

## Variabilité morphologique et isoenzymatique de populations naturelles maghrébines d'*Hedysarum flexuosum* L.

Ben Fadhel N.<sup>1</sup>, Boussaid M.<sup>1</sup> et Marrakchi M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut national des sciences appliquées et de technologie

B.P. 676, 1080 Tunis Cedex, Tunisie

<sup>2</sup> Laboratoire de génétique et biologie moléculaire, Faculté des sciences de Tunis

Campus universitaire, 1060 Tunis, Tunisie

### Résumé

*Dix populations naturelles d'Hedysarum flexuosum* L. (Légumineuse pastorale), d'origine marocaine et algérienne, ont fait l'objet d'une analyse de la variabilité génétique.

L'analyse du polymorphisme de 4 paramètres morphologiques révèle une variabilité intra et interpopulations importante au sein de chaque origine géographique. Toutefois, la gamme de la variabilité de l'espèce semble être continue dans l'aire maghrébine prospectée.

La variabilité électrophorétique de 6 systèmes enzymatiques, analysée chez 4 populations marocaines et une algérienne, est importante. 15 locus polymorphes ont été détectés. Une variation importante, selon les populations, des taux de polymorphisme et d'hétérozygotie est observée. La richesse allélique des populations et la structuration de leur variabilité sont influencées par le milieu d'origine.

**Mots clés :** *Hedysarum flexuosum*, variabilité génétique, isoenzymes, caractères morphologiques, répartition géographique, Maroc, Algérie

### Abstract: Isozym and morphological variability of natural Maghrebin populations of *Hedysarum flexuosum* L.

*Genetic variability of Hedysarum flexuosum* L., a pasture legume, was carried out on 10 natural populations (6 from Morocco and 4 from Algeria). The analysis of four morphological parameters revealed a great variability within and between populations. However, the range of variability seemed to be continuous in the prospected maghrebian area.

*Isozym polymorphism analysis carried out on five populations (4 from Morocco and 1 from Algeria) confirmed the important heterogeneity of the populations. 15 polymorphic loci were detected. The percentage of polymorphic loci and mean heterozygosity were varied within po-*

pulations. The variability and its organization were related to the geographical distribution of populations.

**Key words:** *Hedysarum flexuosum*, genetic variability, isozymes, morphological characters, geographical distribution, Morocco, Algeria

### ملخص : الإختلاف المورفولوجي و الأنزيمي لدى مجموعات تلقائية مغربية لنبات "السلة"

ن. بن فضل 1، م. بوسعيد 1 و م. المراكشي 2

1 : المعهد الوطني للعلوم التطبيقية و التكنولوجيا

2 : كلية العلوم بتونس

في هذا البحث، قمنا بتحليل الإختلاف الوراثي لعشر مجموعات مغربية و جزائرية لنبات من البقوليات الرعوية يدعى السلة (*Hedysarum flexuosum*). فدراسة تعدد الأشكال لأربعة مقاييس مورفولوجية بينت وجود إختلاف كبير بين المجموعات و داخلها. لكن هذا الإختلاف يبدو متواصلا في المنطقة المغاربية التي تم مسحها. أما دراسة إختلافات 6 أجهزة أنزيمية باستعمال العزل الكهربائي، لأربع مجموعات مغربية و مجموعة جزائرية فقد بينت أن هناك إختلافا ملحوظا لنسب تعدد الأشكال وإختلاف الإقتران. كما أن الموقع الأصلي للمجموعات له تأثير على غنائها الأليلي وهيكله إختلافها.

**الكلمات المفتاحية :** السلة، الإختلاف الوراثي، الأجهزة الأنزيمية، المقاييس المورفولوجية، التوزيع الجغرافي،

المغرب، الجزائر

## Introduction

En Afrique du nord, les pressions anthropiques multiformes (surpâturage, défrichage des terres au profit des cultures céréalières et arboricoles, évolution des pratiques culturelles, ...) ont entraîné une dégradation et une régression importantes des espaces pastoraux. Ces processus, particulièrement intenses en zones arides, sont accompagnés d'un appauvrissement de la diversité floristique des parcours. Des espèces pastorales (*Medicago*, *Hedysarum*, *Lolium*, *Festuca*, ...), souvent apparentées à des formes cultivées sont devenues rares (Mathez *et al.* 1985 ; Quezel 1991 ; Shoenenberger 1995 ; Thiault 1995).

La sauvegarde et l'exploitation de la diversité génétique de la flore pastorale autochtone sont d'une nécessité urgente pour réhabiliter les parcours, développer des cultures fourragères adaptées à nos conditions environnementales locales et limiter les introductions diverses, à potentialités agronomiques (productivité, adaptations, ...) souvent discutables.

Le genre *Hedysarum* (sulla), fabacée pastorale, est représenté en Afrique du nord par onze espèces spontanées (Foury 1954 ; Quezel et Santa 1962 ; Pottier-Alapetite 1981 ; Abdelguerfi-Berrekia *et al.* 1991 ; Boussaid *et al.* 1995). La majorité d'entre-elles sont menacées d'érosion génétique voire de disparition. *Hedysarum flexuosum* et *Hedysarum humile* n'ont pas été revues depuis longtemps en Tunisie. Leur présence dans ce pays n'est attestée que par des listes d'herborisation anciennes (Boussaid *et al.* 1995).

Les taxons, annuels et pérennes, diploïdes ( $2n = 16$ ) et tétraploïdes ( $2n = 4x = 32$ ) sont très polymorphes et essentiellement allogames (Boussaid *et al.* 1995). Ils présentent une bonne valeur nutritive (Cenni *et al.* 1968), une bonne croissance hivernale et sont bien adaptées aux irrégularités du climat en zones semi-aride et aride de l'Afrique du nord (Figier 1982 ; Boussaid 1987). L'évaluation et la conservation de la diversité génétique du moins de certaines espèces agronomiquement et économiquement intéressantes (*H. flexuosum*, *H. coronarium*, *H. carnosum*, *H. membranaceum*...) devraient conduire à la création de variétés qui peuvent intervenir dans la restauration et la création de parcours en milieux semi-aride et aride de l'Afrique du nord.

Le présent travail, étape d'une recherche visant une exploitation plus rationnelle de l'*Hedysarum flexuosum*, analyse la diversité génétique de populations naturelles originaires du Maroc et de l'Algérie. Cette évaluation constitue un préalable nécessaire à tout programme d'amélioration et de conservation de cette espèce.

## Matériel et méthodes

### Les populations étudiées

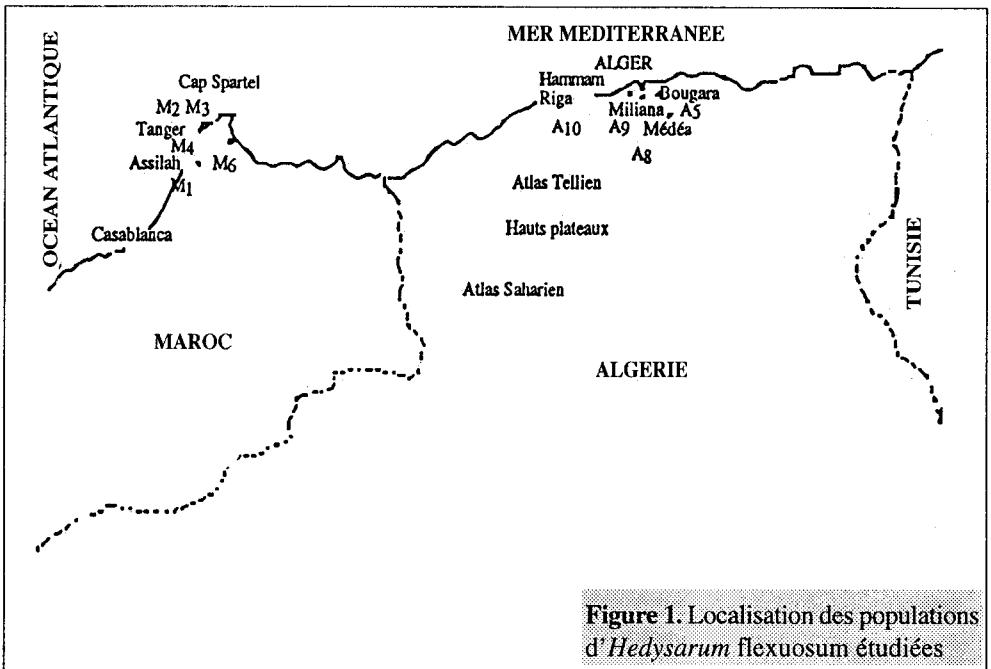
*Hedysarum flexuosum*, proche morphologiquement de l'*H. coronarium*, présente une aire de répartition relativement limitée qui s'étend de la péninsule Ibérique à l'Afrique du nord (Killian 1939). Les populations poussent sur des terrains marneux ou argilo-marneux sous des pluviométries annuelles supérieures à 350 mm et à des altitudes pouvant atteindre 700-800 m. Notre étude a porté sur 6 populations marocaines et 4 populations algériennes. La localisation des stations est rapportée sur la Figure 1.

### Méthodes d'analyse de la variabilité génétique

L'évaluation de la diversité génétique des populations a été abordée par l'analyse des polymorphismes morphologique et isoenzymatique.

#### Variabilité morphologique

25 à 30 individus, ont été collectés dans chaque population. Les plantes, toutes en fin de période de floraison-début de fructification, sont prélevées au hasard dans un espace couvrant l'aire de la population.



La longueur de la tige principale (LPO), la longueur du rameau latéral le plus grand (LRP), le nombre total de ramifications primaires par plante (NRLP) et le nombre moyen de folioles des quatre dernières feuilles de la tige principale (NFDFFP) ont été retenus. Le choix de ces critères a été guidé par des études antérieures menées en Tunisie sur des espèces du genre *Hedysarum* (Figier *et al.* 1978 ; Baatout 1982 ; Aouni 1983 ; Boussaid 1987). Ces paramètres décrivent convenablement le polymorphisme phénotypique des populations et contribuent à discriminer les taxons.

L'étude de la variabilité interpopulations est appréciée par une analyse canonique discriminante (Programme SAS 1991 ; Procédure Candisc).

### Le polymorphisme isoenzymatique

La disponibilité en matériel a limité cet aspect d'étude à 4 populations marocaines M1 (région d'Assillah), M2, M3 et M4 (région de Tanger, distantes de 4 km l'une de l'autre et situées à une même altitude) et une population algérienne A5 (région de Bougara).

La technique de l'électrophorèse horizontale des protéines enzymatiques, largement utilisée pour l'analyse de l'organisation de la variabilité des populations naturelles d'espèces fourragères (Damerval 1983 ; El Moussadik 1991 ; Floris *et al.* 1993), a été retenue.

Six systèmes enzymatiques : L'alcool déshydrogénase (ADH), la malate déshydrogénase (MDH), l'isocitrate déshydrogénase (ICD), la phosphogluconate déshydrogénase (6-PGD), la glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) et les estérases (EST) ont été révélés sur gel d'amidon.

Les extraits protéiques sont obtenus à partir de germinations étiolées, âgées d'une semaine et issues de graines collectées dans les stations d'origine. Les plantules sont broyées individuellement à 4 °C dans un tampon ascorbate de sodium (à 8,3 % ; pH 8,4) additionné de 0,03 % de  $\beta$  mercaptoéthanol et 16,7 % de saccharose. L'homogénat est centrifugé à 4 °C à 1800 tr/mn pendant 20 minutes. Des rectangles de papier Whatman imbibés d'extraits sont déposés dans des fentes pratiquées au préalable dans le gel.

La migration, anodique et à ampérage constant (50 mA), dure 6h. Les tampons de migration sont à base de lithium borate (pH 8,3) pour les GOT, l'ADH et les estérases (Scandalios, 1969 ; Cardy *et al.* 1980) et à base d'histidine (pH 6,5) pour la 6PGD, l'ICD et la MDH. (Stuber *et al.* 1977 ; Cardy *et al.* 1980). Les solutions de révélation sont celles préconisées par Stuber *et al.* (1977), Scandalios (1979) Cardy *et al.* (1980) Goodman *et al.* (1980) et Pasteur *et al.* (1987).

Pour chaque système enzymatique et pour chaque population, 30 à 40 plantules ont été considérées.

A partir de l'ensemble des zymogrammes observés pour chaque système enzymatique, nous avons émis des hypothèses sur le déterminisme génétique des différents systèmes et calculer les fréquences alléliques pour les systèmes polymorphes (Ben Fadhel *et al.* 1994).

L'analyse de la variabilité intrapopulation est appréciée par le taux du polymorphisme (Brown et Weir 1983), le nombre moyen d'allèles par locus et l'indice de diversité génétique de Nei (1978). Le polymorphisme interpopulations est analysé à l'aide des distances génétiques de Nei (1978). Les calculs de ces différents paramètres, établis à partir des fréquences alléliques, ont été effectués par le programme Biosys -1. (Swofford et Selander 1981).

## Résultats

### Variabilité morphologique

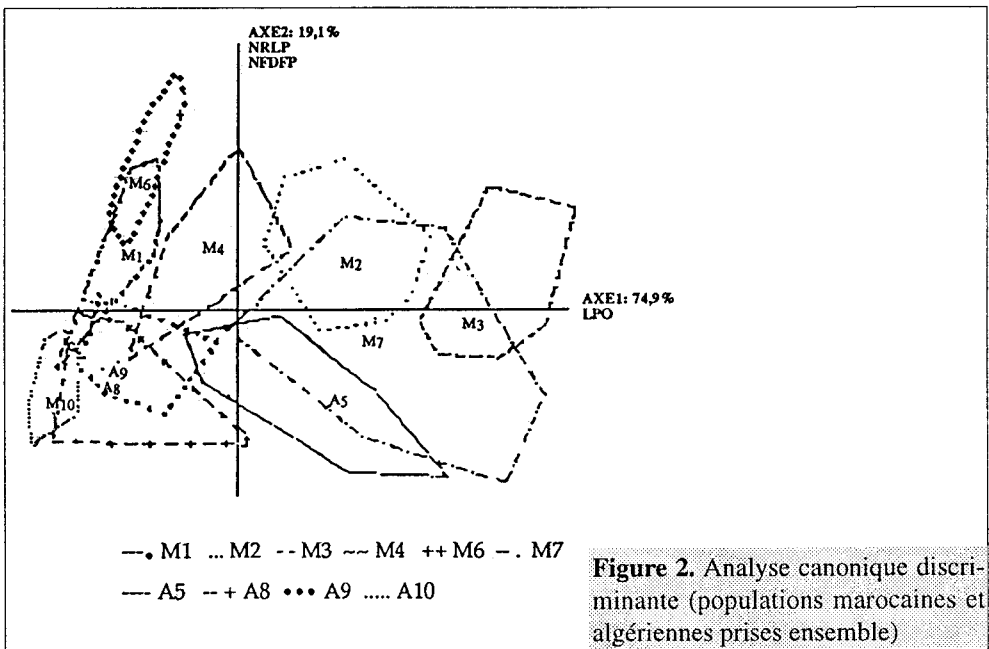
#### Les populations de chaque origine géographique

L'analyse de la variabilité morphologique des populations appartenant à une même origine géographique (Maroc ou Algérie) a fait l'objet de publications antérieures (Ben Fadhel 1993 ; Bous-said *et al.* 1995). Les analyses multivariées (analyse en composantes principales et analyse canonique discriminante) appliquées aux données morphologiques ont permis de montrer une variabilité importante au sein des populations de chaque pays. Les populations marocaines divergent selon leur localisation géographique et les conditions écologiques locales des stations (exposition, horizon superficiel du sol). La séparation des populations algériennes s'opère essentiellement selon l'altitude. Pour les deux origines, les populations situées à basse altitude sont représentées par des individus peu vigoureux et à nombres réduits de ramifications latérales et de folioles par feuille. Leur port peut être prostré ou érigé.

### L'ensemble des populations maghrébines

L'analyse discriminante appliquée à la matrice des données révèle que les deux premières composantes absorbent 94 % de l'inertie totale, témoignant d'une bonne structuration de la variabilité de l'espèce. Le premier axe (74,9 % de la variation totale) est fortement corrélé au caractère longueur de la tige principale (LPO). Le second axe, représentant 18,1 % de l'inertie totale, est défini par les variables NRLP et NFDFP relatives respectivement aux nombres de rameaux primaires et de folioles par feuille.

La projection des points individus sur le plan défini par les axes 1-2 montre une large dispersion des populations selon l'axe 1, avec un chevauchement perceptible entre la majorité des polygones qui les représentent (Fig. 2).



Les populations marocaines accusent une grande hétérogénéité en dépit de la proximité géographique de certaines d'entre-elles (cas de M1 et M2 de Tanger et de M6 et M7 de Tétouan). Elles s'opposent d'une façon générale aux populations algériennes, scindées en 2 ensembles (A8, A9, A10) et (A5), par une ramification intense et des feuilles à nombre élevé de folioles.

Le degré de développement atteint par la tige principale (LPO) permet de subdiviser l'ensemble des populations en 2 groupes réunissant chacun les 2 origines. Le premier agrégat, formé par M2, M3, M7 (Maroc) et A5 (Algérie), est caractérisé par des plantes érigées. Le second, à individus prostrés, regroupe 3 populations algériennes (A10, A9 et A8, chevauchantes entre elles) et 3 populations marocaines (M1, M4 et M6).

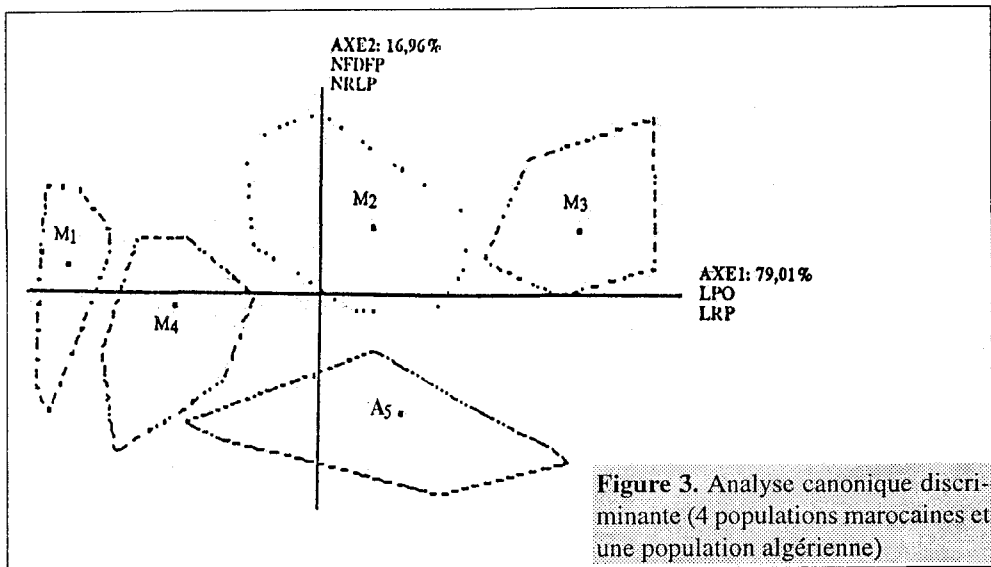
Les regroupements préférentiels de certaines populations, selon les variables morphologiques considérées, n'excluent pas la gamme de la variabilité continue de l'espèce dans l'aire prospectée. Selon l'axe 1 ou l'axe 2, on passe d'une population ou d'un groupe de populations à un autre sans discontinuité brutale.

### Variabilité morphologique de 4 populations marocaines (M1, M2, M3 et M4) et une population algérienne (A5)

Cette étude, menée sur les 5 populations considérées, a été envisagée dans le but de comparer la variabilité morphologique à celle révélée par l'analyse du polymorphisme isoenzymatique.

La projection des populations, sur le plan défini par l'axe 1 et 2, représentant 95,97 % de l'inertie totale, a conduit à un classement des populations comparable à celui observé précédemment (Fig. 3). L'axe 1, absorbant 79 % de la variation totale, permet d'isoler plus ou moins distinctement les populations A5, M2 et M3 (à port élargi et à rameaux latéraux développés) des autres populations M1 et M4 (prostrées).

La population A5 (algérienne) se distingue toujours par ses individus à nombre faible de rameaux et à feuilles paucifoliolées.



### Polymorphisme enzymatique

Un polymorphisme isoenzymatique, d'importance variable selon les systèmes et les populations, est révélé.

L'ADH est monomorphe chez toutes les populations. L'ICD, la 6-PGD, la MDH, la GOT et les estérases accusent un polymorphisme important. Vingt locus au total ont été recensés pour l'ensemble des systèmes retenus (Ben Fadhel 1993). Les fréquences alléliques des 15 locus polymorphes (Tableau 1) ont été utilisées pour calculer différents paramètres de mesure du polymorphisme intra et interpopulations.

Les pourcentages de locus polymorphes (au seuil de 5 %) diffèrent selon l'origine géographique des populations (Tableau 2). Ils varient de 46,7 % (population M1, Assilah) à 80 % (population A5, Bougara). Les populations marocaines de la région de Tanger présentent des taux intermédiaires.

Le nombre moyen d'allèles par locus est compris entre 1,5 et 1,9. La variation de ce critère est d'autant plus importante que les populations sont éloignées géographiquement. Une forte hétérozygotie  $h$  caractérise les locus au niveau de toutes les populations. (Tableau 3). Toutefois, la population A5 se distingue par une moyenne d'hétérozygotie très élevée ( $h = 0,306$ ). La valeur la plus faible ( $h = 0,182$ ) a été observée chez la population (M1).

**Tableau 1.** Fréquences alléliques des 15 locus polymorphes chez les 5 populations analysées

Locus	Populations				
	M1	M2	M3	M4	A5
<b>ICD - 1</b>					
(N)	46	46	41	39	35
A	0,000	0,000	0,000	0,821	0,000
B	1,000	1,000	1,000	0,179	1,000
<b>PGD - 1</b>					
(N)	46	46	34	38	39
A	0,109	0,239	0,000	0,184	0,231
B	0,891	0,761	1,000	0,816	0,769
<b>PGD - 2</b>					
(N)	46	46	34	38	39
A	0,380	0,467	0,412	0,526	0,474
B	0,620	0,533	0,588	0,474	0,526
<b>MDH - 1</b>					
(N)	44	46	41	39	38
A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,447
B	1,000	1,000	1,000	1,000	0,553
<b>MDH - 2</b>					
(N)	44	46	41	39	38
A	0,000	0,174	0,463	0,026	0,579
B	1,000	0,826	0,537	0,974	0,421
<b>MDH-3</b>					
(N)	44	46	41	39	38
A	1,000	1,000	0,951	1,000	0,842
B	0,000	0,000	0,049	0,000	0,158
<b>MDH - 4</b>					
(N)	44	46	41	39	38
A	1,000	0,957	0,976	1,000	0,895
B	0,000	0,043	0,024	0,000	0,105



**Tableau 1. Suite**

<b>MDH - 5</b>					
(N)	44	46	41	39	38
A	0,227	0,130	0,317	0,333	0,500
B	0,773	0,870	0,683	0,667	0,500
<b>EST - 1</b>					
(N)	31	31	32	32	32
A	0,065	0,097	0,031	0,069	0,062
B	0,935	0,903	0,969	0,938	0,938
<b>EST - 3</b>					
(N)	31	31	32	32	32
A	1,000	1,000	0,969	0,969	0,969
B	0,000	0,000	0,031	0,031	0,031
<b>EST - 3</b>					
(N)	31	31	32	32	32
A	0,452	0,258	0,062	0,000	0,000
B	0,548	0,742	0,938	1,000	1,000
<b>EST - 4</b>					
(N)	31	31	32	32	32
A	0,000	0,000	0,094	0,344	0,344
B	1,000	1,000	0,906	0,656	0,656
<b>EST - 5</b>					
(N)	31	31	32	32	32
A	0,968	0,839	0,688	0,938	0,938
B	0,032	0,161	0,312	0,062	0,062
<b>GOT - 1</b>					
(N)	32	32	32	32	32
A	0,500	0,500	0,500	0,438	0,453
B	0,500	0,500	0,500	0,562	0,547
<b>GOT - 2</b>					
(N)	32	32	32	32	32
A	0,563	0,813	0,500	0,750	0,563
B	0,438	0,188	0,500	0,250	0,438

N : nombre d'individus analysés

A, B : allèles

**Tableau 2. Variabilité génétique intra-population aux 15 locus étudiés**

Populations	Nombre d'individus	Nombre moyen d'allèles par locus	% de locus Polymorphes seuil 5%	Indice de diversité de Nei (estimation non biaisée de Nei 1978)
M1	38,5 (1,8)	1,5 (0,1)	46,7	0,182 (0,057)
M2	39,1 (2,0)	1,7 (0,1)	60,0	0,209 (0,048)
M3	35,9 (1,1)	1,8 (0,1)	53,3	0,230 (0,056)
M4	35,6 (0,9)	1,7 (0,1)	60,0	0,217 (0,052)
A5	35,1 (0,8)	1,9 (0,1)	80,0	0,306 (0,053)

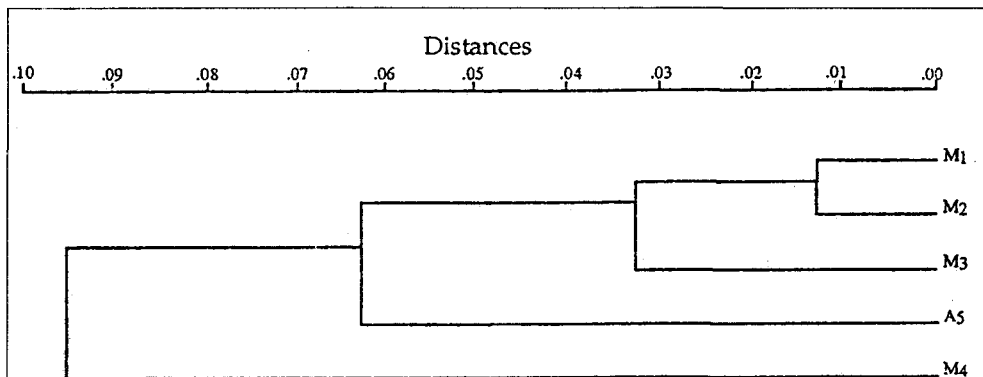
Erreurs standards entre parenthèses

La moyenne d'hétérozygotie par locus est également variable selon les populations (Tableau 3). La population algérienne A5 est pratiquement hétérozygote pour la majorité des locus. Le locus GOT 1 est fortement hétérozygote chez l'ensemble des populations. MDH1 et ICD1 sont homozygotes chez les populations marocaines M1, M2 et M3. L'homozygotie de M1 et M2 est particulièrement élevée aux locus MDH3, EST2 et EST4.

**Tableau 3.** Moyenne d'hétérozygotie par locus et par population (estimation non biaisée de Nei 1978)

Locus	Populations				
	M1	M2	M3	M4	A5
ICD - 1	0,000	0,000	0,000	0,298	0,000
PGD - 1	0,196	0,368	0,000	0,305	0,360
PGD - 2	0,477	0,503	0,492	0,505	0,505
MDH - 1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,501
MDH - 2	0,000	0,290	0,503	0,051	0,494
MDH - 3	0,000	0,000	0,094	0,000	0,269
MDH - 4	0,000	0,084	0,048	0,000	0,191
MDH - 5	0,355	0,229	0,438	0,450	0,507
EST - 1	0,123	0,178	0,062	0,119	0,119
EST - 2	0,000	0,000	0,062	0,062	0,062
EST - 3	0,503	0,389	0,119	0,000	0,000
EST - 4	0,000	0,000	0,173	0,458	0,458
EST - 5	0,063	0,275	0,437	0,119	0,119
GOT - 1	0,508	0,508	0,508	0,500	0,503
GOT - 2	0,500	0,310	0,508	0,381	0,500

Le polymorphisme interpopulations, estimé à partir des distances génétiques de Nei (1978) est important. Le dendrogramme, établi à partir de la matrice de ces distances, montre une bonne structuration des populations (Fig. 4). Deux groupes, au moins, peuvent être distingués :



**Figure 4.** Dendrogramme des populations M1, M2, M3, M4 et A5 obtenu à partir de la matrice des distances génétiques non biaisées de Nei.

- Le premier, formé des 4 populations M1, M2, M3 et A5 peut être subdivisé à la distance de 0,032 en deux sous ensembles. Le premier agrégat réunit les 3 populations marocaines (M1, M2, M3). Il se rattache au second, représenté par A5, à la distance de 0,06 ;
- Le deuxième groupe est constitué par la population marocaine M4. Il rejoint le premier à la distance de 0,095 ;
- La proximité des populations révélée par les distances génétiques de Nei n'est pas toujours conforme à celle observée par l'analyse du polymorphisme des paramètres morphologiques (cas des populations M1 et M4). En outre, la différenciation des populations marocaines, selon leur origine géographique, n'est pas toujours évidente. M2, M3 et M4, originaires de Tanger (distantes de 4 km l'une de l'autre) montrent une divergence isoenzymatique assez importante.

## Discussion et conclusion

Les populations maghrébines de *Hedysarum flexuosum*, comme celles des autres espèces du même genre montrent une diversité morphologique importante (Boussaid *et al.* 1995). La structuration des populations semble s'opérer selon leur origine géographique. La divergence entre populations algériennes et marocaines est due essentiellement à des différences relatives au degré de ramification et au nombre de folioles par feuille des plantes. Les populations marocaines sont plus favorisées que celles originaires de l'Algérie.

Une diversité de ports, au sein de l'espèce, est révélée par l'existence de types morphologiques prostré et érigé, favorisant l'exploitation de l'espèce en tant que plante de fauche ou de pâturage.

Les variations morphologiques constatées à petite échelle (Maroc ou Algérie) ou à grande échelle (le Maghreb) reflètent une diversité génotypique satisfaisante pour assurer des adaptations à certaines conditions du milieu et faciliter les travaux de sélection. La gamme de la variabilité continue, au sein d'une origine géographique ou dans l'ensemble de l'aire maghrébine (continuum géographique) doit être associée au régime préférentiellement allogame de l'espèce. Les nombreuses hybridations seraient à l'origine de la diversité génotypique observée.

Les résultats de l'analyse du polymorphisme isoenzymatique corroborent, en grande partie, l'hétérogénéité intra et inter populations. Pour les 6 enzymes analysés, 20 locus dont 15 polymorphes sont recensés. Une relation importante entre origine géographique et polymorphisme intrapopulation est observée.

Les populations se distinguent par leur taux de polymorphisme et leur taux d'hétérozygotie. La variation de ces deux paramètres, du moins pour les populations marocaines, semble être liée à la taille et à l'hétérogénéité morphologique des populations (étendue des polygones, Fig. 3). La population M1 d'Assilah, très localisée, contraste avec celles de Tanger par une faible diversité, résultant de flux géniques limités et d'une base génétique restreinte.

Une composition allélique variable au sein et entre les régions géographiques est révélée. Les allèles EST1, EST4, MDH3 et MDH1 sont très hétérogènes chez les populations marocaines. La présence de l'allèle ICD1 est limitée à la population M4. La population algérienne, la plus polymorphe pour la majorité des locus, se distingue par la maintenance de l'allèle MDH1. Elle

devrait présenter des potentialités adaptatives bien plus importantes que celles de populations marocaines M1 et M2. Nos résultats sur *Hedysarum flexuosum* confirment ceux de Baatout *et al.* (1991) et de Trifi - Farah (1986) sur la distribution géographique d'allèles particuliers respectivement chez *Hedysarum spinosissimum* et *Hedysarum coronarium*. Toutefois l'élargissement de l'étude à d'autres populations d'*H. flexuosum* algériennes et marocaines est nécessaire pour confirmer et expliquer cette répartition d'allèles qui pourrait correspondre à des environnements variables (Hamrick 1989).

Le regroupement des populations dans le dendrogramme, établi à partir des distances génétiques de Nei, ne coïncide pas exactement avec l'origine géographique des populations (Maroc ou Algérie). L'exploration de l'espèce dans l'ensemble de son aire de répartition pourrait conduire à une structuration plus cohérente des populations et englobant le maximum de diversité. Elle permettrait, en outre, de choisir les écotypes adéquats pour l'élaboration des programmes de sélection.

## Références bibliographiques

- Abdelgarfi Berrekia R., Abdelgarfi A., Bounaga N. et Guittonneau G.G. (1991). Répartition des espèces spontanées du genre *Hedysarum* selon certains facteurs du milieu en Algérie, *Fourrages*, **126** : 187-207.
- Aouni M. (1983). Etude biologique et analyse génétique et biochimique de la variabilité chez l'espèce *Hedysarum pallidum* Desf. Thèse de 3<sup>e</sup> cycle (Fac. sci. Tunis, 163p).
- Baatout H. (1982). Analyse du polymorphisme dans le complexe *Hedysarum spinosissimum*. *Bull. Soc. bot. Fr.*, 129, lettres bot., 155-165.
- Baatout H., Combes D., Marrakchi M. (1991). Reproductive system and population structure in two *Hedysarum* subspecies. I. Genetic variation within and between populations. *Genome*, **34**: 396 - 406.
- Ben Fadhel N. (1993). Polymorphisme de populations naturelles d'*Hedysarum flexuosum* L. et incidence de la culture in vitro sur la variabilité chez cette espèce. Thèse de 3<sup>e</sup> cycle (Fac. Sci. Tunis, 130p).
- Ben Fadhel N., Boussaid M. et Marrakchi M. (1994). Polymorphisme isoenzymatique de quelques populations spontanées d'*Hedysarum flexuosum* L. 7<sup>e</sup> journées de la société tunisienne de Chimie biologique. Hammamet Tunisie, 21-23, Mars 1994.
- Boussaid M. (1987). Variabilité et morphogenèse chez *Hedysarum carnosum* Desf. Comparaison entre plantes néoformées en culture "in vitro" et individus normalement issus de graines. Thèse Doctorat d'Etat (Fac. sci. St. Jérôme, Marseille, 175p).
- Boussaid M., Ben Fadhel N., Trifi-Farah N., Abdelkefi A. et Marrakchi M. (1995). Les espèces Méditerranéennes du genre *Hedysarum* L. In "Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon" p. 115 - 130. (Prosperi J.M., Guy P. et Balfourrier eds.), Publications de BRG, France.
- Brown A.H. D. and Weir R.S. (1983). Measuring genetic variability in plant populations. In "isozymes in plant genetics and Breeding". p. 219 - 239 (Tanskey and orton Eds).
- Cardy B.H., Stuber C.W. and Goodman M.M. (1980). Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.) Inst. Statistics, mimeograph n° 1317. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.

- Cenni B., Janella G. G. et Colombani N. (1968). Chemical composition, digestibility and nutritive value of sulla (*Hedysarum coronarium*) hay produced in volterra district. *Ann. Fac. Med. Univ., Pisa* 20: 155 - 168.
- Damerval C. (1983). Comparaison de six espèces de luzernes annuelles à l'aide de caractères biometriques et enzymatiques. *Agronomie*, 3 (10) : 971-981.
- El Moussadik A. (1991). Analyse de la variabilité génétique des écotypes marocains du genre *Medicago*. Implications en gestion des ressources phylogénétiques. Thèse 3<sup>e</sup> cycle (Fac. sci. Rabat. Université Mohamed V, 132p).
- Figier J., Combes D., et Francilhon G. (1978). Mise en évidence de types morphologiques dans les populations naturelles de l'*Hedysarum coronarium* de Tunisie par analyse multivariable. *Rév. gén. Bot.*, 85 : 21 - 62.
- Figier J. (1982). Etude de la variabilité et du déterminisme de la morphologie de l'*Hedysarum coronarium* L. en Tunisie. Thèse de Doctorat d'Etat. (Univ. de paris Sud Orsay, 236p).
- Floris R. *et al.* (1993). Biochemical characterization of Sardinian populations of *Medicago polymorpha* L. In "proceedings of the X<sup>e</sup> international conférence of the *Eucarpia Medicago spp group*". p. 429-433 (Lodi, Italie 1993).
- Foury A. (1954). Les légumineuses fourragères au Maroc, II<sup>e</sup> partie, Tribus des lotées, Galégées Hedysarées, Viciées, Phaseolées, Dalbergiées, Sophorées et Swartziées. *Cahiers.rech. agr.* Rabat, 374-388.
- Goodman M.M., Stuber C.W., Newtonk and weissinger H.H. (1980). Linkage relations hipo of 19 enzymes loci in maize. *Genetics*, 96: 536-537.
- Hamrick J.L. (1989). Izoenzymes and the analysis of genetic structure in plant populations. In "Isozymes inplant Biology" (D. E. Soltis and P. S. Soltis eds.), 87-105. Dioscrides press, Portland.
- Killian C. (1939). La biologie des sols argileux des environs d'Alger et la question de leurs plantes indicatrices (Essai de micropédologie). *Ann. agro 1939*. Nouvelle série : 93-120.
- Mathez J., Quezel P. et Raynaud C. (1985). The Maghreb countries. In "Plant conservation in Mediterranean Area", (Gomez-Campo eds.). p. 141-157 (Dr. W. Junk, Publ. Dordrecht).
- Nei M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, *Genetics*, 89: 583 - 590.
- Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme F., Catalan J. et Britton D.J. (1987). Manuel technique de génétique pour électrophorèse des protéines (Tec. et Doc. Lavoisier eds.), 217p.
- Pottier-Alapetite G. (1981). Flore de la Tunisie. Angiospermes dicotylédones : Gamopétales. (I.O.R. Tunisie eds.). Vol. II, 538p.
- Quezel P. et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, T : 1, (CNRS. eds., Paris) 565p.
- Quezel P. (1991). Structures de végétation et flore en Afrique du nord : Leurs incidences sur les problèmes de conservation (Rejdali M. et Heywood V. H. eds. 19 - 33. In Proceedings : Conservation des ressources génétiques, (Actes Editions, Maroc.)
- SAS (1990). SAS user's guide version 6, fourth edition. SAS circl, Box 8000 Cary, NC 27512 - 8000, Cary, NC : SAS Institute Inc.
- Scandalios J.G. (1979). Control of genie expression and enzyme différenciation in "physiological genetics" (Acad Press) eds., N. Y. London.

Shoenenberger A. (1995). Additifs sur la végétation pastorale de la Tunisie. In "Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes" Vol. 5 et 6. Le milieu physique et la végétation. (Nabli M.A., eds) IV<sup>e</sup> partie, chap. 2, p. 309 - 321 (IOR Tunisie, eds.)

Stuber C.W., Goodman M.M. and Johnson F.M. (1977). Genetic control and satival variation of B. glucosidase isoenzymes in Maize (*Zea mays L.*) *Bioch. Genet.*, **15**: 383 - 394.

Swofford D.L. et Selander R.B. (1981). Biosys-1, a computer program for the analyses of allelic variation in genetics. University of Illinois, Urbana, IL.

Thiault M. (1995). La végétation des parcours de la Tunisie tellienne. In "Essai de synthèse sur la végétation et la phytoécologie tunisiennes" (M.A. Nabli, eds.), 297 - 350 (IOR Tunisie, eds.).

Trifi-Ferah N. (1986). Analyse de la variabilité morphologique et enzymatique : relations entre formes cultivées et spontanées de l'*Hedysarum coronarium*. Thèse 3<sup>e</sup> cycle (Fac. sces Tunis), 102p.