

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE UNIVERSITE AKLIMOHAND OULHADJ –BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA
TERRE DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf:...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/
2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine: SNV Filière: Sciences Biologiques
Spécialité: Biochimie Appliquée

Présenté par:

BENOUARAB Dimya CHIBANE Manel

Thème

***Etude cytogénétique et morphométrique de quelques espèces
du pin en Algérie.***

Soutenu le : 06/07/2022

Devant le jury composé de:

Nom et Prénom

Grade

Mme. Djouahra Djamila

MCB

Président

Univ. de Bouira

M. MAHDJOUR Mohamed Malik

MCB

Univ. de Bouira

Promoteur

M. KADRI Nabil

MCA

Univ. de Bouira

Examineur

Mme. BENMOUHOU Hassina

MAA

Co-Promotrice Univ. de Bejaia

Mme. ZAMOUM Nadjat

Doctorante

Univ. de Ouargla

Invité

Année Universitaire: 2021/2022

*'...Sans regretter son sang qui coule goutte à goutte
Le pin verse son baume et sa sève qui bout,
Et se tient toujours droit sur le bord de la route,
Comme un soldat blessé qui veut mourir debout...'
-Théophile Gautier-*

*'Better is not good enough ; the best is yet to come'
-William Shakespeare-*

Remerciements

Remerciements

Nous tenons à remercier tout d'abord ALLAH le tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté pour mener ce modeste travail.

*A notre encadrant, **M. MAHDJOUR Mohamed Malik**,
Pour nous avoir accompagné tout au long de la rédaction de ce mémoire, Pour votre encadrement exemplaire, Pour votre disponibilité sans faille et pour le temps que vous nous avez consacré à relire et améliorer notre travail, Pour vos encouragements, vos conseils et orientations, Pour tout ceci, et bien plus encore, on vous suit très reconnaissantes.*

*On remercie **Mdm. Djouahrapour** avoir accepté de présider le jury de notre soutenance et **M. Kadri** pour avoir accepté d'examiner et de juger notre travail.*

*Nous tenons également à remercier Le Professeur **SAHNOUN Mohamed** Directeur de Laboratoire de Recherche en Ecologie et Environnement de l'université A/MIRA de Bejaia pour avoir accepté d'accomplir la partie pratique au sein du laboratoire, et aussi pour ses conseils, ses orientations et surtout pour ses encouragements.*

*On tient à remercier l'équipe de recherche de Laboratoire de Recherche en Ecologie et Environnement, tout particulièrement **Mdm. BENMOUHOU Hassina**, **Mdm. ZEMOURI Rosa** et **M. ZEMOURI Mourad** pour leurs disponibilité, leurs orientations, leurs conseils, leurs encouragements, et leurs contributions inestimables. On leurs exprime notre profonde gratitude pour nous avoir fait profiter de leurs connaissances.*

Nous tenons à exprimer notre gratitude à la conservation des forêts de la wilaya de Bouira pour leur aide.

*A nos amis **Yacine Maiz et Khalef Hansali** pour leur aide et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

- Dingya et Marel -

DEDICACES

DEDICACES

I am humbled to dedicate this piece of work, with love,

*To my **Father**, I don't think i would be the person i am today if it wasn't for you, your love and your presence. You were there to comfort me whenever i felt like the world is ending, you believed in me, supported me and helped me get through life. Thank you for giving me a role model to look up to and aspire to be like. The words aren't enough to help express the amount of love i feel for you. May the Almighty God protect you and give you health and happiness.*

*To my **Mother**, My pillar of support. Everything in my life –literally- wouldn't have been possible if it wasn't for your prayers, your love and your presence. Whenever it felt like being lost in the trees among the ever changing leaves, your hands were there to pull me out. Thank you for showering me with more love than i can carry. Thank you for being my eternal role model, and these are just few words to say I love you. May the Almighty God protect you and give you health and happiness.*

*To my other half, my **sister Mina**, you're my little bit of childhood that can never be lost. Thank you for sticking by my side and for making this life far more chaotic and far less boring. I love you from here to the moon and back.*

*In memory of my loving **Grandfather**, May the mercy of God reign over you and soothe your soul. I hope you're proud of me, wherever you are. I love you, Always.*

*To My **Uncle**, thank you for being my second father figure throughout my childhood, teenage years and what i dare to call adulthood years and beyond. I'll always be grateful for having you in my life.*

*To my **BENOUARAB& OULD AHMED** family.*

*To my partner in crime **Manel**, my bestfriend, you know this wouldn't have been possible without you.*

*To all my **Best Friends**, thank you for being there everytime i needed a pat on the back.*

*To all the **books** and **poems** i read and willing to read, to all the **songs** and **music** i listened to and willing to not only hear and to the **art** that existed and exists, you're the things that we live for. Thank you for being my escape.*

- Ladmila Dimya -

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à,

A mes très chers parents, ma source de tendresse, pour votre soutien tout au long de mon parcours, pour votre amour et mots qui me donnent de la force et me rendent le sourire, Pour vos sacrifices et votre présence dans mes moments de détresse, je vous aime très fort.

A mes très chères sœurs Sonia, Chaïma et Thiziri, pour votre soutien et vos encouragements, les mots ne suffisent pas pour exprimer l'attachement et l'affection que je porte pour vous.

A ma chère Binôme Ludmila (Dimya), Ma meilleure, ce travail n'aurait pas été possible sans toi.

A mes très chère(s) ami(e)s,

Je vous remercie d'avoir toujours été à mes côtés.

A mon très cher Hamou,

Pour ta présence dans mes moments difficiles et ton soutien.

A la mémoire de mon cher Yanis,

Que la clémence de Dieu règne sur vous et que la miséricorde apaise votre âme.

- Marel -

Liste des Abréviations

Liste des abréviations

A: Adénine

ADN : Acide Désoxyribon Nucléique

ADNr : Acide Désoxyribon Nucléique ribosomique

ARNase : Acide Ribonucléase

ARNr : acide ribonucléique ribosomique

C: Cytosine

DAPI : Di-Amino-Phénil-Indol

FISH : fluorescence in situ hybridization

G: Guanine

h : heur

ICN : Code International de Nomenclature des algues, champignons et plantes.

Pb : paires de bases

Pg : picogrammes

T: Thymine

V : Volume

Liste des Tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 1:Classification des espèces du pin (Pin d'Alep, Pin Pignon, Pin Noir).....	4
Tableau 2: Les caractères morphologiques analysés sur les espèces de <i>Pinus</i> étudiée.....	27
Tableau 3 : les caractères morphologique quantitatifs du Pin d'Alep région Tikjda.....	Error!
Bookmark not defined.	
Tableau 4: les caractères morphologique quantitatifs du Pin d'Alep région Ain El Turk	Error! Bookmark not defined.
Tableau 5: les caractères morphologique quantitatifs du Pin d'Alep région Ath Saci ...	Error!
Bookmark not defined.	
Tableau 6: les caractères morphologique qualitatifs du Pin d'Alep des trois régions	Error!
Bookmark not defined.	
Tableau 7: les caractères morphologique quantitatifs du Pin Pignon	37
Tableau 8: les caractères morphologique qualitatifs du Pin Pignon	Error! Bookmark not defined.
Tableau 9: les caractères morphologique quantitatifs du Pin Noir.	39
Tableau 10: les caractères morphologique qualitatifs du Pin Noir	Error! Bookmark not defined.
Tableau 11: Fertilité Pollinique de <i>Pinus halepensis</i> Mill.....	41
Tableau 12: Fertilité Pollinique de <i>Pinus pinea</i> L.....	43
Tableau 13: Comparaison des résultats de l'étude morphométrique	46
Tableau 14:Comparaison des résultats de l'étude morphométrique	46
Tableau 15:Comparaison des résultats de l'étude morphométrique du Pin Noir.....	47

Liste des Figures

Liste des Figures

Figure 1 : Aire de répartition du Pin d'Alep dans le bassin méditerranéen	5
Figure 2 : Le Pin d'Alep.....	6
Figure 3: Air de répartition géographique du pin pignon dans le monde.....	7
Figure 4: Le Pin pignon.....	8
Figure 5 : Localisation des Stations de Pin noir au Parc National du Djurdjura.....	10
Figure 6 : Le Pin noir..	11
Figure 8 : Exemple d'un caryotype des chromosomes de <i>Pinus radiata</i>	14
Figure 9 : Représentation schématique de quelques types des chromosomes	16
Figure 10: Principe de l'Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH)	19
Figure 11: Phylogénie du Pinophyta basée sur l'analyse cladistique de données moléculaires.	21
Figure 12: Répartition géographique des espèces étudiées.	22
Figure 13: Les boutons floraux des trois espèces. A : Boutons floraux du pin d'Alep d'Alger, B : boutons floraux du pin d'Alep de Bouira, C : boutons floraux du pin pignon de Bouira. .	23
Figure 14 : les graines des trois espèces. A : Graines du pin noir, B : Graines du pin d'Alep, C : Graines du pin pignon	24
Figure 15 : Lancement du processus de germination des graines du Pin. A : Les graines du pin d'Alep dans l'eau, B : Les graines vides qui flottent, C : Graines du Pin pignon, D : Graines du Pin d'Alep	25
Figure 16: La mesure des caractères quantitatifs.	26
Figure 17:Matériel utilisé durant l'expérimentation cytogénétique.	29
Figure 18 : les étapes de l'étude de la fertilité pollinique.	31
Figure 19: Le matériel végétal de l'étude des ovules.....	32
Figure 20: Les étapes réalisées durant l'étude des ovules.....	33
Figure 21: Les graines des pins germés.....	34
Figure 22: Les différentes phases de la mitose	40
Figure 23: Les grains de Pollen Fertiles et stériles du Pin d'Alep	41
Figure 24: Grains de Pollen du pin d'Alep déformés.....	42
Figure 25: Les différentes phases des divisions cellulaires chez <i>Pinus pinea</i> L.	43
Figure 26: Grains de pollen du pin pignon.....	44
Figure 27: Grains de pollen du pin pignon déformés.....	44
Figure 28: cellules au stade de prophase (Grossissement X100). Echelle : 10µm.....	45
Figure 29: Les chromosomes de <i>Pinus pinea</i> L. en stade de métaphase	49
Figure 30: Les chromosomes de <i>Pinus halepensis</i> Mill. Au stade de métaphase.....	49
Figure 31: Cellules obtenus au stade de prophase.....	50
Figure 32: Les cônes males du pin d'Alep.	51
Figure 33 : Les cônes males du pin pignon	51

Sommaire

Sommaire

Remerciements

DEDICACES

Liste des abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Introduction	1
1 Chapitre I : Synthèse Bibliographique	3
1.1 Description des espèces du Pin.....	3
1.2 Classification des espèces du Pin	3
1.3 Pin d'Alep (<i>Pinus halepensis</i> Mill.)	4
1.3.1 La répartition géographique	4
1.3.2 Description Botanique.....	5
1.3.3 Ecologie.....	6
1.4 Pin pignon (<i>Pinus pinea</i> L.).....	7
1.4.1 La répartition géographique	7
1.4.2 Description Botanique.....	7
1.4.3 Ecologie.....	8
1.5 Pin Noir (<i>Pinus nigra</i> Arnold ssp. <i>mauretanica</i>)	9
1.5.1 La répartition géographique	9
1.5.2 Description Botanique.....	10
1.5.3 Ecologie.....	11
1.6 La reproduction des espèces du Pin.....	12
1.7 Intérêt médicinal des espèces du Pin	12
1.8 Intérêt économique des espèces du Pin	13
2 La Cytogénétique	13
2.1 Définition de la Cytogénétique.....	13
2.2 Caryotype.....	13
2.3 La chromatine	14
2.4 Taille du génome	15
2.5 Les Chromosomes	16
2.6 Techniques de cytogénétiques classiques.....	16
2.6.1 Coloration de Feulgen	16
2.6.2 Coloration de Giemsa.....	17
2.7 La cytogénétique moléculaire.....	17
2.7.1 Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH).....	17

2.7.2	Le fluorochrome banding	19
2.8	Etude moléculaire et phylogénétique :	20
3	Matériels et méthodes.....	22
3.1	Origine géographique des espèces étudiées.....	22
3.2	Récolte des cônes du Pin	22
3.3	Récolte des boutons floraux	23
3.4	Récupération des graines	23
3.5	Mise à germination des graines	24
3.6	Techniques d'études	25
3.6.1	Etude morphométrique	25
3.6.2	Etude cytogénétique	27
3.6.3	Etude de la fertilité pollinique	29
3.6.4	Etude des Ovules	31
4	Résultats et discussion.....	34
4.1	Résultats.....	34
4.1.1	Germination.....	34
4.1.2	Morphologie des trois espèces du Pins	34
4.1.3	Cytogénétique des trois espèces du Pin.....	39
4.2	Discussions	45
4.2.1	Morphologie des trois espèces du Pin	45
4.2.2	Etude cytogénétique	47
4.2.3	Etude cytogénétique	Error! Bookmark not defined.
	CONCLUSION	55
	PERSPECTIVES:.....	56
	Références Bibliographiques.....	59

Introduction générale

Introduction

Apparus sur terre à l'ère primaire, il y a 300 millions d'années, les conifères se sont développés juste après les fougères, et avant les feuillus et ils ont résisté aux multiples changements climatiques. Les conifères sont des plantes ligneuses à croissance monopodiale (un tronc unique et droit avec des branches latérales) (K.B.F, 2007). Ils doivent leur nom à leurs fruits, les cônes, qui renferment des graines. Les conifères sont répartis un peu partout dans le monde, on les trouve dans les forêts fraîches du nord d'Europe, l'Asie et l'Amérique du Nord comme on peut les trouver dans les forêts tropicales d'Asie et les régions chaudes d'Afrique et d'Australie. Les conifères ont une importance écologique considérable (K.B.F, 2007) chaque conifère pousse dans des températures et des variations de température qui lui conviennent, des valeurs critiques basses ou élevées provoquent l'arrêt ou le redémarrage de la végétation.

Les conifères comprennent sept grandes familles dont les Pinacées (*Pinaceae*) qui compte 220-250 espèces réparties en 11 genres, toute originaire de l'hémisphère nord. Parmi ces 11 genres, on distingue le genre *Pinus* dont le pin qui occupe une aire géographique importante en Algérie (Khaouani, 2011). Les pins représentent un capital forestier majeur sur le pourtour de la Méditerranée. Les forêts de pin d'Alep (ou pin blanc) couvrent plus de 850 000 hectares ((Derouche, 2015), or que le pin pignon couvre plus de 13 500 ha (Seigue, 1985). Le pin est planté à basse altitude dans des forêts tempérées à cause de leur croissance rapide.

Les espèces du pin sont d'une grande utilité, les pêcheurs sont longtemps servis de son écorce dont les tanins renforçaient et teignaient les filets. Son bois aussi fut utilisé pour l'étagage des mines, la construction navale et la charpenterie (Khaouani, 2011). Il paraît intéressant d'étudier ces espèces qui sont répandues dans le monde, c'est pour cela que les *Pinaceae* ont été objet de plusieurs études, particulièrement l'étude cytogénétique qui est l'une de nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes (Jahier *et al.*, 1992).

Les recherches cytogénétiques effectuées sur les pinacées ont été limitées par la difficulté d'identification des chromosomes individuels (Pederick, 1966). Cependant, certaines recherches montrent que la famille des pinacées est composée majoritairement d'espèces diploïdes ($2n = 24$) sans véritable espèce aneuploïde ou polyploïde (Khoshoo, 1961; Pederick, 1970; Muratova et Krukliis, 1988).

En Algérie, aucune étude cytogénétique n'a été faite sur les espèces de Pin qui en existe, c'est pour cela, notre objectif est d'exploiter le domaine de la cytogénétique tout en travaillant sur les espèces de pin qui existent dans notre région (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L. et *Pinus nigra*).

Notre Mémoire présente trois chapitres, initiés par une synthèse bibliographique sur les espèces étudiées et sur la cytogénétique. Le deuxième chapitre est consacré à la partie expérimentale : matériel végétal analysé ainsi que la méthodologie utilisée. Dans le troisième chapitre, on expose les résultats obtenus et leurs interprétations. On termine par une conclusion générale et quelques perspectives

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1 Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1.1 Description des espèces du Pin

Les conifères sont des plantes ligneuses dont la majorité est des arbres à graines portées par des cônes. Les espèces les plus répandus sont : le cèdre, le sapin, les épicéas, les pruches, le douglas et les pins.

Les pins sont des arbres résineux de grande taille descendant des conifères appartenant au genre *Pinus* de la famille des *Pinacées*, qui compte plus de 232 espèces bien différentes les unes des autres (Nkongolo *et al.*, 2012). Comme beaucoup de conifères, les pins ont des feuilles en forme d'aiguilles plus au moins piquantes, souvent d'un vert, groupées en faisceaux par 2, 3 ou 5 et dont les fructifications sont des cônes formé d'écailles épaisses, imbriquées portant chacune deux graines nues, munies d'une aile plus ou moins allongée (K.B.F, 2007).

Le genre *Pinus* comprend environ 800 espèces dans le monde. En Algérie, on retrouve le *Pinus halpensis*, *Pinus pinaster*, *Pinus nigra* du Djurdjura, *Pinus brutia*, *Pinus pinea*, *Pinus coulteri* et *Pinus canariensis*.

1.2 Classification des espèces du Pin

Les conifères ou pinophyta sont le groupe de composants le plus grand et le plus important économiquement des gymnospermes. Conifère est un mot latin, composé de *conus* (cône) et de *fer* (à porter), signifiant "celui qui porte (un) cône (s)".

Selon les règles ducode international de nomenclature des algues, champignons et plantes (ICN), les noms des taxons supérieurs dans les plantes (au-dessus du rang de la famille) sont soit formés à partir du nom d'une famille incluse (généralement la plus commune et / ou la plus représentative), dans ce cas les *Pinacées* (la famille des pins), ou sont descriptives. Le nom descriptif utilisé pour les conifères est Coniferae. Les conifères font partie de l'Ordre Coniférales des Gymnospermes.

À partir de 2016, les conifères ont été acceptés comme composés de sept familles, avec un total de 65–70 genres et 600–630 espèces, parmi ces familles, on trouve la famille des pinacées qui est réparties en 11 genres et 220-250 espèces différentes. (Farjon *et al.*, 2003).

Tableau 1: Classification des espèces du pin (Pin d'Alep, Pin Pignon, Pin Noir)

	Pin d'Alep	Pin Pignon	Pin Noir
Règne	Plantae	Plantae	Plantae
Division	Pinophyta	Pinophyta	Coniferophyta
Classe	Pinopsida	Pinopsida	Pinopsida
Ordre	Pinales	Pinales	Pinales
Famille	Pinaceae	Pinaceae	Pinaceae
Sous-famille	Pinoideae	Pinoideae	Pinoideae
Genre	<i>Pinus</i>	<i>Pinus</i>	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus halepensis</i>	<i>Pinus pinea</i>	<i>Pinus nigra</i>

1.3 Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.)

1.3.1 La répartition géographique

Le Pin d'Alep «*Pinus halepensis* Mill. » est un arbre circumméditerranéen (Pardé, 1957), on le trouve généralement à basse altitude et dans les climats secs de la Méditerranée occidentale, mais aussi à divers endroits du bassin méditerranéen oriental. Sa superficie forestière totale est plus de 3,5 millions d'hectares (Quezel et Barbero, 1992).

En Europe, le pin d'Alep se développe principalement en Espagne au niveau de la région de valence, Murcie mais moins répandu en Andalous, En Italie il se trouve en abondance en certaines zones de la péninsule hellénique et dans le Péloponnèse nord occidental et il est peu répandu en France (Quezel et Barbero, 1992).

Au Proche-Orient, *Pinus halepensis* est présent en Turquie au Nord-est d'Adana. En Syrie, il se trouve sur le revers occidental de la chaîne des Alaouites et sur le littoral libanais. Il existe aussi quelques peuplements en Palestine et en Jordanie (Quezel et Barbero 1992).

En Afrique du Nord : le pin d'Alep est plus développé car il apparaît presque partout sur les massifs montagneux en couvrant 1 260 000 hectares (Alaoui *etal.*, 2011). En Algérie, il s'étend jusqu'à environ 250 m au-dessus du niveau de la mer et est Trouvé vers 2000 m au

Maroc et en Tunisie (Ayari *etal.*, 2011), couvrant 65 000 hectare ha (Alaoui *etal.*, 2011), 300 000 ha (Nasri *etal.*, 2004)

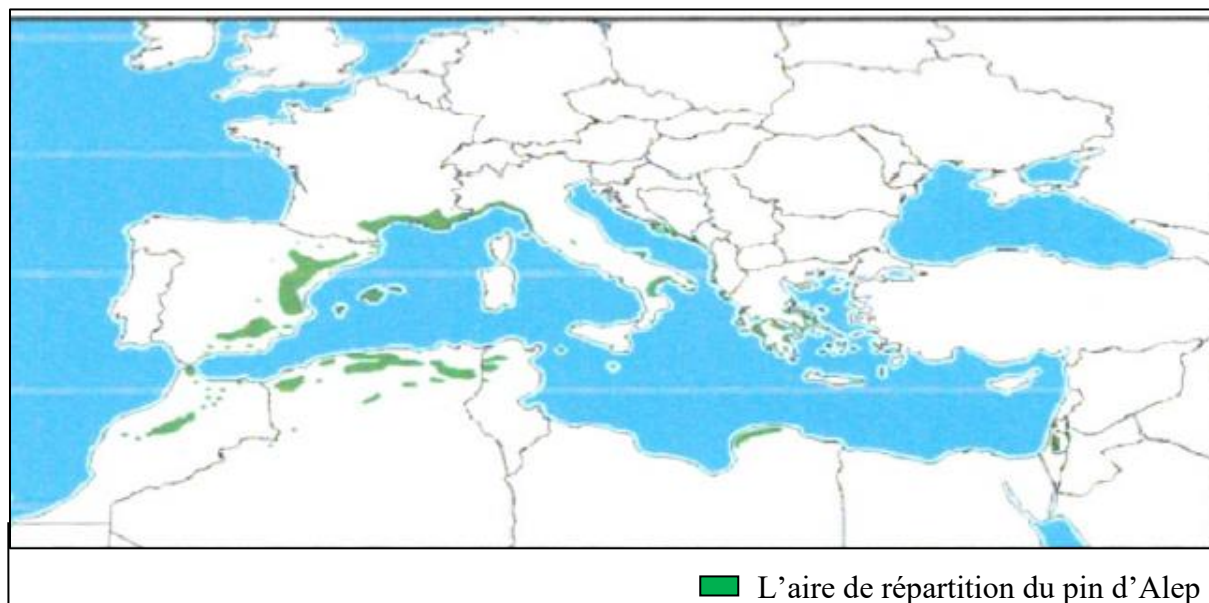


Figure 1 : Aire de répartition du Pin d'Alep dans le bassin méditerranéen (Lazrec, 2015)

En Algérie, la forêt de pin d'Alep est présente dans tous les étages bioclimatiques depuis le littoral jusqu'à l'Atlas saharien avec une prédominance dans l'étage semi-aride (Khadoumi *et al.*, 2014), cette espèce couvre plus de 850 000 hectares (Derouche, 2015) et 35% des surfaces boisées de l'Algérie du Nord (Lazrec, 2015).

1.3.2 Description Botanique

Le pin d'Alep par son nom scientifique *Pinus halepensis* Mill. est une espèce forestière rustique (Hamrouni *etal.*, 2011), conifère de la famille des Pinacées. Cette espèce est un arbre qui peut atteindre 20m de hauteur et 1.5m de diamètre. Les jeunes sujets possèdent une écorce lisse de couleur grise argentée et les sujets adultes possèdent une écorce épaisse de couleur noirâtre à rougeâtre. La floraison de cette espèce se déroule durant le printemps et la fructification se déroule en été (Hedjal-Chebheb, 2014).

Les feuilles sont réduites en aiguilles fines de couleur vert clair de 05 à 10cm de longueur, avec une largeur de 1mm, réunies par deux dans une même gaine, en pinceaux à l'extrémité des rameaux (Lazrec, 2015), dont la base est occupée par les fleurs mâles au printemps.

Les cônes sont de 08 à 12cm de longueur et de 3,5 à 4,5cm de largeur. Leur maturité est estimée par le changement de couleur de vert à brun rougeâtre (Fekih, 2015). Ces derniers

renferment des graines noirâtres équipées d'ailes, qui ne sont pas aptes à germer que lorsque l'arbre atteint l'âge de 18 à 20 ans (Rathgeber, 2002).

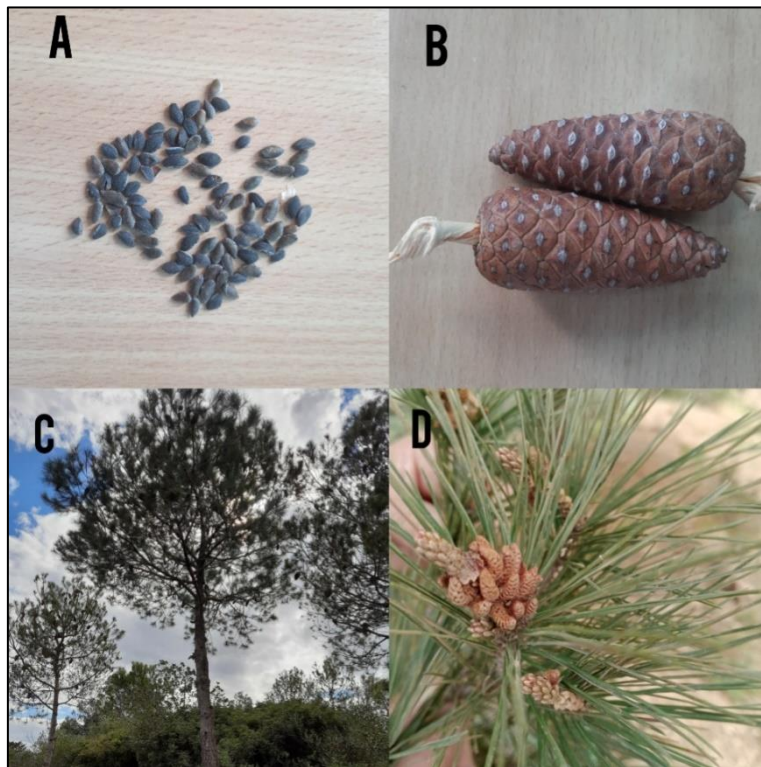


Figure 2 : Le Pin d'Alep. A : Graines du Pin d'Alep, B : Cônes du Pin d'Alep. C : Arbre du Pin d'Alep, D : Feuilles et cônes males du pin d'Alep.

1.3.3 Ecologie

L'aire de répartition écologique du pin d'Alep est relativement large. Il se trouve dans les bioclimats supérieurs arides et humides, cependant, sa meilleure croissance est enregistrée dans le semi-aride à hivers frais (El Hamrouni, 1978;Garchi, 1992).

Le régime pluviométrique de pin d'Alep est très tolérant avec une amplitude de moins de 350 mm annuels à plus de 700mm (Quezel, 1986). En ce qui concerne les propriétés du sol, il pousse dans une très large gamme de conditions pédologiques et plus rarement sur les sols compacts et hydromorphes et les sols à faible rétention (Khouja, 1997).

Le régime thermique du pin d'Alep est limité par les froids hivernaux qui peuvent causer des dégâts surtout aux jeunes plantes (Khouja, 1997), la moyenne des minimal du mois le plus froid qui est un facteur limitant pour son développement et sa survie ne doit pas descendre au-dessous de 0 °C (Garchi, 1992), mais tolère bien la chaleur estival, donc, le pin d'Alep supporte une certaine continentalité; les forte fortes amplitudes thermique entre l'hiver et l'été. C'est l'une des espèces d'arbres à résine les plus résistants à la sécheresse (Khouja,

1997).

1.4 Pin pignon (*Pinus pinea* L.)

1.4.1 La répartition géographique

Le Pin pignon est une espèce qui se situe sur le pourtour méditerranéen (Khalidi *et al.*, 2009). Sa superficie totale dans le monde est estimée à 600 000 ha, dont 75% se trouve en Espagne (plus de 400 000 ha), 9% au Portugal, 8% en Turquie, 7% en Italie, 3% en Tunisie, 0,5% au Maroc et le reste en Grèce, Liban, Algérie et en France 13 500 ha (Seigue, 1985).

En Afrique du nord, le pin pignon n'existe pas actuellement à l'état spontané mais certains auteurs n'excluent pas l'hypothèse de sa présence dans le passé à l'état spontané. L'introduction de cette espèce est récente (Adili, 2012).

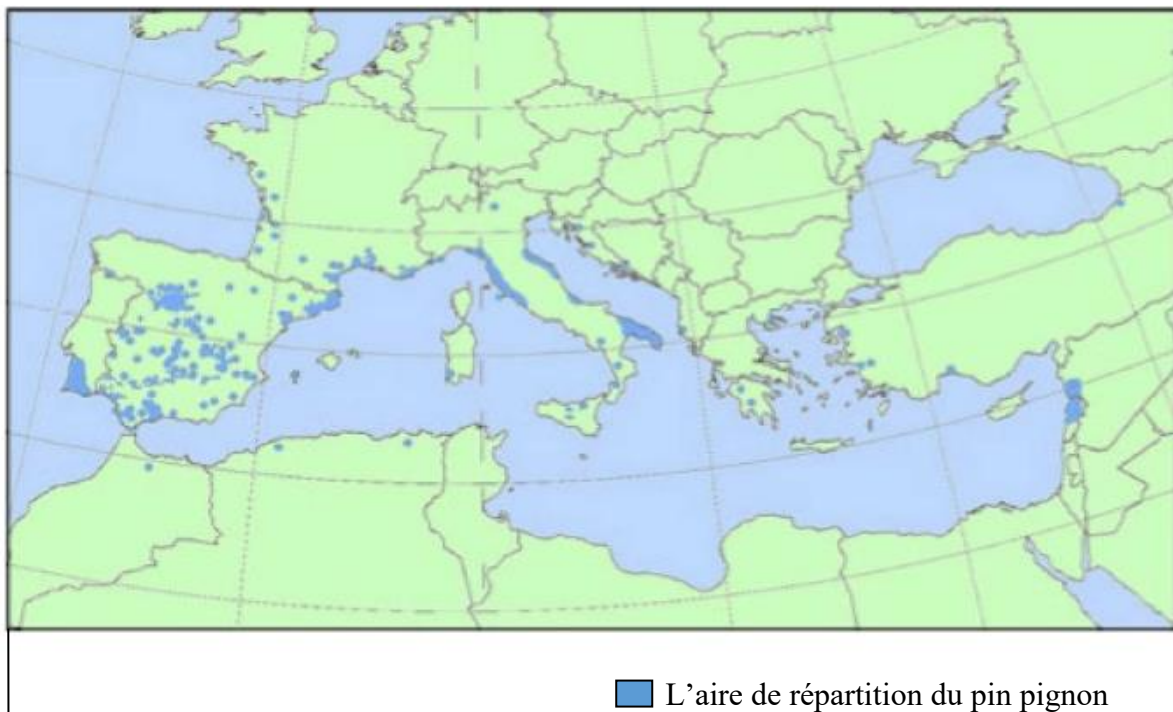


Figure 3: Aire de répartition géographique du pin pignon dans le monde (Fady, 2005).

En Algérie le Pin parasol a été introduit en 1935 et 1974, à Meurdja, à Baïnem et à Meslong. Les reboisements récents sont surtout localisés sur les dunes de Bon Achira, dans l'Est et le Nord-Est de Mostaganem, près de Sidi Lakhthar (Adili, 2012).

1.4.2 Description Botanique

Le pin pignon ou pin parasol par son nom scientifique *Pinus pinea* L. est un conifère de la famille des Pinacées. L'espèce est un arbre reconnaissable grâce à son port en parasol typique (Rodrigo *et al.*, 2007). Il peut atteindre 20m de hauteur, rarement 30m. Le tronc est

souvent unique car d'abord il est court et divisé dès la base, puis devient plus élancé avec l'âge après avoir perdu ses branches basses.

Le pin pignon présente une écorce très craquelée, de couleur brun rougeâtre ou grise, qui possède de profondes fissures. La floraison de cette espèce se déroule entre Mai et Juin et la fructification se déroule au cours du troisième automne suivant la floraison.

Les feuilles sont des aiguilles persistantes de couleur vert foncé, assez peu piquantes, souples, vrillées, avec bords denticulés, réunies par 2 ou 3. Les cônes sont assez gros, peuvent mesurer jusqu'à 15 cm de longueur et 10 cm de largeur, globuleuses, bruns lustrés et renferment une grosse graine comestible de 1.5 à 2 cm avec une coque dure.

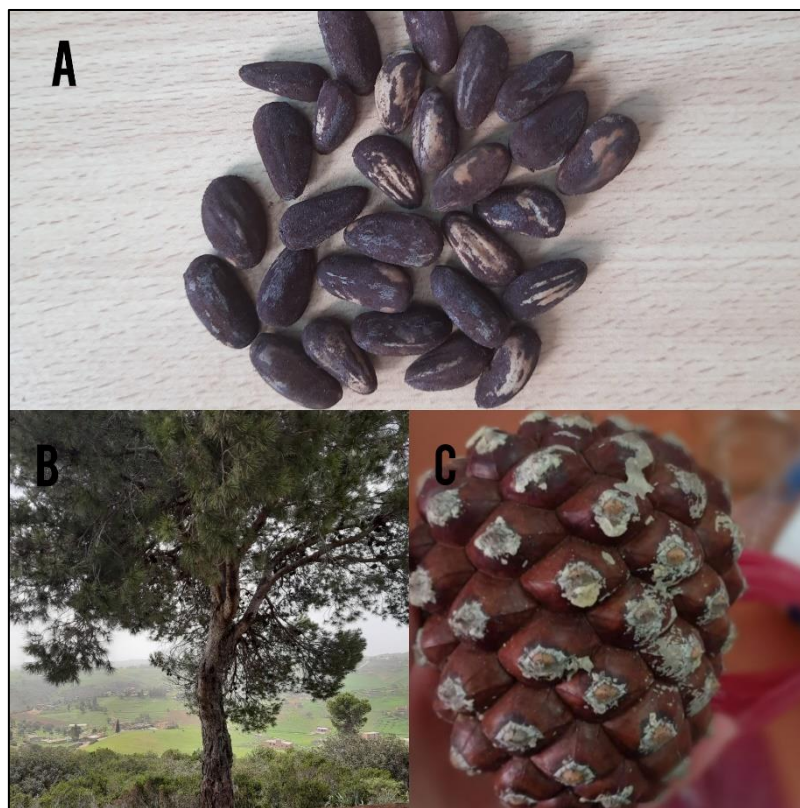


Figure 4: Le Pin pignon. A : graines du Pin pignon. B : Arbre du Pin pignon. C : Cône du Pin pignon.

1.4.3 Ecologie

L'aire de répartition de *Pinus pinea* L. est large .il comprend les bioclimats humide et subhumide des types tempéré et froid (Quézel, 1980). Il pousse moins dans les bioclimats semi-arides et dans les conditions froides et très humides.

Le Pin pignon est une espèce thermophile, xérophile, héliophile et exige une pleine lumière (De Philippis, 1957 ; Ciancio *et al.*, 1986). Sa diffusion est associée au climat chaud

et lumineux des côtes méditerranéennes (Adili, 2012). Comme on le trouve aussi, à titre ornemental, dans des climats plus froids.

Le pin pignon peut se développer dans des régions où les précipitations comprises entre 550mm annuel et 1500 mm, (Labadi, 1983). L'excès d'humidité est défavorable surtout sur des sols mal drainés et marécageux. Il peut supporter une période de sécheresse de 3 à 4 mois (Rapp et Ibrahim, 1978).

Le pin pignon est une espèce exigeante quant à la température, il se rencontre dans les limites thermiques correspondant aux valeurs suivantes :

- Température moyenne annuelle de 10 à 18°C.
- Température moyenne minima (m) du mois le plus froid (-2°C à 7°C).
- Température moyenne maxima (M) du mois le plus chaud (27°C à 32°C).

Mais il peut supporter une période de sécheresse de 3 à 4 mois (Rapp et Ibrahim, 1978).

1.5 Pin Noir (*Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*)

1.5.1 La répartition géographique

Le Pin noir occupe une aire morcelée dans les montagnes de la région méditerranéenne, sa surface total dans le monde est 2300 000 ha (Bojovic, 1995). Il est réparti sur les 3 continents

- ✓ Asie : Turquie et la Crimée.
- ✓ Europe : Espagne, France, Italie, Autriche, ex Yougoslavie, Albanie, Roumanie, Grèce.
- ✓ Afrique : Algérie et Maroc.

Les peuplements naturels de pin noir occupe une superficie de 40000 ha en Espagne, 80 000 ha en Autriche, 22 000 ha en Corse, 50 000 ha en Calabre et 1 million ha en Turquie (Debazac ,1971). Par contre il est introduit en France, dans les années soixante (Adjaoud et Aidrous, 1992). Des plantations expérimentales ont été entreprises dans plusieurs pays, notamment en Belgique dans la station de GROENENDAEL (Gthy, 1957), en Nouvelle Zélande et aux USA (Adjaoud et Aidrous, 1992).

• En Algérie :

Le *Pinus nigra mauretanica* se trouve naturellement dans le massif central du Djurdjura (Tikdjda, wilaya de Bouira) au niveau de 2 stations :

- Tigounatine : 407sujets (semis inclus)
- Djebel taouillet : Vingtaine sujets

- Tikjda centre : 11 sujets naturels

Des reboisements ont été effectués au début des années trente à Tala Rana (commune de Saharidj, wilaya de Bouira) mais suite à deux incendies une vingtaine de sujets ont survécu. (Muller, 1986).

D'autres reboisements ont été réalisés dans différentes stations :

- Tikjda centre : Une vingtaine de sujets durant 1982-1983 et une cinquantaine en 1985
- Tizi kouilel : Une vingtaine de sujets
- Tala guilef : 700 sujets en 1983-1984 (Asmani, 1988). Mais suite aux incendies, il ne reste que quelques sujets.

Une quarantaine de sujets ont été plantés dans la réserve protégée de Ben Ali située au— parc national de Chr  a dans l'atlas blid  en (Bachir et Mouloudj, 2008).

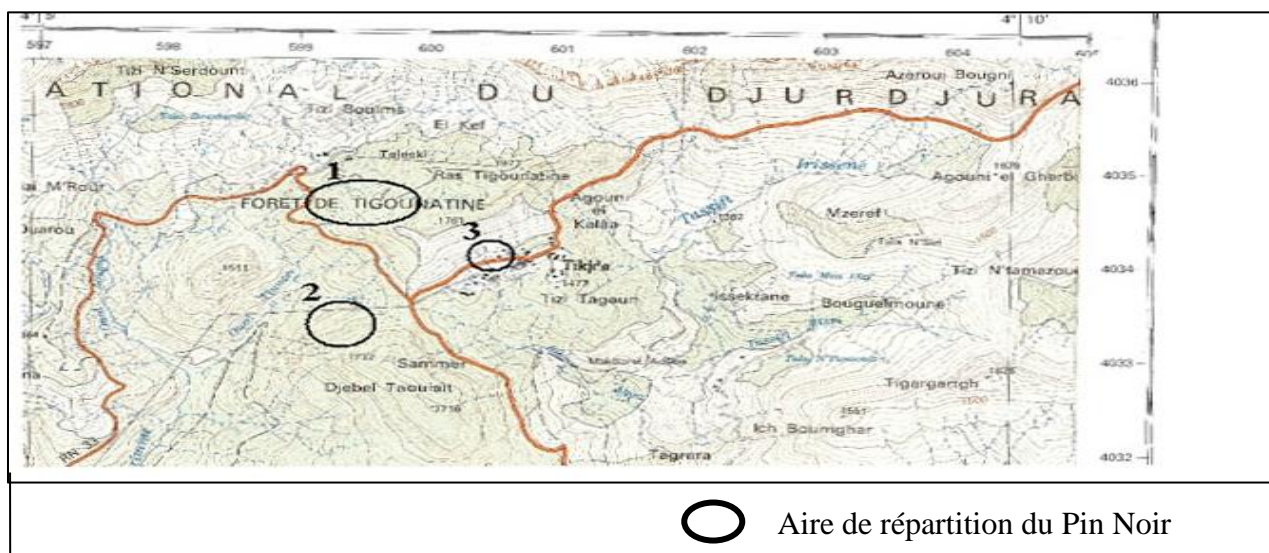


Figure 5 : Localisation des Stations de Pin noir au Parc National du Djurdjura (Asmani, 1988).

1.5.2 Description Botanique

Le pin noir par son nom scientifique *Pinus nigra* est un conifère de la famille des *Pinacées*. L'arbre de l'espèce peut atteindre 30 à 50m de hauteur. Son tronc est droit, recouvert d'une écorce gris clair à gris-brun foncé qui est profondément fissurée. La floraison se déroule en mai et la fructification se déroule entre septembre et octobre au cours de la deuxième année après pollinisation (Debazac, 1977).

Les feuilles sont des aiguilles raides, de 8 à 16 cm de long, de 1 à 2mm de diamètre, droites ou courbes, finement dentelées. Les cônes sont de couleur jaune-brun ou jaune clair et

brillant. Ils peuvent mesurer de 4-8 cm de longueur et 2-4 cm de largeur. Ces derniers renferment des graines grises de 5 à 7 mm de long qui portent une aile de 19 à 26 mm de long (Isajev *et al.*, 2003).



Figure 6 : Le Pin noir. A : Graines du Pin noir, B : Graine avec aile, C : Cônes du pin noir, D : Cônes ouverts.

1.5.3 Ecologie

Cette espèce caractérise préférentiellement l'étage montagnard méditerranéen. En méditerranée septentrionale, le pin noir se localise entre [560m-1500m] et entre [1100m-2000m] à la partie méridionale (Quezel, 1980).

En corse se situe entre 700m à 1800m (Asmani, 1993). Au Sud de la France entre [400m-1000m] (Debazac, 1991). Au Maroc entre [1300m-1700m] (Ben Abid, 1984). En Algérie, le Djurdjura (Mont tigounatine) il se trouve à une altitude qui varie entre [1450m-1600m].

En méditerranée orientale et en méditerranée occidentale le pin noir peut supporter des températures minimales (-8°C) et disparaissent pour les températures qui touchent à (-5°C) (Quezel, 1980).

1.6 La reproduction des espèces du Pin

Le pin d'Alep se reproduit en général vers l'âge de 8-12 ans (Boudy, 1950 ; Nahal, 1962), le pin pignon à l'âge de 8 à 20 ans (Adili, 2012) et le pin noir de 2 ans à 4 ans. Mais leur maturité sexuelle dépend des conditions du milieu. Leurs organes sexuels mâles et femelles sont séparés; espèces monoïque.

Les étapes de cycle de reproduction sont comme suit :

- **Ouverture des cônes mâles**

Les cônes mâles, sont très nombreuses et portées sur de nombreux rameaux. Ils déversent dans les airs une quantité énorme de pollen. Après avoir libéré leur pollen, les cônes mâles tombent (Sassoui, 2020).

- **Réception du pollen par les cônes femelles**

La grande quantité de pollen se rencontre avec les cônes femelles situés à l'extrémité des rameaux. Le nombre de graines que contient le cône de pin dépend par contre du succès de la pollinisation (Sassoui, 2020).

- **De la fleur au cône**

Il faudra deux années pour que la petite fleur femelle se transforme en un cône de pin mûr prêt à s'ouvrir. Au printemps on trouve sur les pins trois tailles des cônes, les petits cônes femelles de l'année à l'extrémité des rameaux, les cônes devenus fruits de l'année précédente, de taille moyenne, situés en dessous des fleurs, placés sur le côté. La distance entre les deux cônes illustre la croissance du rameau en une année (Sassoui, 2020).

- **Ouverture des cônes**

Arrivés à maturité, la chaleur fait ouvrir les cônes. Les graines qui portent une longue aile sont emportées par le vent et sont ainsi disséminées loin de l'arbre. Ces graines donnent naissance à une plantule qui peut alors devenir à son tour un arbre et le cycle recommence (Sassoui, 2020).

1.7 Intérêt médicinal des espèces du Pin

Les pins sont largement utilisés dans la pratique thérapeutique et pharmaceutique traditionnelle dans le monde (Schauenberg et Paris, 1977 ; Baba Aïssa, 1991). Ils sont connus comme remède pour plusieurs maladies, aussi connu pour leurs propriétés anti-

inflammatoires, antiviellissement, antinéoplasiques (Kadri *etal.*, 2015), antibactériennes (Sadou *etal.*, 2015), et aussi pour leurs propriétés anti-oxydantes (Dhibi *etal.*, 2014).

1.8 Intérêt économique des espèces du Pin

Le bois des espèces du pin est utilisé en construction, industrie, menuiserie, bois et pâte à papier, pour l'étayage des mines, la construction navale et la charpenterie (Lahouati, 2000). On extrait à partir du bois aussi par distillation du goudron de Norvège, à propriétés balsamiques et antiseptiques (Bouazza, 2013). Aussi, la résine (la gemme) des arbres de ces espèces contient 20 à 24 % d'essence de térébenthine et 75 à 80% de cellophane, elle a aussi des usages médicaux, ses bourgeons très résineux, sont utilisés comme balsamiques et diurétique (sirops et pastilles). Les graines de pin sont comestibles et utilisées en pâtisserie et confiserie ou peuvent être mangées crues en cassant leur coque (Bouazza, 2013).

2 La Cytogénétique

2.1 Définition de la Cytogénétique

La cytogénétique est une discipline qui fait le lien entre la cytologie et la génétique.

Cette discipline a pour objet l'étude de la structure et du fonctionnement normal et pathologique des chromosomes. Elle a activement contribué à la compréhension des mécanismes héréditaires et la nouvelle classification du monde végétal (taxonomie et phylogénie). Aussi, Elle participe à la connaissance du nombre de chromosome du matériel végétal utilisé, l'établissement des cartes génétiques, l'exploitation de la variabilité intra spécifique, interspécifique ou induite et l'amélioration des plantes (Jahier *etal.*, 1992).

2.2 Caryotype

Chaque espèce possède un complément chromosomique caractéristique qu'on appelle caryotype, qui représente « l'aspect phénotypique des chromosomes somatique » (Levitzky, 1931).

Le caryotype est le plus haut niveau d'organisation structurale et fonctionnelle du génome nucléaire. On peut en apprendre beaucoup sur les modes et les mécanismes de l'évolution du caryotype et sa signification pour la diversification et la spéciation en comparant les chromosomes de différents taxons (Weiss-Schneeweiss et Schneeweiss, 2013).

La constance du caryotype en termes de nombre et de structure des chromosomes

découle de la fiabilité de la réplication des chromosomes pour assurer la transmission fidèle du matériel génétique à la génération suivante. D'autre part, la variation du caryotype entraîne des changements évolutifs. Il existe deux grandes catégories de variation caryotypique : numérique (généralement causée par un dysfonctionnement du fuseau méiotique ou mitotique) et structurelle (généralement causée par des erreurs de crossing-over). Cependant, ces deux grandes classes sont interdépendantes et le changement évolutif réel du caryotype est souvent complexe, impliquant divers mécanismes (Weiss-Schneeweiss et Schneeweiss, 2013).

Les caractéristiques caryotypiques les plus courantes sont le nombre de chromosomes, la taille des chromosomes, la longueur du caryotype haploïde ou diploïde, la symétrie du caryotype et les positions des repères chromosomiques morphologiquement discernables, y compris la constriction primaire et secondaire. Le caryotype et ses caractéristiques peuvent être représentés schématiquement par un idiogramme ou un caryogramme (Levitzky, 1931).

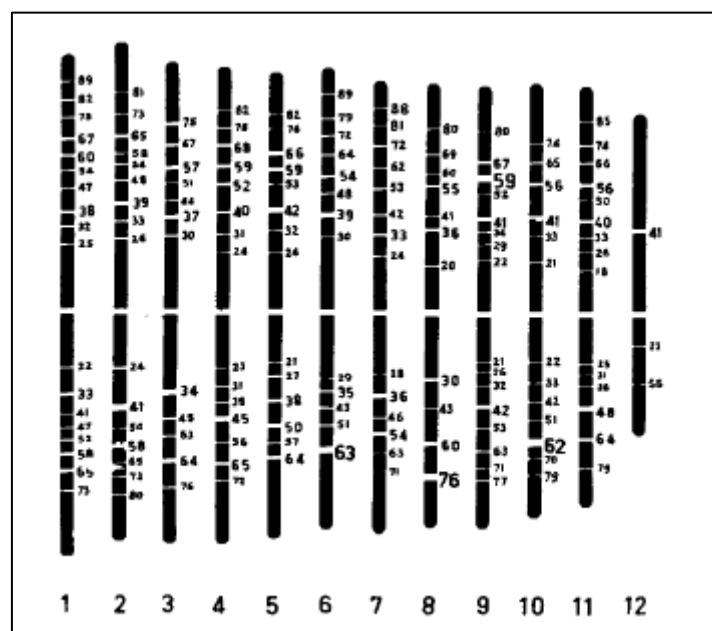


Figure 7 : Exemple d'un caryotype des chromosomes de *Pinus radiata* (Pederick, 1966).

2.3 La chromatine

L'ADN (l'Acide Désoxyribon Nucléique) existe sous forme de chromatine interphasique. En utilisant des colorants, des régions plus ou moins intensément colorées peuvent être affichées sur les chromosomes, reflétant le degré de condensation de la chromatine (Harry, 2001). On distingue :

1. L'euchromatine (chromatine diffuse)

Elle est constituée de chromatine décondensée durant l'interphase ce qui permet la transcription des séquences codantes qu'elle contient.

2. L'hétérochromatine (chromatine condensée)

Elle correspond à une zone fortement colorée qui reste condensée dans le noyau cellulaire durant l'interphase.

On distingue deux types d'hétérochromatine : (Dorkeld, 1994 ; Harry, 2001; Anthony *etal.*, 2002).

a. L'hétérochromatine facultative

C'est un état de condensation non permanent entraînant une inactivation des séquences codantes impliquées. (Différences dans le comportement de deux chromosomes homologues).

b. L'hétérochromatine constitutive

C'est un état de condensation permanent de certaines zones, affectant les deux chromosomes homologues. Elle est composée des séquences d'ADN moyennement ou hautement répétées riches en paires de bases GC et AT et se trouve dans des régions spécifiques notamment au niveau des centromères et des télomères (Harry, 2001).

2.4 Taille du génome

La taille du génome haploïde, exprimée en nombre de paires de bases (pb) ou en masse d'ADN (pg), montre des fluctuations importantes entre les espèces forestières et aussi une différence entre les gymnospermes (10-100.109 pb) et les angiospermes (0,2-1.109 pb); car la taille du génome des gymnospermes est classée parmi les plus grandes tailles connus. On peut trouver des génomes de grande taille chez les angiospermes aussi, ce qui fait que la grande taille du génome n'est pas forcément une caractéristique des arbres forestiers ou des gymnospermes (Prat *etal.*, 2006)

La taille du génome montre des variations interspécifiques, des fluctuations importantes sont remarquables dans des différentes publications de la même espèce. La taille peut aussi être considérée comme un élément de régulation de l'activité mitotique et de la taille des cellules (Cavalier-Smith, 1978). Cela fait que les fluctuations observées peuvent avoir une signification adaptative à des facteurs environnementaux. Donc, la taille du génome semble

fluctuer en fonction du tissu, de l'âge de l'arbre, de la date de prélèvement pour un même tissu végétal aussi bien pour des cellules interphasiques que pour des cellules en mitose (Prat *et al.*, 2006).

2.5 Les Chromosomes

Les chromosomes sont des structures en forme de bâtonnets faites de chromatine, visible dans les divisions cellulaires. Les gènes sont alignés dans un ordre fixe sur chaque chromosome, ce dernier porte une zone de construction primaire qui se définit comme le point de liaison des chromatides sœurs : le centromère. Selon Griffiths *et al* (2002), les chromosomes sont classés en trois groupes selon la position de leurs centromères (Chromosome télocentrique, Chromosome acrocentrique et Chromosome métacentrique).

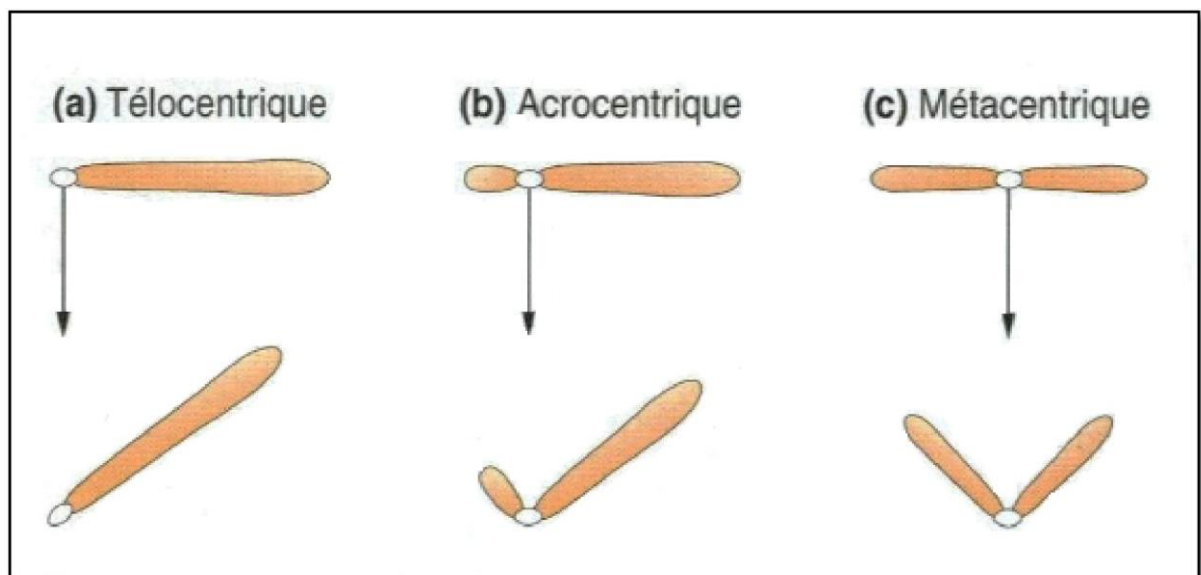


Figure 8 : Représentation schématique de quelques types des chromosomes (Griffiths *et al.*, 2002)

2.6 Techniques de cytogénétiques classiques

La cytogénétique classique est utilisée dans les laboratoires de recherches depuis plus de 50 ans et reste la principale méthode utilisée dans les laboratoires de cellules souches pour évaluer la stabilité génétique des cultures des cellules souches (Bates, 2011).

2.6.1 Coloration de Feulgen

La technique de coloration de Feulgen qui a été mise au point par le chimiste allemand Robert Feulgen, en 1924, permet de colorer les chromosomes, pour les observer au

microscope, en dissociant les deux brins d'ADN avec de l'acide chlorhydrique et les colorer ensuite avec de la fuschine. Les bandes colorées qui apparaissent ensuite, correspondent aux gènes, tandis que les bandes claires correspondent aux régions intergéniques (Crèvecoeur, 2022).

2.6.2 Coloration de Giemsa

Les colorations au Giemsa sont actuellement appliquées en bactériologie, cytogénétique, cytologie, hématologie, histopathologie et parasitologie (Wittekind, 1983; Barcia, 2007; Horobin, 2011), pour révéler le cytoplasme basophile, la chromatine, les granules cytoplasmiques orthochromatiques et métachromatiques et les nucléoles en différentes couleurs. Généralement, l'ADN chromatinien condensé (dans les noyaux et les chromosomes) donne lieu à une couleur violette (magenta), tandis que le cytoplasme basophile et les nucléoles contenant de l'ARN apparaissent en bleu (Wittekind, 1979 ; Horobin et Walter, 1987).

2.7 La cytogénétique moléculaire

La cytogénétique moléculaire est une nouvelle approche morphologique qui utilise à la fois les outils de la biologie moléculaire et de la cytogénétique (Nouha *et al.*, 2000).

Parmi les techniques utilisées actuellement est l'hybridation *in situ* fluorescente (FISH, de l'anglais *fluorescence in situ hybridization*) et Fluorochrome banding.

2.7.1 Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH)

La technique d'hybridation *in situ*, décrite pour la première fois à la fin des années 1960, permet de visualiser des sondes (séquences nucléotidiques marquées) sur des chromosomes, des cellules ou des tissus. Cette technique a été développée à l'origine pour identifier des régions importantes de gènes ou de chromosomes (Julian, 2010).

Cette technique qui permet une caractérisation rapide de l'aspect structural des chromosomes, son principe est basé sur l'hybridation efficace et spécifique de sondes d'ADN dénaturées *in situ* et marquée aux fluorochrome avec des séquences nucléotidiques complémentaires dans l'ADN des chromosomes à étudier (Kearney, 2001 ; Nouha *et al.*, 2000).

L'ADN chromosomique est partiellement purifié par traitement à l'ARNase et protéinase

K. et dénaturée par exposition à la formamide. L'ADN dénaturé peut ensuite être testé par hybridation *in situ* en ajoutant une solution contenant la sonde d'acide nucléique marqué recouverte d'une lamelle.

Selon la technique utilisée les bandes chromosomiques peuvent être observées avant ou après l'étape d'hybridation. (Kearney, 2001 ; Nouha *etal.*, 2000).

Le signal obtenu après avoir enlevé l'excès de sonde peut être corrélé au profil de chromosome afin de déterminer la localisation des séquences d'ADN reconnues par la sonde.

Le matériel le plus utilisé dans la FISH pour le caryotype (cartographie physique) des plantes sont les séquences ADNr 5S et 25S répétées en tandem, et qui sont spécifiquement répété près des télomères et centromères (Kato *etal.*, 2005). La FISH permet d'estimer le nombre de copies de gènes ribosomiques de ces séquences, ce qui fait d'elle une technique qualitative et quantitative.

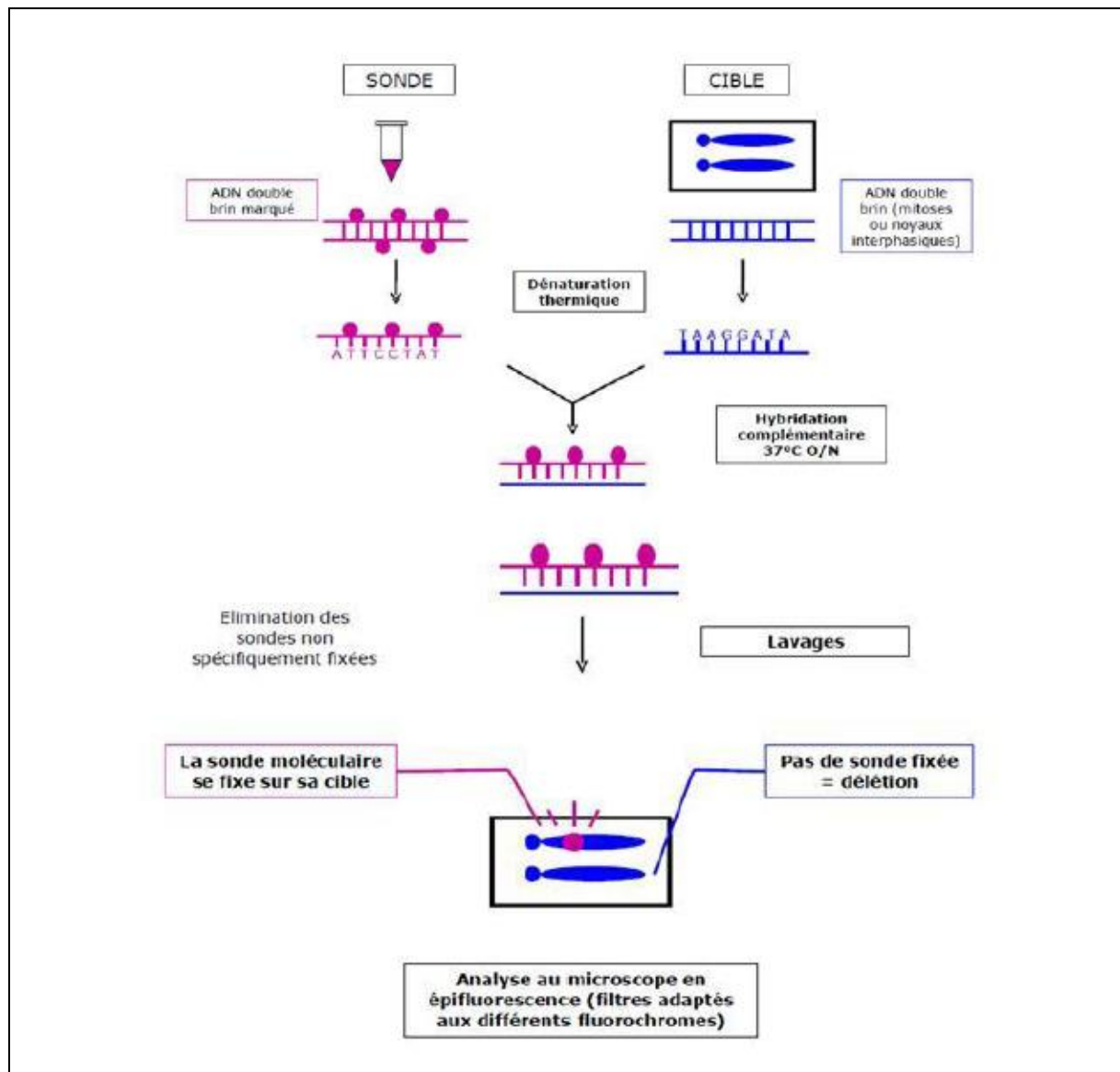


Figure 9: Principe de l'Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH) (Cordier-Courel, 2010).

2.7.2 Le fluorochrome banding

Les chromosomes représentent une variation considérable de taille et de contenu en ADN, et leur composition de base peut varier: riches ou pauvres en gènes ceux-là ont un pourcentage élevé soit en bases GC ou AT respectivement. Ces différentes régions se disposent différemment sur les chromosomes, d'où la nécessité d'appliquer des colorations et le bandings pour les marquer et établir le caryogramme qui est une représentation de la totalité des bandes chromosomiques (Siljak-Yakovlev S et al., 2013).

Les bandes reflètent des variations de la structure longitudinale des chromatides et permettent de différencier les chromosomes de manière plus précise.

Différents traitements impliquant la dénaturation et la digestion enzymatique de la chromatine, puis l'incorporation de colorants spécifiques de l'ADN pour faire apparaître sur les chromosomes mitotiques une succession de bandes colorées et sombres. (Benblkacem, 2011)

- **Chromomycine A3**

Colorant utilisé pour le marquage des chromosomes, qui est à l'origine un anticorps qui se lie préférentiellement aux régions d'ADN riches en GC, il produit une forte fluorescence avec l'hétérochromatine riche en GC incluant l'hétérochromatine associée aux organisateurs nucléolaires dans beaucoup d'espèces (Summer, 1994).

- **DAPI**

Di-Amino-Phénol-Indol colore les régions riches en séquence AT il est utilisé dans cette technique pour le marquage de l'hétérochromatine constitutive non spécifique (Benblkacem, 2011).

2.8 Etude moléculaire et phylogénétique :

Les conifères modernes comprennent sept grandes familles : *Araucariaceae*, *Cephalotaxaceae*, *Cupressaceae*, *Podocarpaceae*, *Pinaceae*, *Sciadopityaceae*, et *Taxaceae* (Stewart et Rothwell, 1993). L'évolution des *Pinaceae* est mal connue avant la transition jurassique supérieur/Crétacé inférieur, du fait d'une faible préservation des fossiles macrorestes et pollen ; (Rothwell *et al.*, 2012). A partir du Crétacé inférieur, les *pinaceae* peuplent très rapidement les aires terrestres qui se situent entre les moyennes et hautes latitudes de l'hémisphère nord (Liu et Basinger, 2000).

Les relations phylogénétiques entre ces familles des conifères ont été beaucoup étudiées depuis la fin du 19ème siècle sur la base des comparaisons morphologiques des feuillages, des organes reproducteurs et aussi du mode de pollinisation (Saxton, 1913 ; Florin, 1951 ; Hart, 1987 ; Page, 1990 ; Miller Jr, 1999). Cette classification a été confirmée par Stefanoviac *et al.* (1998) via l'analyse des séquences d'ARNr 28S.

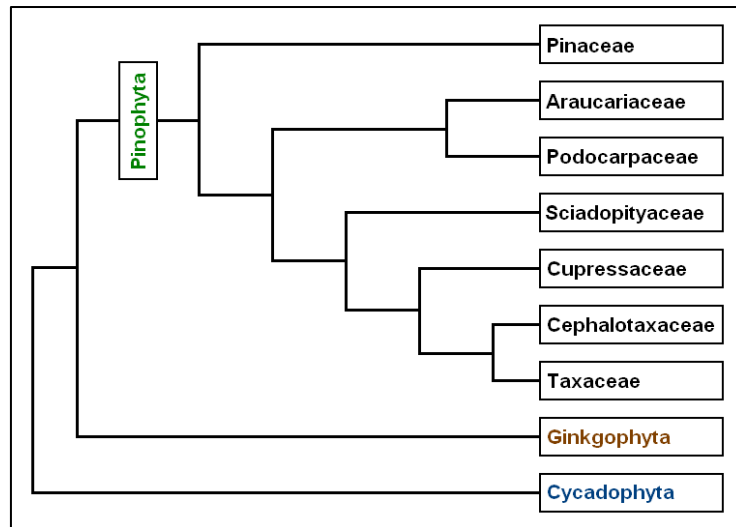


Figure 10: Phylogénie du Pinophyta basée sur l'analyse cladistique de données moléculaires (Farjon *et al.*, 2003).

En ce qui concerne le côté moléculaire, de nombreuses études ont portées sur la composition moléculaire des conifères ont démontré l'importance qu'avaient les terpénoides en chimiotaxonomie (les terpénoides sont des métabolites secondaires lipidiques). Ces composés sont bien souvent synthétisés par les conifères car ils sont les composés majeurs des résines végétales et des huiles essentielles (Otto et Wilde, 2001).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

3 Matériels et méthodes

3.1 Origine géographique des espèces étudiées

Les 03 espèces du Pin (*Pinus halepensis* Mill, *Pinus pinea* L. et *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*) ont été récoltées dans trois wilayas Bouira, Blida et Alger respectivement.



Figure 11: Répartition géographique des espèces étudiées (Google Earth, 2022).

3.2 Récolte des cônes du Pin

Les cônes du pin d'Alep ont été récupérés dans la wilaya de Bouira, au niveau des régions d'Ain El Turk et Tikjda le 09/03/2022. Les cônes du pin pignon ont été récupérés le 09/03/2022 au niveau de la région d'Ain El Turk, wilaya de Bouira aussi.

Les cônes du Pin Noir ont été retrouvés dans la région de Tala Rana au niveau de la wilaya de Bouira.

Pendant le processus de la récolte, on a récolté des cônes avec des écailles qui ne sont

pas complètement ouvertes, car leur ouverture signifie probablement la libération de leurs graines

3.3 Récolte des boutons floraux

On a échantillonné les boutons floraux du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) et du pin pignon (*Pinus pinea* L.) au niveau de la forêt d'Ain El Turk-Bouira et la forêt de Bouchaoui à Alger.

Ces boutons floraux ont été mis d'une façon immédiate dans des flacons contenant la solution du fixateur (Ethanol, chloroforme et acide acétique à raison de 6V: 3V: 1V). Chaque flacon porte une étiquette sur laquelle le nom de l'espèce, station, date et heure de fixation sont respectivement mentionnés.

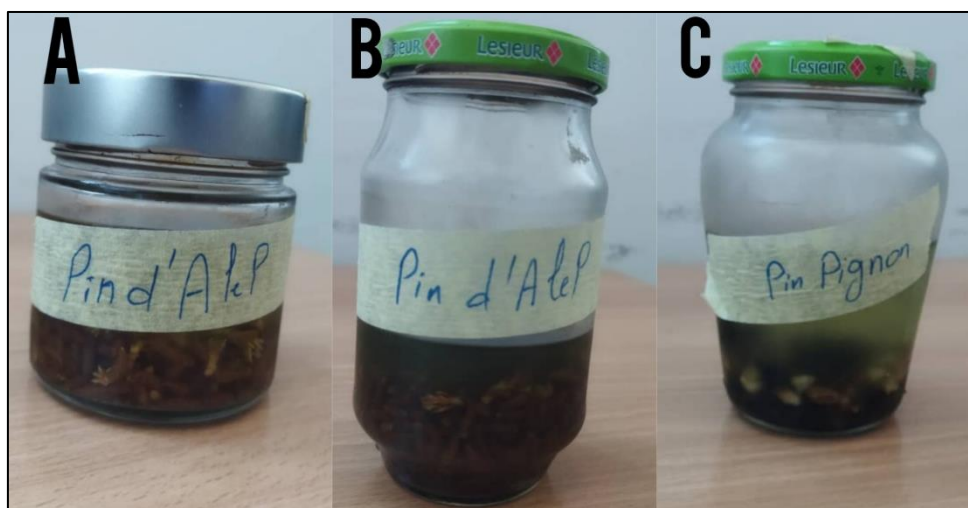


Figure 12: Les boutons floraux des trois espèces. A : Boutons floraux du pin d'Alep d'Alger, B : boutons floraux du pin d'Alep de Bouira, C : boutons floraux du pin pignon de Bouira.

3.4 Récupération des graines

Les graines des trois espèces *Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L. et *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica* ont été récupérées à partir des cônes repartis sur une surface sèche et exposés au soleil.

Les graines récupérées de chaque espèce ont été stockées dans des flacons contenant de la silice, chaque flacon porte une étiquette avec les informations adéquates.

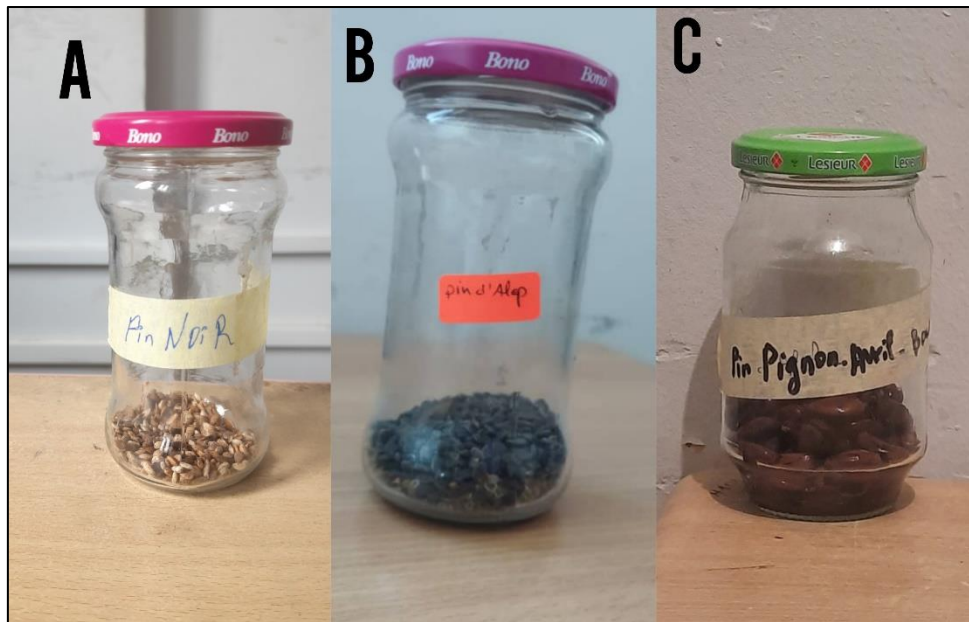


Figure 13 : les graines des trois espèces. A : Graines du pin noir, B : Graines du pin d'Alep, C : Graines du pin pignon

3.5 Mise à germination des graines

Ce protocole de germination a été inspiré par (Radford, 2007) et modifié. On a préparé trois flacons remplis d'eau, un pour chaque espèce, on a ensuite mis les graines dedans pour 72h. On a utilisé l'eau à température ambiante, cela c'était pour tester l'utilité des graines et aussi pour les faire pousser, car les graines pleines et viables devraient plonger lentement vers le fond du conteneur et celles qui sont vides et inutilisables flotteront à la surface (Figure 15).

Après 72h, les graines du pin d'Alep et celles du pin Noir ont été limées puis transférées directement sur un papier absorbant, qu'on a ensuite mis dans des boîtes de Pétri et on les a imbibé d'eau afin de passer à la germination des graines (Figure 15).

Pour les graines du pin Pignon, on a cassé les coquilles avec prudence pour ne pas abimer les graines, puis on les a transférées sur du papier absorbant, on les a mis dans des boîtes de pétri en ajoutant de l'eau pour lancer la germination (Figure 15).

La période de germination du Pin d'Alep a été de 10 à 21 jours et celle du Pin Pignon a duré deux mois.

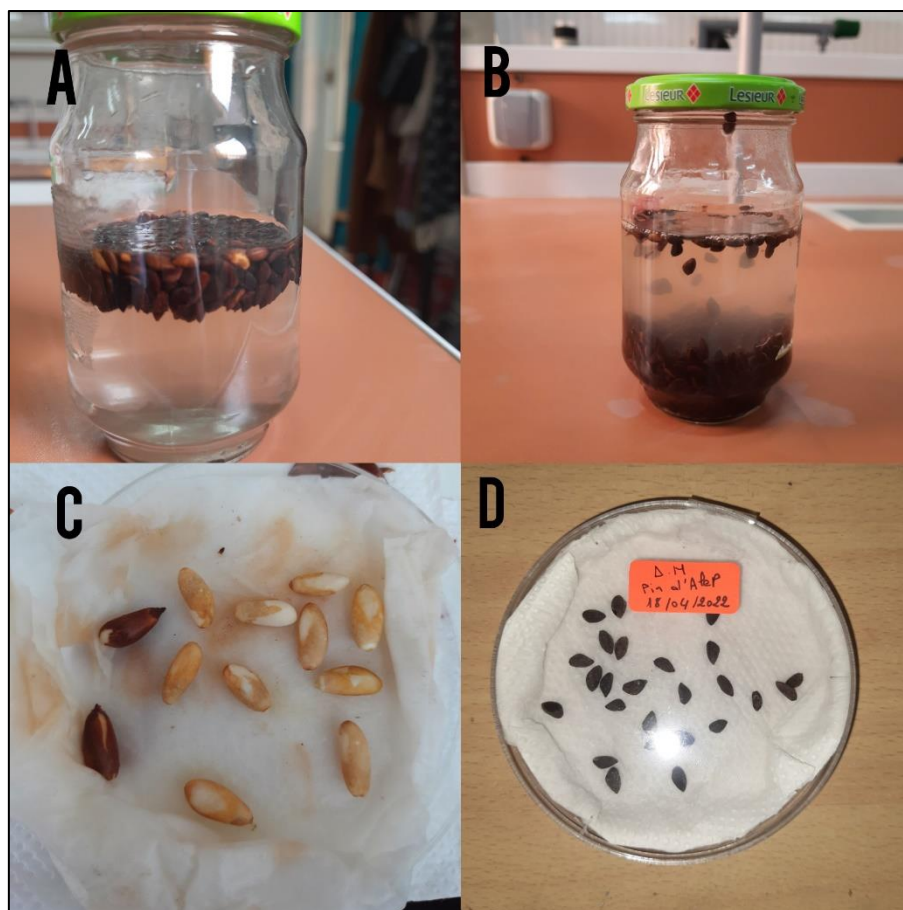


Figure 14 : Lancement du processus de germination des graines du Pin. A : Les graines du pin d'Alep dans l'eau, B : Les graines vides qui flottent, C : Graines du Pin pignon, D : Graines du Pin d'Alep

3.6 Techniques d'études

Les espèces ont fait l'objet de deux volets d'études: une étude morphométrique et une étude cytogénétique.

3.6.1 Etude morphométrique

L'étude a été réalisée sur les trois espèces du pin (*Pinus halepensis* Mill, *Pinus pinea* L. et *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*). Les caractères morphologiques ont été choisis d'une façon à couvrir le maximum de la morphologie des arbres et des cônes de chaque espèce. En tout, 16 caractères (quantitatifs, qualitatifs) ont été étudiés pour chaque espèce (Tableau 2)

On a récolté les cônes contenant des graines. Les différentes mesures ont été réalisées sur chaque échantillon séparément afin d'éviter toute confusion.

a. Les caractères analysés

Nous avons sélectionné 16 caractères morphologiques à analyser, qui ont été choisis d'une façon à couvrir le maximum de la morphologie de l'arbre, dont 08 caractères quantitatifs et 08 qualitatifs (Tableau 2).

Les mesures de la hauteur et de la taille d'arbre ont été effectuées *in situ*. Les caractères quantitatifs numérotés 04 et 05 ont été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse électrique ainsi, les caractères de 03, 06 et 07 ont été mesurés avec le logiciel Fiji. Enfin, le dernier caractère (08) a été mesuré à l'aide d'une balance électrique (Figure 16).



Figure 15: La mesure des caractères quantitatifs. A : Pied à coulisse, B : Balance électrique, C : Mesure de la longueur du cône du pin pignon, D : Mesure de la longueur du cône du pin d'Alep, E : Mesure de la longueur du cône du pin noir, F : Mesure du diamètre

Les caractères morphologiques analysés sont présentés dans le tableau ci dessous.

Tableau 2: Les caractères morphologiques analysés sur les espèces de *Pinus* étudiée

Caractère quantitatif	Caractère qualitatif
1. Hauteur d'arbre	01. Couleur de tronc
2. Diamètre de tronc	02. Couleur de tige
3. Longueur de feuille	03. Couleur de feuille
4. Longueur de cône	04. Couleur de cône
5. Diamètre de cône	05. Couleur de graine
6. Longueur de graine	06. Forme de feuille
7. Diamètre de graine	07. Forme de cône
8. Mesure de poids des cônes	08. Forme de graine

3.6.2 Etude cytogénétique

a. Préparation du fixateur

Le fixateur assure un arrêt rapide des divisions cellulaires sans détruire la structure chromosomique et permet aux cellules de résister aux manipulations, comme il assure une bonne conservation du matériel végétal pour une longue période (4°C, à l'obscurité) (Jahier *etal.*, 1992).

Les boutons floraux ont été fixées *in situ* dans des flacons remplis de fixateur de type Carnoy II à base de 6 volumes d'éthanol, 3 volumes de chloroforme et 1 volume d'acide acétique (Love et Love, 1975 ; Jahier *etal.*, 1992).

b. Préparation du colorant Orcéine lacto-propionique

La coloration des chromosomes améliore leur visibilité et facilite la séparation des cellules. Le colorant utilisé est à base d'orcéine lacto-propionique.

Le colorant est préparé selon Dyer (1963) et modifié selon Löve et Löve (1975).

Dans un grand erlenmeyer, on dissout 2g d'orcéine dans 23ml d'acide propionique et 23ml d'acide lactique, ensuite on ajoute de l'eau distillée jusqu'à 100ml et on agite bien la solution puis on filtre. Ainsi, La solution d'orcéine obtenue se conserve longtemps dans un flacon en verre fumé.

c. Techniques d'étude des mitoses

a. Préparation des échantillons

On a pris les graines qui présentaient des racines (Figure 17), on a mis le matériel sur une lame bien propre et à l'aide d'un scalpel on a coupé environ 1cm de racine à 12 heures jusqu'à 13 heures pour le Pin d'Alep et de 11 heures jusqu'à 12 heures pour le Pin Pignon.

b. Hydrolyse acide

L'utilisation de l'hydrolyse nous permet de ramollir la paroi cellulaire pour une observation plus claire du cytoplasme. Les racines récupérées ont été recouvertes d'une goutte d'HCl (1N) et hydrolysées à froid (Figure 17) entre 5 à 7 minutes pour le Pin d'Alep entre 10 à 15 minutes pour le Pin Pignon.

c. Coloration

Après élimination de l'HCl avec du papier absorbant, on a récupéré la coiffe à l'aide d'un scalpel et la loupe binoculaire (Figure 17). La coloration a été réalisée en ajoutant une goutte d'orcéine lacto propionique à une température ambiante pendant 3 à 4 minutes pour le Pin d'Alep et entre 5 à 7 minutes pour le Pin Pignon afin que le colorant s'infilte bien dans les cellules. Ensuite, on a recouvert la lame avec une lamelle et exercé une légère pression afin d'écraser la coiffe et faire sortir les cellules mères en prenant soin que la lamelle ne se déplace et ne se casse pas.

d. Observation

L'observation des mitoses est réalisée sous microscope optique (Optica B-353A) (Figure 17). L'amas des cellules de la coiffe écrasée est détecté à l'aide d'un objectif à faible grossissement (X 10) puis au grossissement (X 40) pour une visualisation plus claire ; le grossissement (X 100), nous a permis de bien visualiser les différentes phases de la division cellulaire.

Les préparations réussies sont conservées en appliquant du vernis à ongles transparent sur les bords de la lamelle avec les informations adéquates.

e. Photographie

Les lames sont prises en photo à l'aide de l'appareil photo intégré sur le microscope optique (Optica B-353A) (Figure 17). On les a ensuite traité avec le logiciel du même microscope, afin d'améliorer la visualisation et ajouter la légende et l'échelle. A la fin, un dossier spécifique a été créé pour conserver l'ensemble des résultats.

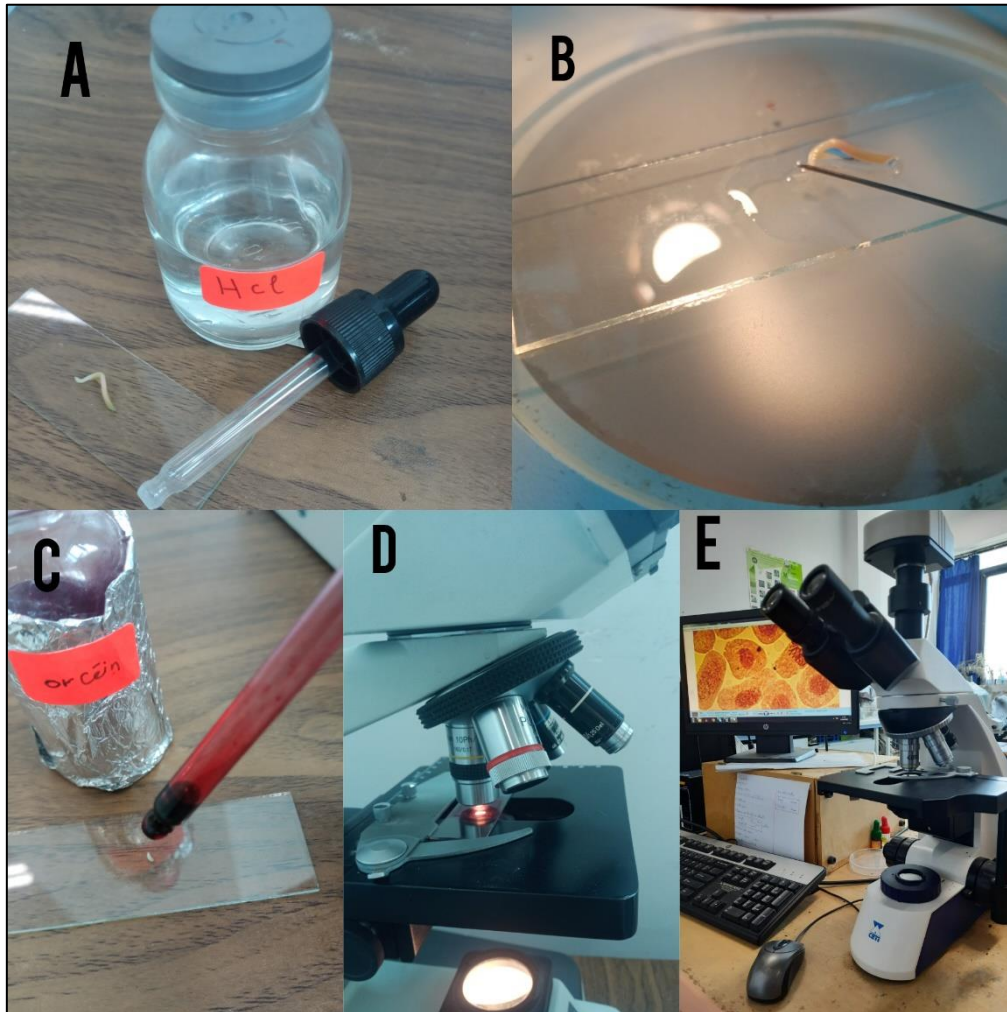


Figure 16: Matériel utilisé durant l'expérimentation cytogénétique. A: Matériel végétale (racine des Pins) et l'hydrolyse à froid, B: coupure de la coiffe sous la loupe binoculaire, C : coloration avec l'orceine, D : observation sous microscope optique, E : Photographie les lames

3.6.3 Etude de la fertilité pollinique

La technique utilisée pour étudier la fertilité pollinique a été inspirée du protocole de Mertens et Hmnersmith (1998). On a placé les cônes males sous une lame, ensuite on a disséqué les sacs polliniques qui se trouvent à l'intérieur à l'aide des aiguilles et des pinces.

Après dissection des sacs polliniques pour faire sortir les grains de pollen, on laisse sécher la lame un peu, puis on ajoute une goutte de bleu de coton et on recouvre la lame avec une lamelle sans exercer une pression extérieure (Figure 18). On a laissé les lames pour 24h pour mieux colorer les grains de pollen, la lame est ensuite placée sous microscope optique pour observation. Les résultats montrent que les grains de pollen colorés d'un bleu foncé sont considérés fertiles et ceux non colorés et transparent sont considérés autant que stériles.

On a compté entre 400 à 600 grains de pollen pour chaque cône male.

Le taux de fertilité pollinique est calculé comme suit :

$$\text{TF} = \text{N} / (\text{N} + \text{AN}) \times 100.$$

TF : Taux de fertilité pollinique

N : Nombres de grains de pollen normaux (fertiles).

AN : Nombres de grains de pollen anormaux (stériles).

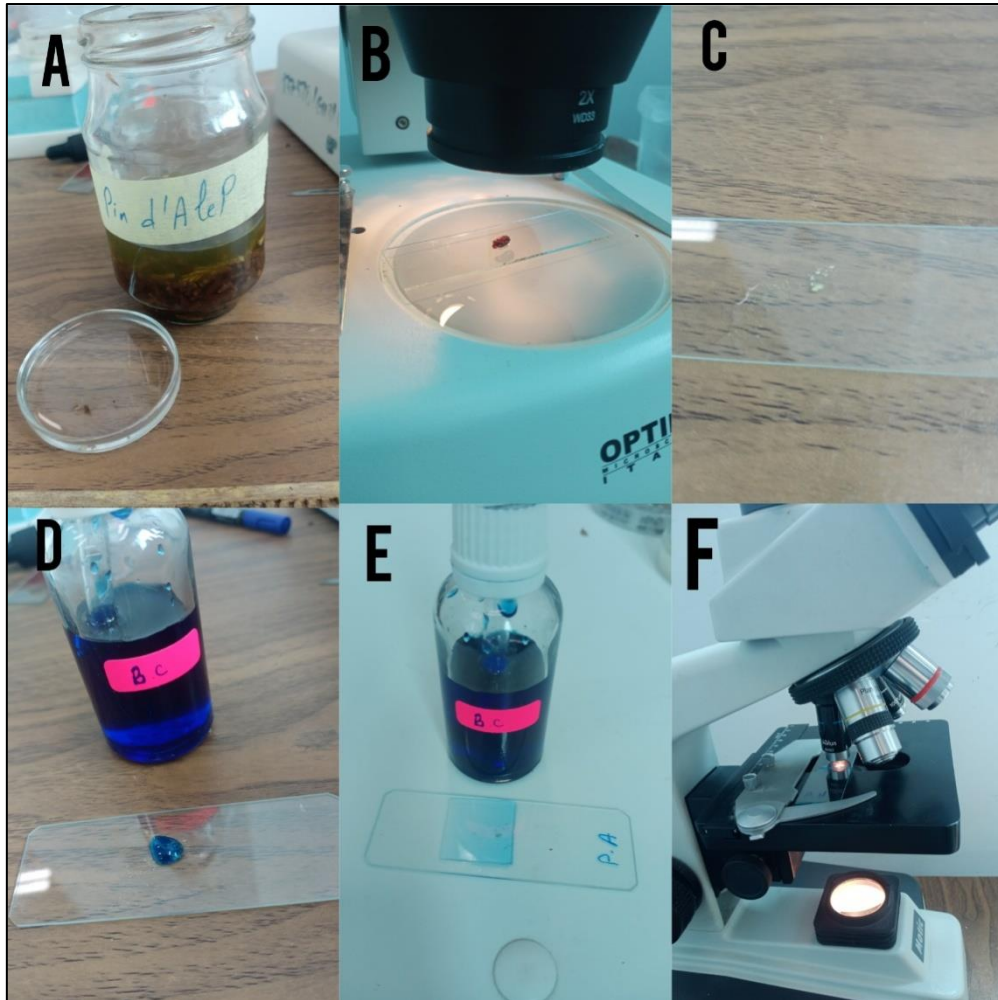


Figure 17 : les étapes de l'étude de la fertilité pollinique. A : Préparation de l'échantillon, B : Dissection des sacs polliniques, C : Séchage, D : Coloration avec Bleu de coton, E : Laisser le colorant pénétrer, F : Observation.

3.6.4 Etude des Ovules

a. Récolte des cônes

On a récolté des cônes du pin d'Alep qui sont jugés comme cônes non mature. Ces cônes ont été récupérés au niveau de l'université Abderrahmane Mira wilaya de Bejaia.

Ces cônes ont été stockés dans des flacons contenant la solution du fixateur (Ethanol, chloroforme et acide acétique à raison de 6V: 3V: 1V) (Figure 19).

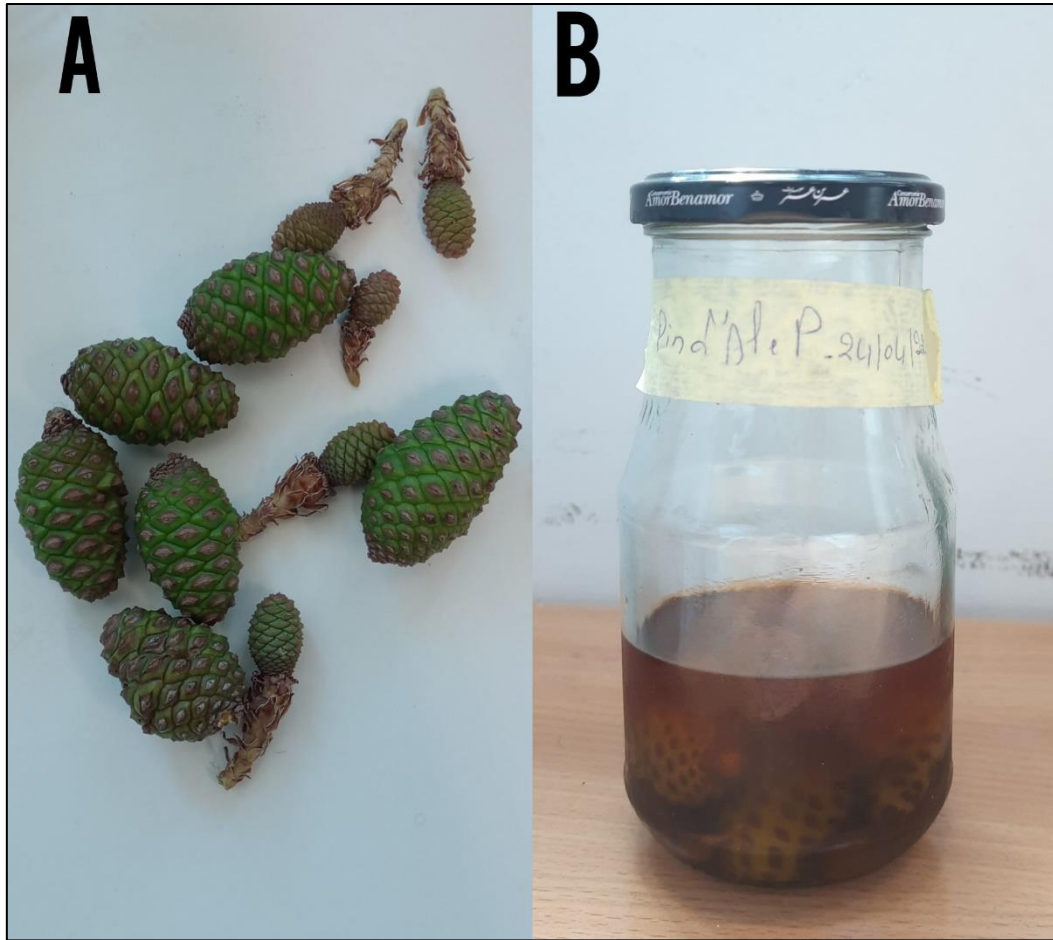


Figure 18: Le matériel végétal de l'étude des ovules. A : Les cônes du pin d'Alep non mature, B : Stockage des cônes dans le fixateur.

b. Préparation des échantillons

On a pris le cône du pin, on l'a mis dans un flacon contenant un peu de l'eau, puis à l'aide d'un scalpel et d'une pince on a ouvert les écailles afin de dévoiler les ovules pour les étudier (Figure 20).

c. Hydrolyse

Les ovules récupérés ont été recouverts d'HCl (1N) et hydrolysés à froid entre 7 à 10 minutes (Figure 20).

d. Coloration

L'HCl a été éliminé avec du papier absorbant et puis la coloration a été réalisée en ajoutant une goutte d'orcéine lactopropionique à une température ambiante pendant 3 à 5 minutes afin que le colorant s'infilte bien dans les cellules (Figure 20).

Ensuite, on a recouvert la lame avec une lamelle et exercé une légère pression afin d'écraser les ovules et faire sortir les cellules mères en prenant soin que la lamelle ne se déplace et ne se casse pas (Figure 20).

e. Observation

L'observation est réalisée sous microscope optique (Optica B-353A). L'amas de cellules de la coiffe écrasée est détecté à l'aide d'un objectif à faible grossissement (X 10) puis au grossissement (X 40) pour une visualisation plus claire; le grossissement (X100), nous a permis de bien visualiser les cellules (Figure 20).

Les préparations sont conservées en appliquant du vernis à ongles transparent sur les bords de la lamelle avec les informations adéquates.

f. Photographie

Les lames sont prises en photo à l'aide de l'appareil photo intégré sur le microscope optique (Optica B-353A). On les a ensuite traitées avec le logiciel du même microscope (Figure 20).

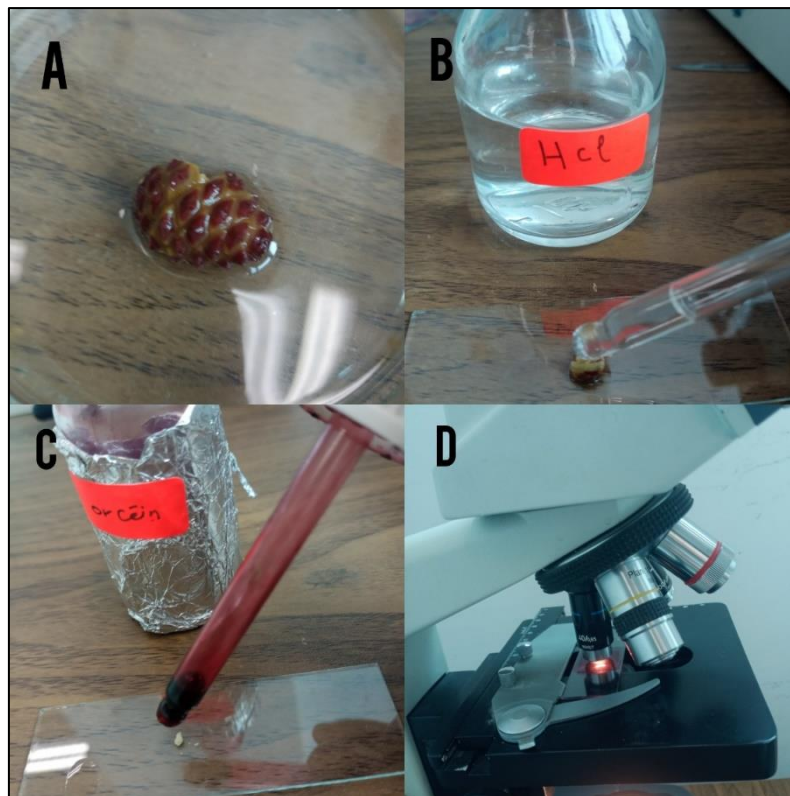


Figure 19: Les étapes réalisées durant l'étude des ovules. A : Préparation de l'échantillon, B : Hydrolyse à froid, C : Coloration avec de l'orceine, D : Observation.

Chapitre III : Résultats et Discussions

4 Résultats et discussion

4.1 Résultats

4.1.1 Germination

La germination des graines du Pin d'Alep limées était plus rapide que celle des graines non limées. Pour le Pin Pignon, la germination a duré deux mois. Les graines sans coque imbibées d'eau ont montré une capacité de germination plus rapide que celles avec des coques imbibées d'eau (Figure 21).

Les graines du Pin Noir ont eu des difficultés lors du processus de germination ce qui fait que la germination n'a pas été réussie.



Figure 20: Les graines des pins germés. A : Graines du pin d'Alep, B : Graines du pin pignon.

4.1.2 Morphométrie des trois espèces du Pins

Les 16 caractères morphologiques étudiés sur les trois espèces de *pinus*, dont 08 caractères quantitatifs et 08 qualitatifs, sont consignés dans les tableaux

a. Pin d'Alep

Pinus halepensis Mill. est présent dans différentes régions en Algérie (Ain El Turk, Tikjda, Bejaïa). C'est un arbre d'une hauteur qui est approximativement équivalente d'une région à une autre ; celle d'Ain El Turk est de 6,7 à 14,6 m de hauteur et de 19,3 à 38,2 cm de diamètre, 7 à 15,9 m de hauteur et 20 à 37 cm de diamètre pour celui de Tikjda et de 6,5 à 15,7 m de hauteur et 19 à 35,2cm pour celui de Bejaïa. Ses feuilles sont des aiguilles fines vert clair, longues de 4 à 12 cm. Cette espèce présente des cônes verts à brun rougeâtre de 54 à 94mm de longueur et de 27 à 44mm de largeur pour ceux de Tikjda, 22 à 76mm de longueur et 15 à 30mm de largeur pour ceux de Ain El Turk et 47 à 87mm de longueur et de 20 à 36mm de largeur pour ceux de Bejaïa. Ces cônes renferment des ailes qui portent des graines noires allongées et presque droites des deux côtés (Tableau 03).

Tableau 3 : les caractères morphométrique quantitatifs et qualitatifs du Pin d'Alep des trois régions

Pin d'Alep – Station Tikjda			
Caractères quantitatifs			
Caractère	Min	Max	Moy±ET
Hauteur d'arbre (m)	7	15,9	11,94±2,78
Diamètre de tronc (cm)	20	37	26,75±5,33
Longueur de feuille (cm)	4,5	12,3	8,77±2,21
Longueur de cône (mm)	54,45	94,67	72,02±9,67
Largeur de cône (mm)	27,83	44,66	32,92±3,86
Longueur de graine (mm)	3,5	9	6,28±1,52
Largeur de graine (mm)	2,25	6,2	4±1,09
Mesure de poids des cônes (g)	15,22	56,24	32,86±10,95
Pin d'Alep-Station Ain El Turk			

Caractères quantitatifs			
Caractère	Min	Max	Moy±ET
Hauteur d'arbre (m)	6,7	14,6	10,32±2,77
Diamètre de tronc (cm)	19,3	38,2	27,11±5,33
Longueur de feuille (cm)	4,65	12,65	8,72±2,47
Longueur de cône (mm)	22,48	76,15	48,39±10,25
Largeur de cône (mm)	15,05	30,7	23,05±4,40
Longueur de graine (mm)	8,4	16,66	12,24±2,36
Largeur de graine (mm)	1,5	6,55	4±1,4
Mesure de poids des cônes (g)	4,4	46,23	25,76±8,89
Pin d'Alep-Station Bejaia			
Caractères quantitatifs			
Caractère	Min	Max	Moy±ET
Hauteur d'arbre (m)	6,5	15,7	11,12±2,93
Diamètre de tronc (cm)	19	35,2	24,17±5,06
Longueur de la feuille (cm)	4,78	12,45	9,21±2,36
Longueur de cône (mm)	47,17	87,9	65,98±10,47
Largeur de cône (mm)	20,8	36,35	28,17±4,16
Longueur de graine (mm)	8,45	16,8	13,12±2,4
Diamètre de graine (mm)	2,43	6,55	4,38±1,23
Mesure de poids des cônes (g)	6,06	35,95	23,14±8,75

Caractères qualitatifs	
Couleur d'écorce	gris argent
Forme de tige	Tortueuse
Couleur de feuille	Vert claire
Couleur de cône	vert à brun rougeâtre
Couleur de graine	Noir
Forme de feuille	aiguilles fines
Forme de cône	Ovoïde, allongé
Forme de graine	aile allongée et presque droite des deux côtés.

b. Pin Pignon

Pinus pinea L. est une espèce qui se présente dans la région d'Ain El Turk à Bouira. Cette espèce est un arbre de 10 à 20m de hauteur et de 19 à 39m de largeur (diamètre). L'arbre présente une écorce brun noirâtre ou grise. Les feuilles sont aiguilles vert foncé, longues de 5 à 14cm. Ses fleurs femelles se développent sous forme des cônes bruns lustrés large de 80 à 200mm et de 19 à 30mm de largeur. Les cônes renferment des graines comestibles grosses et globuleuses de 14 à 24mm de longueur et de 7 à 12mm de largeur. Ces graines renferment une amande comestible d'une couleur Blanche (Tableau 04).

Tableau 04: les caractères morphométrique quantitatifs et qualitatifs du Pin Pignon

Caractères quantitatifs			
Caractère	Min	Max	Moy±ET
Hauteur d'arbre (m)	10,1	20,3	14,44±3,23
Diamètre de tronc (cm)	19,4	39,2	24,87±6,08
Longueur de feuille (mm)	5	14,65	10,5±2,61

Longueur de cône (mm)	80,24	263,59	137,68±51,9
Largeur de cône (mm)	56,9	140,18	81,73±17,55
Longueur de graine (mm)	14,11	24,58	18,27±3,04
Diamètre de graine (mm)	7	12,67	10,22±1,42
Mesure de pois des cônes (g)	82,09	284,5	180,72±57,81
caractères qualitatif			
Forme et couleur d'écorce	Craquelée et de couleur variable, brun noirâtre ou plus grise.		
Forme de tige	Lisse		
Forme et couleur de feuille	Aiguilles vert foncé groupées par 2		
Couleur de cône	bruns lustrés		
Couleur de graine	Noire		
Forme de feuille	aiguilles persistantes		
Forme de cône	Grosses globuleuses		
Forme de graine	grosse comestible avec une coque dure.		

c. Pin Noir

Pinus nigra Arnold ssp. *mauretanica* est un arbre qui se présente dans la région de Tala Rana à Bouira. Les cônes de cette espèce sont d'une forme ovoïde d'une couleur jaune claire à un jaune brune. Ces derniers sont de 36 à 63mm de longueur et de 19 à 30mm de largeur. Les cônes renferment des ailes qui portent des graines grises noirâtre allongées, qui font de 8 à 12mm de longueur et de 2 à 4mm de largeur (Tableau 05).

Tableau 5: les caractères morphologique quantitatifs du Pin Noir.

Caractères quantitatifs			
Caractère	Min	Max	Moy±ET
Longueur de cône (mm)	36,56	63,24	51,09±6,06
Largeur de cône (mm)	19,38	30,86	25,36±2,81
Longueur de graine (mm)	8,89	12,15	10,61±0,91
Largeur de graine	2,1	4,93	3,36±0,83
Poids des cônes (g)	6,99	23,5	15,17±4,69
Caractères qualitatifs			
Couleur de cône	jaune-brun ou jaune clair		
Couleur de graine	Gris noirâtre		
Forme de cône	Ovoïde		
Forme de graine	aile allongée et presque droite des deux côtés.		

4.1.3 Cytogénétique des trois espèces du Pin

a. Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.)

a. Analyse de la mitose

L'analyse de la mitose portée sur les racines des graines du Pin d'Alep a montré dans la plupart des cas une séparation insuffisante des chromosomes, ce qui a rendu le comptage des chromosomes presque impossible dans ce cas, toutes les phases de la mitose ont été observées (Figure 22).

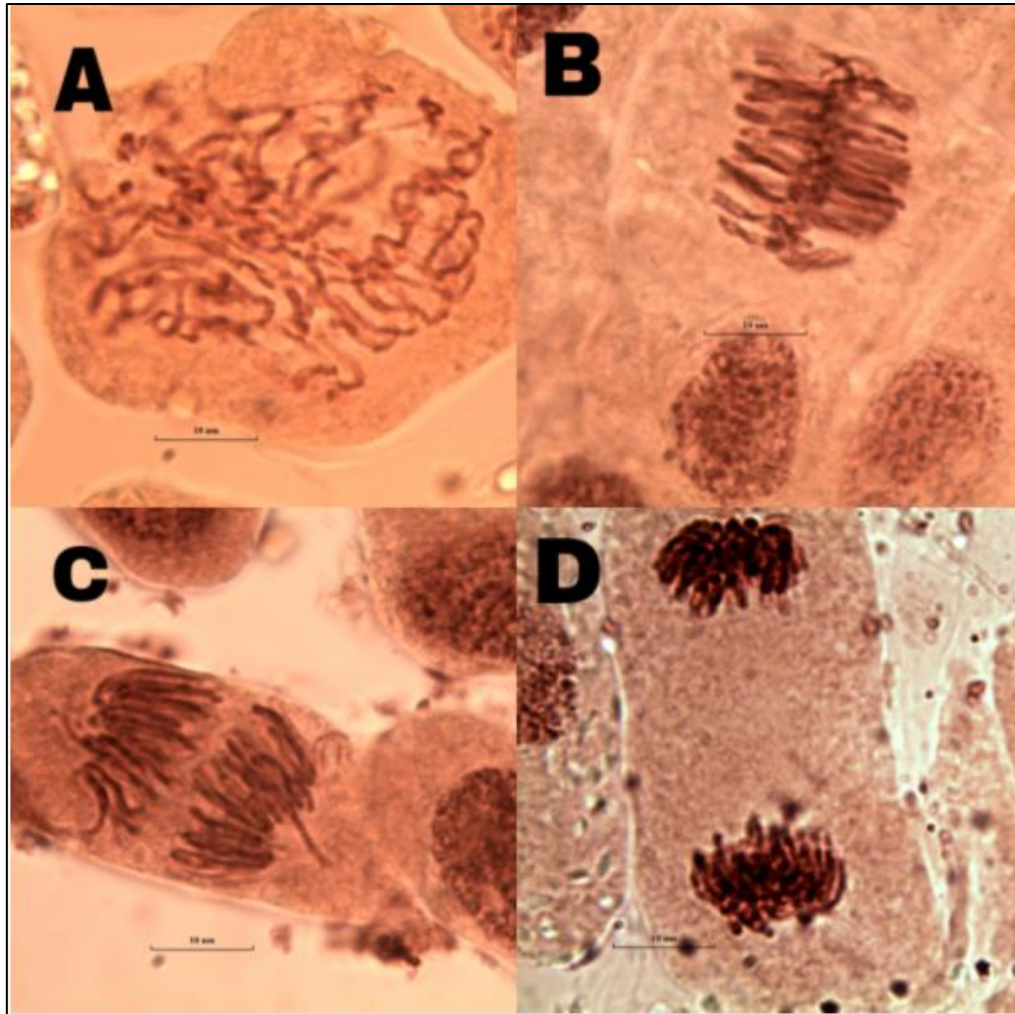


Figure 21: Les différentes phases de la mitose A : Prophase B : Métaphase C : Anaphase D :
Télophase. (Grossissement X100). Echelle : 10µm.

b. Etude de la fertilité Pollinique

L'étude de la fertilité pollinique a été réalisée sur deux échantillons de l'espèce *Pinus halepensis* Mill. de différentes wilayas (Alger et Bouira). Ceci est présenté dans le tableau 11.

Tableau 4: Fertilité Pollinique de *Pinus halepensis* Mill.

Espèce	Taux de fertilité pollinique (%).	Région	Nombre des fleurs étudiées
<i>Pinus halepensis</i> Mill. (Pin d'Alep)	85,25 %	Bouira	10
	43,99 %	Alger	

La fertilité pollinique de l'espèce analysée de la wilaya de Bouira est très élevée, elle est de 85,25% et très basse pour celle de la wilaya d'Alger 43,99%.

- **Les grains de pollen**

Les grains de pollen de *Pinus halepensis* Mill. Sont anémochores possédant deux ballonnets plus ou moins volumineux, symétriquement placés de chaque côté du grain. Les grains de pollen fertiles sont de forme régulière et bien colorés (bleu foncé) (Figure 23) tandis que les grains stériles possèdent une couleur d'un bleu clair ou bien pas colorés du tout (Figure 23).

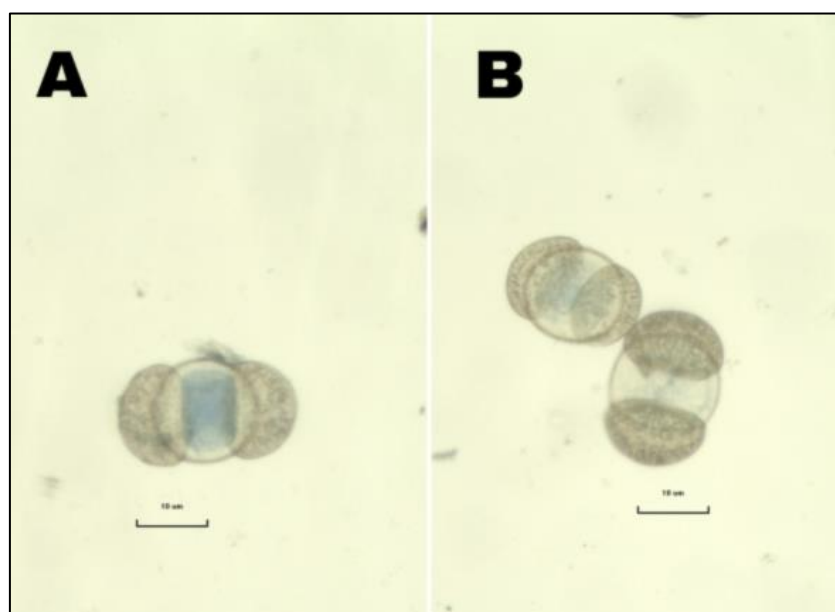


Figure 22: Les grains de Pollen Fertiles et stériles du Pin d'Alep (A : Fertiles\ B : Stériles).

Echelle : 10µm.

- **Anomalies**

Durant notre étude de la fertilité pollinique de *Pinus halepensis*, des grains de pollen déformés ont été remarqués (Figure 24).

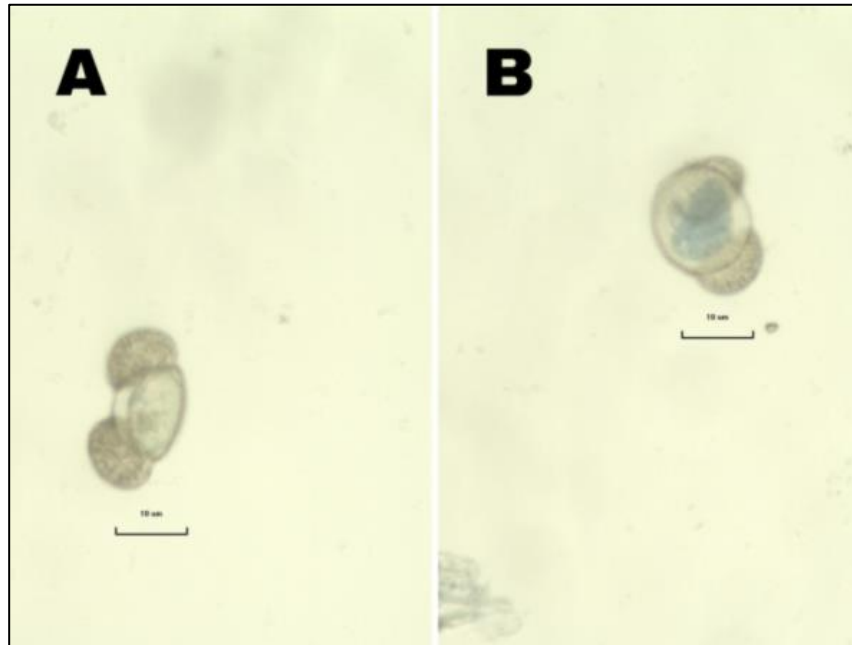


Figure 23: Grains de Pollen du pin d'Alep déformés. Echelle : 10µm.

b. Pin pignon (*Pinus pinea* L.)

a. Analyse de la mitose

L'analyse de la mitose portée sur les racines des graines du Pin pignon a montré une séparation insuffisante des chromosomes, ce qui a rendu le comptage des chromosomes presque impossible dans ce cas. Toutes les phases de la mitose ont été observées (Figure 25).

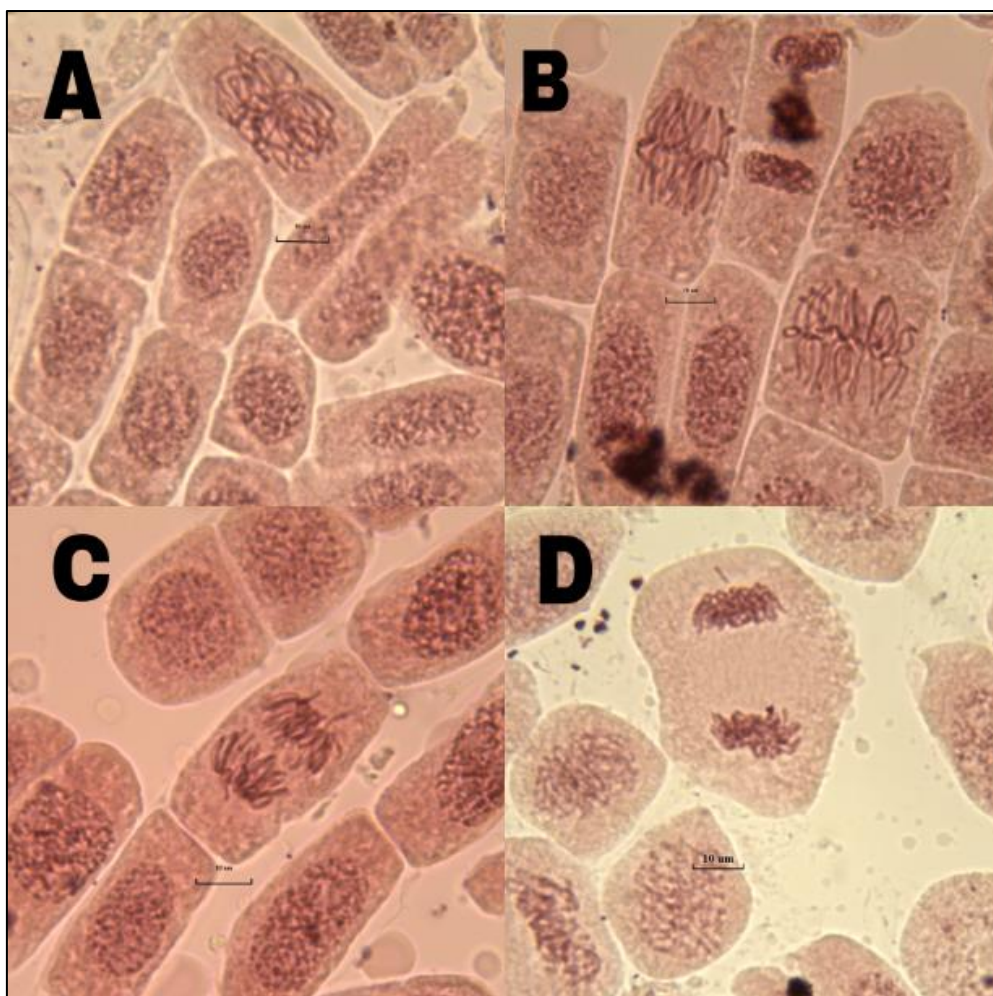


Figure 24: Les différentes phases des divisions cellulaires chez *Pinus pinea* L. A : Prophase, B : Métaphase, C : Anaphase, D : Télophase. (Grossissement X40) Echelle : 10µm

4.1.3.b.1 Etude de la fertilité Pollinique

L'étude de la fertilité pollinique a été réalisée sur des boutons floraux de l'espèce *Pinus pinea* L. de la wilaya de Bouira. Ceci est présenté dans le tableau 12.

Tableau 5: Fertilité Pollinique de *Pinus pinea* L.

Espèce	Taux de fertilité pollinique (%).	Région	Nombre des fleurs étudiées
<i>Pinus pinea</i> L. (Pin pignon)	61,75%	Bouira	10

La fertilité pollinique de l'espèce étudiée est moyenne elle est de 61,75%.

4.1.3.b.1.1 Les grains de pollen

Les grains de pollen de *Pinus pinea* L. sont aussi des anémochores qui possèdent deux ballonnets symétriquement placés de chaque côté du grain. Les grains de pollen fertiles sont de forme régulière et bien colorés (bleu foncé) (Figure 26) tandis que les grains stériles possèdent une couleur d'un bleu clair ou bien pas colorés du tout (Figure 26).

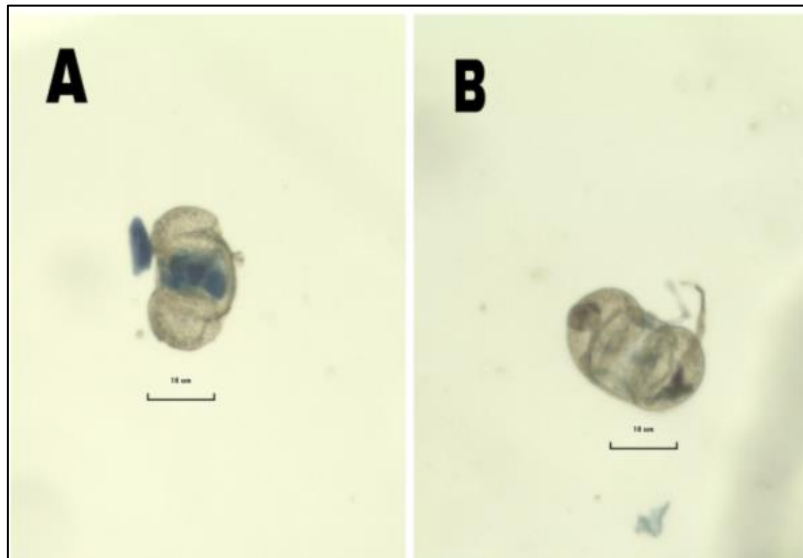


Figure 25: Grains de pollen du pin pignon (A : Fertile\ B : Stérile) Echelle : 10µm

4.1.3.b.1.2 Anomalies

Durant notre étude de la fertilité pollinique de *Pinus pinea*, des grains de pollen déformés et non bien colorés ont été remarqués (Figure 27).

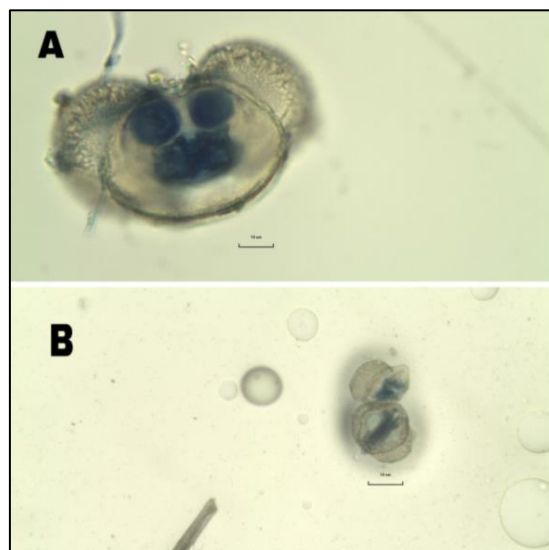


Figure 26: Grains de pollen du pin pignon déformés. Echelle : 10µm.

c. Analyse des ovules du pin d'Alep

L'analyse portée sur les ovules des cônes du Pin d'Alep a montré dans la plupart des cas des différentes cellules au stade de prophase. Les autres différentes phases de la division cellulaire n'ont pas été observées (Figure 28).

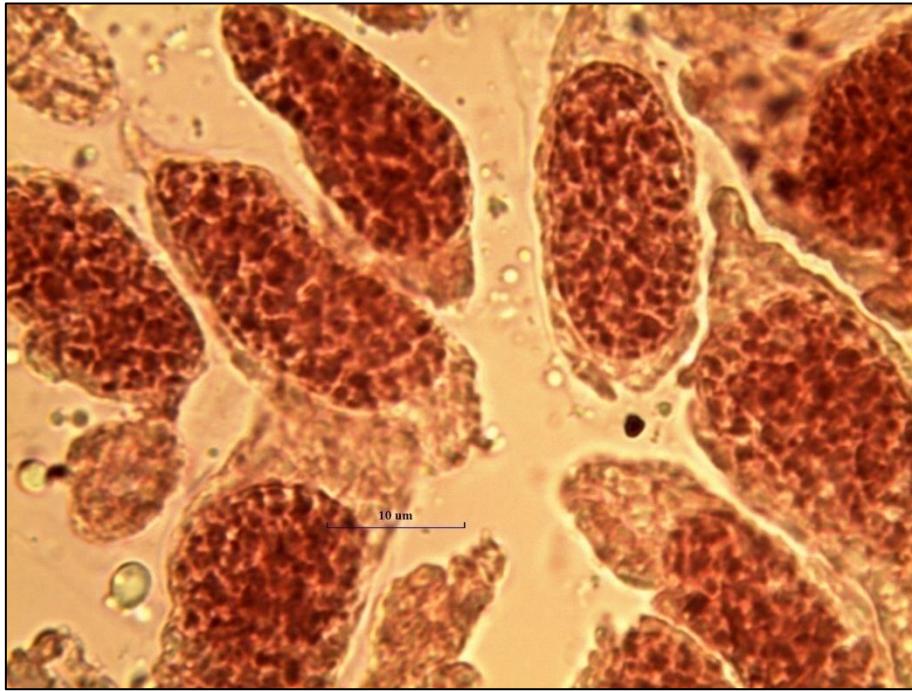


Figure 27: cellules au stade de prophase (Grossissement X100). Echelle : 10µm.

4.2 Discussions

4.2.1 Morphologie des trois espèces du Pin

Les résultats présentés dans les tableaux sont basés sur la moyenne des études menées sur la morphométrie.

a. Pin d'Alep

Les caractères morphologiques des trois espèces des différentes régions ne présentent pas une grande différence.

Nos résultats des études réalisées sur les hauteurs et les diamètres des arbres du Pin d'Alep des trois régions (Tableau 13) ne correspondent pas à ceux de (Pardé, 1957) mais sont proches à ceux de (Bentouati, Bariteau, 2005).

Tableau 6: Comparaison des résultats de l'étude morphométrique

	(Pardé, 1957)	(Bentouati, Bariteau, 2005).	Nos résultats des trois espèces	
Hauteur	17m-18m	10,6 m	10,32 m, 11,12m et 11,94m	
Diamètre	22 cm	27 cm	24,17 cm, 27,11cm et 26,75 cm	
	Clouet, 2003	Nahal, 1962	Kadik, 1987	Nos résultats
Cône	5 ,3cm- 6,4cm	5cm-12cm	6cm-12cm	4,8cm, 6,5cm et 7,2cm

Les résultats d'étude menée sur les feuilles ne correspondent pas à ceux de (Nahal, 1962), et ceux des cônes et graines sont proches à ceux de (Nahal, 1962 ; Kadik, 1987 ; Clouet, 2003).

b. Pin Pignon

Les résultats des études menées sur la hauteur des arbres du Pin pignon sont proches de ceux de (Tornatora, 1887), et le diamètre correspond à celui de (Adili, 2012) (Tableau 14). Pour l'écorce, les feuilles, les cônes et les graines les résultats sont proches de ceux de (Forêt méditerranéenne *etal.*, 1982 ; K.B.F, 2007).

Tableau 7: Comparaison des résultats de l'étude morphométrique

	(Tornatora, 1887)	(Adili, 2012).	(Forêt méditerranéenne et al., 1982	Nos résultats
Hauteur	Peut atteindre 30m	30m		10,1m-20,3m
Diamètre	30 cm	60cm		19,4cm-39,2cm
Longueur de feuille			10cm-20cm	5cm-14,65cm
Longueur de cône			8cm-15cm	8cm-26,3cm
Longueur de graine			15mm-20mm	14,11mm-24,58mm

c. Pin Noir

Sur la base des travaux de (Abdelli, Moalli, 1996), nos travaux sont en concordance avec, par contre ils ne correspondent pas à celles de (Asmani, 1993). Pour les graines, les résultats sont proches de ceux de (Abdelli, 2002) (Tableau

Tableau 8: Comparaison des résultats de l'étude morphométrique du Pin Noir

	Asmani (1993)	Abdelli et Moali (1996)	Abdelli (2002)	Nos résultats
Longueur de cône (cm)	2.55-7.17	4.7-6.14	5.10-6.22	3,65-6,32
Largeur (cm)	1.84-3.32	2.04-2.99	2.01-2.61	1,93-3

Les études sur les arbres du pin noir (Ecorce, feuilles tige. Etc) n'ont pas été effectuées car le pin noir est considéré comme une espèce protégée et endémique en Algérie (Djema, 2017), donc il n'était pas possible d'aller sur terrain pour faire l'étude morphométrique de l'arbre.

Nos résultats obtenus pour les trois espèces du pin montrent une variation de dimensions en comparant avec les travaux précédents dans la littérature, et nous pensons que les conditions climatiques liées à l'année de récolte seraient en partie à l'origine de ces variations.

4.2.2 Etude cytogénétique

▪ Germination

La germination des graines du pin d'Alep était rapide et effective, car les conditions climatiques ont été optimales. Selon (Quezel, 1986) l'aire naturelle du *Pinus halepensis* Mill. admet une variante humide et semi-aride, froide à chaude. Cependant, celle des graines du pin pignon était un peu difficile et a pris beaucoup de temps. Après une recherche bibliographique, il s'est avéré que le pin pignon germe dans des conditions climatiques spécifiques : Température de 16°C à 19°C et les températures supérieures à 25°C ou inférieures à 10°C arrêtent le processus de la germination. Aussi, une humidité de 15 à 25% assure une bonne germination, (Ferrari, 1950 ; Boncompagni, 1952 ; Magini, 1955), l'excès de l'humidité le ralentit (Loisel, 1976). Par contre, les graines du pin noir n'ont pas germé, et selon (Asmani, 1988 ; Guettal, Akkouche, 2010 ; Sahraoui, 2012) que la production de bonnes graines est faible, il est de 8,13 graine par cône.

▪ Analyse des mitoses

• Pin d'Alep et Pin Pignon

L'analyse des mitoses du pin d'Alep et Pin pignon a montré dans plusieurs cas une séparation insuffisante des chromosomes ce qui a rendu le comptage difficile. On pense comme (Pederick, 1966 ; Mergen, Burley, 1964) que la faible variation de longueur des chromosomes métacentriques en métaphase ont été sans doute la principale raison. Aussi, les chromosomes du pin d'Alep et pin pignon sont plus longs que ceux de *Pinus radiata* D. Don (Pederick, 1966).

Le comptage des chromosomes du *Pinus radiata* D. Don a été réalisé par étude des méiotique ($2n=24$) (Pederick, 1966).

Selon (Saylor, 1983), la majorité des caryotypes présentent de petits changements de taille relative parmi les 11 paires de chromosomes les plus longues chez les pinacées. La 12e paire est nettement plus petite et plus submétacentrique par rapport aux autres chromosomes du complément.

Notre étude a été effectuée en utilisant une technique classique de la cytogénétique, cette technique était modifiée au cours du travail, et on pense comme (Nkongolo et Klimaszewska 1994 ; Nkongolo et Klimaszewska 1995 ; Nkongolo 1996 ; Nkongolo 1999 ; Islam-Faridi et al., 2007 ; Nkongolo, 2012) que Le manque de précision du caryotypage des conifères dans les études précédentes a été attribué principalement à l'utilisation de techniques inappropriées entraînant des chromosomes déformés et longs et à de faibles indices mitotiques, aussi, Ces dernières années, des techniques de propagation de chromosomes modifiés ont été développées qui fournissent un grand nombre de cellules en métaphase de haute qualité (Nkongolo et Klimaszewska 1994, 1995 ; Nkongolo 1996, 1999 ; Islam-Faridi et al., 2007 ; Mehes-Smith et al., 2011 ; Nkongolo, 2012).

Selon notre étude, nous avons constaté que le degré de différenciation chromosomique entre les espèces étudiée (Pin d'Alep et Pin pignon) est très faible et cela est en concordance avec les travaux de (Hizume et al., 2002) (Figure 29 et 30).



Figure 28: Les chromosomes de *Pinus pinea* L. en stade de métaphase (grossissement X40).

Echelle : 10μm



Figure 29: Les chromosomes de *Pinus halepensis* Mill. Au stade de métaphase (grossissement

X100) Echelle : 10μm

- **Pin Noir**

L'étude mitotique du pin noir n'a pas pu être effectuée à cause de non germination de

l'espèce (120 jours). On pense que cela revient au manque de production des bonnes graines, car on a remarqué que la majorité des graines obtenues lors de notre étude étaient vides, et celles qui ont été jugés comme étant bonnes graines n'ont pas pu germer à leur tour à cause des conditions climatiques qui n'ont pas été optimales. Ces remarques ont été évoqué dans les travaux de (Asmani, 2003 ; Muller, 1986).

- **Etude des ovules du pin d'Alep**

On a essayé de faire une analyse de la méiose avec les ovules du pin d'Alep et l'étude menée a montré des cellules au stade de prophase (Figure 31). On pense que le moment de la récolte n'était pas le bon moment ou bien les conditions climatiques n'ont pas été adéquates ou bien ce n'était pas le bon stade de maturation des cônes.

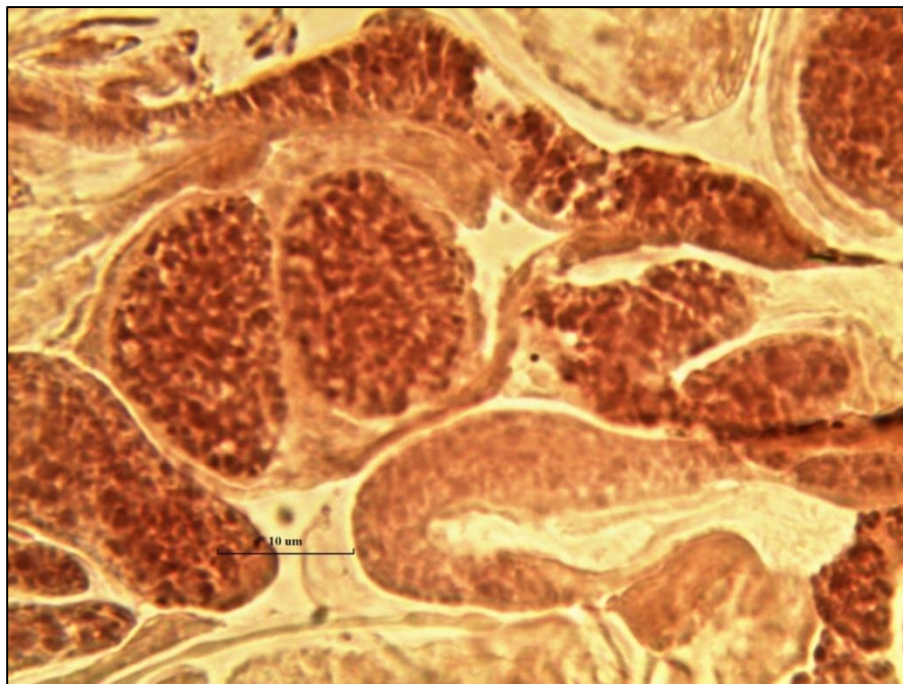


Figure 30: Cellules obtenus au stade de prophase. (Grossissement X100) Echelle : 10µm.

- **Etude de la fertilité pollinique**

- **Pin d'Alep**

Le pin d'Alep présente des cônes males petits et éphémères qui portent des écailles disposées en spirale qui abritent des sacs polliniques contenant le pollen (Figure 32).



Figure 31: Les cônes males du pin d'Alep. Echelle : 1 cm

Après avoir analysé la fertilité pollinique de *Pinus halepensis* Mill. de la wilaya de Bouira, nous avons observé un taux un peu élevée (85,25%) (Tableau 11). La fertilité pollinique élevée de cette espèce indique que les conditions climatiques et environnementales lui sont adéquates et que son caryotype est stable.

On a observé un taux faible pour le *Pinus halepensis* Mill. de la wilaya d'Alger (43,99%) (Tableau 11). La fertilité basse de cette espèce indiquerait que soit les conditions climatiques et environnementales ne lui sont pas adéquates, soit l'espèce est un hybride.

- **Pin pignon**

Le pin pignon présente des cônes males petits et éphémères constitué d'étamines ou chaque étamine renferme deux sacs polliniques qui contiennent le pollen.



Figure 32 : Les cônes males du pin pignon. Echelle : 1 cm

Après avoir analysé la fertilité pollinique de *Pinus pinea* L. de la wilaya de Bouira, nous avons observé un taux moyen (61,75%) (Tableau 12). La fertilité pollinique moyenne indique que le Pin Pignon est une espèce exigeante quant à les conditions climatiques et environnementales.

Conclusion

CONCLUSION

L'objectif principal de ce travail était d'exploiter le domaine de la cytogénétique en travaillant sur les espèces du pin qui en existent dans notre région. Trois espèces ont fait l'objet d'une analyse morphométrique (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L. et *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*), tandis que *Pinus halepensis* Mill. Et *Pinus pinea* L. ont fait l'objet d'une analyse cytogénétique.

L'étude morphométrique des trois espèces est faite sur la base de quelques caractères spécifiques (écorce gris argent, tige tortueuse, aiguilles vertes, claires et fines, des cônes ovoïdes allongés avec une couleur brune rougeâtre qui renferment des graines noires pour *Pinushalepensis* Mill. et une écorce craquelée brune noirâtre, tige lisse avec des aiguilles persistantes vertes, foncées et groupées par deux, des cônes grosses et globuleuse avec une couleur brune lustrée qui renferment des graines comestibles noires pour *Pinus pinea* L. aussi, des cônes ovoïdes jaunes claires et des graines grises noirâtre pour *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*).

L'analyse de la mitose portée sur les sur les méristèmes racinaires appartenant aux graines germées de *Pinus halepensis* Mill. et *Pinus pinea* L. a montré dans la plupart des cas une séparation insuffisante des chromosomes à la métaphase, ce qui a rendu le comptage des chromosomes presque impossible dans ce cas. Toutes les phases de la mitose ont été observées chez ces deux espèces.

Une analyse de fertilité pollinique effectuée sur les boutons floraux de deux espèces *Pinus halepensis* Mill. et *Pinus pinea* L. a donné un taux de fertilité élevée pour *Pinus halepensis* Mill. de Bouira (85,25 %), un taux faible pour celui d'Alger (43,99 %) et un taux moyen pour *Pinus pinea* L. (61,75%).

PERSPECTIVES:

- ✓ Il serait fort intéressant que cette étude sera poursuivie car la continuité de ce travail peut ouvrir plusieurs axes de recherche.
- ✓ Améliorer les techniques utilisées pour l'étude cytogénétique, et élargir l'étude à d'autres espèces du genre *Pinus* en Algérie.
- ✓ Faire une analyse méiotique pour pouvoir compter les chromosomes, pour cela il faut échantillonner des boutons floraux avant leur temps de maturation.
- ✓ Des études moléculaires (Phylogéniques) sont fortement recommandées afin de connaître la relation entre les différentes espèces et les comparer sur l'échelle globale.
- ✓ Il est souhaitable de procéder à des études sur la biogéographie et la modélisation des pins en Algérie afin de pouvoir protéger et conserver cette espèce dans le futur.

Références Bibliographique

- Abdeddaim-Boughanmi, K.K.** (2010). Etude de deux cytotypes de *Lygeum spartum* L. par approches pluridisciplinaires : Palynologie, Cytogénétique classique et moléculaire. Thèse de Doctorat en Sciences Biotechnologique Végétale. Université Mohamed Boudiaf, Oran, Algérie, 113p.
- Abdelli, D.** (2002). Contribution à l'étude de la variabilité morphologique et anatomique chez quelques provenances du Pin noir de la méditerranée occidentale : *Pinus nigra* Arnold. Mém. Mag.Int. D'agronomie. Spécialité : foresterie. Univ.T.O. 155P.
- Abdelli, D et Moali, D.** (1996). Contribution à l'étude biosystématique du pin noir du Maghreb (*Pinus nigra* Arn. ssp. *mauretanica*) : Rif et Djurdjura. Mém. Ing. Agr. U.M.M.T.O, Algérie.
- Adili, B.** (2012). Croissance, fructification et régénération naturelle des peuplements artificiels de Pin pignon (*Pinus pinea* L.) au nord de la Tunisie. Université Blaise Pascal-Clermont- Ferrand II, 177p.
- Adjaoud, D et Aidrous.** (1992). Contribution à l'étude biosystématique du pin noir du Djurdjura (*Pinus nigra* Arn. Ssp. *mauretanica* Maire et Peyer). Mém. IngAgr. U.M.M.T.O. (Algérie), 103p.
- Alaoui, A., Laaribya, S et Gmira, N.** (2011). Production, croissance et modèles de conduite sylvicoles des principales essences (le pin maritime et le pin d'Alep) de reboisement au Maroc. Kastamonu University, Journal of Forestry Faculty 11, 68-84 p.
- Anthony Griffiths, J. F., David Suzuki, T et Chrystelle, S.** (2002). Introduction à l'analyse génétique. De Boeck Université. Paris. 87p.
- Asmani, A.** (1988). Etude biosystématique du pin noir de Djurdjura (*Pinus nigra* Arnold subsp. *Clusiana* Clem. Var. *mauretanica* Maire & Peyer). thèse Ing .Agr. Inst, D'agronomie T.O. 105 p.
- Asmani, A.** (1988). Etude biosystématique du pin noir de Djurdjura (*Pinus nigra* Arnold subsp. *Clusiana* Clem. Var. *mauretanica* Maire & Peyer). thèse Ing .Agr. Inst. D'agronomie T.O. 105 p.
- Asmani, A.** (1993). Exploration de la variabilité chez le pin noir de la forêt de Tigounatine (Djurdjura –Algérie) en comparaison avec quelques prévenances de pin noir méditerranéen. Mem.Mag.u.m.m.t.o, Algérie, 156p.
- Asmani, A.** (2003). Plaidoyer pour le pin noir d'Algérie (*Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica* maire et peyerimohff) - peuplements menaces. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). P01.

- Ayari, A., Moya, D., Rejeb, M., Mansoura, A., Albouchi, A., De Las Heras, J et Fezzani, T.B.** (2011). Geographical variation on cone and seed production of natural *Pinus halepensis* Mill. forests in Tunisia. *Journal of Arid Environments* 75, 403-410
- Baba Aïssa, F.** (1991). Les plantes médicinales. Bouchene et Ad. Diwan, Alger.
- Bachir, L et Mouloudj, H.** (2008) : Contribution à l'étude de la variabilité physiologique du pin noir du Djurdjura *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*. Germination de graines du pollen et le maintien des plantules .Thèse d'ing. Int. D'agronomie. Option : foresterie .Univ.T.O.70P.
- Barcia, JJ.** (2007). The Giemsa stain: its history and applications. *Int J Surg Pathol* 15:292–296p.
- Benblkacem, S.** (2011). Contribution à l'étude cytogenétique de l'espèce *Bellevia Mauritanica* Pomel (Hyacinthaceae) endémique de l'Afrique du nord. Mémoire Magister en génétique et amélioration des plantes option: génomique et techniques avancées des végétaux. Université Mentouri, Constantine, Algérie, 47p.
- Ben Abid, A.** (1984). Etude phytocéologique des peuplements forestiers et pré-forestiers du Rif centro-occidental. *Tra.Inst.Sci. ; série botanique* N°34,62
- Bentouati et Bariteau M.** (2005). Une sylviculture pour le pin d'Alep des Aurès (Algérie). forêt méditerranéenne t. XXVI, n° 4, 315-321.
- Bojovic.** (1995). Analyse Biométrique et écologique du pin noir (*Pinus nigra* Arnold) en région méditerranéenne
- Boncompagni, T. (1952).** Alcune ricerche sulla biologia dei semi di *Pinus pinea* L. Tesi di Laurea. Ist Selvicoltura, Università di Firenze.
- Bouazza, F.** (2013). Intérêt de la mycorhization contrôlée du Chêne vert (*Quercus ilex* L.) et du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Miller) par deux espèces de Terfez, en conditions gnotoxéniques et axéniques. Université d'Oran Es-Senia ,Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biotechnologie, 99 p.
- Boudy, P.** (1950). *Economie Forestière Nord Africaine*. Ed.Larose, Paris.
- Bruno, F.** (2005). Biodiversité des populations de conifères : existe-t-il une spécificité méditerranéenne ?. *Ecologie, Environnement*. Université Paul Cézanne - Aix-Marseille III. ffftel-00176373ff
- Bates, S.E.** (2011). Classical Cytogenetics: Karyotyping Techniques. In: Schwartz, P., Wesselschmidt, R. (eds) *Human Pluripotent Stem Cells. Methods in Molecular Biology*, vol 767. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-201-4_13

Références Bibliographique

- Cavalier-Smith.** (1978) - Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cellgrowth rate, and the solution of the DNA C-value paradox.
- Chokri, M.** (2005). Etude de l'effet de l'irradiation sur la conservation de pin d'Alep et sur les mycotoxines. Mémoire pour l'obtention du diplôme de mastère en industries alimentaires. École supérieure des industries alimentaires de Tunis.133p.
- Ciancio, O., Cutini, A., Mercurio, R et Veracini, A.** (1986). Sullastrutturadellapineta di pinodomestico di Alberese. AnnaliIstitutoSperimentale per la Selvicoltura, Arezzo. 17:169-236p.
- CLOUET, M.** (2003). Taille du bec et période de reproduction chez les beccroisés des forêts de pins. *Rev. Écol. (Terre Vie)*, vol. 58, 419-433.
- Crèvecoeur, M.** (2022). Mise en évidence de l'ADN sur coupe paraffine par la réaction de Feulgen. Disponible sur : <https://www.unige.ch/sciences/biologie/bioveg/crevecoeur/competences/coloration-de-feulgen/>. Cosulter le 20/05/2022.
- Cordier-Courel, K.** (2010). Techniques de cytogénétique moléculaire : de la FISH aux puces à ADN. *Ed. Laboratoire CERBA*. France. 44p.
- De Philippis, A.** (1957). Pinete di pinodomestico. In *Lezioni di Selvicolturaspeciale*. Universit à di Firenze, pp. 186-197.
- Debazac, E.F.** (1977). Manuel des conifers.2emediton, Ecol. Nat. Gen. Rural et forêt : 93-97,136p.
- Debazac.** (1971). Contribution à la connaissance de la répartition et l'écologie de *Pinus nigra* Arn. dans le Sud-Est de l'Europe.50p.
- Debazace, F.** (1991). Manuel des conifères.2eme Edition, ecol. Nat. Gen. Rural et foret.94-95 p
- Dhibi, M., Issaoui, M., Brahmi, F., Mechri, B ., Mnari, A., Cheraif, I., Skhiri, F., Gazzah, N etet Hammami, M.** (2014). Nutritionalquality of fresh and heatedAleppo pine (*Pinushalepensis*Mill.) seedoil: trans-fattyacidisomers profiles and antioxidantproperties. *Journal of foodscience and technology* 51, 1442-1452 P.
- Djema, A.** (2017). Conservation ex situ de *Pinus nigra* Arnold dans les différents parcs nationaux en Algérie. Disponible sur : <https://www.tela-botanica.org/2017/11/article8382/>. Consulté le 20/06/2022.
- Dorkeld, F.** (1994). Un modèle objet dédié à la cartographie comparée des génomes de mammifères. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard, Lyon.

Références Bibliographique

- El Hamrouni, A.** (1978). Etude phyto-écologique et problème d'utilisation et d'aménagement dans les forêts de pin d'Alep de la région de Kasserine. Thèse doctorat. Tunisie, 106p.
- Fady, B.** (2005). Biodiversité des populations de conifères: existe-t-il une spécificité méditerranéenne? Université Paul Cézanne-Aix-Marseille III.
- Farjon, A et Quinn, C.J.** (2003). Price dans les actes de la quatrième conférence internationale sur les conifères, *Acta Horticulturae* 615.
- Ferrari, L.** (1950). Alcune ricerche sulla biologia dei semi di *Pinus pinea* L. *Pinus halepensis* Mill. Tesi di Laurea. Ist. Selvicoltura. Università di Firenze.
- Foret mediterraneenne**, Comite de sauvegarde et de renovation des forets et des espaces naturels, centre national du machinisme agricole, du genie rural, des eaux et des forets, université de droit, d'économie et des sciences d'aix-marseille, laboratoire de botanique et ecologie mediterraneenne, Office National Des Forets. (1982). Fiche Forêt Méditerranéenne: Le Pin pignon. 1982
- Garchi, S.** (1992). Approche multidimensionnelle de la typologie et de la cartographie des stations à pin d'Alep de la région de Touiref (Tunisie septentrionale). Université Catholique de Louvain-La- Neuve, Belgique, 204p.
- Griffith, A., Miller, J.F., Suzuki D.T, Lewontin R.C et Gelbart W.M.** (2002) -Introduction à l'analyse génétique. 3e édition. de boek université. Paris. 860p.
- Gthy, P.** (1957). Recherches belges sur la variabilité génétique des espèces forestières. *SilvaeGenetica* 6 (1) :32-34P.
- Guettal et Akkouche.** (2010). Etude des caractéristique biométrique des cônes et quantification de la production grainière chez le Pin noir du Djurdjura (*Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*) dans deux stations (peuplement naturel de Tigounatine et plantation de Thala Rana) et l'exploration de la qualité du pollen au sein de Tigounatine. Mém.Ing. spécialité : foresterie.Univ.T.O. 69P.
- Guit, B.** (2015). Croissance et état sanitaire des peuplements de pin d'Alep (*pinus halepensis* .Mill) dans le massif forestier de Senalba (Région de Djelfa). Ecole Nationale Supérieur d'AgronomieEl-harache, Alger, p. 108.
- Hammami, M.** (2014). Nutritional quality of fresh and heated Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oil: *trans*-fatty acid isomers profiles and antioxidant properties.Journal of Food Science and Technology volume 51, pages1442–1452
- Hamrouni, L., Hanana, M., Ghazi, G., Ainir et Khouja, M.L.** (2011). Essais de multiplication du Pin d'Alep. Forêt méditerranéenne 32, 271-276p.

- Harry, M. (2001).** Génétique moléculaire et évolutive. Maloine. Paris. 15p.
- Hedjal-Chebheb, M. (2014).** Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux et plantes aromatiques de provenance Algérienne et Tunisienne. Etude de leurs activités biologiques à l'égard d'un insecte ravageur des graines stockées, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). Ph. D. Thèse, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, 107 p.
- Henchi, B. (2011).** Geographical variation on cone and seed production of natural *Pinus halepensis* Mill. Forests in Tunisia. *Journal of Arid Environments* 75, 403-410 méditerranéen. Mem. Mag. u. m. m. t. o, Algérie, 156p.
- Hizume, M., Shibata, F., Matsusaki, Y and Garajova, Z. (2002).** Chromosome identification and comparative karyotypic analyses of four *Pinus* species. *Theor. Appl. Genet.* **105**(4): 491–497. doi:10.1007/s00122-002-0975-4. PMID:12582496.
- Horobin, R.W., et Walter, K.J. (1987).** Understanding Romanowsky staining. I: The Romanowsky-Giemsa effect in blood smears. *Histochemistry* 86:331–336p.
- Horobin, R.W. (2011).** How Romanowsky stains work and why they remain valuable—including a proposed universal Romanowsky staining mechanism and a rational troubleshooting scheme. *Biotech Histochem* 86:36–51p.
- Isajev, V., Fady, b., Semerci, H et Andonovski, V. (2003).** Pin noir (*Pinus nigra*). Fiche technique pour la conservation génétique. EUFORGEN. 1- 6. www.euforgen.org
- Islam-Faridi, M.N., Nelson, C.D and Kubisiak, T.L. (2007).** Reference karyotype and cytomolecular map for loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Genome*, **50**(2): 241–251. doi:10.1139/G06-153. PMID: 17546089.
- Jahier, J., Chever, A.M., Eber, F., Delourne, R et Tanguy A.M. (1992)** - Techniques de lacytogénétique végétale. Ed. INRA, Paris, 183p.
- Julian, K. (2010).** Caractérisation moléculaire d'inversions péri- et paracentriques et analyse de leurs effets sur la méiose d'individus porteurs hétérozygotes. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, France, 165p.
- Kadik, B. (1987).** Contribution à l'étude du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill) en Algérie : Ecologie, Dendrométrie, Morphologie. *Office des publications universitaires* (Alger). 585p.
- Kadri, N. (2014).** Graines de pinus sp.: caractérisation physico-chimique et activité anticancéreuse., Université Abderrahmane Mira-Bejaia, 170p.
- Kadri, N., Khettal, B., Aid, Y., Kherfellah, S., Sobhi, W et Barragan-Montero, V. (**

- 2015).somephysicochemicalcharacteristics of pinus (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L., *Pinus pinaster* and *Pinus canariensis*) seedsfromNorthAlgeria, theirlipid profiles and volatile contents. Food chemistry 188, 184-192p.
- Kato, A., Vega, J.M., Han, F., Lamb, J.C et Bricher, J.A.** (2005). Advances in plant chromosome identification and cytogenetic techniques, Current Opinion in Plant Biology. 8:148-154p.
- Kearney, L.** (2001). Molecular cytogenetics. Best Pract Res Clin Haematol 14: 645-669p.
- Khalidi, A., Khouja, M et Akrimi, N.** (2009). Résultats d'essais de comparaison de provenances du Pin pignon (*Pinus pinea* L.) en Tunisie septentrionale. Revue forestière française, AgroParisTech, 61 (2), 107-116 p. ff10.4267/2042/28894ff. ffhal-03449720f.
- Khaouani, B. (2011) : Les résineux dans la région de Tlemcen (Nord West Algérien) aspects écologiques, inflammabilité et combustibilité.
- Khouja, M.L.** (1997). Variabilité géographique du pin d'Alep en Tunisie : perspectives d'amélioration de la productivité et de la qualité physique du bois. Thèse de Doctorat, Université catholique de Louvain-la-Neuve, Belgique, 181p.
- Klorane Botanical Foundation.** (2007). Guide des conifères et espèces apparentées. Fondation d'Entreprise pour la Protection et la Bonne Utilisation du Patrimoine Végéta. Europe, 68p.
- Labadie, J.** (1983). Étude des exigences écologiques du Pin pignon en région méditerranéenne française. Mémoire 3ème année E.N.I.T.E.F., CEMAGREF. Aix-en Provence.
- Lahouati, R.** (2000). Expérience des Plantations en Climat Aride. Cas de la Ceinture Verte en Algérie. Direction Générale des forêts, Ministère de l'Agriculture, Alger.
- Lazrec, F.** (2015). Importance de la fonte de semis du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans le Nord-Ouest Algérien: Identification morphologique et moléculaire des espèces du genre *Fusarium* et *Globo sporangium*, pouvoir pathogène et moyens de lutte, Agro-Foresterie. Université Abou BekreBelkaid-Tlemcen, 187p
- Levitzky, G.A.** (1931). The karyotype in systematics. *Bulletin Of Applied Botany, Of Genetics And Plant-breeding*, 27: 220–240.
- Loisel, R.** (1976). Place et rôle des espèces du genre *Pinus* dans la végétation du sud-est méditerranéen français. *Ecologia Mediterranea*, 10, 131-152.
- Magini, E.** (1955). Sulle condizioni di germinazione del pine d'Aleppo e del pino domestico. L'Italia Forestale e Montana, 10, 106-124.

- Mergen, F and Burley, J.** (1964) .*Abies* karyotype analysis. *Silvae Genet.* **13**, 63–68.
- Mill) dans le massif forestier de Senalba (Région de Djelfa). Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie El-harache, Alger, p. 108.
- Mill.) seed oil: trans-fatty acid isomers profiles and antioxidant properties. *Journal of food*
- Muller, M.** (1986). Contenu de l'étude bulgare sur le Parc National de Djurdjura. Rapport SEFMVT, 4p.
- Nahal , I.** (1962). Le Pin d'Alep (*Fines halepensis* Mill.). Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Annales de l'Ecole Nationale des Eaux et Forêts et de la Station de Recherches et Expériences Forestières*, 19 (4), 477-688. hal-03483847.
- Nasri, N., Khaldi, A et Triki, S.** (2004). Variabilité morphologique des cônes et graines de pin d'Alep et pin pignon en Tunisie. *Revue forestière française* 56, 22p.
- Nkongolo, K.K.** (1996). Chromosome analysis and DNA homology in three *Picea* species, *P. mariana*, *P. rubens*, and *P. glauca* (Pinaceae). *Plant Syst. Evol.* 203(1–2): 27–40. doi:10.1007/ BF00985235.
- Nkongolo, K.K.** (1999). RAPD and cytological analyses of *Picea* spp. from different provenances: genomic relationship among taxa. *Hereditas*, 130(2): 137–144. doi:10.1111/j.1601-5223.1999.00137.x.
- Nkongolo, K.K., and Klimaszewska, K.** (1994). Karyotype analysis and optimization of mitotic index in *Picea mariana* (black spruce) preparations from seedling root tips and embryogenic cultures. *Heredity*, **73**(1): 11–17. doi:10.1038/hdy.1994.93.
- Nkongolo, K.K., and Klimaszewska, K.** (1995). Cytological and molecular relationships between *Larix decidua*, *L. leptolepis* and *Larix _ eurolepis*: identification of species specific chromosomes and enhancement of mitotic index. *Theor. Appl. Genet.* **90**(6): 827–834. doi:10.1007/BF00222018.
- Nkongolo, KK ET Mehes-Smith, M.** (2012). Karyotype evolution in the Pinaceae: implication with molecular phylogeny. Review, Department of Biology and Biomolecular Science Program, Laurentian University, Sudbury, ON P3E 2C6, Canada, *Genome* V (55): 1–19 p.
- Nouha, B., Portnoï, M., Vialard, F., Amouri, A., Van den Akker , J et Taillemite, J.** (2000). Les techniques de cytogénétique moléculaire: principes et progrès. *Med. Sci* 16: 1405- 1411p.
- Pardé, J.** (1957). La productivité des forêts de Pin d'Alep en France. *Annales de l'Ecole Nationale des Eaux et Forêts et de la Station de Recherches et Expériences Forestières*, 15

- (2), 365-415 p. hal-03483769.
- Pederick, L.A.** (1966). The Structure and Identification of the Chromosomes of *Pinus radiata* D. Don. School of Forestry, University of Melbourne, Victoria, Australia, 69-77.
- pinaster and *Pinus canariensis*) seeds from North Algeria, their lipid profiles and volatile
- Prat, D., Faivre Rampant, Pet Prado, E.** (2006) - Analyse du génome et gestion des ressources génétiques forestières. Institut national de la recherche agronomique. Vol 1, Paris, 341-432p.
- Quezel, P et Barbero, M.** (1992). Le pin d'Alep et les espèces voisines : répartition et caractères écologiques généraux, sa dynamique récente en France méditerranéenne. Forêt méditerranée. XIII, n° 3, 158-169 p.
- Quézel, P.** (1980). Biogéographie et écologie des Conifères méditerranéens. Documents d'Ecologie. in: Pesson P. (ed), Forestière. Paris, Pp. 201-255.
- Quezel, P.** (1986). Les pins du groupe- *halepensis*: Ecologie-, végétation, Ecophysiologie. Options Méditerranéennes. Séries Etude CIHEAM 86/1, 11-24.
- Rapp, M et Ibrahim, M.** (1978). Egouttement, écoulement et interception des précipitations par un peuplement de *Pinus pinea* L. *Oecologia Plantarum* 13 : 321-330p
- Rathgeber, C.** (2002). Impact des changements climatiques et de l'augmentation du taux de CO₂ atmosphérique sur la productivité des écosystèmes forestiers: exemple du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en Provence calcaire (France). Université de Droit, d'Economie et des Sciences d'AIX-Marseille (AIX-MARSEILLE III), 312p.
- Rodrigo, A., Quintana, V., Retana, J.** (2007). Fire reduces *Pinus pinea* distribution in the northeastern Iberian Peninsula. *Ecoscience* 14, 23-30.
- Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A et Hadeff, Y.** (2015). Composition chimique et activité
- Sahraoui, H.** (2012). Contribution à l'étude de la production grainière et des dimensions des cônes et des graines du Pin noir du Djurdjura (*Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*) dans la station de Tigounatine et de Thala Rana (Tikjda). Mém. Ing. Option : Protection de la nature. Univ. T.O. 44P.
- Sassoui, D.** (2020). Botanique Des Spermatophytes. Cour de Botanique, 65 p.
- Saylor, L.C.** (1983). Karyotype analysis of the genus *Pinus* subgenus *Strobus*. *Silvae Genet.* 32, 119-124.
- Schauenberg, P.** (1977). Paris, Guide des plantes médicinales. Del chaux et Niestlé, Paris, France. science and technology 51, 1442-1452 P.
- Seigue, A.** (1985). La forêt Circumméditerranéenne. Technique agricole et production méditerranéenne. Edition maison neuve et la rose 15, rue Victor. Cousin Paris (V). 485p

Références Bibliographique

- Siljak-Yakovlev S, Pustahija F, Vicic V, Robin O. (2013). Molecular Cytogenetics (FISH and Fluorochrome Banding): Resolving Species Relationships and Genome Organization. *Molecular Plant Taxonomy*, 309–323p. doi:10.1007/978-1-62703-767-9_15.
- Steven, E. Bates.** (2011) - ClassicalCytogenetics: Karyotyping Techniques. Chapter 13. 177p.
- Sumner A.T. de la Torre J. Steppia L.** (1993). The distribution of genes on: chromosomes: A cytological approach.
- Tornatora, R. (1887).** “Il patrio pino” da sentiment Calabresi in “Rocco Tornatora (1831-1915)”. 1972 Carograf. Reggiocala.
- Weiss-Schneeweiss, H et Gerald, M. Schneeweiss. (2013).** Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes. *Plant Genome Diversity Volume 2. Physical, Springer, 2:* 209-223p.
- Wittekind, D.H.** (1979). On the nature of Romanowskydyes and the Romanowsky-Giemsa effect. *Clin LabHaematol* 1:247–262p.
- Wittekind, D.H.** (1983). On the nature of Romanowsky-Giemsa staining and its significance for cytochemistry and histochemistry: an overallview. *Histochem J* 15:1029–1047p

Résumé :

En vue d'étudier la variabilité génétique des espèces végétales de la région de Bouira, deux analyses mitotiques de deux espèces (*Pinus halepensis* Mill. et *Pinus pinea* L.) ont été faites. L'analyse de la mitose portée sur les méristèmes racinaires a montré une séparation insuffisante des chromosomes pour *Pinus halepensis* Mill. et *Pinus pinea* L. ce qui fait les chromosomes n'ont pas pu être compté de façon sûre. Toutes les phases de la mitose ont été observées. L'analyse morphométrique effectuée sur les espèces du pin (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L. et *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*) a montré une grande diversité entre des espèces d'une même famille (Pinacées). L'étude de la fertilité pollinique réalisée sur les boutons floraux du *Pinus halepensis* Mill. et *Pinus pinea* L. a indiqué un taux de fertilité élevée pour le pin d'Alep de Bouira et un taux bas pour celui d'Alger, et un taux de fertilité normal pour le pin pignon.

Mots clés : Cytogénétique, chromosome, Pinus, Mitose, fertilité.

Absract:

In order to study the genetic variability of plant species in the Bouira region, two mitotic analyses of two species (*Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinea* L.) were performed. The analysis of the mitosis carried out on the root meristems showed an insufficient separation of the chromosomes for *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinea* L. which means that the chromosomes could not be reliably counted. All phases of mitosis were observed. Morphometric analysis of pine species (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L. and *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*) showed great diversity between species of the same family (Pinaceae). The study of pollen fertility carried out on the floral buds of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinea* L. indicated a high fertility rate for the Aleppo pine of Bouira and a low rate for that of Algiers, and a normal fertility rate for the pinion pine.

Key words: Cytogenetics, chromosome, Pinus, Mitosis, fertility.

ملخص

من أجل دراسة التباين الوراثي لأنواع النباتات في منطقة البويرة ، تم إجراء تحليلين انقساميين لنوعين (*Pinus halepensis* Mill. و *Pinus pinea* L.).

أظهر تحليل الانقسام الذي تم إجراؤه على الخلايا الإنشائية الجذرية عدم انفصال الكروموسومات بشكل كافٍ لـ *Pinus pinea* L. و *Pinus halepensis*. مما أدى إلى عدم عد الصبغيات بشكل صحيح ولكن تمت رؤية جميع مراحل الانقسام.

أظهر التحليل المورفومتري الذي تم إجراؤه على أنواع الصنوبر *Pinus halepensis* Mill. و *Pinus pinea* L. و *Pinus nigra* Arnold ssp. *mauretanica*. تنوعاً كبيراً بين أنواع من نفس العائلة (Pinaceae). أشاروا إلى ارتفاع دراسة خصوبة حبوب اللقاح التي أجريت على براعم زهرة *Pinus pinea* L. و *Pinus halepensis* Mill. معدل الخصوبة لصنوبر البويرة الحلبي وانخفاض معدل الخصوبة لصنوبر مدينة الجزائر ومعدل الخصوبة الطبيعي بالنسبة للصنوبر الحجري.

الكلمات المفتاحية: علم الوراثة الخلوية ، الكروموسوم ، الصنوبر ، الانقسام ، الخصوبة