.....	6
---	---

I.2.7-Intérêt des rétames.....	7
--------------------------------	---

-Intérêt écologique.....	7
--------------------------	---

-Intérêt pharmacologique.....	8
-------------------------------	---

-Intérêt industriel et économique.....	9
--	---

<i>I.3.les protéines de réserve</i>	10
I.3.1.Les protéines des graines des légumineuses.....	10
I.3.2.Intérêt des protéines de réserve en biotechnologie végétale.....	12
I.3.3. polymorphisme protéique et diversité génétique.....	12

II.MATERIEL ET METHODES D'ANALYSES

<i>II.1.Matériel végétal</i>	14
II.1.1.Description des graines.....	14
II.1.2.Echantillonnage et lieux de collecte.....	15
II.1.3.Description des lieux de collecte.....	15
<i>II.2.Méthodes d'analyses</i>	19
II.2.1.Electrophorèse des protéines totales –SDS PAGE.....	19
-Principe.....	19
-Les marqueurs biochimiques.....	19
-Critère d'un bon marqueur.....	19
II.2.2.Extraction des protéines totales.....	20
II.2.2.1.Préparation des échantillons.....	20
II.2.2.2.Traitements et extraction.....	20
II.2.2.3.Préparation des solutions d'extraction.....	21
II.2.3.Préparation des gels.....	21
II.2.4.Tampon d'électrophorèse.....	22
II.2.5.L'électrophorèse.....	22
II.2.6.Coloration et décoloration des gels.....	22

III. RESULTATS.

III.1.Analyse électrophorétique du polymorphisme	23
III.1.1.Polymorphisme intra-spécifique:	23
III.1.1.1.Polymorphisme intra-spécifique chez l'espèce <i>Rétama monosperma</i>	23
III.1.1.2.Polymorphisme intra-spécifique chez l'espèce <i>Rétama sphearocarpa</i>	23
III.1.1.3.Polymorphisme intra-spécifique chez l'espèce <i>Rétama reatam</i>	23
III.1.2.Polymorphisme interspécifique chez le genre <i>Rétama</i>	24
III.2.Comparaison entre les profils protéiques des protéines réduites et non réduites.....	24
III.3.Indice de similarité.....	29
III.3.1.Electrophoregramme des protéines non réduites.....	29
III.3.2.Electrophorégramme des protéines réduites.....	30
III.4.Phénogrammes.....	30

IV. DISCUSSION35

.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....37

ANNEXE.....39

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....45

INTRODUCTION

La steppe algérienne qui représente un milieu de richesse naturelle très importante, subie depuis quelques décennies une dégradation intense, à cet effet l'étude et la valorisation de ses ressources génétiques d'origine végétale s'avère de plus en plus nécessaire, et ceci pour la conservation des écosystèmes et de la diversité biologique.

Les rétames sont des légumineuses arbustives, possédant à la fois des intérêts pharmacologiques et écologiques, caractérisés par une distribution géographique très diversifiée en partant des pourtours de la côte méditerranéenne jusqu'aux régions semi-arides et arides, ils représentent un moyen naturel de lutte contre la désertification.

Le genre *Rétama* a fait l'objet de plusieurs travaux en ce qui concerne l'anatomie, l'histologie et la biochimie des tiges, des feuilles et des rameaux, mais peu de recherches ont été entreprises sur les graines notamment en ce qui concerne l'estimation de la diversité génétique et, c'est ce qui nous a incité à entamer l'étude du polymorphisme intra et interspécifique par les facteurs biochimiques de quelques populations du genre *Rétama*.

Notre travail est une contribution à la connaissance et à la valorisation de ce végétal, notre objectif a été de :

-Construire une grande collection du genre *Rétama* pour couvrir une grande variabilité, les graines de *Rétama* ont été collectées à partir de leurs centres d'origine.

-aborder l'estimation de la diversité génétique du genre *Rétama* en utilisant les marqueurs biochimiques, les marqueurs auxquels on s'est intéressé sont les protéines totales réduites et non réduites des graines.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1-Historique et présentation :

I.1-1-Les légumineuses :

Les Légumineuses représentent un groupe de plantes à fleurs (angiosperme) dicotylédones, ce groupe botanique possède un grand intérêt économique (Ozenda, 1982) servant ainsi, de culture pour l'alimentation humaine puisqu'elles sont très riches en amidon et fournissent une quantité de protéines beaucoup plus importante que les céréales, leur composition en acides aminés complète souvent celle du riz, du maïs, et du blé.

Les Légumineuses sont aussi considérées comme une excellente source de fourrages, d'engrais verts et produisent un grand nombre de substances toxiques et médicales en raison de la présence de certains alcaloïdes (Unesco, 1960).

Les Légumineuses représentent la plus grande famille d'Angiospermes, en nombre d'espèces (après les Orchidacées et les Astéracées) avec plus de 18000 espèces de répartition mondiale, classées en 750 genres environ (Ildis, 2001), elles sont présentes dans presque tous les milieux terrestres, et sont caractérisées par une large diversité, et dominées par les espèces ligneuses et vivaces.

Les fleurs des Légumineuses sont très variables, mais on peut remarquer chez toutes les espèces que les bases des Cinq pétales et les étamines sont soudées pour former une coupe (l'hypanthium) autour de la base de l'ovaire, elles possèdent habituellement 10 étamines qui sont soit soudées en une structure unique, soit réparties en 2 groupes l'ovaire est dit (surpère) c'est à dire situé au-dessus des autres pièces florales.

Le fruit des Légumineuses est très caractéristique, sous forme de gousse qui peut être soit aplatie avec un seul compartiment et qui se fend habituellement en deux structures, soit indéhissante (Encarta, 2008).

Une des plus grandes particularités de cette famille, est la présence de renflements au niveau des racines, appelés nodosités et contenant des bactéries symbiotiques du genre rhizobium, ces bactéries sont capables de convertir l'azote atmosphérique en azote organique (NO₃), participant ainsi à la fertilisation des sols.

La taxonomie des Légumineuses est en constante évolution, en effet cette famille est divisée en 3 sous-familles qui correspondent véritablement à des groupes monophylétiques (Doyle et

al 2000), chacune des sous familles est divisée en tribus et sous tribus définies d'après des caractéristiques morphologiques et regroupant plusieurs genre apparentés.

Ces trois sous familles sont parfois considérées comme trois familles différentes (Spichiger ,2004) qui sont :

- Les Papilionacées: devenues la famille des fabacées avec environ 500 genres et 1000 espèces ex : (genet, trèfle) que l'on rencontre majoritairement dans les régions tempérées.
- Les Mimosacées: avec environ 2000 espèces ex :(mimosa, acacia).
- Les Césalpiaciées: comportant près de 2000 espèces ex : (arbre de Judée).

I.1-2-Les rétames :

Les rétames sont des Légumineuses arbustives, occupant les zones arides, semi-arides et côtières, qualifiées de plantes fixatrices de dunes, leur nom dérive du nom biblique(ROTEM) qui fut changé par les arabes en (R'tem) ou (retam) (Zohary, 1962 ; Shallaby et al; 1972).

Le genre *Rétama* fut depuis longtemps confondu avec les genres *Genista* et *Spartium* (Brongniart et al ; 1843) on les désigna par *Genista retam* (Forkel, 1775), ensuite on utilisa le *Spartium* pour désigner les deux espèces : *Spartium sphaerocarpa* et *Spartium monosperma*, la nomination a ensuite été changé, et le nom de *Rétama* a été considéré comme un genre regroupant ces deux espèces (Boissier, 1939).

1.2.Déscription des rétames :

I.2.1.Morphologie :

Les rétames sont des plantes pérennes, ce sont des arbustes monoïques, pouvant atteindre jusqu'à 3 mètres de long, caractérisés par un tronc trapu et court, portant de nombreux rameaux dense, arqués, flexibles et retombants, fortement sillonnés et peu feuillés, les jeunes arbustes sont soyeux d'un vert argenté à gris argenté (Beniston, 1985 ; Ozenda, 1958).

Les feuilles sont très caduques, les inférieurs sont trifoliolés les supérieurs sont simples et unifoliées (Quezel et Santa, 1962), elles sont minuscules, alternes et linéaires, qui ne demeurent en place que quelques jours.

Les fleurs, unisexuées sont en petites grappes latérales, réparties sur de courts racèmes, avec petite calice bilabié, à lèvres supérieurs profondément bidentées, pétales à onglets plus ou

moins soudés au tube staminal, étendard dressé avec 10 étamines monadelphes (Quezel et Santa, 1962) elles sont de deux couleurs selon l'espèce :

- Blanches pour *Rétama monosperma* et *Rétama raetam*.
- Jaunes pour *Rétama sphaerocarpa*.

La floraison est longue et précoce de la fin d'hiver à début printemps, selon le climat, elle peut s'étendre jusqu'au mois de mai (Selami, 2000 ; Messirdi, 2004).

Le fruit est une étroite gousse indéhissante de moins de 2cm, acuminées, avec une extrémité aigue, portant une à deux graines (Quezel et Santa, 1962). Les graines contiennent de la cytosine, un alcaloïde toxique.

Le système racinaire est de type pivotant pouvant atteindre plusieurs mètres de profondeur (Stocker, 1974). Des racines adventives sont également présentes sur les rameaux et colonisent la surface des dunes.

Les rétames se multiplient au printemps par semis ou par bouturage de tiges aoutées, dans des sols pauvres, bien drainés même sablonneux à forte salinité.

En Algérie Le genre *Rétama* compte trois espèces :

- *Rétama monosperma*.
- *Rétama sphaerocarpa*.
- *Rétama raetam*.

I. 2.2. Génétique et caryologie:

Le genre *Rétama* a fait l'objet de peu de travaux dans le domaine de la cytogénétique en Algérie (Resse, 1957), et les premières études cytogénétiques ont révélées l'existence d'un seul cytotype polyploïde ($2n=48$) chez *R. raetam* et *R. monosperma* d'Algérie (Resse, 1957 ; Farnandez and Queiros, 1978). Le même nombre ($n=24$; $2n=48$) a été déterminé chez *R. sphaerocarpa* par Gallego-Martin et al .en 1988 .

I.2.3.Systématique :

Selon Quezel et Santa (1962) les rétames sont classés dans le taxon suivant :

Règne :	végétal
Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Ordre :	Fabales
Super famille :	Légumineuses
Famille :	Fabacées
Sous famille :	Papilionacées
Genre :	<i>Rétama</i>
Espèces :	<i>R.sphaerocarpa.</i>
	<i>R. monosperma.</i>
	<i>R.raetam</i>

I.2.4.Présentation des espèces :

- *Rétama sphaerocarpa* :

Arbrisseaux de 1 à 2m à rameaux pubescents plus ou moins dressés, caractérisés par de petites fleurs jaunes (5-6mm), situées en grappes latérales sur les rameaux âgés, feuilles très petites, gousse globuleuse, jaune brun de 7-13× 5-7 mm – pâturage rocailleux(Quezel et Santa, 1962).

- *-Rétama monosperma* :

Arbuste de 2 à 4m des dunes littorales, Fleurs blanches de 14-15mm étendard plus court que la carène, légèrement veiné de pourpre corole blanche, gousse à suture ventrale dilatée, ovoïde, portant une seule graine de couleur vert olive (Quezel et Santa, 1962).

- *Rétama raetam* :

Arbuste saharien de 1 à 3,5 m de hauteur à rameaux veloutés, fleurs blanches de 8-10 mm, étendard égalant la carène ou plus long, gousse non dilatée sur sa nature ventrale contenant une petite graine (Quezel et Santa, 1962).

Les deux espèces *Rétama raetam* et *Rétama monosperma* se ressemblent beaucoup et présentent des caractères peu distinctifs au niveau morphologique, une étude biochimique et moléculaire serait donc nécessaire pour faciliter leur identification et permettre ainsi une meilleure valorisation de leur diversité génétique.

1.2.5. Distribution géographique:

Les rétames sont caractérisés par une large distribution géographique, originaires du nord-ouest africain et probablement des îles Canaries (Zohary, 1959).

Rétama monosperma se localise au sud de l'Europe, sur les pourtours du bassin méditerranéen, et le long de la côte de l'Espagne (Andalousie), Portugal, Italie, et dans le désert sud asiatique (Zohary, 1959 ; Beniston, 1985 ; Quezel et Santa, 1962).

En Algérie les rétames occupent une surface considérable du nord vers le sud (Thomas, 1968 et Stocker, 1974).

Rétama monosperma colonise de larges étendues sur le littoral oranais, le littoral algérois, et le long du littoral de la région de Jijel.

Rétama raetam est localisé dans le sud oranais, sud de Djelfa, Ain Safra, Touggourt, au centre de la Kabylie, à l'est de Biskra (Ighil, 1962), également à Ouargla (Allal-benfakih.1 ; 2006), c'est une plante C3 commune des écosystèmes arides qui entourent la méditerranée, cette plante utilise comme stratégie d'acclimation une dormance partielle pour résister aux longues périodes de sécheresse (Mittler et al, 2002).

Rétama sphaerocarpa se trouve principalement en petite Kabylie, Ghardaïa, Djebel Amour et les plaines de Batna (Zohary, 1962).

1.2.6. Capacité symbiotique des rétames:

Les rétames ont une grande capacité symbiotique, faisant partie de la famille des légumineuses, leurs racines se terminent par de petits renflements qu'on appelle nodules ou

nodosités, qui abritent une faune microbienne très diversifiée, cette association symbiotique leur permet de fixer l'azote atmosphérique et de le convertir en azote organique assimilable (NO₃).

Les bactéries nodulatrices isolées des racines de *Rétama raetam* sont souvent des Sinorhizobiums, des rhizobiums et des agrobactériums (Mosbah et al ; 2007).

Les rétames jouent ainsi un rôle important dans le cycle du nitrogène, selon Hatimi, 1995, il existe chez *Rétama monosperma* une association symbiotique mycorhizienne qui participe à la l'augmentation de la biomasse et à la nutrition phosphatée et azotée.

I.2.7.Intérêt des rétames:

Le genre *Rétama* regroupe des espèces très intéressantes, du point de vue biochimique, moléculaire et écologique.

➤ Intérêt écologique :

Les rétames jouent un rôle très important dans le maintien de l'équilibre des milieux naturels et des écosystèmes, reconnues comme étant des plantes des zones arides et semi arides.

Les rétames s'adaptent aux conditions les plus extrêmes de sécheresse et de salinité grâce à leur morphologie et leur structure xéromorphique.

Selon Mittler.R et al ; 2000, *Rétama raetam* s'adapte bien aux conditions les plus extrêmes, elle développe un mécanisme moléculaire qui lui permet de résister aux changements climatiques (manque de nutriments et stress hydrique) et cela en entrant dans une phase de dormance partielle, en supprimant l'expression de certains gènes, grâce à une enzyme de défense qui est l'ascorbate peroxydase(APx).

Les rétames sont des espèces fixatrices de dunes, grâce à leur système racinaire très développé, selon (Zohary, 1961), les racines de *Rétama raetam* pénètrent jusqu'à 20m de profondeur dans le sol.

D'après Farchichi.A ; 1997, *Rétama raetam* grâce à son potentiel germinatif élevé, sa tolérance au stress hydrique et son mode de ramification racinaire, peut être considéré comme une espèce pionnière apte à coloniser les cordons dunaires, son utilisation dans les opérations de revégétation de ces milieux fragiles est recommandable.

Grace à leur très grande capacité symbiotique, les rétames contribuent à la bio fertilisation des sols salins et pauvres, et jouent un rôle important dans le cycle de l'azote.

➤ Intérêt pharmacologique :

Selon (Unesco, 1995) *Rétama* a été répertorié comme étant plante médicinale des régions arides.

En médecine traditionnelle, *Rétama raetam* est utilisé dans le traitement de plusieurs maladies comme l'eczéma, elle est utilisée dans le sud dans les soins en cas de morsures de serpents (El Hamrouni.A, 2001).

Le pouvoir pharmacologique des rétames est dû à la présence de certains alcaloïdes, dans *Rétama sphérocarpa* Boiss, Battandier et malosse avaient séparé dès 1897 la rétamine, ils ont aussi isolé la d-spartéine et la cytosine qui se trouve dans le fruit de cette espèce (Unesco ; 1995).

La rétamine possède une activité ocytotique près de deux fois plus grande que la spartéine.

De *Rétama monosperma* boiss, Vazques et Ribas (1897) ont également isolé un certain nombre de mêmes alcaloïdes (rétamine, anagryne, cytosine, lupanine et la sphérocarpine) (Unesco.1995)

27 alcaloïdes ont été identifiés à partir des tiges et des fruits de *Rétama monosperma* par El-Shazly et al. ;(1996) (tableau1).

Des recherches entreprises sur le genre *Rétama*, ont montré que l'extrait aqueux de *Rétama raetam* avait un effet diurétique (Maghrani.M et al ; 2005), aussi bien qu'hypoglycémique (Maghrani.M et al ; 2003), en effet l'administration orale d'une dose de 20mg/kg de l'extrait aqueux de *Rétama raetam*, réduisait de façon significative le taux de glucose dans le sang des rats normaux, ainsi que des rats diabétiques dont le diabète a été induit par streptozotocine(STZ).

Rétama raetam influe aussi sur le métabolisme lipidique, selon (Maghrani.M et al ; 2004), l'administration d'extraits aqueux de *Rétama raetam* induit une baisse de la concentration des triglycérides dans le plasma des rats normaux et diabétiques et conduirait à une baisse significative du poids.

En plus *Rétama reatam* a une activité antioxydante (Saadaoui.B et al ; 2006), ainsi qu'antimicrobienne et cytotoxique.

De ce faite, on constate la large capacité pharmacologique des rétames, et leurs éventuelle utilisation en phytothérapie, et donc la nécessité d'approfondir les connaissances sur ces espèces, au niveau moléculaire et génétique.

Les alcaloïdes détectés chez *Rétama monosperma* (mg/100mg) de matériel végétal d'après EL-SHAZLY et al, 1996.

Alcaloïdes	<i>Rétama monosperma</i>	
	Tige	Fruit
Epilupinine	-	-
a-isosparteine	Tr	-
Sparteïne	24.79	Tr
Dehydrosparteine	Tr	-
b-isosparteine	Tr	-
11,12-dehydrosparteine	Tr	-
Ammondendrine	Tr	-
Dehydroammodendrine	11.59	2.75
n-methylcytisine	Tr	-
Dehydrocytisine	4.90	12.72
Cytisine (abc)	Tr	-
Dehydrorétamine	1.50	-
17-oxosparteine	Tr	-
a-isoplupanine	7.59	58.69
5.6-dehydroplupanine (b)	Tr	-
Rhombifoline	2.75	-
Lupanine (a.b)	Tr	-
Aphylline	9.90	Tr
n-carbométhylcytisine	Tr	Tr
11-allylcytisine	4.24	Tr
17-oxorétamine	Tr	-
n-formylcytisine	Tr	-
n-acétylcytisine	-	-
12a-hydroxylupanine	0.50	Tr
Anagrine (a,b)	32.06	25.84
Dehydrobaptifoline	Tr	-
Baptifoline	Tr	-

➤ Intérêt industriel et économique :

Les rétames sont considérés comme un excellent fourrage, de plus leur bois est utilisé en chauffage.

Ils sont riches en fibre, dont la longueur moyenne atteint 1,93mm (Bahi, 1991), ils pourraient donc être valorisés dans l'industrie papetière.

Les rétames sont aussi des plantes ornementales en raison de leurs multiples fleurs odorantes.

Les graines des rétames contiennent des l cines, protéines allergènes, utilisées par la plante dans les mécanismes de défense contre les insectes, ce qui pourrait donc être valorisé dans l'industrie des bio insecticides.

1.3. Les protéines de réserve :

Les protéines sont des macromolécules constituées par assemblage de longues chaines d'acides aminés, elles sont présentes dans tous les organismes vivants et elles assurent l'essentiel des fonctions de la cellule.

Les végétaux représentent une source importante de protéines, qui sont essentiellement les prolamines, gluténines et les globulines. Les aliments qui procurent le plus de protéines dans une alimentation végétarienne sont les légumineuses (pois, haricot, lentille et soja) ainsi que les céréales (blé, avoine, riz, orge).

Pour le bon développement des embryons, les végétaux assurent a ces derniers un apport en protéines de réserve, il s'agit chez les angiospermes des cotylédons et de l'albumen.

Les tissus de réserve sont riche en matière azot e et en soufre et sont essentiellement constitués d'amidon, de lipides et de protéines contenant une proportion élevée en glutamine, asparagine et arginine.

Les premières études menées sur les protéines de réserve, remonte au XVIII siècle (Beccari, 1745). Leur première classification a été faite par Osborne en 1924, elle est basée sur leur solubilité dans l'eau (albumine), et dans les solutions salines (globulines).

Les protéines de réserve des organes végétatifs des légumineuses ne serviraient pas exclusivement de réserve azot e pendant des phases spécifiques de leur développement, mais elles pourraient également jouer un rôle adaptatif dans la protection de ces plantes contre des stress de type abiotique (basse température) et biotique (attaque par des pathogènes) (Avice.J ; 2003) .

1.3.1. Les protéines des graines des légumineuses

Les graines comme tout autre organe végétale, renferment un très grand nombre de protéines différentes (protéines de structure, protéines biologiquement actives et protéines de réserve).

En 1924, Osborne, fut le premier a les avoir classé selon leur solubilité dans des solvants différents, et ces fractions de protéines sont les suivantes :

- Albumine : soluble dans l'eau.
- Globulines : solubles dans les solutions salines .
- Prolamines : solubles dans l'éthanol aqueux
- gluténines : résidus insolubles.

Les protéines des légumineuses sont essentiellement constituées de fractions solubles donc essentiellement d'albumines et de globulines.

1-L'albumine : représentent (10 à 20%) des fractions protéiques des légumineuse, relativement riches en acides aminés soufrés et en lysines, ce sont des molécules ayant un rôle fonctionnel dans la cellule.

2-Les globulines : représentent 60 à 90 % de l'azote totale des légumineuses, leurs composition en acides aminés soufrés est faible et leur teneur en arginine est faible, elles ont une structure spatiale complexe et peuvent se lier ou se dissocier selon les conditions du milieu.

Chez les légumineuses, la fraction des globulines est déterminée essentiellement par les légumines, les vicillines, convicillines et les léctines.

Les légumines sont des molécules hexamériques de 350 à 410 KDa, elles sont composées de 6 sous unités bi caténares de 60 KDa.

Les vicillines sont des protéines trimériques dont la massa varie entre 150 et 200 KDa.

Les convicillines présentent une structure tétramérique et leurs polypeptides constitutifs ont une masse d'environ 280KDa, la forme finale de la protéine a une masse d'environ 750KDa.

Les léctines, sont des protéines toxiques qui se lient de façon irréversible aux glycoprotéines, ils sont considérés comme d'excellents outils macromoléculaires, ce sont des protéines de défense contre les insectes et les herbivores et possèdent donc des propriétés insecticides.

Rétama monosperma contient des léctines calciodépendante (Correia.M.F; 1998)

I.3.2.Intérêt des protéines de réserve en biotechnologie végétale :

Les protéines de réserve représentent un outil macromoléculaire d'une haute importance, en effet les protéines sont utilisées comme marqueurs biochimiques, en biotechnologie végétales permettant ainsi :

-l'identification des variétés et des espèces végétales.

-l'étude de la variabilité et du polymorphisme génétiques inter et intra spécifiques.

-l'études des protéines donne un accès directe vers la génomique, ce qui permet de cibler les molécules et les gènes d'intérêt.

I.3.3. polymorphisme protéique et diversité génétique :

Les ressources génétiques représentent un patrimoine naturel, d'un intérêt majeur, et jouent un rôle primordiale dans la stabilité des écosystèmes et le maintien de leur équilibre, ils représentent un héritage naturel pour les générations présentes et future.

La diversité génétique est la variation qui existe au niveau des gènes, c'est la variation de la quantité d'informations génétique des individus, des populations, des espèces, elle est définie par le niveau de similarité ou de différence dans cette composition génétique et représente le fondement de la biodiversité (Parizaeu,1997)

la conservation de la diversité génétique passe par son évaluation (Tam.M-S et *al*; 2006).

La diversité intraspécifique (polymorphisme génétique) représente le potentiel et la capacité à répondre aux changements environnementaux, à la fois sur le court terme (faculté d'adaptation) et sur le long terme (potentiel d'évolution) (Lewin; 1992)

En algérie, le niveau de connaissance de notre propre diversité biologique par rapport à la diversité de la vie n'atteint pas 50%, et sur les 16000 espèces reconnues, l'économie algérienne en utilise moins de 1%. Les semences, principale instrument de la diversité biologique , sont importés(Mediouni.F; 2000)

Récapitulatif de la Biodiversité algérienne selon F.Mediouni

Régne/groupes		Nombre d'espèces dans le monde		Algérie nombre de taxons		
		Décrite	Éstimé	connu	inconnu	disparu
flore	Champignons	72000	1500000	78?	50?	?
	Algues	4000	400000	468?	60?	?
	Total plante	270000	320000	?	?	?

C'est pourquoi il devient capitale d'appréhender et de protéger la biodiversité végétale, parcequ'elle ouvre d'immenses perspectives à la recherche de gènes nouveaux d'un tres grand interet agronomique, médicale et économique.

Le terme polymorphisme est utilisé pour désigner l'existence d'une variation discontinue,(chaque type étant une morphe) au sein d'une population (Harry; 2001)

Il existe plusieurs types de polymorphismes:

1-polymorphisme biochimique: affecte la structure des protéines et des enzymes, Le polymorphisme protéique peut être détecté par différentes techniques:quantitatives par spectrométrie ou qualitatives par électrophorèse mono ou bidimensionnelle.

2-polymorphisme chromosomique: il touche la structure des chromosomes.

3-polymorphisme moléculaire ou nucléotidique:concerne la structure de l'ADN et des nucléotides.

MATERIEL ET METHODES D'ANNALYSES

II.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est représenté par les graines de trois espèces de *Rétama*:

-*Rétama monosperma*.

-*Rétama reatam*.

-*Rétama sphaerocarpa*.

Ces graines ont été prélevées à partir de leurs centres d'origine, de différentes régions de l'Algérie, nous avons effectué des sorties sur terrain, dans des périodes différentes, vu la variabilité de la période de maturité des semences d'une région à une autre, la première collecte a été faite début mars 2008 et la dernière vers la fin d'août 2008.

II.1.1. Description des graines :

✓ *Rétama monosperma*:

À l'œil nu, les graines de *Rétama monosperma* apparaissent sous forme ovoïde, lisses de couleur brun-jaune, et d'une taille allant de 5 à 8 mm.

✓ *Rétama reatam*:

Les graines sont ovoïdes, lisses de couleur sombre allant vers le noir, et d'une taille de 3 à 7 mm.

✓ *Rétama sphérocarpa*:

Ces graines sont très petites, de couleur brune, et d'une forme assez globuleuse, leur taille varie entre 1 à 2 mm.

Les graines des différentes espèces, présentent certaines divergences et quelques similitudes au niveau des formes et des couleurs et cela en fonction de leur centre d'origine et de leur degré de maturité, on cite l'exemple des graines de *Rétama monosperma* de Tébessa et ceux de

Ouargla, ces graines présentent la même taille la même forme mais des couleurs différentes, jaune pour Tébessa et brune pour les graines de Ouargla, contrairement à ceux qui

proviennent de la région de Jijel qui sont de même couleur que ceux de Tébessa mais de taille et de forme différente .

Ainsi une étude protéomique permettra de repérer le polymorphisme génétique existant entre les espèces et au sein des différentes populations de *Rétama* et facilitera la distinction des espèces .

II.1.2.Echantillonnage et lieux de collecte :

Dans notre étude nous avons regroupé 21 populations désignant les trois espèces situées au paravant , provenant de différentes régions de l'Algérie(voir annexe I).

-Pour *Rétama monosperma*, 10 populations proviennent de la région de Jijel, 01 population de Tébessa, 01 population de la région d'Oran et 01 de Ouargla.

-pour *Rétama reatam*, on a récupéré une population provenant de Tébessa, 01 de Jijel, 01 population de Oum El bouagui, 01 de Guelma et 02 population de la région de Djelfa.

-pour *Rétama spherocarpa*, 02 populations proviennent de la région de Jijel.

II.1.3.Description des lieux de collecte :

-JIJEL:

Jijel est une ville côtière du nord-Est de l'Algérie, située à 360 km à l'Est de la capitale Alger, elle s'étend sur une superficie de 2398,69 km² avec une façade maritime de 120km, du point de vue géographique la région de Jijel se trouve sur le point 36° 52 ' 48 " Nord latitude et 5° 49 ' 12 " longitude Est, caractérisée par un climat tempéré et une précipitation moyenne de 1200mm/an.

Les 10 populations de *Rétama monosperma* collectées de Jijel proviennent de Sidi Abd Lâaziz(27km à l'Est de Jijel) et de Bazoul.

-Les 2 populations de *Rétama spherocarpa* collectées de Jijel proviennent de: Ziama Mansouria(36,6666° latitude, 5,4833 ° longitude) , el-Ouana(36° 46 ' N, latitude et 5° 34 ' E, longitude) .

- Oran :

Ville côtière du nord-ouest de l'Algérie située à 432km de la capitale Alger, et à environ 656km de la ville de Constantine, elle se trouve sur le point 35°37 'N latitude et 0° 38 ' longitude, avec une précipitation moyenne qui ne dépasse pas le 240mm/an.

-Tébessa :

Située au nord de Djbel doukana à 4 km de la frontière Algéro-tunisienne, elle s'élève à 960m d'altitude et se trouve sur le point 35° 24 ' N latitude et 8° 06 ' E longitude, caractérisé par un climat chaud et semi-aride. Les graines de *Rétama monosperma* proviennent de *M'zara (Bir-Ater)* et les graines de *Rétama reatam* proviennent de *Tbag* à environ 15 Km de la wilaya de Tébessa.

-Ouargla :

Ville du Sud-est du pays Située à 128m d'altitude, sur le point 31° 57 ' N latitude et 5° 20 ' E longitude, caractérisée par un climat chaud et sec avec une température moyenne qui atteint son maximum au mois de juillet (45°C) et une précipitation moyenne de 8mm.

-Djelfa:

D'une superficie de 32 256.35 km²,à 1150m au dessus du niveau de la mer, sur le point 34° 41' N latitude et 3° 15' E longitude. Caractérisée par un climat continental avec des hivers froids et humides et des étés secs et chauds,c'est un département à vocation pastorale dominé par la steppe.les graines de *Rétama raetam* proviennent de *Massaad* .

-Oum El-bouaghi

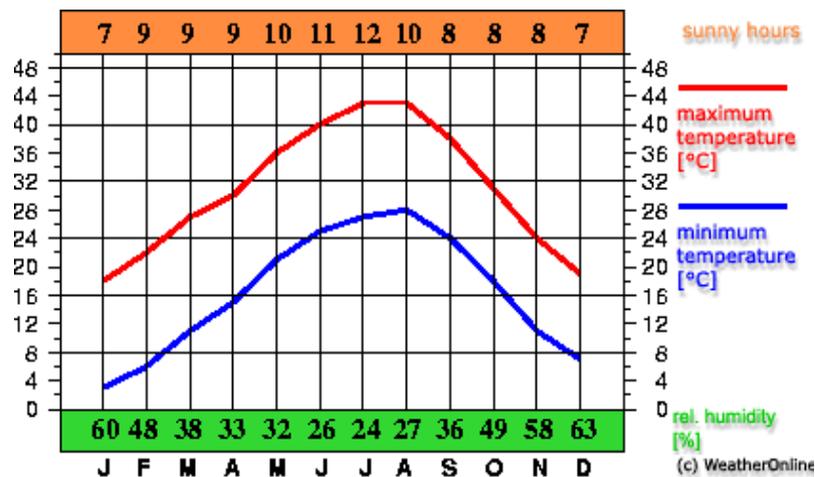
Situé entre l'Atlas tellien au nord, l'Atlas saharien et les Aurès au sud, caractérisé par un climat chaud et sec.

La wilaya d'Oum el Bouagui possède une pluviométrie irrégulière le taux de précipitation est de 350 à 400 mm/an .

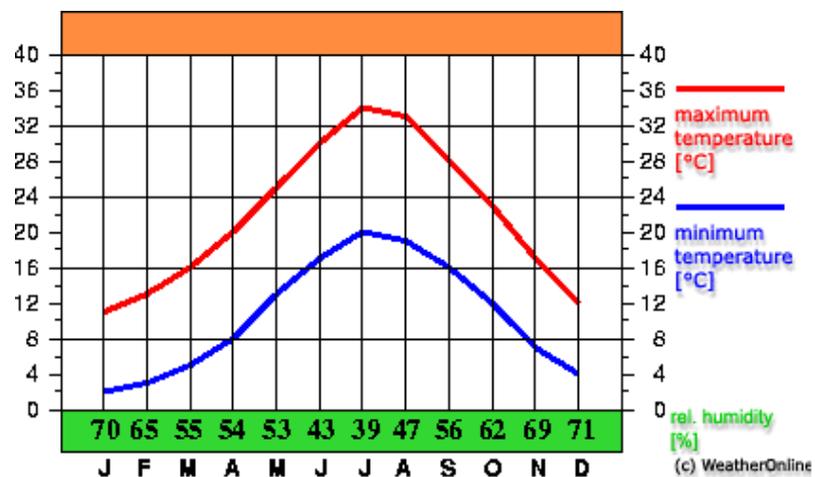
La couverture végétale est de type xérophile (adaptation à l'aridité), l'arbre est absent et seules les plantes steppiques s'y adaptent bien.

-Guelma :

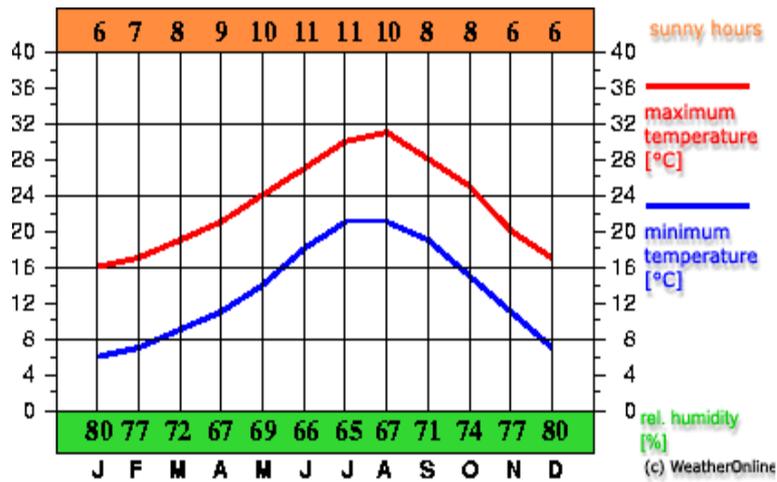
Située sur le point 7° 28' E longitude et 36° 28' N latitude, à 228 m d'altitude, les graines de *Rétama raetam* qu'on a collecté de Guelma proviennent d'El-Fdjouj à environ 16km de Guelma.



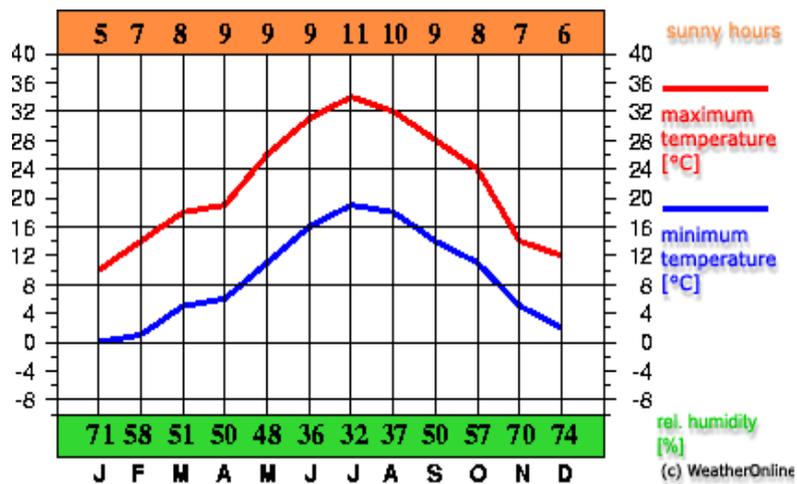
Température annuelles et humidité de la wilaya de Ouargla



Températures annuelles et humidité de la wilaya de Tébassa



Températures et humidité annuelles de la wilaya d'Oran



Températures annuelles et humidité de la wilaya de Djelfa

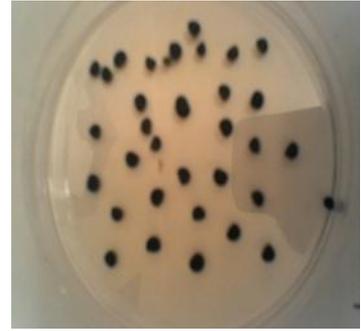
www.wofrance.fr/weather/maps/city.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



(h)



(i)

- (a) :graines de *R. monosperma* (bazou l-Jijel), collectées le 19/05/2008.
 (b) :graines de *R.monosperma* (bazoul -Jijel), collectées le 19/05/2008.
 (c) :graines de *R.raetam* (Massaad -Djelfa), collectées le 29/05/2008.
 (d) :graines de *R.monosperma* (Sidi Abd Laaziz -Jijel), collectées le 12/06/2008.
 (e) :graines de *R.monosperma* (Ouargla) collectées le 17/04/2008.
 (f) :graines de *R.monosperma*-(Djenah -Jijel), collectées le 19/05/2008.
 (g) :graines de *R.monosperma* (bazoul - Jijel), collectées le 19/05/2008.
 (h) :graines de *R. raetam* (Tbag - Tébessa), collectées le 13/03/2008.
 (i) :graines de *R. sphearocarpa* (ziama-Jijle).

II.2. Méthodes d'analyse :

II.2.1.Électrophorèse des protéines totales- SDS PAGE :

-Principe :

L'électrophorèse est une technique qui permet de séparer les protéines sur un support de gel en polyacrylamide, et sous l'influence d'un champ électrique, les protéines sont préalablement traitées avec du SDS (Sodium Déodocyl Sulfate), un détergeant anionique qui permet de fixer les protéines et d'égaliser artificiellement leur densité de charge, les protéines chargées négativement vont ainsi migrer en fonction de leur masse moléculaire qui déterminera leur vitesse de migration. Les protéines de faible poids moléculaire migreront plus rapidement que les protéines de poids moléculaire plus élevé.

-Marqueurs biochimiques :

Les marqueurs biochimiques (protéines, iso enzymes...) sont des éléments génétiques issus de l'expression biochimique des gènes, apparus vers 1970, et sont déterminés non seulement par les gènes mais souvent par l'état de développement physiologique ainsi que par l'organe et le milieu où il se trouve (Nanson.A ; 2004).

Les marqueurs biochimiques sont donc des moyens d'étude des facteurs génétiques et non génétiques parce qu'ils permettent de détecter l'influence de l'environnement et du milieu sur le génotype et aident donc à mieux différencier les populations.

les marqueurs protéiniques permettent de mieux cibler les caractères recherchés tels que le rendement ou la qualité (Tam.M-S et al; 2006). Chaque être vivant présente des différences dans son génome, donc dans sa constitution protéique, c'est ainsi que l'absence, la présence ou l'abondance d'une protéine donnée, crée un profil spécifique pour chaque individu et chaque population et qui peut être la source d'une grande variabilité génétique.

-Critères d'un bon marqueur :D'après Vienne, 1995, un marqueur génétique idéal est polymorphe et multi-allélique, codominant et non épistasique (c.-à-d. un caractère additif) neutre (caractère non sélectif), insensible au milieu.

D'un point de vue général, un bon marqueur est :

- polymorphe.
- codominant.
- site unique dans le génome.
- position et profil connus.
- disponibilité en grand nombre.
- cout le plus bas possible.

II.2.2.Extraction des protéines totale:

L'extraction des protéines totales a été réalisé selon un protocole mis au point au niveau de notre laboratoire, en effet nous avons effectué plusieurs essais afin d'améliorer le résultat. Notre étude est basé sur la détection du polymorphisme intra et inter –spécifique qui existe au niveau des protéines réduites et non réduites, pour cela l'extraction a été réalisé en utilisant deux solutions d'extraction dont l'une contient un réducteur (DTT) et ceci en passant par plusieurs étapes:

II.2.1.1.Préparation des échantillons:

Afin d'améliorer les résultats, nous avons procédé à l'élimination des téguments des graines et ceci pour empêcher les tanins , les lipides et tout autres résidus d'interférer avec les protéines, pour cela les graines des différents échantillons des espèces *R.monosperma* et *R.reatam* sont trempées dans l'eau du robinet pour une période allant de 15 à 20 jour, les graines détégumentées sont mises à l'étuve à 20°C , une fois séchées , les semences dépourvus de téguments sont broyés à l'aide d'un mortier et la farine est récupéré dans des eppendorfs (l'équivalent d'une graine par eppendorf)

II.2.2.2.Traitements et extractions :

la farine des différents échantillons est traité (15 minutes) avec une solution de tampon (A) qui est un tampon phosphate sodique 0.05M pH7 contenant du Na Cl 0.25M.

Le tampon permettra de solubiliser les protéines de réserve, et d'éliminer les lipides contenus dans la farine des graines comme suivant:

- Après récupération de la farine, 1.4ml du tampon d'extractions (A) est ajouté à chaque eppendorf. Ces derniers sont ensuite agités au vortex et centrifugés à 14.000 rpm, à 22°C pendant 15 min.

-Après centrifugation, 1,2 ml du surnagent sont aspirés, tout en évitant l'anneau lipidique qui se forme à la surface. Le surnagent est ensuite transféré dans de nouvel eppendorfs , et centrifugé une deuxième fois pendant 10 min.

- 800µl sont ensuite prélevés et répartis entre deux eppendorfs séparés qui contiendront chacun 400 µl du surnageant. et qui subiront des traitements différents, sans et avec réducteur.

Pour concentrer les protéines, les eppendorfs sont mis à l'étuve à 40°C jusqu'à évaporation totale .

II.2.2.3.Préparation des solutions d'extraction:

-Après évaporation , pour chaque échantillon, un des eppendorfs(400µl), sera traité avec une solution d'extraction(B), contenant 2% P/V SDS, 40% P/V glycérol, 0.02% P/V bleu de bromophénol, et d tris HCl Ph 8 et l'autre sera traité avec la solution d'extraction (B') qui contient un réducteur (DTT) 1%.

Les échantillons sont agités brièvement et incubés (15 min) pour permettre la complexion du SDS avec les protéines et la rupture des ponts disulfures par le DTT.

-Après centrifugation de (10min), les extraits protéiques sont déposés dans les puits du gel (10µl) par puits.

II.2.3.Préparation des gels:

-Le gel de séparation est utilisé à T=12,8% (T=acrylamide +bis acrylamide à 35% (P/V), il contient du N,N-méthylène-bis acrylamide à 2%, du tris HCl 1M à pH 8,8, du SDS à 10% et de l'eau distillée (annexe I).pour favoriser la polymérisation on ajoute des catalyseurs: persulfate d'ammonium (APS) à 1% P/V et la tétra méthylène-diamine (TEMED).

-le gel de concentration est préparé à T=2,8% avec du tris HCl Ph 6.8.

II.2.4.Tampon d'électrophorèse:

Les cuves d'électrophorèse sont remplies avec un tampon composé de glycine, tris et d' SDS.(annexII)

II.2.5.L'électrophorese:

La migration est mené à une intensité de courant de 80m A par gel , pendant environ 3heures.

II.2.6.Coloration et décoloration des gels:

-Après sortie du front de migration, les gels sont démoulés, les gels de concentration sont éliminés et les gels de séparation sont mis sous agitation pendant une nuit dans une solution de coloration contenant du TCA 60% et du bleu de coomassie R-250 (annex II)

-La décoloration se fait ensuite par des rinçage répétés à l'eau du robinet.

-Pour être conservés , les gels sont mis en agitation dans une solution de glycérol à 10% pendant une heure, puis séchés à température ambiante entre deux feuilles de polyéthylène.

-Les diagrammes électrophorétiques sont lu selon la mobilité relative et l'intensité des bandes , le PM des protéines est déterminé par rapport à des protéines marqueurs de masse moléculaire connue, commercialisées en kit.

Résultats

III.1. Analyse électrophorétique du polymorphisme:

La technique de l'électrophorèse SDS-page a permis d'établir les diagrammes type de chaque population et de comparer leurs profils protéiques. L'utilisation du KIT a servi de repère pour le calcul du PM des différentes protéines .

Nous pouvons constater trois zones de migrations qui sont délimitées par le kit.(fig 1 et 2)

-Zone de migration lente (A): comprend les bandes qui ont un poids moléculaire supérieur ou égale à 150 kDa, les bandes dans cette zone sont bien séparées et ont des intensités différentes, le polymorphisme détecté, se traduit par la présence et/ou l'absence de certaines bandes ainsi que par l'intensité des bandes protéiques.(fig1)

-zone intermédiaire (B): contient les bandes dont le poids moléculaire varie entre 150 à 35 kDa,c'est dans cette zone qu'on observe le plus de bandes protéiques,elle contient des bandes bien séparées et d'autres étroitement regroupées, cette zone est caractérisée par la présence d'une bande de 144,9 kDa qu'on trouve chez les trois espèces de *Rétama* étudiées.

-zone rapide: regroupe les bandes de 35 à 15 kd .

III.1.2.Polymorphisme intraspécifique:

III.1.2.1.Polymorphisme intraspécifique chez l'espèce *Rétama monosperma*:

Le polymorphisme intraspécifique détecté chez *Rétama monosperma* s'observe au niveau des bandes ayant les PM suivants: 305 - 267,30 – 255,79 – 71,44 – 59,92 – 27,15 – 26,12 et 15,19 kDa (fig 1)

III.1.2.2.Polymorphisme intraspécifique chez l'espèce *Rétama sphaerocarpa*:

-chez les deux populations de *Rétama sphaerocarpa* étudiées aucun polymorphisme intraspécifique n'est signalé.

III.1.2.3.Polymorphisme intraspécifique chez les populations de *Rétama reatam*:

Le polymorphisme intraspécifique détecté chez les populations de *Rétama reatam* s'observe au niveau des bandes suivantes:

-Les bandes de 305 ,267,3 et 126,5 kDa sont présentes chez les populations d' Oum bouagui et de Tébessa et absentes chez la population de Guelma.(fig 2)

-la bande de 138 kDa présente uniquement chez la population de Tébessa.

-la bande de 92,80 kDa présente uniquement chez la population d' Oum bouagui.

III.1.3. Polymorphisme interspécifique chez le genre *Rétama*:

Le polymorphisme interspécifique existant entre les trois espèces de *Rétama* étudiées se situe au niveau des bandes 59,62 kDa et 27,15 kDa qui sont présentes chez toutes les populations de *Rétama monosperma* étudiés.

-les bandes de 305 et 267,3 kDa sont présentes chez *Rétama monosperma* et *Rétama reatam* absente chez *Rétama sphearocarpa*.

-La bande de 682,07 kDa est présente chez *Rétama monosperma* et *Rétama sphearocarpa* absente chez les populations de *Rétama reatam* (fig 1 et 2).

III.2. Comparaison entre les profils protéiques des protéines réduites et non réduites:

Le DTT est un réducteur qui permet de rompre les ponts disulfures entre les sous unités protéiques, nous l'avons utilisé dans le traitement des extraits protéiques des différentes populations afin de comparer leurs profils électrophorétiques et de détecter plus de polymorphisme intra et interspécifique, les figures 3 et 4 montrent les différences protéiques qui existent entre les profils obtenus, avant et après traitement avec le DTT.

-On constate que le nombre de bandes protéiques présentes dans le gel qui contient les extraits réduits (fig 3) est supérieur à ceux qu'on voit dans le gel non réduit (fig 4)

Le nombre de bandes protéiques par puits observé chez les différentes populations de *Rétama* étudiées au niveau du gel réduit varie entre 11 et 30, et le nombre de bandes protéiques par puits au niveau du gel non réduit varie entre 6 et 25.

-On signale l'apparition de nouvelles bandes dont le poids moléculaire est inférieur à 15 kD et d'autres dont le PM est supérieur à 150 kD (fig 3, 4)

-chez les populations de *Rétama monosperma* (Bazoul) (12 et 16) on voit nettement l'augmentation du nombre de bandes protéiques dans la zone lente.

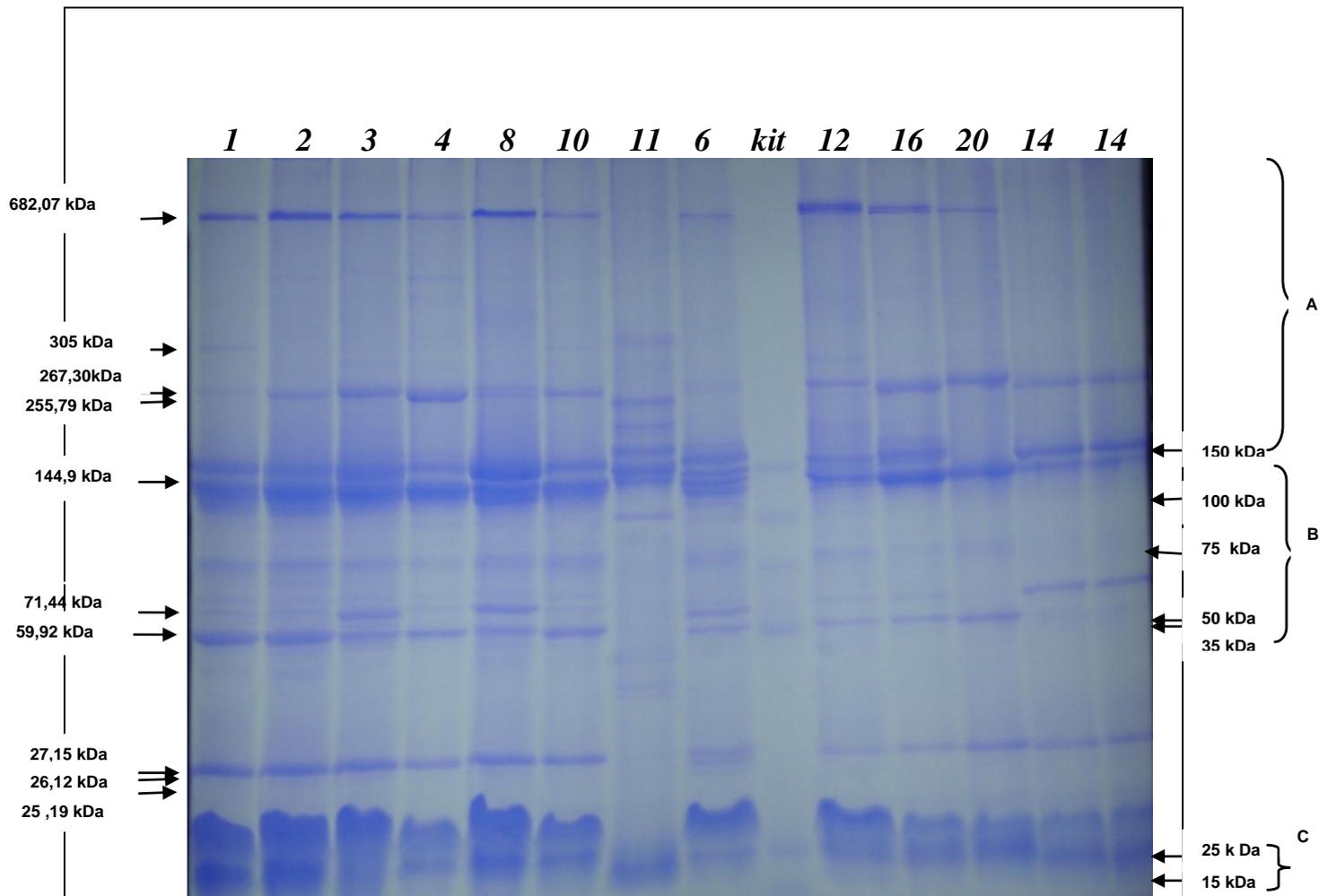


Fig 2: Eléctrophorégramme des différentes population de Retama

- 1: *Rétama monosperma* : Sidi abd laaziz (Jijel)
- 2: *Rétama monosperma* : Sidi abd laaziz (Jijel)
- 3: *Rétama monosperma* : Sidi abd laaziz (Jijel)
- 4: *Rétamamonosperma*: Sidiabd laaziz (Jijel)
- 6- *Rétama monosperma*: Tébéssa
- 8- *Rétama monosperma*: Sdi abd laaziz (Jijel)
- 10- *Rétama monosperma*: Sidiabd laaziz (jijel)
- 11- *Rétam raetam*: Djnah (Jijel)
- 12- *Rétama monosperma*: Bazoul (Jijel)
- 14: *Rétama monosperma*: Oran
- 16: *Rétama monosperma*: Bazoul

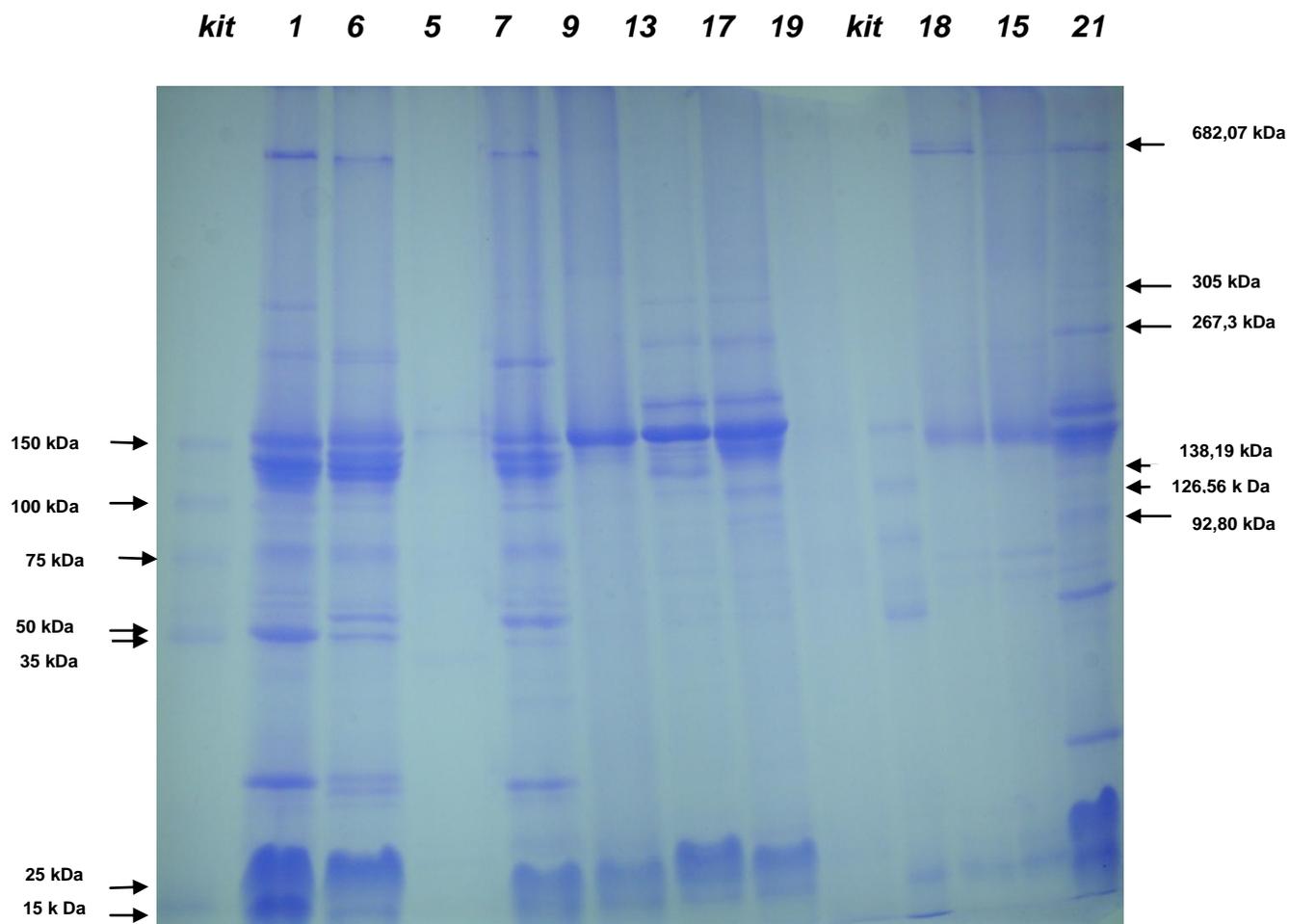


Fig13: Eléctrophorégramme des différentes populations de *Retama*

- 1: *Rétama monosperma* : Sidi abd laaziz (Jijel)
- 6: *Rétama monosperma*: Tébéssa
- 5- *Rétama raetam*: Djelfa
- 7: *Rétama monosperma*: Ouargla
- 9- *Rétama reatam*: Gelma
- 13: *Rétama raetam*: Tébéssa
- 15: *Rétama shearocarpa*: Aouana(Jijel)
- 17: *Rétama raetam*: Oum El boughi
- 18: *Rétama sphearocarpa*: Ziama(Jijel)
- 21: *Rétama monosperma*: Taheer(Jijel)

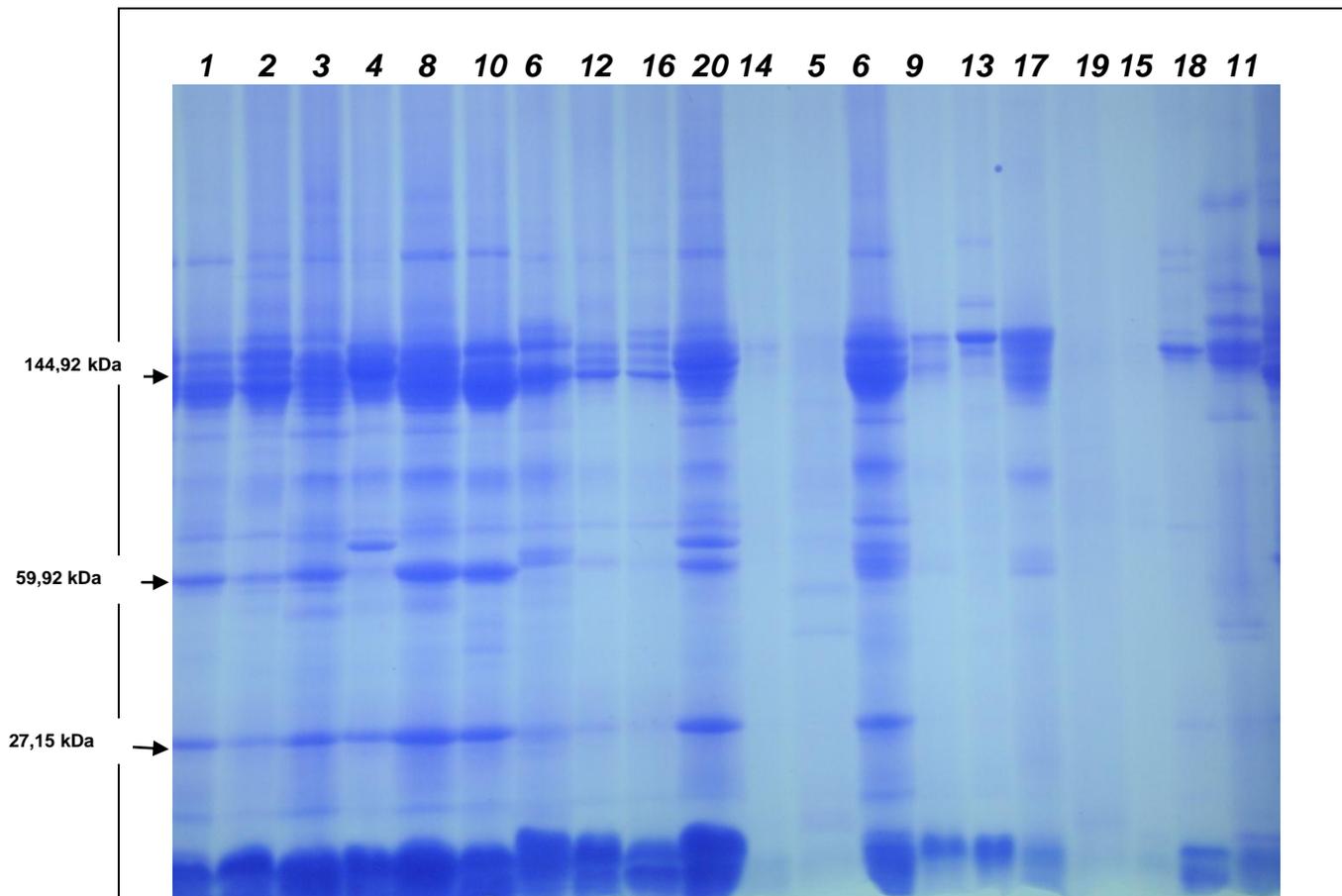


Fig 3: Électrophorégramme des protéines non réduites des trois espèces de Rétama

1: *Rétama monosperma* Sidi abd laaziz(Jijel)

2: *Rétama monosperma* :Sidi abd laaziz(Jijel)

3: *Rétama monosperma* :Sidi abd laaziz(Jijel)

4-*Rétamamonosperma* :Sidiabd laaziz(Jijel)

5-*Rétama raetam*: Djelfa

6:*Rétama monosperma*: Tébéssa

7:*Rétama monosperma*:ORG

8-*Rétama monosperma*:Sidi abd laaziz(Jijel)

9-*Rétama reatam* (Gelma)

10-*Rétama monosperma* (sidiabd laaziz -jijel)

11-*Rétam raetam* (Djnah-Jijel)

12-*Rétama monosperma* (Bazoul -Jijel)

13-*Rétama raetam*:Tébéssa

14-*Rétama monosperma* (Oran)

15-*Rétama shearocarpa* (Aouana-Jijel)

16-*Rétama monosperma* (Bazoul)

17-*Rétama raetam*:Oum El boughi

18-*Rétama sphearocarpa* (Ziama-Jijel)

19-graines(immature)de *Rétama reatam*
(Djelfa)

20-*R.monosperma* (Sidi abd laaz-Jijel)

21-*Rétama monosperma* (Taheer-Jijel)

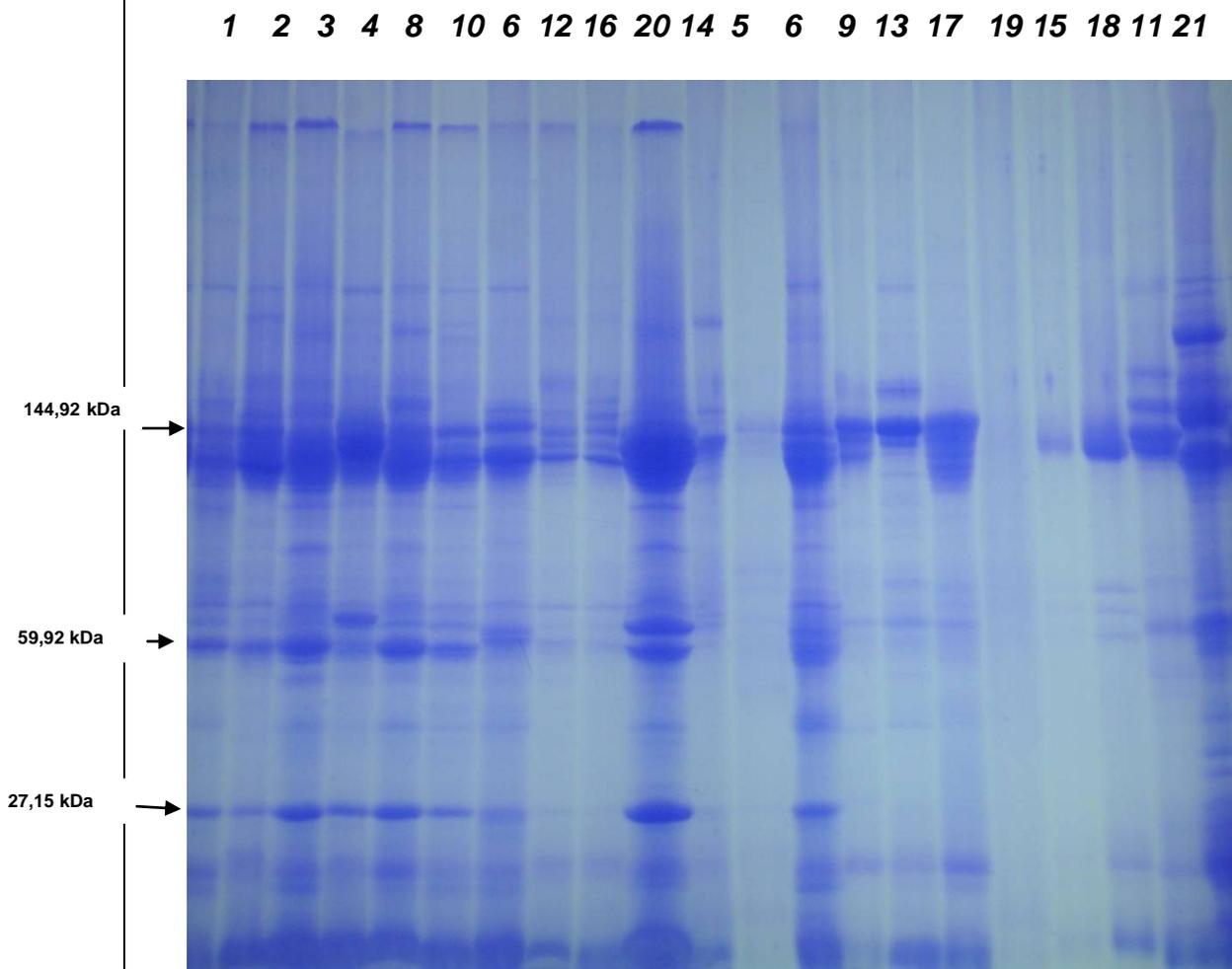


Fig4 : Eléctrophorégramme des protéines réduites des trois espèces de Rétama étudiées

1: *Rétama monosperma* :Sidi abd laaziz(Jijel)
 2: *Rétama monosperma* :Sidi abd laaziz(Jijel)
 3: *Rétama monosperma* :Sidi abd laaziz(Jijel)
 4: *Rétamamonosperma* :Sidiabd laaziz(Jijel)
 5- *Rétama raetam*: Djelfa
 6: *Rétama monosperma* :tébéssa
 7: *Rétama monosperma* :ORG
 8- *Rétama monosperma*: Sdiabd laaziz(Jijel)
 9- *Rétama reatam* :Gelma
 10- *Rétama monosperma*: Sidi abd laaziz(jijel)
 11- *Rétam raetam* :Djnah(Jijel)

12: *Rétama monosperma* :Bazoul (Jijel)
 13: *Rétama raetam*: Tébéssa
 14: *Rétama monosperma* :Oran
 15: *Rétama shearocarpa* :Aouana(Jijel)
 16: *Rétama monosperma* :Bazoul
 17: *Rétama raetam* : Oum El boughi
 18: *Rétama sphearocarpa* : Ziama(Jijel)
 19: graines(immatuere)de *Rétama reatam*: Djelfa
 20: *Rétama monosperma* : bazoul
 21: *Rétama monosperma* : Taheer(Jijel)

III.3.Indices de similarité:

Les indices de similarité sont calculés pour les 21 populations de *Rétama* étudiées selon la méthode de (Dedio et al; 1969), en rapportant l'indice de similarité absolu (IAS) au nombre totale (N) des bandes présentes dans au moins un des diagrammes des populations comparées. On considère que les bandes qui ont la même mobilité ne sont pas significativement différentes.

$$\text{IRS}=(100\times\text{IAS})/N$$

on observe que les indices varient entre 11% et 92% pour les protéines non réduites et entre 12% et 95% pour les protéines réduites .

Les tableau II et III fournissent les valeurs des IRS des diagrammes des différentes populations.

III.3.1.Électrophorogramme des protéines non réduites (fig 3)

Pour les protéines non réduites on observe que les indices de similarité varient entre 11% et 92% , les valeurs faibles signifient que les diagrammes des différentes populations présentent plusieurs dissemblances, c'est le cas de *Rétama monosperma* de Sidi abd laaziz (pop 4) avec *Rétama reatam* de Guelma(pop 9) qui présentent un indice de similarité de 11%, *Rétama monosperma*- bazoul (pop16) avec *Rétama reatam* de Guelma (pop9) qui ont 14% de similarité et *Rétama monosperma* -Sidi Abd Laaziz (pop 8) avec *Rétama reatam* -Guelma qui possèdent 14% de similarité.

Inversement, lorsque l'indice de similarité présente des valeurs élevées, les populations présentent beaucoup de ressemblances ,et les diagrammes types apparaissent voisins.On cite le cas de *Rétama monosperma* - bazoul(pop16) avec *Rétama monosperma* de bazoul (pop12) qui présentent un IRS de 92%, *Rétama reatam* de Tébessa (pop 13) avec *Rétama reatam* d'Oum Bouagui dont l'IRS est de 91% , *Rétama monosperma* de Sidi Abd Laaziz (pop1) avec *Rétama monosperma* de Sidi abd Laaziz (pop2) qui donnent un IRS de 88% ,et *Rétama Sphearocarpa* de Ziama (pop18) avec *Rétama Sphearocarpa* d'Al-aouana (pop 15) dont l'IRS est de 85% .

III.3.2.Électrophorégramme des protéines réduites (fig 4):

Les indices de similarité varient entre 12% et 95%, les valeurs faibles sont observées entre *Rétama reatam* de Djelfa (pop5) avec *Rétama monosperma* de Bazoul (pop20) qui donnent un IRS de 12%, *Rétama Sphearocarpa* d'Al-aouana (pop15) avec *Rétama monosperma* de Bazoul (pop20) qui ont 16% de similarité, *Rétama reatam* d'El-djenah (pop11) avec *Rétama monosperma* deTaheer (pop21) qui représentent un IRS de de 15% .

Quand aux valeurs élevées , elle s'observent entre *Rétama monosperma* de Bazoul (pop12) avec *Rétama monosperma* de Bazoul (pop16) IRS=95%,

Rétama reatam-tébéssa (pop13) avec *Rétama reatam* d'OumBouagui (pop 17) IRS=67% et *Rétama sphearocarpa* (pop18) avec *Rétama sphearocarpa* (pop15) IRS=82%.

III.4.Phénogrammes:

Les phénogrammes ont été réalisés avec le logiciel Minitab.15, les populations ont été comparées deux à deux et les résultats mentrent les relations entres les différentes populations des trois espèces étudiées,en effet,si deux génotypes sont différents , ils se trouvent sur deux branches différentes donc plus un arbre a de branches et plus les génotypes qu'il abrite sont divergents

Indice de ressemblance –protéines réduites (fig 4)

2	1	3	4	8	10	6	12	16	20	14	5	7	9	13	17	18	15	11	21	
100	64	50	39	56	61	52	52	47	54	30	30	44	39	39	52	22	22	26	42	2
	100	50	41	63	48	41	54	45	50	32	32	40	36	34	39	18	18	18	54	1
		100	50	63	56	42	33	33	43	23	33	60	30	39	39	23	23	20	56	3
			100	54	52	43	33	33	33	33	43	48	33	50	41	29	29	19	25	4
				100	64	54	50	50	54	25	32	56	23	33	35	44	23	18	50	8
					100	48	40	40	60	34	32	56	32	45	44	20	20	20	58	10
						100	55	50	46	20	25	48	40	30	39	25	20	25	40	6
							100	.95	38	35	25	44	20	38	40	25	20	30	46	12
								100	33	47	26	44	31	30	35	26	21	31	46	16
									100	25	12	36	16	23	32	21	16	20	42	20
										100	35	25	27	23	31	26	20	33	23	14
											100	36	61	39	50	17	23	30	26	5
												100	36	49	40	16	16	24	46	7
													100	61	68	22	27	50	23	9
														100	67	19	23	39	39	13
															100	31	40	40	40	17
																100	82	50	19	18
																	100	50	50	15
																		100	15	11
																			100	21

 Indice élevé

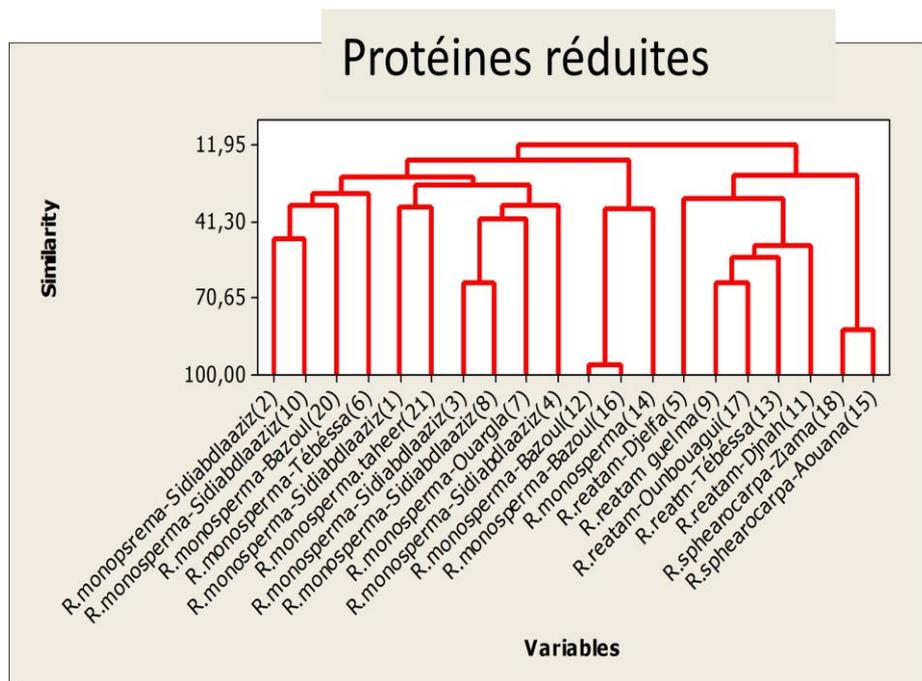
 Indice faible

Indice de ressemblance-protéines non réduites (fig 3)

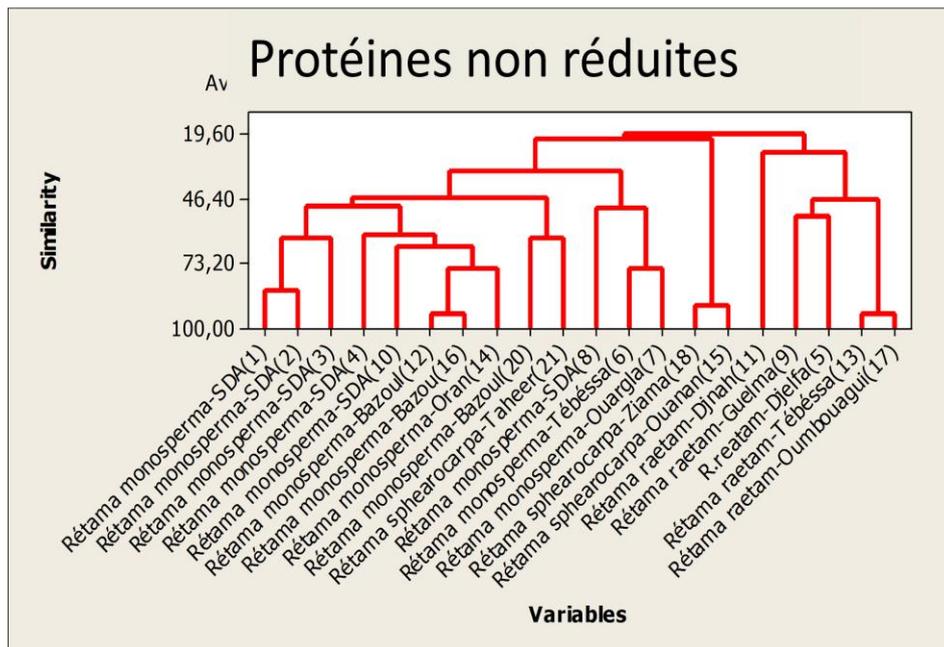
1	2	3	4	8	10	11	6	12	16	20	14	7	9	13	17	18	15	21	
100	85	69	58	62	81	31	61	76	62	43	56	50	19	50	56	19	19	62	1
	100	67	58	59	70	23	61	58	59	41	47	47	17	47	47	23	17	53	2
		100	78	47	68	26	57	57	57	37	42	42	21	42	36	21	15	52	3
			100	47	68	31	52	68	68	31	47	47	11	36	31	21	21	58	4
				100	60	28	66	64	47	42	50	64	14	35	42	35	35	64	8
					100	26	55	73	73	40	60	60	20	46	46	26	26	60	10
						100	16	30	28	16	25	28	25	50	50	16	16	38	11
							100	50	47	39	44	77	22	44	44	27	27	55	6
								100	92	46	69	57	15	38	30	30	23	64	12
									100	42	64	57	14	35	35	28	28	50	16
										100	55	35	28	33	36	28	28	50	20
											100	50	22	41	45	33	33	50	14
												100	28	64	57	35	35	64	7
													100	33	36	28	28	21	9
														100	91	25	25	54	13
															100	27	27	54	17
																100	85	28	18
																	100	28	15
																		100	21

 Indice élevé

 indice faible



Phénogramme des populations de *Rétama* (protéines réduites)



Phénoqramme des populations de Rétama (protéines non réduites)

Discussion

IV. Discussion:

IL existe une grande diversité génétique chez le genre *Rétama*, en effet, L'analyse électrophorétique nous a permis de détecter des différences au niveau du profil protéique chez les différentes populations, chaque population présente un niveau de polymorphisme intra et inter spécifique qui se traduit soit par le nombre de bandes protéiques soit par leur intensité.

Le degré de polymorphisme observé au niveau des différents électrophorogrammes peut être lié à des facteurs génétiques ou bien à des facteurs externes, cela peut expliquer les différences protéiques qui existent au niveau des populations qui appartiennent à la même espèce, on cite l'exemple des populations de *Rétama monosperma* de Jijel de Tébessa et de Ouargla. Ainsi que les populations de *Rétama reatam* (Guelma, Oum bougui et Djelfa et Tébessa) dont le polymorphisme protéique peut être expliqué par le fait que ces populations ne vivent pas dans le même climat, et subissent donc des conditions différentes. puisque la composition protéique peut être sous la dépendance des facteurs génétiques et agro climatique (Tanaka et Buchuk; 1972), (Doekes et Wennekes; 1982).

En effet, Cloutier; 1984 a démontré qu'il existe dans les caryopses de seigles, une protéine spécifique jouant un rôle dans l'expression de la tolérance au froid. d'après (Schofft et al; 1986) chaque type de stress, qui soit thermique, hydrique ou salin produit une protéine spécifique, chez le tabac un stress salin fait apparaître de nouvelles bandes protéiques semblables à celles observées lors d'un stress thermique chez la même espèce (Harrington et al, 1988).

les populations qui proviennent de *Rétama monosperma* Sidi abd laaziz présentent des dissemblances au niveau de leurs bandes protéiques, ces échantillons ont le même centre d'origine, et le polymorphisme qu'ils présentent peut être due au degré de maturité des graines puisque les graines ont été prélevées à des périodes différentes.

L'utilisation du DTT a permis de visualiser plus de différences entre les populations étudiées, en augmentant le nombre de bandes protéiques, la différence relevée entre les deux traitements (avec et sans réducteur) est due à l'existence de bandes identiques chez certaines populations, ces bandes protéiques présentent la même migration électrophorétique donc le même PM, mais ne définissent pas la même protéine, ces bandes, après réduction, sont fractionnées et donnent des sous unités différentes.

Les populations de *Rétama reatam* et *Rétama monosperma* présentent un polymorphisme intraspécifique important, contrairement aux populations de *Rétama spherocarpa*.

Le polymorphisme inter spécifique a aidé à l'identification des trois espèces, les bandes protéiques de 59,62 kDa et 27,15 sont des bandes caractéristiques de l'espèce *Rétama monosperma*.

-la bande protéique de 144,9 kDa représente un trait d'union entre les trois espèces de *Rétama* (*R.monosperma*, *R.reatam*, *R.sphearocarpa*)

Les valeurs des indices de ressemblance et les phénogrammes confirment les relations inter et intraspécifiques entre les différentes populations de *Rétama* .On constate que pour les deux traitements (fig 4 et 5) , les valeurs élevées de l'IRS sont toujours observées entre les populations de la même espèce par contre les faibles IRS se trouve entre les populations d'espèces différentes.

Conclusion Générale et perspectives

V.Conclusion:

L'étude de la diversité biologique est nécessaire pour la préservation des écosystèmes .Le niveau de connaissance de notre propre diversité biologique par rapport à la diversité de la vie n'atteint pas 50%,(Mediouni.F,2005).

Le travail que nous avons réalisé est une contribution à la connaissance et la valorisation de trois espèces du genre *Rétama* , une légumineuse arbustive encore mal connue.

Selon Z.Belmokhtar et M. Kaid Harche(2006), les rétames sont peu polymorphe au niveau intraspécifique.

L'analyse électrophorétique des protéines totales réalisé, révèle l'existence d'un polymorphisme intra et interspécifique qui pourrai aider à la différenciation des espèces du genre *Rétama* notamment entre *Rétama monosperma* et *Rétama reatam* qui présentent beaucoup de ressemblances morphologiques et sont difficiles à différencier, le profil électrophorétique des populations étudiées révèle:

- La présence de deux protéines de PM 59,62 kDa et 27,15 kDa spécifiques de l'espèce *Rétama monosperma* et qu'on note absentes chez *Rétama reatam* et *Rétama sphearocarapa*.

-La présence dans la phase lente chez les populations de *Rétama monosperma* et *Rétama sphearocarpa* étudiées , d'une protéine de 682,07 kDa qui est absente chez *Rétama reatam*.

Selon Mittler.R et al ; 2000, *Rétama raetam* s'adapte bien aux conditions les plus extrêmes elle développe un mécanisme moléculaire qui lui permet de résister aux changements climatiques (manque de nutriments et stress hydrique) et cela en entrant dans une phase de dormance partielle, en supprimant l'expression de certains gènes, et en minimisant le nombre de protéines synthétisées, grâce à une enzyme de défense qui est l'ascorbate peroxydase(APx) Les électrophorogrammes obtenus confirment, que chez *Rétama reatam*, le nombre de bandes protéiques est réduit par rapport à celui observé chez *Rétama monopserma* .

VI.Perspectives:

Au terme de cette étude se dégage des données nouvelles:

- Il existe une grande variabilité génétique chez le genre *Rétama*, d'autres approches et d'autres méthodes seraient nécessaires et complémentaires pour:
 - Mieux apprécier cette diversité et confirmer les résultats obtenus.
 - Etudier les effets des différents facteurs sur le profil protéique notamment l'effet du sol, du climat et des différents types de stress.
 - Essayer de comprendre les mécanismes d'adaptation de ce groupe de plantes.
 - Essayer de corréliser cette diversité protéique avec les performances de fixation des sols, de régénération et de bio fertilisation.
- Approfondir les connaissances sur ce genre pour une meilleure valorisation dans les domaines de l'industrie et de l'écologie.
- Elargir le champ d'application de la technique de l'électrophorèse-SDS PAGE, et étudier d'autres genre et d'autres espèce pour la préservation de la diversité biologique et des ressources génétiques.

ANNEXE I

Tableau 3 des échantillons de graines collectés

<i>r.spherocarpa</i>	<i>r.monosperma</i>	<i>Retama reatam</i>
<p>1-JIJEL: -el-Aouana(1pop) -Ziama mansouria(1pop)</p>	<p>1-JIJEL: -Sidi abd laaziz (6 pop) -Bazoul(3 pop) -taheer(1 pop)</p> <p>2-ORAN: (1 pop)</p> <p>3-TEBESSA: -m'zara-Bir ater-(1pop)</p> <p>4-OUARGLA:1 pop</p>	<p>1-JIJEL: -Djnah (1pop)</p> <p>2-TEBESSA: -T'bag (1 pop)</p> <p>3-DJELFA: -massâad (2pop)</p> <p>4-OUAMBOUAGHI: (1pop)</p> <p>5-GUELMA: -Lefjouj (1pop)</p>

Tableau des échantillons de graines collectés

Annexe



★ Régions de collecte des graines de Rétame

ANNEXE II

Solutions utilisées pour la SDS-page

Solution mère d'acrylamide à 35% (préparer avec gants et masques)

Acrylamide	35g
Eau distillée	100ml

Solution mère de bis acrylamide à 2 % (préparer avec gants et masques)

Bis acrylamid	2g
Eau distillée	100ml

Solution stock de SDS à 10%

Solution Dodécyl Sulfate	10g
Eau distillée	100ml

Solution d'APS (Amonium Persulfate) à 1%:

A prépare ex temporairement

APS	0.1g
Eau distillée	10ml

Tampon Tris HCL pH8.8(à préparer sous la hote, avec gants et masques)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	60.57g
Eau distillée	qsp400ml
Ajuster à Ph 8.8 AVEC DU Hcl fumant	8 à 10 ml
Eau distillée	qsp 500ml

Tampon Tris HCL pH 6.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	30.285g
Eau distillée	qsp 200ml
Ajuster à pH 6.8 avec du HCL fumant	19.5ml
Eau distillée	qsp 250ml

Tampon d'électrophorèse

Glycine	70.55g
Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	15g
SDS	5g
Eau distillée	qsp 5000ml

Solution stock de coloration (pour deux gels)

TCA 60	100ml
Solution mère de Bleu de Coomassie R250	25ml
Eau distillée	qsp 500ml

Solution mère de bleu de Coomassie R 250

Bleu de Coomassie R 250	10g
Ethanol 95°	qsp 1000ml

L'éthanol est mis en agitation dans l'éprouvette, le bleu de Coomassie est ensuite ajouté, pour qu'il ne prenne pas en masse , on laisse agiter au moins deux heures La solution est ensuite filtrée.

Electrophorese sur gel de polyacrylamide à pH 8.8 en présence de SDS

Solution tampon(A):

tampon phosphate sodique 0.05M pH7 contenant du NaCl 0.25M(pour 100ml):

Solution1	19,5 ml
Solution2	30.5 ml
NACL	1.462g
Eau distillée	qsp 100ml

Solution 1:

Na ₂ H ₂ PO ₄ , 2H ₂ O	0,156g
Eau distillée	qsp20ml

Solution 2:

Na ₂ HPO ₄ , 12HPO ₄	0.6265g
Eau distillée	qsp 35ml

Solution B (conservation environ 2 semaines, à 4°C°)

SDS	0.2 g
Glycérol	4 ml
Bleu de bromophénol	2 ml
Tris HCl 1M pH 8	0.8 ml
Eau distillée	qsp10 ml

Solution d'extraction (B') (à préparer ex temporairement)

Solution (B)	7ml
DTT	70mg

Annexe III

Préparation des gels

(pour une cuve de deux gels)

Gel de séparation (running gel)

Acrylamide à 35%	35ml
Bis acrylamide à 2%	6ml
Eau distillée	16.6ml
Tris HCL pH 8.8	37.6ml
SDS à 10 %	1 ml
APS à 1 %	2.5ml
Temed	50µl

Gel de concentration (stacking gel)

Acrylamide à 35 %	3.42ml
Bis acrylamide à 2%	0.86ml
Eau distillée	30.4ml
Tris HCL pH 6.8	5ml
SDS à 10 %	0.4ml
APS à 1 %	2 ml
Temed	40µl

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-Allal-benfakih.I ;2006 .Recherche quantitatives sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* (Orth.Oedipodinae) dans le Sahara algérien. Perspectives de lutte biologique à l'aide de microorganismes pathogènes et de peptides synthétiques .thèse de doctorat N°17-2006.UNIV de limoge. Laboratoire UMR INRA 1061 Institut National Agronomique d'El Harrach.p27.

-Avice.J-c et al ;2003.Vegetative storage proteins in overwintering storage organs of forage legumes : roles and regulation,Source:Canadian journal of Botany,pb:NRC Research Press. Volume 81,N°12, 1 Dec 2003, pp.1198-1212(15).

-Bahi.K ,1991. Contribution à l'étude de *Rétama monosperma* étude du système racinaire et recherche des associations de type *Rhizobium*.in In *Bouredje.n, 2005, étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de Rétama monosperma(boiss) : mémoire de magistère . UNIV.des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Oran.*

-Beniston.NT-WS ; 1985.fleurs d'Algérie. Entreprise nationale des arts graphiques. éd, Reghaia.Algérie , 112p

-Benmiloud.R et al ; 2006.*organisation et différenciation du génome de trois espèces du genre Retama in quelles biotechnologies pour une agriculture durable .xème journées scientifiques du réseau biotechnologies végétales :amélioration des plantes et sécurité alimentaire de l'agence universitaire de la francophonie .constantine .algérie ;2006. Ed khelifi.d*

-Boissie ;1939. In *Bouredja.n, 2005, étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de Rétama monosperma(boiss) : mémoire de magistère . UNIV.des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF*

(U.S.T.O) Oran.

-BRONGNIART .AD , DECAISNE.J ;1843. *Annales des sciences naturelles .seconde série. Tome xx-Botanique.Parie.Fortin, Masson and C,libraires. Ed :place de l'école de médecine,N.1.1843 Pb :S.n.,1843 copie de l'exemplaire de l'université Computense de Madrid.numérisé le 2 juin 2008.*

-Doyle.j.j ,Chapill, j.A.,Bailey,D.C and Kajita, T. towards a comprehensive phylogenie of legumes: evidence from *rbcL* sequences and non-molecular data. In *advences in legume systematic . , (eds .P.S. Herendeen and A.Bruneau) Kew: Royal Botanic Gardens,(2000), pp. 1-20.*

-El Hamrouni.A, 2001 Conservation des zones humides littorales et des écosystèmes côtiers du Cap-bon. Rapport de diagnostic des sites .partie relative à la flore et la végétation

.République Tunisienne .Ministère de l'environnement et de l'aménagement du territoire
.agence de protection et d'aménagement du littoral.p6
/38p

-El Shazly.A, Ateyaa. A.M., Witte. L; 1996. Quinolizidine alkaloid profiles of *Retama retam*, *R.sphaerocarpa* and *R.monosperma* ,*Zeitschrift für Naturforschung. C. A journal of biosciences* ISSN 0939-5075 CODEN ZNCBDA . 1996, vol. 51, n°5-6, pp. 301-308 [8 page(s) (article)]. Ed : Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen, ALLEMAGNE (1986) (Revue) INIST-CNRS.

Farchichi, A. 1996. La lutte contre l'ensablement et pour la stabilisation des dunes: Essai de la fixation biologique des dunes en Tunisie présaharienne. Recherches sur la désertification dans la Jeffara. *Rev. Tunis. Geogr.* **12**: 49–102.

-Forkel ;1775. In *Bouredja.n, 2005, étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de Rétama monosperma(boiss) : mémoire de magistère . UNIV.des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Oran.*

-Harry.M ;2001.génétique moléculaire et évolutive.éd maloine., Paris.

- **Hatimi . A , 1995** Root symbiotes of three arborescent legume crops in the littoral dunes of Souss-Massa. In '[INRA Colloquia; Limiting factors in symbiotic nitrogen fixation in the Mediterranean basin]' pp. 183-90. (INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) .

-Ighil Hariz Z., 1990.Etude du comportement physiologique, biochimique et structurale du *Rétama retam* vis à vis du NaCl.*Thèse de Magister*, Université d'Oran Algérie, 120 p.

-Ildis ;2001 , in LOUIS.S ;2004 , diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de légumineuses. Thèse de doctorat. Institut national des sciences appliquées de lyon. N° d'ordre 04 ISAL 012

Disponible sur : docinsa.insa-lyon.fr/these/2004/louis/these.pdf

-Kassem.et al ;2000.*two new flavonoid from retama raetam science direct Fitoterapia .Volume71.issue6.pages649-65.*

-Langly.G;1995. *Vegan nutrition.pb par Vegan société.disponible .*

-Lewin; 1992.*Genes.Flamarion.médecine-sciences, Paris.*

-Medouini.F ;2005 in Mise en oeuvre de la convention sur la diversité biologique.République Algérienne Démocratique et Populaire.Ministère de l'Aménagement du Territoire. Pages 2-4.

- **Correia.M.F et al; 1998.** Two Novel Lectins from *Retama monosperma* L. and *Pancreaticum maritimum* L.Biotec'98,book of abstracts ,IV Iberian Congress on Biotechnology.I Ibero-American meeting on biotechnology. ed Manuel Mota and Engena c.Ferreira.

- **Maghrani.M et al ; 2005.** Acute diuretic effect of aqueous extract of *Retama raetam* in normal rats. *journal of ethnopharmacology.* Science direct.volume 99,issue1 p31-35.

- **Maghrani.M et al ; 2003.** Effect of the desert plant *Retama raetam* on glycaemia in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacologie*, Volume 87, July 2003, page 21-25
- **Maghrani.M et al; 2004.** Effect of *Retama raetam* on lipid metabolism in normal and recent-onset diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacologie*, Volume 90, Issue 2-3, February 2004, pages 323-329.
- **Messirdi.R, 2004,** étude cytogénétique de *Rétama retam*. mémoire d'ingénieur d'état en biotechnologie, USTO ; 12-25p.
- **Mittler.R , et al ; 2000.** Living under a dormant canopy : a molecular acclimation mechanism of the desert plant *Retama raetame*. *the plant journal*. Blackwell Science Ltd. (2001) 25(4), 407-416.
- **Mosbah.M et al ; 2007 ,** Characterization of root-nodulating bacteria on *Retama raetame* in arid tunisian soils. *Science direct* : 18(2008) 43-49.
- **Nanson.A, 2004.** Genetique et amelioration des arbres forestiers , pb presses agronomiques de Gembloux. ISBN : 2870160704, 9782870160701. pages 495-496-
- **Ozenda ; 1982 in Bouredja.n, 2005,** étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de *Rétama monosperma*(boiss) : mémoire de magistère . UNIV. des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Oran.
- **Ozenda.P ; 1958.** flore du Sahara septentrional et centrale . CNRS., Paris. 486p.
- **Parizeau.M.H ; 1997.** La biodiversité. édition de Boeck Université.
- **Quezel et Santa ; 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie. Tome I. p156-162
- **Saadaoui.B et al ; 2007.** Etude de la composition et du pouvoir antioxydant des composés phénoliques de quelques espèces végétales de l'aride tunisien. *Revue des régions arides*. ISSN 0330-7956. 2007(1), pp.316-321 [6 page(s) (article)]. ed. : Institut des régions arides, Médenine, Tunisie.
- **Selami.N ; 2000.** Contribution à l'étude de *retama monosperma* étude du système racinaire et recherche des association de type Rhizobium. Mémoire d'ingénieur en biotechnologie. USTO. ORAN .38P
- **Shallaby A, monayer I M, Etman MA, El Habibi AM, Youssef MP., 1972.** Germination of some desert medicinal plant under different condition . *Inst. bull, ARE, 22N2, 433p* in *Bouredje.n, 2005,* étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de *Rétama monosperma*(boiss) : mémoire de magistère . UNIV. des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Oran.
- **Spichiger , 2004 R.E ., Salvlaimen V ., Figeat M. , Jammonob D., 2004.** Botanique systématique des plantes à fleurs . éd : press polytechnique et universitaire romande, 203-206p in *Bouredje.n, 2005,* étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés

foliaires de Rétama monosperma(boiss) : mémoire de magistère . UNIV.des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Oran.

-Stocker, 1974. In Bouredje.n, 2005, *étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de Rétama monosperma(boiss) : mémoire de magistère . UNIV.des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Oran.*

Tam. S-M et al; 2006.Caracterisation de la diversite genetique chez la tomate.Les actes du BRG,6.81-96p.BRG2006.

- **Thomas, 1968** Thomas, J.P., 1969.-Ecologie et dynamique de la végétation de la dune littorale dans la région de Djidjelli. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr.nord*, 59: 37-98.

-Unesco ;1960 Recherches sur la zone aride - XIII-Les plantes médicinales des régions arides, *Pb Organisation des Nations Unies pour l'éducation,la science et la culture, place de Fontenoy, Paris-7e*

Imprimeries Oberthur, Rennes © Unesco 1960 NS.59/III.17/ 99p

Vienne, 1995 in- Nanson.A, 2004. Genetique et amelioration des arbres forestiers ,pb presses agronomiques de Gembloux. ISNB : 2870160704,9782870160701.pages 495-496

-Z.Belmokhtar et M. Kaid Harche(2006).in Djabeur.A (2006), Physiologie de la germination des caryopses de trois poacées vivaces Alfa(*Stipa tenacissima* L), Sparte(*Lygeum spartum* L) et Aristida (*Aristida pungens* Desf)-polymorphique morphologique, biochimique et moléculaire de quelques populations de *Lygeum spartum*.thèse de doctorat .USTOMB.

-Zohary ;1962 . plant life of Palestine, Israel, and Jordan, Michael Zohary. Ronald,New York, 1962. Science 11 may 1962: Vol. 163 . no.3515,p.523 . DOI: 10.1126/science.136.3515.523.

Résumé

Les rétames sont des légumineuses arbustives, possédant à la fois des intérêts pharmacologiques et écologiques et représentant un moyen naturel de lutte contre la désertification.

Notre étude est une contribution à la connaissance et à la valorisation de trois espèces du genre Rétama (Rétama monosperma, Rétama reatam et Rétama sphearocarpa) par les techniques de l'électrophorèse SDS page.

Les résultats obtenus permettent de conclure qu'il existe un polymorphisme protéique inter et intra spécifique entre les différentes populations étudiées, qui se traduit soit par le PM des bandes soit par leurs intensités.

Le polymorphisme intraspécifique détecté chez Rétama monosperma s'observe au niveau des bandes ayant les PM suivants : 305-267,3-255,79-71,44-59,92-27,15-26,12 et 15,19 kDa.

Le polymorphisme intraspécifique détecté chez Rétama reatam s'observe au niveau des bandes ayant les PM suivants : 305-267,3-138-126,5 et 92,8 kDa.

Les bandes protéiques de 59,62 kDa et 27,15 kDa sont des bandes caractéristiques de l'espèce Rétama monosperma.

La bande protéique de 144,9 kDa représente un trait d'union entre les trois espèces.

L'utilisation du DTT dans le traitement des protéines totales a permis de révéler plus de bandes protéiques. Les indices de ressemblance et les dendrogrammes confirment les relations entre les différentes espèces étudiées.

Mots clés : Rétama monosperma, Rétama reatam, Rétama sphearocarpa, polymorphisme, diversité génétique, protéines.

Summary

Rétames are shrubby leguminous plants, having at the same time pharmacological and ecological interests and represent an average naturalness of fight against the desertification.

Our study is a contribution to the knowledge and the valorization of three species of the kind Rétama (*Rétama monosperma*, *Rétama reatam* and *Rétama sphearocarpa*) by the techniques of electrophoresis SDS page.

The results which we obtained make it possible to conclude that there is a proteinic polymorphism inter and intraspecific between the different population studied, which results either in PM of the proteinic bands or by their intensity.

The intraspecific polymorphism detected at *Rétama monosperma* is observed on the level of the bands having the following PM: 305-267,3-255,79-71,44-59,92-27,15-26,12 and 15,19 kDa.

The intraspecific polymorphism detected at *Rétama reatam* is observed on the level of the bands having the following PM: 305-267,3-138-126,5 and 92,80 kDa.

Bands proteinic of 59,62 and 27,15 kDa are bands characteristic of the species *monosperma*.

Bandage proteinic of 144,9 kDa represents a hyphen between the three species of *Rétama*.

The use of DTT in the treatment of total proteins made it possible to reveal more proteinic bands. The values of the indices of resemblance confirm the relation inter and intraspecific at the kind *Rétama*.

Key words: *Rétama monosperma*, *Rétama reatam*, *Rétama sphearocarpa*, polymorphism, genetic diversity, proteins.

الملخص:

نبات الرتم ينتمي الى عائلة البقوليات التي تنمو في المناطق الصحراوية و له عدة خصائص طبية و بيئية و يعتبر وسيلة طبيعية للوقاية ضد التصحر .

الدراسة التي قمنا بها تتمثل في تقدير مدى الإختلاف الوراثي الموجود لدى ثلاث أنواع من نبات الرتم (رتاما مونوسبارما ' رتاما رتام ' رتاما سفيروكاربا) بواسطة تقنية الهجرة الكهربائية للبروتينات الحبوب ' النتائج التي تحصلنا عليها تشير الى وجود إختلاف وراثي بين الأنواع الثلاث و بين المجموعات التي تنتمي إلى نفس النوع . كما مكنتنا هذه الدراسة من إجاد أوجه التشابه و الإختلاف بين الأنواع الثلاث كما ان إستعمال د.ت.ت مكنا من تدقيق النتائج .

الكلمات المفتاحية :

رتاما مونوسبرما _ رتاما رتام _ رتاما سفيروكاربا _ الإختلاف الوراثي _ بروتينات الحبوب

Résumé :

Les rétames sont des légumineuses arbustives, possédant à la fois des intérêts pharmacologiques et écologiques et représentant un moyen naturel de lutte contre la désertification.

Notre étude est une contribution à la connaissance et à la valorisation de trois espèces du genre Rétama (Rétama monosperma, Rétama reatam et Rétama sphearocarpa) par les techniques de l'électrophorèse SDS page.

Les résultats obtenus permettent de conclure qu'il existe un polymorphisme protéique inter et intra spécifique entre les différentes populations étudiées, qui se traduit soit par le PM des bandes soit par leurs intensités.

Le polymorphisme intraspécifique détecté chez Rétama monosperma s'observe au niveau des bandes ayant les PM suivants : 305-267,3-255,79-71,44-59,92-27,15-26,12 et 15,19 kDa.

Le polymorphisme intraspécifique détecté chez Rétama reatam s'observe au niveau des bandes ayant les PM suivants : 305-267,3-138-126,5 et 92,8 kDa.

Les bandes protéiques de 59,62 kDa et 27,15 kDa sont des bandes caractéristiques de l'espèce Rétama monosperma.

La bande protéique de 144,9 kDa représente un trait d'union entre les trois espèces.

L'utilisation du DTT dans le traitement des protéines totales a permis de révéler plus de bandes protéiques. Les indices de ressemblance et les dendrogrammes confirment les relations entre les différentes espèces étudiées.

Mots clés : Rétama monosperma, Rétama reatam, Rétama sphearocarpa, polymorphisme, diversité génétique, protéines.

Laboratoire de biochimie génétique et biotechnologie végétale

Université Mentouri Constantine

Directeur de recherche : Pr Khelifi.D

Président : Mr Bensari .M Professeur à l'université Mentouri Constantine

Rapporteur : Mr Khelifi .D Professeur à l'université Mentouri Constantine

Examineurs : Mr Merghem .R Professeur à l'université Mentouri Constantine

Mr Hamidechi.M.A Maître de conférences à l'université Mentouri Constantine