République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Etres vivants

MEMOIRE présente en vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine: Science de la nature et de la vie

Filière: Sciences biologiques

Option: Biotechnologie des plantes médicinales

Thème:

Etude du polymorphisme biochimique chez *l'Astragalus armatus L*

Présenté par:

Mr Brik Hocine

Mr Aziz Islam

Devant le jury:

Mekahlia Mohamed Nacer	M.C.B	Tébessa	Président
Fatmi Hindel	M.A.A	Tébessa	Rapporteur
Maalem Souheil	M.C.A	Tébessa	Examinateur

Date de soutenance : 31/05/2016

Notes : …….. **Mention :**……..

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com



This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

ملخص

المعايير المورفولوجية للنباتات لم تعد كافية للتعرف عليها، وهذا هو السبب في أن دراسة التنوع الوراثي أمر ضروري في تحسين النبات.

وتهدف هذه الدراسة إلى تحليل التباين الوراثي من 14نوعا من الكداد على مستوى الهجرة الكهربائية للبروتينات الكلية.

نوع الأصناف من الرسم البياني يوضح الاختلاف في النوعية والكمية، يتم استخدام تعدد الأشكال من هذه البروتينات بمثابة بصمة وراثية لتقييم تنوع هذه المجموعة.

الكلمات المفتاحية:

الكداد، SDS-PAGE، تعدد الأشكال، بروتيناتوبصمة الوراثية.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Abstract

Analyze of morphological characteristics of plants are not sufficient for the identification diversity is an indispensable stage on plant amelioration.

This study aimed a preliminary analysis genetic variability of 14 varieties of astragal by the means of polyacrylamide gel electrophoresis of the total proteins

The varietal type diagrams shows clear qualitative and quantitative differences, the polymorphism of the proteins is used as a fingerprint to evaluate the diversity of this collection

Key-words:

Astragal, SDS-PAGE, polymorphism, proteins, genetics and fingerprints

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Résumé

Les critères morphologiques des plantes ne sont plus suffisantes pour leurs identifications, c'est pour cette raison que l'étude de la diversité génétique est primordiale dans l'amélioration des plantes.

Cette étude a pour objectif l'analyse de la variabilité génétique de 14 variétés d'astragales au moyen de l'électrophorèse des protéines totales

Le diagramme de type variétal présente des différences à la fois qualitatives et quantitatives, le polymorphisme de ces protéines est utilisé comme empreinte génétique afin d'évaluer la diversité de cette collection.

Mots clés :

Astragale, SDS-PAGE, polymorphisme, protéines et empreinte génétique

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Dédicace

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A ma source de tendresse, l'être le plus chèr dans le monde, ma mère.

A mon père abde allah

A mes chères sœurs

A mes frères.

A tous mes amis

A tous ceux que j'aime.

Houcine Brik

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Remerciements

Avant tout nous remercions « ALLAH » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail

Nous remercions notre encadreur "Mr: Fatemi Hindel" pour son aide durant la réalisation de notre travail, ses orientations, ses connaissances et son encouragement tout au long de notre travail,

Nos plus vifs remerciements à tous nos enseignants.

N'oublions pas de présenter nos remerciements à tous qui ont contribué de prés on de loin à la réalisation et l'accomplissement de ce Travail.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	Espèces du genre *Astragalus* L. en Algérie	11
02	Variétés d'astragales étudiés	11
03	Clé de détermination des variétés d'astragales représentés dans la figure (5)	31
04	Indices de ressemblances entre les diagrammes électrophoretiques des protéines totales en %	34

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Liste des Figures

Figures N°	Titre	Page
01	Carte de répartition de la famille des Fabaceaes	05
02	Répartition du genre *Astragalus* dans le monde	12
03	*L'Astragalus armatus L* (Fabaceae)	18
04	Extraction des protéines totales selon la technique de (Laemmli, 1970)	22
05	profil électrophoretique des protéines totales des variétés d'astragales étudiée	28
06	électrophoregramme de zone A pour les protéines totales	29
07	électrophoregramme de zone B pour les protéines totales	29
08	électrophoregramme de zone C pour les protéines totales	30
09	électrophoregramme de zone D pour les protéines totales	30
10	dendrogramme de dissimilarités des protéines totales	35

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Liste des abréviations

APS: Ammonium persulfate.

FAO: Food and Agriculture Organization.

HMW : High molecular weight

INRA : Institut National de la recherche agronomique (Algérie).

IRS: Indice relatif de similarité.

KDa: Kilo Dalton.

Kcal: kilo calorie.

Mbp : Mobilité, mesurée au mm prés, d'une bande particulière.

Mbr : Mobilité, mesurée au mm prés, de la bande de référence.

Mr: Mobilité relative.

Ph: pression d'hydrogène.

P/V : Poids sur volume.

QTL : Quantitative trait loci.

RAPD: Random Amplification of Polymorphic DNA.

RFLP: Restriction fragment length polymorphism.

SDS-PAGE: Sodium Dodécyl Sulfate PolyAcrylamide-Gel-Electrophoresis.

TCA : Acide trichloracétique.

TEMED : Tetraméthyl-éthylène diamine.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Sommaire

ملخص……I
Abstract ……II
Résumé ……III
Dédicace ……..IV, V
Remerciements ……VI
Liste des tableaux……VII
Liste des figures……VIII
Liste des abréviations…….....IX
Introduction……..……...1

Chapitre I : Les légumineuses

I.1. Généralité…….....……...2

I.2. Notions historiques……...……2

I.3. Les légumineuses (famille des Fabaceae) ……3

I.3.1 Classification botanique des Fabaceae……...3

I.3.2 Description botanique des Fabaceae …….……...4

I.3.3 Répartition géographique des Fabaceae ……5

I.3.4 Situation des ressources naturelles des légumineuses au Maghreb ……...6

I.3.5 Rôle des légumineuses spontanées en Méditerranée ……6

I.3.6 Importance des légumineuses dans les systèmes de culture ……..7

I.4. Types des légumineuses ……...……...7

I.4.1 Les légumineuses a graines ……...……....7

I.4.2 Les légumineuses fourragères ……8

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

I.5. L'utilisation des légumineuses ……...….8

I.5.1 L'alimentation humaine……..……....……8

I.5.2 L'alimentation animal : Fourrages et granulés ……..8

I.5.3 L'utilisation économiques et leur importance ……..9

I 5 4 L'utilisation thérapeutique ……9

Chapitre II : L'astragalus armatus

II.1. Historique 11

II.2. Le genre *Astragalus*.....11

II.2.1 Description botanique.....11

II.2.2 Répartition géographique.....12

II.2.3 Le genre *Astragalus* en Algérie 12

II.2.4 Les composés chimiques *d'Astragalus*.....16

II.2.5 Importance économique de *l'Astragalus*.....16

II.2.6 Intérêt médicinal de *l'Astragalus*.....16

II.3. L'espèce étudiée.....17

II.3.*1 Astragalus armatus*.....17

II.3.2 Descriptions botaniques.....17

II.3.3 Classifications botaniques.....19

II.3.4 Repartions géographiques.....19

II.3.5 Les composés chimiques de *l'Astragalus armatus*.....19

II.3.6 L'utilisation thérapeutique de *l'Astragalus armatus*.....20

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III.1. Matériels végétales.....21

III.2. Préparation des échantillons.....22

III.2.1 Extraction des protéines totales.....22

III.3. Technique d'électrophorèse.....23

III.3.1 Principe de l'électrophorèse.....23

III.3.2 Préparation des gels.....25

a. Le gel de séparation (running gel) à Ph 8,8 25

b. Le gel de concentration (stacking gel) à pH 6,8 25

III.3.2.1 Tampon d'électrophorèse.....25

III.3.2.2 Conditions de migration.....25

III.3.2.3 Fixation, coloration et décoloration.....26

III.4. Lecture des diagrammes.....26

III.5. Etude statistique.....26

Chapitre VI : Résultats et discussion

IV.1. Etude de la diversité des protéines totales.....27

IV.2. Choix de la région de lecture.....29

IV.3. Etablissement du diagramme type variétal.....31

IV.3.1 Diagramme observé chez les variétés étudiées.....32

IV.3.2 Calcul de l'indice de Similarité (IRS).....32

IV.4. Exploitation des résultats.....35

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

IV.4.1 Dendrogramme de similarité.....35

Conclusion et perspectives ……..……37

Annexes.....38

Références bibliographies.....45

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

INTRODUCTION

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Introduction

L'être humain à toujours cherché à domestique et améliore les végétaux dont il a besoin en sélectionnant les espèces les plus intéressantes.

La diversité génétique aide à mieux identifier les variétés ainsi que leur protection, elle nécessite de nouveaux moyens tel que les marqueurs biochimiques, qui sont nécessaires et complètent les critères morphologiques et physiologiques et peuvent jouer un rôle trés important dans le contrôle de la pureté variétale.

Ce travail concerne l'identification et l'évaluation de la diversité génétique d'une collection de genre *astragalus*, nous nous sommes intéressés au polymorphisme protéique afin de mieux estimer la variabilité génétique de l'espèce étudiée, Nous avons utilisé la technique d'électrophorèse mono dimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE).

Cette étude à pour objectif de fractionner chez 14 variétés d'astragales les protéines totales et d'évaluer leur variabilité.

Les données bibliographiques sont présentées dans la première partie de ce mémoire avec une présentation générale de l'astragale, ses caractéristiques, son utilisation et ses intérêts, le deuxième partie décrit le matériel végétal étudié et les techniques biochimiques utilisés, ainsi que les résultats expérimentaux obtenus, leur description, exploitation et discussion.

Une conclusion générale et quelques perspectives sont enfin données.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

CHAPITRE I

LES LEGUMINEUSES

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Depuis les temps les plus reculés, les hommes ont utilisés leur environnement, d'abord pour se nourrir, puis en particulier ont utilisés les plantes pour se soigner, les pays du pourtour du bassin méditerranéen est le berceau de diversification d'un grand nombre d'espèces végétales d'intérêt fourrager et/ou pastoral, La famille des légumineuses appelée aujourd'hui fabacée occupent une place importante tant au niveau économique qu'au niveau écologique, elles constituent une source d'alimentation pour l'homme et fourrage pour les animaux **(Moulin, 2002).**

I.1 Généralité

La famille des légumineuses est une des plus importantes et des plus variées parmi les dicotylédones, les angiospermes. Il s'agit de la troisième plus grande famille chez les plantes supérieures avec de 720 genres et de 20 000 espèces **(Cronk *et al*, 2006).**

C'est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales, les Légumineuses sont aussi considérées comme une excellente source de fourrages, d'engrais verts et produisent un grand nombre de substances toxiques et médicales en raison de la présence de certains alcaloïdes **(Unesco, 1960).**

Cette famille comprend des plantes herbacées annuelles que des plantes ligneuses ; elle colonise aussi bien les régions tropicales que les régions tempérés ou arctiques du globe terrestre **(Broughton *et al*, 2003).**

I.2 Notions historiques

L'origine de l'agriculture date de plus de 10 000 ans. L'alimentation des populations néolithiques reposait principalement sur la culture des céréales et des légumineuses **(Albala K B, 2007)**. En Amérique du sud et en Amérique centrale, l'alimentation des civilisations précolombiennes mayas, incas et aztèques était à base de maïs et de haricots secs. En Amérique du Nord, le maïs, les courges et les haricots secs constituaient l'alimentation de base des Amérindiens. Séchées et adéquatement entreposées, les légumineuses devenaient une sécurité en période de pénurie alimentaire. Elles possédaient aussi l'avantage de se cultiver facilement.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Bien que les légumineuses soient appréciées par plusieurs peuples, elles demeurent historiquement associées à la pauvreté. Dans le passé, lorsque les protéines de source animale étaient disponibles aux mieux nantis, les légumineuses étaient reléguées aux paysans. Les légumineuses étaient considérées comme des aliments bon marché et une manière plutôt facile de satisfaire ses besoins nutritionnels. Encore maintenant, dans les pays dont la population est dense comme la Chine, l'Inde ou le Mexique, les légumineuses occupent une place de choix dans l'alimentation. À l'inverse, dans les pays industrialisés on a attribué le nom dépréciatif de « viande des pauvres » aux légumineuses et leur consommation est nettement inférieure à celle des pays où la population est dense. Malgré cela, les légumineuses tendent à augmenter leur popularité depuis qu'on leur reconnaît des avantages sur la santé **(Geil et Anderson, 1994).**

I.3 Les légumineuses (famille des Fabaceaes)

Les légumineuses sont des végétaux supérieurs qui appartiennent à la famille des Leguminosae (ou Fabaceae), de l'ordre des Fabales. Elles forment l'une des plus grandes familles de plantes **(Broughton, 1983)** et se divisent en trois sous-familles: les Papilionacées, les Mimosacées et les Césalpiniacées. Les espèces de la sous-famille Papilionacées sont présentes dans le monde entier **(Rachie, 1979)** alors que les deux autres sous-familles sont principalement constituées d'espèces ligneuses de régions tropicales ou subtropicales.

La famille des légumineuses est très diversifiée dans les différentes régions du globe, avec des sites spécifiques pour certaines espèces, C'est une grande famille constituée de plantes ligneuses (zones tropicales) et herbacées (zones tempérées) avec quelques arbres et arbustes qui regroupent environ 12 000 espèces réparties en 400 à 500 genres **(Bhattacharyya et Johri, 1998).**

En Algérie, les fabacées ligneuses occupent une place importante et jouent un rôle important dans l'équilibre du milieu naturel et la lutte contre la désertification **(Djabeur K H *et al*, 2007).**

I.3.1 Classification botanique des Fabaceaes

La taxonomie des Légumineuses est en constante évolution, en effet cette famille est divisées en 3 sous familles qui correspondent véritablement à des groupes monophylétiques

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

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

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

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

I.3.2 Description botanique des Fabaceaes

La famille des fabacées est une famille des plantes dicotylédones, elles possèdent plusieurs caractères morphologiques en commun, sont des plantes herbacées, arbustes, arbres ou plantes grimpantes à lianes volubiles ou à vrilles, à métabolisme azoté élevé et acides aminés inhabituels, souvent nodules racinaires contenants des bactéries fixatrices d'azote (rhizobium) **(Judd *et al*, 2002).**

- Appareil végétatif :

Les racines sont généralement pivotantes et laissent apparaitre des nodosités à *rhizobium* qui se forment si le sol est pauvre en azote **(Dupont *et al*, 2007).**

Les feuilles sont généralement alternes, pennées ou trifoliolées et stipulées. Cependant on peut noter quelques évolutions : la foliole terminale peut être absente (fève) ou en forme de vrille (vesce), les folioles sont remplacées par des épines (ajonc), les stipules font place à des épines (robinier faux acacia), le nombre de folioles peut être réduit (trèfle, genêt), la nervation peut être de type palmée (lupin).

- Appareil reproducteur :

Les inflorescences sont des grappes plus ou moins allongées.

Les Fabaceaes les plus primitives (Mimosoidées) possèdent un périanthe régulier et réduit, avec des étamines très nombreuses. Chez les plus évoluées, on observe une réduction du nombre d'étamines à 10 et la fleur devient zygomorphe. La préfloraison est imbriquée, descendante ou vexillaire.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Toutes les Fabaceaes possèdent un ovaire formé d'un seul carpelle. Celui-ci est supère et surmonté d'un style et d'un stigmate.

Le fruit est l'élément le plus constant et qui caractérise cette famille, est appelé gousse ou légume. Il s'agit d'un fruit qui s'ouvre en général à maturité grâce à une double ouverture : ventrale et dorsale. Chez certaines espèces, la gousse subit des transformations. Celle-ci peut présenter des étranglements entre les graines (gousse omentacée, indéhiscente), elle peut devenir pauciséminée (jusqu'à une seule graine). En fonction des espèces, la gousse est sèche ou charnue, aplatie ou comprimée, spiralée, arquée, ailée, segmentée, articulée, verdâtre ou de couleur vive. Sa taille va de quelques centimètres à une trentaine de centimètres.

Le nombre d'ovules est variable. Ils évoluent pour former une graine arquée, exalbuminée, qui est d'ailleurs souvent riche en composés à haute valeur alimentaire comme : l'amidon (pois, fèves, lentilles), des lipides (arachides, graines de soja), des protéines (graines de soja) **(Wojciechowski *et al*, 2004).**

I.3.3 Répartition géographique des Fabaceaes

Les Fabaceaes constituent la troisième famille des angiospermes de par le nombre de ses représentants. Elles ont une distribution quasi cosmopolite et se trouvent dans les zones tropicales, subtropicales ou tempérées (figure 1). Cette famille s'accommode d'une très large gamme d'habitats, et inclut autant de plantes herbacées, aquatiques ou xérophytes, que des arbustes, des arbres ou des plantes grimpantes à lianes volubile vrilles **(Heywood V H, 1996).**

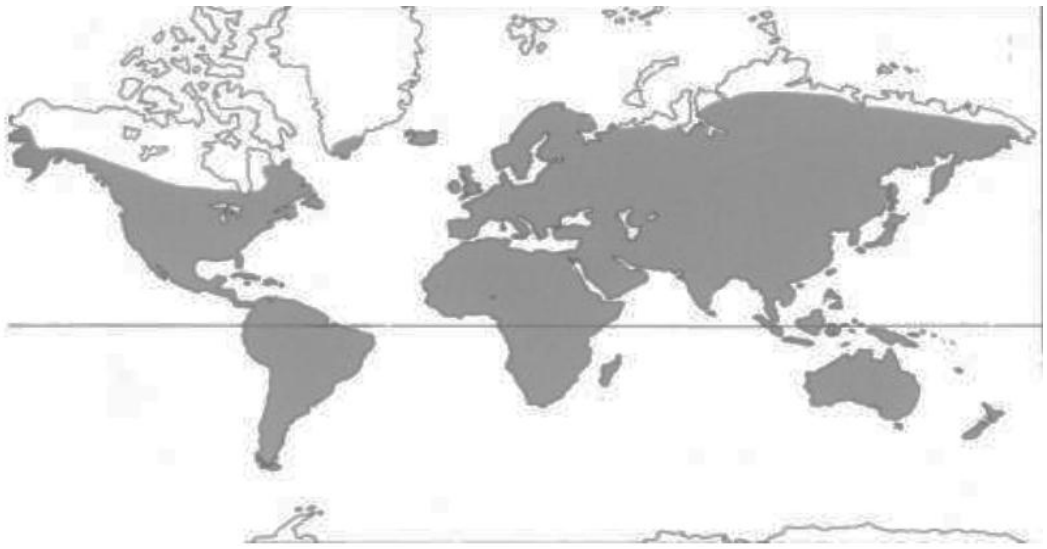


Fig. 01 : Carte de répartition de la famille des Fabaceaes **(Heywood V H, 1996)**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

I.3.4 Situation des ressources naturelles des légumineuses au Maghreb

La région du Maghreb, située dans le nord-ouest de l'Afrique, comprend cinq pays qui bordent l'océan Atlantique (Mauritanie, Maroc) et la mer Méditerranée (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye). Considérant la gestion locale de la biodiversité agricole, on distingue successivement quatre grands types de milieux : la région côtière tempérée, les zones montagneuses, la steppe couvrant les hautes plaines, et les oasis du désert du Sahara. Ces milieux abritent une flore riche très typée de la biodiversité en particulier pour les mécanismes adaptatifs à l'aridité.

La région fait partie du centre d'origine méditerranéen défini par Vavilov pour la biodiversité agricole et continue d'être la source de nouveaux caractères, en particulier de résistance à la sécheresse et à la salinité, recherchés pour l'amélioration de la production agricole d'un grand nombre de cultures importantes au niveau mondial comme les légumineuses (luzernes) **(El Gazzah et Chalbi1995).**

I.3.5 Rôle des légumineuses spontanées en Méditerranée

Les plantes de la famille des légumineuses sont une composante principale de tous les habitats du bassin méditerranéen. C'est là en effet où il y a la plus grande concentration en nombre d'espèces de légumineuses. On compte 91 genres et 1956 espèces. Ainsi, la Méditerranée est le centre de diversité pour les espèces de légumineuses **(Maxted et Bennett, 2001a)**, Les légumineuses spontanées jouent plusieurs rôles (**Lemordant *et al,* 1977 ; Boulos, 1983 ; Le Floch, 1983 ; Boukef, 1986 ; Wickens *et al,* 1996).** Elles jouent un rôle dans les usages médicinaux traditionnels des populations rurales *(Ceratonia siliqua),* dans l'alimentation humaine *(Ceratonia siliqua, Lathyrus ochrus, Vicia sativa,* etc.). Leur rôle majeur est dans le fourrage. Cependant certaines de ces espèces peuvent présenter une toxicité reconnue ou présumée *(Anthyllis henoniana, Cystisus villosus,* etc.) du moins durant une période de leur cycle de développement **(Maxted et Bennett 2001b)**, présentent dans leur revue sur les légumineuses en Méditerranée, une liste des espèces ayant une importance économique (fourragère ou alimentaire pour l'homme) **(Lemordant *et al,* 1977)**.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

I.3.6 Importance des légumineuses dans les systèmes de culture

L'azote fixé par les légumineuses peut être utilisé d'abord par les légumineuses, puis par les cultures suivantes. Utilisées en rotation ou en association dans les systèmes de culture **(LaRue et Patterson, 1981)**.

Les légumineuses apportent une certaine contribution en azote en fixant et en intégrant une partie de l'azote atmosphérique. Les résidus des légumineuses sont plus riches en azote et contribuent à enrichir le sol en cet élément. Les cultures succédant aux légumineuses peuvent aussi bénéficier indirectement de l'azote fixé par l'entremise des résidus laissés par la légumineuse **(Chalck, 1998).**

Il est maintenant bien établi que les précédentes légumineuses augmentent généralement les rendements des cultures non fixatrices d'azote, effet positif des légumineuse sur la culture suivante, certains auteurs attribuent l'effet bénéfique des rotations à l'amélioration des propriétés physiques et biologiques des sols **(Hoshikawa, 1990)** et à la capacité de quelques légumineuses à solubiliser des phosphates de calcium et le phosphore par leurs exsudats racinaires **(Nagarajah *et al,* 1970 ; Arihara et Ohwaki, 1989 ; Gardener *et al,* 1981 ; Subbarao *et al,* 1997).**

I.4 Types des légumineuses

I.4.1 Les légumineuses à graines

Les légumineuses à graines constituent toujours une partie importante de l'alimentation du monde, particulièrement dans les pays en développement où elles sont la principale source de protéines pour l'homme, les légumineuses qui fournissent des graines sèches pour la consommation humaine sont cultive dans le monde entière, Les graines de légumineuses sont plus riches en protéines et moins riches en glucides que celles de céréales (**Rienke et joke, 2005)**.

Parmi ses légumineuses à graines citons le Haricot (*Phaseolus vulgaris*) en Amérique Latine, le Pois Chiche (*Cicer arietinum*), la lentille (*Lens culinaris*) et la Fève (*Vicia faba*) dans le bassin méditerranéen, le Soja (*Glycine max*) en Asie sans oublier l'Arachide (*Arachis hypogea*) et le Pois (*Pisum sativum*) dans le monde entier **(Gharzouli et Penguedowar, 2006)**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

I.4.2 Les légumineuses fourragères

Les légumineuses sont aussi considérées comme une excellente source de fourrages, les légumineuses fourragères sont une autre source de protéines pour l'alimentation du bétail (luzerne, trèfle) soit sous la forme de foin ou bien consommées dans les prairies ou les parcours.

Certaines légumineuses peuvent aussi être cultivées en association avec des céréales et contribuer ainsi à accroître la production et augmenter la fertilité du sol. Le dolique est souvent cultivé en association avec le millet ou le maïs (**Rienke et joke, 2005)**.

I.5 L'utilisation des légumineuses

I.5.1 L'alimentation humaine

Les légumineuses présentent plusieurs atouts, en tant que source de protéines végétales pour l'alimentation humaine avec l'évolution des régimes alimentaires incorporant, la plupart des légumineuses a graine sont destinées presque exclusivement à la consommation humaine, sont utilisées dans la préparation de quelque recette de cuisine et la fabrication de produits de boulangerie ou de nourriture pour bébés **(Voisin A.S. *et al, 2013*).**

Ces plantes se cultivent facilement et donnent des graines qui sont conservent bien en hiver lorsqu'elles sont sèches. Mais dans la plupart des pays européens, la consommation de ces légumineuses a beaucoup chuté **(Jean duval, 2008)**.

I.5.2 L'alimentation animale : Fourrages et granulés

Dans les prairies, on trouve de l'herbe mais aussi des plantes riches en protéines comme les trèfles, le sainfoin, la vesce. Toutes ces plantes sont très importantes pour l'alimentation animale mais elles ne sont pas suffisantes pour les élevages actuels.

Les légumineuses étaient principalement cultivées pour la production de fourrages riches en protéines. Ces cultures étaient insérées dans les systèmes de polyculture-élevage en raison de leur rôle agronomique vis-à-vis de l'azote dans la rotation, la surface de cultures pures des légumineuses fourragères est le résultat de la révolution fourragère **(Voisin A.S. *et al, 2013*)**.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Ont favorisées une forte spécialisation des systèmes de production pratiqués, avec une séparation géographique entre production animale et végétale et des rotations de plus en plus courtes. Cette évolution, basée sur le choix d'espèces cultivées assurant la meilleure rentabilité à court terme, a conduit à l'abandon d'espèces produisant certains services agronomiques et environnementaux telles que les légumineuses **(Schott *et al*, 2010).**

I.5.3 L'utilisation économiques et leur importance

La vaste sous famille des fabacées regroupe de nombreuses plantes utiles recevant des applications industrielles, alimentaires ou encore ornementales (**Mitaine O *et al, 2003)***

L'intérêt industriel résulte du fait que beaucoup d'espèces de cette famille fournissent des produits industriels tels que le *Soja* qui est utilisé à grande échelle dans l'élevage industriel, les *Derris* et les *Lonchocarpus* qui donnent les roténoïdes insecticides, utilisés contre les parasites des animaux domestiques, des habitations et des végétaux **(Linuma M *et al*, 1993).**

D'autres espèces produisent des substances colorantes, et d'autres sont utilisées en parfumerie comme *Pterocarpus santallinus*. Certaines espèces sont ornementales tels que le Robinier, faux Acacia, Cytise, Glycine, … etc **(Antonio G *et al, 1997)***

I.5.4 L'utilisation thérapeutique

L'intérêt pharmaceutique des fabacées est à son tour très important vu le nombre élevé d'espèces figurant dans les pharmacopées et donnant de nombreux produits utilisables en thérapeutique **(Mekkiou R, 2005)**

Beaucoup d'espèces de fabacées ont des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle, ce sont des espèces de très grande importance alimentaire et ayant de leurs propriétés antidiurétiques, stimulantes, diététiques et action antihémorragique au niveau des capillaires **(Mekkiou R, 2005).**

Des études épidémiologiques examinées la relation entre la consommation de légumineuses (haricots Pinto, haricots rouges, doliques à œil noir, arachides et beurre d'arachides) et la diminution des facteurs de risque nutritionnels des maladies cardiovasculaires, Toutefois, les mécanismes biologiques exacts expliquant l'influence des

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

fibres alimentaires sur la santé cardiovasculaire ne sont pas entièrement compris **(King DE, 2005).**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

CHAPITRE II

L'ASTRAGALUS ARMATUS

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

II.1 Historique

Les végétaux peuplaient la planète bien avant l'homme et ont d'abord servi à le nourrir *via* la cueillette puis la culture **(Lorrain E, 2013)**. Leur emploi a rapidement évolué en constatant leurs propriétés thérapeutiques pour traiter les blessures et les maladies. L'utilisation des arômes était également connue des civilisations de l'antiquité pour des usages religieux, cosmétiques mais aussi thérapeutiques **(Lardry et Haberkorn, 2007).**

Le mot astragale est d'origine grecque ; il désigne l'os de la cheville ou plus exactement l'un des os de l'articulation tibiotarsienne. La dénomination d'astragale vient de la ressemblance du bruit des graines séchées de la plante avec celui de l'os, quand ils tombent sur une surface solide **(James L *et al* 1981)**, un grand nombre d'études ont été réalisées à la fois sur les astragales du Nouveau Monde et de le monde ancienne **(Bunge, 1868)**

II.2 Le genre *Astragalus*

Le genre *Astragalus* est l'un des plus importants genres de la famille des légumineuses. Ce genre est représenté dans le monde par plus de de 3 000 espèces **(Scherson *et al*, 2008)** à fort taux de diversification, de spéciation et d'endémisme **(Sanderson et Wojciechowski, 1996)** et dont l'origine probable est l'Eurasie, ont été identifiés deux centres de diversification qui sont l'Eurasie et l'Amérique du Nord **(Wojciechowski *et al*, 1999)**.

II.2.1 Description botanique

Les astragales sont des plantes herbacées annuelles ou vivaces à feuilles composées imparipennées généralement stipulées à plus de 3 folioles. Les fleurs sont hermaphrodites à périanthe double. Le Calice est caduque ou persistant, tubuleux en cloche, à 5 sépales subégales ou inégales. La corolle est papilionacée dont les pétales sont généralement onguiculées. L'étendard est dressé, la carène égalant souvent les ailes, Les étamines sont au nombre de 10, à filets didelphes soudés en un tube staminal fendu, contenant au sommet un ovaire pluri ovulé à ovules sur 2 rangs. Le fruit est une gousse de forme variée, le plus souvent sec, pluriloculaire à 2 loges plus ou moins complètes par intro flexion de l'une des sutures, déhiscente ou indéhiscente **(Quézel et Santa, 1962).**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

II.2.2 Répartition géographique

L'Astragalus L. (*Fabacée)*, est un genre largement distribué dans toutes les régions tempérées du monde, Il est distribué principalement dans les régions froides, les régions montagneuses arides et semi-arides de l'Hémisphère Nord (Europe, Asie, Amérique du Nord) et en Amérique du Sud. En Afrique du Nord **(Khalfallah *et al,* 2014)**.

Dans les pays du bassin Méditerranéen cinq cents espèces ont été décrites dont une cinquantaine en Afrique du Nord **(Raynaud C, 1982 ; Johandiez E et Maire R, 1932)**. Au Sahara Algéro-Marocain, une quinzaine d'espèces ont été identifiées **(Ozenda P, 1958)**.

La croissance des espèces du genre *Astragalus* se produit de l'automne au printemps. Elles demeurent vertes pendant l'hiver quand l'herbe est peu disponible **(Colegate *et al*, 1985).** Chez certaines espèces, les graines peuvent maintenir leur vitalité pendant quarante ans **(James L F *et al* 1981 ; Nielson D B, 1978).**

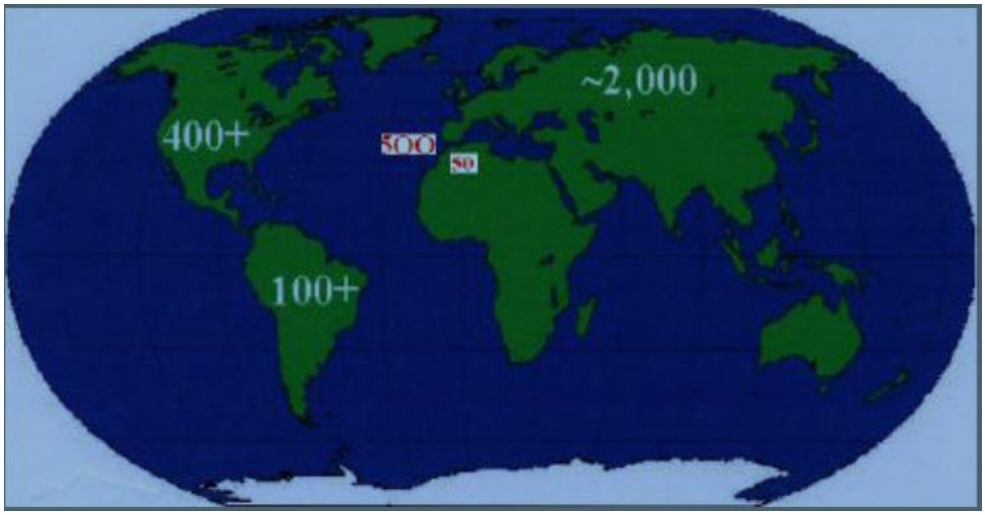


Fig. : 02 : Répartition du genre *Astragalus* dans le monde **(Bel-kassaoui, 2007).**

II.2.3 Le genre *Astragalus* en Algérie

Le genre *Astragalus* est assez bien représenté en Algérie. En effet, la flore algérienne comporte 40 espèces d'astragales (45 taxons en comptant les sous espèces). Ces espèces se divisent en espèces annuelles et vivaces qui colonisent plusieurs types d'habitat et appartiennent à différentes aires de répartition (Tab 1). Parmi ces espèces, une seule espèce *(astragalus armatus)* ont fait l'objet de cette étude **(Quézel et santa, 1962).**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Tableau 01. Espèces du genre *Astragalus* L. en Algérie décrites par **(Quézel et Santa, 1962).**

Section*	Espèces	(2n)**	Type de plante	Chorologie	Habitat
***Annulares* DC**	*A. cruciatus* Link.***	16	A	Méd.- Sah.	Pâturages, clairières, rocailles arides
	A. mauritanicus Coss. et Dur.	28	A	Bét.- Rif.	Pâturages rocailleux
	A. geniorum Maire	16	A	End.	Lit des oueds désertiques
	A. corrugatus Bertol.	32	A	Sah.- Sind.	Pâturages désertiques
	A. gyzensis Del.	48	A	Sah.- Sind.	Pâturages sablonneux
	A. eremophilus Boiss.	16	A	Sah.- Sind.	Lit des oueds sahariens
	A. mareoticus Del.	28	A	Sah.- Can.	Steppes, Oueds sahariens
***Sesamei* DC**	*A. gryphus* Coss. et Dur.	16	A	End. W.N.A.	Pâturages arides
	A. scorpioides Pourret	48	A	Ibéro.- Maur	Broussailles, pâturages
	A. sesameus L.	16	A	W. Méd.	Pâturages, forêts claires
	A. stella Gouan	16	A	Méd.	Pâturages
	A. geniculatus Desf.	16	A	Ibéro-Maur	Pâturages, forêts
	A. sinaicus Boiss.	16	A	Méd.-Iran-Tour	Pâturages arides
	A. tribuloides Del.	16	A	Sah.	Pâturages désertiques

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

***Astragalus* Boiss**	*A. pseudotrigonus* Batt. et Trab.***	16	A	End.- Sah.	Pâturages sablonneux désertiques
	A. gombo Coss. et Dur.	16	A	End. N. Sah.	Pâturages sablonneux désertiques
	A. gomboeformis Pomel	16	A	End. N. Sah.	Pâturages sablonneux désertiques
	A. akkensis Coss.	N/A	A	End. Sah.	Rocailles désertiques
	A. Faurei Maire	N/A	V	End. Traras	Rocailles
***Buceras* DC**	*A. edulis* Coss. et Dur.	14, 28	A	Bet.- Mar.	Pâturages
	A. hamosus L.	32, 24, 40, 44, 46, 48	A	Méd.	Pâturages, forêts Claires
***Drepanodes* Bge**	*A. falciformis* Desf.	16	V	End. E.N.A.	Pâturages
	A. Reinii Ball.	N/A	V	End. G Atlas-Ouar	Broussailles
***Hypoglottidei* DC**	*A. glaux* L.	16	V	W. Méd.	Forêts claires. Broussailles
	A. bourgeanus Coss.	N/A	V	Ibéro- Mar.	Pâturages
***Incani* DC**	*A. incanus* L.	16	V	W. Méd.	Pâturages arides
	A. monspessulanus L.	16	V	Méd.- Eur.	Forêts claires, pâturages
***Platyglottis* Bge**	*A. Font-queri* Maire et Sennen	N/A	V	End. E.Mar.	Pâturages arides
	A. peregrinus Vahl.	16	A	E. Méd.	Steppes
***Alopecuroidei* DC**	*A. Narbonensis* Gouan	16	V	W. Méd.	Forêts claires, steppes
***Caprini* DC**	*A. caprinus* L.	16	V	Méd.	Broussailles, pâturages

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Cyamodes Bge	*A. baeticus* L.	30	A	Méd.	Forêts claires
Epiglottis Bge	*A. epiglottis* L.	16	A	Méd.	Broussailles, pâturages
Herpocaulos Bge	*A. Vogelii* (Webb.) Borm.	N/A	A	Paléo-trop. Sah.	Pâturages désertiques
Onobrychoidei DC	*A. Onobrychis* L.	16, 32, 64	V	Eur.- Iran-Tour.	Rocailles arides
Ornithopodium Bge	*A. tenuifoliosus* Maire	N/A	V	Ibéro- Maur.	Pâturages arides
Pentaglottis Bge	*A. echinatus* Murr.	28	A	Méd.	Broussailles, terrains argileux
Poterion Bge	*A. armatus* Willd***	16	A	End. N.A.	Pâturages arides
Tapinodes Bge	*A. depressus* L.	16	V	Oro- Méd.	Rochers des hautes montagnes
Incertain	*A. lusitanicus* Lamk	16	V	Méd.	Forêts claires, broussailles

A : annuelle, V : vivace, N.A. : Nord-Africain, Ibéro-Maur. : Ibéro-Mauritanien, Ibéro-Mar. : Ibéro-Marocain, Mar. : Marocain, Bét- Rif.: Bético-Rifain, Méd. : Méditerranéen, Sah. : Saharien, Sah-Sind. : Sahara –Sindien, Afr. : Africain, End. : Endémique, Trop. : Tropical, Paléo-trop. : Paléo-tropical, Irano-Tour. : Irano-Touranien, Oro. : Montagnard, Eur. : Européen, Can. : Canarien, N.: Nord; S. : Sud; E. : Est; W.: Ouest.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

II.2.4 Les composés chimiques *d'Astragalus*

Le genre *astragale* semble fortement uniforme d'un point de vue chimique, avec deux genres de principes pharmacologiquement actifs et trois genres différents décomposés toxiques. Dans l'ancien groupe les polysaccharides et les saponines se tiennent dehors, et dans la seconde, les alcaloïdes d'indolizidine (swainsonine et son dérivé d'N-oxyde, et le ntiginosine) les endecaphyllinsnitro de composés (dérivés nitropropionque d'acide-glucose) et 3-nitropropylglucosides, et les dérivés sélénifères (selenocysteine, - cystathionine, - cystine, etméthionine) là sont d'autres composés intéressants, tels que des flavonoïdes (flavonols, flavones, isoflavones, et flavylions) sous les formes libres et glycosidiques ; lespterocarpans libèrent et comme glucosides et dérivés acides organiques (acides homopilosinique et phaseique) **(Rios J L *et al,* 1997).**

II.2.5 Importance économique de *l'Astragalus*

Du point de vue économique et industriel, certaines espèces sont utilisées comme source de gomme adragante, un aliment très connu et un émulsifiant pharmaceutique, substance largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique et dans la production de divers produits alimentaires comme les crèmes glacées, les lotions, les spiritueux et les gommes à mâcher **(Gentry, 1957 ; Zarre-Mobarakeh, 2000).**

L'utilisation la plus commune de l'astragale est comme fourrage pour bétail et animaux sauvages, bien que 32 ait été identifiés pour l'utilisation en nourritures, un certain nombre d'espèces sont toxiques pour le bétail et dans beaucoup de cas les toxines ont pu être transférées aux humains par la viande ou le lait **(Riosj L *et al,* 1997).**

II.2.6 Intérêt médicinal de *l'Astragalus*

En médecine traditionnelle, les plantes sont utilisées depuis des millénaires par les Hindous et les Chinois **(Chaudhary *et al*, 2008)**. En Inde, la pâte de feuilles est utilisée pour réduire le taux de sucre dans le sang **(Anonyme, 1985)**, alors que les racines sont mâchées par les femmes pour stimuler la lactation. D'autres études bibliographiques ont confirmé qu'*A. malacophyllus* Benth. Présente des activités antituberculeuses, antitussives et de purification du sang **(Verbeken *et al*, 2003)**.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

En Chine, les racines d'astragales sont utilisées comme tonique, pour le traitement du diabète et des néphrites **(Chaudhary *et al*, 2008)**. Elles sont également utilisées pour la régénération des tissus, la cicatrisation des plaies et la fabrication de médicaments visant à renforcer le système immunitaire après les traitements anticancéreux **(Gao *et al*, 2001 ; Duan et Wang, 2002 ; McCulloch *et al*, 2006 ; Tin *et al*, 2007)**.

II.3 L'espèce étudiée

La plantes étudiée ont été choisies en fonction de leur emploi généralement très fréquent en Algérie, notamment dans la région semi-aride de Tébessa (Bir el-Ater), elle possède une vertu thérapeutique efficace, leur utilisation la plus connue comme une source des fourrage (*astragalus armatus*).

II.3.1 *Astragalus armatus*

Astragalus armatus est un arbuste endémique de l'Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie), Espère méditerranéenne présente dans la zone pré désertique du Sahara septentrional, elle est associée à la désertification dans les zones arides en raison de surpâturage. En Algérie sur tout dans la région semi-aride de Tébessa (Bir el-Ater) connu sous le nom el kdad **(khalfallah *et al,* 2014).**

II.3.2 Descriptions botaniques

C'est un arbrisseau de 80cm de hauteur, très rameux, Cette espèce est très épineuse à épines blanchâtres figure 3, le rachis des feuilles se transforme en épine acérée après la chute des folioles. Les pétioles deviennent durs et aigus, les folioles petites très caduques ; rameaux écailleux et glabres. Les feuilles fraîches bien vertes avec de nombreuses avec petites folioles forment d'abord un bouquet serré puis elles s'éloignent de la tige, en séchant les folioles tombent. Il ne reste plus qu'une longue épine. La floraison a lieu à la fin de l'hiver et se poursuit jusqu'à la fin du printemps. Les fleurs sont blanches et nombreuses tout autour de la tige. Le calice est poilu et renflé. Il contient le fruit **(Sahara Nature ; Ozenda, 2004).**

Les gousses sont uniloculaires, demeurent enfermées dans le calice fortement accrescent, à parois parcheminées, glabres réticulées **(Quezel et Santa, 1962).**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com



Fig. 03 : *L'Astragalus armatus L* (Fabaceae)

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

II.3.3 Classifications botaniques

Embranchement	Spermaphyte
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Ordre	Fabale
Famille	Fabaceae
Genre	*Astragalus*
Espèce :	*Astragalus armatus* L **(Ozenda, 2004).**

✓ **Nom commun :**

Nom binomial : *Astragalus armatus* L

Nom vernaculaire Algérien : El Kdad

Nom vernaculaire Français : Astragale vulnérant

II.3.4 Répartitions géographiques

Ce taxon est très répandu, elle possède une aire géographique très vaste en Afrique du Nord, en algerie *l'Astragalus armatus* présente en colonies dans la zone pré désertique du Sahara septentrional. C'est l'un des plantes les plus populaires en Algérie puisqu'il se rencontre dans tous les montagnes des régions semi-arides, la croissance des espèces du genre *Astragalus*, se produit de l'automne au printemps **(Boual, 2014).**

II.3.5 Les composés chimiques de *l'Astragalus armatus*

L'Astragale contient de nombreux éléments actifs, tels que des flavonoïdes, des polysaccharides, des glycosides triterpènes (de type astragalosides), des acides aminés et des traces de minéraux. L'Astragale contient également un flavonoïde nommé astragaline, qui est un puissant antioxydant **(Khalfallah *et al,* 2014).**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

II.3.6 L'utilisation thérapeutique de *l'Astragalus armatus*

L'Astragale en Nord de la Chine. Les parties de la plante utilisées sont les racines cueillies au printemps et séchées pendant 4 ou 7 ans. Cette la plante a été la plus étudiée et soumise à des recherches intenses en botanique comme en pharmacologie. Les différentes recherches sur l'Astragale démontrent que :

- Les propriétés immunitaires de cette plante semblent ramener à un niveau normal le nombre de cellules T (un globule blanc de la famille des lymphocytes) dans les cas de certains cancers.

- Les recherches en laboratoire sur certains extraits de la racine ont démontré un effet protecteur au niveau des cellules hépatiques soumises à certains toxiques. Un effet anti-inflammatoire a également été constaté.

Comme agent thérapeutique, l'astragale est recommandée dans les cas de**: f**aiblesse, engourdissements, asthme, nervosité, tendance aux infections, transpirations nocturnes, rhumes et grippes, douleurs arthritiques, déficience du système immunitaire et insuffisance de production d'urine.

Ainsi malgré le fait que l'Astragale soit un des remèdes naturels les plus utilisés, on ne reporte cependant aucun cas de toxicité ou de problèmes quelconques reliés à son utilisation. On considère donc que cette plante ne présente aucune contre-indication lorsque utilisée selon les recommandations, et que son usage prolongé ne présente aucun problème **(Khalfallah *et al,* 2014).**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

III.1. Matériels végétales

Les graines d'astragales étudiées ont été collectées sur terrain de différentes zones de la wilaya de Tébessa et sont rapportée dans le tableau suivant.

Tableau 02 : Variétés d'astragales étudiés

Variétés	Zone	symbole
01	Youkous	Yo
02	Youkous	Yo
03	Youkous	Yo
04	Tnoukla	Tn
05	Tnoukla	Tn
06	Tnoukla	Tn
07	Saf Saf	Sf
08	Saf Saf	Sf
09	Saf Saf	Sf
10	Bir el ater	Ba
11	Bir el ater	Ba
12	Bir el ater	Ba
13	Bekaria	Bk
14	Bekaria	Bk

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

III.2. Préparation des échantillons

On fait un broyage des graines au mortier jusqu'à l'obtention de la farine, Pour chaque échantillon mette 1 g de graine broyée dans les tubes Eppendorf (fig. 04).

III.2.1 Extraction des protéines totales

Plusieurs protocoles expérimentaux ont été pratiqués pour procéder à l'extraction des différentes fractions protéiques, la mise au point du protocole d'extraction des protéines est réalisé selon le technique de **(Laemmli, 1970)** qui a été améliorée au niveau du laboratoire.

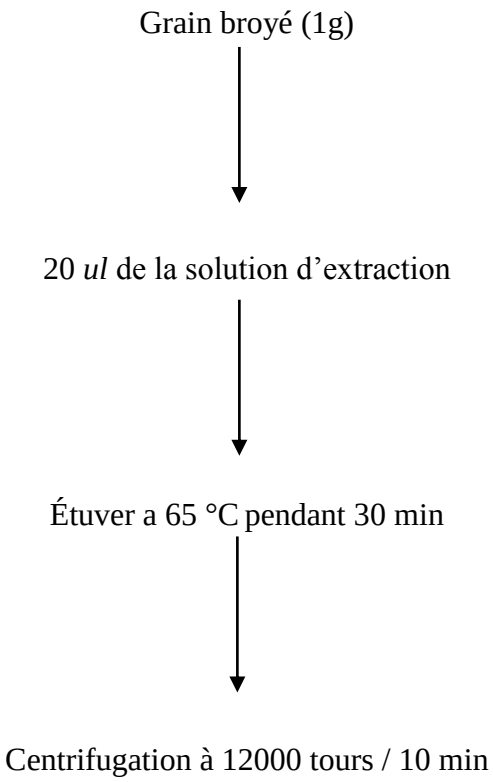


Fig. 04 : Extraction des protéines totales selon la technique de (Laemmli, 1970)

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

III.3. Technique d'électrophorèse

L'électrophorèse est une technique physicochimique qui sépare des constituants ionisés dans un champ électrique. Cette technique biochimique de séparation fondée sur le fait que des molécules portant des charges électriques différentes migrent à des vitesses différentes lorsqu'elles sont placées dans un champ électrique. Si l'idée d'utiliser cette caractéristique pour séparer des molécules remonte à la fin du dix-neuvième siècle, c'est le biochimiste suédois Arne Tiselius (1902-1971), prix Nobel de chimie en 1948, qui réussit le premier à séparer par cette technique les protéines contenues dans des liquides biologiques complexes comme le sérum sanguin et le lait. Aujourd'hui, l'électrophorèse est devenue une technique de routine dans les laboratoires où on l'utilise pour séparer notamment les protéines et les acides nucléiques. L'électrophorèse des protéines peut être réalisée sur des supports variés, notamment sur gel de polyacrylamide ou sur gel d'agarose selon les informations recherchées.

L'électrophorèse de protéines sur gel d'agarose est la technique la plus aisée et la moins coûteuse à mettre en œuvre dans un établissement d'enseignement avec un matériel limité. Elle nécessite simplement une cuve à électrophorèse et une alimentation continue.

III.3.1 Principe de l'électrophorèse

L'électrophorèse est une technique qui permet de séparer des molécules, notamment des protéines, selon leur charge électrique. Quand elles se trouvent à un pH différent de leur pH isoélectrique, les protéines sont électriquement chargées. Placée sur un support, gel d'amidon ou d'acrylamide, et sous l'action d'un champ électrique pendant un temps déterminé, les protéines se dirigent vers l'électrode de charge opposée et parcourent une distance proportionnelle à leur charge électrique. Leur distance de migration dans le gel est fonction de l'intensité et de la durée du courant appliqué, du pH auquel s'effectue la séparation et de la résistance mécanique opposée par le gel **(Bourgoin-Greneche *et al*, 1993)**.

Une autre technique d'électrophorèse (électrophorèse en présence de SDS) consiste à enrober les protéines avec des charges négatives et à les séparer suivant leur taille en choisissant comme support le gel d'acrylamide qui joue un rôle de tamis moléculaire. Les petites protéines migrent alors plus vite que les grosses.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

A la fin de la migration, les protéines sont mises en évidence par une réaction biochimique qui révèle chacune d'entre elles sous forme d'une bande colorée. L'ensemble des bandes observées constitue le diagramme protéique.

Deux types de protéines sont généralement étudiés :

- Les enzymes, protéines ayant des propriétés catalytiques, indispensables dans de nombreuses réactions biochimiques, permettant la transformation d'un substrat en un produit.

Elles sont mises en évidence de façon spécifique : au cours de la révélation le produit accumulé par l'enzyme est impliqué dans une seconde réaction qui conduit à la coloration visualisée sur le gel.

- Les protéines totales (protéines de réserve ou protéines de structure) sont mises en évidence de façon aspécifique : toutes les protéines en quantité suffisante pour être détectées sont révélées par la coloration.

La mobilité est fonction de :

- La charge électrostatique nette des protéines à un pH donné
- La dimension et la forme des protéines
- L'intensité du champ électrique (tension aux électrodes, conductibilité du support)
- La taille des mailles du support solide
- La force ionique tu tampon
- La température de l'électrolyte

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

III.3.2 Préparation des gels

Les plaques de verre qui servent de moule pour la polymérisation des gels sont nettoyées à l'éthanol. Elles sont ensuite assemblées avec deux espaces d'une épaisseur de 1,5mm chacun.

a. Le gel de séparation (running gel) à Ph 8,8

Ce gel à T=12,8 % est constitué d'acrylamide à 35% (p/v), de N, N'méthylène bis-acrylamide à 2% (p/v), de tris-HC1 1M à pH 8,8 de SDS à 10% (p/v).La réaction de polymérisation est catalysée par de l'ammonium persulfate (APS) à 1% ainsi que du Temed. Le gel est bien mélangé puis coulé entre les deux plaques. Ces dernières ne doivent pas être remplies complètement, afin qu'une couche de gel de concentration, d'une hauteur de 4cm puisse être coulée. Une fine couche de n-butanol est déposée sur le gel de séparation. Elle constitue une barrière entre le gel et l'air. Le gel polymérise à température ambiante pendant 45 minutes environ.

b. Le gel de concentration (stacking gel) à pH 6,8

Ce gel à T=2,8% a pour rôle de concentrer les protéines, de les mettre au même niveau et de retenir les impuretés. Il a la même composition que le gel de séparation, sauf que le tris¬HC1 est à pH 6,8. Après polymérisation du gel de séparation, le n-butanol est rincé et le gel de concentration est coulé de façon à remplir les moules. Des peignes à 15 puits sont rapidement insérés dans le gel de concentration. Ce dernier polymérise entre 90 et 180 minutes. Les peignes sont ensuite enlevées et les puits sont remplis avec du tampon avant le dépôt des échantillons.

III.3.2.1 Tampon d'électrophorèse

Après dépôt des échantillons, la cuve d'électrophorèse est remplie avec un volume suffisant de tampon de migration, composé de glycine, de Tris et de SDS.

III.3.2.2 Conditions de migration

La température de la cuve est maintenue aux environs de 10°C grâce à un système de refroidissement qui lui est raccordé. Pour une cuve de deux gels de 180 x 160 x 1,5mm de dimension chacun, la migration est menée à une intensité de courant de 80m A avec une tension maximale de 1200 V.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

III.3.2.3 Fixation, coloration et décoloration

Après la sortie du front de migration, le gel de concentration est éliminés, les gels sont démoulés et mis dans des bacs contenant une solution composée d'un agent fixateur des protéines, le TCA (acide trichloracétique) à 60%, ainsi qu'un produit colorant, le bleu de coomassie R-250. Les becs sont mis an agitation pendant 24 heures. Les gels sont ensuite décolorés deux fois à l'eau.

III.4. Lecture des diagrammes

Pour chaque diagramme électrophorétique, l'intensité des bandes polymorphes obtenues est appréciée sur le gel à l'œil nu et elle est estimée en 1 (présence) et 0 (absence).

III.5. Etude statistique

L'ensemble des mobilités de toutes les bandes a été exploité par l'établissement d'un tableau dichotomique d'identification variétale ainsi que l'établissement de groupes de variétés et le calcul d'indices de ressemblances.

Les traitements statistiques et graphiques de l'ensemble des résultats obtenus ont été réalisés avec le logiciel MINITAB.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSIONS

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

IV. Résultats et Discussions

Notre travail à portée sur une méthode d'électrophorèse monodimensionnelle révélant au mieux le polymorphisme, pour cela nous avons opté pour la technique de **Laemmli (1970).**

La figure (05) montre l'analyse électrophorétique des extraites des protéines totales de graines de l'astragale isolées selon le protocole décrit précédemment.

Sur le profil électrophorétique (fig. 05), on distinguer 4 groupes de bandes selon l'ordre croissant de leur migration avec des mobilités différentes.

On constate qu'il y a une différence assez nette entre les profils, En se basant sur la mobilité, les bandes lentes correspondent a le zone A, les bands intermédiaires correspondent aux zone B et C et les bands rapides corresponds a la zone D.

Les diagrammes renferment, selon les variétés, un nombre différents de bandes électrophorétiques. Chaque variété présente un nombre différent de bands électrophorétiques décelables.

Chacune de variété présente un profil unique qui lui est propre et qui pente ressembler ou pas à une autre variété par la présence ou l'absence d'une ou de plusieurs bandes, un tel polymorphisme peut être utilise comme empreinte génétiques pour l'identification variétale.

IV.1. Etude de la diversité des protéines totales

Le diagramme électrophorétique de 14 échantillons d'astragales analysés renferment, de 14 à 132 bandes décelables qui se répartissent sur les 4 zones, le diagramme sont lus par zone on a identifié 363 bands de protéines totales de mobilités différents. Tout échantillon confondu répartis comme suit

En comparant les profils des 4 zones, nous pouvons relever les observations suivantes :

14 bandes pour zone A

94 bandes pour zone B

132 bandes pour zone C

123 bandes pour zone D

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Les 4 zones sont caractérisées par les mobilités suivantes :

13 mm > Zone A > 28.5 mm

29 mm >Zone B > 49.5 mm

50 mm >Zone C > 74 mm

75.5 mm >Zone D > 99,5 mm

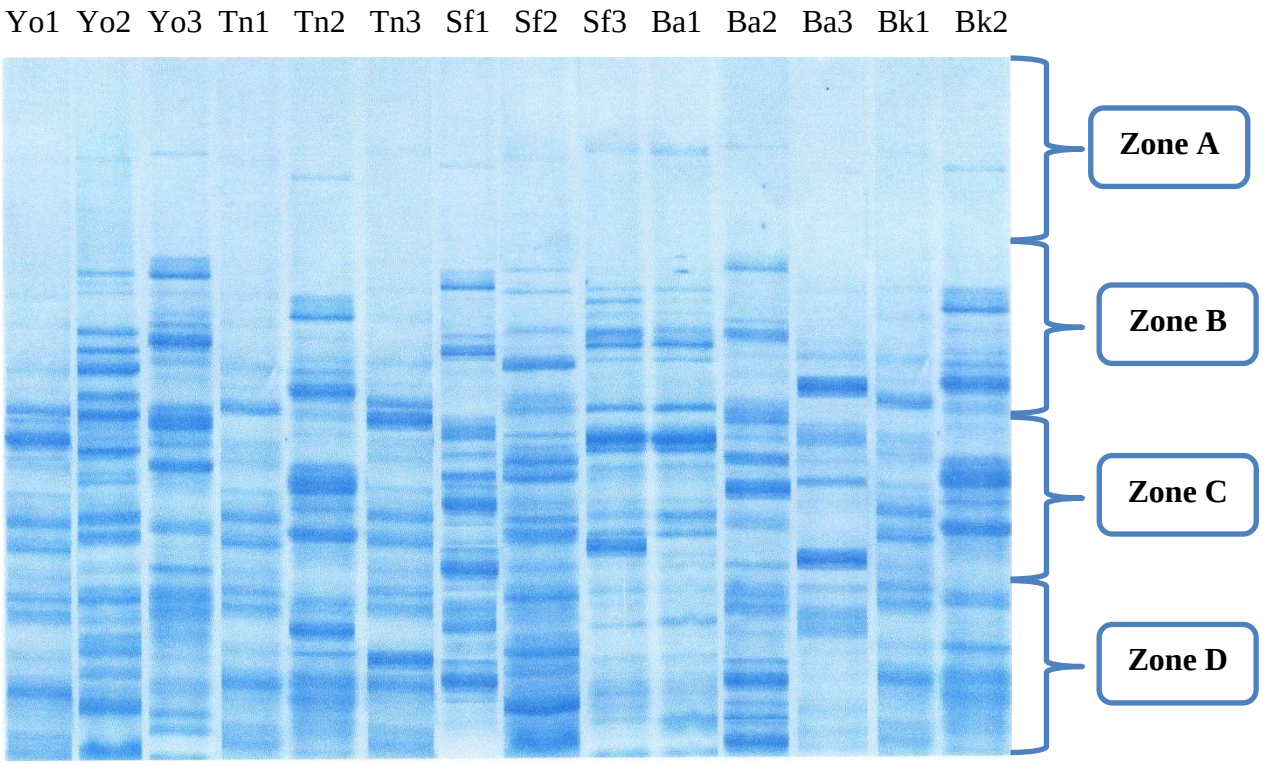


Fig. 05 : Profil électrophoretique des protéines totales des variétés d'astragales étudiées

Yo1 : youkous, Yo2 : youkous, Yo3 : youkous, Tn1 : tnoukla, Tn2 : tnoukla, Tn3 : tnoukla, Sf1 : Safsaf El Ouesra, Sf2 : Safsaf El Ouesra, Sf3 : Safsaf El Ouesra, Ba : Bir el Ater, Ba2 : Bir el Ater, Ba3 : Bir el Ater, Bk1 : bekkaria, Bk2 : bekkaria.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

IV.2. Choix de la région de lecture

Les résultats obtenus par le SDS PAGE montrent que les zones B et C sont les plus polymorphes.

La zone A : constitue de 14 bandes numérotées de la band le plus lent a la band le plus rapide, elle est notées A_1 a A_{14}

Les configurations fréquentes sont celles notamment une seul band ayant par deux mobilités 1.45 et 1.85 qui apparaissent chez 03 variétés

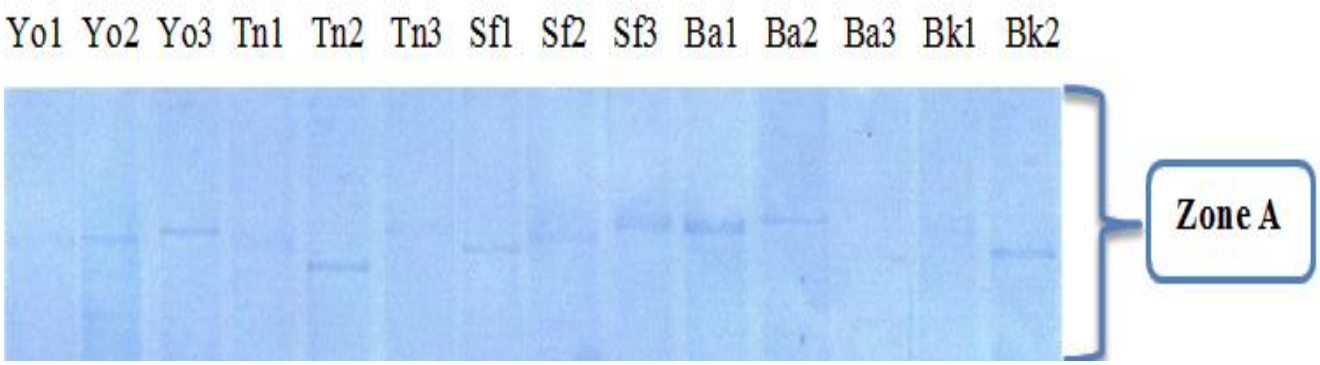


Fig. 06 : Electrophoregramme de zone A pour les protéines totales

La zone B : dans cette zone on remarque de 94 bandes numérotées de la bandes le plus lentes a la bandes le plus rapide, elle est notées B_1 a B_{94}

Les configurations fréquentes montrent une seul bande ayant la mobilité 3.8 qui apparait chez 5 variétés et celle ayant une mobilité de 4.7 qui apparait chez 6 variétés, celles montrant la mobilité 4.3 apparue chez 7 variétés.

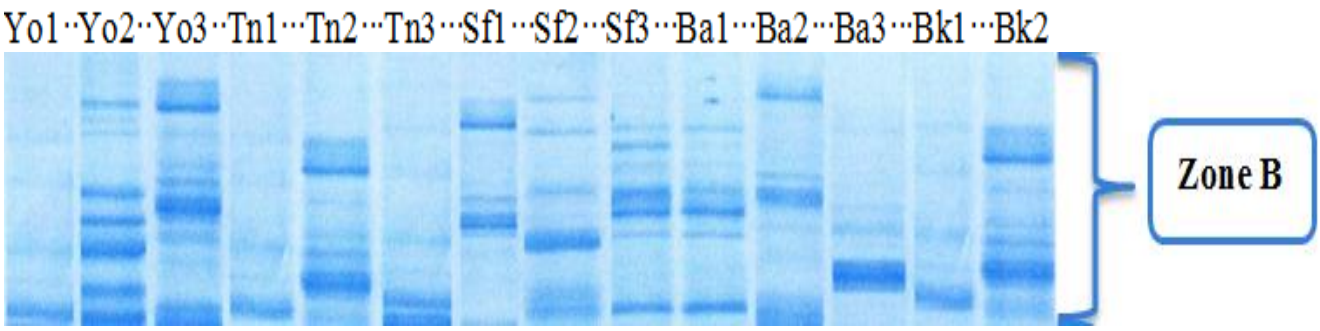


Fig. 07 : Electrophoregramme de zone B pour les protéines totales

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

La zone C : c'est la zone la plus polymorphe, constitue de 132 bandes numérotées de la band le plus lentes a la bandes le plus rapide, elle est notées C_1 a C_{132}

Les configurations remarqués sont celles montrant une bande ayant les mobilités 5.5 qui apparait chez 7 variétés, et celle ayant une mobilité 7.3 qui apparait chez 8 variétés également, et celle ayant une mobilité 5.4 qui apparait chez 9 variétés.

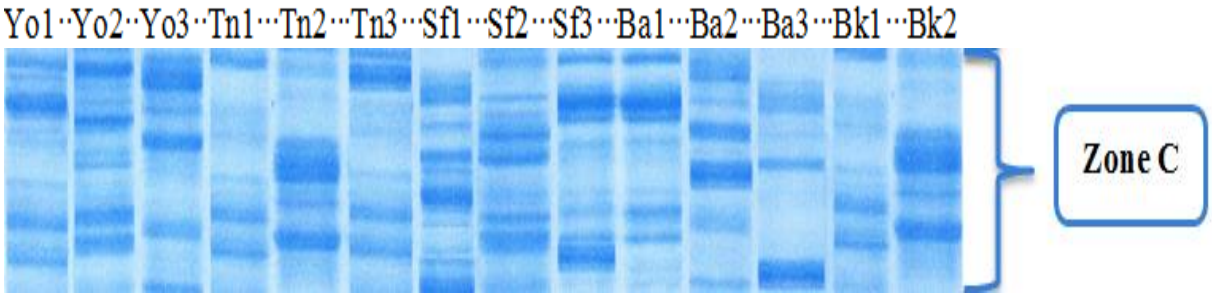


Fig. 08 : Electrophoregramme de zone C pour les protéines totales

La zone D : elle est constituée de 123 bandes numérotées de la band le plus lent a la band le plus rapide, elle est notées C_1 a C_{123}

Les configurations fréquentes sont celles montrant une bande ayant les mobilités 7.6 et 7.8 et 86,4 qui apparaissent chez 7 variétés et les mobilités 8.9 et 9.5 qui apparaissent chez 8 variétés.

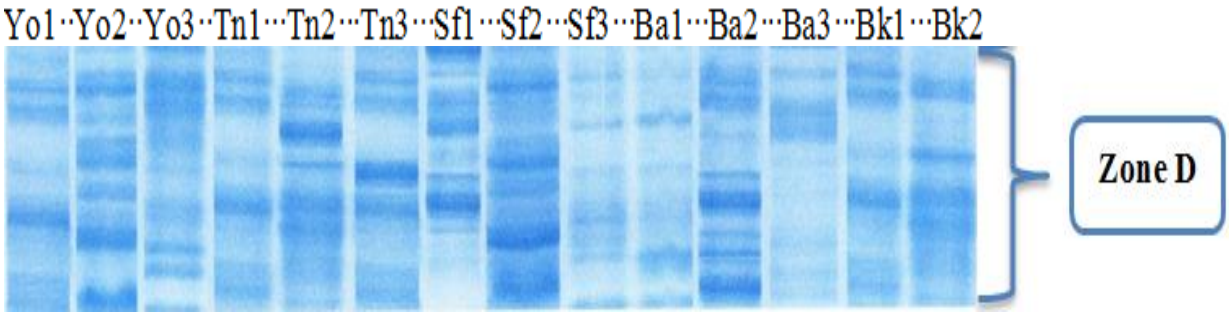


Fig. 09 : Electrophoregramme de zone D pour les protéines totales

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

IV.3. Etablissement du diagramme type variétal

L'analyse du diagramme montre des différences variétales, on a établi un tableau dichotomique d'identification variétales qui est fondé sur un caractère qualitatif (absence ou présence d'une composent), qui aboutit à l'établissement des groupes de variétés ainsi que le calcul de ressemblance entre les variétés afin d'évoluer le polymorphisme génétique entre les variétés étudiées.

Tableau 03 : Clé de détermination des variétés d'astragales représentés dans la figure (5)

0 : absence **1 :** présence

	Yo1	Yo2	Yo3	Tn1	Tn2	Tn3	Sf1	Sf2	Sf3	Ba1	Ba2	Ba3	Bk1	Bk2
1.3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1.45	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1.5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1.6	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1.7	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1.85	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
2.85	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.9	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2.95	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
3.05	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
3.15	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
3.2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.3	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
3.35	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
3.4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3.45	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
3.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
3.65	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.7	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
3.75	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3.8	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
3.9	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
3.95	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
4.05	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
4.15	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
4.2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
4.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
4.3	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1
4.35	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
4.4	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
4.45	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Ce tableau renferme les configurations réelles des protéines dans le gel, il permet de conserver une image réelle du gel. Il peut aussi servir comme base de donnés pour l'établissement d'un catalogue et ont de ce fait une application directe dans l'identification variétales.

IV.3.1 Diagramme observé chez les variétés étudiées

Les diagrammes sont lus par zone, quatre zones ont été identifié (fig05), Le diagramme peut présenter des zones bien individuelles de bandes, pour chaque zone des types (groupes de bandes) sont définis un même groupe referme des variétés qui ont le même profil électrophoretique et qui sont étroitement apparentés.

D'un autre coté les variétés n'appartenant pas au même groupe peuvent avoir des profils très proches.

Le calcul de quelques indices de ressemblances permet d'évaluer le degré de parenté entre les variétés.

IV.3.2 Calcul de l'indice de Similarité (IRS)

Des variétés qui n'appartiennent pas au même groupe peuvent avoir des profils très proches avec parfois une différence au niveau d'une seule bande c'est pour cela que le calcul de IRS permet d'évaluer le degré de parenté entre les variétés.

Selon la méthode de **(Dedio *et al,* 1969).**

IRS = IAS / N ×100

IAS : c'est l'indice de similarité absolu, et il présente l'ensemble des bandes qui ne sont pas significativement différente d'une autre lorsqu'elles sont de même mobilité.

N : nombre totale des bandes présentes.

Les valeurs de l'IRS sont rassemblés dans le tableau 3 sont considérés comme significativement élevés de 85 à 100%, et significativement faibles de 0 à 100%.

Le calcul de l'indice de similarité a permis les observations suivantes :

- Les valeurs de l'IRS varient entre 04% et 100%.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

- Les variétés qui ont des IRS significativement élevés (entre 85% et 100%) sont très proches ou très apparentées ce qui signifie qu'il y a un grand polymorphisme.

- Les variétés ayant des IRS bas (entre 0 et 10%) signifient que les diagrammes présentent de grandes dissemblances.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Tableau 04: Indices de ressemblances entre les diagrammes électrophoretiques des protéines totales en %

Yo1	Yo2	Yo3	Tn1	Tn2	Tn3	Sf1	Sf2	Sf3	Ba1	Ba2	Ba3	Bk1	Bk2	Variétés
100%	20%	14%	11%	12%	10%	11%	18%	08%	06%	17%	14%	11%	11%	**Yo1**
	100%	14%	13%	12%	10%	13%	21%	10%	10%	16%	10%	13%	13%	**Yo2**
		100%	8%	07%	05%	08%	06%	**04%**	04%	11%	11%	06%	10%	**Yo3**
			100%	08%	15%	13%	10%	13%	12%	15%	12%	43%	11%	**Tn1**
				100%	**04%**	20%	08%	18%	19%	18%	11%	14%	42%	**Tn2**
					100%	16%	12%	11%	10%	13%	14%	15%	06%	**Tn3**
						100%	12%	21%	19%	16%	13%	15%	20%	**Sf1**
							100%	11%	10%	15%	11%	13%	08%	**Sf2**
								100%	47%	09%	14%	12%	15%	**Sf3**
									100%	09%	15%	12%	14%	**Ba1**
										100%	10%	12%	15%	**Ba2**
											100%	09%	09%	**Ba3**
												100%	07%	**Bk1**
													100%	**Bk2**

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

IV.4. Exploitation des résultats

IV.4.1 Dendrogramme de similarité

Fig. 10 : Dendrogramme de similarités des protéines totales

Les résultats obtenus confirment la variabilité entre les variétés étudiées, on remarque dans le diagramme de similarité représente dans la (fig. 10), qu'il y a une grande dissimilarité entre les astragales, il est possible de différencier en 3 groupes (G1, G2, et G3).

Le groupe 1 constitue des variétés Ba3, Ba1, Sf3, Tn3, Bk et Tn1, on devisée se premier groupe en 2 sous-groupes 1 et 2.

Le premier sous-groupe est forme par les variétés Ba1 et SF3 qui a un seuil de similarité de 96.53%, et l'échantillon Ba3 s'associe à eux au seuil de 55.16%.

Le deuxième sous-groupe formé par les variétés Tn1 et Bk1 qui est très similaires 91.84% la variété Tn3 s'associe à eux au seuil 55.16%.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Le groupe 2 est constitué des variétés Ba2, Sf1, Bk2 et Tn2 ou on note qui les variétés Tn2 et Bk2 sont très proches (90%), est que la variété Sf1 s'associe à eux au seuil (59.81%), et que la variété Ba2 vient les joindre au seuil (55.16%).

Le troisième groupe est composé par les variétés Yo1, Yo2, Sf2 et Yo3 on remarque Yo2 et Sf2 sont similaires à 53.44% et que Yo1 s'associe à eux a 59.09%.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Conclusion

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Conclusion et perspectives

Ce travail nous a permis d'évaluer la diversité génétique de *l'astragalus armatus*, étant donné que nous avons utilisé les protéines totales comme marqueurs biochimiques afin de faire l'identification variétale et comparer les différentes plantes étudiées.

L'application de l'extraction protéique à donné des diagrammes satisfaisants et à permis de voir la diversité des protéines totales qui présentent un polymorphisme intéressant. Nous avons décelés des bandes de mobilités différentes.

L'électrophorèse mono dimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de Sodium Dodecyl Sulfate (SDS-PAGE), donne une bonne résolution des protéines totales.

Le calcul des IRS ainsi que l'établissement du dendrogramme ont été fait en se basant sur le polymorphisme electrophoretique des protéines totales.

Les indices de ressemblances ont permis de voir le degré de parenté des variétés, ils ont des valeurs variables plus ou moins faibles ce qui indique une importante dissemblance entre les protéines totales des astragales étudiés.

D'autres études sur d'autres types de protéines ou sur des systèmes enzymatique ainsi que sur d'autres variétés d'astragales seraient nécessaires afin de mieux apprécier et évaluer la variabilité génétique.

Par ailleurs, la biologie moléculaire et ses techniques telles que : Les RFLP, les RAPD, les Microsatellites…etc, sont un bon moyen pour étudier les caractères génétiques des populations d'un côté et permettent d'une autre côté le control de la pureté variétale, ces marqueur peuvent également servir à reconstituer l'histoire de la genèse d'une espèce.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

LES ANNEXES

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Annexes

Annexe 1 : solution utilisées pour la SDS-PAGE

Solution stock

Tris pH 6,8	6,25 ml
Eau distillée	12,05 ml
SDS	2 g
Bleu de bromophénol	10 mg
Glycérol	10 ml

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

Acrylamide	35 g
Eau distillée	100ml

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

Bis acrylamide	2 g
Eau distillée	100 ml

Solution stock de SDS à 10%

Sodium Dodécyl Sulfate	10 g
Eau distillée	100 ml

Solution d'APS (Ammonium Presulfate) à 10% : à préparer ex temporairement

APS	0,1 g
Eau distillée	10 ml

Tampon Tris HCl pH 8,8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	60,57 g
Eau distillée	qsp 400 ml
Ajuster à pH 8,8 avec du HCl fumant	8 à 10 ml
Eau distillée	qsp 500 ml

Tampon Tris HCl pH 6,8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	30,285 g
Eau distillée	qsp 200 ml
Ajuster à pH 6,8 avec du HCl fumant	19,5 ml
Eau distillée	qsp 250 ml

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Annexe 1 : suite des solutions utilisées pour la SDS-PAGE

Tampon d'électrophorèse

Glycine	70,55 g
Tris (hydroxyméthyl amino Ethan)	15 g
SDS	5 g
Eau distillée	qsp 5000 ml

Solution de coloration (pour deux gels)

TCA 60%	100 ml
Solution mère de bleu de Coomassie R 250	25 ml
Eau distillée	qsp 500 ml

Solution mère de bleu de Coomassie R 250

Bleu de Coomassie R 250	10 g
Eau distillée	qsp 1000 ml

L'éthanol doit être mis en agitation dans l'éprouvette, avec un barreau aimanté. Le bleu de coomassie est ensuite ajouté (sinon le bleu prend en masse au fond du contenant). Laisser en agitation au moins deux heures, puis filtrer la solution.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Annexe 2 : préparation des gels pour électrophorèse des protéines totales

(Quantités pour une cuve de deux gels)

Gel de séparation (running gel)

Acrylamide à 35%	35 ml
Bis Acrylamide à 2%	6 ml
Eau distillée	16.6 ml
Tris-HCl pH 8,8	37,6 ml
SDS à 10%	1 ml
APS à 1%	2,5 ml
Temed	50 µl

Gel de concentration (stacking gel)

Acrylamide à 35%	3,42 ml
Bis Acrylamide à 2%	0,86 ml
Eau distillée	30,4 ml
Tris-HCl pH 6,8	5 ml
SDS à 10%	0,4 ml
APS à 1%	2 ml
Temed	40 µl

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Annexe 3 : Clé de détermination des protéines totales

	Yo1	Yo2	Yo3	Tn1	Tn2	Tn3	Sf1	Sf2	Sf3	Ba1	Ba2	Ba3	Bk1	Bk2
1.3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1.45	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1.5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1.6	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1.7	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1.85	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
2.85	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.9	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2.95	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
3.05	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
3.15	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
3.2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.3	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
3.35	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
3.4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3.45	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
3.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
3.65	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.7	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
3.75	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3.8	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
3.9	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
3.95	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
4.05	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
4.15	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
4.2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
4.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
4.3	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1
4.35	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
4.4	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
4.45	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.5	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
4.55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
4.6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
4.65	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.7	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
4.8	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1
4.9	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
4.95	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
5.1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1
5.15	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
5.2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
5.25	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
5.3	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0
5.4	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Annexe 3 : suite de clé de détermination des protéines totales

5.5	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
5.6	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
5.7	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
5.75	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
5.8	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
5.9	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
6	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1
6.05	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1
6.15	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
6.2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
6.3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
6.35	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
6.4	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
6.45	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
6.5	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0
6.55	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.6	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
6.65	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
6.7	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
6.75	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
6.8	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
6.85	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
6.9	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0
7	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
7.05	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7.1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
7.2	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
7.3	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0
7.4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7.55	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
7.6	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0
7.65	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
7.7	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
7.8	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1
7.9	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1
8	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8.1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
8.15	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
8.2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
8.25	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
8.3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8.4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
8.45	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
8.5	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
8.55	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8.6	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0
8.7	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
8.8	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
8.85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
8.9	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Annexe 3 : suite de clé de détermination des protéines totales

9	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
9.1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
9.2	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0
9.3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
9.35	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
9.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
9.5	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1
9.55	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
9.65	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.7	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
9.8	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
9.9	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1
9.95	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Annexe 04 : Analyse hiérarchique des variables : Yo1; Yo2; Yo3; Tn1; Tn2; Tn3; Sf1; ...

Analyse hiérarchique des variables : Yo1; Yo2; Yo3; Tn1; Tn2; Tn3; Sf1; ...

Distance du coefficient de corrélation, Liaison complète Etapes de fusion

Etape	Nombre de groupes	Niveau de similarité	Niveau de distance	Groupes liés		Nouveau groupe	Nombre d'obs. dans le nouveau groupe
1	13	96,5384	0,06923	9	10	9	2
2	12	91,8478	0,16304	4	13	4	2
3	11	90,0047	0,19991	5	14	5	2
4	10	61,8630	0,76274	2	8	2	2
5	9	60,2703	0,79459	5	7	5	3
6	8	59,8116	0,80377	1	2	1	3
7	7	55,8845	0,88231	4	6	4	3
8	6	55,5066	0,88987	5	11	5	4
9	5	55,1681	0,89664	9	12	9	3
10	4	53,4460	0,93108	1	3	1	4
11	3	48,9102	1,02180	4	9	4	6
12	2	44,2478	1,11504	1	5	1	8
13	1	38,6414	1,22717	1	4	1	14

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

This document was created using SOLID CONVERTER PDF
To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Références Bibliographiques

A

Albala, K. Beans a history, New York, Berg, 2007, P16.

Anonyme, The Wealth of India (Revised), Publication & Information Directorate, CSIR, New Delhi, India, 1985, p 476-477

Antonio, G. Gonzâlez, Eisa, M. Rodriguez, P. Consuelo Hern¨ndezPadrôn and Jaime bermejo Barrera, Phytochemical Investigation of Canary Island lichens, Virtual avtivity, and Pharmacology, 1997, pp. 49-60.

Arihara, J. and Ohwaki, Y. Estimation of available phosphorous in vertisol and alfisol on view of root effects on rhizosphere soil, In XI Colloquium, Wageningen, Holland, 1989.

B

bel-kassoui, H. these de doctorat .universite Mohammed V, 2007, P12

Bhattacharyya, B. Johri, B. M. Flowering plants, taxonomy and phylogeny, Ed Springer-Verlag, Berlin, 1998, pp 253-256.

Boual, Z. Caractérisation physico-chimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Septentrional, 2014.

Boukef, M. K. Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne, ACCT Paris, Médecine traditionnelle et Pharmacopée. 350 p."Medicinal Plants of the worlds", 1986, PP 286.

Boulos, L. Medicinal plants of North Africa., Ref. Publ. Inc. Michigan, 1983, P20.

Broughton, W. J. Hernandez, G. Blair, M. Beebe, S. Gepts, P. Vanderleyden, J. Beans (Phaseolus spp.), Model food legumes, Plant and Soil, 2003, PP 55–128

Broughton, W. J. Legumes. Nitrogen fixation, Oxford Universtity Press, 1983, PP 339.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Bunge, A.V. Generis *Astragali* species *Gerontogeae*, Pars prior, Claves diagnosticae, Mém. Acad. Imp. Sci. Saint Pétersbourg, 1868, P 1-140.

Bouredje, N. étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de Rétama monosperma (boiss) : mémoire de magistère. UNIV.des sciences et de la technologie d'Oran mohamed boudiaf (U.S.T.O) Oran, 2005.

Bourgoin-Greneche, M. & Lallemand, J. L'électrophorèse et son application à la description des variétés : présentation des techniques utilisées par le GEVES, 1993, P3.

C

Chalck, P. M. Dynamics of biologically fixed N in legume-cereal rotations, a review. Aust. J. Res, 1998, P 303-316.

Chaudhary, L. B. Rana, T. S. Anand, K. K. Current status of the systematics of *Astragalus* L, (Fabaceae) with special reference to the Himalayan species in India, Taiwania, 2008, P 338-355.

Colegate, S. M. Petter Dorling, P. R. Hux Table, C. R. The isolation and determination of a toxic principe from, *swansona canescens*. *Biochem*. J, 1985, P 649-651.

Cronk, Q. Ojeda, I. Pennington, R. T. Legume comparative genomics, progress in phylogenetics and phylogenomics, Current Opinion in Plant Biology 2006, P 99-103.

D

Dedio, W. Kaltsikes, P. j. & Larter, E. N. Numerical chemo taxonomy in the genus secale. Canadian journal of botanic, 1969, P1175-1180.

Djabeur-Kaid-Harche, A. Taieb-Brabim-Bokhari, H. Selami, N. Sangare, M. Mahboubi, S. Contribution à la connaissance de deux rétames , Retama monosperma et R. reatam, 2007, P 572-578.

Doyle, j. j. Chapill, j. A. Bailey, D. C. Kajita, T. towards a comprehensive phylogenie of legumes: evidence from rbcL sequences and non-molecular data. In advences in legume

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

systematic, (eds .P.S. Herendeen and A.Bruneau) Kew: Royal Botanic Gardens, 2000, PP 1-20.

Duan, P. Wang, Z. M. Clinical study on effect of *Astragalus* in efficacy enhancing and toxicity reducing of chemotherapy in patients of malignant tumor, Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2002, PP 515-7.

Dupont F. and Guignard J.L. Abrégé de Botanique 14ème édition (2007). Editions Masson, Paris; 285 p.

E

El Gazzah, M. Chalbi, N. these doctorat, Ressources génétiques et amélioration des plantes In: (eds) Quel avenir pour I'amélioration des plantes, Paris, Est algérien, Activité biologique, 1995, pp 123-129.

G

Gao, X. P. Zhao, W. X. Zhang, Z .L. Effect of huangqi zengmian powder on interstitial response in patients with esophageal cancer at peri-operational period, Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2001, P 171-3.

Gharzouli, R. A. Benguedouar, influence d'agent mutagènes, les rayons ultra-violet sur la nodulation et les caractères phénotypiques de quelques espèces des rhizobiums sp, 2006.

Gardener, W. K. Parbery, D. G. Barber, D. A. Proteoid root morphology and function in Lapinus albus. Plant and soil, 1981, P 143-147.

Geil, P. B. Anderson, J. W. Nutrition and health implications of dry beans, a review, J Am Coll Nutr, 1994, P 549-58.

Gentry, H. S. Gum Tragacanth in Iran, Econ Bot, 1957, P 40-63.

H

Hai, N. V. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture, A review, 2015.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Heywood, V. H. Flowering plants of the words, 3rd edition, oxford university press, oxford, 1996, pp 141-145, 149-152.

Hoshikawa, K. Significance of legume crops in improving the productivity and stability of cropping systems, Paper presented at the International symposium on the Use of Stable isotopes in Plant Nutrition, Soil fertility and Environment Studies. Vienna, Austria, 1990, P1-5.

$\mathcal{J}$

James, L. F. Hartely, W. J. Van Kampen K, R, Syndromes of *Astragalus* poisoning in livestock, *Am, Vet, Med, Assoc*, 1981, P 146- 150.

Jean Duval, agr. M.Sc, La culture piège de luzerne dans la lutte à la punaise terne, 2008, p 2-25.

Johandiez, E. Maire, R. Catalogue des plantes du Maroc Tome 2, Imprimerie Minerva Alger, 1932 P406.

Judd, C. KELLOGG, S. Botanique systematique une perspective phylogénetique, Deboeck Universite, 2002, pp 282-283

$\mathcal{K}$

Khalfallah, A. Karioti, A. Berrehal, D. Kabouche, A. Lucci, M. Bilia, A. R. et Kabouche, Z. A New Flavonol Triglycoside and Other Flavonol Glycosides from *Astragalus armatus* Willd, (Fabaceae). *Rec.Nat.Prod.* 2014, P 12-18.

King, D. E. Dietary fiber, inflammation, and cardiovascular disease, Mol Nutr Food Res, 2005, P594-600.

$\mathcal{L}$

Laemmli, U. k. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature vol 2270, **1970, 5259:** 680-685p.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Lardry, J. M. Haberkorn, V. L'aromathérapie et les huiles essentielles, Kinesither Rev 2007, P 14-7.

LaRue, T. A. and T. G. Patterson, How much nitrogen do legume fix, Advan, In Agron. 1981, P15-38.

Le Floc'h, E. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne, Publications Scientifiques Tunisiennes, Programme Flore et Végétation Tunisiennes, Imprimerie officielle de la République Tunisienne, 1983, P402.

Lemordant, D. BOUKEF, M. K. and BEN SALEM, M. Plantes utiles et toxiques de Tunisie. Fitoterapia, 1977, P191-214.

Linuma, M. Constituents of Vancouveria hexandra heterocycles, 1993, P407.

Lock, J. M. Schrire, B. D. Tribe Galegeae, in: Lewis, G, Schire, B, Mackinder, B. 2005.

Lock, M. (eds.) Legumes of the world. Royal Botanic Gardens, Kew.

Lorrain, E. 100 questions sur la phytothérapie, Ed, La boétie, Italie, 2013.

M

Maxted, N. and BENNETT, S. J. Conservation, diversity and use of Mediterranean legumes, Plant Genetic Resources Of Legumes in the Mediterranean, Maxted N. and Bennett S. J. PO Box 17,3300 AA Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academie Publ, 2001a, P 1-32.

Maxted, N. and BENNETT, S. J. Legume diversity in the Mediterranean region, Plant Genetic Resources Of Legumes in the Mediterranean. Maxted N, and Bennett S. J. POBox 17, 3300 AA Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academie Publ, 2001b, P 51-75.

McCulloch, M. See, C. Shu, X. J. Broffman, M. Kramer, A. Fan, W. Y. Gao, J. Lieb, W. Shieh, K. Colford, J. M. Jr. *Astragalus*-based Chinese herbs and platinum-based chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer: metaanalysis of randomized trials. J Clin Oncol, 2006. P419-30.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Mekkiou, R. Touahar, H. Dijoux-Franca, M. G. Mariotte, A. M. Benayache, S. and Benayache, F. A new isoflavone from Genista saharae (Fabaceae), Biochemical Systematics and Ecology, 2005, P635-638.

Mitaine-Offer, A. C. Tapondjou, L. A. Djoukeng, J. D. Bouda, H. and Lacaille- Dubois, M. A. Biochemical Systematics and Ecology, 2003, PP227-228.

Moulin, L. Etude moléculaire de la diversité symbiotique des rhizobia : de l'analyse du gène nod A à l'identification de rhizobia au sein des béta-protéobactéries, Thèse de doctorat. Université Claude Bemard-LyonI, 2002, P289.

N

Nagarajah, S. A. Posner, M. and J. P. Quirk, Competitive adsorption of phosphate with polygalacturonate and others organic anions on kaolinite and oxide surfaces, Nature vol, 1970, P83–84.

Nielson, D. B. The economic impact of poisonous plants on the range livestock industry in the 17 western states, *J. Range Mana*, 1978, P 325- 328.

O

Ozenda, P. Flore du Sahara septentrional et central. Centre National de Recherche Scientifique, Maroc, 1958, P298.

Ozenda, P. Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 622 p. phototherapy research, Vol 11, 2004, PP411-418.

Q

Quezel, P. et Santa, S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1962, P193-201.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

R

Rachie, O. K. Tropicallegumes : ressources for the future, National Academy of Sciences. Washington, D.C. 1979.

Raynaud, C. Eléments pour une flore pratique du Maroc, légumineuses, tribu des galegea. Ecole Nationale Forestière des Ingénieurs. Salé. Maroc, 1982.

Rienke, N. et Joke, N. cultuvation of soya and other legumes, agrodoc-series n10, agromisa, CTA publication, 2005, P 69.

Rios, J. L. et Waterman, P. G. A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus, 1997.

S

Sanderson, M. J. Wojciechowski, M. F. Diversification rates in a temperate legume clade: Are there so many species of *Astragalus* (Fabaceae) Amer J Bot, 1996, P1488-1502.

Scherson, R. A. Vidal, R. Sanderson, M. J. Phylogeny biogeography and rates of diversification of New World *Astragalus* (Leguminosae) with an emphasis on South American radiations. Am J Bot, 2008, P1030-1039.

Schott, C. Mignolet, C. Meynard, G. M. Les oléoprotéagineux dans les systèmes de cultures : évolution des assolements et succussions culturales depuis les années 1970 dans le bassin de la seine, OCL17, 2010, p 1-16.

Spichiger, R. E. Salvlaimen, V. Figeat, M. Jammonob, D. Botanique systématique des plantes à fleurs .éd : press polytechnique et universitaire romande, 2004, P203-206.

Subbarao, G. V. N. Ae and T. Otani, Genotypic variation in iron and aluminiumphosphate solubilizing activity of pigeonpea root exudates under P deficient conditions. Soil science and plante nutrition, 1997, P295-305.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

T

Tin, M. M. Cho, C. H. Chan, K. James, A. E. Ko, J. K. Astragalus saponins induce growth inhibition and apoptosis in human colon cancer cells and tumor xenograft. Carcinogenesis, 2007, P1347-55.

U

Unesco, Recherches sur la zone aride - XIII-Les plantes médicinales des régions arides, Pb Organisation des Nations Unies pour l'éducation,la science et la culture, place de Fontenoy, Paris-7e Imprimeries Oberthur, Rennes © Unesco 1960 NS.59/III.17/ 99p

V

Verbeken, D. Dierckx S. Dewettinck, K. Exudate gums: occurrence, production and application. App Microbiol Biotechnil, 2003, P10-21.

N. Voisin, L. Liu, M. Hejazi, T. Tesfa, H. Li1, M. Huang, Y. Liu, and L. R. Leung, One-way coupling of an integrated assessment model and a water resources model: evaluation and implications of future changes over the US Midwest, 2013, 555–4575.

W

Wickens, G. E. SElF EL DIN, A. G. SITA, G. and NAHAL, I. Rôle des acacias dans l'économie rurale des régions sèches d'Afrique et du Proche Orient. Cahier FAO Conservation, 1996, P152.

Wojciechowski, M. F. Sanderson, M. J. Hu, J. M. Evidence on the monophyly of *Astragalus* (Fabaceae) and its major subgroups based on nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA trnL intron data. Syst Bot, 1999, P409-437.

Wojciechowski, M. F. Lavin, M. and Sanderson, M. J. A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid MATK gene resolves many well-supported subclades within the family. American Journal of Botany, 2004, P1846-2004.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com

Z

Zarre-Mobarakeh, S. Systematic revision of *Astragalus* sect. *Adiaspastus*, sect. *Macrophyllium* and sect. *Pterophorus* (Fabaceae). Englera, 2000, P1-219.

This document was created using SOLID CONVERTER PDF To remove this message, purchase the product at www.SolidDocuments.com