

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR –

جامعة باجي مختار

ANNABA

عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Thèse En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences

Spécialité : Biologie Végétale

**Intitulé**

**Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de  
plusieurs populations Algériennes de l'espèce  
*Trifolium subterraneum* L.**

**Présentée par : BOUZIANE Zahira**

**Directeur de thèse :**

Dr. ISSOLAH Rachida      Directeur de Recherche - INRAA

**Co-Directeur de thèse :**

Pr.TAHAR Ali      Université Badji Mokhtar – Annaba

**Devant le jury composé de :**

Pr. SBARTAI Hana      Présidente      Université Badji Mokhtar - Annaba

Pr. HOUHAMDI Moussa      Examineur      Université 8 Mai 1945 - Guelma

Dr. SLIMANI Abderachid      Examineur      Université Badji Mokhtar - Annaba

Dr. BOUGHENDJIOUA Hicham      Examineur      ENSET - Skikda

Année universitaire : 2022/2023

## *Dédicaces*

*À mes chers parents, que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur  
et longue vie.*

*À la mémoire de mon beau-frère KHALLEF (Rahimahou Allah), aucune dédicace ne saurait  
exprimer, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai eu pour lui.*

*À toute ma famille et mes amies ...*

## *Remerciements*

Au terme de ce travail, je tiens à remercier toutes les personnes sans qui ce travail n'aurait pas été possible :

Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements au Dr. ISSOLAH R., ma directrice de thèse, Directeur de recherche et Directrice de la division sur les ressources phylogénétiques de l'INRAA, pour m'avoir accueillie dans son équipe et permis de réaliser mon travail de thèse dans l'environnement stimulant d'un groupe de recherche. Je tiens à lui exprimer ma gratitude pour son encadrement judicieux, ses précieux conseils, sa rigueur scientifique, son intuition qui m'ont beaucoup aidé et surtout pour sa disponibilité malgré les lourdes et innombrables charges qui pèsent sur elle. Si ce travail a pu être mené à bien, c'est grâce à son aide, son soutien et son amitié, qui sont restés indéfectibles, depuis notre première rencontre, il y a de cela plus de 20 ans. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde estime.

Je remercie très vivement mon co-directeur de thèse professeur TAHAR A., je lui suis très reconnaissante de m'avoir fait bénéficier de sa grande compétence et de ses conseils avisés qui m'ont beaucoup servi pour accomplir les traitements statistiques de ce travail.

Mes remerciements s'adressent au professeur SBARTAI H. pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance de ce travail.

Je tiens également à remercier Messieurs : Pr HOUHAMDI M., Dr SLIMANI A. et Dr BENGHENDJIOUA H., d'avoir aimablement accepté d'examiner et juger ce travail.

Le présent travail a été réalisé à la station expérimentale Mehdi Boualem (Baraki, Alger) de l'INRAA, plus particulièrement au niveau de la division de recherche sur les ressources phylogénétiques, je me ferai un immense plaisir d'exprimer mes chaleureux remerciements à :

Melle FEDJER Z. pour son aide, sa collaboration précieuse et sa gentillesse au moment des notations sur terrain. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.

Toute l'équipe de la division de recherche sur les ressources phylogénétiques, en particulier Melle SEBKHI Z.

Mr SEMIANI M., Directeur de la station de Mehdi Boualem et Mr BELKHIRI F.E., pour avoir mis à ma disposition les données climatiques (compagne agricole 2013-2014) de la station de Mehdi Boualem de l'INRAA.

Mme BOULAHBAL W. (*Rahimaha Allah*), pour son aide concernant les analyses du sol de la parcelle de l'essai (station Mehdi Boualem de l'INRAA).

Je suis profondément reconnaissante aux ouvriers de la station Mehdi Boualem (Baraki) pour leur aide précieuse sur le terrain.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude et mon plus profond respect à Mr AMRICHE T. et Mme RAFAI F., responsables du service des moyens généraux de l'INRAA (siège), pour leur gentillesse et pour m'avoir assurée de meilleures conditions d'hébergement.

Ce travail n'a été possible que par l'appui et l'aide bienveillante de plusieurs autres personnes à qui je tiens à exprimer ma reconnaissance :

Mes collègues enseignants et ingénieurs de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abbès Laghrour- Khenchela.

Mes amies de longues dates : Naassa, Besma, Fouzia, Linda, Katia, Amel, Samira, Hanene, Hiba, Hadia, Zohor et Wahiba qui m'ont fortement soutenue dans les moments les plus difficiles et tout au long de ce parcours.

Mes parents de m'avoir guidée et d'avoir été fiers de moi depuis toujours. Toute ma famille qui m'a apportée le réconfort, les encouragements et le soutien sans lesquels cette thèse n'aurait pas été réalisée.

Enfin, j'adresse mes remerciements les plus chaleureux à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

## **Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de plusieurs populations Algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.**

### **Résumé**

Dans le cadre de l'évaluation et de la valorisation des ressources phytogénétiques d'intérêt fourrager et pastoral en Algérie, une étude morpho-phénologique, biométrique et caryologique a été réalisée sur vingt-six (26) populations naturelles de trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum* L.), originaires de différents sites écologiques du Nord-Est de l'Algérie. L'étude morpho-phénologique et biométrique a porté sur un total de cinquante (50) caractères (33 quantitatifs relatifs au développement végétatif, floraison, formation de gousses et 17 qualitatifs liés aux feuilles, fleurs et graines). Deux facteurs écologiques (altitude et pluviométrie), concernant les habitats naturels des populations, ont été également considérés.

L'analyse de la variance a mis en relief l'existence d'une importante variabilité intraspécifique et inter populations. Des différences très hautement significatives ont été décelées pour la plupart des caractères étudiés. Les caractères biométriques et phénologiques se sont révélés plus discriminants par rapport aux marqueurs qualitatifs. Plusieurs corrélations significatives ont été constatées entre ces marqueurs et certains caractères relatifs à la reproduction et la production. Un effet relativement plus prononcé de l'altitude par rapport à la pluviométrie du milieu d'origine des populations a été remarqué sur la variation de certains caractères quantitatifs et qualitatifs. Les résultats de l'ACP indiquent une large variabilité morpho-phénologique et biométrique particulièrement, entre les populations issues de Guelma. La précocité, le développement végétatif, la production de fleurs et le poids des infrutescences ont permis de classer les populations en trois groupes distincts.

Cette étude a permis de mettre en évidence l'importance de certains caractères quantitatifs et qualitatifs dans la détermination de la classification infraspécifique de l'espèce *T. subterraneum* en Algérie et suggère que les populations collectées dans le Nord Est de l'Algérie correspondent beaucoup plus à la ssp. *subterraneum*.

Par ailleurs, l'étude des différentes générations (G0 et G1) a permis de constater des différences très hautement significatives pour tous les caractères biométriques étudiés. Une variation intergénération G0 et G1 est constatée pour le poids de mille grains et le poids des infrutescences. Le test T de Student indique que certains caractères relatifs à la taille des infrutescences, des graines et au nombre de gousses par infrutescence se sont révélés relativement plus stables entre G0 et G1 chez une grande partie des populations.

Enfin, l'étude caryologique portant sur neuf (09) populations a mis en relief une variabilité du nombre de chromosomes inter et intra-populations et indique que deux nombres chromosomiques caractérisent les populations algériennes de *T. subterraneum*. Une première formule ( $2n=2x=16m$ ) (métacentriques), plus fréquente chez la plupart des populations étudiées, est conforme aux rapports antérieurs réalisés chez cette espèce. Ces populations présentent un caryotype symétrique pour la taille et la forme. Une seconde formule est détectée pour la première fois, et décrite comme nouvelle formule chromosomique ( $2n=2x=18m$ ) chez *T. subterraneum*. Cette dernière formule est plus ou moins fréquente par rapport à la première et caractérisant les populations issues de régions de fortes altitudes. Le caryotype ( $2n=2x=18m$ ) est relativement symétrique. Au niveau des deux caryotypes établis, la première paire est sateliffère. Une variation de la taille et de la fréquence des satellites est remarquée. L'espèce présente un comportement méiotique régulier, confirmant la présence de deux nombres de base ( $x=8$  et  $9$ ).

Les populations algériennes de *T. subterraneum* présente une importante variabilité morphologique, phénologique, biométrique et caryologique sur laquelle les facteurs écologiques de son milieu d'origine (altitude et pluviométrie) semblent avoir une influence plus ou moins prononcée. Ces nouvelles données sur la morphologie et la caryologie de *T. subterraneum* peuvent être utiles pour la classification de l'espèce en vue de sa conservation et son utilisation dans les programmes de sélection et de développement durable en Algérie.

**Mots clés :** Biométrie, Chromosomes, Facteurs écologiques, Légumineuses fourragères, Phénologie, Morphologie, *Trifolium subterraneum* L.

## Biometrical, morpho-phenological and karyological study in several Algerian populations of the species *Trifolium subterraneum* L.

### Abstract

Within the framework of the evaluation and valorization of plant genetic resources of fodder and pastoral interest in Algeria, a morpho-phenological, biometrical and karyological study was carried out on twenty-six (26) natural populations of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.), originating from different ecological sites of the North-East of Algeria.

The morpho-phenological and biometrical study was carried out on a total of fifty (50) characteristics (33 quantitative related to vegetative development, flowering and pod formation and 17 qualitative related to leaf, flower and seed characteristics). Two ecological factors (altitude and rainfall), concerning the natural habitats of the populations, were also considered. The analysis of variance highlighted the existence of significant intraspecific and inter-population variation for several traits. The biometrical and phenological characteristics were more discriminating than qualitative ones (markers). Several significant correlations were observed between the markers and certain traits related to the reproduction and yield. A relatively more pronounced effect of altitude compared to rainfall in the environment of origin of the populations was noted on the variation of certain quantitative and qualitative traits. The results of the PCA indicate a wide morpho-phenological and biometrical variability, particularly between the populations from Guelma. Earliness, vegetative development, flower production and fruiting heads weight permitted to classify the populations into three distinct groups.

This study highlighted the importance of certain quantitative and qualitative characteristics in determining the infraspecific classification of the species *T. subterraneum* in Algeria and suggests that the populations collected in the North East of the country would correspond to the ssp. *subterraneum*.

Furthermore, the study of the different generations (G0 and G1) showed very highly significant differences for all the studied characteristics. A fairly high inter-generation variation between G0 and G1 was found for thousand seed weight and fruiting heads weight. The Student's t-test indicated that some characteristics related to fruiting head size, seed size and number of pods per fruiting head were relatively more stable between G0 and G1 in a large part of the populations.

Finally, the karyological study on nine (09) populations highlighted a variability of the number of chromosomes between and within populations and indicate that two chromosomal numbers characterize the Algerian populations of *T. subterraneum*. A first formula ( $2n=2x=16m$ ) (metacentric), more frequent in most of the studied populations, is consistent with previous reports in this species. These populations show a symmetrical karyotype for size and shape. A second formula is detected for the first time, and described as a new chromosomal formula ( $2n=2x=18m$ ) in *T. subterraneum*. The latter is relatively more or less common than the first one and characterizes the populations coming from high altitude areas. The karyotype ( $2n=2x=18m$ ) is relatively symmetrical. At the level of the two established karyotypes, satellites are highlighted at the first pair. A variation in the size and frequency of these satellites is observed. The species shows regular meiotic behaviour, confirming the presence of two basic numbers ( $x=8$  and  $9$ ).

The algerian populations of *T. subterraneum* presents an important morpho-phenological, biometrical and karyological variability on which the ecological factors of the environment of origin (altitude and rainfall) seem to have a more or less pronounced influence. These new data on the morphology and karyology of *T. subterraneum* may be useful for the classification of the species with a view to its conservation and its use in selection and sustainable development programs in Algeria.

**Key words :** Biometry, Chromosomes, Ecological factors, Fodder legume, Phenology, Morphology, *Trifolium subterraneum* L.

دراسة بيومترية، مورفو-فينولوجية والطابع النووي للعديد من العشائر الجزائرية من النوع  
*Trifolium subterraneum L.*

ملخص

في إطار تقييم وتعزيز الموارد الوراثية النباتية العلفية والرعية في الجزائر، تم إجراء دراسة مورفولوجية، فينولوجية، بيومترية وكذلك دراسة الصبغيات على ستة وعشرين (26) عشيرة طبيعية من النفل المظوم (*Trifolium subterraneum L.*)، من مواقع بيئية مختلفة في شمال شرق الجزائر. غطت الدراسة المورفولوجية والبيومترية خمسين (50) صفة (33 كمية متعلقة بالتطور الخضري والازهار والاثمار و17 خاصية كمية متعلقة بالأوراق والازهار والبذور). تم الأخذ بعين الاعتبار خلال هذه الدراسة، عاملين بيئيين للوسط الاصلي للعشائر (الارتفاع والأمطار).

اظهرت نتائج تحليل التباين عن وجود تنوع داخل النوع وبين العشائر وكذلك عن وجود تأثيرات معنوية عالية لمعظم الصفات المدروسة. أثبتت الخصائص البيومترية والفينولوجية أنها أكثر تمييزاً للعشائر مقارنة بالعلامات النوعية. وقد لوحظت العديد من الارتباطات المهمة بين هذه العلامات وبعض السمات المتعلقة بالتكاثر والإنتاج. اظهرت النتائج أيضاً نسبياً تأثير أكبر لارتفاع البيئة الأصلية لهذا النوع على تغير بعض الصفات الكمية والنوعية مقارنة بالأمطار.

اشارت نتائج تحليل المركبات الأساسية (ACP) إلى تباين شكلي وفنولوجي واسع خاصة بين العشائر المنحدرة من منطقة قالمية. اظهرت الدراسة الحالية أيضاً، أهمية بعض الصفات الكمية والنوعية في تحديد التصنيف لنوع *T. subterraneum* في الجزائر وتشير إلى أن العشائر الموجودة في شمال شرق الجزائر تتوافق بشكل أكبر مع *ssp. subterraneum*.

بينت نتائج دراسة الأجيال المختلفة (G0 و G1) عن فروق إحصائية كبيرة لجميع الصفات المدروسة قد لوحظ كذلك تباين قوي لوزن ألف حبة ووزن الثمار بين الأجيال. تبين من خلال اختبار (Student) T، أن حجم الثمار والبذور وعدد الثمار أكثر استقراراً نسبياً بين G0 و G1 عند جزء كبير من العشائر المدروسة.

من جهة أخرى أبرزت دراسة الصبغيات لتسعة (9) عشائر جزائرية تبايناً في عدد الكروموسومات بين العشائر وعن تواجد صيغتين جسميتين: الصيغة الأولى ( $2n = 2x = 16 m$ ) (métacentriques)، وهي الأكثر شيوعاً عند معظم العشائر التي تمت دراستها وتتوافق مع التقارير السابقة التي تم إجراؤها عند هذا النوع، ويظهر هذا الطابع النووي أكثر تماثلاً من ناحية الشكل والبنية. من خلال الدراسة الحالية، تم الكشف عن صيغة ثنائية لأول مرة عند نوع *T. subterraneum* ووصفت بأنها صيغة صبغية جديدة ( $2n = 2x = 18 m$ )، ونسبياً تعتبر أقل تواجد مقارنة بالصيغة الأولى وتميز العشائر المنحدرة من المناطق الأكثر ارتفاعاً. ويعتبر الطابع النووي لهاته العشائر متماثل نسبياً. تبين أيضاً على مستوى الطابعين النوويين ( $2n = 2x = 16$ ) و ( $2m = 2x = 18$ )، ان الزوج الأول sateliffère مع وجود تباين في الحجم والتواتر. أظهرت النتائج سلوك منتظم على مستوى جميع العشائر المدروسة أثناء الانقسام المنصف مما يؤكد وجود رقمين أساسيين ( $x=8$  et  $9$ ).

أظهرت هذه الدراسة نسبياً تأثير عوامل البيئية الأصلية (الارتفاع والأمطار) على التنوع المورفولوجي والطابع النووي للنوع الطبيعي *Trifolium subterraneum L.* هذه البيانات الجديدة حول الشكل المورفولوجي والطابع النووي يمكن استخدامها في تحديد تصنيف هذا النوع بهدف الحفاظ عليه واستخدامه في إطار برامج الانتقاء والتنمية المستدامة في الجزائر.

الكلمات المفتاحية: القياسات البيومترية، الصبغيات، البقولييات العلفية، الفينولوجيا، الشكل المورفولوجي، العوامل البيئية،  
*Trifolium subterraneum L.*

# Sommaire

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des Abréviations

**Introduction**.....1

## **Chapitre I. Synthèse bibliographique**

**1. Généralités sur le genre *Trifolium* L.**.....4

1.1 Description ..... 4

1.2 Origine et classification ..... 6

1.3 Caryologie ..... 9

**2. Présentation de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.**.....10

2.1 Importance et utilisation ..... 11

2.1.1 La région méditerranéenne ..... 11

2.1.2 Autres régions du monde ..... 13

2.2 Caractéristiques de la plante..... 15

2.2.1 Croissance..... 15

2.2.2 Reproduction ..... 18

2.2.3 Maturité..... 19

2.2.4 Isoflavones oestrogéniques et toxicité ..... 21

2.3 Origine biogéographique et aire de culture ..... 22

2.4 Description botanique ..... 23

2.5 Taxonomie ..... 26

2.5.1 Classification infraspécifique et débat ..... 26

2.5.2 Répartition et adaptation infraspécifique ..... 29

## **Chapitre II. Matériel et Méthodes**

**1. Matériel végétal**..... 31

**2. Méthodes** ..... 32

2.1 Etude morfo-phénologique et biométrique ..... 32

2.1.1 Description du site expérimental ..... 32

2.1.2 Conditions générales de la parcelle ..... 33

2.1.3 Mise en place de l'essai ..... 33

2.1.4 Caractères étudiés ..... 34

2.1.5 Traitements statistiques ..... 37

2.2 Etude caryologique ..... 38

2.2.1 Dénombrements chromosomiques somatiques ..... 38

2.2.1.1 Fréquences des nombres chromosomiques ..... 40

2.2.1.2 Analyse du caryotype..... 40

2.2.2 Analyse du comportement méiotique..... 41

## **Chapitre III. Résultats et Discussions**

<b>1. Etude morphologique et phénologique</b> .....	43
1.1 Analyse de la variance .....	43
1.1.1 Caractères relatifs au développement végétatif.....	43
1.1.2 Caractères relatifs à la floraison et formation des gousses.....	46
1.1.3 Marqueurs morphologiques qualitatifs.....	48
1.2 Matrice de corrélations : relations avec les facteurs écologiques du milieu d'origine.....	51
<b>2. Etude biométrique (infrutescences, gousses et graines : G0 et G1) .....</b>	<b>53</b>
2.1 Paramètres statistiques .....	53
2.2 Analyse de la variance .....	53
2.2.1 Graines mères (G0).....	55
2.2.2 Première descendance (G1).....	58
2.2.3 Variation inter générations (G0 et G1).....	60
2.3 Matrice de corrélations : relations avec les facteurs écologiques du milieu d'origine.....	61
<b>3. Analyse morphologique, phénologique et biométrique .....</b>	<b>63</b>
3.1 Matrice de corrélations .....	63
3.2 Analyse en composantes principales .....	64
3.3 Discussions .....	66
3.3.1 Variation morphologique et phénologique .....	66
3.3.2 Variation biométrique.....	68
3.3.3 Classification infraspécifique .....	70
3.3.4 Relations avec les facteurs écologiques du milieu d'origine.....	71
<b>4. Etude caryologique .....</b>	<b>75</b>
4.1 Etude des mitoses somatiques.....	75
4.1.1 Dénombrements chromosomiques .....	75
4.1.2 Analyse du caryotype .....	77
4.2 Etude de la méiose .....	80
4.3 Discussion.....	81
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>88</b>
<b>Références.....</b>	<b>92</b>
<b>Annexes</b>	

## Liste des Figures

<b>Figure 1.</b>	Classification phylogénique des Légumineuse (LPWG, 2017).....	5
<b>Figure 2.</b>	Enterrement de structures reproductrices ou bavures chez <i>Trifolium subterraneum</i> L. (Fraschini, Salis & Pecetti, 2010 <i>In</i> Piano & Pecetti, 2010).....	11
<b>Figure 3.</b>	Principaux stades de développement végétatif et reproductif de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L. (Teixeira, 2019).....	16
<b>Figure 4.</b>	Répartition naturelle du trèfle souterrain dans la région méditerranéenne et les régions voisines plus tempérées (Collin <i>et al.</i> ,1996).....	23
<b>Figure 5.</b>	Morphologie et caractéristiques des différentes parties de la plante de trèfle souterrain. A : plante entière en pleine floraison (Photo prise par Bouziane Zahira, 2014). B, C, D et E : feuilles, stipules, fleurs et infrutescence (McGuire, 1985).....	24
<b>Figure 6.</b>	Caractéristiques des fleurs et des graines chez les trois sous espèces de <i>Trifolium subterraneum</i> (Lucas <i>et al.</i> , 2016).....	25
<b>Figure 7.</b>	Localisation géographique des sites de collecte des populations naturelles de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L. dans le Nord- Est de l'Algérie.....	32
<b>Figure 8.</b>	Semis de plusieurs populations de <i>Trifolium subterraneum</i> au niveau de la station expérimentale de Mehdi Boualem -Baraki (Photo prise par Bouziane Zahira, INRAA-2013).....	34
<b>Figure 9.</b>	Poids de mille grains (PMG) chez 26 populations mères (G0) et la première descendance (G1) de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	53
<b>Figure 10.</b>	Poids des infrutescences chez 26 populations mères (G0) et la première descendance (G1) de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	54
<b>Figure 11.</b>	Rapport poids des graines/poids des infrutescences chez 26 populations mères (G0) et la première descendance (G1) de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L. ....	55
<b>Figure 12.</b>	Analyse en composantes principales : Cercle des corrélations des caractères morpho-phénologique et biométriques quantitatifs chez 26 populations de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	65
<b>Figure 13.</b>	Analyse en composantes principales : dispersion des 26 populations de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> dans le plan 1-2.....	65
<b>Figure 14.</b>	Métaphases mitotiques des populations naturelles algériennes de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L. présentant les nombres de chromosomes 2n=16 et 2n=18 (Bouziane <i>et al.</i> , 2019).....	75

<b>Figure 15.</b>	Fréquences des deux nombres de chromosomes ( $2n = 16$ et $18$ ) chez quatre populations de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L. (15 individus /population).....	76
<b>Figure 16.</b>	Caryotype de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L. en Algérie (Bouziane <i>et al.</i> , 2019).....	79
<b>Figure 17.</b>	Phases de la méiose des populations naturelles de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L. en Algérie (Bouziane <i>et al.</i> , 2019).....	80

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1.</b>	Nombre d'espèces de <i>Trifolium</i> présentes en Afrique du Nord (Dobignard & Chatelain, 2012).....	7
<b>Tableau 2.</b>	Nouvelle classification du genre <i>Trifolium</i> et des taxons correspondants (Ellison <i>et al.</i> , 2006).....	8
<b>Tableau 3.</b>	Caractéristiques morphologiques distinctives des trois sous-espèces de <i>Trifolium subterraneum</i> (Katznelson & Morley 1965b In Nichols <i>et al.</i> , 2013)..	18
<b>Tableau 4.</b>	Synonymes des noms de <i>Trifolium subterraneum</i> L., et ses sous espèces en Afrique du Nord dans les trois bases de données.....	28
<b>Tableau 5.</b>	Liste des populations naturelles de Trèfle souterrain collectées dans le Nord-Est de l'Algérie et caractéristiques écologiques des habitats naturels.....	31
<b>Tableau 6.</b>	Données climatiques relatives à la station Mehdi Boualem-Baraki (INRAA, Alger) durant l'année de l'essai (2013/2014).....	32
<b>Tableau 7.</b>	Résultats des analyses du sol de la parcelle de l'essai.....	33
<b>Tableau 8.</b>	Marqueurs morphologiques qualitatifs étudiés et échelle de notations (Nichols <i>et al.</i> , 1996 ; Ghamkhar <i>et al.</i> , 2015).....	37
<b>Tableau 9.</b>	Nomenclature chromosomique de Levan <i>et al.</i> , (1964).....	41
<b>Tableau 10.</b>	Résultats de l'analyse de la variance des paramètres morpho- phénologiques chez 26 populations algériennes de <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	44
<b>Tableau 11.</b>	Classes phénotypiques et indices de diversité (H') des marqueurs morphologiques qualitatifs chez 26 populations algériennes de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	50
<b>Tableau 12.</b>	Variation des paramètres statistiques chez 26 populations mères (G0) et celles de la première descendance (G1) de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	53
<b>Tableau 13.</b>	Analyse de la variance des caractères biométriques chez 26 populations mères (G0) de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	56
<b>Tableau 14.</b>	Analyse de la variance des caractères biométriques chez 26 populations de première descendance (G1) de l'espèce <i>Trifolium subterraneum</i> L.....	59
<b>Tableau 15.</b>	Données morphométriques du caryotype de <i>Trifolium subterraneum</i> L. en Algérie (population 22/10, 2n=16).....	78
<b>Tableau 16.</b>	Données morphométriques du caryotype de <i>Trifolium subterraneum</i> L. en Algérie (population 23/10, 2n=18).....	78
<b>Tableau 17.</b>	Données morphométriques du caryotype de <i>Trifolium subterraneum</i> L. en Algérie (population 25/10, 2n=16).....	78
<b>Tableau 18.</b>	Données morphométriques du caryotype de <i>Trifolium subterraneum</i> L. en Algérie (population 26/10, 2n=18) (Bouziane <i>et al.</i> , 2019) .....	79

## Liste des Abréviations

<b>ARNr</b>	ARN ribosomique
<b>CE</b>	Conductivité électrique
<b>CG</b>	Cytosine Guanine
<b>cm</b>	centimètre
<b>ds/m</b>	deci-siemens par mètre
<b>INRAT</b>	Institut National Recherche Agronomique Tunisien
<b>mEq/100 g</b>	milliéquivalent par 100 grammes
<b>Mb</b>	Mégabase
<b>mm</b>	millimètre
<b>µm</b>	micromètre
<b>mn</b>	Minute
<b>MO</b>	Matière organique
<b>N</b>	Azote total
<b>NPK</b>	Azote, phosphore et potassium
<b>ppm</b>	partie par million
<b>m (°C)</b>	Températures minimales en degré Celsius
<b>M (°C)</b>	Températures maximales en degré Celsius
<b>Subsp or ssp</b>	Sous espèce
<b>TMS/ha.</b>	Tonne de matière sèche /hectare
<b>x</b>	Nombre de base

# *Introduction*

## **Introduction**

L'Algérie, de par l'étendue de son territoire, est caractérisée par la diversité écologique de ses habitats naturels, engendrant une importante variation floristique (Issolah, 2018). La flore spontanée algérienne est estimée à environ 3139 espèces où les ressources légumineuses fourragères et pastorales occupent une place importante (Zirmi-Zembri & Kadi, 2019).

Un très grand nombre d'espèces poussent à l'état naturel et endémique et constituent un réservoir important pour le choix d'espèces pastorales et fourragères pouvant répondre aux objectifs de diversification, d'augmentation de la production, d'obtenir la résistance génétique aux ravageurs et aux stress environnementaux, protection des sols contre l'érosion et la mise en valeur des terres marginales (Abdelguerfi, 2003).

L'Algérie n'a donné que peu d'intérêt aux cultures fourragères qui pourtant, seraient une solution adéquate pour le développement de la production animale. Ces cultures se trouvent confronter à plusieurs contraintes ; la faible superficie, la diversité des espèces et des variétés très limitée et les cultures de la vesce-avoine, de l'orge et de l'avoine, destinées à la production du foin, constituent les principales cultures (Mebarkia, 2019).

Les ressources fourragères disponibles sont assurées en grande partie par les terres de parcours (jachères, prairies naturelles, parcours steppiques, parcours forestiers...) et les sous-produits de la céréaliculture (chaumes des céréales, pailles) (Abdelguerfi *et al.*, 2008).

Le Nord-Est de l'Algérie est l'une des régions les plus humides du pays et est très riche en espèces fourragères très intéressantes, appartenant aux genres *Trifolium*, *Medicago*, *Astragalus*, *Phalaris*, *Scorpiurus*, *Avena*, *Hedysarum*, *Lolium*, *Dactylis*, *Festuca*, *Hordeum*, *Lotus*, *Onobrychis*, qui méritent d'être valorisées (Issolah *et al.*, 2001).

La connaissance des adaptations de ces espèces serait un atout majeur dans le cadre de la valorisation de ces ressources phytogénétiques et l'introduction des écotypes au niveau des jachères ou dans la mise en valeur des terres marginales, en tenant compte de leurs adaptations, permettra de réduire les risques d'échecs (Abdelguerfi *et al.*, 2006).

Le trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum* L.), est une légumineuse fourragère annuelle d'hiver, qui occupe actuellement dans divers pays à travers le monde, notamment l'Australie, la nouvelle Zélande et l'Europe, une place de choix sur le plan quantitatif et qualitatif, vu sa

capacité à fournir des aliments de haute qualité au bétail et son potentiel de fixer l'azote atmosphérique (Mills *et al.*, 2015).

Depuis son introduction initiale accidentelle en Australie et sa commercialisation ultérieure, le trèfle souterrain est devenu une culture stratégique. Sa large utilisation est due au développement d'une gamme de cultivars (53 cultivars) adaptés à une diversité d'environnements pluviaux et de systèmes agricoles (Nichols *et al.*, 2017). Ce projet de sélection a été facilité par une importante ressource génétique, rassemblée à partir de son centre d'origine en Méditerranée et ses environs (y compris, l'Algérie) (>10.000 lignées), dotées d'une diversité de périodes de floraison, de marqueurs morphologiques et les teneurs en isoflavones (Nichols *et al.*, 2013 ; Abdi *et al.*, 2020). La sélection de ces cultivars a également permis de surmonter les menaces posées par les isoflavones œstrogéniques, les maladies et ravageurs importants (Nichols *et al.*, 2013).

Ces lignées ont également participé au développement d'une collection de base « core collection », qui représente une grande partie de la diversité génétique de l'espèce et d'une carte génétique avec des marqueurs moléculaires, fournit une plate-forme pour le développement de cultivars avec de nouvelles caractéristiques au profit des industries du bétail et la production de semences (Ghamkhar *et al.*, 2015).

L'utilisation et l'exploitation des ressources génétiques de l'espèce *T.subterraneum* nécessitent une connaissance approfondie des populations destinées à la sélection. Peu coûteux et faciles à étudier, les marqueurs morphologiques sont les premiers marqueurs utilisés dans la caractérisation des ressources génétiques des plantes (Nadeem *et al.*, 2018).

De plus, le rendement fourrager, la qualité nutritionnelle du fourrage et le rendement en graines dépendent fortement du stade phénologique et de la morphologie de la plante (Gustavsson, 2011).

Plusieurs populations locales de l'espèce *T. subterraneum*, collectées à travers l'Algérie ont servi à enrichir de nombreuses banques de gènes internationales et à développer de nombreux cultivars (Genesis, 2021). Malgré cela, sur le plan morphologique, cette ressource naturelle reste peu étudiée en Algérie (Zatout, 1985 ; Abdelguerfi *et al.*, 2006 ; Issolah *et al.*, 2015 ; Issolah *et al.*, 2016).

Par ailleurs, les analyses cytogénétiques sont devenues une excellente source d'information ces dernières années pour l'évaluation des ressources génétiques. Ces informations peuvent

également être exploitées dans la taxonomie afin de sélectionner et de développer cette ressource phytogénétique dans le domaine agricole.

La caractérisation cytologique de *T. subterraneum* reste aussi très restreinte et cela en raison de la petite taille des chromosomes comme toutes les autres espèces de *Trifolium* (Zohary & Heller, 1984). Les premières études cytogénétiques sur *T. subterraneum* ont porté uniquement sur la détermination du nombre chromosomique ( $2n=16$ ), mais sans établir de caryotype (Weselxen, 1928 ; Yates & Brittan, 1952 ; Brock, 1953 ; Hutton & Peak, 1954 ; Zohary & Katznelson, 1958 ; Kliphuis, 1962 ; Britten, 1963).

Plus tard, quelques études du caryotype de *T. subterraneum* ont été réalisées ; en Espagne (Angelo *et al.*, 1975, 1977, 1983), en Iran (Hezamzadeh Hijazi & Ziaeiasab, 2006), et en Italie (Falistocco *et al.*, 1987, 2013).

La présente étude porte sur l'évaluation et la valorisation des ressources phytogénétiques d'intérêt fourrager et pastoral en Algérie. Elle a pour objectif d'analyser la diversité morpho-phénologique, biométrique et chromosomique au sein des populations naturelles de *Trifolium subterraneum* L., issues de différents habitats naturels dans le Nord -Est de l'Algérie. Ce travail fait suite aux différentes études menées sur les légumineuses fourragères spontanées en Algérie (Issolah, 1997 ; Issolah & Abdelguerfi, 1995, 1999 a, b, 2000, 2002, 2003 ; Issolah & khalfallah, 2007 ; Issolah *et al.*, 2006, 2012, 2014, 2015, 2016, 2018, 2022).

Le présent travail s'organise autour de trois chapitres :

Le premier chapitre sera consacré à une synthèse bibliographique présentant des généralités relatives à la famille, au genre et à l'espèce étudiée. Dans le deuxième chapitre, nous décrirons le matériel et les méthodes d'étude utilisés. Dans le troisième chapitre nous présenterons les résultats obtenus lors des différentes études morphologiques, phénologiques, biométriques et caryologiques. Enfin, nous terminerons par une discussion générale qui soulignera d'une part, les conclusions importantes de ce travail et abordera d'autre part, les perspectives envisageables.

# *Chapitre I*

## *Synthèse bibliographique*

## **1. Généralités sur le genre *Trifolium* L.**

### **1.1 Description**

Leguminosae ou Fabaceae, communément appelée légumineuses, est la troisième plus grande famille d'Angiospermes après les Orchideae et les Asteraceae, comprenant près de 770 genres et plus de 19 000 espèces (Lewis *et al.*, 2005, 2013 ; LPWG, 2013a). Les légumineuses forment une famille morphologiquement diverse, allant des herbes arctiques alpines et arbustes pérennes tempérés ou tropicaux aux xérophytes et arbres géants équatoriaux annuels (Smýkal *et al.*, 2015).

D'un point de vue économique, les Fabaceae viennent au deuxième rang après les Poaceae. Ce sont des cultures vivrières importantes qui fournissent un taux élevé de protéines et de micronutriments pour améliorer la santé et les moyens de subsistance, particulièrement dans les pays en développement (Yahara *et al.*, 2013).

Les légumineuses comprennent de nombreux types de plantes utiles telles que les cultures pour les grains, les légumes secs, le bois, les plantes ornementales et médicinales, des oléagineux, des pâturages et des fourrages (Van der Maesen & Somaatmadja, 1992 ; Gepts *et al.*, 2005 ; Brink & Belay, 2006 ; Saslis-Lagoudakis, 2011).

D'autre part, la capacité de nombreuses espèces de légumineuses à fixer l'azote atmosphérique grâce à leur association avec des bactéries du sol du genre *Rhizobium* réduit l'apport des engrais azotés pour les cultures et également pour celles qui leur sont associées ou leur succédant dans une rotation (Ferreynolle & Pierre, 2016).

Traditionnellement, la famille des Fabaceae se distinguent en trois sous-familles : Papilionoideae, Caesalpinioideae et Mimosoideae (Polhill *et al.*, 1981).

Ainsi, dans la nouvelle révision taxonomique phylogénétique de cette famille, réalisée par un groupe de chercheurs « Legume Phylogeny Working Group » (LPWG) en 2017, six sous-familles sont décrites : Caesalpinioideae ; Cercidoideae ; Detarioideae ; Dialioideae ; Duparquetioideae ; Papilionoideae, avec l'inclusion de la sous-famille Mimosoideae dans les Caesalpinioideae (Fig.1) (LPWG, 2017).

Les Papilionoideae constituent la sous famille la plus diversifiée et la plus répandue, comprenant la plupart des espèces légumineuses alimentaires fourragères (Gepts *et al.*, 2005).

Selon les analyses phylogénétiques récentes, ils représentent un groupe monophylétique, ce qui en fait de loin la plus grande sous-famille (14000 espèces) (Smýkal *et al.*, 2015 ; LPWG, 2017).

Le Houerou (2006) souligne que la sous famille des Papilionoideae est très largement dominante et représente 98% de la flore spontanée du bassin méditerranéen. Sprent (2008) signale que 97% des espèces des Papilionoideae peuvent être nodulées.

Les Papilionoideae se répartissent en 31 tribus (Botineau, 2010), dont la tribu des Trifolieae à laquelle appartient le genre *Trifolium* considéré comme étant l'un des plus grands genres (Ellison *et al.*, 2006), étroitement apparenté aux genres *Medicago*, *Trigonella* et *Melilotus*, qui appartiennent également à la même tribu (Maureira-Butler *et al.*, 2008).

Selon Heyn (1981), *Trifolium* diffère de ces genres (*Medicago*, *Trigonella* et *Melilotus*) par la corolle généralement persistante et par ses gousses souvent indéhiscentes contenant généralement une graine.

Le nom « *Trifolium* » vient du mot grec triphullon : trois, trois et « phullon, feuille, se référant aux feuilles distinctives, qui sont généralement composées de trois folioles (trifoliolée) (Smýkal *et al.*, 2015).

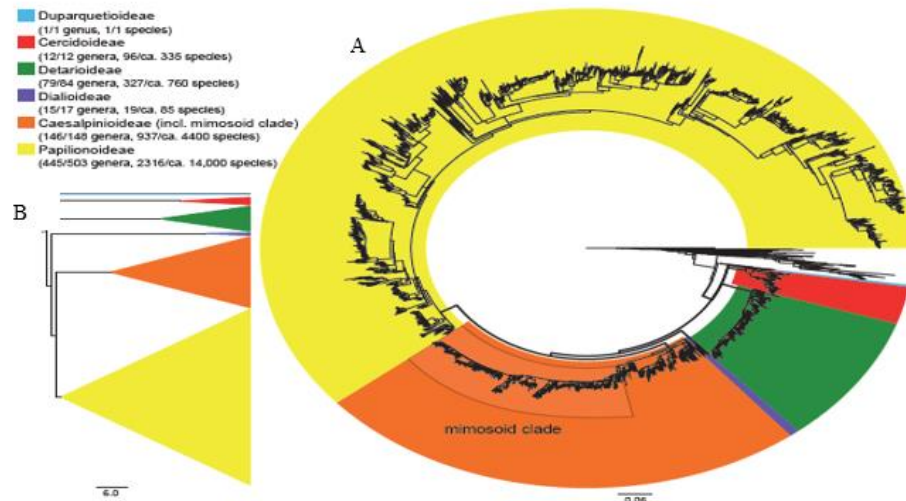


Figure 1. Classification phylogénétique des Légumineuses.

A. Arbre phylogénétique de consensus bayésien de 3842 séquences matK du gène plastidique matK représentant 3696 séquences de 19 500 espèces et 698 des 765 genres de légumineuses, B. Phylogénie schématique basée sur l'analyse bayésienne matK montrant la classification des six sous-familles, avec des tailles de clades proportionnelles au nombre d'espèces (LPWG, 2017).

Le genre *Trifolium* regroupe de nombreuses espèces annuelles et pérennes, le plus souvent prostrées et rarement plus de 50 cm de haut (Ellison *et al.*, 2006). Les espèces du *Trifolium* occupe un large éventail d'habitats : les pâturages, les prairies, les forêts ouvertes, les régions

semi-désertiques, les montagnes et les sommets des Alpes (Gillett & Taylor, 2001 ; Smýkal *et al.*, 2015 ; Scoppola *et al.*, 2018).

Le genre *Trifolium* est représenté par environ plus de 255 espèces, dont certaines ont une grande valeur agricole et sont utilisées pour la production de fourrages vert ou sec riches en protéines, l'amélioration de la fertilité des sols (Zohary, 1970 ; Falistocco *et al.*, 2013) et enfin la production du miel (Palmer *et al.*, 2009 ; Sultana *et al.*, 2022).

En outre, plusieurs espèces de *Trifolium* auraient des propriétés médicinales et sont riches en une multitude de métabolites secondaires biologiquement actifs, dont les composés phénoliques sont l'une des principales classes (Sabudak & Guler, 2009 ; Tava *et al.*, 2019).

Environ 25 espèces de *Trifolium* destinées à l'alimentation des ruminants, sont activement cultivées dans de nombreux pays du monde (*T. pratense* L. ; *T. repens* L. ; *T. resupinatum* L. ; *T. incarnatum* L. ; *T. hybridum* L. ; *T. pannonicum* Jacq. ; *T. subterraneum* L. ; *T. fragiferum* L. ; *T. medium* L ... ) (Gillett & Taylor, 2001 ; Graczyk *et al.*, 2015). Selon Sprent (2009), près de 125 espèces de *Trifolium* sont connues pour leur formation de nodules racinaires fixateurs d'azote.

Plus de 74 000 accessions de *Trifolium* sont conservées dans les collections mondiales *Ex situ*, dont 53% sont sauvages, 14 % cultivées et 33 % présentent un statut d'amélioration inconnu ; les plus grandes collections sont présentes en Australie, en Nouvelle Zélande et à l'ICARDA (Smýkal *et al.*, 2015).

L'étude de la variation des caractères morphologiques, phénologiques, agronomiques et marqueurs moléculaires dans les collections de germoplasme de trèfle a permis de développer des core collections chez les espèces les plus importantes dans de nombreuses régions du monde, en particulier le trèfle rouge (*T. pratense*) (Kouame & Quesenberry, 1993), le trèfle blanc (*T. repens*) (Vymyslicky' *et al.*, 2010, 2012) et le trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum*) (Ghamkhar *et al.*, 2012).

## **1.2 Origine et classification**

*Trifolium* est un genre cosmopolite trouvé principalement dans l'hémisphère Nord (Smýkal *et al.*, 2015 ; Scoppola *et al.*, 2018). Le genre *Trifolium* est répandu dans les régions tempérées et subtropicales et peut être limité aux zones montagnardes et alpine des tropiques d'Afrique de l'Ouest et d'Amérique du sud (Zohary & Heller, 1984). Mais, selon Ellison *et al.*, (2006), le genre *Trifolium* est absent au Sud-Est de l'Asie et l'Australie.

La région méditerranéenne est actuellement considérée comme le centre principal de diversité du genre *Trifolium*, mais également un site de domestication et de reproduction des espèces cultivées (Ellison *et al.*, 2006 ; Scopolla *et al.*, 2018). Elle abrite plus de 150 espèces représentant sept des huit sections typiquement reconnues dans la classification infragénérique de *Trifolium* (Zohary & Heller, 1984 ; Greuter *et al.*, 1989 ; Coulot & Rabaute, 2013).

Plusieurs études moléculaires sont cohérentes avec une origine biogéographique méditerranéenne-moyenne orientale du genre *Trifolium* (en particulier, la Turquie et la Grèce), probablement dans le Miocène précoce, 16-23 millions d'années (Steele & Wojciechowski, 2003 ; Ellison *et al.*, 2006 ; Smýkal *et al.*, 2015 ; Scoppola *et al.*, 2018).

Le nombre des espèces euro-méditerranéennes est de 129 espèces, dont 122 espèces étant présentes dans la région Méditerranéenne et 45 espèces endémiques méditerranéennes sensu (Greuter *et al.*, 1989, Scoppola *et al.*, 2018).

La Turquie se caractérise par la plus grande abondance d'espèces de *Trifolium*, avec plus de 100 espèces appartenant à 7 des 8 sections reconnues (Uslu *et al.*, 2013). Au sud de l'Europe, la Grèce présente 89 espèces sauvages et 30 espèces endémiques méditerranéennes (Scoppola *et al.*, 2018).

En Afrique du Nord, 53 espèces de trèfles ont été rapportées au Maroc, dont quatre sont endémiques (Fennane *et al.*, 2007), 29 en Tunisie (Alapetite, 1979), et 37 en Algérie (Quezel & Santa, 1962).

Dobignard & Chatelain (2012) ont recensé 51 espèces au Maroc dont quatre endémiques, 33 en Tunisie et 45 en Algérie dont deux naturalisées (*T. incarnateum* L. ; *T. alexandrinum* L.), une adventice (*T. constantinopolitanum* Ser.) et trois espèces éteintes (*T. rubens* L. ; *T. clypeatum* L. ; *T. congestum* Guss.) (Tab.1).

Tableau 1. Nombre d'espèces de *Trifolium* présentes en Afrique du Nord (Dobignard & Chatelain, 2012).

Pays	Madère	Iles Canaries	Mauritanie	Maroc	Algérie	Tunisie	Libye	Égypte
Nombre d'espèces	25	29	0	51	45	33	23	16
Endémique	-	-	-	4	-	1	-	-
Présence. incert. (?)	-	-	-	3	-	3	-	-
Naturalisé (N)	1	2	-	2	2	1	2	2
Adventice (A)	-	-	-	-	1	-	-	-
Éteint (E)	-	-	-	1	3	-	-	-

**Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de plusieurs populations Algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.**

La classification du genre *Trifolium*, a fait l'objet de plusieurs études, plusieurs tentatives de classification ont été proposées pour diviser ce genre en groupes naturels.

Presl (1832) a identifié neuf groupes d'espèces qu'il a classés comme genres indépendants. Par la suite, Boissier (1872) a reconnu sept sections. Hossain (1961) a divisé le genre en huit sous-genres.

Selon la morphologie et le nombre de chromosomes, Zohary & Heller (1984), subdivisent le genre *Trifolium* en huit sections : *Lotoidea*, *Paramesus* (C.Presl), *Mystillus* (C.Presl), *Vesicaria*, *Chronosemium*, *Trifolium*, *Trichocephalum* Koch , *Involucrarium* Hooker (Tab.2).

L'analyse phylogénétique du genre *Trifolium* a créé deux sous-genres : *Chronosemium* (Ser.) Reichenb. et *Trifolium* L. Ce dernier sous genre est divisé en huit sections (Tab.2) (Ellison *et al.*, 2006).

La section *Lotoidea* est la plus grande section, considérée comme ancestrale aux autres sections en raison de sa distribution mondiale, sa richesse en espèces (plus de 90 espèces), et de son hétérogénéité morphologique (Zohary, 1972 ; Zohary & Heller, 1984 ; Smykal *et al.*, 2015).

Tableau 1. Nouvelle classification du genre *Trifolium* et des taxons correspondants (Ellison *et al.*, 2006).

Nouvelle classification Ellison <i>et al.</i> , (2006)	Classification Zohary & Heller (1984)	Distribution Native	Nombre d'espèces
Subgenus <i>Chronosemium</i> (Ser.) Reichenb.	sect. <i>Chronosemium</i>	Mediterranean region	20
Subgenus <i>Trifolium</i>			
sect. <i>Glycyrrhizum</i> Bertol.	<i>T. alpinum</i> and <i>T. polyphyllum</i> of sect. <i>Lotoidea</i>	European Alps— Caucasus Mts.	2
sect. <i>Paramesus</i> (C. Presl) Berchtold and J. Presl	sect. <i>Paramesus</i>	Mediterranean region	2
sect. <i>Lupinaster</i> (Fabricius) Ser.	<i>T. eximium</i> , <i>T. gordejvii</i> and <i>T. lupinaster</i> of sect. <i>Lotoidea</i>	Europe—Siberia	3
sect. <i>Trifolium</i>	sect. <i>Trifolium</i>	Mediterranean region, S Africa (1)	73
sect. <i>Trichocephalum</i> Koch	sect. <i>Trichocephalum</i>	Mediterranean region	9
sect. <i>Vesicastrum</i> Ser.	sects. <i>Mistyllus</i> , <i>Vesicaria</i> , and <i>Lotoidea</i> in part	Mediterranean region, sub-Saharan Africa, Madagascar (1)	54
sect. <i>Trifoliastrum</i> S.F. Gray	sect. <i>Lotoidea</i> in part	Mediterranean region	20
sect. <i>Involucrarium</i> Hooker	sects. <i>Lotoidea</i> and <i>Lotoidea</i> in part	N and S America	72

### 1.3 Caryologie

D'un point de vue génétique, les études cyto-taxonomiques menées sur le genre *Trifolium* ont montré qu'il présente une variété surprenante de nombres chromosomiques, et que les modifications du nombre de chromosomes survenues ont joué un rôle majeur dans son évolution (Falistocco *et al.*, 2013).

Le nombre de chromosomes a été déterminé pour plus de 184 espèces de trèfle (Taylor *et al.*, 1979 ; Zohary & Heller, 1984 ; Uslu *et al.*, 2012). Actuellement, la base de données « Chromosome Counts Database » répertorie le nombre de chromosomes de 318 espèces de *Trifolium* (Lukjanová & Repková, 2021).

Britten (1963) et Pritchard (1969) ont montré qu'une série aneuploïde de nombres de base  $x=5, 6, 7$  et  $8$  se trouve dans le genre *Trifolium*.

La présence de  $x=8$  ( $2n=16$ ) chez environ 80 % des espèces réparties à travers l'ensemble des sections suggère que  $x = 8$  est le nombre ancestral du genre *Trifolium* (Senn, 1938 ; Pritchard, 1969 ; Zohary & Heller 1984 ; Ellison *et al.*, 2006), à partir duquel les nombres  $x = 7, 6$  et  $5$  sont dérivés.

L'aneuploïdie ( $2n=10, 12$  ou  $14$ ) était connue chez 31 espèces, dont 11 espèces avaient à la fois une aneuploïdie et une diploïdie ( $2n=16$ ) ou une polyploïdie (Ellison *et al.*, 2006).

Les ensembles de base dysploïdes sont les plus courants dans les sections qui sont à un stade d'évolution plus avancé, comme *Trifolium* et *Trichocephalum*, où l'on peut trouver les quatre nombres de base (Pritchard, 1969 ; Ellison *et al.*, 2006 ; Falistocco *et al.*, 2013).

Le nombre de base  $x=9$  ( $2n=18$ ) était détecté chez *T. ornithopodiodes* des îles britanniques (Rutland, 1941 ; Muñoz-Rodríguez, 1995), chez *T. montanum var. montanum* de la Péninsule Ibérique (Bleier, 1925a ; Muñoz-Rodríguez, 1995), et également chez l'espèce *Trigonella ornithopodiodes* L. (DC) (Darlington & Wylie, 1945). Cette dernière espèce (*Trigonella ornithopodiodes* L.) (DC), a été reclassée plus tard pour des raisons d'ordre taxonomique dans le genre *Trifolium* (Allen & Allen, 1981).

La polyploïdie est plus fréquente chez les espèces pérennes de *Trifolium* (Kiran *et al.*, 2010 ; Ellison *et al.*, 2006 ; Falistocco *et al.*, 2013), dont 65 % appartiennent à la section *Lotoidea* (Zohary & Heller, 1984).

La polyploïdie est connue chez 24 espèces, dont six sont exclusivement tétraploïdes (4x), deux sont hexaploïdes (6x), et une est décaploïde (12x). Onze espèces présentaient deux niveaux de ploïdie : diploïdes et polyploïdes, tandis que trois avaient plusieurs niveaux de polyploïdie : tétraploïde et plus (Ellison *et al.*, 2006).

En Algérie, les dénombrements chromosomiques portant sur des populations spontanées appartenant à 15 espèces de *Trifolium* ont mis en évidence pour la première fois de nouveaux nombres de base ( $x=6$ ) chez trois espèces (*T. glomeratum* L., *T. pallidum* Waldst. & Kit., *T. squarrosum* L.) et ( $x=8$ ) chez l'espèce *T. stellatum* L. (Benmalek, 1987 In Issolah, 2018).

De même, un nouveau nombre de base ( $x=6$ ,  $2n=12$ ) a été mis en évidence chez l'espèce *T. scabrum* en plus du nombre habituel ( $x=5$ ,  $2n=10$ ) lors des dénombrements chromosomiques réalisés chez 12 espèces et 25 populations algériennes de *Trifolium* (Issolah, 1997 ; Issolah & Abdelguerfi, 1999b).

Les chromosomes de *Trifolium* sont de petite taille, généralement métacentriques ou submétacentriques (Zohary & Heller, 1984 ; Schifino *et al.*, 1986 ; Khatoon *et al.*, 2006 ; Salimpour *et al.*, 2008). Les chromosomes acrocentriques ont été observés uniquement chez *T. argentinense* Speg. (Conterato *et al.*, 2010). Les chromosomes télolocentriques n'ont pas encore été confirmés dans le genre (Lukjanová & Repková, 2021).

La taille du génome est plus petite à moyenne chez les espèces de *Trifolium*, allant de 337,1 Mb chez *T. ligusticum* à 5669.3 Mb/1C chez *T. pannonicum* (In Vozárová *et al.*, 2021). Les génomes de six espèces ont été séquencés, dont les trèfles cultivés *T. pratense* (Ištvánek *et al.*, 2014 ; De Vega *et al.*, 2015), *T. repens* (Griffiths *et al.*, 2019) et les trèfles sauvages *T. Medium* (Dluhošová *et al.*, 2018), *T. subterraneum* (Hirakawa *et al.*, 2016 ; Kaur *et al.*, 2017), *T. occidentale* et *T. pallescens* (Griffiths *et al.*, 2019).

## **2. Présentation de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.**

*Trifolium subterraneum* L. (1753), communément nommé trèfle souterrain ou trèfle semeur est une espèce annuelle d'hiver caractérisée par un port prostré et sa capacité à enfouir les structures reproductives (infrutescences ou bavures) dans le sol assurant ainsi, sa propre régénération par auto-ensemencement (Masson, 1997). Le nom « *subterraneum* » vient du latin : *sub* (dessous) ; *terraneum* (terre) (Langer, 1990) (Fig.2).

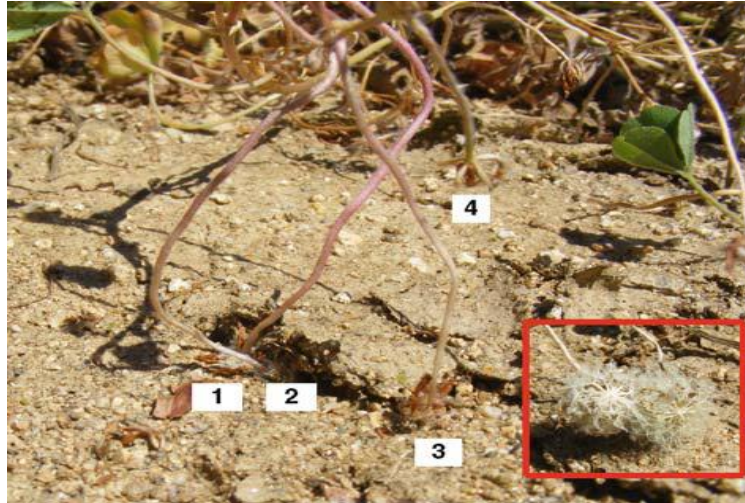


Figure 2. Enterrement de structures reproductrices ou bavures chez *Trifolium subterraneum* L.  
1 et 2 : bavures enfouies ou enterrées ; image encadrée en rouge (bavure développée avant l'enterrement) ; 3 : fleuron juste avant la pénétration dans le sol ; 4 : pédoncule en train de s'étendre vers le sol (Fraschini, Salis & Pecetti, 2010 *In Piano & Pecetti, 2010*).

## 2.1 Importance et utilisation

Le trèfle souterrain (*T. subterraneum*) est une légumineuse fourragère et principalement pastorale utilisée dans plusieurs régions à travers le monde pour sa grande importance agronomique et écologique. Grâce à ses graines souterraines, cette légumineuse annuelle se comporte comme une pérenne et cela fait d'elle une espèce essentiellement prairiale (Ben Youssef *et al.*, 2019).

Le trèfle souterrain contribue le plus largement à la production mondiale d'aliments pour le bétail (Mc Guire, 1985 ; Kaur *et al.*, 2017), et fournit des aliments saisonniers de haute qualité au bétail pendant les mois d'hiver et de printemps (Teixeira *et al.*, 2020).

### 2.1.1 La région méditerranéenne

Dans son habitat naturel dans le bassin méditerranéen et les régions avoisinantes, le trèfle souterrain est une composante importante des écosystèmes des prairies (Cocks & Bennett, 1999 ; Sulas, 2005). Son utilisation traditionnelle dans ces régions, s'est limitée au pâturage des prairies naturelles et des jachères sarclées, avec peu de semis délibérés pour développer des pâturages améliorés (Cocks & Bennett, 1999).

Le trèfle souterrain fait partie des 39 espèces autorisées sur la jachère européennes depuis 1992 (Rakotonandrasana & Masson, 2000). Le trèfle souterrain est utilisé pour couvrir les sols de vignobles, notamment dans les coteaux méridionaux sensibles à l'érosion, en France (Bertoni & Masson, 1996) et en Italie (Piemontese *et al.*, 1995).

Récemment dans les systèmes agrosylvopastoraux et agro-pastoraux extensifs dans plusieurs pays, notamment l'Italie, le Portugal et l'Espagne, le semis de pâturages de haute qualité à base de légumineuses, composées de trèfle souterrain et d'autres légumineuses annuelles vise à améliorer les pâturages indigènes de faible qualité (Porqueddu *et al.*, 2000 ; Sulas, 2005 ; Aguiar *et al.*, 2012).

Le trèfle souterrain est couramment utilisé dans ces systèmes, en raison de sa capacité d'auto régénération et de sa tolérance au pâturage, souvent dans des conditions environnementales variables et sous-optimales (Olea & San Miguel-Ayanz, 2006 ; Aguiar *et al.*, 2012), et en production animale, pour sa teneur élevée en protéines et haute qualité nutritionnelle pendant l'été, ce qui réduit les besoins en alimentation complémentaire (Nichols *et al.*, 2013).

La capacité du trèfle souterrain à fixer l'azote atmosphérique (N<sub>2</sub>) et à augmenter la fertilité du sol favorise aussi la croissance des espèces non légumineuses dans les pâturages et des cultures subséquentes dans une rotation (Nichols *et al.*, 2013 ; Vasileva *et al.*, 2018). Le trèfle souterrain fixe de 27 à 30 kg N/ ha pour chaque tonne de matière sèche produite (Gillingham *et al.*, 2003 ; Lucas *et al.*, 2005), accumule de la biomasse pendant l'automne-hiver, pour fournir une option plus durable pour l'apport d'azote (Ledgard *et al.*, 2001), et une couverture du sol pendant les périodes de faible croissance des pâturages (Baresel *et al.*, 2018).

D'autre part, le trèfle souterrain a été proposé et testé comme paillis vivants pour les céréales et les légumineuses dans la région méditerranéenne (Caporali *et al.*, 2004 ; Campiglia *et al.*, 2014 ; Porqueddu *et al.*, 2016).

En Afrique du Nord, la culture du trèfle souterrain, la féтуque et le ray-grass pérenne, a permis d'aménager 8 000 ha de prairie dans le cadre de l'amélioration des pâturages dans le Nord-Ouest tunisien (Chekroun & Zouaghi, 2004). Une variété fourragère et pastorale « Faija » a été créée et sélectionnée à partir d'une population naturelle de trèfle souterrain provenant de la région EL Faija par les chercheurs de l'INRAT en 2000 (Ben Youssef *et al.*, 2019).

Cette variété (Faija) est adaptée à tout type de sol et à des bioclimats allant du subhumide au per humide et convient aussi bien en monoculture qu'en associations avec des graminées annuelles ou pérennes et produit jusqu'à 5 TMS/ha.

Au Maroc, le trèfle souterrain a été destiné à la pâture dans des prairies temporaires vu son mode de conduite et sa persistance particulièrement importante (Jaritz, 1987), et les prairies permanentes à base de variétés australiennes et un écotype tunisien dans le Rif central au Nord

du Maroc (Batke, 1994). Actuellement, les variétés fourragères utilisées sont issues de la sélection directe à partir d'écotypes locaux de trèfle souterrain, exemple de la variété 184 sélectionnée dans la commune de Had Gharbia (Tanger -Tetouan) (Al Faiz, 1999).

En Algérie, le trèfle souterrain est spontanément assez commun dans les régions du Tell et dans les prairies particulièrement, montagnardes (Quézel & Santa, 1962). Dans le Nord- Est algérien, Issolah *et al.*, (2015) ont rapporté une assez importante adaptation de cette espèce à diverses conditions écologiques.

Par ailleurs, dans le Nord- Est algérien, le trèfle souterrain contribue dans la lutte contre l'érosion des sols, notamment les terrains en pente sur lesquels il est souvent rencontré (Issolah *et al.*, 2015).

L'exploitation des intérêts de cette légumineuse annuelle (trèfle souterrain) pour une agriculture durable dans l'amélioration des parcours et des pâturages en Algérie, nécessite la disponibilité de quantités importantes en matière de semences. En fait, la seule tentative de multiplication de semences de trèfle souterrain a été celle menée par Bouazza & Abdelguerfi dans Nord Est de l'Algérie (Guelma), qui a consisté à cultiver une variété commerciale australienne (Clare) et un écotype local sur un pâturage (8 - 43 moutons / hectare) pendant trois campagnes agricoles (1987-1990) (Bouazza & Abdelguerfi, 1995).

Des résultats encourageants ont été enregistrés pour la variété Clare et l'écotype local avec des rendements de 180 et 190 kg/ ha, respectivement, et selon lesquelles, Bouazza et Abdelguerfi, (1995), ont montré que la multiplication de semences de trèfle souterrain et d'autres légumineuses fourragères comme le medics, est une opération entièrement maîtrisable en Algérie.

### **2.1.2 Autres régions du monde**

Au-delà, de ses origines, Frame & Laidlaw (2005), considèrent le trèfle souterrain, comme un exemple classique de la façon dont une espèce d'une région du monde s'est révélée extrêmement précieuse pour une autre région.

En Allemagne du sud, Barasel *et al.*, (2018), rapportent que le trèfle souterrain est suffisamment résistant à l'hiver pour être cultivé comme plante de couverture hivernale ou comme paillis vivant pour le blé en culture intercalaire et constitue également, un paillis mort efficace après la récolte de blé en été.

Aux États-Unis, le trèfle souterrain est considéré comme la légumineuse de couverture la plus productive pour les vignobles et les vergers (Pecetti *et al.*, 2007), et a été proposé comme paillis vivant pour les céréales et légumineuses, particulièrement dans les régions chaudes des USA.

En Australie, depuis son introduction et sa naturalisation en 1900, le trèfle souterrain est devenu l'une des cultures les plus courantes notamment, dans le sud de l'Australie, où il est cultivé sur 8 millions d'hectares en Australie occidentale et 29 millions d'hectares dans le sud de l'Australie (Nichols *et al.*, 2017).

Le trèfle souterrain est très apprécié pour l'élevage, la production de grains, comme source de fourrage de haute qualité et pour sa capacité à fixer l'azote atmosphérique (Nichols *et al.*, 2013). Chaque année, 1500-3000 t de semences de trèfle souterrain sont certifiées en Australie et une quantité similaire de semences non certifiées est également produite (Holland, 2012).

L'adaptation du trèfle souterrain aux systèmes de productions australiens et son succès sont attribuables à sa persistance et à sa productivité (Nichols *et al.*, 2013). Actuellement, 53 cultivars sont enregistrés en Australie, dont certains sont développés à partir des écotypes collectés à partir de leurs habitats naturels dans la région méditerranéenne notamment, l'Italie, la Grèce, la Turkey, et l'Espagne (Nichols *et al.*, 2013, 2014). La plupart des cultivars récents sont développés à partir de programmes de sélection menés par DAFWA (Department of Agriculture and Food, Western Australia) et d'autres au niveau du SARDI (South Australian Research and Development Institute), en collaboration avec des chercheurs italiens (Nichols *et al.*, 2017).

Le trèfle souterrain constitue avec les médics annuels, les composantes importantes du système "Ley Farming " ; il a considérablement amélioré les productions céréalières et ovines en Australie Méridionale (Puckridge & French, 1983 ; Piano & Pecetti, 2010).

Actuellement, le trèfle souterrain est devenu à la base de nombreux pâturages permanents ou semi-permanents dans les zones irriguées et les zones à fortes précipitations, souvent en mélange avec des graminées vivaces et d'autres légumineuses (Nichols *et al.*, 2017 ; Enkibat *et al.*, 2022a). Les pâturages de ce trèfle produisent de 6-7 t de MS/ha au début du mois d'octobre en Australie (Norman *et al.*, 2005).

Au Sud et à l'Ouest de l'Australie, l'utilisation de superphosphate avec le trèfle souterrain a augmenté la fertilité des sols avec une plus grande production animale (Kenny 1984 ; Doyle *et al.*, 1993), une augmentation des rendements agricoles (Puckridge & French, 1983 ; Zhang &

Evans, 2004), et une bonne capacité à briser les cycles de vie des ravageurs lorsqu'il est cultivé dans un système de rotation (Howieson *et al.*, 2000b).

En Nouvelle Zélande, les pâturages traditionnels à base de ray-gras (*Lolium perenne* L.) et de trèfle blanc (*Trifolium repens* L.) sont productifs et persistants dans les zones à forte pluviométrie (>1200 mm) et aux sols fertiles (Brock & Hay 2001), mais peu fiables dans les systèmes pastoraux des zones sèches à faible pluviométrie où le trèfle souterrain peut prospérer (Moot, 2012). Actuellement, le trèfle souterrain est promu comme légumineuse de pâturage en zone sèche pour fournir des aliments à la fin de l'hiver et au début du printemps avant que le trèfle blanc pérenne et la luzerne n'augmentent leur croissance au printemps (Brown *et al.*, 2006) ; il est le plus largement semé dans les systèmes pastoraux Néo-zélandais (Monk *et al.*, 2016).

Le trèfle souterrain convient mieux aux zones arides et peut être utilisé en combinaison avec des graminées et des mélanges de pâturages (Smetham 2003a ; Ates *et al.*, 2006 ; Oregon State, 2015). Selon Ates (2009), la performance des animaux sur les pâturages de terres sèches à base de trèfle souterrain au printemps dépasse souvent celle des autres mélanges de pâturages.

Mills *et al.*, (2008a) rapportent que les pâturages à base de dactyle et de trèfle souterrain donnaient la plus forte production de poids de moutons au printemps (environ 400-700 kg/ha) par rapport à d'autres mélanges d'espèces de trèfle (caucasien, blanc et balansa) ou avec des pâturages à base de ray-grass et de trèfle blanc. Ceci a été principalement attribué à la croissance printanière supérieure du trèfle souterrain (Mills *et al.*, 2008a).

Cependant, Il n'y a pas de cultivars commerciaux sélectionnés en Nouvelle-Zélande, les semences des cultivars du trèfle souterrain utilisées sont sélectionnées en Australie continentale chaude et sèche (Lucas *et al.*, 2015 ; Teixeira *et al.*, 2018).

## **2.2 Caractéristiques de la plante**

### **2.2.1 Croissance**

Le développement morphologique du trèfle souterrain de la germination jusqu'au début du stade plantule est similaire à d'autres espèces de trèfle (Thomas, 2003).

La croissance végétative s'effectue de l'hiver jusqu'au début du printemps (Smetham, 2003a). Physiologiquement, la température est un facteur important qui affecte la croissance et le développement du trèfle souterrain (McWilliam *et al.*, 1970). La plante doit rester végétative suffisamment longtemps pour maximiser l'accumulation de biomasse tout en laissant

suffisamment de temps pour la production de graines avant la sénescence de la plante induite par la sécheresse estivale (Nichols *et al.*, 2013) (Fig.3)



Figure 3. Principaux stades de développement végétatif et reproductif de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. A (Stades végétatifs) : V1 ; V2 ; V3 ; VR, germination des graines et apparition des deux cotylédones, première feuille simple, première feuilles composée, apparition successive des trifoliées (stade rosette), apparition des ramifications, successivement. B (Stades de reproduction : floraison et formations des gousses) : R1 ; R2 ; R4 ; R5 : apparition du bouton floral à l'aisselle de la feuille et développement de la première fleur bien visible et individualisée, R6 ; R7 ; R8 ; R9 ; R10 : initiation du géotropisme positif et début de formation des infrutescences blanches immatures contenant par la suite des gousses vertes, R11 ; R12 : début et maturité complète des infrutescences (changement de couleur du vert au marron) (Teixeira, 2019).

La réussite de l'installation et la persistance ultérieure du trèfle souterrain dépendent de la germination des graines semées ou provenant de la banque de graines qui se produit normalement pendant les mois d'automne. Si l'humidité est disponible, la température est le principal facteur qui contrôle le pourcentage et le taux de germination des graines (Teixeira *et al.*, 2019).

Les graines germent et produisent deux grands cotylédons charnus et une racine forte (Frame *et al.*, 1998). La plantule forme rapidement une racine pivotante centrale avec de nombreuses racines de soutien fibreuses et développe 1 à 20 tiges prostrées et non enracinées pendant le

printemps, cela varie en fonction du niveau de concurrence de la végétation environnante (Smetham, 2003a).

Comme les autres légumineuses, les graines du trèfle souterrain peuvent être soit dures (généralement > 90%), soit possédant une dormance embryonnaire après la récolte d'une durée plus ou moins longue, ou les deux (Taylor, 2005). Le retard dans la germination causé par une de ces fonctions, présente une grande importance agronomique (Taylor, 2005).

Le mécanisme de dureté des téguments peut empêcher la germination des plantes pendant une période de temps variant de quelques semaines à plusieurs années après maturation (Taylor *et al.*, 1984).

Selon Quinlivan & Nichol (1971), ce mécanisme permet au trèfle souterrain de persister dans un environnement où la production de semences adéquate n'a pas été atteinte ou des semis ont été perdus à cause de la sécheresse ou des prédateurs.

Le mécanisme de dureté des téguments peut favoriser la persévérance aux plantes poussant dans des zones climatiques où il y a suffisamment de pluies d'été pour faciliter la germination, mais insuffisantes pour soutenir la croissance des semis en automne et en hiver (Smetham, 2003a). La dureté des téguments assure également la régénération des pâturages après la phase de culture dans le système ley farming (Taylor, 2005 ; Nichols *et al.*, 2012).

Une variation génétique a été largement rapportée concernant la dureté des semences chez le trèfle souterrain (Aitken, 1939 ; Loftus Hills, 1944b ; Nichols *et al.*, 1996, 2009 a, 2012 ; Norman *et al.*, 2006 ; Piano *et al.*, 1996 ; Pecetti & Piano, 2002).

Nichols *et al.* (2013) rapportent que les variétés adaptées à des environnements pluviométriques faibles et peu fiables nécessitent des niveaux résiduels de graines dures plus élevés que celles adaptées à des environnements pluviométriques plus favorables.

Dans le même contexte, Piano *et al.* (1996) ont signalé une corrélation négative entre la dureté des semences et la pluviométrie annuelle moyenne des sites de collecte des populations italiennes de trèfle souterrain.

Une autre caractéristique importante des semences de trèfle souterrain est la dormance embryonnaire, contrairement à l'endurcissement, la dormance embryonnaire n'est pas influencée par la perméabilité du tégument (Kendall & Stringer, 1985).

C'est un caractère transitoire dépendant de la température qui sert à protéger les graines nouvellement mûres de la germination prématurée avant qu'elles n'aient complètement développé leur dureté et empêche également la germination des graines molles sous des températures élevées en été et en automne (Taylor, 1970 ; Gladstones, 1987).

La dormance embryonnaire est plus élevée à la maturité et diminue avec l'âge à des taux qui diffèrent selon le génotype et les conditions environnementales dominantes (Taylor, 1970 ; Gladstones, 1987).

Selon Quinlivan & Nicol (1971), la dormance embryonnaire de trèfle souterrain est interrompue principalement par des températures chaudes pendant l'été dans des conditions de terrain ou en laboratoire par des traitements de température.

Plusieurs études ont rapporté des variations génétiques de la dormance embryonnaire chez certains cultivars de trèfle souterrain (Loftus Hills 1944b ; Morley, 1958 ; Taylor, 1970 ; Gladstones, 1987 ; Evans & Smith, 1999). Toutefois, la sélection active pour la dormance embryonnaire n'a pas été effectuée à ce jour en raison de l'absence d'un consensus sur son importance et d'une technique de dépistage rapide (Nichols *et al.*, 2013).

### **2.2.2 Reproduction**

Cette phase du cycle de vie du trèfle souterrain commence avec le début de la floraison et se termine avec la production de semences (Kendall & Stringer, 1985). La floraison aura lieu au printemps (Mars -Mai), ceci permet aux graines de murir avant le stress hydrique qui freine la croissance des plantes.

Le début de la floraison constitue un déterminant essentiel de la production de graines et du succès du trèfle souterrain avant l'apparition de conditions sèches pendant les mois d'été (Smetham *et al.*, 1994). Rossiter (1959) a rapporté une forte relation entre le rendement en graines et le nombre de jours nécessaires à l'apparition de la première fleur.

Le trèfle souterrain est autogame et cléistogame ; en raison de son autogamie presque complète (par le biais d'un mécanisme cléistogamie), les populations naturelles du trèfle souterrain sont essentiellement composées par des mélanges de lignées pures, l'allogamie est extrêmement rare et ne se produit qu'accidentellement (Katznelson, 1974 *In* Pecetti & Piano, 2002).

Le trèfle souterrain étant une plante à jours long, le taux de développement vers la reproduction s'accélère dans les photopériodes longues, ce qui régule encore le contrôle du temps de floraison

par la température (Pecetti & Piano, 2002 ; Smetham *et al.*, 1994). Il existe une grande variabilité de périodes de floraison parmi les cultivars de trèfle souterrain (Dear & Sandral, 1997).

Avec l'augmentation de la durée du jour, trois à cinq fleurons apparaissent sur le pédoncule de chaque aisselle des feuilles. Généralement, un ou deux ovules fécondés se développent dans chaque inflorescence (Smetham, 2003a).

Aussitôt après la floraison l'apex du pédoncule floral présente un géotropisme positif, ensuite les calices de fleurs stériles développent une sorte de suçoir et enveloppent totalement les gousses fertiles, trois à quatre uni-graine par gousse. Ces dernières forment une infrutescence globuleuse généralement appelée « glomérule ou bavure », qui s'enterre superficiellement dans le sol (Smetham, 2003a).

### **2.2.3 Maturité**

Dans un climat méditerranéen, au début du printemps-été, la sécheresse met fin au cycle de croissance des légumineuses annuelles d'auto-réensemencement. La capacité d'enterrer les bavures porteuses de graines est un trait distinctif du trèfle souterrain (Nichols *et al.*, 1996).

L'enterrement des bavures se produit lorsque la graine mûrit ; il facilite la survie des semences d'année en année (Taylor *et al.*, 1988), protège la graine en développement contre les effets néfastes des températures élevées et faible humidité et offre un régime d'humidité plus favorable (Yates, 1957) ; il constitue également, une sorte de protection contre l'ingestion par les animaux au pâturage (McGuire, 1985).

Les bavures enterrées sont également plus grosses que celles laissées à la surface du sol, contiennent plus de graines et également des graines plus grosses qui ont une viabilité supérieure, et ont tendance à produire plus de graines dures (Frame *et al.*, 1998).

Selon Yates (1958), l'enterrement des graines plus lourdes et plus viables, et plus d'une graine par bavures donne un rendement plus élevé en particulier, chez les variétés à floraison précoce. L'absence d'enfouissement a un effet néfaste sur le nombre total d'infrutescences par plante, le nombre de graines par infrutescence, le poids des graines individuelles, le rendement total des graines et la viabilité des graines, (Yates, 1958 ; Collins *et al.*, 1976 ; Bolland & Collins, 1986).

L'effet étant plus important chez la ssp. *subterraneum* par rapport à la ssp. *brachycalycinum* (Pecetti & Piano, 1995). Les bavures non enterrées tendent à avoir des niveaux initiaux de

graines dures plus faibles (Collins *et al.*, 1976 ; Slattery 1981) et des taux plus rapides de ramollissement des graines (Quinlivan et Francis, 1971 ; Collins *et al.*, 1976 ; Slattery, 1981 ; Taylor, 1984 ; Taylor & Ewing, 1988). Cependant, certaines études limitées suggèrent des niveaux de dormance embryonnaire plus élevés dans les semences provenant des bavures non enterrées (Collins *et al.*, 1976).

Les différences dans la capacité d'enfouissement des bavures sont évidentes entre les sous espèces *subterraneum* et *brachycalycinum* (Francis *et al.*, 1971 ; Pecetti & Piano, 1995). La ssp. *subterraneum* est un « vrai enfouisseur » et à simple pénétration dans le sol par les pédoncules courts et forts, facilement réalisée lorsque la surface du sol est humide et doux, mais elle peut être limitée ou interdite lorsque le sol se durcit (Morley & Katznelson, 1965 *In* Pecetti & Piano, 2002). A l'inverse, le pédoncule mince de la ssp. *brachycalycinum* n'est pas en mesure d'exercer une forte pression sur la surface. Par conséquent, il s'allonge jusqu'à ce qu'il trouve une fissure du sol ou un petit abri, ce qui permet le développement de la bavure, même dans les sols lourds et durs (Bolland, 1987).

Des études écologiques sur les populations naturelles du trèfle souterrain, ont montré que les populations italiennes de la ssp. *subterraneum* sont invariablement plus précoces que les populations de la ssp. *brachycalycinum* provenant des mêmes sites d'origine (Piano, 1984 ; Piano *et al.*, 1993). Cela a été expliqué par les différences entre les mécanismes d'enfouissement des bavures entre les sous-espèces, la précocité relative étant plus importante chez la ssp. *subterraneum* pour permettre l'enfouissement des bavures lorsque le sol retient suffisamment d'humidité pour y pénétrer (Katznelson & Morley, 1965b *In* Nichols, 2004 ; Katznelson, 1974 *In* Nichols, 2004).

Le trèfle souterrain « meurt » naturellement en début d'été, en mai ou juin, après la formation des graines en laissant le sol couvert d'une paille sèche. Il est relativement difficile de le « tuer » sans un travail profond du sol avant le stade de la mi-floraison (Creamer *et al.*, 2002). Les semences enterrées dans le sol, possèdent une dureté tégumentaire initiale forte réduisant les risques de germinations en cas d'orage estival. Cette dureté se lève progressivement permettant la germination automnale (Smetham, 2003a). Cependant, un certain nombre de graines garde une dureté résiduelle et se conserve dans le sol assurant la pérennité de la population en cas de destruction accidentelle, formant une banque de semences (Masson, 1997).

#### **2.2.4 Isoflavones oestrogéniques et toxicité**

Les feuilles fraîches de trèfle souterrain contiennent les composés isoflavones formononétine, génistéine et biochanine A, réputées induire des anomalies de la reproduction chez les animaux de pâturage. Ce sont les agents responsables de l'hyperplasie glandulaire kystique chez les ovins (Cox & Braden, 1974), plus communément appelée " maladie du trèfle ", décrite pour la première fois par Bennetts *et al.*, (1946).

Ces troubles provoquent de graves baisses de fertilité chez les ovins et des intoxications lorsque de grandes quantités d'herbes sont ingérées contenant des niveaux élevés d'isoflavones avec une activité oestrogénique, en raison d'effets cumulatifs (Marshall *et al.*, 1974).

L'infertilité permanente résulte d'une exposition continue aux pâturages œstrogéniques, alors que l'infertilité temporaire survient lorsque les brebis broutent des pâturages hautement œstrogéniques au moment de l'accouplement (Nichols *et al.*, 1996).

La formononétine est la principale cause de la maladie du trèfle, la génistéine et la biochanine A étant de moindre importance (Millington *et al.*, 1964). Paradoxalement, la formononétine n'est pas œstrogénique en soi, mais se décompose rapidement dans le rumen en composés œstrogéniques, en particulier en équol (Braden *et al.*, 1967 ; Shutt & Braden, 1968). Inversement, la génistéine et la biochanine A, sont elles-mêmes oestrogéniques, mais se dégradent rapidement dans le rumen, principalement en p-éthyl-phénol, un composé non oestrogénique (Davies *et al.*, 1970).

Les niveaux des isoflavones sont plus élevés dans les feuilles nouvellement ouvertes et ont tendance à diminuer avec l'âge des feuilles et des plantes (Spanu *et al.*, 1993), mais l'activité est présente dans toutes les parties de la plante sauf les graines (Francis & Millington, 1965a). Ces niveaux diminuent au cours de la production de graines jusqu'à de très faibles niveaux à la sénescence (Collins & Cox 1984). Le trèfle souterrain vert fraîchement coupé et rapidement séché (y compris le foin séché au champ) peut conserver une grande partie de son pouvoir œstrogène (Smith *et al.*, 1986).

Collins et Cox (1984) et Davies (1986) suggèrent que les niveaux de formononétine <0,3 % (sur la base du poids sec des feuilles) sont " sûrs " pour la reproduction des moutons. Certains cultivars australiens plus anciens contiennent des niveaux élevés, mais actuellement, tous les cultivars plus récents ont été sélectionnés avec des niveaux de formononétine  $\leq 0,2$  % de la

matière sèche. Aucun cultivar n'a été mis sur le marché depuis 1982 avec des niveaux supérieurs à cette valeur (Nichols *et al.*, 2013, 2017).

Plusieurs études ont rapporté des variations génétiques entre les sous espèces trèfle souterrain quant aux niveaux de chaque isoflavone et les proportions relatives entre elles (Piano *et al.*, 1993 ; Spanu *et al.*, 1993 ; Tava *et al.*, 2006). Les populations de ssp. *brachycalycinum* ont tendance à avoir un modèle distinctif de faible teneur en formononétine et en biochanine A, et une teneur élevée en génistéine (Piano *et al.*, 1993), bien que les populations de ssp. *brachycalycinum* de Sicile ne diffèrent pas de ssp. *subterraneum* pour la teneur en génistéine (Spanu *et al.*, 1993).

Il existe des conjectures quant à l'importance écologique des isoflavones. Rossiter (1974) a signalé la préférence des moutons vis à vis des souches à faible teneur en formononétine. En revanche, Dunlop & Thorn (1984) suggèrent que des niveaux élevés de formononétine réduisent l'appétence et augmentent la compétitivité des plantes.

Toutefois, Dunlop (1986) et Colebrook *et al.* (1990) ont montré qu'aucun lien n'existe entre l'appétence et la formononétine. L'étude de diverses populations en ségrégation de trèfle souterrain n'a montré aucune sélection naturelle pour des teneurs élevées en formononétine (Nichols *et al.*, 2009a).

### **2.3 Origine biogéographique et aire de culture**

Le trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum*) est originaire du bassin méditerranéen, de l'Asie de l'Ouest et de la côte atlantique de l'Europe de l'Ouest (Gladstones & Collins, 1983 ; Zohary & Heller, 1984) (Fig.4).

Les principales régions où le trèfle souterrain est naturellement présent sont : la Turquie, l'Espagne, le Portugal, l'Italie, la Grèce, la Baltique autour de la mer Caspienne, la Palestine, Syrie, l'Ethiopie, l'Afghanistan, les pays voisins d'Extrême-Orient, les îles de la Méditerranée, l'Afrique du Nord (Smetham, 2003a). Selon Masson (1997), le trèfle souterrain est également présent dans les régions à climat méditerranéen marginal, dans les landes à la pointe de la Bretagne Nord, et à l'Ouest de la France.

Le trèfle souterrain est adapté aux zones où les étés sont chauds et secs et les hivers humides avec des précipitations annuelles de 350-700 mm (Frame *et al.*, 1998), ou aux pentes des collines avec un aspect ensoleillé et des précipitations effectives plus faibles (Kemp *et al.*, 2004).

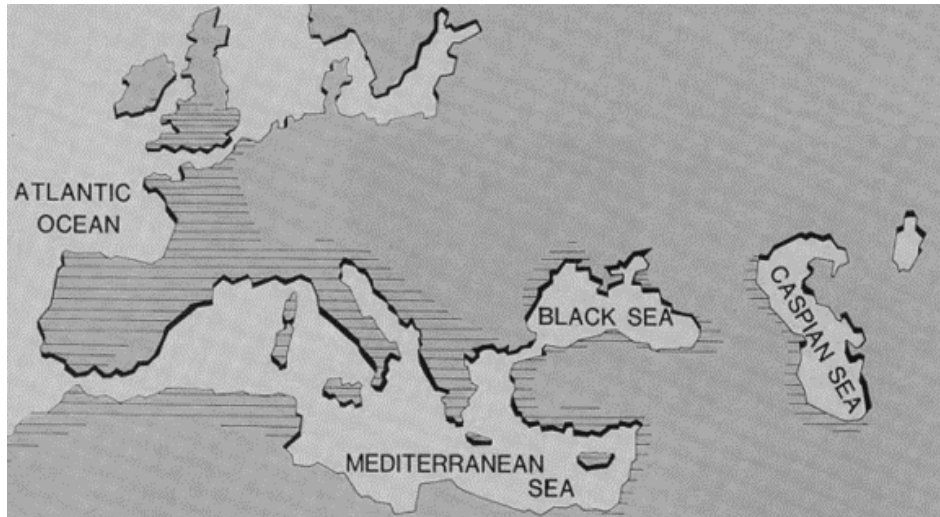


Figure 4. Répartition naturelle du trèfle souterrain dans la région méditerranéenne et les régions voisines plus tempérées. Sa répartition naturelle est illustrée par les zones ombragées (Collin *et al.*, 1996).

Le trèfle souterrain a été également introduit et cultivé dans d'autres pays à climat méditerranéen, notamment l'Afrique du Sud, le Chili, l'Argentine, la côte Ouest et le golfe du Mexique, ainsi que certaines régions de la Nouvelle-Zélande et de l'Uruguay (McGuire, 1985 ; Cocks & Bennett, 1999 ; Smetham, 2003a ; Sulas, 2005 ; Ates, 2009).

Aux États-Unis, le trèfle souterrain a été introduit vers 1921 (McGuire, 1985), et est largement utilisé et naturalisé sur la côte Ouest de la Colombie-Britannique au sud de la Californie, ainsi que sur la côte Est et dans le sud-Est (Clark, 2007).

En Australie, l'introduction du trèfle souterrain était accidentelle avec les premiers colons de l'Europe au XIXe siècle, comme contaminant de semences agricoles ou des fourrages importés du Royaume-Uni et d'Europe continentale (Gladstones, 1966 ; Nichols *et al.*, 2013). Selon ces mêmes auteurs, le trèfle souterrain a été domestiqué principalement par des chercheurs australiens en 1896, et il est rapidement devenu le trèfle annuel le plus important dans les régions tempérées de l'Australie (Gladstone, 1966 ; Nichols *et al.*, 2013).

## **2.4 Description botanique**

Le trèfle souterrain est une plante herbacée, annuelle, mollement velue, de 5- 15 cm de haut, généralement à port prostré. Elle présente une racine pivotante centrale avec de nombreuses racines fibreuses de soutien, à développement prostré, ne présentant pas d'enracinement adventif au printemps (McGuire, 1985) (Fig.5).

Les feuilles sont généralement en forme de cœur, alternes, longuement pétiolées, pubescentes sur les deux faces. Elles sont trifoliées, triangulaires à obcordées, finement dentées. Les stipules sont petites et pointues, variant en pilosité et couleur des bandes, qui varie du vert pâle au rouge, avec quelques différences morphologiques entre les principaux sous-espèces et cultivars (Frame *et al.*, 1998).

Les inflorescences sont des racèmes capituliformes, très lâches sur un pédoncule axillaire plus long que la feuille, comprenant 8 à 10 fleurs stériles, réduites au calice, apparaissant après la floraison et entourant 2 à 6 fleurs fertiles longues. Le calice présente des dents subégales, filiformes, ciliées, à tube glabre, renflé à maturité. La corolle est blanche à blanc (McGuire, 1985).

Les fruits sont des gousses globuleuses souterraines contenant une seule graine plus ou moins réniforme, ovale, avec hile prononcé. Ces gousses sont enfermées dans des infrutescences globuleuses (bavures), qui sont ensuite partiellement ou totalement enfouies dans le sol où les graines mûrissent. Le nombre de gousses par infrutescence est considéré comme étant une caractéristique spécifique et variétale (Frame *et al.*, 1998).

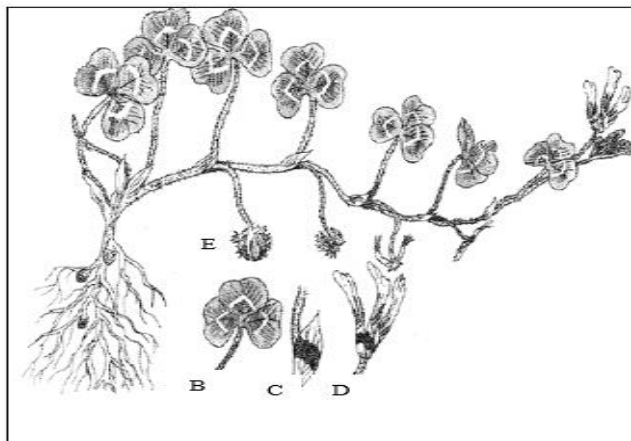


Figure 5. Morphologie et caractéristiques des différentes parties de la plante de trèfle souterrain. A : plante entière en pleine floraison (photo prise par Bouziane Zahira, 2014). B, C, D et E : feuilles, stipules, fleurs et infrutescence (McGuire, 1985).

**Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de plusieurs populations Algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.**

Katznelson & Morley (1965b *In* Nichols *et al.*, 2013), rapportent des différences morphologiques très remarquables et discernables entre les trois sous espèces de *T. subterraneum*, dont les principales sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3. Caractéristiques morphologiques distinctives des trois sous-espèces de *Trifolium subterraneum* (Katznelson & Morley 1965b *In* Nichols *et al.*, 2013).

Caractéristiques	ssp. <i>subterraneum</i>	ssp. <i>yannanicum</i>	ssp. <i>brachycalycinum</i>
Pubescence de la tige et de la face supérieure de la feuille	Glabre à pubescent	Glabre	Glabre à pubescent
Pédoncule	Géotropisme fort, enfouissement actif des bavures	Géotropisme fort, enfouissement actif des bavures	Géotropisme faible, pédoncules longs, minces, peu ou pas d'enfouissement.
Fleurs	Corolle de longueur similaire au calice	Corolle de longueur similaire au calice	Corolle jusqu'à deux fois plus longue que le calice.
Pigmentation du tube du calice	Aucune à l'ensemble du tube	Aucune à l'extrémité proximale du tube	Aucune
Couverture des gousses par le calice	Verticilles denses couvrant la totalité ou la majeure partie de la gousse	Peu de verticilles couvrant la totalité ou la majeure partie de la gousse	Verticilles denses recouvrant la base jusqu'au tiers inférieur de la gousse
Gousse	Mince et cassante	Cuir et plissé transversalement	Mince et cassante
Forme du grain	Rond à légèrement ovoïde	Rond à légèrement ovoïde	Aplati avec lentille proéminente
Couleur du grain	Noir ou violet foncé, parfois crème à ambre	Généralement crème à ambre	Noir ou violet foncé, parfois crème à ambre

Les caractéristiques des fleurs et des grains (couleur et forme), sont les plus faciles à utiliser pour distinguer les trois sous espèces (Nichols *et al.*, 1996) (Fig.6).

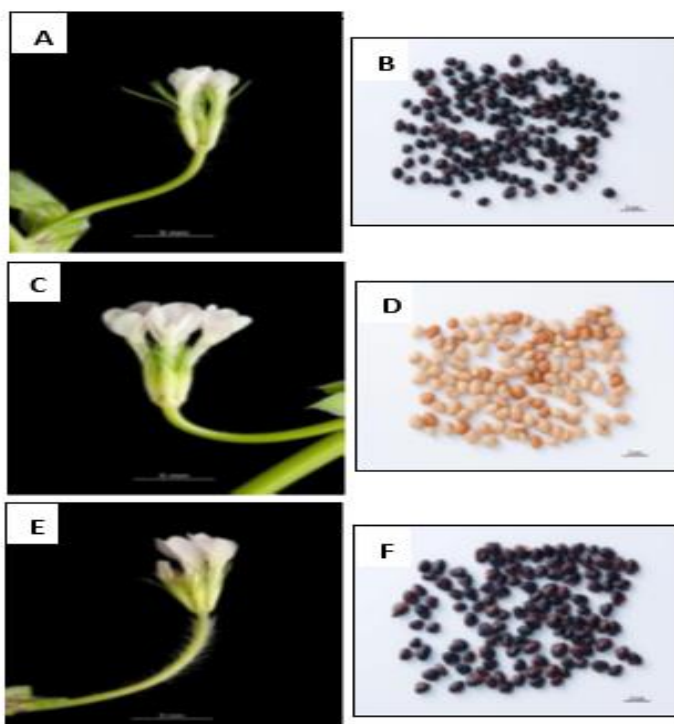


Figure 6. Caractéristiques des fleurs et des graines chez les trois sous espèces de *Trifolium subterraneum* : **A** et **B** : ssp. *subterraneum* ; **C** et **D** : ssp. *yannanicum*, **E** et **F** : ssp. *brachycalycinum* (Lucas *et al.*, 2016).

## 2.5 Taxonomie

Le trèfle souterrain a été inclut dans le genre *Trifolium* par Linnaeus, dans sa classification végétale de 1753 « *Species Plantarum* » (Nichols, 2004). Selon Zohary & Heller (1984) et Ellison *et al.*, (2006), *Trifolium subterraneum*, suit la classification suivante :

Famille : Fabaceae

Genre : *Trifolium*

Section : *Trichocephalum*

Espèce : *subterraneum* L.

### 2.5.1 Classification infraspécifique et débat

La flore de l'Afrique du Nord et notamment de l'Algérie, a connu plusieurs révisions et mises à jour nomenclaturales afin de préciser la validité des noms scientifiques des différents taxa. C'est également le cas de l'espèce *Trifolium subterraneum*. Cette dernière était toujours décrite dans les anciennes flores (Battendier & Trabut ,1884 ; Quezel & Santa, 1962), sous le nom « *Trifolium. subterraneum* L. ».

Cependant, la classification infraspécifique de cette espèce a provoqué un grand litige, du fait qu'elle constitue un complexe hétérogène. Hutton & Peak (1954) et Morley *et al.*, (1956) ont observé des différences de fertilité entre certaines combinaisons de génotypes de trèfle souterrain.

À partir des données morphologiques, génétiques et cytogénétiques, (Katznelson et Morley 1965a,1965b In Nichols *et al.*, 2013) ont décrit trois sous-espèces : *subterraneum*, *yanninicum*, *brachycalycinum*.

Plus tard, Katznelson (1974 In Nichols *et al.*, 2013) a suggéré que les taxons *subterraneum*, *yanninicum* et *brachycalycinum* étaient des espèces en raison de leur distinction morphologique et de leur isolement génétique apparent par de fortes barrières de stérilité.

Dans leur monographie sur le genre *Trifolium*, Zohary & Heller (1984), considèrent *T. subterraneum* comme une seule espèce répartie en huit variétés botaniques : *subterraneum*, *yanninicum*, *brachycalycinum*, *brachycladum*, *majurculum*, *graecum*, *oxaloides* et *flagelliforme*.

Selon Nichols (2004), cette classification de l'espèce en variétés botaniques semble reposer en grande partie sur des différences quantitatives plutôt que qualitatives, et qu'il existe également un risque de confusion, car le terme " variété " est un terme courant pour désigner le génotype dans la littérature agronomique.

Falisticco *et al.*, (1987), en s'appuyant sur les caryotypes, s'opposent à cette classification et confirment la classification de Katznelson et Morley (1965b *In* Nichols *et al.*, 2013) en trois sous-espèces.

Les trois sous espèces reconnus (*subterraneum*, *brachycalycinum*, *yanninicum*), sont assez identifiables par leurs morpho-physiologies, leurs caryotypes, leurs isozymes, leurs polymorphismes pour les marqueurs moléculaires (Piluzza *et al.*, 2005), et leurs préférences édaphiques (Piano *et al.*, 1982 ; Nichols *et al.*, 2007b).

Plusieurs auteurs, dont Cocks (1992), Nichols *et al.*, (1996, 2009a, 2012, 2013), Piano *et al.*, (1996), Pecetti & Piano (2002), Piluzza *et al.*, (2005), Ghamkhar *et al.*, (2015), ont adopté cette classification en trois sous espèces.

Suite à de récentes données de phylogénie moléculaire, l'appellation de *T. subterraneum* et ses taxons infraspécifiques ont subi des changements nomenclaturaux et taxinomiques dans différentes bases de données (Tab.4), telles que :

- L'Euro-Med Plant Database, affiliée au Word Checklist, se focalisant sur les plantes de la région Euro-Méditerranéenne.
- La base de données de l'Afrique du Nord « ISFAN » : Index Synonymique et Bibliographique de la Flore de l'Afrique du Nord (Dobignard & Chatelain (2010-2013), créée par les Conservatoires et Jardins botaniques de la Ville de Genève en collaboration avec South African National Biodiversity Institute (SANBI), Tela Botanica et le Missouri Botanical Garden. Cette base de données constitue une partie de la base de données des plantes d'Afrique « Africain Plant Database ».

**Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de plusieurs populations Algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.**

Tableau 4. Synonymes des noms de *Trifolium subterraneum* L., et ses sous espèces en Afrique du Nord dans les trois bases de données.

<b>Taxons</b>	<b><i>Euro-Med Database</i> (2006, consulté le 30 Avril 2019)</b>	<b><i>Africain Plant Database</i> (Consulté le 24 Avril 2019 et 23 Mars 2022)</b>	<b>ISFAN (Référentiel de Dobignard &amp; Chatelain, 2010-2013) (Consulté le 24 Avril 2019)</b>
<i>Trifolium subterraneum</i> L.	<b>Synonymes</b>		
	<i>Calycomorphum subterraneum</i> (L.) C.Presl	≡ <i>T.subterraneum</i> . var <i>subterraneum</i> ≡ <i>T. subterraneum</i> L. subsp. <i>subterraneum</i> = <i>T.oxaloides</i> Bunge ex Nyman = <i>T. subterraneum</i> var. <i>brachycladum</i> Gibelli & Belli (1893) = <i>T. subterraneum</i> var. <i>longipes</i> H. Gay (1889)	<i>Trifolium subterraneum</i> var. <i>longipes</i> H.Gay
	<b>Taxa infra- spécifiques (Afrique du Nord)</b>		
	<i>T. subterraneum</i> subsp. <i>subterraneum</i> <i>T. subterraneum</i> subsp. <i>oxaloides</i> Bunge ex Nyman (1878)	<i>T. subterraneum</i> var. <i>subterraneum</i> <i>T. subterraneum</i> L. subsp. <i>subterraneum</i> <i>T. subterraneum</i> subsp. <i>oxaloides</i> Bunge ex Nyman (1878)	<i>T. subterraneum</i> subsp. <i>subterraneum</i> <i>T. subterraneum</i> subsp. <i>oxaloides</i> Bunge ex Nyman (1878)
<i>T. subterraneum</i> subsp. <i>subterraneum</i>	<b>Synonymes</b>		
	<i>T. subterraneum</i> subsp. <i>subterraneum</i>	≡ <i>T.subterraneum</i> . L. ≡ <i>T.subterraneum</i> . var <i>subterraneum</i> = <i>T. subterraneum</i> var. <i>brachycladum</i> Gibelli & Belli (1893)	<i>T. subterraneum</i> var. <i>brachycladum</i> Gibelli & Belli (1893)
<i>T.subterraneum</i> subsp. <i>oxaloides</i> Bunge ex Nyman	<i>Trifolium subterraneum</i> subsp. <i>brachycalycinum</i> Katzn. & Morley	= <i>T. subterraneum</i> subsp. <i>brachycalycinum</i> Katzn. & Morley (1965) = <i>T. subterraneum</i> var. <i>flagelliforme</i> Gauss. (1854)	<i>T. subterraneum</i> subsp. <i>brachycalycinum</i> Katzn. & Morley (1965) = <i>T. subterraneum</i> var. <i>flagelliforme</i> Gauss. (1854)

≡ (synonyme homotypique ou nomenclatural), = (synonyme hétérotypique ou taxinomique). ISFAN : index synonymique et bibliographique de la flore de l'Afrique du Nord (Dobignard & Chatelain, 2010-2013).

En Algérie, selon la plus récente subdivision infra spécifique de Dobignard & Chatelain (2012) et la nouvelle flore du Maghreb (eflore) (In Chatelain *et al.*, 2018), l'espèce *Trifolium subterraneum* est représentée par deux sous espèces : *subterraneum* et *oxaloides*.

## 2.5.2 Répartition et adaptation infra spécifique

Du fait de sa subdivision en trois sous espèces (*subterraneum*, *brachycalycinum* et *yanninicum*), le trèfle souterrain existe dans une gamme de conditions climatiques et pédologiques (Ellison *et al.*, 2006).

La répartition naturelle des trois sous espèces de trèfle souterrain, est largement déterminée par les facteurs édaphiques (Francis & Devitt, 1969 ; Piano *et al.*, 1982 ; Nichols *et al.*, 2007b).

Les sous espèces *subterraneum* et *yanninicum*, conviennent mieux aux sols modérément acides de pH (CaCl<sub>2</sub>) 4,2-7,0. La ssp. *subterraneum* est bien adaptée aux sols bien drainés, tandis que ssp. *yanninicum* préfère les sols mal drainés ou ceux à forte capacité de rétention d'eau (Costello & Costello, 2003).

La sous-espèce *brachycalycinum* est par contre, mieux adaptée aux sols alcalins neutres et bien drainés de pH (CaCl<sub>2</sub>) 6,5-8,5, contenant des fissures ou des pierres pour le développement des bavures (Nichols *et al.*, 2013).

Cependant, Ghamkhar *et al.* (2015), dans leur étude portant sur une collection mondiale constituée de 5184 accessions prélevées au niveau des habitats naturels de l'espèce *T.subterraneum*, suggèrent une fourchette de pH (H<sub>2</sub>O) du sol pour leur croissance dans la région méditerranéenne allant de 5-7 pour ssp. *subterraneum* et 6-8,5 pour les sous espèces *brachycalycinum* et *yanninicum*.

Nichols *et al.* (2013) et Ghamkhar *et al.* (2015), indiquent que les sous espèces *subterraneum* et *brachycalycinum* sont largement présentes dans toute la région méditerranéenne. La sous espèce *subterraneum* est répartie sur une large gamme de latitudes, de températures annuelles moyennes (3,7 - 27,3 °C), de précipitations annuelles (<100 m - 1540 mm), et d'altitude variables (0- 2940 m) (Ghamkhar *et al.*, 2015), tandis que la sous espèce *yanninicum* était la plus restreinte. Celle-ci (*yanninicum*), a tendance à se limiter aux sites sujets à l'engorgement hivernal (Nichols *et al.*, 2013).

En outre, Ghamkhar *et al.* (2015) ont identifié sept points chauds de diversité pour la sous espèce *subterraneum* lors de l'étude de la même collection mondiale et de la prise en compte des variables éco-géographiques des sites de collecte : Ouest de l'Espagne, Ouest de la France, Nord du Maroc, Nord de la Tunisie, Sardaigne, Sud de l'Italie (y compris la Sicile), Sud de la Turquie.

L'Ouest de l'Espagne, la Sardaigne, le Nord-est de la Grèce continentale et l'ouest de la Turquie sont des points chauds pour la sous espèce *brachycalycinum* (Ghamkhar *et al.*, 2015).

La sous espèce *yanninicum* présente des points chauds en Sardaigne, Grèce du Nord-Ouest et l'Ouest de la Turquie (Ghamkhar *et al.*, 2015).

Selon ces mêmes auteurs, la France, l'Italie, l'Espagne et le Maroc, constituent les principaux points chauds ou les centres de diversification du trèfle souterrain dans son ensemble (Ghamkhar *et al.*, 2015).

En Algérie, plusieurs populations correspondant à la sous espèce *subterraneum*, ont été rencontrées dans les régions du Nord-Est du pays, sur des sols non salins et calcaires, aux textures diverses et à pH variable (6,46 – 8,64) (Issolah *et al.*, 2015).

# *Chapitre II*

## *Matériel et Méthodes*

## 1. Matériel végétal

Le matériel végétal est issu d'une prospection effectuée en 2010, par l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA) (Issolah *et al.*, 2015). Vingt-six (26) populations naturelles de trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum* L.), collectées dans différentes régions éco-géographiques du Nord-Est de l'Algérie, ont fait l'objet de cette étude (Tab.5 ; Fig. 7).

Tableau 5. Liste des populations naturelles de Trèfle souterrain collectées dans le Nord-Est de l'Algérie et caractéristiques écologiques des habitats naturels.

N° populations	Origine	Altitude (m)	Pluviométrie (mm)
2/10	Guelma	530	600
3/10	Guelma	570	600
4/10	Guelma	660	600
6/10	Guelma	625	537
7/10	Guelma	230	500
10/10	Guelma	640	650
11/10	Guelma	820	650
12/10	Guelma	170	600
13/10	Guelma	200	558
16/10	Guelma	530	558
17/10	Guelma	530	558
18/10	El Tarf	610	661
19/10	El Tarf	665	661
20/10	El Tarf	555	661
21/10	Souk Ahras	585	800
22/10	Souk Ahras	950	800
23/10	Souk Ahras	1040	700
24/10	Souk Ahras	810	700
25/10	Souk Ahras	800	900
26/10	Souk Ahras	1110	700
27/10	Souk Ahras	740	700
29/10	Guelma	430	550
33/10	Skikda	110	562
37/10	Constantine	380	700
38/10	Skikda	410	609
39/10	Skikda	560	845

Source : Issolah *et al.*, (2015)

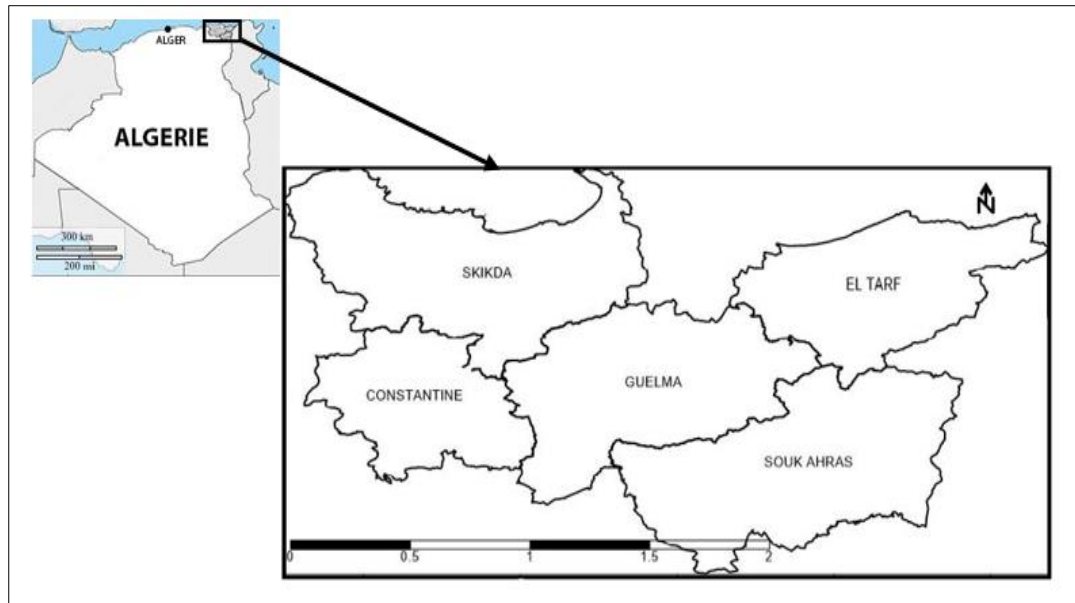


Figure 7. Localisation géographique des sites de collecte des populations naturelles de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. dans le Nord-Est de l'Algérie.

## 2. Méthodes

### 2.1 Etude morpho-phénologique et biométrique

#### 2.1.1 Description du site expérimental

L'essai a été installé à la station expérimentale Mehdi Boualem (Baraki) de INRAA, située au Nord-Est de la wilaya d'Alger, à une altitude de 18 m et à 36, 68' N et 3°, 10' E. Cette zone est caractérisée par un climat subhumide avec une pluviométrie annuelle de 517.6 mm (2013-2014). Les données climatiques correspondant aux températures et à la pluviométrie durant la campagne agricole 2013/2014, ont été recueillies à la station météorologique de Mehdi Boualem (INRAA) (Tab.6).

Tableau 6. Données climatiques relatives à la station Mehdi Boualem-Baraki (INRAA, Alger) durant l'année de l'essai (2013/2014).

Mois	Précipitations (mm)	Températures (°C)	
		m (°C)	M (°C)
Septembre	17.8	16.0	33.0
Octobre	9.8	12.2	36.8
Novembre	196.8	3.8	27.6
Décembre	123.8	2.7	21.8
Janvier	85	2.8	24.1
Février	6.4	1.9	27.8
Mars	2.2	3.6	25
Avril	17.4	7.2	30
Mai	6.8	6.8	29.3
Juin	9.8	13.1	34.9
Juillet	1.8	15.2	38.3
Année	Cumul= 517.6	Moyenne= 7.76	Moyenne= 29.82

Source : Station météorologique de Mehdi Boualem (INRAA, Baraki- Alger)

## 2.1.2 Conditions générales de la parcelle

### ▪ Précédent cultural

Le précédent cultural est une culture de graminées (blé dur).

### ▪ Travail du sol

Un labour à la charrue à disque a été réalisé, suivi d'un passage au cover crop au mois de Septembre (2013). Par la suite, un deuxième passage à la charrue à disque a été réalisé le mois d'octobre afin d'obtenir un lit de semence favorable.

### ▪ Fumure

Pour enrichir le sol, 75 unités d'engrais NPK ont été réparties au niveau de la parcelle.

### ▪ Caractéristiques pédologiques de la parcelle

La parcelle est caractérisée par un sol de texture Argilo- limoneuse et un pH alcalin (7.80) (Tab.7).

Tableau 7. Résultats des analyses du sol de la parcelle de l'essai.

Paramètres Profondeur	Granulométrie			pH	CE (dS/m)	N total (%)	P2O5 Assimi- lable (ppm)	K Assimi- lable (MEq/100 g)	MO (%)	Calcaire total CaCO3 (%)
	Argile (%)	Limons (%)	Sable (%)							
0-25cm	45.35	44.81	7.98	7.87	0.17	0.12	68.67	0.77	2.02	0.73
25-55cm	48.5	44.72	7.77	7.77	0.17	0.095	68.67	0.46	1.49	0.48
>55 cm	51.89	44.2	7.8	7.80	0.17	0.08	27.92	0.46	0.69	0.8

Source : Laboratoire des sols de la station Mehdi Boualem (INRAA, Baraki-Alger)

## 2.1.3 Mise en place de l'essai

### • Semis

Les graines scarifiées (papier verre) de chacune des vingt-six (26) populations naturelles de trèfle souterrain ont été semées manuellement le 9 décembre 2013 (station de Mehdi Boualem-INRAA), à raison de trente (30) individus par population, espacés de 1,5 m. Les populations sont également séparées les unes des autres de 1,5 m (Fig.8). Le dispositif expérimental est en blocs aléatoires complets, avec trois répétitions.

- **Désherbage**

Pour faciliter le suivi du développement des plantes de trèfle souterrain, un désherbage manuel et mécanique à l'aide d'un motoculteur a été fréquemment effectué afin d'éviter la concurrence des populations avec les mauvaises herbes.



Figure 8. Semis de plusieurs populations de *Trifolium subterraneum* au niveau de la station expérimentale de Mehdi Boualem -Baraki (Photo prise par Bouziane Zahira, INRAA-2013).

#### **2.1.4 Caractères étudiés**

En premier lieu, une étude biométrique a été réalisée sur chacune des vingt-six (26) populations mères (G0) prospectées au niveau des habitats naturels.

Pour chaque population, trente infrutescences (30 individus par population) ont été prises aléatoirement sur lesquels dix (10) caractères relatifs aux infrutescences, gousses, et graines ont été mesurés : poids de 30 infrutescences (PIF0)(g) ; taille des infrutescences (cm) : longueur (LIF0) et largeur (IIF0) ; nombre moyen de gousses par infrutescence (NGS0) ; nombre moyen de grains par infrutescence (NGR0) ; nombre moyen de graines par gousse (NGG0) ; rapport poids des graines sur le poids des infrutescences (RGI0) ; poids de mille grains (PMG0)(g) ; taille des graines (mm) : longueur (LGR0) et largeur (IGR0).

Concernant la taille des graines, nous avons également considéré les moyennes (longueur et largeur) de trois graines par infrutescence (90 graines par population), choisies aléatoirement.

Ensuite, vingt-trois (23) caractères morpho-phénologiques quantitatifs (dont 3 déduits) ont été considérés et mesurés sur chaque plant (individus) des 26 populations semées : Date de levée (DL) ; développement hivernal en hauteur (DHH) ; développement hivernal en largeur (DHL) ; développement printanier en hauteur (DPH) ; développement printanier en largeur (DPL) ; nombre de ramifications par rameau (le plus vigoureux) (NRR) ; longueur de la foliole centrale (LF) et largeur de la foliole (IF) ; longueur du pétiole (LPT) ; longueur du pédoncule floral (LPF) (les notations des quatre derniers caractères portent sur le nœud de la première fleur) ; longueur des entre-nœuds (LEN) (après la première fleur).

Les dates de floraison et formation de gousses ont été exprimées en nombre de jours depuis la levée : bouton floral (BF) ; apparition de la première fleur (PRF) ; pleine floraison (PF) ; fin floraison (FF) ; apparition de la première gousse (PRG) ; pleine formation de gousses (PFG) ; début de maturité des gousses (DMG) ; dessèchement total (DSH) ; nombre de fleurs par plant (NFP).

Les trois caractères déduits ont été déterminés de la manière suivante :

- Vitesse de croissance hivernale (VCH) : permet de déduire le rythme de croissance de la plante durant la période hivernale. Elle est exprimée en centimètres par jour (cm/j).

$$VCH = L1 / N1$$

L1 : largeur atteinte par la plante à la fin de l'hiver (21/03/2014).

N1 : nombre de jours séparant la date de mesure de la largeur hivernale atteinte à la sortie de l'hiver et la date de levée de chaque individu.

- Vitesse de croissance printanière (VCP) : permet de déduire le rythme de croissance de la plante durant la période printanière. Elle est exprimée en centimètres par jour (cm/j).

$$VCP = L2 - L1 / N2$$

L1 : largeur atteinte à la fin de l'hiver (21/03/2014).

L2 : largeur atteinte à la sortie du printemps (21/05/2014).

N2 : nombre de jours séparant les deux dates de mesure (largeur printanière et largeur hivernale) pour chaque individu.

- Durée de la floraison (DF) : nombre de jours qui sépare l'apparition de la première fleur et la fin de la floraison.

Par ailleurs, dix-sept (17) caractères qualitatifs ont été notés sur les mêmes plants, pendant les périodes hivernale et printanière et concernent : les marques foliaires (Largeur du croissant, LCF ; Largeur de bande vert pâle, LBV ; Largeur du bras foliaire, LBF ; Couleur du bras foliaire, CBF) ; degré de denticulation du bord distal des feuilles (DBD) ; intensité de pigmentation anthocyanique des feuilles (Mouchetures, MAF ; Intensité des tâches diffuses, ITD) ; degré de coloration des stipules (PST) ; distribution de pigmentation du tube de calice (PTC) ; degré pilosité (face supérieure de la feuille, PFS ; pétiole, PPT ; pédoncule floral, PPF ; tige, PTT) ; couleur des graines (CGR).

La plupart des caractères ont été sélectionnés à partir des descripteurs établis pour le trèfle souterrain (Nichols *et al.*, 1996 ; Ghamkhar *et al.*, 2015) (Tab.8).

Concernant les caractères : forme des feuilles (FDF), forme des graines (FDG) et degré d'enfouissement (DEF), nous avons adopté respectivement l'échelle de notations suivante : 1 (triangulaire) ; 2 (triangulaire à ronde) ; 3 (ronde) (UPOV, 2001), et 1 (ronde) ; 2 (ronde à allongée) ; 3 (aplatie) ; 0 (absence d'enfouissement) ; 1 (présence d'enfouissement) (Katznelson & Morley 1965b *In* Nichols *et al.*, 2013).

La forme des graines et le degré d'enfouissement peuvent servir dans la distinction entre les trois sous espèces de *T. subterraneum* : ssp. *subterraneum*, ssp. *brachycalycinum*, et ssp. *yannicum*. (Katznelson & Morley 1965b *In* Nichols *et al.*, 2013).

À la récolte, trente (30) infrutescences ont été choisies aléatoirement pour chacune des populations semées (30 individus par population). Dix (10) caractères biométriques relatifs aux infrutescences, gousses, et graines ont été mesurés sur les populations de la première descendance (première génération , G1) : poids de 30 infrutescences (PIF1)(g) ; taille des infrutescences (mm) : longueur (LIF1) et largeur (IIF1) ; nombre moyen de gousses par infrutescence (NGS1) ; nombre moyen de grains par infrutescence (NGR1) ; nombre moyen de graines par gousse (NGG1) ; rapport poids des graines sur le poids des infrutescences (RGI1) ; poids de mille grains (PMG1)(g) ; taille des graines (mm) : longueur (LGR1) et largeur (IGR1).

Pour la taille des graines, les moyennes (longueur et largeur) de trois graines par infrutescence choisies aléatoirement (90 graines par population), ont été considérées.

Tableau 8. Marqueurs morphologiques qualitatifs étudiés et échelle de notations (Nichols *et al.*, 1996 ; Ghamkhar *et al.*, 2015).

Organes		Caractères	Symboles	Expression
Marques foliaires		Largeur du croissant vert pâle	LCF	0-Absent, 2-Point Central (C <sub>1</sub> ), 4-Marge à 1/2 feuille (C <sub>2</sub> ), 6 - Marge à 2/3 feuille (C <sub>3</sub> ), 8-Marge à Marge feuille (C <sub>4</sub> )
		Largeur de bande vert pâle	LBV	0-Absent, 2- Etroite (B <sub>1</sub> ), 4- Modérément étroite (B <sub>2</sub> ), 6- Large(B <sub>3</sub> )
Feuilles		Largeur du bras foliaire	LBF	0-Absent, 2- Etroit (A <sub>1</sub> ), 4- Modérément large (A <sub>2</sub> ), 6- Large (A <sub>3</sub> )
	Intensité anthocyannique	Couleur du bras foliaire	CBF	0-Absent, 1- Vert pâle, 2-Blanc
		Denticulation du bord distal	DBD	0-Absent -2-Modérée, 4-Forte
		Mouchetures	MAF	0-Absent, 2-Faible, 4-Modérée, 6-Forte
		Tâches diffuses	ITD	0-Absent, 2-Faible, 4-Modérée, 6-Forte
		Pigmentation des stipules	PST	0-Absent, 2-Faible, 4-Modérée, 6-Forte
Pilosité	Face supérieure des feuilles	PFS	0-Glabre, 2-Faible, 4- Modérée, 6-Forte, 8- Très forte	
	Pétiole	PPT	0-Glabre, 2-Faible, 4- Modérée, 6-Forte, 8- Très forte	
Tige		Pilosité de la tige	PTT	0-Glabre, 2-Faible, 4- Modérée, 6-Forte, 8- Très forte
Fleurs	Pilosité	Pédoncule floral	PPF	0-Glabre, 2-Faible, 4- Modérée, 6-Forte, 8- Très forte
	Calice	Pigmentation du tube du calice	PTC	0-Absent, 2-1/4Tube, 4-1/2 Tube, 4-3/4 Tube, 8-Tube entier
Grains		Couleur du grain	CGR	1-Clair (crème), 2- Marron, 3- Noire

### 2.1.5 Traitements statistiques

Les données morpho-phénologiques et biométriques quantitatives ont fait l'objet de plusieurs traitements statistiques :

- Analyses de la variance à un facteur (ANOVA), appliquées à l'ensemble des caractères pris en compte. La comparaison de moyennes est faite sur la base du test post-hoc de Tukey, au seuil de 5%.
- Test t de Student a été utilisé pour comparer les moyennes des caractères biométriques relatifs aux infrutescences, gousses et graines pour chacune des populations, entre les générations (graines mères : G0 ; première descendance : G1). Ce test (T) permet d'analyser la stabilité des caractères.
- Matrices de corrélations (Pearson), afin d'étudier les relations entre les différents caractères d'une part, et d'autre part, avec les facteurs écologiques des habitats naturels des populations (Altitude et pluviométrie).

- Analyse en composantes principales (ACP), analyse exploratoire et descriptive (Dagnelie, 1986, 2006 ; Palm, 1998). L'objectif principal de cette méthode est de présenter le maximum d'informations contenues dans une matrice de moyennes des données de dimension  $n \times p$  ( $n$  et  $p$  représentent respectivement, les nombres de populations étudiées et des caractères mesurés), et faire le regroupement des populations.

L'ensemble des traitements ont été réalisés à l'aide des logiciels MINITAB 2016 et XLSTAT 2016.

Pour les différents marqueurs qualitatifs étudiés, nous avons déterminé les fréquences phénotypiques et l'indice de diversité ( $H'$ ) de Shannon -Weaver (1949 *In* Hennik & Zeven, 1991) :  $H' = H / H_{max}$ , où  $H = -\sum_{i=1}^n P_i \ln P_i$  et  $H_{max} = \ln(n)$ .

L'indice de diversité a été considéré comme faible ( $0.10 \leq H' \leq 0.40$ ), intermédiaire ( $0.40 \leq H' \leq 0.60$ ) et élevé ( $H' \geq 0.60$ ) (Eticha *et al.*, 2005).

## **2.2 Etude caryologique**

L'objectif de cette partie est de réaliser une analyse de la diversité chromosomique présente au sein des populations naturelles de *Trifolium subterraneum*. Neuf (09) populations (collection mère), ont fait l'objet d'une étude caryologique à travers l'analyse des mitoses, méioses et l'établissement du caryotype représentatif de l'espèce.

Ces populations proviennent de différentes localités biogéographiques au niveau du Nord- Est de l'Algérie, il s'agit de : 12/10 ; 13/10 (Guelma), 19/10 ; 20/10 (Tarf), 22/10 ; 23/10 ; 25/10 ; 26/10 (Souk Ahras), 33/10 (Skikda).

### **2.2.1 Dénombrements chromosomiques somatiques**

Les dénombrements chromosomiques et les caryotypes ont été effectués à partir de mitoses somatiques observées au niveau des méristèmes racinaires. Le protocole expérimental suivi est celui de Dyer (1963) avec quelques modifications relatives au prétraitement des méristèmes racinaires effectués grâce à un agent mitoclasique avant leur fixation.

L'utilisation de cet agent mitoclasique ( $\alpha$  Bromonaphtalène), augmente le nombre de cellules mitotiques en métaphase, permet une meilleure répartition des chromosomes dans la cellule, redresse les chromatides et contracte les chromosomes, ce qui rend les constriction primaires et secondaires plus perceptibles (Singh, 2018).

Les principales étapes de la technique de Dyer (1963) sont les suivantes :

- Germination

Les graines des populations étudiées ont été scarifiées, par frottement avec du papier verre, afin de lever la dureté tégumentaire (étape indispensable chez les légumineuses) puis mises à germer, sur du papier filtre humide, dans des boîtes de Pétri à température ambiante.

- Prétraitement

Les jeunes racines d'environ 1 à 1.5 cm de long ont été fraîchement excisées le matin (8h-8h30), ensuite trempées dans une solution de  $\alpha$  Bromonaphtalène (1%) pendant 2h 45 mn à température ambiante.

- Fixation

Après rinçage à l'eau distillée, les pointes racinaires ont été fixées dans la solution Carnoy II (Jahier *et al.*, 1992), composée de l'éthanol-chlorophorme-acide acétique (6v : 3v : 1v) pendant au moins 24h à 4°C. Cette étape permet de bloquer toute vie cellulaire, et de conserver l'intégrité structurale des chromosomes (Jahier *et al.*, 1992). Les racines fixées peuvent être conservées plusieurs mois dans une solution d'éthanol 70% à 4°C.

- Hydrolyse

Pour l'analyse des chromosomes, les extrémités racinaires ont été hydrolysées dans HCl (1N), puis chauffées jusqu'à apparition des premières vapeurs.

L'hydrolyse assure le ramollissement des tissus et un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelles. L'acide chlorhydrique (HCl) libère aussi, les groupements aldéhydiques sur les molécules de sucre de l'ADN par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose (Jahier *et al.*, 1992).

- Coloration

Les apex racinaires hydrolysés sont colorés à l'orceïne lacto-propionique pendant 24 h et à température ambiante (Dyer, 1963) (Ann.3).

- Montage et observation

Il consiste à déposer une pointe racinaire sur une lame dans une goutte d'orceïne lacto-propionique, puis la recouvrir soigneusement avec une lamelle et écraser doucement avec le pouce pour disperser les cellules.

Au minimum 30 individus par population sont observées et photographiées à l'aide d'un microscope Primo Star Zeiss muni d'une caméra numérique (Canon). Le comptage des chromosomes est réalisé sur des plaques métaphasiques présentant des chromosomes bien individualisés.

### **2.2.1.1 Fréquences des nombres chromosomiques**

Le comptage des plaques métaphasiques présentant des nombres de chromosomes différents a porté sur les préparations (lames) de 15 individus différents.

Le calcul des fréquences des nombres chromosomiques par plaque métaphasique a été effectué uniquement pour les populations (22/10 ; 23/10 ; 25/10 ; 26/10) présentant deux nombres de chromosomes ( $2n=16$  et  $2n=18$ ), selon la formule suivante :

$$F = \frac{\text{Nombre de plaques présentant le nombre chromosomique (16 ou 18)}}{\text{Nombre total de plaques métaphasiques obtenues}}$$

### **2.2.1.2 Analyse du caryotype**

Pour l'établissement du caryotype, cinq (05) plaques métaphasiques provenant d'individus différents pour chacune des populations, ont été sélectionnées. Les mesures des chromosomes données en micromètres, ont été réalisées grâce au logiciel Axio-vision (1999-2009).

La position du centromère et les types de chromosomes ont été déterminés à partir des trois paramètres : rapport des bras ( $r = BL/BC$ ), différence entre les bras ( $d = BL - BC$ ) et l'indice centromérique ( $Ic \% = BC / LT \times 100$ ), selon la nomenclature chromosomique standard de Levan *et al.*, (1964). Ces paramètres ont permis la mise en évidence des paires de chromosomes homologues et la détermination de l'emplacement de chacune d'elles dans le caryogramme. Ainsi, les chromosomes sont classés par ordre décroissant.

Pour tracer l'idiogramme, les paramètres pris en considération sont :

- Longueurs moyennes des bras courts (BC) et des bras longs (BL) ( $\mu m$ ).
- Longueurs totales :  $LT = BC + BL$  ( $\mu m$ ).
- Longueurs relatives :  $LTR = (LT / \Sigma LT) \times 100$ .
- Des valeurs moyennes des rapport bras long / bras court :  $r = BL / BC$ .
- Différence entre la longueur du bras long et celle du bras court :  $d = BL - BC$ .
- Indice centromérique pour chaque paire chromosomique :  $Ic \% = (BC / BL) \times 100$ .

Il est à noter que la taille des satellites n'est pas considérée dans les calculs. Ainsi, on distingue six types chromosomiques (Tab. 9).

Tableau 9. Nomenclature chromosomique de Levan *et al.*, (1964).

Position du centromère	d	r	Ic%	Types chromosomiques
Point Médian	0.00	1.0	50.00	Métacentrique senso stricto (M)
Région Médiane	0.00-2.5	1.0-1.7	50.0-37.5	Métacentrique (m)
Région submédiane	2.5-5	1.7-3	37.5-25	Submétacentrique (Sm)
Région subterminale	5-7.5	3-7	25-12.5	Subtélolocentrique (St)
Région Terminal	7.5-10	7.0-∞+	12.5-0.00	Acrocentrique (t)
Point Terminal	10.0---	∞	0.00	Télolocentrique (T)

Pour déterminer l'asymétrie du caryotype trois paramètres d'asymétrie ont été considérés :

- $Ias\% = (\Sigma \text{ bras longs} / \Sigma \text{ longueurs totales}) \times 100$  (Aran & Saito 1980). Les valeurs de l'indice d'asymétrie sont comprises entre 50 et 100 %.
- Le rapport entre la paire de chromosomes la plus longue et la plus courte (R).
- Le coefficient de symétrie inter-chromosomique (A2) ( $A2 = \text{Écart type de la longueur des chromosomes} / \text{longueur moyenne des chromosomes}$ ) (Romero Zarco, 1986).

### 2.2.2 Analyse du comportement méiotique

Dans le but de confirmer les résultats correspondants aux nombres trouvés lors de l'étude de la mitose, nous avons réalisé un dénombrement chromosomique méiotique au stade métaphase I et nous avons également suivi, le comportement méiotique des neuf (09) populations étudiées de *T.subterraneum*.

L'étude des méioses est réalisée sur les anthères des jeunes boutons floraux où les cellules sont en division méiotique. L'étude des appariements chromosomiques en méiose est faite en prophase I et métaphase I dans les cellules mères polliniques (CMP). Les autres stades sont également pris en considération pour leur importance dans la mise en évidence d'éventuelles irrégularités.

- Semis

Un essai expérimental a été mis en place au niveau de la station expérimentale Mehdi Boualem de l'INRAA au mois de Novembre 2014.

Chaque population est représentée par vingt individus (graines), semées à 1,5 m l'une de l'autre et en randomisation totale.

- Prélèvement

Afin de repérer les différents stades de la méiose, la période de collecte des boutons floraux s'est étalée sur un mois avant la floraison (récupérer des boutons floraux de taille variable). Pour chaque plante, au moins cinq boutons floraux ont été prélevés pendant le mois d'Avril 2015, en début de matinée à partir de 8h (forte activité méiotique ; Température fraîche et humidité élevée).

- Fixation

Les boutons floraux sont fixés dans une solution de Carnoy (Ethanol-acide acétique 3 :1 ; v/v) pendant au moins 48 h à 4°C (Jahier *et al.*, 1992).

- Montage

Après dissection des anthères sous loupe binoculaire, les cellules mères des grains de pollen ont été écrasées dans une goutte de carmin acétique 1% (Jahier *et al.*, 1992).

- Observation

L'observation des lames et la prise des photographies aux différents stades de la méiose ont été effectuées au microscope Primo Star Zeiss. Pour chaque population et chaque nombre chromosomique, au moins cinq plaques ont été sélectionnées pour étudier le comportement méiotique.

## *Chapitre III*

### *Résultats et Discussions*

## **1. Etude morphologique et phénologique**

### **1.1 Analyse de la variance** (Tab.10 ; Ann.1, Tab : 1- 23)

L'analyse de la variance a mis en évidence des différences hautement à très hautement significatives pour la plupart des caractères considérés. En effet, le test post-hoc de Tukey a permis la formation de groupes de populations (Tab.10).

#### **1.1.1 Caractères relatifs au développement végétatif**

- **Date de levée (DL)** (Ann.1, Tab.1)

Ce caractère se révèle très hautement significatif entre les populations. Le test de Tukey a mis en évidence quatre groupes homogènes dont deux qui se distinguent (Tab.10). Le premier groupe (a) comporte une seule population (12/10), la plus tardive à la levée (34.13 jours), par contre la population 38/10, la plus rapide à s'installer sur le sol (20 jours), forme le dernier groupe (d). La moyenne générale de l'espèce est de 27.11 jours.

- **Développement hivernal en hauteur (DHH)** (Ann.1, Tab.2)

L'analyse de la variance a montré un effet populations très hautement significatif. Trois groupes homogènes sont formés (Tab.10). Le développement en hauteur le plus important est noté chez la population 11/10 (2.97 cm) qui forme à elle seule le premier groupe (a), alors que la population 12/10 du dernier groupe (c) a montré la hauteur la plus faible (1.59 cm).

- **Développement hivernal en largeur (DHL)** (Ann.1, Tab.3)

A la sortie de l'hiver, la largeur maximale atteinte (13.97 cm) est notée chez la population 37/10 et la minimale (6.43 cm) chez la population 7/10. L'espèce présente une moyenne générale de 9.04 cm. L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif des populations avec la constitution de quatre groupes (Tab.10). Le premier groupe (a) comporte la population 37/10. Le dernier groupe (d) englobe la population 7/10.

- **Développement printanier en hauteur (DPH)** (Ann.1, Tab.4)

Ce caractère révèle une différence significative entre les populations. En effet, le test de Tukey a distingué deux groupes de populations (Tab.10). Le premier groupe (a) est constitué d'une seule population (4/10) (5.14 cm). Par contre, le dernier groupe (b) est constitué de deux populations 33/10 et 27/10 montrant des valeurs plus faibles (3.40 cm et 3.24 cm, respectivement). La moyenne générale de l'espèce est de 3.99.

Tableau 10. Résultats de l'analyse de la variance des paramètres morpho- phénologiques chez 26 populations algériennes de *Trifolium subterraneum* L.

Populations	DL (j)	DHH (cm)	DHL (cm)	DPH (cm)	DPL (cm)	VCH (cm/j)	VCP (cm/j)	NRR	LF (cm)	IF (cm)	LPT (cm)	LPF (cm)	LEN (cm)	BF (j)	PRF (j)	PF (j)	FF (j)	PRG (j)	PFG (j)	DMG (j)	DSH (j)	NFP	DF (j)
2/10	22.27 <sup>bcd</sup>	2.13 <sup>abc</sup>	13.11 <sup>ab</sup>	3.54 <sup>ab</sup>	80.91 <sup>abcde</sup>	0.18 <sup>abc</sup>	1.13 <sup>abcd</sup>	6.60 <sup>ab</sup>	1.21	1.32 <sup>ab</sup>	4.05 <sup>ab</sup>	3.60 <sup>ab</sup>	4.90	105.8 <sup>ab</sup>	108.67 <sup>abc</sup>	121.87 <sup>ab</sup>	150.27 <sup>bc</sup>	122.67 <sup>abcd</sup>	150.53 <sup>abc</sup>	147.93 <sup>abcd</sup>	169.87 <sup>ab</sup>	124.9 <sup>ab</sup>	41.13 <sup>cdef</sup>
3/10	31.13 <sup>abc</sup>	2.55 <sup>abc</sup>	8.32 <sup>abcd</sup>	4.28 <sup>ab</sup>	87.07 <sup>abcde</sup>	0.12 <sup>bcd</sup>	1.31 <sup>abc</sup>	5.07 <sup>ab</sup>	1.27	1.34 <sup>ab</sup>	<b>4.39<sup>a</sup></b>	4.15 <sup>ab</sup>	4.57	101.2 <sup>ab</sup>	104.93 <sup>abc</sup>	116.4 <sup>ab</sup>	145.47 <sup>c</sup>	116.33 <sup>bcd</sup>	<b>144<sup>c</sup></b>	142.73 <sup>abcd</sup>	165.87 <sup>ab</sup>	79.3 <sup>ab</sup>	40.53 <sup>def</sup>
4/10	23.67 <sup>abcd</sup>	2.50 <sup>abc</sup>	12.42 <sup>abc</sup>	<b>5.14<sup>a</sup></b>	<b>108.67<sup>a</sup></b>	0.16 <sup>abcd</sup>	<b>1.60<sup>a</sup></b>	<b>6.93<sup>a</sup></b>	1.21	1.13 <sup>ab</sup>	3.92 <sup>ab</sup>	3.03 <sup>ab</sup>	4.78	103.13 <sup>ab</sup>	106.13 <sup>abc</sup>	119.8 <sup>ab</sup>	153.8 <sup>abc</sup>	123 <sup>abcd</sup>	151.8 <sup>abc</sup>	145.13 <sup>abcd</sup>	169.93 <sup>ab</sup>	<b>143.3<sup>a</sup></b>	47.67 <sup>abcde</sup>
6/10	27.82 <sup>abcd</sup>	1.96 <sup>abc</sup>	7.66 <sup>bcd</sup>	3.73 <sup>ab</sup>	73.64 <sup>bcde</sup>	0.10 <sup>bcd</sup>	1.10 <sup>abcd</sup>	5.09 <sup>ab</sup>	1.11	<b>1.10<sup>b</sup></b>	<b>2.74<sup>b</sup></b>	<b>2.84<sup>b</sup></b>	4.80	<b>99.98<sup>b</sup></b>	104.24 <sup>bc</sup>	117.42 <sup>ab</sup>	<b>148.87<sup>c</sup></b>	118.29 <sup>abcd</sup>	147.25 <sup>bc</sup>	142.53 <sup>abcd</sup>	165.12 <sup>ab</sup>	73.4 <sup>ab</sup>	44.63 <sup>bcddef</sup>
7/10	25.87 <sup>abcd</sup>	2.77 <sup>abc</sup>	<b>6.43<sup>d</sup></b>	3.67 <sup>ab</sup>	77.67 <sup>abcde</sup>	<b>0.08<sup>d</sup></b>	1.19 <sup>abcd</sup>	4.33 <sup>ab</sup>	1.17	1.38 <sup>ab</sup>	3.19 <sup>ab</sup>	3.51 <sup>ab</sup>	4.52	107.67 <sup>ab</sup>	112.4 <sup>ab</sup>	126.2 <sup>ab</sup>	150.2 <sup>bc</sup>	<b>128.93<sup>a</sup></b>	149.4 <sup>bc</sup>	151.67 <sup>ab</sup>	170.47 <sup>ab</sup>	79.2 <sup>ab</sup>	<b>37.8<sup>f</sup></b>
10/10	28.13 <sup>abcd</sup>	2.46 <sup>abc</sup>	8.80 <sup>abcd</sup>	4.23 <sup>ab</sup>	91.31 <sup>abcde</sup>	0.12 <sup>bcd</sup>	1.38 <sup>abc</sup>	5.07 <sup>ab</sup>	1.35	<b>1.43<sup>a</sup></b>	4.04 <sup>ab</sup>	3.60 <sup>ab</sup>	4.42	102.27 <sup>ab</sup>	106.4 <sup>abc</sup>	119.13 <sup>ab</sup>	149.8 <sup>bc</sup>	119.53 <sup>abcd</sup>	150.13 <sup>bc</sup>	146.53 <sup>abcd</sup>	167.8 <sup>ab</sup>	87.3 <sup>ab</sup>	43.07 <sup>bcddef</sup>
11/10	23.47 <sup>abcd</sup>	<b>2.97<sup>a</sup></b>	8.36 <sup>abcd</sup>	3.83 <sup>ab</sup>	84.46 <sup>abcde</sup>	0.12 <sup>bcd</sup>	1.27 <sup>abcd</sup>	5.13 <sup>ab</sup>	1.26	1.29 <sup>ab</sup>	3.95 <sup>ab</sup>	4.19 <sup>ab</sup>	4.76	107 <sup>ab</sup>	110.8 <sup>abc</sup>	122.73 <sup>ab</sup>	161.47 <sup>ab</sup>	122.27 <sup>abcd</sup>	<b>161.67<sup>a</sup></b>	147.4 <sup>abcd</sup>	<b>173<sup>a</sup></b>	99.1 <sup>ab</sup>	50.67 <sup>abc</sup>
12/10	<b>34.13<sup>a</sup></b>	<b>1.59<sup>c</sup></b>	6.70 <sup>cd</sup>	4.08 <sup>ab</sup>	69.42 <sup>bcde</sup>	0.10 <sup>bcd</sup>	1.05 <sup>bcd</sup>	4.38 <sup>ab</sup>	1.15	1.20 <sup>ab</sup>	4.05 <sup>ab</sup>	<b>2.90<sup>b</sup></b>	4.86	<b>96.83<sup>b</sup></b>	<b>101<sup>c</sup></b>	<b>114.53<sup>b</sup></b>	<b>148.73<sup>c</sup></b>	<b>114.07<sup>d</sup></b>	148.53 <sup>bc</sup>	<b>136.6<sup>d</sup></b>	159.87 <sup>b</sup>	74.2 <sup>ab</sup>	47.73 <sup>abcde</sup>
13/10	25.53 <sup>abcd</sup>	2.09 <sup>abc</sup>	8.38 <sup>abcd</sup>	3.81 <sup>ab</sup>	88.42 <sup>abcde</sup>	0.11 <sup>bcd</sup>	1.33 <sup>abc</sup>	4.40 <sup>ab</sup>	1.21	1.34 <sup>ab</sup>	3.83 <sup>ab</sup>	4.01 <sup>ab</sup>	4.85	107.53 <sup>ab</sup>	111.13 <sup>abc</sup>	122.2 <sup>ab</sup>	152.4 <sup>abc</sup>	123.67 <sup>abcd</sup>	153.33 <sup>abc</sup>	149.4 <sup>abc</sup>	168.33 <sup>ab</sup>	110.2 <sup>ab</sup>	41.27 <sup>cdef</sup>
16/10	25.8 <sup>abcd</sup>	2.58 <sup>abc</sup>	10.19 <sup>abcd</sup>	4.03 <sup>ab</sup>	80.59 <sup>abcde</sup>	0.13 <sup>abcd</sup>	1.17 <sup>abcd</sup>	<b>3.53<sup>b</sup></b>	1.29	1.31 <sup>ab</sup>	3.31 <sup>ab</sup>	3.43 <sup>ab</sup>	5.51	104.13 <sup>ab</sup>	108.2 <sup>abc</sup>	121.2 <sup>ab</sup>	149.27 <sup>bc</sup>	119.53 <sup>abcd</sup>	149.47 <sup>bc</sup>	141.47 <sup>abcd</sup>	165.33 <sup>ab</sup>	109.3 <sup>ab</sup>	41.07 <sup>cdef</sup>
17/10	29.14 <sup>abcd</sup>	2.91 <sup>ab</sup>	7.99 <sup>bcd</sup>	3.63 <sup>ab</sup>	79.35 <sup>abcde</sup>	0.11 <sup>bcd</sup>	1.19 <sup>abcd</sup>	5.43 <sup>ab</sup>	1.32	1.35 <sup>ab</sup>	3.26 <sup>ab</sup>	3.87 <sup>ab</sup>	4.50	102.11 <sup>ab</sup>	106.5 <sup>abc</sup>	119.05 <sup>ab</sup>	150.27 <sup>bc</sup>	118.94 <sup>abcd</sup>	149.93 <sup>bc</sup>	145.67 <sup>abcd</sup>	166.97 <sup>ab</sup>	73.2 <sup>ab</sup>	43.77 <sup>bcddef</sup>
18/10	30.27 <sup>abcd</sup>	1.60 <sup>bc</sup>	7.87 <sup>bcd</sup>	4.06 <sup>ab</sup>	81.3 <sup>abcde</sup>	0.11 <sup>bcd</sup>	1.22 <sup>abcd</sup>	6.53 <sup>ab</sup>	1.19	1.35 <sup>ab</sup>	3.55 <sup>ab</sup>	3.14 <sup>ab</sup>	4.63	<b>99.87<sup>b</sup></b>	103.93 <sup>bc</sup>	116.73 <sup>ab</sup>	<b>148<sup>c</sup></b>	115.93 <sup>cd</sup>	152.4 <sup>abc</sup>	142.67 <sup>abcd</sup>	161.87 <sup>ab</sup>	104.1 <sup>ab</sup>	44.07 <sup>bcddef</sup>
19/10	25.53 <sup>abcd</sup>	1.90 <sup>abc</sup>	13.00 <sup>ab</sup>	4.53 <sup>ab</sup>	102.19 <sup>ab</sup>	<b>0.22<sup>a</sup></b>	1.49 <sup>ab</sup>	5.80 <sup>ab</sup>	1.25	1.24 <sup>ab</sup>	3.61 <sup>ab</sup>	3.50 <sup>ab</sup>	5.00	<b>100.07<sup>b</sup></b>	103.6 <sup>bc</sup>	119.47 <sup>ab</sup>	154.87 <sup>abc</sup>	119 <sup>abcd</sup>	154.53 <sup>abc</sup>	143.73 <sup>abcd</sup>	171.4 <sup>ab</sup>	127.4 <sup>ab</sup>	51.27 <sup>ab</sup>
20/10	25.67 <sup>abcd</sup>	2.09 <sup>abc</sup>	7.94 <sup>bcd</sup>	3.62 <sup>ab</sup>	<b>54.91<sup>e</sup></b>	0.10 <sup>bcd</sup>	<b>0.78<sup>d</sup></b>	4.53 <sup>ab</sup>	1.16	1.26 <sup>ab</sup>	3.07 <sup>ab</sup>	3.25 <sup>ab</sup>	3.98	<b>100.07<sup>b</sup></b>	103.87 <sup>bc</sup>	116 <sup>ab</sup>	152.6 <sup>abc</sup>	118.6 <sup>abcd</sup>	151.93 <sup>abc</sup>	141.53 <sup>abcd</sup>	167.53 <sup>ab</sup>	96.4 <sup>ab</sup>	48.73 <sup>abcd</sup>
21/10	32.47 <sup>ab</sup>	1.66 <sup>bc</sup>	8.77 <sup>abcd</sup>	3.93 <sup>ab</sup>	77.89 <sup>abcde</sup>	0.12 <sup>bcd</sup>	1.15 <sup>abcd</sup>	5.07 <sup>ab</sup>	1.21	1.31 <sup>ab</sup>	3.56 <sup>ab</sup>	2.99 <sup>ab</sup>	4.28	<b>99.13<sup>b</sup></b>	103.13 <sup>bc</sup>	116.4 <sup>ab</sup>	<b>149<sup>c</sup></b>	199.33 <sup>abcd</sup>	149.47 <sup>bc</sup>	144.33 <sup>abcd</sup>	166.4 <sup>ab</sup>	66 <sup>ab</sup>	45.97 <sup>bcddef</sup>
22/10	32.23 <sup>ab</sup>	2.04 <sup>abc</sup>	7.48 <sup>bcd</sup>	3.79 <sup>ab</sup>	61.06 <sup>de</sup>	0.11 <sup>bcd</sup>	0.99 <sup>cd</sup>	4.27 <sup>ab</sup>	1.07	1.18 <sup>ab</sup>	3.60 <sup>ab</sup>	3.42 <sup>ab</sup>	4.41	<b>98<sup>b</sup></b>	101.59 <sup>bc</sup>	<b>115.57<sup>b</sup></b>	<b>143.87<sup>c</sup></b>	<b>114.53<sup>d</sup></b>	<b>145.15<sup>c</sup></b>	139.73 <sup>bcd</sup>	164.6 <sup>ab</sup>	63.01 <sup>ab</sup>	42.56 <sup>cdef</sup>
23/10	30.8 <sup>abcd</sup>	2.43 <sup>abc</sup>	8.79 <sup>abcd</sup>	4.11 <sup>ab</sup>	67.1 <sup>de</sup>	0.12 <sup>bcd</sup>	0.97 <sup>bcd</sup>	5.00 <sup>ab</sup>	1.28	1.40 <sup>ab</sup>	4.05 <sup>ab</sup>	3.62 <sup>ab</sup>	4.56	101.73 <sup>ab</sup>	106.2 <sup>abc</sup>	119.33 <sup>ab</sup>	<b>147.4<sup>c</sup></b>	117.53 <sup>abcd</sup>	<b>145.4<sup>c</sup></b>	141.13 <sup>abcd</sup>	163.27 <sup>ab</sup>	85 <sup>ab</sup>	39.2 <sup>def</sup>
24/10	28.33 <sup>abcd</sup>	1.74 <sup>abc</sup>	7.03 <sup>cd</sup>	4.41 <sup>ab</sup>	70.07 <sup>bcde</sup>	0.10 <sup>cd</sup>	1.05 <sup>bcd</sup>	5.40 <sup>ab</sup>	1.07	1.15 <sup>ab</sup>	3.85 <sup>ab</sup>	3.20 <sup>ab</sup>	4.88	102.2 <sup>ab</sup>	106.33 <sup>abc</sup>	118.33 <sup>ab</sup>	<b>143.53<sup>c</sup></b>	120.87 <sup>abcd</sup>	<b>143.87<sup>c</sup></b>	144.07 <sup>abcd</sup>	162.67 <sup>ab</sup>	138.1 <sup>ab</sup>	<b>37.2<sup>f</sup></b>
25/10	25.53 <sup>abcd</sup>	1.69 <sup>bc</sup>	8.58 <sup>abcd</sup>	4.05 <sup>ab</sup>	73.46 <sup>bcde</sup>	0.11 <sup>bcd</sup>	1.08 <sup>bcd</sup>	6.53 <sup>ab</sup>	1.20	1.23 <sup>ab</sup>	3.17 <sup>ab</sup>	3.04 <sup>ab</sup>	4.45	101.13 <sup>ab</sup>	106.13 <sup>abc</sup>	120.93 <sup>ab</sup>	<b>162.6<sup>a</sup></b>	123.2 <sup>abcd</sup>	158.07 <sup>ab</sup>	146.47 <sup>abcd</sup>	<b>173.73<sup>a</sup></b>	88.6 <sup>ab</sup>	<b>56.6<sup>a</sup></b>
26/10	29.37 <sup>abcd</sup>	2.23 <sup>abc</sup>	9.11 <sup>abcd</sup>	3.60 <sup>ab</sup>	68.85 <sup>cde</sup>	0.16 <sup>abcd</sup>	0.97 <sup>bcd</sup>	5.61 <sup>ab</sup>	1.17	1.18 <sup>ab</sup>	3.09 <sup>ab</sup>	3.14 <sup>ab</sup>	4.44	100.66 <sup>ab</sup>	104.78 <sup>abc</sup>	119.13 <sup>ab</sup>	<b>147.8<sup>c</sup></b>	119.31 <sup>abcd</sup>	149.03 <sup>bc</sup>	146.46 <sup>abcd</sup>	167.46 <sup>ab</sup>	<b>61.18<sup>b</sup></b>	43.03 <sup>bcddef</sup>
27/10	30.07 <sup>abcd</sup>	2.09 <sup>abc</sup>	7.36 <sup>bcd</sup>	<b>3.27<sup>b</sup></b>	68.19 <sup>cde</sup>	0.13 <sup>abcd</sup>	0.99 <sup>bcd</sup>	6.00 <sup>ab</sup>	1.31	1.39 <sup>ab</sup>	3.84 <sup>ab</sup>	<b>4.53<sup>a</sup></b>	4.96	100.47 <sup>ab</sup>	104.6 <sup>abc</sup>	117 <sup>ab</sup>	<b>142.87<sup>c</sup></b>	115.6 <sup>cd</sup>	<b>143.13<sup>c</sup></b>	146.47 <sup>abcd</sup>	165.67 <sup>ab</sup>	62 <sup>ab</sup>	38.27 <sup>ef</sup>
29/10	24.69 <sup>abcd</sup>	2.43 <sup>abc</sup>	8.49 <sup>abcd</sup>	4.04 <sup>ab</sup>	74.7 <sup>bcde</sup>	0.12 <sup>bcd</sup>	1.10 <sup>abcd</sup>	6.42 <sup>ab</sup>	1.29	1.25 <sup>ab</sup>	3.62 <sup>ab</sup>	3.73 <sup>ab</sup>	5.12	105.38 <sup>ab</sup>	109.31 <sup>abc</sup>	122.49 <sup>ab</sup>	151.67 <sup>abc</sup>	122.83 <sup>abcd</sup>	152.85 <sup>abc</sup>	149.2 <sup>abc</sup>	170.92 <sup>ab</sup>	100.3 <sup>ab</sup>	42.36 <sup>bcddef</sup>
33/10	25.36 <sup>abcd</sup>	2.22 <sup>abc</sup>	8.20 <sup>bcd</sup>	<b>3.40<sup>b</sup></b>	76.64 <sup>abcde</sup>	0.11 <sup>bcd</sup>	1.14 <sup>abcd</sup>	6.05 <sup>ab</sup>	1.23	1.34 <sup>ab</sup>	3.27 <sup>ab</sup>	3.32 <sup>ab</sup>	4.67	103.35 <sup>ab</sup>	107.61 <sup>abc</sup>	120.81 <sup>ab</sup>	151.33 <sup>abc</sup>	119.5 <sup>abcd</sup>	151.57 <sup>abc</sup>	146.73 <sup>abcd</sup>	169.62 <sup>ab</sup>	80.21 <sup>ab</sup>	43.73 <sup>def</sup>
37/10	27.07 <sup>abcd</sup>	2.25 <sup>abc</sup>	<b>13.97<sup>a</sup></b>	4.89 <sup>ab</sup>	98.61 <sup>abc</sup>	0.19 <sup>ab</sup>	1.41 <sup>abc</sup>	6.73 <sup>ab</sup>	1.27	1.40 <sup>ab</sup>	3.42 <sup>ab</sup>	3.89 <sup>ab</sup>	4.52	<b>97.93<sup>b</sup></b>	<b>101.27<sup>c</sup></b>	118.53 <sup>ab</sup>	<b>143.07<sup>c</sup></b>	116.53 <sup>bcd</sup>	<b>143.4<sup>c</sup></b>	138.47 <sup>cd</sup>	164.2 <sup>ab</sup>	<b>143.8<sup>a</sup></b>	41.8 <sup>bcddef</sup>
38/10	<b>20<sup>d</sup></b>	2.55 <sup>abc</sup>	9.70 <sup>abcd</sup>	4.30 <sup>ab</sup>	77.7 <sup>bcde</sup>	0.12 <sup>bcd</sup>	1.13 <sup>abcd</sup>	6.00 <sup>ab</sup>	1.10	1.16 <sup>ab</sup>	3.57 <sup>ab</sup>	<b>2.71<sup>b</sup></b>	4.36	<b>111.47<sup>a</sup></b>	<b>115.4<sup>a</sup></b>	<b>128<sup>a</sup></b>	153 <sup>abc</sup>	127.47 <sup>ab</sup>	150.47 <sup>abc</sup>	<b>152<sup>a</sup></b>	<b>173.53<sup>a</sup></b>	79.4 <sup>ab</sup>	<b>37.6<sup>f</sup></b>
39/10	20.4 <sup>cd</sup>	2.39 <sup>abc</sup>	10.39 <sup>abcd</sup>	3.79 <sup>ab</sup>	74.35 <sup>bcde</sup>	0.13 <sup>abcd</sup>	1.07 <sup>bcd</sup>	5.47 <sup>ab</sup>	1.27	1.26 <sup>ab</sup>	4.37 <sup>ab</sup>	3.94 <sup>ab</sup>	4.31	107.87 <sup>ab</sup>	111.87 <sup>abc</sup>	125.33 <sup>ab</sup>	150.6 <sup>abc</sup>	126.07 <sup>abc</sup>	150.2 <sup>abc</sup>	149.6 <sup>abc</sup>	171.73 <sup>ab</sup>	66.2 <sup>ab</sup>	39.13 <sup>def</sup>
Moyenne	27.11	2.23	9.04	3.99	78.79	0.13	1.16	5.44	1.22	1.28	3.63	3.48	4.62	102.58	106.54	119.79	150	120.14	149.90	144.99	167.68	92.88	41.49
Ecart-type	8.58	0.99	4.61	1.32	26.52	0.07	0.42	2.54	0.23	0.26	1.13	1.21	0.67	8.75	8.64	9.36	10.08	9.09	9.31	9.46	9.38	64.06	8.44
F observé	3.06	2.49	3.30	1.7	3.7	3.07	3.38	1.96	1.68	2.11	2.20	2.39	0.82	2.86	2.98	2.05	4.19	3.00	3.92	2.84	2.58	2.49	6.27
Probabilité (p)	0.000***	0.000***	0.000***	0.02*	0.000***	0.000***	0.000***	0.005**	0.023*	0.002**	0.001***	0.000***	0.697 <sup>NS</sup>	0.000***	0.000***	0.002**	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***

DL : date de levée ; DHH ; développement hivernal en hauteur ; DHL : développement hivernal en largeur ; DPH : développement printanier en hauteur ; DPL développement printanier en largeur ; VCH : vitesse de croissance hivernale en largeur ;VCP : vitesse de croissance printanière en largeur ; NRR : nombre de ramifications par rameau (le plus vigoureux) ; LF : longueur de la foliole centrale ; IF : largeur de la foliole centrale ; LPT : longueur du pétiole ; LPF : longueur du pédoncule floral ; LEN : longueur des entrenœuds ; BF : bouton floral ; PRF : première fleur ; PF : pleine floraison ; FF : fin floraison ; PRG : apparition de la première gousse ; PFG : pleine formation de gousses ; DMG : début de maturité des gousses ; DSH dessèchement total ; NFP : nombre de fleurs par plant ; DF : durée de floraison. Les lettres (a ; b ; c ; d ; e ; f) : groupes homogènes constitués. Signification : P\*≤0.05 ; P\*\*≤0.01 ; P\*\*\*≤0.001 ; NS : non significative.

- **Développement printanier en largeur (DPL)** (Ann.1, Tab.5)

Une variation très hautement significative au sein des populations est constatée pour ce caractère. Cinq groupes de populations sont constitués (Tab.10). Le premier groupe (a) comporte une seule population (4/10) qui a manifesté un développement maximal en largeur au printemps (108.67 cm). Le dernier groupe (e) est formé d'une seule population (20/10) à faible recouvrement du sol (54.91 cm). La moyenne de l'espèce est de 78.79 cm.

- **Vitesse de croissance hivernale en largeur (VCH)** (Ann.1, Tab.6)

Les rythmes de croissance enregistrés chez les populations en hiver s'échelonnent de 0.22 cm/jour à 0.08 cm /jours. La moyenne générale de l'espèce est de 0.13cm/jour. L'analyse de la variance indique un effet très hautement significatif des populations avec la formation de quatre groupes (Tab.10). Le premier groupe (a) est formé par la population 19/10 présentant un rythme plus accéléré. Par contre, le dernier groupe (d) comporte la population la plus lente (7/10).

- **Vitesse de croissance printanière en largeur (VCP)** (Ann.1, Tab.7)

Des différences très hautement significatives sont notées concernant la vitesse de croissance des populations au printemps. Le test de Tukey a mis en évidence quatre groupes de populations (Tab.10). La population 4/10 forme à elle seule le premier groupe (a) avec un rythme maximal et accéléré (1.60 cm /jour). Le dernier groupe (d) fait apparaître la population 20/10, avec le plus faible rythme (0.78 cm/ jour).

- **Nombre de ramifications (NRR)** (Ann.1, Tab.8)

En moyenne, le nombre maximal de ramifications du rameau le plus vigoureux est observé chez la population 4/10 (6.93). Le nombre le plus faible est noté chez la population 16/10 (3.53). La moyenne de l'espèce est de 5.44. Ce caractère révèle des différences hautement significatives et la formation de deux groupes de populations. Le premier et le dernier groupes (a et b) sont représentés par les populations 4/10 et 16/10, respectivement (Tab.10).

- **Longueur de la foliole (LF)** (Ann.1, Tab.9)

La longueur varie de 1.35 cm (10/10) à 1.07cm (22/10). La moyenne de l'espèce est de 1.22 cm. L'analyse de la variance indique des différences significatives entre les populations (Tab.10).

- **Largeur de la foliole (IF)** (Ann.1, Tab.10)

La largeur moyenne de la foliole centrale est comprise, selon les populations, entre 1.43cm (10/10) et 1.10 cm (6/10). La moyenne de l'espèce est de 1.28 cm. Ce caractère se révèle

hautement significatif et la comparaison de moyennes permet de constituer deux groupes homogènes (Tab.10). Le premier (a) et le dernier groupe (b) comportent chacun, une seule population (10/10 et 6/10, respectivement).

- **Longueur du pétiole (LPT)** (Ann.1, Tab.11)

Les valeurs moyennes de ce caractère sont comprises entre 4.39 cm (3/10) et 2.74 cm (6/10). La moyenne de l'espèce est de 3.63 cm. L'analyse de la variance indique des différences très hautement significatives. Le test de Tukey permet d'établir deux groupes de populations (Tab.10). Le premier groupe (a) est représenté par la population 3/10. Le dernier groupe (b) est constitué aussi, par une seule population (6/10).

- **Longueur du pédoncule floral (LPF)** (Ann.1, Tab.12)

La longueur du pédoncule floral varie, en moyenne entre 4.53 cm (27/10) et 2.71 cm (38/10). La moyenne enregistrée pour l'espèce est de 3.48 cm. Les différences entre les populations sont très hautement significatives. Deux groupes de populations se sont formés selon le test de Tukey (Tab.10). Le premier groupe (a) comporte une seule population (27/10). Le dernier groupe (b) regroupe trois populations (12/10 ; 6/10 ; 38/10).

### **1.1.2 Caractères relatifs à la floraison et formation des gousses**

- **Premier bouton floral (BF)** (Ann.1, Tab.13)

Ce stade est atteint 97 jours après la levée chez la population la plus précoce (12/10) et 111 jours chez la population la plus tardive (38/10). La moyenne générale de l'espèce est de 102 jours. Des différences très hautement significatives entre les populations sont décelées avec la formation de deux groupes (Tab.10). Le premier groupe (a) comporte une seule population (38/10). Le dernier groupe (b) regroupe huit populations (20/10 ; 19/10, 3/10 ; 18/10 ; 21/10 ; 22/10 ; 37/10 ; 12/10).

- **Première fleur (PRF)** (Ann.1, Tab.14)

La moyenne minimale et maximale en jours nécessaires à l'apparition de la première fleur depuis la levée est de 101 jours pour la population précoce (12/10) et 115 jours pour la population tardive (38/10). La moyenne générale de l'espèce est de 106 jours. Ce caractère se révèle très hautement significatif. La comparaison de moyennes a abouti à trois groupes de populations (Tab.10). Le premier groupe (a) comporte la population tardive (38/10), tandis que le dernier groupe (c) regroupe deux populations (37/10 ; 12/10).

- **Pleine floraison (PF)** (Ann.1, Tab.15)

Ce stade est atteint au minimum 114 jours après la levée chez la population la plus précoce (12/10) et au maximum 128 jours chez la population la plus tardive (38/10). La moyenne générale de l'espèce est de 120 jours. L'analyse de la variance indique des différences très hautement significatives entre les populations. Le test de Tukey a mis en évidence deux groupes (Tab.10). Le groupe premier (a) comporte une population unique (38/10). Le dernier groupe (b) regroupe deux populations (22/10 ; 12/10).

- **Fin floraison (FF)** (Ann.1, Tab.16)

Ce stade est atteint entre 142 jours (27/10) et 162 jours (25/10) après la levée. La moyenne de l'espèce est de 150 jours. Ce caractère révèle des différences très hautement significatives. Trois groupes de populations sont mis en relief (Tab.10). Le premier groupe (a) est constitué de la population la plus tardive (25/10), par contre le dernier groupe (c) regroupe onze populations (21/10 ; 6/10 ; 12/10 ; 18/10 ; 26/10 ; 3/10 ; 23/10 ; 22/10 ; 24/10 ; 37/10 ; 27/10).

- **Durée de floraison** (Ann.1, Tab.17)

Les durées de floraison minimales et maximales sont comprises entre 37 jours (24/10) et 56 jours (25/10). La moyenne de l'espèce est de 43 jours. L'analyse de la variance révèle des différences très hautement significatives entre les populations. Le test de Tukey a permis de distinguer six groupes de populations (Tab.10). Le premier groupe (a) renferme une seule population (25/10). Le dernier groupe (f) regroupe trois populations (7/10 ; 38/10 ; 24/10).

- **Nombre de fleurs /plant (NFP)** (Ann.1, Tab.18)

Ce caractère varie de 61 fleurs / plant (26/10) à 144 fleurs/ plant (37/10). L'espèce présente un nombre moyen de 93 fleurs/ plant. L'analyse de la variance indique des différences très hautement significatives avec la constitution de deux groupes de populations (Tab.10). Le premier groupe (a) regroupe deux populations (4/10 ; 37/10). Le dernier groupe (b) comporte une seule population (26/10).

- **Première gousse (PRG)** (Ann.1, Tab.19)

La population la plus précoce (12/10) atteint ce stade 114 jours après la levée. La population 7/10 l'atteint tardivement (129 jours). La moyenne de l'espèce est de 120 jours. Les différences entre les populations se révèlent très hautement significatives. Ainsi, les populations sont classées en quatre groupes (Tab.10). Le premier groupe (a) comporte la population la plus tardive (7/10). Le dernier groupe (d) regroupe deux populations (22/10 ; 12/10).

- **Pleine formation de gousses (PFG)** (Ann.1, Tab.20)

La pleine formation est atteinte 143 jours après la levée chez la population la plus précoce (27/10) et 161 jours après la levée chez la population la plus tardive (11/10). La moyenne de l'espèce est de 150 jours. L'analyse de variance indique un effet populations très hautement significatif. Les populations sont scindées en trois groupe (Tab.10). Le premier groupe (a) comporte uniquement la population 11/10. Le dernier groupe (c) regroupe six populations (23/10 ; 22/10 ; 3/10 ; 24/10 ; 37/10 ; 27/10).

- **Début de maturité des gousses (DMG)** (Ann.1, Tab.21)

Ce stade est atteint précocement (136 jours après la levée) chez la population 12/10 et tardivement (152 jours) chez la population 38/10. La moyenne de l'espèce est de 145 jours. Ce caractère se révèle très hautement significatif et quatre groupes de populations sont mis en évidence (Tab.10). Le premier et le dernier groupe (a et d) comportent respectivement, une population unique (38/10 ; 12/10).

- **Dessèchement total de la plante (DSH)** (Ann.1, Tab.22)

En moyenne, ce stade est atteint 160 jours après la levée chez la population la plus précoce (12/10) et 174 jours après la levée chez la population la plus tardive (25/10). La moyenne de l'espèce est de 168 jours. Ce caractère se révèle très hautement significatif. Les populations se distinguent par deux groupes (Tab.10). Le premier groupe (a) regroupe trois populations (11/10 ; 38/10 ; 25/10) alors que le dernier (b) renferme une population unique (12/10).

### **1.1.3 Marqueurs morphologiques qualitatifs**

Les résultats de l'indice de diversité de Shannon-Weaver ( $H'$ ) indiquent que la variation entre les populations est assez accentuée pour les caractères végétatifs des feuilles (forme, marques foliaires et pigmentation), pétioles, tiges, pédoncules floraux et stipules par rapport à ceux des fleurs et graines (Tab.11 ; Ann.1, Tab.24).

Les valeurs les plus élevées de l'indice de diversité ( $H'$ ) ont été constatées pour la forme des feuilles (0.919) et pigmentation anthocyanique des stipules (0.791). Par contre les valeurs les plus faibles concernent la pigmentation du tube du calice (0.336) ainsi que la couleur des graines (0.247) (Tab.11).

L'examen des caractères des feuilles a montré que la forme triangulaire à ronde constitue la forme majoritaire observée chez les feuilles des populations étudiées.

Ces feuilles sont également très faiblement dentées au niveau de leurs bords distaux et faiblement poilues sur leurs faces supérieures (Ann.1. Tab.24). D'autre part, trois classes de marques foliaires ont été constatées sur les feuilles (trifoliées) :

- Croissant + bras, constitue la classe la plus fréquemment rencontrée chez la plupart des populations étudiées dont la largeur des croissants et des bras varie respectivement, entre C1-C3 et entre A1-A2. La couleur des bras est aussi variable du vert pâle à blanc. (Ann.1, Tab. 24).
- Bras seuls, classe observée seulement chez quatre populations (10/10 ; 17/10 ; 33/10 ; 37/10), de couleur vert pâle.
- Absence de marques, notée chez cinq populations (7/10 ; 11/10 ; 18/10 ; 20/10 ; 29/10).

Nous avons noté qu'aucune marque foliaire, sous forme de croissants seuls ou de bandes, n'a été observée chez l'ensemble des populations étudiées (Ann.1, Tab.24).

Concernant les caractères des fleurs, les résultats de cette étude indiquent la présence d'une pigmentation anthocyanique au niveau du tube du calice chez les populations algériennes de *T. subterraneum* examinées (Tab.11). Néanmoins, ce caractère s'est montré faiblement variable et nous avons noté que cette pigmentation est répartie de manière analogue sur le ¼ supérieur du tube du calice chez la plupart des populations (Tab.11).

Les résultats relatifs à la forme des graines, indiquent que ce caractère s'est révélé assez variable ( $H'=0.613$ ). Deux classes ont été observées chez l'ensemble des populations : « ronde » et « ronde à allongée », avec des fréquences relativement proches. Aucune population n'a présenté des graines de forme aplatie (Tab.11).

En ce qui concerne le caractère relatif à l'enfouissement des infrutescences, aucune variation n'est constatée pour ce caractère, et toutes les populations ont présenté un assez fort géotropisme et par conséquent, une remarquable capacité d'enfouissement de leurs infrutescences dans le sol (Ann.1, Tab. 24).

*Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de plusieurs populations Algériennes de l'espèce Trifolium subterraneum L.*

Tableau 11. Classes phénotypiques et indices de diversité (H') des marqueurs morphologiques qualitatifs chez 26 populations algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum L.*

Marqueurs morphologiques qualitatifs	Classes phénotypiques observées	Nombre de classes obtenues /Echelles	Proportion des classes (%)	Indice de diversité Shannon-Weaver (H')	
Caractères végétatifs					
Feuilles	Triangulaire	3/3	23.08	0.919	
	Forme		53.85		
	Ronde		23.08		
	Denticulation du bord distal	Absente ou très faible	3/3	65.38	0.754
		Modérée		26.92	
		Forte		7.69	
	Pilosité de la face supérieure	Glabre ou très faible	3/5	26.92	0.623
		Faible		53.85	
		Modérée		19.23	
	Pilosité du pétiole	Faible	3/5	53.85	0.558
		Modérée		38.46	
		Forte		7.69	
Marques foliaires	Absent		34.62	0.745	
	Largeur du croissant Vert pâle	C1	4/5		7.69
		C2			42.31
		C3			15.38
Largeur du bras foliaire	Absent	3/4	19.23	0.673	
	A1		61.54		
	A2		19.23		
Couleur du bras foliaire	Absent	3/3	19.23	0.750	
	Vert pâle		53.85		
	Blanc		26.92		
Pigmentation anthocyanique des feuilles					
Tâches diffuses	Absent ou très faible	3/4	11.53	0.609	
	Faible		11.53		
	Forte		50.00		
Mouchetures	Absente ou très faible		59.69	0.616	
	Faible	3/4	38.46		
	Modérée		7.69		
Pigmentation anthocyanique des stipules	Faible		34.62	0.791	
	Modérée	3/4	30.76		
	Forte		34.62		
Pilosité des tiges	Faible		30.77	0.613	
	Modérée	3/5	50.00		
	Forte		19.29		
Caractères des fleurs					
Pilosité du pédoncule floral	Faible	3/5	26.92	0.669	
	Modérée		42.31		
	Forte		30.77		
Pigmentation du tube du calice	¼ sup du tube	2/5	73.08	0.336	
	½ du tube		15.38		
Caractères des graines					
Forme	Ronde	2/3	46.15	0.613	
	Ronde à allongée		57.67		
Couleur	Marron	2/3	92.31	0.247	
	Noire		7.69		

## **1.2 Matrice de corrélations** : relations avec les facteurs écologiques du milieu d'origine

La matrice des corrélations a mis en évidence plusieurs relations significatives entre l'ensemble des caractères quantitatifs et qualitatifs d'une part, et d'autre part, entre certains de ces caractères et quelques facteurs écologiques (Altitude, pluviométrie) du milieu d'origine des populations (Ann.2, Tab.40).

En effet, les caractères relatifs au développement végétatif sont fortement corrélés entre eux. Ainsi, les populations présentant un bon développement hivernal en largeur (DHL), présentent aussi un bon développement printanier en hauteur et en largeur (DPH ; DPL). Ces populations ont également manifesté des rythmes de croissance plus accélérés en hiver (VCP) et au printemps (VCH), des nombres de ramifications (NRR) et de fleurs par plant (NFP) élevés.

Les populations caractérisées par un bon rythme de croissance en largeur durant le printemps, produisent un nombre important de fleurs par plant. Par ailleurs, ces mêmes populations présentent des tâches diffuses (ITD) sur les feuilles et des stipules (STP) fortement colorés en anthocyanes.

Les populations précoces à la floraison le sont également lors de la formation des gousses et sont aussi plus tardives à la levée (DL).

Les populations tardives quant à l'apparition du premier bouton floral (BF), montrent des tâches anthocyaniques diffuses (ITD) plus abondantes sur leurs feuilles.

Les populations dont la durée de floraison (DF) est longue, sont tardives à la pleine formation de gousses. Ces populations présentent une forte pigmentation anthocyanique des stipules.

Les populations ayant une forme de feuille plus ou moins ronde (FDF), sont les plus tardives lors de la fin floraison (FF) et la pleine formation des gousses (PFG).

Ainsi, la matrice de corrélations a mis en relief des relations significatives entre certains caractères morphologiques (quantitatifs et qualitatifs) et les facteurs écologiques des habitats naturels (Altitude et pluviométrie) des populations. L'altitude intervient sur l'intensité des tâches anthocyaniques diffuses (ITD) au niveau des feuilles (qualitatif). Les populations présentant une forte intensité de tâches anthocyaniques diffuses au niveau des feuilles (ITD), sont originaires des régions de faibles altitudes. Ces populations sont caractérisées par un bon développement printanier en largeur (DPL), un rythme de croissance accéléré (VCP), des pétioles relativement longs (LPT). Ces populations sont tardives quant à l'émission du bouton floral (BF).

D'autre part, la pluviométrie a un effet sur le développement hivernal (DHH) en hauteur (quantitatif), alors que les caractères qualitatifs (largeur du croissant foliaire, LCF et pilosité de la tige, PTT) ont subi l'influence simultanée des deux facteurs du milieu d'origine (Altitude et pluviométrie). Les populations caractérisées par un bon développement en hauteur hivernal (DHH), proviennent des régions les moins arrosées. Ces populations sont également tardives à la floraison (PRF, PF), la formation de gousses (PRG, DMG) et le dessèchement (DSH). Elles présentent des feuilles avec des bras plus étroits et des pédoncules floraux plus longs.

Les populations provenant des régions les plus arrosées et de fortes altitudes, présentent des croissants foliaires plus larges et des tiges moins poilues. Elles ont également des bras foliaires plus larges, de couleur verte, et une faible intensité de tâches anthocyaniques diffuses.

### **Conclusion**

A l'issue des résultats de l'analyse de la variance, il ressort que la variabilité intraspécifique et inter populations, pour les caractères morpho-phénologiques quantitatifs pris en compte est assez importante.

Nos résultats relatifs au développement végétatif indiquent que l'ensemble des populations étudiées ont manifesté un développement végétatif appréciable au printemps par rapport à l'hiver. Ainsi, les populations qui présentent un développement hivernal en largeur important, présentent aussi un meilleur recouvrement du sol à la fin du printemps.

Les populations 4/10 (Guelma), 37/10 (Constantine) et 19/10 (Tarf) se sont distinguées par un bon développement végétatif printanier en largeur et des rythmes de croissance plus accélérés. Les deux premières populations (4/10 et 37/10) ont également exprimé les valeurs les plus élevées concernant le nombre de ramifications (NRR).

L'analyse des caractères phénologiques de la floraison et la formation de gousses indiquent également une variation importante. Les populations 12/10 et 37/10 ont été les plus précoces lors des stades de floraison (bouton floral, première fleur). La première population (12/10) a également été précoce pendant les stades de formation de gousses (première gousse, début de maturité des gousses).

La population 37/10 a été aussi précoce à la pleine formation de gousses, en début de maturité des gousses et a donné un nombre élevé de fleurs par plant. La population 38/10 a par contre été la plus tardive à la floraison, la formation des gousses, le dessèchement final et a présenté une durée de floraison plus courte.

Les populations précoces (12 /10) et tardives (38/10), respectivement aux stades phénologiques de floraison et formation de gousses, ont manifesté un comportement inverse à la levée.

L'examen des marqueurs morphologiques qualitatifs et les valeurs de l'indice de diversité de Shannon-Weaver ( $H'$ ), révèle que la diversité entre les populations est plus importante pour les caractères végétatifs de la plante (feuilles, pétioles, tiges, pédoncules floraux et stipules) par rapport à ceux relatifs à sa reproduction (fleurs et graines).

Des relations significatives ont été mises en évidence entre certains caractères quantitatifs et les marqueurs qualitatifs. Ces derniers semblent être fortement liés aux caractères phénologiques relatifs à la reproduction. D'autre part, les relations significatives observées indiquent l'effet de quelques facteurs écologiques du milieu d'origine (pluviométrie et altitude) sur la variation de certains caractères quantitatifs et les marqueurs qualitatifs.

## 2. Etude biométrique (infrutescences, gousses et graines : G0 et G1)

### 2.1 Paramètres statistiques

- **Poids de mille grains (PMG)**

Le poids de mille grains est variable d'une génération à l'autre (Fig.9, Tab.12).

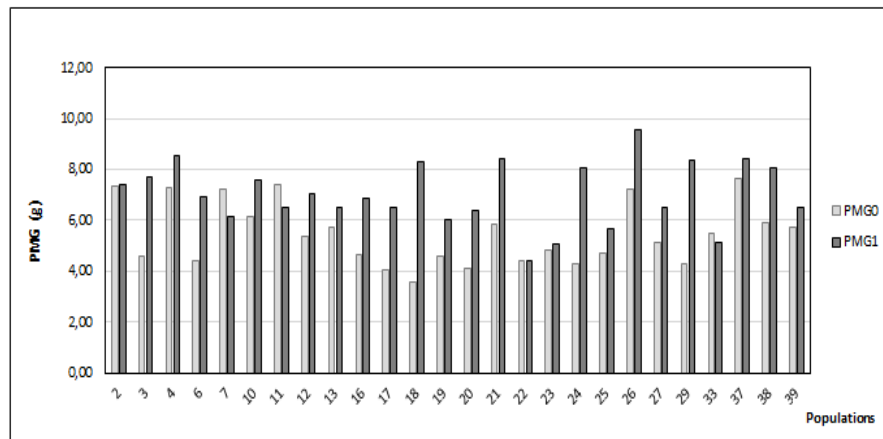


Figure 9. Poids de mille grains (PMG) chez 26 populations mères (G0) et la première descendance (G1) de l'espèce *Trifolium subterraneum L.*

Tableau 12. Variation des paramètres statistiques chez 26 populations mères (G0) et celles de la première descendance (G1) de l'espèce *Trifolium subterraneum L.*

Paramètres	Populations mères G0 (milieu naturel)					Populations de la première descendance (G1)				
	MIN	MAX	MOY	E.T	C.V %	MIN	MAX	MOY	E.T	C.V %
<b>PIF (g)</b>	1.65	4.46	2.45	0.85	23.9	2.77	5.42	4.08	0.62	15.10
<b>RGI</b>	0.16	0.35	0.24	0.04	18.29	0.15	0.36	0.24	0.04	15.91
<b>PMG (g)</b>	3.55	7.62	5.45	1.23	22.65	4.42	9.56	7.01	1.25	17.77

MIN : moyenne minimale d'une population ; MAX : moyenne maximale d'une population ; MOY : moyenne de l'espèce ; PIF : poids de 30 infrutescences ; RGI : rapport poids des graines / poids des infrutescences ; PMG : poids de mille grains ; E.T : écart-type ; C.V : coefficient de variation (%).

Pour les populations mères (G0), la moyenne de l'espèce est de 5.45 g (Tab.12). Cette dernière a été inférieure aux moyennes de 12 populations sur les 26 étudiées. La valeur la plus élevée (7.62 g) a été constatée chez la population 37/10, suivie des populations 11/10 ; 2/10 ; 4/10 ; 7/10 et 26/10 (7.41g, 7.32 g, 7.26 g, 7.24 g). La valeur la plus faible a été notée chez la population 18/10 (3.55 g). Les populations 7/10 et 26/10 présentent des PMG similaires (7.24 g) (Ann.1, Tab.25).

Concernant la génération de la première descendance (G1), 50% des populations ont présenté des valeurs de PMG supérieures ou égale à la moyenne de l'espèce (7.01 g). Le PMG le plus élevé a été constaté chez la population 26/10 (9.56 g) et le plus faible est noté chez la population 22/10 (4.42 g) (Tab.12). Les populations issues de régions différentes : 11/10 ; 17/10 (Guelma) et 39/10 (Skikda) présentent des valeurs de PMG similaires (6.47g) (Ann.1, Tab.26).

- **Poids des infrutescences (PIF)**

Parmi les populations mères (G0), la population 11/10 présente les infrutescences les plus lourdes (4.46 g) alors que les populations 38/10 et 19/10 sont caractérisées par les infrutescences les plus légères (1.65 g ; 1.66 g, respectivement) (Ann.1, Tab.25). Le poids moyen des infrutescences noté chez l'espèce est de 2.45 g (Tab.13).

Pour la première descendance (G1), le poids des infrutescences varie de 5.42 g (4/10) à 2.77g (22/10). La moyenne de l'espèce est de 4.08 g (Tab.13, Ann.1. Tab.26). Ainsi, le poids des infrutescences est variable entre les deux générations G0 et G1. L'augmentation du poids des infrutescences a été assez importante chez la plupart des populations G1 dont certaines (3/10 ; 4/10 ; 19/10 ; 24/10 ; 26/10 ; 29/10 ; 38/10) ont présenté des infrutescences deux fois plus lourdes par rapport à G0. Néanmoins, des écarts relativement réduits entre G0 et G1 ont été remarqués chez certaines populations (2/10 ; 6/10 ; 11/10 ; 22/10 ; 23/10 ; 27/10 ; 39/10 (Fig.10).

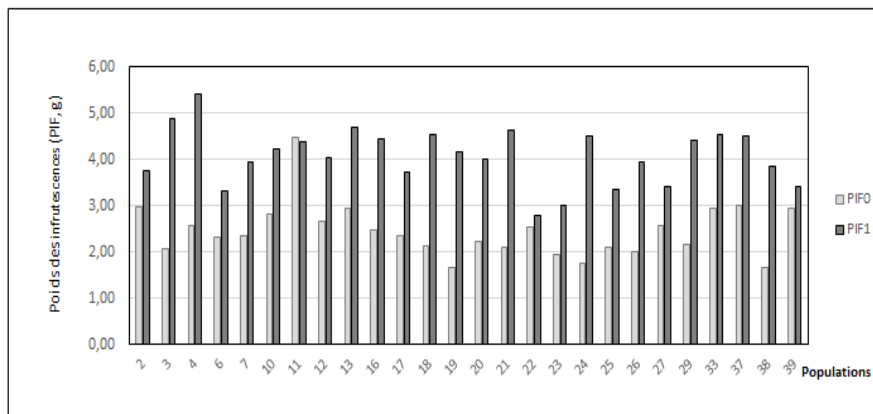


Figure 10. Poids des infrutescences (PIF) chez 26 populations mères (G0) et la première descendance (G1) de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

- **Rapport poids des graines / poids des infrutescences (RGI)**

Les valeurs de RGI0 varient de 0.35 g (26/10) à 0.16 g (18/10) chez les populations mères (G0). Le rapport moyen de l'espèce est de 0.24 (Tab.12). Les populations provenant de régions différentes : 2/10 ; 21/10, 6/10 ; 27/10, 10/10 ; 37/10, 13/10 ; 24/10 et 29/10 ; 38/10 présentent des valeurs de RGI similaires (Ann.1, Tab.25).

En revanche, la population 26/10 s'est distinguée aussi par la valeur la plus élevée de RGI1 (0.36 g) chez les populations G1, alors que la valeur la plus faible est observée chez la population 33/10 (0.15g) (Ann.1, Tab.26). De même la moyenne de l'espèce est stable et reste inchangée de G0 à G1 (0.24 g) (Tab.12).

Concernant la variation entre les deux générations G0 et G1, des valeurs moyennes très proches ont été enregistrées entre la plupart des populations correspondant aux deux générations (Fig.11).

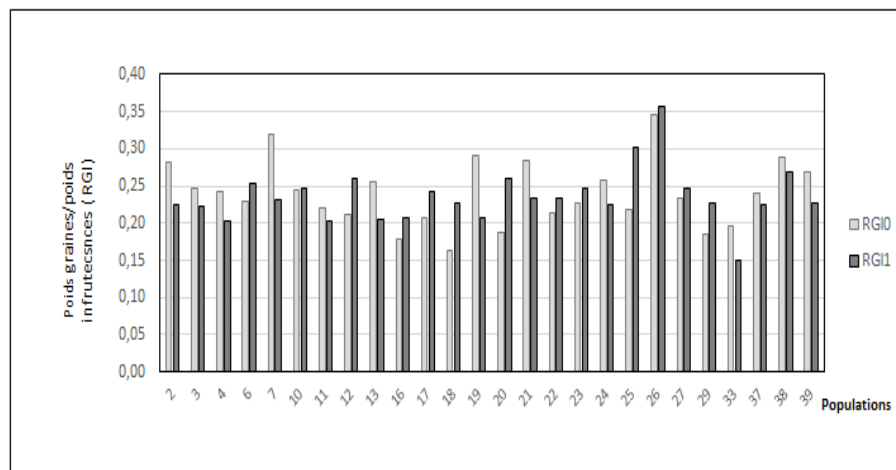


Figure 11. Rapport poids des graines/poids des infrutescences (RGI) chez 26 populations mères (G0) et la première descendance (G1) de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

## 2.2 Analyse de la variance

### 2.2.1 Graines mères (G0)

L'analyse de la variance a révélé des différences très hautement significatives ( $p \leq 0.001$ ) pour l'ensemble des caractères relatifs aux infrutescences, gousses et graines chez les populations mères (G0) à l'exception du nombre de graines par gousse qui a été homogène chez toutes les populations (Tab.13).

*Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de plusieurs populations Algériennes de l'espèce Trifolium subterraneum L.*

Tableau 13. Analyse de la variance des caractères biométriques chez 26 populations mères (G0) de l'espèce *Trifolium subterraneum L.*

Populations	LIF0 (cm)	IIF0 (cm)	NGS0	NGR0	LGR0 (mm)	IGR0 (mm)
2/10	0.72 <sup>bcd</sup>	0.87 <sup>b</sup>	4.17 <sup>abc</sup>	3.93 <sup>abcd</sup>	<b>3.40<sup>a</sup></b>	<b>2.22<sup>a</sup></b>
3/10	0.67 <sup>cdef</sup>	0.75 <sup>fg hij</sup>	3.80 <sup>abcd</sup>	3.40 <sup>abc def</sup>	2.78 <sup>fg hij k</sup>	1.79 <sup>gh ij</sup>
4/10	0.70 <sup>cde</sup>	0.80 <sup>bc def gh ij</sup>	<b>2.87<sup>d</sup></b>	<b>2.73<sup>f</sup></b>	3.28 <sup>ab</sup>	2.04 <sup>abc def</sup>
6/10	0.68 <sup>cdef</sup>	0.80 <sup>bc def gh ij</sup>	4.27 <sup>abc</sup>	3.93 <sup>abcd</sup>	2.88 <sup>ef gh ij k</sup>	1.85 <sup>fg hi</sup>
7/10	0.62 <sup>fg</sup>	0.82 <sup>bc def gh ij</sup>	4.67 <sup>ab</sup>	<b>4.43<sup>a</sup></b>	2.82 <sup>fg hij k</sup>	1.93 <sup>c def g</sup>
10/10	0.68 <sup>cdef</sup>	0.75 <sup>gh ij</sup>	3.87 <sup>abc</sup>	3.70 <sup>abc def</sup>	2.94 <sup>def gh i</sup>	2.04 <sup>abc def</sup>
11/10	<b>0.85<sup>a</sup></b>	<b>1.07<sup>a</sup></b>	<b>4.70<sup>a</sup></b>	<b>4.43<sup>a</sup></b>	2.97 <sup>c def gh</sup>	1.99 <sup>bc def</sup>
12/10	0.69 <sup>cdef</sup>	0.74 <sup>hij</sup>	3.50 <sup>cd</sup>	3.43 <sup>abc def</sup>	3.02 <sup>bc def g</sup>	2.05 <sup>abc de</sup>
13/10	0.70 <sup>cde</sup>	0.89 <sup>b</sup>	4.23 <sup>abc</sup>	4.10 <sup>ab c</sup>	2.85 <sup>ef gh ij k</sup>	1.89 <sup>def gh</sup>
16/10	0.72 <sup>bc</sup>	0.82 <sup>bc def gh</sup>	3.73 <sup>bcd</sup>	3.40 <sup>abc def</sup>	3.07 <sup>bc def</sup>	2.00 <sup>bc def</sup>
17/10	0.65 <sup>c def g</sup>	0.84 <sup>bc def</sup>	4.27 <sup>abc</sup>	4.00 <sup>abc</sup>	2.84 <sup>ef gh ij k</sup>	1.86 <sup>ef ghi</sup>
18/10	0.69 <sup>cdef</sup>	0.82 <sup>bc def gh</sup>	4.60 <sup>ab</sup>	3.90 <sup>abcd</sup>	2.63 <sup>jk</sup>	1.70 <sup>hij</sup>
19/10	0.62 <sup>fg</sup>	0.77 <sup>def gh ij</sup>	3.80 <sup>abcd</sup>	3.27 <sup>bc def</sup>	2.62 <sup>jk</sup>	1.68 <sup>ij</sup>
20/10	0.67 <sup>cdef</sup>	0.78 <sup>b c def gh ij</sup>	4.26 <sup>abc</sup>	3.50 <sup>abc def</sup>	2.66 <sup>ijk</sup>	1.68 <sup>ij</sup>
21/10	0.64 <sup>efg</sup>	<b>0.72<sup>j</sup></b>	3.63 <sup>cd</sup>	3.27 <sup>bc def</sup>	3.12 <sup>abcd</sup>	2.03 <sup>abc def</sup>
22/10	0.66 <sup>c def g</sup>	0.73 <sup>ij</sup>	4.33 <sup>abc</sup>	3.83 <sup>abc de</sup>	2.77 <sup>gh ij k</sup>	1.71 <sup>hij</sup>
23/10	0.64 <sup>def g</sup>	0.73 <sup>hij</sup>	3.97 <sup>abc</sup>	2.93 <sup>def</sup>	2.93 <sup>def gh i</sup>	1.85 <sup>ef ghi</sup>
24/10	<b>0.59<sup>g</sup></b>	0.73 <sup>ij</sup>	4.20 <sup>abc</sup>	3.80 <sup>abcd</sup>	<b>2.60<sup>k</sup></b>	<b>1.61<sup>j</sup></b>
25/10	0.63 <sup>efg</sup>	0.75 <sup>fg hij</sup>	4.03 <sup>abc</sup>	3.60 <sup>abc def</sup>	2.90 <sup>ef gh ij</sup>	1.99 <sup>bc def</sup>
26/10	0.78 <sup>ab</sup>	0.86 <sup>bc</sup>	3.50 <sup>cd</sup>	3.33 <sup>bc def</sup>	3.25 <sup>abc</sup>	2.13 <sup>abc</sup>
27/10	0.67 <sup>c def g</sup>	0.84 <sup>bc def</sup>	4.27 <sup>abc</sup>	3.83 <sup>abc de</sup>	3.06 <sup>bc def</sup>	2.15 <sup>ab</sup>
29/10	0.68 <sup>c def</sup>	0.76 <sup>ef gh ij</sup>	4.07 <sup>abc</sup>	3.47 <sup>abc def</sup>	2.82 <sup>fg hij k</sup>	2.03 <sup>abc def</sup>
33/10	0.69 <sup>c def</sup>	0.86 <sup>bc d</sup>	3.63 <sup>cd</sup>	3.37 <sup>bc def</sup>	2.93 <sup>def gh i</sup>	1.90 <sup>def gh</sup>
37/10	0.69 <sup>def</sup>	0.84 <sup>bc de</sup>	3.77 <sup>abcd</sup>	3.13 <sup>c def</sup>	3.20 <sup>abcd</sup>	2.14 <sup>abc</sup>
38/10	0.63 <sup>efg</sup>	0.73 <sup>ij</sup>	<b>2.90<sup>d</sup></b>	2.80 <sup>ef</sup>	2.72 <sup>hij k</sup>	1.85 <sup>fg hi</sup>
39/10	0.70 <sup>c de</sup>	0.84 <sup>bc def g</sup>	4.33 <sup>abc</sup>	4.30 <sup>ab</sup>	2.95 <sup>def gh</sup>	2.07 <sup>abcd</sup>
<b>Moyenne</b>	0.68	0.80	3.97	3.61	2.92	1.93
<b>Ecart- type</b>	0.09	0.12	1.09	1.18	0.36	0.23
<b>F observé</b>	13.33	18.55	6.37	5.15	15.04	18.15
<b>Signification</b>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>

LIF0 : longueur des infrutescences ; IIF0 : largeur des infrutescences ; NGS0 : nombre moyen de gousses par infrutescence ; NGR0 : nombre moyen de grains par infrutescence ; NGG0 : nombre moyen de graines par gousse ; LGR0 : longueur des graines ; IGR0 : largeur des graines. Les lettres (a ; b ; c ; d ; e ; f ; g ; h ; i ; j ; k) : groupes homogènes constitués. Signification : P\*≤0.05 ; P\*\*≤0.01 ; P\*\*\*≤0.001 ; NS : non significative.

Ainsi, les résultats des groupes homogènes obtenus par le test post hoc de Tukey montrent que chez les populations G0, la taille des graines (longueur et largeur), des infrutescences (largeur et longueur) et le nombre de graines par infrutescence se sont montrés plus variables par rapport au nombre de gousses par infrutescence. L'ordre décroissant de la variation de ces caractères se présente comme suit : LGR0>IGR0>ILF0>LIF0>NGR0>NGS0 (Tab.13).

- **Variation de la taille des infrutescences : longueur et largeur (LIF<sub>0</sub> ; ILF<sub>0</sub>)** (Ann.1, Tab.27 et 28)

Les tailles des infrutescences (longueur et largeur) se révèlent très hautement significatives. Le test de Tukey a mis en évidence respectivement 7 et 10 groupes de populations (Tab.13). La population 11/10 a présenté les infrutescences les plus longues (0.85 cm), alors que la population 24/10 a des infrutescences plus petites (0.59 cm). La longueur moyenne de l'espèce est de 0.68 cm (Tab.13).

D'autre part, la population 11/10 a également exprimé la largeur la plus importante (1.07 cm). La valeur la plus faible a été constatée chez la population 21/10 (0.72 cm), suivie des populations 22/10 ; 23/10 ; 24/10 ; 38/10, ayant des largeurs similaires (0.73 cm) (Tab.13). L'espèce présente une largeur moyenne de 0.80 cm.

- **Variation des nombres de gousses et de graines par infrutescence (NGS<sub>0</sub> ; NGR<sub>0</sub>)**

L'analyse de la variance indique des effets très hautement significatifs des populations concernant les caractères NGS<sub>0</sub> et NGR<sub>0</sub> ( $p \leq 0.001$ ). En effet, respectivement, 4 et 6 groupes de populations se sont distingués (test de Tukey) (Tab.13).

Les populations 11/10 et 7/10 ont présenté les nombres de gousses (NGS<sub>0</sub>) et de graines par infrutescence (NGR<sub>0</sub>) les plus élevés (4.70 ; 4.43, 4.67 ; 4.43, respectivement), alors que les nombres les plus faibles ont été constatés chez les populations 38/10 et 4/10 (2.90 ; 2.80, 2.87 ; 2.73, respectivement) (Ann.1, Tab.29 et 30). Les nombres moyens de gousses et de graines par infrutescence notés chez l'espèce sont de 3.97 et 3.61, respectivement.

Nous avons noté qu'au sein de la même population, certains individus enregistrent les nombres les plus importants (7 et 8 gousses/ infrutescence). Ces derniers nombres ont été observés chez 6 populations (17/10 ; 20/10 ; 23/10 et 6/10 ; 18/10 ; 24/10, respectivement). En revanche, quelques individus appartenant aux populations : 2/10 ; 3/10 ; 4/10 ; 12/10 ; 26/10 ; 27/10 ; 38 /10, ont montré le nombre le plus faible (une gousse/ infrutescence) (Ann.1, Tab.29).

Par ailleurs, certains individus ont enregistré un nombre de graines par infrutescence égal à 7 (18/10 ; 20/10) et 8 (24/10). Cependant, le nombre le plus faible (une graine/ infrutescence) a été remarqué chez certains individus (2/10 ; 3/10 ; 4/10 ; 6/10 ; 12/10 ; 19/10 ; 20/10 ; 21/10 ; 23/10 ; 25/10 ; 26/10 ; 27/10 ; 29/10 ; 33/10 ; 37/10 ; 39/10) (Ann.1, Tab.30).

○ **Variation de la taille des graines : longueur et largeur (LGR<sub>0</sub> ; IGR<sub>0</sub>)**

Les dimensions des graines (longueur x largeur) constatées chez l'espèce sont de 2.92 x 1.93 mm. La population 2/10 s'est distinguée par les graines les plus grosses (3.40 x 2.22 mm), alors que la population 24/10 a produit de petites graines (2.60 x 1.61 mm) (Tab.13 ; Ann.1, Tab.31 et 32, respectivement). L'analyse de la variance a fait ressortir des différences très hautement significatifs pour ces deux caractères ( $p \leq 0.001$ ) (Tab.13). Selon la longueur et la largeur des graines, les populations sont scindées respectivement, en 11 et 10 groupes homogènes (Tab.13).

**2.2.2 Première descendance (G1)**

L'analyse de la variance des caractères relatifs aux infrutescences, gousses et graines indiquent des différences très hautement significatives ( $p \leq 0.001$ ) pour la plupart des caractères pris en compte chez les populations de la première descendance.

Quant au nombre de graines par gousse, aucune variation significative n'a été constatée (Tab.14).

Les résultats obtenus indiquent que la variation au sein des populations de la première descendance (G1) est plus importante chez les caractères liés à la taille des graines et des infrutescences (longueur et largeur) par rapport aux nombres de gousses et de grains par infrutescence. Ainsi, selon le nombre de groupes homogènes donnés par le test de Tukey, le classement décroissant de la variation est le suivant : LGR<sub>1</sub> > IGR<sub>1</sub> > LIF<sub>1</sub> > ILF<sub>1</sub> > NGR<sub>1</sub> > NGS<sub>1</sub> (Tab.14).

○ **Variation de la taille des infrutescences : longueur et largeur (LIF<sub>1</sub> ; ILF<sub>1</sub>)** (Ann.1, Tab.33 et 34)

Les caractères relatifs à la taille des infrutescences (longueur et largeur) se révèlent très hautement significatifs ( $p \leq 0.001$ ) (Tab.14). La comparaison de moyennes par le test de Tukey a mis en relief respectivement, 9 et 6 groupes de populations.

La longueur des infrutescences varie de 0.71 cm (10/10) à 0.92 cm (19/10). La longueur moyenne de l'espèce est de 0.78 cm (Tab.14).

Quant à la largeur, les infrutescences les plus larges ont été observées chez les populations 37/10 et 13/10 avec 0.87 cm et 0.88 cm, respectivement. Les plus étroites concernent la population 39/10 (0.74 cm), suivie des populations 23/10 et 12/10 ayant des largeurs similaires (0.75 cm). La largeur moyenne de l'espèce est de 0.82 cm (Tab.14).

*Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de plusieurs populations Algériennes de l'espèce Trifolium subterraneum L.*

Tableau 14. Analyse de la variance des caractères biométriques chez 26 populations de la première descendance (G1) de l'espèce *Trifolium subterraneum L.*

Populations	LIF1 (cm)	IIF1 (cm)	NGS1	NGR1	LGR1 (mm)	IGR1 (mm)
2/10	0.72 <sup>hi</sup>	0.85 <sup>abc</sup>	4.57 <sup>abcde</sup>	4.40 <sup>abcde</sup>	2.78 <sup>hij</sup>	1.77 <sup>ghij</sup>
3/10	0.73 <sup>hi</sup>	0.86 <sup>ab</sup>	4.80 <sup>abcd</sup>	4.70 <sup>abcd</sup>	3.06 <sup>bcdefg</sup>	1.95 <sup>bcdef</sup>
4/10	0.79 <sup>cdefghi</sup>	0.82 <sup>bcdef</sup>	4.40 <sup>abcde</sup>	4.13 <sup>abcde</sup>	3.27 <sup>ab</sup>	2.00 <sup>abcd</sup>
6/10	0.75 <sup>fghi</sup>	0.79 <sup>bcdef</sup>	3.97 <sup>de</sup>	3.97 <sup>cde</sup>	2.94 <sup>cdefghij</sup>	1.83 <sup>cdefghij</sup>
7/10	0.74 <sup>ghi</sup>	0.83 <sup>bcdef</sup>	4.90 <sup>ab</sup>	4.90 <sup>ab</sup>	2.85 <sup>efghij</sup>	1.83 <sup>cdefghij</sup>
10/10	<b>0.71<sup>i</sup></b>	0.78 <sup>bcdef</sup>	4.87 <sup>abc</sup>	4.87 <sup>abc</sup>	2.94 <sup>cdefghij</sup>	1.83 <sup>cdefghij</sup>
11/10	0.76 <sup>defghi</sup>	0.84 <sup>abc</sup>	4.80 <sup>abcd</sup>	4.80 <sup>abc</sup>	2.80 <sup>ghij</sup>	1.80 <sup>efghij</sup>
12/10	0.86 <sup>abc</sup>	0.75 <sup>ef</sup>	4.33 <sup>abcde</sup>	4.47 <sup>abcde</sup>	3.05 <sup>bcdefgh</sup>	1.90 <sup>bcdefgh</sup>
13/10	0.86 <sup>abc</sup>	<b>0.88<sup>a</sup></b>	4.57 <sup>abcde</sup>	4.53 <sup>abcde</sup>	2.94 <sup>cdefghij</sup>	1.90 <sup>bcdefgh</sup>
16/10	0.75 <sup>fghi</sup>	0.84 <sup>abcd</sup>	4.43 <sup>abcde</sup>	4.47 <sup>abcde</sup>	2.94 <sup>cdefghij</sup>	1.83 <sup>cdefghij</sup>
17/10	0.73 <sup>hi</sup>	0.81 <sup>abcdef</sup>	<b>5.10<sup>a</sup></b>	<b>5.03<sup>a</sup></b>	2.83 <sup>fghij</sup>	1.84 <sup>bcdefghij</sup>
18/10	0.77 <sup>defghi</sup>	0.86 <sup>abc</sup>	4.07 <sup>bcde</sup>	4.13 <sup>abcde</sup>	2.93 <sup>cdefghij</sup>	1.90 <sup>bcdefgh</sup>
19/10	<b>0.92<sup>a</sup></b>	0.78 <sup>cdef</sup>	4.43 <sup>abcde</sup>	4.43 <sup>abcde</sup>	2.90 <sup>defghij</sup>	1.83 <sup>cdefghij</sup>
20/10	0.89 <sup>ab</sup>	0.81 <sup>abcdef</sup>	4.33 <sup>abcde</sup>	4.47 <sup>abcde</sup>	3.12 <sup>abcde</sup>	1.92 <sup>bcdefgh</sup>
21/10	0.79 <sup>cdefghi</sup>	0.81 <sup>abcdef</sup>	<b>3.90<sup>e</sup></b>	<b>3.77<sup>e</sup></b>	3.20 <sup>abc</sup>	2.02 <sup>ab</sup>
22/10	0.83 <sup>bcde</sup>	0.81 <sup>abcdef</sup>	4.23 <sup>abcde</sup>	4.10 <sup>bcde</sup>	2.79 <sup>ghij</sup>	<b>1.69<sup>j</sup></b>
23/10	0.82 <sup>bcdef</sup>	0.75 <sup>def</sup>	4.30 <sup>abcde</sup>	4.30 <sup>abcde</sup>	2.96 <sup>cdefghi</sup>	1.77 <sup>fghij</sup>
24/10	<b>0.72<sup>i</sup></b>	0.82 <sup>bcdef</sup>	4.27 <sup>abcde</sup>	4.23 <sup>abcde</sup>	3.15 <sup>abcd</sup>	1.96 <sup>bcde</sup>
25/10	0.77 <sup>defghi</sup>	0.81 <sup>abcdef</sup>	4.67 <sup>abcde</sup>	4.63 <sup>abcde</sup>	2.88 <sup>defghij</sup>	1.87 <sup>bcdefghi</sup>
26/10	0.83 <sup>bcd</sup>	0.86 <sup>abc</sup>	4.50 <sup>abcde</sup>	4.47 <sup>abcde</sup>	<b>3.35<sup>a</sup></b>	<b>2.16<sup>a</sup></b>
27/10	0.74 <sup>ghi</sup>	0.81 <sup>abcdef</sup>	4.47 <sup>abcde</sup>	4.43 <sup>abcde</sup>	2.71 <sup>ij</sup>	1.71 <sup>ij</sup>
29/10	0.78 <sup>defghi</sup>	0.83 <sup>bcdef</sup>	4.33 <sup>abcde</sup>	4.23 <sup>abcde</sup>	2.93 <sup>cdefghij</sup>	2.01 <sup>abc</sup>
33/10	0.81 <sup>bcdefg</sup>	0.81 <sup>abcdef</sup>	4.00 <sup>cde</sup>	3.87 <sup>d</sup>	2.86 <sup>efghij</sup>	1.74 <sup>hij</sup>
37/10	0.74 <sup>hi</sup>	<b>0.87<sup>a</sup></b>	4.23 <sup>abcde</sup>	4.23 <sup>abcde</sup>	3.11 <sup>abcdef</sup>	1.82 <sup>defghij</sup>
38/10	0.75 <sup>efghi</sup>	0.84 <sup>abc</sup>	4.27 <sup>abcde</sup>	4.30 <sup>abcde</sup>	3.02 <sup>bcdefgh</sup>	1.94 <sup>bdefg</sup>
39/10	0.80 <sup>cdefgh</sup>	<b>0.74<sup>f</sup></b>	<b>3.83<sup>e</sup></b>	<b>3.83<sup>d</sup></b>	<b>2.68<sup>j</sup></b>	1.81 <sup>efghij</sup>
<b>Moyenne</b>	0.78	0.82	4.41	4.37	2.96	1.87
<b>Ecart- type</b>	0.10	0.09	0.97	1.00	0.33	0.21
<b>F observé</b>	12.81	5.55	3.56	3.53	9.41	9.55
<b>Signification</b>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>	0.000 <sup>***</sup>

LIF1 : longueur des infrutescences ; IIF1 : largeur des infrutescences ; NGS1 : nombre moyen de gousses par infrutescence ; NGR1 : nombre moyen de grains par infrutescence ; NGG1 : nombre moyen de graines par gousse ; LGR1 : longueur des graines ; IGR1 : largeur des graines. Les lettres (a ; b ; c ; d ; e ; f ; g ; h ; i ; j) : groupes homogènes constitués. Signification : P\*≤0.05 ; P\*\*≤0.01 ; P\*\*\*≤0.001 ; NS : non significative.

○ **Variation des nombres de gousses et de graines par infrutescence (NGS1 ; NGR1)**

L'analyse de la variance des nombres de gousses et de grains par infrutescence, indiquent des différences très hautement significatives ( $p \leq 0.001$ ) (Tab.14). Pour chacun de deux caractères, les populations sont scindées en 5 groupes (Tab.14). La population 17/10 a manifesté les nombres de gousses et de graines par infrutescence les plus importants (5.10 ; 5.03,

respectivement). Les nombres les plus faibles sont observés respectivement, chez les populations 21/10 et 39/10 (3.90 ; 3.77, 3.83 ; 3.83) (Tab.14).

Par ailleurs, les nombres les plus élevés (7, 8, 9 et 10 gousses/ infrutescence) ont été remarqués respectivement chez certains individus des populations 7/10 ; 12/10 ; 17/10, 2/10 ; 3/10 ; 26/10, 25/10 et 19/10. Le nombre le plus faible (une gousse/ infrutescence) a été cependant observé uniquement chez certains individus (12/10 ; 23/10 ; 33/10 ; 38/10 ; 39 /10) (Ann.1, Tab.35).

Quant aux nombres de graines /infrutescence les plus élevés (7 et 8, 9 et 10 graines /infrutescence), ils ont été constatés respectivement chez certains individus des populations : 7/10 ; 10/10 ; 12/10 ; 17/10, 26/10, 25/10 et 19/10. Les individus des populations 4/10 ; 12/10 ; 23/10 ; 33/10 ; 38/10 ; 39 /10 ont présenté le nombre le plus faible (une graine/ infrutescence) (Ann.1, Tab. 36).

- **Variation de la taille des graines : longueur et largeur (LGR<sub>1</sub> ; IGR<sub>1</sub>)** (Ann.1, Tab.37 et 38)

Les caractères relatifs à la taille des graines (longueur et largeur) se révèlent très hautement significatifs ( $p \leq 0.001$ ). Le test de Tukey a permis la constitution de dix (10) groupes de populations pour chacun des caractères pris en compte. (Tab.14).

La population 26/10 s'est distinguée par les graines les plus longues (3.35 mm) suivie de la population 4/10 (3.27 mm). Les graines les moins longues ont été constatées chez la population 39/10 (2.68 mm), suivie de la population 27/10 (2.71mm). La longueur moyenne de l'espèce est de 2.96 mm (Tab.14).

Pour la largeur, la population 26/10 a également présenté les graines les plus larges (2.16 mm), alors que les graines les plus étroites ont caractérisé la population 22/10 (1.69 mm) ainsi que la population 27/10 (1.71 mm). L'espèce présente une largeur moyenne de 1.87 mm (Tab.14).

### **2.2.3 Variation inter générations (G0 et G1)**

Les résultats relatifs à la comparaison des moyennes (test T de Student) des caractères liés à la taille des infrutescences et des graines et aux nombres de gousses et de graines par infrutescence, mesurés sur chacune des 26 populations mères (G0) et de la première descendance (G1) ont permis d'évaluer la variation et/ ou la stabilité des caractères chez ces populations (Ann.1, Tab.39).

Ainsi, les résultats de ce test indiquent que chez certaines populations, la moyenne de tous les caractères considérés marque une augmentation significative à très hautement significative entre G0 à G1. En revanche, chez d'autres populations la différence entre les moyennes de G0 et G1, n'est pas significative pour certains caractères (Ann.1, Tab.39).

Selon le nombre de populations n'exprimant pas de différences significatives entre G0 et G1, les caractères relativement les plus stables par ordre décroissant sont : IIF (17) >LGR> (16) >NGS (13)> IGR (12) >NGR (8) >LIF (4) (Ann.1, Tab.39).

Les caractères largeur des infrutescences (IIF) et longueur des graines (LGR) se sont montrés plus stables chez une grande partie des populations notamment, celles provenant des régions de Guelma, Souk Ahras et Constantine (Ann.1, Tab.39).

La moitié des populations étudiées a présenté un nombre de gousses par infrutescence (NGS) relativement stable entre G0 et G1. La plupart de ces populations proviennent des régions de Guelma et Souk Ahras (Ann.1, Tab.39).

Nos résultats indiquent aussi que la longueur des infrutescences (LIF), suivi du nombre de graines par infrutescence (NGR) se sont révélés variables (différences significatives) entre G0 et G1, chez la majorité des populations (Ann.1, Tab.39).

D'autre part, une variation très hautement significative entre G0 et G1 a été observée chez les populations provenant de El Tarf, concernant la taille des graines (longueur et largeur) comparativement aux populations de Souk Ahras dont la majorité a présenté des tailles de grains plus homogènes et relativement stables (Ann.1, Tab.39).

A noter que, les populations 6/10 et 13/10 (Guelma) ont manifesté une grande stabilité pour la plupart des caractères considérés (IIF, NGS, NGR, LGR, IGR). Seule la population 3/10 (Guelma) s'est nettement distinguée par la fluctuation de tous les caractères biométriques entre les générations G0 et G1 (Ann.1, Tab.39).

### **2.3 Matrice de corrélations** : relations avec les facteurs écologiques du milieu d'origine

Plusieurs corrélations établies entre les caractères biométriques chez les populations mères collectées au niveau des habitats naturels (G0) et celles de la première descendance (G1), ont été mises en relief (Ann.2, Tab.41 et 42, respectivement).

En effet, des corrélations hautement significatives ont été constatées entre les différents caractères étudiés dans le cas des populations G0 et G1. Ainsi, les populations caractérisées par de grosses graines présentent des poids de mille grains importants.

Les populations présentant un poids des infrutescences important sont caractérisées par un poids de mille grains élevé.

Les populations ayant un nombre de gousses par infrutescence élevé présentent également un nombre de grains par infrutescence important. Les populations présentant des infrutescences plus larges sont caractérisées par un poids des infrutescences important.

Par ailleurs, concernant les corrélations avec les facteurs écologiques du milieu d'origine des populations G0 et G1, aucune corrélation significative n'a été constatée entre les caractères considérés et ces facteurs (altitude et pluviométrie), chez les populations mères (G0).

Toutefois, une corrélation significative a été mise en relief entre le rapport poids des graines sur le poids des infrutescences (RGI) et l'altitude du milieu d'origine chez les populations de la première descendance (G1). Les populations caractérisées par un rapport poids des graines sur poids des infrutescences élevé proviennent des régions de fortes altitudes (Ann.2, Tab.42).

### **Conclusion**

A travers les résultats de la présente étude portant sur les 26 populations mères (G0) provenant des habitats naturels et les populations de la première descendance (G1), il ressort que les deux générations, particulièrement les populations naturelles (G0), expriment une importante variabilité intraspécifique concernant les caractères des infrutescences, gousses et graines.

Ainsi, le poids de mille grains et le poids des infrutescences sont variables entre G0 et G1.

D'autre part, l'analyse de la variance a mis en relief des différences très hautement significatives pour tous les caractères testés, chez les populations G0 et G1. Au sein des populations G0 et G1, les caractères des grains et des infrutescences (longueur et largeur) se sont montrés plus variables par rapport à celles liées à la production (nombre de gousses et de graines par infrutescence).

Une grande partie de populations particulièrement celles provenant des régions de Guelma, Souk Ahras et Constantine montrent des valeurs plus ou moins proches et stables entre G0 et G1 concernant la largeur des infrutescences et longueur des graines. La plupart ont par contre, significativement fluctué pour le nombre de grains par infrutescence.

La plupart des populations de Guelma et Souk Ahras sont caractérisées par des nombres de gousses par infrutescences élevés et relativement stables entre G0 et G1.

Une grande hétérogénéité pour la taille des graines (longueur et largeur) a été mise en évidence chez les populations provenant de la région de Tarf. Les populations de Souk Ahras ont cependant montré plus de stabilité concernant ce caractère.

La matrice de corrélation a mis en relief l'existence de nombreuses corrélations chez G0 et G1. Il ressort également que l'altitude du milieu d'origine des populations intervient sur le rapport poids des graines/poids des infrutescences de la première descendance (G1), comparativement à G0, dont aucun effet significatif n'a été constaté entre les facteurs du milieu d'origine de ces populations (Altitude et pluviométrie) et les caractères biométriques étudiés.

### **3. Analyse morphologique, phénologique et biométrique**

#### **3.1 Matrice de corrélations**

La matrice de corrélations a mis en relief de nombreuses relations entre certains caractères morpho-phénologiques, biométriques (quantitatifs) et marqueurs morphologiques (qualitatifs), considérés dans la présente étude (Ann.2, Tab.43 et 44).

En effet, les populations ayant une bonne production de gousses et de graines par infrutescence, sont les plus tardives quant à l'apparition de la première fleur et la pleine floraison. Ces populations sont caractérisées par un bon développement hivernal en hauteur et sont originaires des régions à pluviométrie relativement faible.

Les populations dont le poids des infrutescences est important, présentent des infrutescences plus larges, des graines plus grosses et un poids de mille grains important. Elles sont plus performantes en terme de développement printanier en hauteur et largeur et produisent un nombre élevé de fleurs par plant.

Les populations présentant une forte intensité des tâches anthocyaniques diffuses sur leurs feuilles, sont caractérisées par un bon développement printanier en largeur, un rythme de croissance printanier élevé, des pétioles relativement longs et des infrutescences lourdes. Ces populations sont tardives quant à l'émission du bouton floral et proviennent des régions de faibles altitudes.

Les populations présentant des stipules fortement colorées en anthocyanes, sont caractérisées par un bon rythme de croissance printanière en largeur et une durée de floraison longue.

Les populations ayant une forme de feuille plus ou moins ronde, sont plus tardives lors de la fin floraison, la pleine formation des gousses et donnent plus de gousses et de graines par infrutescence.

Plusieurs caractères liés au développement végétatif sont associés aux différents marqueurs qualitatifs étudiés par rapport aux caractères reproductifs et de production. Malgré cela, les corrélations constatées chez certains caractères relatifs à la reproduction et la production : fin floraison, durée de floraison, pleine floraison et poids des infrutescences ont été fortement significatives.

### **3.2 Analyse en composantes principales (ACP)**

Afin d'illustrer la relation entre les variables morpho-phénologiques et biométriques (G1) et déterminer celles qui contribuent le plus à la discrimination des vingt-six (26) populations, une analyse en composantes principales a été réalisée. Vingt-sept (27) variables quantitatives, dont deux facteurs écologiques (altitude et pluviométrie) des habitats naturels des populations, ont été considérées.

Le plan 1-2 de l'ACP pris en compte, extrait 50.52 % de la variation totale. Ainsi, l'examen de la figure 9, permet de constater que les variables phénologiques liés à la floraison, au développement végétatif, la formation de gousses et la production (PRF, BF, PF, DPL, PRG, DMG, DSH, LEV, VCP, DPH, DHL, NFP et PIF) sont respectivement, les mieux représentées sur les deux axes. Douze (12) variables (PRF, BF, PF, DPL, PRG, DMG, DSH, LEV, VCP, DPH, DHL, NFP), présentent une qualité  $\geq 58.14$  %.

Trois (03) variables (PIF, VCH et FF), présentent un pourcentage variant de 50.38% à 42.37%. Le reste des variables donnent une qualité de représentation  $\leq$  à 32.88% (Ann.2 ; Tab.45).

L'axe 1 représente la phénologie. Il détermine bien la précocité des populations et explique à lui seule 30.023 % de l'information. L'axe 1 est corrélé positivement avec les variables phénologiques relatifs à la floraison et la formation des gousses (BF, PRF, PF, FF, PRG, DMG) et négativement avec la date de levée des populations (DL) (Fig.12).

Pour l'axe 2 qui exprime l'architecture de la plante et sa production, celui-ci explique 20.495% de l'information. Les valeurs les plus élevées situées sur le côté positif de cet axe sont associées aux variables relatives au développement végétatif (DHL, DPH, DPL, VCH et VCP) de la plante et celles de sa production (NFP, PIF, LGR et PMG) (Fig.12).

L'analyse de la dispersion des populations sur le plan 1-2 de l'ACP, indique que celles-ci sont réparties le long des axes 1 et 2 et se distinguent en trois principaux groupes morphologiques (Fig.13). L'axe 1 oppose les populations du premier groupe (A) (2/10, 7/10, 11/10, 13/10, 25/10, 29/10, 38/10 et 39/10), tardives à la floraison et la formation de gousses, aux populations du deuxième groupe (B) (6/10, 12/10, 18/10, 20/10, 21/10, 22/10, 23/10, 24/10 et 27/10), tardives à la levée et précoces à la floraison et la formation des gousses.

L'axe 2 distingue sur son côté positif les populations du groupe (C) (4/10, 37/10 et 19/10), caractérisées par une bonne vigueur en terme de développement végétatif (longueur et largeur), un bon rythme de croissance, une meilleure production de fleurs et des infrutescences plus lourdes.

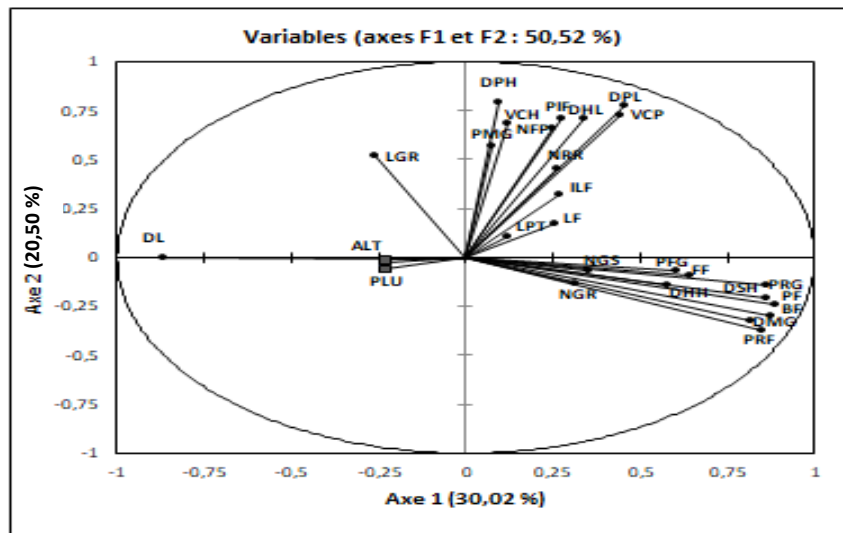


Figure 12. Analyse en composantes principales : Cercle des corrélations des caractères morpho-phénologiques et biométriques quantitatifs chez 26 populations de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

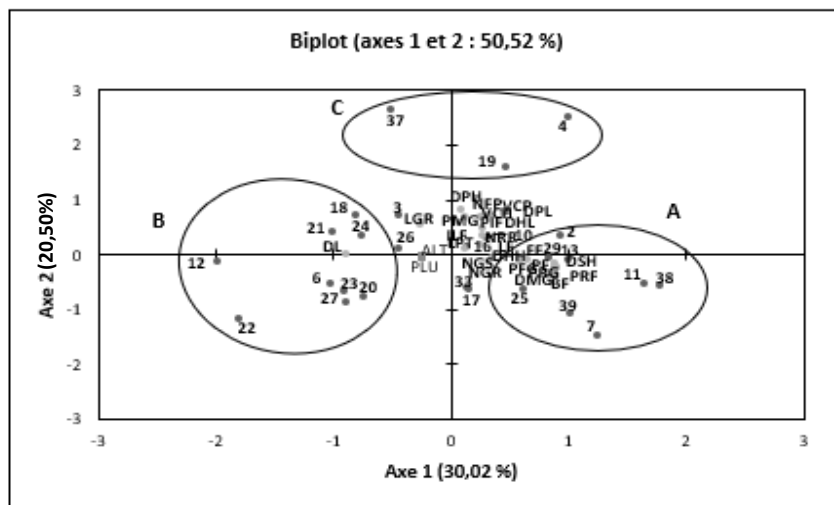


Figure 13. Analyse en composantes principales : dispersion des 26 populations de l'espèce *Trifolium subterraneum* dans le plan 1-2.

### 3.3 Discussion

#### 3.3.1 Variation morphologique et phénologique

Les résultats de la caractérisation morpho-phénologique ont mis en relief la présence d'une large variabilité génétique au sein des populations de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.. L'analyse de la variance indique que la plupart des caractères considérés se sont révélés très hautement significatifs. Ainsi, la variabilité morphologique d'une espèce donnée est un préalable à tout programme qui vise l'amélioration génétique (Arrouadi *et al.*, 2006).

Pour les caractères relatifs au développement végétatif, l'ensemble des populations ont manifesté un développement végétatif appréciable au printemps par rapport à l'hiver. Certaines populations (4/10, 37/10 et 19/10) se sont distinguées par un bon développement végétatif printanier particulièrement en largeur, avec des rythmes de croissance accélérés. Les deux premières populations (4/10 et 37/10) ont également exprimé des valeurs plus élevées concernant le nombre de ramifications (NRR).

Des résultats similaires ont été avancés à travers différentes études de comportement portant sur les populations naturelles algériennes (Issolah *et al.*, 2016), françaises (Masson *et al.*, 1996) et une core collection et variétés australiennes (Abdi *et al.*, 2020) de *T. subterraneum*. La même constatation a été rapportée à travers plusieurs travaux menés sur des populations naturelles du genre *Trifolium* en Algérie (Issolah *et al.*, 2006) et au Maroc (Bennani *et al.*, 2010).

Le temps de floraison est généralement reconnu comme caractère principal affectant l'adaptation des génotypes et des populations (Wallace *et al.*, 1993). Chez le trèfle souterrain, ce trait s'est avéré depuis longtemps être fortement lié au succès des génotypes dans des environnements donnés (Rossiter, 1966).

Concernant le nombre moyen de jours d'apparition de la première fleur, les résultats de la présente étude (106 jours) depuis la levée semblent proches de ceux rapportés par Issolah *et al.*, (2016) (107 jours), dans leur étude sur dix populations algériennes de *T. subterraneum*.

Plusieurs études à travers le monde ont montré une large diversité pour la période de floraison au sein des collections de *T. subterraneum* : en Italie (Piano, 1984 ; Piano *et al.*, 1993 ; Piano & Pecetti, 1996 ; Pecetti & Piano, 2002), en France (Masson *et al.*, 1996), en Australie (Ghamkhar *et al.*, 2015 ; Abdi *et al.*, 2020) et en Allemagne (Baresel *et al.*, 2018).

Par ailleurs, l'étude des marqueurs morphologiques qualitatifs a révélé qu'une remarquable diversité phénotypique caractérise les populations algériennes de *T. subterraneum*. Ainsi, l'analyse des résultats relatifs à ces caractères a permis de constater l'existence d'une assez importante variation des caractères végétatifs des feuilles notamment, les marques foliaires.

Les données obtenues pour ce caractère indiquent que la classe de marques foliaires « Croissant + bras », est la classe caractéristique de la plupart des populations investiguées. Ceci est cohérent avec les résultats rapportés par Pecetti & Piano (2002) sur les populations italiennes et Abdi *et al.*, (2020) sur une core collection (rassemblée de divers pays notamment, la région méditerranéenne) et cultivars australiens de *T. subterraneum*.

Il a été démontré que le trait des marques foliaires est hautement héritable et constitue la caractéristique morphologique la plus distinctive et la plus variable (Nichols *et al.*, 1996 ; Nichols *et al.*, 2013). Chaque marque foliaire est contrôlée par un seul allèle à un locus unique qui compte plus de trente allèles différents (Tan & Collins, 1987 ; Ghamkhar *et al.*, 2012).

Concernant les caractères des fleurs, cette étude a mis en évidence la présence d'une pigmentation anthocyanique chez toutes les populations étudiées, ce qui semble être différent des propos de Pecetti & Piano (2002) chez les populations italiennes de *T. subterraneum*, dont la plupart ne présentaient aucune pigmentation. Selon Nichols *et al.*, (2013), ce caractère est très discriminant des deux sous espèces de *T. subterraneum* (ssp. *subterraneum* et ssp. *brachycalycinum*), dans laquelle la sous espèce *brachycalycinum* n'en présente jamais.

Ainsi, la forme des graines des populations de *T. subterraneum* étudiées, s'étend de la forme ronde à ronde-allongée et aucune forme de graines aplaties n'a été observée chez ces populations. Selon Katznelson et Morley (1965 In Nichols *et al.*, 2013), cette dernière forme de graines (forme aplatie) est propre à la sous espèce *T. subterraneum* ssp. *brachycalycinum*.

Les traits des graines sont très utilisés dans la certification de semences et l'identification des cultivars (Nichols *et al.*, 1996) et également, dans la distinction entre les trois sous espèces de *T. subterraneum* (ssp. *subterraneum* ; ssp. *brachycalycinum* ; ssp. *yanninicum*) (Nichols *et al.*, 2013).

### 3.3.2 Variation biométrique

Les résultats de l'analyse de la variance ont mis en évidence une large variabilité concernant les caractères liés aux infrutescences, gousses et graines au sein des populations mères issues du milieu d'origine (G0) et également entre les populations de la première descendance (G1) de l'espèce *T. subterraneum*.

Différentes études menées sur la diversité génétique au sein des populations portugaises de *T. subterraneum* (Goulão *et al.*, 1999) et entre différentes espèces de *Trifolium* (Issolah, 2006 ; Medoukali *et al.*, 2015) ont rapporté l'importance des caractéristiques des gousses et des graines dans la variation intra- et interspécifique.

En effet, les résultats de la présente étude indiquent que les populations algériennes de *T. subterraneum* possèdent des tailles moyennes des infrutescences (longueur et largeur) relativement moins importantes (G0 : 0.68 x 0.80 cm / G1 : 0.78 x 0.88 cm) comparativement à certaines espèces du genre *Trifolium*.

Dans leur étude portant sur 12 espèces de *Trifolium*, Issolah & Abdelguerfi (1995) ont indiqué des tailles d'infrutescences (longueur et largeur) plus importantes chez les espèces : *T. spumosum* (3.19 x 2.74 cm), *T. repens* (1.8 x 2.3 cm), *T. bocconeii* Savi (1.80 x 0.67 cm), et *T. fragiferum* (1.65 x 1.42 cm).

La longueur moyenne des infrutescences mesurée au cours de cette étude chez les populations G0 et G1 de *T. subterraneum*, s'est révélée légèrement proche de la longueur signalée par Zohary & Heller (1984), selon laquelle les infrutescences sont de 1cm de long. Porqueddu *et al.*, (2003) signalent que la longueur oscillerait entre 1-1.5 cm.

Collins *et al.*, (1976) et Pecetti & Piano (1994) indiquent que la petite taille des infrutescences du trèfle souterrain facilite leur enfouissement dans le sol, permet un développement normal des graines, et facilite également son auto-ensemencement (Bullita *et al.*, 1994).

Quant au nombre moyen de graines par infrutescences, nos résultats obtenus chez les populations correspondants aux deux générations (G0 : 3.61/ G1 : 4.37), étant légèrement supérieurs à ceux avancés par Goulão *et al.* (1999) (3.46) pour les populations et variétés portugaises de *T. subterraneum*. Chez les cultivars australiens, Mackay (1981) a signalé le nombre 3 graines par infrutescences. Par ailleurs, Norman *et al.* (2005) ont cité le nombre de 3 à 4 graines par infrutescence pour les accessions méditerranéennes et australiennes.

Dans le même contexte, Zohary & Heller (1984) ont indiqué chez les variétés (sous espèces) de *T. subterraneum*, la présence de capitules contenant 4-6 fleurs et d'autres avec 2, 3 et 4 fleurs. Quezel & Santa (1962) ont signalé par ailleurs, 2-7 fleurs par capitule.

D'autre part, notre étude a permis de signaler, outre la variation inter-population notée pour les nombres moyens de gousses et de graines par infrutescence chez les populations de G0 et G1, une variation intra-population a été nettement remarquée pour ces caractéristiques chez certains individus au sein d'une même population, en particulier, chez quelques-unes des populations étudiées (24/10 : G0 / 26/10, 25/10, 19/10 : G1). En effet, au sein de ces populations, les individus présentent respectivement un maximum de huit (08), neuf (09) et jusqu'à dix (10) gousses et graines par infrutescence. La variation observée chez ces populations nécessite une attention particulière pour être sélectionnée et exploitée dans le développement de la production de graines chez *T. subterraneum*.

La production de semences contribue non seulement à fournir une ressource estivale pâturable non négligeable, mais permet d'assurer aussi la régénération et la pérennisation du trèfle souterrain (Abdelkefi & Marrakchi, 2000).

On ce qui concerne le nombre de graines par gousse, nos résultats rejoignent ceux de Zohary & Heller (1984), qui ont rapporté chez le trèfle souterrain la présence d'une graine par gousse. Toutefois, le nombre de deux (2) graines par gousse a été observé rarement chez quelques individus de certaines populations algériennes de la première descendance (G1) (18/10, 20/10 et 26/10) analysées à travers la présente étude.

Les résultats relatifs à la taille moyenne des graines (longueur et largeur) obtenus chez les populations mères et ceux de la première descendance (G0 : 2.92 x 1.93 mm/ G1 : 2.96 x 1.87 mm) indiquent que celle-ci est relativement plus importante comparativement à celle avancée (2.24 x 1.88 mm) chez les spécimens américains de *T. subterraneum* (Zoric *et al.*, 2010).

Dans leur étude sur la morphométrie des graines de certaines espèces du genre *Trifolium*, Zoric *et al.* (2010) ont constaté que la taille et le poids des graines de *T. subterraneum* étaient plus importants par rapport à ceux des autres espèces. Ces caractéristiques exceptionnelles des graines pourraient être expliquées par les conditions spécifiques de la fructification et du développement des graines sous le sol (Zoric *et al.*, 2010).

Les grosses graines offrent un avantage concurrentiel lors de l'établissement des semis (Carleton & Cooper, 1972 ; Venable, 1992).

Cocks *et al.* (1982) ont cependant constaté que les génotypes réussis de ssp. *subterraneum* avaient tendance à avoir de petites graines.

Selon Russi *et al.* (1992), les trèfles et les medic annuels à petites graines ont une plus faible dégradation de l'imperméabilité de l'enveloppe de la graine induite par les fluctuations de températures par rapport aux espèces à grosses graines.

Le poids de mille grains donne une idée a priori sur la taille des graines (Lesins & Lesins, 1979). Ainsi, les résultats du PMG (5.56 g) avancés par Issolah *et al.* (2016) sur les populations algériennes appartenant à l'espèce *T. subterraneum* ainsi que ceux de Zoric *et al.*, (2010) chez les spécimens américains (6.3 g) correspondant à *T. subterraneum*, se trouvent intermédiaires par rapport aux valeurs de PMG constatées à travers la présente étude, chez les populations mères et la première descendance de *T. subterraneum* (G0 : 5.45g / G1 : 7.01g).

L'étude de certaines lignées et variétés australiennes de *T. subterraneum* a indiqué des valeurs de PMG variant de 1.14 g à 6.63 g (Varis *et al.*, 1990).

Au sein du genre *Trifolium*, une étude portant sur 15 espèces spontanées a montré que les valeurs de PMG varient de 0.16 à 5.50 g (Medoukali *et al.*, 2015).

### **3.3.3 Classification infraspécifique**

*T. subterraneum*, constitue un complexe hétérogène, divisé en trois sous-espèces : *subterraneum*, *brachycalycinum* et *yannanicum*. Pilluza *et al.* (2005), ont signalé que les différences morphologiques entre les trois sous-espèces (ssp. *subterraneum* ; ssp. *brachycalycinum* ; ssp. *yannanicum*) de *T. subterraneum* sont très remarquables et discernables.

Dans certaines régions d'Algérie, *Trifolium subterraneum* L. est représenté par trois variétés (Subsp. *subterraneum* Var. *subterraneum* ; Var. *brachycladum* ; Var. *flagelliforme*) sur les huit variétés (Subsp. *subterraneum* Var. *subterraneum* ; Var. *brachycladum* ; Var. *majurculum* ; Subsp. *brachycalycinum* Var. *brachycalycinum* ; Var. *graecum* ; Var. *flagelliforme* ; Var. *oxaloides* ; Var. *yannanicum*) décrites chez cette espèce (Zohary & Heller, 1984).

Dobignard & Chatelain (2012) et la flore du Magreb (eflore) (2018 In Chatelain *et al.*, 2018) ont signalé que l'espèce *T. subterraneum* est représentée en Algérie par deux sous-espèces : ssp. *subterraneum* et ssp. *oxaloides*.

D'autre part, plusieurs accessions correspondant à *T. subterraneum* ssp. *brachycalycinum* Katzn. & Morley ont été identifiées dans différentes régions d'Algérie (Relizane, Blida, Médéa, Skikda, Oum El Bouaghi) (Genesis, 2021).

Récemment, *T. subterraneum* ssp. *subterraneum* est décrit par le synonyme hétérotypique suivant : *Trifolium subterraneum* var. *brachycladum* Gibelli & Belli. (Africain Plant Database, 2021).

*T. subterraneum* ssp. *oxaloides* est également décrit par les synonymes hétérotypiques suivants : *T. subterraneum* ssp. *brachycalycinum* Katzn. & Morley (1965) et *Trifolium subterraneum* var. *flagelliforme* Guss. (1854) (Africain Plant Database, 2021).

Ainsi, les caractéristiques de *T. subterraneum* ssp. *subterraneum* ont été rapportées par plusieurs auteurs (Nichols *et al.*, 1996, 2013 ; Ghamkhar *et al.*, 2015).

Sur la base des résultats obtenus à travers la présente étude et liés à plusieurs caractères morphologiques qualitatifs et quantitatifs, notamment ceux concernant la présence d'une pigmentation anthocyanique sur le tube du calice, la forme des graines, la bonne performance d'enfouissement des infrutescences dans le sol, la taille plutôt courte des pédoncules floraux (ne dépassant pas 5 cm) et des entre-nœuds, nous pouvons suggérer que les populations de *T. subterraneum*, rencontrées dans différentes régions du Nord-Est algérien (Guelma, El Tarf, Souk Ahras, Skikda, Constantine), correspondraient à la sous espèce *subterraneum*.

### **3.3.4 Relations avec les facteurs écologiques du milieu d'origine**

La matrice des corrélations a mis en relief la présence de plusieurs corrélations significatives entre les caractères morphologiques, phénologiques et biométriques d'une part, et d'autre part, entre certains de ces traits et les deux facteurs écologiques (altitude et pluviométrie) du milieu d'origine des populations.

Ainsi, nos résultats indiquent que l'altitude a influencé quatre caractères (rapport poids des graines/poids des infrutescences, intensité des tâches anthocyaniques diffuses, largeur du croissant foliaire, pilosité de la tige). La pluviométrie intervient sur trois caractères (développement hivernal en hauteur, largeur du croissant foliaire, pilosité de la tige). Seuls les caractères qualitatifs (largeur du croissant foliaire, pilosité de la tige) ont subi l'influence simultanée des deux facteurs du milieu d'origine (altitude et pluviométrie).

L'effet de l'altitude est relativement plus prononcé par rapport à la pluviométrie du milieu d'origine en ce qui concerne la variation de certains caractères quantitatifs et qualitatifs chez les populations de *T. subterraneum*.

Cette étude a montré que le rapport poids des graines/poids des infrutescences évolue avec l'altitude, alors que Issolah *et al.* (2016), signalent, dans leur étude portant sur dix populations algériennes spontanées de *T. subterraneum*, que les facteurs du milieu d'origine (Altitude et pluviométrie) n'ont influencé aucun des caractères végétatifs, reproductif et de production.

Par ailleurs, il a été démontré que l'altitude a influencé certaines caractéristiques physico-chimiques des sols relatifs aux habitats naturels de plusieurs populations de *T. subterraneum* (Issolah *et al.*, 2015).

Au sein du même genre (*Trifolium*), Medoukali *et al.* (2015), ne rapportent pas de relations significatives entre les caractéristiques liées aux infrutescences, gousses et graines chez plusieurs espèces de *Trifolium* et certaines caractéristiques écologiques du milieu d'origine des populations.

Issolah & Abdelguerfi (1995, 2003 ; Issolah, 2006, 2018) ont montré que l'altitude du milieu d'origine des populations influence positivement le poids de mille grains chez *T. campestre*, *T. resupinatum* et *T. scabrum* et intervient également, sur le nombre de gousses par infrutescence et la longueur des infrutescences chez *T. scabrum* et *T. campestre*.

Lilley *et al.* (2001), signalent que les productions de graines et de biomasse chez *T. subterraneum* sont beaucoup plus sensibles aux influences environnementales, en revanche, les caractères morphologiques tels que la hauteur de la plante et la taille des feuilles sont peu sensibles.

Selon Piano & Pecetti (1996), l'évaluation des relations entre la variation des traits adaptatifs clés des populations naturelles italiennes de *T. subterraneum* et les caractéristiques écologiques de leurs sites d'origine a fourni des modèles de sélection pour le développement de nouveaux cultivars dans des régions données.

Nos résultats n'ont pas montré de relation entre les caractères de floraison et les facteurs du milieu d'origine des populations algériennes. Au sein d'une core collection et cultivars australiens de *T. subterraneum*, Abdi *et al.* (2020) ont confirmé que certaines caractéristiques spécifiques de la plante notamment le temps de floraison, sont associées à des facteurs environnementaux sur leurs sites d'origine et sont donc adaptatives.

Le temps de floraison est très sensible à la latitude, à la température et aux précipitations hivernales et annuelles (Piano, 1984 ; Piano *et al.*, 1993 ; Pecetti & Piano, 2002 ; Abdi *et al.*, 2020 ; Enkhbat *et al.*, 2021a). Néanmoins, Ghamkhar *et al.* (2015) excluent la présence de corrélation entre le temps de floraison et les précipitations annuelles dans leur étude de la collection mondiale de *T. subterraneum*.

Cependant, plusieurs études ont rapporté les effets de certains facteurs écologiques du milieu d'origine sur la variation des traits morpho-phénologiques chez *T. subterraneum*. Ainsi, Piano *et al.*, (1993) ont montré l'effet de l'environnement du milieu d'origine sur quelques caractéristiques morphologiques et le rendement en matière sèche chez les populations de *T. subterraneum* provenant de Sicile.

Baresel *et al.* (2018) ont constaté que les plantes de *T. subterraneum* provenant de climats plus chauds produisent davantage de biomasse.

Une croissance hivernale plus vigoureuse du trèfle souterrain semble être liée aux régions de latitudes inférieures (Abdi *et al.*, 2020). La longueur du pédoncule floral est associée à l'augmentation du pH du sol (Abdi *et al.*, 2020).

Chez *T. subterraneum* ssp. *yanninicum*, Enkhbat *et al.* (2021a) ont signalé que les hautes altitudes et les précipitations estivales favorisaient les génotypes à floraison tardive avec de grandes feuilles, de longs pétioles et d'entre-nœuds en début de floraison.

Ainsi, chez la même sous-espèce *T. subterraneum* ssp. *yanninicum*, la température moyenne annuelle, les températures hivernales et estivales influencent le début de la floraison, la longueur des pétioles et entre-nœuds (Enkhbat *et al.*, 2021a).

Au sein du même genre, les lignées précoces à la floraison chez *Trifolium glomeratum*, proviennent des régions à printemps chaud et sec, alors que les lignées tardives proviennent des régions à hiver froid et à printemps pluvieux (Woodward et Morley, 1974).

Chez *Trifolium repens*, la latitude du milieu d'origine des populations de la nouvelle Ecosse influe sur le nombre de racèmes par plante (Fraser, 1991).

Au sein de la même famille (Fabaceae), plusieurs caractères morpho-physiologiques chez les populations de l'espèce *Hedysarum coronarium* sont influencés par l'altitude et la pluviométrie du milieu d'origine de ces populations (Issolah & Khalfallah, 2007).

Chez *Medicago laciniata* (Fabaceae), Chebouti *et al.* (2019), rapportent que les populations issues des régions à fortes altitudes présentent un bon développement végétatif durant l'hiver et le printemps et sont plus précoces en début de floraison et de formation des gousses.

Nos résultats ont mis également en évidence l'existence de certaines corrélations significatives entre certains marqueurs morphologiques qualitatifs (largeur du croissant, pilosité de la tige) et les facteurs du milieu d'origine des populations considérées.

Par ailleurs, des relations ont été signalées chez le trèfle souterrain entre la largeur du bras des marques foliaires, la pigmentation anthocyanique, les traits de pilosité, la pluviométrie, la latitude et le pH du sol (Abdi *et al.*, 2020).

La largeur du bras des marques foliaires était associée à la fois à l'altitude, la longitude, la température annuelle moyenne et aux températures d'hiver et d'été chez *T. subterraneum* ssp. *yanninicum* (Enkhbat *et al.*, 2021a), alors qu'aucune association entre la largeur du croissant et les paramètres éco-géographiques des habitats naturels n'a été constatée (Abdi *et al.*, 2020 ; Enkhbat *et al.*, 2021a).

Abdi *et al.* (2020) ont suggéré l'implication des marqueurs morphologiques dans l'adaptation environnementale chez cette espèce, ou les gènes qui les contrôlent peuvent être liés à d'autres gènes contrôlant des traits adaptatifs. Dans ce sens, Francis & Millington (1965) et Kaur *et al.* (2017) ont signalé que les QTL liés aux marques foliaires, à la pigmentation du calice et aux isoflavonoïdes (formononétine, genisteine et biochanine) étaient associés à la même région chromosomique sur la carte génétique de *T. subterraneum*.

Par ailleurs, les résultats de l'analyse en composante principales ont mis en relief l'existence d'une grande variabilité intraspécifique concernant le développement végétatif, la précocité et les caractères de production. Une variation inter populations a également été signalée au sein de la même région, notamment la région de Guelma.

Plusieurs travaux ont rapporté la présence de variabilité morphologique au sein de la famille des Fabaceae : *Trifolium* (Issolah, 1997 ; Issolah & Abdelgherfi, 2002, 2003, 2004 ; Bennani *et al.*, 2010 ; Issolah *et al.*, 2012 ; Asci *et al.*, 2011 ; Medoukali *et al.*, 2015 ; Tucak *et al.*, 2018), *Medicago* (Haddiaoui *et al.*, 2012 ; Chebouti *et al.*, 2019 ; Kabtni *et al.*, 2020), *Hedysarum* (Issolah & Khalfallah, 2007 ; Gaad *et al.*, 2012), *Vicia* (Bougrine *et al.*, 2022).

## 4. Etude caryologique

### 4.1 Etude des mitoses somatiques

#### 4.1.1 Dénombrements chromosomiques

Les dénombrements chromosomiques chez les neuf populations naturelles Algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L., sont effectués par l'utilisation de la coloration classique de Dyer (1963).

Le comptage des chromosomes a montré que les métaphases mitotiques de toutes les populations étudiées, présentent un nombre de chromosomes diploïde ( $2n = 16$ ) (Fig. 14). En effet, ce nombre est fréquemment observé chez les individus des populations 12/10 ; 13/10 ; 19/10 ; 20/10 et 33/10.

Cependant, les métaphases somatiques des quatre populations 22/10 ; 23/10 ; 25/10 ; 26/10, ont présenté en plus du nombre caractéristique de l'espèce ( $2n = 16$ ), un second et nouveau nombre de chromosomes ( $2n = 18$ ), souvent rencontré au cours de cette étude chez ces dernières populations (Fig.14).

Les deux nombres de chromosomes ( $2n = 16$  et  $18$ ) sont observés à l'intérieur des cellules d'un même individu, et également chez des individus différents de la même population, ce qui indique la présence chez l'espèce *T. subterraneum*, d'une variabilité chromosomique intra- et inter-populations.

Suite à l'analyse de 15 individus par population, nous avons constaté que la variation des nombres de chromosomes ( $2n=16$  et  $18$ ) ne se trouve pas avec la même fréquence chez ces populations (Fig. 15).

La fréquence du nombre ( $2n=16$ ) représente deux fois la fréquence du nombre ( $2n=18$ ) (0,67 et 0,33 ; 0,64 et 0,36, respectivement) chez les populations 22/10 et 23/10, tandis que les populations 25/10 et 26/10 ont indiqué des valeurs de fréquences très proches (0,56 et 0,44 ; 0,5 et 0,46, respectivement) (Fig.15).

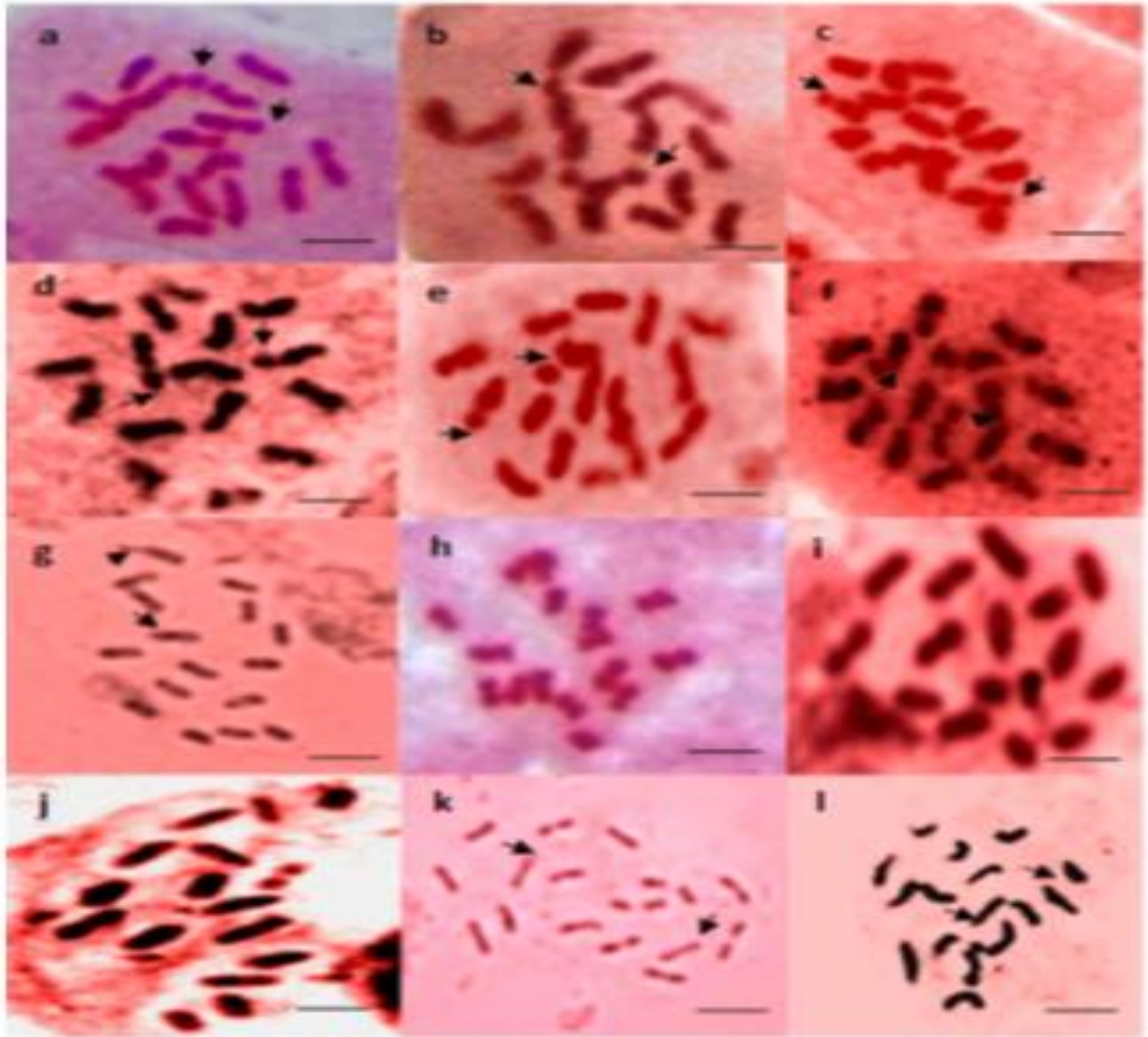


Figure 14. Métaphases mitotiques des populations naturelles Algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. présentant les nombres de chromosomes  $2n=16$  et  $2n=18$  respectivement : (a) population 12/10 ; (b) population 13/10 ; (c) population 19/10 ; (d) pop 20/10 ; (e) population 22/10 ; (f) pop 23/10 ; (g) population 25/10 ; (h) population 26/10 ; (i) population 33/10 ; (j) population 22/10 ( $2n=18$ ) ; (k) population 25/10 ( $2n=18$ ) ; (l) population 26/10 ( $2n=18$ ). Flèche : satellites. Échelle :  $2\mu\text{m}$  (Bouziane *et al.*, 2019).

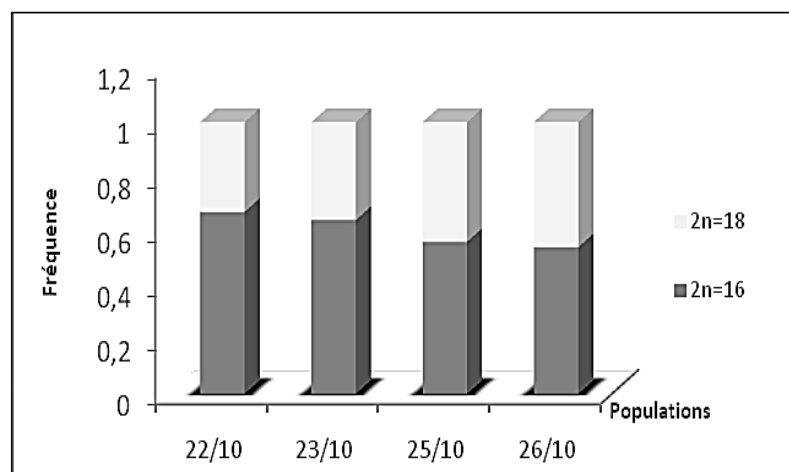


Figure 15. Fréquences des deux nombres de chromosomes ( $2n = 16$  et  $18$ ) chez quatre populations de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. (15 individus/population).

#### **4.1.2 Analyse du caryotype**

La morphologie et la structure des chromosomes se sont révélées presque les mêmes chez toutes les populations (Tab. 15 à 18). Les résultats obtenus à travers la présente étude indiquent que les chromosomes de l'espèce *T. subterraneum* L. de l'Algérie sont petits (Bouziane *et al.*, 2019).

En effet, la taille des chromosomes varie entre 1.02  $\mu\text{m}$  (23/10) et 3.01 $\mu\text{m}$  (22/10) (Tab.16 et 15, respectivement). Les sommes des longueurs totales de l'ensemble des chromosomes sont comprises entre 12.82  $\mu\text{m}$  (25/10) et 18.87  $\mu\text{m}$  (22/10) (Tab.17 et 15, respectivement).

La valeur moyenne de la longueur totale des chromosomes (MLT) de l'ensemble des populations étudiées est de 1.92  $\mu\text{m}$ .

Les résultats de cette étude indiquent aussi que la population 22/10 ( $2n=16$ ) est caractérisée par les valeurs les plus élevées concernant les paramètres retenus, en l'occurrence la moyenne des longueurs des chromosomes qui donne une évaluation sur la taille du génome (2.36  $\mu\text{m}$ ). De plus, la plus grande première paire et huitième paire (3,01 $\mu\text{m}$  -1.72  $\mu\text{m}$ ), caractérisent le caryotype de cette population (22/10) (Tab.15).

Ainsi, les deux chromosomes supplémentaires présents chez les populations ayant la garniture chromosomique ( $2n=18$ ), possèdent pratiquement la même forme (Fig.16 a, Tab.16 et 18), leur taille moyenne est de 1.09  $\mu\text{m}$ .

Nos résultats indiquent également que les satellites sont localisés au niveau de la première paire chromosomique chez l'ensemble des populations étudiées (Fig.16 a).

Une variation de la taille et une abondance de ces satellites est remarquée. En effet, les plaques métaphasiques des populations ( $2n=16$ ), présentent des satellites de tailles considérables par rapport à ceux remarqués sur les plaques des populations ( $2n=18$ ) avec  $0.25 \mu\text{m} \pm 0.022$  ;  $0.18 \mu\text{m} \pm 0.025$ , respectivement. D'autre part, ces satellites sont plus abondants sur les métaphases des populations à  $2n=18$  par rapport à celles à  $2n=16$ , leurs fréquences sont de 0.70 et 0.44, respectivement (Fig.14).

Par ailleurs, les résultats de l'indice centromérique ( $I_c$  %) et le rapport entre le bras long et le bras court ( $r$ ), nous ont permis de déterminer les chromosomes homologues et de classer les différents types chromosomiques. De ce fait, les caryogrammes des populations étudiées sont caractérisés par la présence d'un seul type chromosomique métacentrique (m) (Fig. 16 b).

Les valeurs de l'indice d'asymétrie Ias % (Arano & Saito, 1980), du rapport entre la plus grande et la plus petite des paires chromosomiques (R) et de l'indice interchromosomique A<sub>2</sub> (Romero Zarko, 1986) donnent des indications sur l'évolution des chromosomes chez les plantes.

Les résultats relatifs aux trois paramètres (R<sub>1</sub> :1.75 ; R<sub>3</sub>=1.78), (I<sub>1as</sub>%=54.48 ; I<sub>3as</sub>%= 55.81) et (A<sub>2(1)</sub> = 0.17 ; A<sub>2(3)</sub> =0.19) (Tab. 15 et 17) sont faibles et indiquent que le caryotype (2n=16 m) est très symétrique pour la taille et la forme. Il est donc primitif.

Néanmoins, bien que les indices d'asymétrie soient bas (I<sub>2as</sub>% : 56.69 ; I<sub>4as</sub>% 55.07) chez les populations (2n=18), celles-ci ont montré un caryotype avec des tailles plus ou moins uniforme sauf pour la neuvième (9<sup>ème</sup>) paire. Ceci se reflète par des valeurs du rapport (R) et de l'indice d'asymétrie interchromosomique A<sub>2</sub> relativement élevées par rapport à celles enregistrées pour le caryotype (2n=16) (Tab. 16 et 18).

Tableau 15. Données morphométriques du caryotype de *Trifolium subterraneum* L. en Algérie (population 22/10, 2n=16).

Paire chromo-somique	BL (µm)	BC (µm)	LT (µm)	LTR	d	r	Ic%	Tc
1	1.69 (0.41)*	1.32 (0.26)*	3.01	159.36	0.37	1.28	43.90	m-Sat
2	1.42 (0.31)	1.26 (0.43)	2.68	141.96	0.17	1.13	46.86	m
3	1.53 (0.38)	1.08 (0.35)	2.61	138.52	0.45	1.42	41.33	m
4	1.26 (0.50)	1.09 (0.40)	2.35	124.38	0.17	1.15	46.45	m
5	1.23 (0.50)	1.05 (0.43)	2.28	120.85	0.18	1.17	45.98	m
6	1.18 (0.40)	1.05 (0.31)	2.23	118.11	0.13	1.12	47.12	m
7	1.05 (0.29)	0.94 (0.32)	1.99	105.65	0.11	1.12	47.16	m
8	0.92 (0.31)	0.80 (0.19)	1.72	91.17	0.12	1.15	46.61	m
<b>I<sub>1as</sub>% =54.48    ΣTL=18.87    MLT=2.36    R<sub>1</sub>=1.75    A<sub>2(1)</sub>=0.17</b>								

Tableau 16. Données morphométriques du caryotype de *Trifolium subterraneum* L. en Algérie (population 23/10, 2n=18).

Paire chromo-somique	BL (µm)	BC (µm)	LT (µm)	LTR	d	r	Ic%	Tc
1	1.45 (0.17)*	1.05 (0.14)*	2.50	146.23	0.40	1,38	42.06	m-Sat
2	1.39 (0.13)	1.02 (0.16)	2.41	140.86	0.37	1,37	42.27	m
3	1.33 (0.11)	0.93 (0.08)	2.26	132.46	0.39	1,42	41.31	m
4	1.09 (0.32)	0.89 (0.08)	1.98	116.14	0.20	1,23	44.84	m
5	1.07 (0.25)	0.80 (0.22)	1.87	109.50	0.27	1,33	42.97	m
6	1,01 (0.24)	0.81 (0.19)	1.82	106.51	0.21	1,26	44.30	m
7	0.92 (0.25)	0.81 (0.19)	1.73	101.41	0.11	1,13	46.86	m
8	0.85 (0.30)	0.63 (0.04)	1.48	86.93	0,21	1,34	42.77	m
9	0.57 (0.24)	0.45 (0.15)	1.02	59.96	0.11	1,25	44.42	m
<b>I<sub>2as</sub>% =56.69    ΣTL=17.08    MLT=1.90    R<sub>2</sub>=2.45    A<sub>2(2)</sub>= 0.25</b>								

BL : bras long ; BC : bras court ; LT : longueur totale des chromosomes ; LR (‰) : longueur relative ; d : bras long - bras court ; r : bras long / bras court ; Ic% : indice centromérique ; Tc : type chromosomique ; Ias % : indice d'asymétrie ; R : paire la plus longue/la plus courte ; ΣTL : longueur totale du lot chromosomique diploïde ; MLT : longueur totale moyenne ; A<sub>2</sub> : indice d'asymétrie interchromosomique ; (\*) : déviation standard ; Sat : satellites (Bouziane *et al.*, 2019).

*Etude biométrique, morpho-phénologique et caryologique de plusieurs populations Algériennes de l'espèce Trifolium subterraneum L.*

Tableau 17. Données morphométriques du caryotype de *Trifolium subterraneum* L. en Algérie (population 25/10, 2n=16).

Paire chromosomique	BL (µm)	BC (µm)	LT (µm)	LTR	d	r	Ic%	Tc
1	1.14 (0.23)*	0.91 (0.02)*	2.05	159.96	0.22	1.24	44.57	m-Sat
2	1.12 (0.10)	0.82 (0.01)	1.94	151.56	0.31	1.37	42.14	m
3	0.96 (0.09)	0.80 (0.01)	1.76	137.50	0.16	1.20	45.60	m
4	0.99 (0.01)	0.73 (0.02)	1.72	134.38	0.26	1.35	42.30	m
5	0.83 (0.06)	0.67 (0.02)	1.50	117.00	0.16	1.24	44.50	m
6	0.80 (0.02)	0.61 (0.15)	1.41	110.16	0.19	1.31	43.09	m
7	0.73 (0.06)	0.56 (0.20)	1.29	100.78	0.17	1.30	43.41	m
8	0.60 (0.17)	0.56 (0.18)	1.15	90.04	0.04	1.08	48.16	m
<b>I3as%=55.81    <math>\Sigma</math>TL=12.82    MLT=1.6    R3=1.78    A<sub>2(3)</sub> = 0.19</b>								

Tableau 18. Données morphométriques du caryotype de *Trifolium subterraneum* L. en Algérie (population 26/10, 2n=18).

Paire chromosomique	BL (µm)	BC (µm)	LT (µm)	LTR	d	r	Ic%	Tc
1	1.36 (0.49)*	1.25 (0.36)*	2.61	160.10	0.11	1.09	47.94	m-Sat
2	1.22 (0.43)	1.04 (0.41)	2.26	138.20	0.18	1.17	46.01	m
3	1.25 (0.58)	0.90 (0.33)	2.15	131.45	0.35	1.38	41.96	m
4	1.14 (0.50)	0.85 (0.39)	1.99	121.50	0.29	1.34	42.75	m
5	1.00 (0.52)	0.75 (0.43)	1.75	107.40	0.25	1.33	42.94	m
6	0.91 (0.38)	0.70 (0.28)	1.61	98.97	0.21	1.30	43.50	m
7	0.82 (0.16)	0.68 (0.23)	1.50	92.08	0.14	1.20	45.42	m
8	0.77 (0.30)	0.71 (0.25)	1.48	90.55	0.06	1.09	47.88	m
9	0.56 (0.05)	0.47 (0.02)	1.03	62.48	0.09	1.20	45.15	m
<b>I4as%=55.07    <math>\Sigma</math>TL=16.38    MLT=1.82    R4=2.54    A<sub>2(4)</sub>=0.26</b>								

BL : bras long ; BC : bras court ; LT : longueur totale des chromosomes ; LR (%) : longueur relative ; d : bras long - bras court ; r : bras long / bras court ; Ic% : indice centromérique ; Tc : type chromosomique ; Ias % : indice d'asymétrie ; R : paire la plus longue/la plus courte ;  $\Sigma$ TL : longueur totale du lot chromosomique diploïde ; MLT : longueur totale moyenne ; A<sub>2</sub> : indice d'asymétrie interchromosomique ; (\*) : déviation standard ; Sat : satellites (Bouziane *et al.*, 2019).

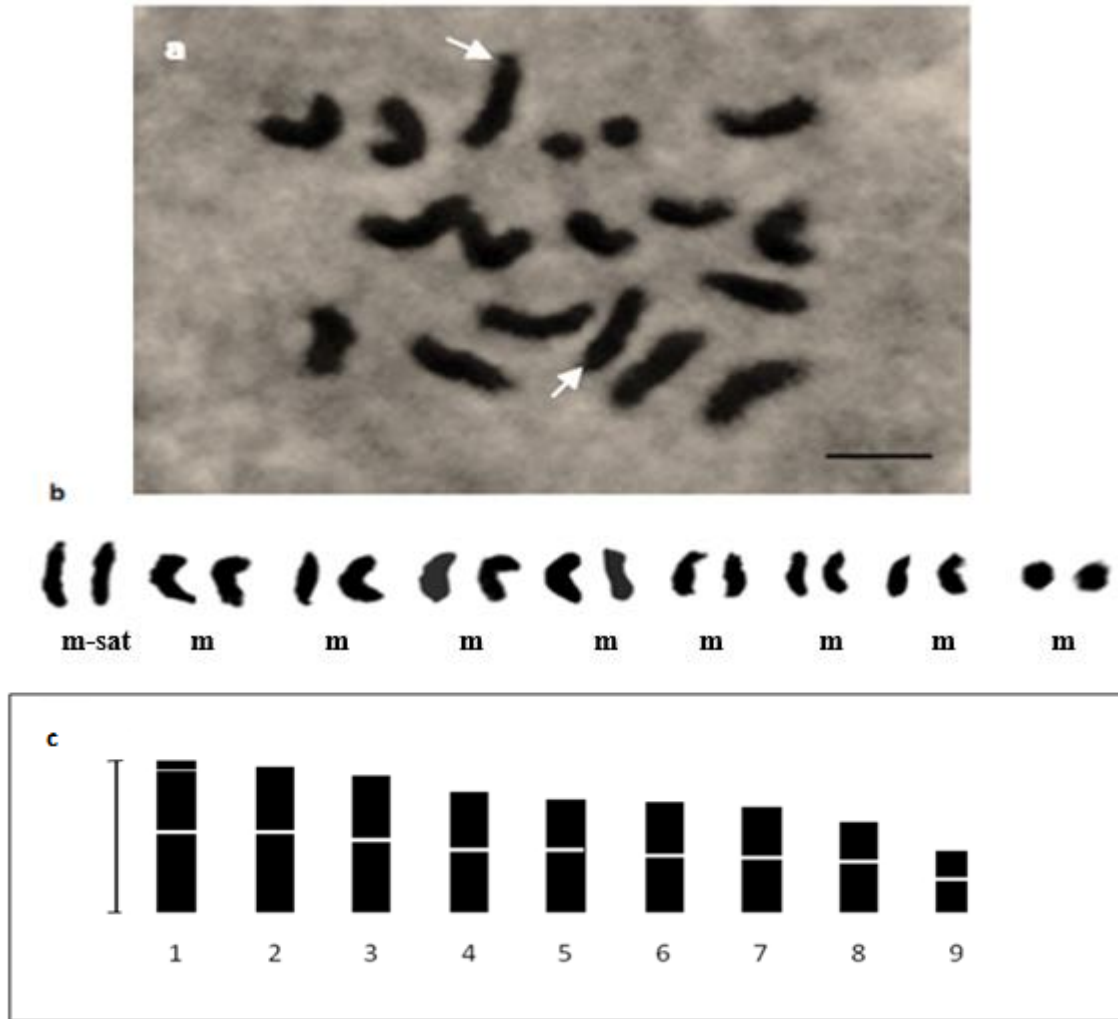


Figure 16. Caryotype de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. en Algérie. (a) métaphase somatique ( $2n=18$ , pop 23/10) ; (b) caryogramme ; (c) Idiogramme ; flèche (satellites). Échelle :  $2.5\mu\text{m}$  (Bouziane *et al.*, 2019).

## 4.2 Étude de la méiose

L'étude du comportement méiotique a montré que les neuf populations naturelles de l'espèce *Trifolium subterraneum* présentent une méiose normale et régulière, avec une dominance des bivalents au stade diacinèse, métaphase I et Anaphase I (Fig.17).

Cela nous a permis d'authentifier le nombre haploïde de base ( $x=8$ ) pour les populations (12/10 ; 13/10 ; 19/10 ; 20/10 ; 33/10), et également confirmer la présence des deux nombres chromosomiques ( $2n = 16$  et  $18$ ) détectés lors de la mitose chez les quatre populations (22/10 ; 23/10, 25/10 ; 26/10) à travers l'apparition de deux nombres haploïdes de base ( $x=8$ ) et ( $x=9$ ) observés à partir des différents boutons floraux étudiés. Par conséquent, les deux chromosomes supplémentaires observés dans les plaques métaphasiques mitotiques ( $2n=18$ ), constituent un bivalent et forment ainsi, une paire de chromosomes de type A.

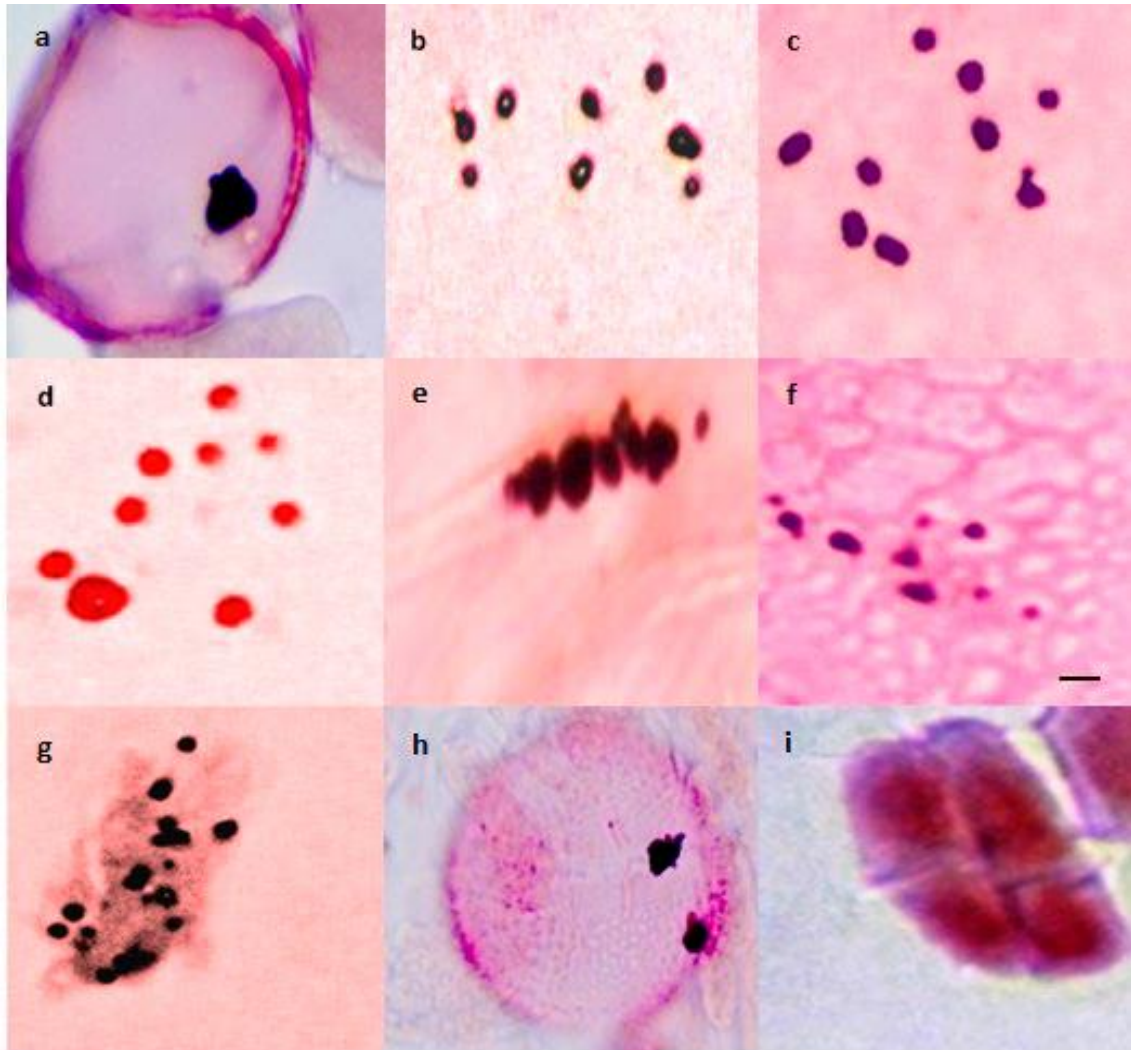


Figure 17. Phases de la méiose chez les populations naturelles de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. en Algérie. (a) Cellule mère du pollen, (b) Diacynèse (population 22/10,  $n=x=8$ ) ; (c) Diacynèse (23/10,  $n=x=9$ ) ; (d) Métaphase I (population 23/10,  $n=x=8$ ) ; (e) Métaphase I (population 23/10  $n=x=9$ ) ; (f) Anaphase I ; (g) Télaphase I ; (h) Télaphase II ; (i) Tétrade. Échelle : 2  $\mu\text{m}$  (Bouziane *et al.*, 2019).

### 4.3 Discussion

Cette étude a permis de mettre en évidence le nombre de chromosomes, le caryogramme, l'idiogramme et l'asymétrie du caryotype des populations algériennes de *T. subterraneum* L.

Les métaphases mitotiques ont montré le même nombre de chromosomes ( $2n=16$ ) chez toutes les populations investiguées (Bouziane *et al.*, 2019). Le même nombre a été rapporté par plusieurs auteurs sur différents écotypes et variétés de diverses provenances (Senn, 1938 ; Angelo, 1975, 1977, 1983 ; Zohary & Heller, 1984 ; Hezamzadeh Hijazi & Ziaeiasab, 2006 ; Viz̃intin *et al.*, 2006 ; Falistocco *et al.*, 1987, 2013), considérant  $x = 8$ , comme étant le nombre de chromosomes ancestral de base chez l'espèce *T. subterraneum*.

Les deux nombres chromosomiques ( $2n=16$  et  $18$ ) mis en évidence à travers notre étude chez quatre populations, sont observés au sein des cellules d'un même individu, et également chez des individus différents de la même population (Bouziane *et al.*, 2019).

Le nombre de chromosomes, en tant que l'une des variations génétiques, est extrêmement variable allant de faibles nombres à des nombres relativement élevés (Eroğlu & Per, 2016).

Selon Siljak-Yakovlev (1996), un changement du nombre chromosomique de base d'une espèce représente une dysploïdie. Ce changement peut se produire soit dans le sens d'une augmentation (dysploïdie ascendante), soit d'une diminution (dysploïdie descendante). Chez les plantes, la dysploïdie descendante semble être la plus fréquente, elle résulte de l'action simultanée ou successive de plusieurs mécanismes cytogénétiques (translocation rebertsonnienne, délétion...) (Siljak-Yakovlev, 1996).

Contandriopoulos (1978) signale des nombres de bases différents ( $2n = 30, 32$  et  $34$ ) au sein de l'espèce *Sideritis libanotica* Labill. et indique que la dysploïdie reste anarchique lorsqu'elle n'aboutit pas à former des populations à caryotypes stables ayant leur propre répartition géographique et présentant une différenciation morphologique particulière.

Dans un tel cas, il semblerait plus judicieux de parler d'hyper et hypo- aneuploïdie qui pourrait présenter le début du mécanisme conduisant à la dysploïdie, à condition que les individus porteurs du nombre aneuploïde arrivent à se multiplier puis à s'imposer dans la population (Contandriopoulos, 1978).

Siljak-Yakovlev (1996) considère qu'un nombre chromosomique variable au sein d'une même population est à la fois comme un phénomène d'aneuploïdie et de dysploïdie et qu'il est difficile de tracer la limite entre ces deux phénomènes, surtout quand il s'agit de taxons polyploïdes.

La dysploïdie intra spécifique représente une étape transitoire vers un changement définitif du nombre chromosomique de base (Siljak-Yakovlev, 1996). Les populations dans lesquelles un tel changement s'est produit et se fixe, représentent bien probablement, les ancêtres directs de futures espèces dysploïdes (Siljak-Yakovlev, 1996).

Les variations du nombre de chromosomes de base caractérisent différentes espèces diploïdes du genre *Trifolium*, dans certains cas, ces variantes cytologiques se produisent dans la même espèce (Falistocco *et al.*, 2013).

Brock (1953) a compté deux nombres chromosomiques différents ( $2n=12$  et  $16$ ) chez l'espèce *Trifolium subterraneum* poussant dans diverses régions. Brock (1953) a suggéré que la différence pourrait être le résultat d'un réarrangement chromosomique sans perte de matériel génétique.

Au niveau du genre *Trifolium*, deux nombres de bases ( $x=8$  et  $9$ ) ont été mis en évidence au sein des populations de deux espèces : *T. ornithopodioides* des îles britanniques (Rutland, 1941 ; Muñoz-Rodríguez, 1995), et *T. montanum* var. *montanum* de la Péninsule Ibérique (Bleier, 1925a ; Muñoz-Rodríguez, 1995).

Issolah & Abdelguerfi (1999b) ont montré la présence de deux nombres de bases ( $x=5$  et  $6$ ) chez les populations algériennes de *Trifolium scabrum*.

Selon Pritchard (1969) et Zohary & Heller (1984), les espèces annuelles appartenant aux deux sections méditerranéennes *Trifolium* et *Trichocephalum*, arrivées à un stade plus avancé de l'évolution, présentent  $x=8$  et des nombres de bases ( $x=7, 6$  et  $5$ ), où les quatre nombres peuvent être trouvés.

De même, Uslu (2012) a montré que les taxons de la section *Trifolium* qui poussent en Turquie, présentent les nombres ( $x=6, 7$  et  $8$ ).

Au sein de la tribu des Trifolieae, Darlington & Jamaki (1945) et Darlington & Wylie (1945) ont signalé l'existence de trois nombres de bases ( $x=7, 8$  et  $9$ ). Le dernier nombre de base ( $x=9$ ) était détecté en Europe chez l'espèce *Trigonella ornithopodioides* L. (DC) (Darlington & Wylie 1945). Pour des raisons d'ordre taxonomique, l'espèce *Trigonella ornithopodioides* a été reclassée dans le genre *Trifolium* (Allen & Allen, 1981).

Chez la famille des Fabaceae, plusieurs cas présentant plus d'un nombre de chromosomes de base ont été rapportés chez différents genres, notamment, *Onobrychis*, avec  $x=7$  et  $8$  (Hejazi *et al.*, 2010 ; Arslan *et al.*, 2012) et *Genista* où le nombre de chromosomes le plus commun est  $2n=48$ , à l'exception du nombre aneuploïde  $2n=44$  révélé chez *Genista ovina* (Bacchetta *et al.*, 2012).

D'autre part, la même remarque a été faite chez les espèces du genre *Hedysarum*, entre autres, *H. pallidum* ( $2n=16$  et  $18$ ) (Benhizia *et al.*, 2003) ; *H. coronarium* ( $2n=16$  et  $2n=18$ ) (Issolah *et al.*, 2006) et *H. perrauderianum* ( $2n=32$  et  $18$ ) (Benhizia *et al.*, 2013).

Par ailleurs, dans la famille des Poaceae, la dysploïdie a été constatée chez l'espèce

*Lygeum spartum* L. dont l'étude cytogénétique a révélé deux nombres chromosomiques de base au sein de deux populations algériennes de différentes provenances ( $2n = 16$  et  $40$ ) (Abddaim-Boughanmi *et al.*, 2009). Selon ces derniers auteurs, la population ( $2n=40$ ) correspondant à *Lygeum spartum*, a également présenté une variabilité du nombre chromosomique au sein d'un même individu (Abddaim-Boughanmi *et al.*, 2009).

Siljak-Yakovlev *et al.* (2017) ont montré chez l'hétérochromatine constitutive, que l'ADN riche en GC et l'ARNr sont impliqués dans les réarrangements chromosomiques au cours du changement du nombre de chromosomes de base chez les espèces méditerranéennes appartenant au genre *Reichardia* Roth. (Asteraceae). Ces mêmes espèces (*R.dichotoma* ; *R.macrophylla* ; *R. albanica* ; *R.gaditana* ; *R.tingitana* ; *R. picroides*) sont caractérisées par trois nombres de chromosomes de base ( $x = 9, 8$  et  $7$ ) qui ont participé à l'évolution du genre *Reichardia* dans la région méditerranéenne (Siljak-Yakovlev *et al.*, 2017).

Concernant la taille des chromosomes, nos résultats ( $1.02-3.1\mu\text{m}$ ) semblent relativement inférieurs à ceux trouvés par Falistocco *et al.* (2013) sur les accessions italiennes de *Trifolium subterraneum* ( $2.5-3.5\mu\text{m}$ ).

D'autre part, cette taille des chromosomes paraît très proche de celle enregistrée chez l'espèce *T. lappaceum* de l'Iran ( $3.03 \mu\text{m}$ ), mais inférieure aux tailles rapportées chez d'autres espèces de *Trifolium* en Iran (*T.angustifolium* :  $14.56 \mu\text{m}$  ; *T. leucanthum* :  $12.32 \mu\text{m}$  ; *T. tumens* :  $11.09 \mu\text{m}$ ) (Alimardani *et al.*, 2014).

Nos données sont également proches de celles trouvées pour certaines espèces de *Trifolium* en Turquie, comme, *T. echinatum* ( $1.41-2.74 \mu\text{m}$ ) ; *T. phleoides* ( $1.73-2.78 \mu\text{m}$ ) (Uslu, 2012), et semblent être supérieures à celles enregistrées par kiran *et al.* (2010) chez *T. speciosum* Willd. ( $0.99- 1.64 \mu\text{m}$ ) et *T. campestris* Scherb. ( $1.13-1.73 \mu\text{m}$ ).

Chez *T. subterraneum*, la taille des chromosomes enregistrée à travers notre étude, est relativement proche de celle signalée pour certaines espèces des genres *Hedysarum*, *Astragalus* et *Asparagus* en Algérie (Benhizia *et al.*, 2003 ; Issolah *et al.*, 2006 ; Benhizia *et al.*, 2013 ; Baaziz *et al.*, 2014 ; Boubetra *et al.*, 2017).

Nos résultats ont également indiqué des satellites localisés au niveau de la première paire chromosomique chez l'ensemble des populations étudiées. La présence de satellites et leur localisation sur la première paire chromosomique rejoint les résultats trouvés par Falistocco *et al.* (2013) sur les accessions italiennes.

Ainsi, selon Falistocco *et al.* (1987 ; 2013), ces satellites sont présents chez les trois sous espèces de *T. subterraneum* (*subterraneum*, *brachycalycinum*, *yanninicum*), dont la taille peut être discriminante des trois sous espèces. La taille de ces satellites est plus importante chez *yanninicum* et moyenne chez les deux autres sous espèces (*subterraneum* et *brachycalycinum*) (Falistocco *et al.*, 1987).

Les résultats de cette étude ont montré que toutes les populations étudiées sont caractérisées par des chromosomes métacentriques. Ceci concorde avec les résultats de Falistocco *et al.* (2013) sur les accessions italiennes, caractérisées elles aussi par des chromosomes métacentriques, alors que Angelo (1983) a décrit deux types chromosomiques métacentriques et sub-métacentriques pour les écotypes espagnols.

Par ailleurs, deux types de caryotypes ont été mis en évidence pour les accessions iraniennes : le premier est constitué de huit paires métacentriques, le second caryotype est formé de 6 paires métacentriques et deux paires submétacentriques (Hezamzadeh Hijazi & Ziaeiasab, 2006).

L'asymétrie du caryotype est un paramètre important dans les études caryologiques (Eroğlu, 2015). Dans notre cas, le caryotype ( $2n=16$ ) des populations algériennes de *T. subterraneum* est très symétrique pour la taille et la forme. Il est donc primitif. Ceci semble être un trait commun avec le caryotype de *T. subterraneum* de l'Italie (Falistocco *et al.*, 2013), mais diffère de celui de l'Iran où les populations de *T. subterraneum* ( $2n=16$ ) sont caractérisées par une faible symétrie intrachromosomique (Hezamzadeh Hijazi & Ziaeiasab, 2006).

En revanche, le caryotype des populations  $2n = 18$  est considéré comme relativement symétrique en raison de la valeur élevée de l'asymétrie interchromosomique. Ainsi, Muñoz-Rodríguez (1995) ne considère pas le caryotype de l'espèce *Trifolium ornithopodioïde* ( $2n=18$ ) comme asymétrique, malgré la valeur élevée de l'indice d'asymétrie  $A_2$  qui était égale à 0.20, du fait que les tailles des paires chromosomiques sont plus ou moins uniformes sauf la première paire qui était plus grande que les autres.

Chez l'espèce *Reichardia picroïdes* (Asteraceae), Siljak-Yakovlev (1986) a suggéré qu'il s'agit dans un tel cas, d'une symétrie secondaire due aux remaniements chromosomiques.

Par ailleurs, nos résultats relatifs à l'analyse de la méiose du pollen ont confirmé ceux obtenus en mitose. Ainsi, nous avons constaté que les populations algériennes de *T. subterraneum*, sont caractérisées donc par deux formules chromosomiques. La première, ( $2n=2x=16m$ ) (métacentriques) habituellement signalée, et la seconde ( $2n=2x=18m$ ) révélée pour la première

fois chez cette espèce. Il est important de signaler que cette dernière formule est observée particulièrement chez les populations échantillonnées à partir de sites de hautes altitudes (800-1110 m), appartenant à la même zone biogéographique (Souk Ahras), caractérisés par une pluviométrie élevée (700-900 mm). Par conséquent, la variation du nombre chromosomique constatée au sein des populations de cette espèce et l'apparition d'une nouvelle paire chromosomique semble être favorisée par ces deux facteurs (altitude et pluviométrie).

En effet, les mêmes populations algériennes de trèfle souterrain, considérées à travers notre étude, ont fait l'objet d'un travail antérieur relatif à la caractérisation écologique de l'habitat naturel de *T. subterraneum* en Algérie (Issolah *et al.*, 2015). Ainsi, les résultats de cette dernière étude ont montré que la variation des caractéristiques édaphiques, climatiques et topographiques des sites de provenances de ces populations influence la répartition de cette espèce dans le Nord-Est de l'Algérie (Issolah *et al.*, 2015).

Abdelguerfi *et al.* (2006) indiquent que l'espèce *T. subterraneum* est plus présente dans les régions fortement arrosées et humides. En Australie, Rossiter & Collins (1988a, 1988b) et Cocks (1992) ont également observé une plus grande variabilité des populations de trèfle souterrain, dans les zones à forte pluviométrie.

Diverses études ont montré que les différences de provenance des populations et la variation des facteurs environnementaux des sites d'origines peuvent expliquer les différences intraspécifiques et pourraient avoir un effet sur les variations des nombres de chromosomes, le niveau de ploïdie, la structure chromosomique et l'asymétrie du caryotype chez certaines espèces appartenant aux genres : *Trifolium* (Issolah & Abdelguerfi, 1999b ; Issolah, 2006) ; *Hedysarum* (Issolah *et al.*, 2006 ; Benhezia *et al.*, 2013) ; *Bellevalia* et *Muscari* (Azizi *et al.*, 2016) et enfin *Asparagus* (Boubetra *et al.*, 2017).

Les facteurs de l'environnement ont influencé également les paramètres du caryotype chez les espèces du genre *Aegilops* (Poaceae) (Baik *et al.*, 2017). Des relations significatives ont été constatées entre l'altitude et la longueur totale du lot chromosomique et l'asymétrie interchromosomique d'une part et d'autre part, entre la pluviométrie et l'asymétrie intrachromosomique (Baik *et al.*, 2017).

Selon Hayward & Breese (1993), les habitats naturels sont rarement, voire jamais, uniformes dans l'espace et dans le temps et peuvent englober plusieurs micro-niches distinctes ou subir de grandes fluctuations saisonnières.

Étant donné que *Trifolium subterraneum*, fait partie des espèces autogames, Allard & Adams (1969) et Hayward & Breese (1993), signalent que les fluctuations et la variation des conditions édaphiques dans le site d'origine déclenchent une sélection perturbatrice qui produit et maintient des niveaux élevés de variabilité dans les populations sauvages chez les espèces autogames.

Dans une grande collection de germoplasme de subsp. *subterraneum* de Sardaigne, Piano & Pecetti (1996) et Pecetti & Piano (2002), ont constaté que le niveau de complexité, pour divers caractères, variait grandement selon les populations et était influencé par les caractéristiques climatiques des sites de collecte.

Malgré que l'espèce soit autogame avec des fleurs cléistogames, il existe une possibilité de croisement occasionnel, et cette raréfaction exceptionnelle pourrait avoir une grande importance pour l'évolution de *Trifolium subterraneum* (Katznelson et Morley, 1965 In Piano & Pecetti, 1996). Marshall et Broué (1973) ont estimé le taux de pollinisation croisée des populations australiennes du trèfle souterrain à 0,15%. La variation libérée par une hybridation occasionnelle peut ensuite être fixée par autofécondation et mise à la disposition des pressions sélectives naturelles (Cocks, 1992b).

Selon Piano (1984), des populations naturelles de trèfle souterrain se sont formées par des amas de plusieurs souches génétiquement distinctes ; de ce fait, les différentes populations se seraient peut-être croisées. Ceci expliquerait la variation chromosomique intra-population et inter population observée (Piano, 1984).

Par ailleurs, quatre populations de la même région ont présenté le même comportement somatique ( $2n = 16$  et  $18$ ) et méiotique ( $n=x=8$  et  $n=x=9$ ) au sein d'un même individu et entre individus différents. Ces quatre populations se seraient probablement formées au sein de *T. subterraneum*, suite à une évolution dans le temps, étant donné que cette espèce fait partie d'une section « *Trichocephaleum* » considérée, selon Zohary & Heller (1984), comme la section la plus évoluée par rapport aux autres sections du genre *Trifolium*.

Cette section est constituée donc d'espèces dont l'interaction, avec les caractéristiques écologiques diverses de leur milieu d'origine, en particulier la région du Nord- Est de l'Algérie (sites de collecte), favoriserait les réarrangements chromosomiques et les tendances évolutives des populations naturelles à l'intérieur des espèces.

# *Conclusion*

## **Conclusion**

Cette étude constitue une contribution à l'évaluation et la valorisation des ressources phytogénétiques du trèfle souterrain « *Trifolium subterraneum* L. ». Elle consiste en une analyse de la diversité morphologique et caryologique chez 26 populations naturelles collectées dans diverses régions éco- géographiques du Nord- Est de l'Algérie.

Les différentes approches morphologiques, phénologiques, biométriques et caryologiques utilisées ont abouti à de nombreux résultats.

Les populations Algériennes de *T. subterraneum* ont présenté une performance intéressante en terme de développement végétatif, notamment la capacité à couvrir le sol au printemps mais aussi à produire un nombre important de gousses et de graines par infrutescence. Ce potentiel mérite d'être exploité pour développer le pâturage, et par voie de conséquence, l'élevage ceci d'une part, et d'autre part, la production de graines.

Les caractères relatifs à la biométrie et à la phénologie de la plante sont plus importants, comparativement aux marqueurs morphologiques qualitatifs, dont la variabilité est relativement faible pour certains caractères.

Des relations significatives ont été mises en évidence entre certains caractères quantitatifs d'une part, et d'autre part, entre quelques-uns de ces caractères et certains marqueurs morphologique qualitatifs. Ces derniers semblent être fortement liés aux caractères relatifs à la reproduction et la production de la plante.

Les corrélations significatives établies entre certains caractères quantitatifs, qualitatifs et les facteurs du milieu d'origine des populations (Altitude et Pluviométrie), indiquent que l'altitude semble jouer un rôle plus important sur la variation morpho-phénologique et biométrique observée chez les populations algériennes de *T.subterraneum* .

L'analyse en composantes principales (ACP), a mis en relief une large variabilité phénotypique particulièrement, chez les populations issues d'une même région (Guelma). Les caractères liés à la précocité, au développement végétatif de la plante et à la production, ont permis de différencier trois groupes de populations.

Les résultats obtenus montrent également que certains caractères quantitatifs (taille des pédoncules floraux et des entre-nœuds) et qualitatifs (pigmentation du tube du calice, forme des graines, degré d'enfouissement), correspondent beaucoup plus aux caractéristiques de la sous espèce *subterraneum*.

Ceci nous a permis de proposer la ssp. *subterraneum*, comme étant une catégorie infra spécifique à laquelle appartiennent les populations algériennes de *T. subterraneum*, issues des régions du Nord-Est du pays.

La plupart des caractères morpho-phénologiques et biométriques analysés sur les populations de la première descendance (G1), ont indiqué des différences très hautement significatives, dénotant une importante variabilité phénotypique intra spécifique et inter populations.

Par ailleurs, l'étude biométrique menée sur les 26 populations mères (G0), provenant des habitats naturels et les populations de la première descendance (G1), a mis en évidence une importante variabilité intraspécifique concernant les caractères des infrutescences, gousses et graines, chez les populations G0 et G1, particulièrement, les populations mères (G0). L'analyse de la variance a fait ressortir des différences très hautement significatives pour tous les caractères testés.

Les caractéristiques des graines et des infrutescences (longueur et largeur) discriminent mieux les populations des deux générations par rapport aux caractéristiques de production (nombre de gousses et de graines par infrutescence).

Ainsi, une variabilité intergénérations (G0 et G1) est constatée concernant le poids de mille grains et le poids des infrutescences, qui ont manifesté une augmentation chez la plupart des populations de la première descendance (G1).

Le rapport poids des grains /poids des infrutescence s'est montré relativement homogène entre G0 et G1, chez une grande partie des populations et donc chez l'espèce.

En revanche, le test T de Student a permis de constater que les caractéristiques biométriques, entre autres, la largeur des infrutescences, la taille des graines (longueur et largeur) et le nombre de gousses par infrutescence, se sont révélés relativement plus stables entre G0 et G1, chez une grande partie des populations.

Certaines populations de Souk Ahras et Guelma se sont révélées plus stables du point de vue taille des graines et nombre de gousses par infrutescence. Elles méritent de ce fait une attention particulière (valorisation et sélection).

Les résultats relatifs à l'étude caryologique portant sur la mitose et la méiose des neuf populations de *T. subterraneum* révèlent l'existence de deux nombres de chromosomes chez

certaines populations. Le premier ( $2n = 2x = 16$ ) est fréquent et caractérise habituellement le trèfle souterrain, et le second nombre ( $2n = 2x = 18$ ), nouvellement observé au cours de notre étude, est fréquemment détecté chez les populations provenant des régions de forte altitude. Ces deux nombres chromosomiques ont été observés, chez la même population, voir également le même individu.

Les résultats de la méiose montrent que l'espèce présente un comportement méiotique régulier, confirmant la présence de deux nombres de chromosomes de bases ( $x=8$  et  $9$ ) de type A.

Deux formules chromosomiques caractérisent les populations de cette espèce naturelle en Algérie. La première :  $2n=2x=16$  m (métacentriques), avec un caryotype symétrique, pour la taille et la forme, considéré comme primitif, et la seconde :  $2n=2x=18$  m, présentant un caryotype relativement symétrique.

Au niveau des deux caryotypes établis, une paire satellifère est mise en évidence au niveau de la première paire. Une variation de la taille et de la fréquence de ces satellites est observée.

Ces nouvelles données déterminées pour la première fois à travers la présente étude, indique la présence d'une variation chromosomique inter et intra-populations chez *T. subterraneum*. Ce fait suggère que les conditions géographiques des milieux d'origine des populations pourraient avoir un effet sur les changements, dans la structure caryologique de ces populations, en particulier l'altitude.

De plus, l'espèce appartient à la section « *Trichocephaleum* », constituée d'espèces qui ont tendance à évoluer en interagissant avec leur milieu.

Au terme de ce travail, l'espèce naturelle *Trifolium subterraneum* L. est dotée d'une variabilité morphologique, phénologique, biométrique et caryologique importante sur laquelle les facteurs écologiques du milieu d'origine (Altitude et pluviométrie) semble avoir un effet plus ou moins prononcé.

A la lumière des résultats obtenus, les performances diversifiées, décrites chez les populations algériennes de *T. subterraneum*, nécessitent leur valorisation et préservation, notamment dans la région Nord- Est du pays.

En perspectives, il conviendrait de :

- Mener des investigations sur ces populations naturelles à travers l'Algérie et élargir le pool génétique local de cette espèce pour l'utiliser dans un programme d'amélioration et de création de variétés fourragères performantes.
- Etudier les aspects moléculaires pour une meilleure différenciation intraspécifique et confirmer le statut taxonomique de ce germoplasme.
- Etudier l'implication des facteurs écologiques du milieu d'origine (autres facteurs que l'altitude et la pluviométrie) qui pourraient expliquer la variation morpho-phénologique et biométrique.
- Réaliser des analyses cytogénétiques moléculaires comparatives avec d'autres populations de différentes origines pour mieux comprendre et identifier la nature du processus d'évolution du génome des populations de l'espèce *T. subterraneum*.

# *Références*

## Références

- Abdeddaim-Boughanmi, k., Kaid-Harche, M. (2009). Structure, ultrastructure of the Anther, pollen microsporogenesis and morphology of pollen grains of two populations of *Lygeum spartum* L. in Algeria. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 4 (3) : 201-205.
- Abdelguerfi, A. (2003). Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture. Rapport de synthèse tome IX.
- Abdelguerfi, A., Laouar, M., M'Hammedi Bouzina, M. (2008). Les production fourragères et pastorales en Algérie : Situation et Possibilités d'Amélioration. Agriculture & développement (INVA, Alger). 6 : 14-25.
- Abdelguerfi, A., Abdelguerfi-Laouar M., M'hammedi Bouzina, M., Guittonneau, G.G., Huguet, T., Abbas, K., Mebarkia, A., Aouani, M.E., Madani T. (2006). Distribution et écologie de quelques Fabacées spontanées d'intérêt pastoral et/ou fourrager en Algérie. Workshop international sur la diversité des fabacées fourragères et de leurs symbiotes : Applications biotechnologiques, agronomiques et environnementales. Alger, 19-22 Fév. 27-36.
- Abdelkefi, A. & Marrakchi M. (2000). Les ressources phylogénétiques fourragères et pastorales : de l'érosion à la conservation. In : Sulas L. (ed.). *Legumes for Mediterranean forage crops, pastures and alternative uses*. Zaragoza : CIHEAM, 15-27. 10 Meeting of the Mediterranean Sub-Network of the FAO-CIHEAM Inter-Regional Cooperative Research and Development Network on Pastures and Fodder Crops, 2000/04/04-09, Sassari (Italy).
- Abdi, A. I., Nichols, P. G., Kaur, P., Wintle, B. J., & Erskine, W. (2020). Morphological diversity within a core collection of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) : lessons in pasture adaptation from the wild. *PLoS one*. 15(1) : e0223699. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223699>.
- African plant database. (2021). Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève and South African National Biodiversity Institute, Pretoria (version 4.0.0), [Consulté le 24 Avril 2019 et 23 Mars 2022]. <http://africanplantdatabase.ch>.
- Aguiar, C., Rodrigues, M., Fernández-Nuñez, M.E., Domingos, T., Pires J. (2012). The effect of soil microtopographic gradients on dry matter yields and species richness in two Mediterranean pastures. In 'New Approaches for Grassland Research in a Context of Climatic and Socio-Economic Changes. Proceedings of the 14th Meeting of the FAO-CIHEAM Subnetwork on Mediterranean Pastures and Fodder Crops'. Samsun, Turkey. (Eds Z Acar, A López Francos, C Porqueddu). 295–298 (CIHEAM : Paris).
- Aitken, Y. (1939). The problem of hard seeds in subterranean clover. *Proceedings of the Royal Society of Victoria*. 51 : 187–213.
- Al Faiz, C. (1999). Selection of Forage Crops In Morocco In Etienne M. (Ed.). Dynamics And Sustainability of Mediterranean Pastoral Systems." Zaragoza : CIHEAM, 91-95. 9 Meeting of the Mediterranean Sub-Network of the FAO-CIHEAM Inter-Regional Cooperative Research and Development Network on Pastures and Fodder Crops, 1997/11/26-29, Badajoz (Spain).
- Alapetite, G.P. (1979). Flore de la Tunisie : Angiospermes-Dicotyledones. Apétales-Dialypétales. Jere partie. pp. 1-651. Imp Officielle de la Tunisie, Tunis.
- Alimardani, F., Torabi, S., Naghavi, R., Ebrahimi, A. (2014). Study of cytological among some *Trifolium* species of iran. *Interciencia*. 39 (4) :147– 151.
- Allard, R.W., (1965). Genetic systems associated with colonizing ability in predominantly self-pollinated species. In : Baker H.G. and Stebbins G.L. (eds), Proc. First International Union of Biological Sciences Symp. Academic Press, New York. 49– 75.

- Allard, R.W. & Adams J. (1969). Population studies in predominantly self-pollinating species. XIII. Intergenotypic competition and population structure in barley and wheat. *The American Naturalist*. 103 (934) : 621-645
- Allen, O. N. and Allen, E.K. (1981). *The leguminosae*, Macmillon. C.O, London.
- Angulo, M.D. and Sanchez de Rivera A. M. (1977). Comparative chromosomal study of Spanish ecotypes and Australian cultivars of *Trifolium subterraneum* L. *Cytologia*. 42 : 473-482.
- Angulo, M.D. and Sanchez de Rivera A.M. (1983). Karyological studies on Spanish taxa of *Trifolium subterraneum* L. *Cytologia*. 48 : 305-312.
- Angulo, M.D. & Sanchez de Rivera A.M. (1975). Studies on *Trifolium subterraneum* ecotypes. *Cytologia*. 40 : 415-423.
- Arano, H. and Saito, H. (1980). Cytological studies in family Umbelliferae.V. Karyotypes of seven species in subtribe Seselinae. La. *Kromosomo*. II. (17) : 471-480.
- Arraouadi, S., Badri, M., Huguet T., Aouani, M.E., (2006). Caractérisation phénotypique des populations naturelles de la légumineuse modèle *Medicago truncatula* (Fabaceae) issues du sud Tunisien. In : Diversité des Fabacées fourragères et de leurs symbiotes. 99-103.
- Arslan, E., Ertuğrul, K., Tugay, O., Dural, H. (2012). Karyological studies of the genus *Onobrychis* Mill. and the related genera *Hedysarum* L. and *Sartoria* Boiss. & Heldr. (Fabaceae, Hedysareae) from Turkey. *Caryologia*. 65 (1) :11-17.
- Asci, O. (2011). Biodiversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) collected from Turkey. I : Morpho-agronomic properties. *African Journal of Biotechnology*. 10 : 14073-14079.
- Ates, S., Brown H.E., Lucas R.J., Smith M.C., Edwards R. (2006). Effect of ewe stocking rate in spring on subterranean clover persistence and lamb liveweight gain. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*. 68 : 95-99.
- Ates, S. (2009). Grazing management of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in South Island (New Zealand). PhD. Thesis, Lincoln University, New Zealand. Available at : <https://researcharchive.lincoln.ac.nz/handle/10182/1338>.
- AxioVision. (1999- 2009). By Carl Zeiss. Release 4.8.1.
- Azizi, N., Amirouche, R., Amirouche, N. (2016). Karyological investigations and new chromosome number reports in *Bellevalia* Lapeyrouse, 1808 and *Muscari* Miller 1758 (Asparagaceae) from Algeria. *Comparative Cytogenetics*.10 (1) : 171-187.
- Baaziz, K., Benamara-Bellagha, M., Pustahija, F., Brown, C.S., Siljak-Yakovlev S., Khalfallah N. (2014). First karyotype analysis, physical rDNA mapping and genome size assessment in four North African *Astragalus* taxa (Fabaceae). *Turkish Journal of Botany*. 38 : 1248-1258.
- Bacchetta, G., Brullo, S., Velari, T.C., Chiappella, L.F., Kosovel, V. (2012). Analysis of the *Genista ephedroides* group (Fabaceae) based on karyological, molecular and morphological data. *Caryologia : International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*. 65(1) :47-61.
- Baik, N., Maamri, F., Bandou, H. (2017). Karyological study and meiotic analysis of four species of *Aegilops* (Poaceae) in Algeria. *Caryologia : International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*.70 (4) : 324-337.
- Baresel, J.P., Nichols P., Charrois, A., Schmidhalter U. (2018). Adaptation of ecotypes and commercial varieties of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) to German environmental conditions and its suitability as living mulch. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 65 : 2057- 2068.
- Batke, C. (1994). La production fourragère sur des sites montagneux du Rif au Nord du Maroc. *ALWATANIA*. 87 : 213-226.
- Battandier, J.A., Trabut, L. (1884). Flore de l'Algérie et catalogue des plantes d'Algérie. Alger : Adolphe Jourdan libraire-éditeur. Alger.

- Ben Youssef, S., Sai Kachout, S., Ben Salem, M. (2019). Recueil des obtentions fourragères et pastorales de l'INRAT. Tunis, Tunisia : National Agricultural Research Institute of Tunisia (INRAT).
- Benhizia, H., Benhizia, Y., Ghernoub, L., Siljak-Yakovlev, S., Khalfallah, N. (2013). Meiotic behaviour and karyotype features of endangered endemic fodder species *Hedysarum perrauderianum* (Fabaceae) in some populations from Algeria. *Caryologia : International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*. 66 (3) :195-204.
- Bennani, K., Thami Alami, I., Al Faïz, C. (2010). Évaluation morphologique et agronomique de soixante populations marocaines des genres *Trifolium* et *Lotus*. *Fourrages*. 204 : 239-245.
- Bennetts, H.W., Underwood, E.J., Shier F.L. (1946). A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Australian Veterinary Journal*. 22 : 2–12. doi :10.1111/j.1751-0813.1946.tb15473.x.
- Bertoni, G., Masson, P. (1996). "Essai d'enherbement d'un vignoble méridional à base de trèfle souterrain : synthèse de six années d'expérimentation", *XI Kolloquium Begrünung im Weinbau - Internationaler Arbeitskreis Begrünung im Weinbau*, Kaltern- Sud Tyrol, Italie. 28-31 août 1996.
- Bleier, H. (1925b). Chromosomenzahlen und Kern volumina in der Gattung *Trifolium*. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*. 43(5) : 236-238.
- Boissier, E. (1872-1873). *Flora Orientalis : sive, Enumeratio plantarum in Oriente a Graecia et Aegypto ad Indiae fines hucusque observatarum Basileae* : H. Georg, Geneve & Basileae.
- Bolland, M.D.A. (1987). Persistence of seed and a laboratory assessment of seed softening of five subterranean clover cultivars. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science*. 53 : 102–105.
- Bolland, M.D.A, Collins, W.J. (1986). Effect of burr burial on seed production of *Trifolium subterraneum* subsp. *brachycalycinum* and other annual legumes. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 26 : 59–64. doi :10.1071/EA9860059.
- Botineau, M. (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Lavoisier. 1403 p.
- Bouazza, L. & Abdelguerfi, A. (1995). Expérience algérienne en matière de production de semences de medics et de trèfle souterrain. Systèmes sylvopastoraux. Pour un environnement, une agriculture et une économie durables. Zaragoza : CIHEAM. 71-74 (Cahiers Options Méditerranéennes ; n. 12).
- Boubetra, K., Amirouche, N., Amirouche, R. (2017). Comparative morphological and cytogenetic study of five *Asparagus* (Asparagaceae) species from Algeria including the endemic *A. altissimus* Munby. *Turkish Journal of Botany*. 41 : 588-599.
- Bougrine, H., Mebarkia, A., Bechkri, S. (2022). Genetic Diversity Associated with Eco-geographical Parameters, Morphological Characteristics and Soil Analyzes of Common Vetch (*Vicia sativa* L.) in Algeria. *Agricultural Science Digest*. 42 (3) : 317-321.
- Bouziane, Z., Issolah R and Tahar A. (2019). Analysis of the chromosome variation within some natural populations of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L., Fabaceae) in Algeria. *Caryologia : International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*. 72 (4) : 93-104.
- Braden, A.W.H., Hart, N.K., Lamberton, J.A., (1967). The oestrogenic activity and metabolism of certain isoflavones in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 18 : 335–348. doi :10.1071/AR9670355
- Brink, M. and Belay, G.E. (2006). *Plant resources of tropical Africa : Conclusions and recommendations based on PROTA 1 ; Cereals and pulses*. Leiden : Backhuys.
- Britten, E. (1963). Chromosome number in the genus *Trifolium*. *Cytologia*. 28 : 428-449.

- Brock, R.D. (1953). Species formation in *Trifolium subterraneum*. *Nature*. 171 : 939. doi :10.1038/171939a0. PMID : 13054785.
- Brown, H.E., Moot, D.J., Lucas, R.J., Smith, M. (2006). Sub clover, cocksfoot and lucerne combineto improve dryland stock production. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*. 68 :109–115.
- Bullitta, S., Floris, R., Hayward, M., Loi, D., Porqueddu, A., Veronesi, F. (1994). Morphological and biochemical variation on Sardinian populations of *Medicago polymorpha* L. suitable for rainfed Mediterranean conditions. *Euphytica*. 77 : 263–268.
- Campiglia, E., Mancinelli, R., Radicetti, E., Baresel, J.P. (2014). Evaluating spatial arrangement for durum wheat (*Triticum durum* Desf.) and subclover (*Trifolium subterraneum* L.) intercropping systems. *Field Crops Research*. 169 : 49–57.
- Caporali, F., Campiglia, E., Mancinelli, R., Paolini, R. (2004). Maize performances as influenced by winter crop green manuring. *Italian Journal of Agronomy*. 8(1) : 37–45.
- Carleton, A. and Cooper, C.S. (1972). Seed size effects upon seedling vigour of three forage species. *Australian Journal of Crop Sciences*. 12 : 183–186.
- Chakroun, M. and Zouaghi, M. (2004). Conservation et valorisation des ressources génétiques fourragères et pastorales du Nord Tunisien. *PGINA*. 123 : 46–51.
- Chatelain, C., Medjahdi, B., Benhouhou, S. (2018). eFlore du Maghreb, une flore électronique basée sur la Nouvelle flore d'Algérie de P. Quézel et S. Santa. *Ecol. Medi. Tome 44* (2) (1926-2015). pp. 131-136. Flore du Maghreb (<https://www.ville-ge.ch/cjb/flore/html/index.html>).
- Chebouti, A., Meziani, N., Bessedik, F., Laib, M. and Amrani, S. (2019). Variation in morphological traits and yield evaluation among Natural Populations of *Medicago truncatula* and *Medicago laciniata*. *Asian Journal of Biological Sciences*. 12 : 596-603.
- Clark, A. (ed). (2007). Managing cover crops profitably. Sustainable Agriculture Network, Beltsville.
- Cocks, P.S., Bennett, S.J. (1999). Introduction : Role of pasture and forage legumes in Mediterranean farming systems. In Bennet, S.J., Cocks, P.S. (eds) Genetic Resources of Mediterranean Pasture and Forage Legumes. *Current Plant Sciences and Biotechnology in Agriculture*. Vol 33. Springer, Dordrecht. [http://doi.org/10.1007/978-94-011-4776-6\\_1](http://doi.org/10.1007/978-94-011-4776-6_1).
- Cocks, P.S., Craig, A.D., Kenyon, R.V. (1982). Evolution of subterranean clover in South Australia. II. Change in genetic composition of a mixed population after 19 years grazing on a commercial Farm. *Australian Journal of Agricultural Research*. 33 : 679–695.
- Cocks, P.S. (1992). Evolution in sown populations of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in South Australien Crop Pasture Sciences. 43 : 1583–1595.
- Cocks, P.S., Craig, A.D. and Kenyon, R.V. (1982). Evolution of subterranean clover in South Australia. II. Change in genetic composition of a mixed population after 19 years grazing on a commercial Farm. *Australian Journal of Agricultural Research*. 33 : 679–695.
- Colebrook, W.F., Black, J.L., Purser, D.B., Collins, W.J., Rossiter, R.C. (1990). Factors affecting diet selection by sheep. V. Observed and predicted ranking for six cultivars of subterranean clover. *Australian Journal of Agricultural Research*. 41 : 957–967. doi :10.1071/AR9900957.
- Collins, W.J., Cox, R.I. (1984). Oestrogenic activity in forage legumes. In 'Forage legumes for energy-efficient animal production. Proceedings of a Trilateral Workshop'. Palmerston North, New Zealand. (Eds RF Barnes, PR Ball, RW Brougham, GC Mearten, DJ Minson, 268–276) (USDA-ARS : Springfield VA, USA).
- Collins, W.J., Francis, C.M. and Quinlivan, B.J., (1976). The interrelation of burr burial, seed yield and dormancy in strains of subterranean clover. *Australian Journal of Agricultural Research*. 27 : 787-797.

- Contandriopoulos, J. (1978). Contribution à l'étude cytotoxinomique des *Sideritis* section *Empedoclea* (Labiatae) : Cytotaxonomical Studies in *Sideritis* sect. *Empedoclea*. *Plant Systematics and Evolution*. 129 (4) : 277-289.
- Conterato, I.F., Schifino-Wittmann, M.T., Dall'Agnol, M. (2010). Seed dimorphism, chromosome number and karyotype of the amphicarpic species *Trifolium argentinense* Speg. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 57 : 727–731.
- Costello, T., Costello, A. (2003). Subterranean clover in North Canterbury sheep pastures. *Legumes for Dryland Pastures : Grassland Research and Practice New Zealand Series*. 11 : 189-192.
- Coulot, P. and Rabaute, P. (2013). Monographie des Leguminosae de France. Tome 3. Tribù des *Trifoliea*– Societé Botatnique. Centre Ouest, 129–424.
- Cox, R.I., Braden, A.W. (1974). The metabolism and physiological effects of phyto-oestrogens in livestock. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 10 : 122–129.
- Dagnélie, P. (1986). Analyse statistique à plusieurs variables. Gembloux, Pesses agronomiques 362 p.
- Dagnélie, P. (2006). Statistique théorique et appliquée. Tome 2 : Inférences à une et à deux dimensions. Bruxelles-Université DE BOECK et LARCIER, 659 p.
- Darlington, C.D., Janaki Ammal, E.K. (1945). Chromosome Atlas of cultivated plants. Allen and Unwin Ltd., London.
- Darlington, C.D. and Wylie, A.P. (1945). Chromosome Atlas for flowering plants, George Allen and Unwin Ltd., London.
- Davies, L.H. (1987). Limitations to livestock production associated with phytoestrogens and bloat. *Temperate Pastures : Their Production. Use and Management*, J. L. Wheeler, C. J. Pearson, G. E. Roberts. Australian Wool Corporation. Australia. 446-456.
- Davies, L.H. Rossiter, R.C., Maller, R. (1970). The effects of different cultivars of subterranean clover (*T. subterraneum* L.) on sheep reproduction in the south-west of Western Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*. 21 : 359–369. doi :10.1071/AR9700359.
- De Vega, J.J., Ayling, S., Hegarty, M., Kudrna, D., Goicoechea, J.L., Ergon, Å. Rognli, O.A., Jones, C., Swain, M., Geurts, R., et al. (2015). Red clover (*Trifolium pratense* L.) draft genome provides a platform for trait improvement. *Scientific Reports*. 5 :17394.
- Dear, B.S., Sandral, G.A. (1997). Subterranean clover in NSW—identification and use. New South Wales Agriculture, Agfact P2.5.16, Sydney. *Deutsch Botanischen Gesellschaft*. 43(5) : 236-238.
- Dluhošová, J., Ištvanek, J., Nedělník, J., Repková, J. (2018). Red clover (*Trifolium pratense*) and zigzag clover (*T. medium*) —A picture of genomic similarities and differences. *Frontiers in Plant Science*. 9 : 724.
- Dobignard, A. & Chatelain, C. (2012). Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord. Vol. 4 : Dicotyledoneae : Fabaceae –Nymphaeaceae. Conservatoire et jardins botaniques, Genève.
- Doyle, P.T., Grimm, M., Thompson, A.N. (1993). Grazing for pasture and sheep management in the annual pasture zone. *Pasture Management—Technology for the 21st Century*. 71-90.
- Dunlop, A.C. (1986). Preference ranking of some temperate pasture species by sheep in pens. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 16 : 191–194.
- Dunlop, A.C., Thorn, C.W. (1984). Animal production from grass free pastures. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 15 : 673.
- Dyer, A.F. (1963). The use of lactopropionic orcein in rapid squash methods for chromosome preparations. *Stain Technology*. 38 : 85–90.
- Ellison, N.W., Liston, A., Steiner, J.J., Williams, W.M., Taylor, N.L. (2006). Molecular phylogenetics of the clover genus *Trifolium* (Leguminosae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 39 :688-705.

- Enkhbat, G., Nichols P.G.H., Foster, K.J., Ryan, M.H., Inukai, Y., Erskine, W. (2021a). Diversity for morphological traits, flowering time and leaf isoflavone content among ecotypes of *Trifolium subterraneum* L. ssp. *yanninicum* and their relationships with site of origin. *Crop and Pasture Science*. 72 (12) : A-L.
- Eroğlu, H.E. (2015). Which chromosomes are subtelo-centric or acrocentric ? A new karyotype symmetry/asymmetry index. *Caryologia*. 68 : 239- 245.
- Eroğlu, H.E. and Per, S. (2016). Karyotype analysis of *Zygoribatula cognata* (Oudemans) (Acari : Oribatida : Oribatulidae). *Turkiye Entomoloji Dergisi*. 40 : 33-38.
- Eticha, F., Bekele, E., Belay, G., Börner, A. (2005). Phenotypic diversity in tetraploid wheats collected from Bale and Wello regions of Ethiopia. *Plant Genetic Resources*. 3 : 35–43.
- Euro+ Med. (2006). Enro+Med plant Base- the information resource for Euro -Mediterranean plant diversity. Published on the internet <http://ww2.bgbm.org/Euro Plus Med/> (Consulté 30 Avril 2019).
- Evans, P.M., Smith, F.A. (1999). Patterns of seed softening in subterranean clover in a cool, temperate environment. *Agronomy Journal*. 91 : 122-127. doi :10.2134/agronj1999.00021962009100010019x.
- Falisticco, E., Marconi G., Falcinelli M. (2013). Comparative cytogenetic study on *Trifolium subterraneum* (2n = 16) and *Trifolium israeliticum* (2n = 12). *Genome*. 56 (3) : 307–313.
- Falisticco, E., Piccirilli, M., Falcinelli, M. (1987). Cytotaxonomy of *Trifolium subterraneum* L. *Caryologia*. 40 : 123–130.
- Fennane, M., Ibn Tattou, M., Ouahya, A., El Oualidi, J., Mathez, J., (2007). Flore pratique du Maroc- plantes vasculaires. Vol. 2. *Angiospermae* (Leguminosae - Lentibulariaceae). *Inst. Scientifique. Rabat*. Maroc.
- Ferreyrolle, J. & Pierre P. (2016). Exploiter la diversité des légumineuses annuelles et pérennes pour des mélanges fourragers adaptés aux contraintes climatiques du sud de la France. *Fourrages*. 226 :103-110.
- Frame, J., Laidlaw, A.S. (2005). Prospects for temperate forage legumes. In ‘Grasslands : Developments, opportunities, perspectives’. (Eds SG Reynolds, J Frame) pp. 1–28. (FAO : Rome)
- Frame, J., Charlton, J.F.L., Laidlaw, A.S. (1998). Temperate Forage Legumes, Wallingford, UK CAB International. 327 p.
- Francis, C.M., Devit, A.C. (1969). The effect of waterlogging on the growth and isoflavone concentration of *Trifolium subterraneum* L. *Australian Journal of Agricultural Research*. 20 : 819–825. doi :10.1071/AR9690819.
- Francis, C.M., Humet, I.D. (1971). The relationship between lignification and flavonoid production in subterranean clover. *Australian Journal of Biological Sciences*. 24 : 1–6.
- Francis, C.M., Millington, A.J. (1965a). Varietal variation in the isoflavone content of subterranean clover : its estimation by a microtechnique. *Australian Journal of Agricultural Research*. 16 : 557–564. doi :10.1071/ AR9650557.
- Francis, C.M. and Millington, A.J. (1965). Isoflavone mutations in subterranean clover. 1. Their production, characterisation and inheritance. *Australian Journal of Agricultural Research*. 16 : 567–573.
- Fraser, J. (1991). Flowering in native white clover (*Trifolium repens*) populations and cultivars in Nova Scotia. *Canadian Journal of Plant Science* .71 : 1173-1177.
- Gaad, D., Issolah, R., Yahiaoui, A. (2012). Variation phénotypique et biométrique chez plusieurs populations Algériennes de *Sulla coronaria* (L.) Medik. *Recherche Agronomique, INRAA*. Algérie. 25 : 41-61.
- Genesis. (2021). Online platform where you can find information about Plant Genetic Resources for Food and Agriculture (PGRFA) conserved in gene banks worldwide. [Consulté 11 avril 2020 et 15 Février 2021].<https://www.genesys-pgr.org/>.

- Gepts, P., Beavis, W.D., Brummer, E.C., Shoemaker, R.C., Stalker, H.T., Weeden, N.F., Young, N.D. (2005). Legumes as a model plant family : Genomics for food and feed report of the cross legume advances through genomics conference. *Plant Physiology*. 137 : 1228–1235.
- Ghamkhar, K., Nichols, P.G.H., Erskine, W., Snowball, R., Murillo, M., Appels, R., Ryan, M.H., (2015). Hot spots and gaps in the world collection of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *Journal of Agricultural Science*. 153 : 1069– 1083.
- Gillett, J. M., Taylor, N.L. (2001). *The World of Clovers*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Gillingham, A.G., Sheath, G.W., Gray, M.H., Webby, R.W. (2003). Management and nitrogen fertiliser options for increased pasture productivity in dryland hill systems. *Legume for Dryland*. 11 : 43- 49.
- Gladstones, J.S. (1987). Measurement of high temperature seed dormancy in subterranean clover. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science*. 53 : 99-101.
- Gladstone, J.S., Collins, W. J. (1983). Subterranean clover as a naturalized plant in Australia. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science*. 49 : 191-202.
- Goldblatt, P., Johnson, D.E. (2003). Tropicos database : index to plant chromosome numbers, Missouri Botanical Garden, St.Louis, Missouri, USA. < <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/ipcn.html/>>.
- Goulão, L., Farinha, N., Tavares de Sousa, M.M., Martins, J.M.N. (1999). Caracterização morfológica me linhas de *Trifolium subterraneum* L. Com base em análise multivariada. *Past e Forrage*. 20 : 63-74.
- Graczyk, M., Andres, K., Kapkowska, E., Szwaczkowski, T. (2015). Pedigree analyses of the Zatorska goose population. *Czech Journal of Animal Science*. 60 : 513–520. <https://doi.org/10.17221/8560-CJAS>.
- Greuter, W., Burdet, H.M., Long, G (Eds). (1989). *Med-Checklist 4*. Conservatoire et Jardin Botaniques, Genève, 458 p.
- Griffiths, A.G., Moraga, R., Tausen, M., Gupta, V., Bilton, T.P., Campbell, M.A., Ashby, R., Nagy, I., Khan, A., Larking, A., et al. (2019). Breaking Free : The genomics of allopolyploidy-facilitated niche expansion in white clover. *Plant Cell*. 31 : 1466–1487.
- Guo, J., Teixeira, C.S.P., Barringer, J., Hampton J.G., Moot, D.J. (2022). Estimation of time to key phenological stages to guide management of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in New Zealand. *European journal of Agronomy*. 134 :126451.
- Gustavsson, A.M. (2011). A developmental scale for perennial forage grasses based on the decimalcode framework. *Grass and Forage Science*. 66 : 93–108.
- Haddioui, A. Zinelabidine, L.H. Nouri. M. et al. (2012). Genetic diversity of natural populations of *Medicago truncatula* in Morocco using isozyme polymorphism. *World Journal of Agricultural Sciences*. 8(1) :13–19.
- Hayward, M.D. & Breese, E.L. (1993). Population structure and variability. *In* : Hayward M.D., Bosemark N.O. and Romagosa I. (eds), *Plant breeding. Principles and Prospects*. Chapman & Hall, London. 16–29.
- Hejazi, H., Mohsen, S., Nasab, M.Z., (2010). Cytotaxonomy of some *Onobrychis* (Fabaceae) species and populations in Iran. *Caryologia*. 63(1) :18–31.
- Hennink, S. & Zeven C. (1991). The interpretation of Nei and Shannon-Weaver within population variation indices. *Euphytica*. 51 : 235-240.
- Heyn, C.C. (1981). *Trifolieae*. *In* : *Advances in Legume Systematics*. pp. 383–385. Part 1., Polhill, R. M., and Raven, P. H., Eds., Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Hezamzadeh Hijazi, S.M. and Ziaeinassab, M. (2006). Karyological study on some of species of *Trifolium* Genus in Iran. *Iranian Journal of Biology*. 19 (3) : 299 - 313.

- Hirakawa, H., Kaur, P., Shirasawa, K., Nichols, P., Nagano, S., Appels, R., Erskine, W., Isobe, S.N., (2016). Draft genome sequence of subterranean clover, a reference for genus *Trifolium*. *Scientific Reports*. 6 : 30358.
- Holland, M. (2012). Establishing a seed scheme for mixed varieties of subterranean clover. Final Report to the Rural Industries Research and Development Corporation, Canberra.
- Hossain, M. (1961). A revision of *Trifolium* in the Nearer East. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh*. 23 : 387-481.
- Howieson, J.G., O'Hara, G.W., Carr, S.J. (2000b). Changing roles for legumes in Mediterranean agriculture : developments from an Australian perspective. *Field Crops Research*. 65 : 107–122. doi :10.1016/S0378- 4290(99)00081-7.
- Hutton, E.M. and Peak, J.W. (1954). The Effect of autotetraploidy in five varieties of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *Journal of Agricultural Research*. 5 : 356-364.
- Isfan. (2010-2013). Index Synonymique et Bibliographique de la Flore de l'Afrique du Nord de Dobignard & Chatelain.  
([http://referentiels.telabotanica.org/referentiel/index.php?ref=isfan&module=FicheTaxon&num\\_nom=148183\\_](http://referentiels.telabotanica.org/referentiel/index.php?ref=isfan&module=FicheTaxon&num_nom=148183_), [Consulté, 24 Avril 2019].
- Issolah, R. (1997). Comportement, biométrie et caryologie de populations spontanées de treize espèces du genre *Trifolium* L. en Algérie. Thèse Magister. INA. El Harrach : 1-125.
- Issolah, R. (2006). Synthèse de travaux réalisés sur des populations algériennes de plusieurs espèces du genre *Trifolium* L. Workshop international « Diversité des Fabacées fourragères et de leurs symbiotes : Applications Biotechnologiques, Agronomiques et Environnementales ». Alger, (Algérie). 19-22 Février : 81-83.
- Issolah, R. (2018). Diversité et valorisation des ressources fourragères en Algérie : cas des genres *Trifolium* L. et *Hedysarum* L. (Fabaceae). Actes du congrès national sur les ressources phytogénétiques en Algérie : évaluation, valorisation et conservation. Ed. Issolah R. et Abbas K. INRAA (Alger, Algérie), les 22, 23 et 24 Octobre : 87- 104.
- Issolah, R. & Abdelguerfi, A. (1995). Étude comparative des graines, gousses et infrutescences des trèfles spontanés en Algérie. *Cahiers options méditerranéennes*. 12 : 13-16.
- Issolah, R. & Abdelguerfi, A. (1999 a). Variability within 31 spontaneous populations of *Trifolium scabrum* L. nature of relations with factors of the site of origin. *Cahiers options méditerranéennes*, 39 : 123-127.
- Issolah, R. & Abdelguerfi, A. (1999 b). Chromosome numbers within some spontaneous populations of *Trifolium* species in Algeria. *Caryologia*. 52 : 151-154.
- Issolah, R. & Abdelguerfi, A. (2002). Étude morphologique et caryologique de quelques populations spontanées de l'espèce *Trifolium resupinatum* L. en Algérie. *Recherche Agronomique*, INRAA. Algérie. 11 : 17-25.
- Issolah, R. & Abdelguerfi, A. (2003). Morphological Variability within four Algerian populations of the species *Trifolium spumosum* L. In : Biodiversity and Genetic Resources as the bases for future breeding. Prague (Czech), 1st – 4th September 2003. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 39 (Special Issue) : 205-208.
- Issolah, R. & Abdelguerfi, A. (2004). Variabilité morphologique chez plusieurs trèfles spontanés en Algérie. Actes de la 11ème réunion du sous-réseau « Ressources fourragères Méditerranéennes » du réseau coopératif interrégional FAO-CIHEAM de Recherche et développement sur les pâturages et les cultures fourragères. Djerba (Tunisie). *Cahiers Options Méditerranéennes*. 62 : 81-84.
- Issolah, R. & Khalfallah N. (2007). Analysis of the morpho-physiological variation within some Algerian populations of Sulla (*Hedysarum coronarium* L. ; Fabaceae). *Journal of Biological Sciences*. 7 (7) : 1082-1091.

- Issolah, R., Benhizia, H., Khalfallah, N. (2006). Karyotype Variation within Some Natural Populations of Sulla (*Hedysarum coronarium* L., Fabaceae) in Algeria. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53 (8) : 1653-1664.
- Issolah, R., Bouazza, L., Tahar, A., Terki, N., Dehiles, I., Mansour, B., Nagoudi, T. (2015). Caractérisation écologique de l'habitat naturel du trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum* L., Fabaceae) dans le Nord- Est de l'Algérie. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)*. 70 : 182-193.
- Issolah, R., Tahar, A., Alane, F., Sadi, S., Adjabi, M., Chellig-Siziani, Y., Yahiatene, S. & Lebied, M. (2014). Analysis of the growth and the chemical composition within some Algerian populations of Sulla. *Journal of Biological Sciences*. 14 : 220-225.
- Issolah, R., Tahar, A., Derbal, N., Zidoun, F., Ait Meziane, M.Z., Oussadi, A., Dehiles, I., Bradai, R., Ailane, M., Terki, N., Aziez, F., Zouahra, A. & Djellal, L. (2012). Caractérisation écologique de l'habitat naturel du Sulla (*Fabaceae*) dans le Nord-Est de l'Algérie. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)*. 67 : 295-304.
- Issolah, R., Tahar, A., Sadi, S., Adjebi, M., Alane, F., Chelling-Siziani, Y., Lebied, M. (2016). Analysis of the behaviour and the chemical composition within populations of *Trifolium subterraneum* L. *Journal of Biological Sciences*. 16 : 148-154.
- Issolah, R., Sebkhil, Z. and Bouziane Z. (2022). Ecological characterization of natural habitats of some *Vicia* L. species (*Fabaceae*) in northeastern Algeria. *Pakistan Journal of Botany*. 54 (6). doi : <http://dx.doi.org/10.30848/PJB2022-6> (23).
- Issolah, R., Yahiaoui, S., Yassa, S., Beloued, A., Kerkouche, R., Makhlouf, A., Kherraz, R., Terki, N., Mansour, B., Hamdaoui, A. (2001). Comportement de vingt populations spontanées de sulla (*Hedysarum coronarium* L.) en Algérie. In : Agriculture de Montagne. INRAA. Bejaia, Algérie, 11-13 Avril 2001 : 209-222.
- Ištvánek, J., Jaroš, M., Křenek, A., Repková, J. (2014). Genome assembly and annotation for red clover (*Trifolium pratense*; Fabaceae). *American Journal of Botany*. 101 : 327–337.
- Jahier, J., Chevre, A.M., Delourme, R., Eber, F., Tangay, AM. (1992). Techniques de cytogénétique végétale. INRA. Paris, pp. 1-184.
- Jaritz, G. (1987). General principles in the evaluation of pastures and forage legumes. Dans ICARDA workshop on legume genetic resources for semi-arid temperate environments. ICARDA, 1991 : 237-257.
- Katni, S., Sdouga, D., Hakim, L., Trifi-Farah, N., Marghali, S. (2020). New morphotypes structuring *Medicago minima* (L.) Bartal. populations in various climate environments. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 67: 1867- 1883. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00946-z>.
- Kaur, P., Bayer, P.E., Milec, Z., Vrána, J., Yuan, Y., Appels, R., Edwards, D., Batley, J., Nichols, P., Erskine, W., et al. (2017). An advanced reference genome of *Trifolium subterraneum* L. reveals genes related to agronomic performance. *Plant Biotechnology Journal*. 15 :1034–1046.
- Kemp, P.D., Matthew, C., White, J.G.H. (2004). Pasture species and cultivars. In J. G. H. White, Hodgson, J (Ed.), *New Zealand pasture and crop science*. 83-99. Melbourne : Oxford University Press.
- Kendall, W.A. & Stringer, W. (1985). Physiological aspects of clover. In N. L. Taylor (Ed.), *Clover Science and Technology*, 111-146. Madison, Wisconsin, USA : *American Society of Agronomy and Academy Press*.
- Kenny, P.T. (1984). The growth of weaner sheep on clover or grass pastures during summer in western Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 24 : 144–149.
- Khatoun, S., Ali, S.I. (2006). Chromosome numbers and polyploidy in the legumes of Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*. 38 : 935–945.

- Kiran, Y., Sahin, A., Turkoglu, I., Kursat, M., Emre, I. (2010). Karyology of seven *Trifolium* L. taxa growing in Turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 52 : 81-85.
- Kliphuis, E. (1962). Chromosome numbers of some annual *Trifolium* species, occurring in the Netherlands. *Acta Botanica Neerlandica*. 11 : 90-92.
- Kouame, C.N. and Quesenberry, K.H. (1993). Cluster analysis of a world collection of red clover germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 40 : 39-47.
- Langer, R.H.M. (1990). Pasture plants. In R. H. M. Langer (Ed.), *Pastures : their ecology and management*. 39-74. Oxford University Press, New York.
- Le Houérou, H.N. (2006). Les légumineuses fourragères dans la flore de la zone Isoclimatique méditerranéenne. Workshop international « Diversité des fabacées fourragères et de leurs symbiotes : Applications Biotechnologiques, Agronomiques et Environnementales ». Alger. 19- 22 Février : 15-20.
- Ledgard, S.F., Sprosen, M.S., Penno, J.W., Rajendram, G.S. (2001). Nitrogen fixation by white clover in pastures grazed by dairy cows: temporal variation and effects of nitrogen fertilization. *Plant Soil*. 229, 177-187.
- Lesins, K.A. & Lesins, I. (1979). Genus *Medicago* (Leguminosae). A Taxogenetic Study. The Hague, London.
- Levan, A., Freda, K., Sandberg, A.A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*. 52 : 201- 220.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B & Lock, M. (eds.) (2005). Legumes of the World. Richmond, U.K: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Lewis, GP., Schrire, B.D., Mackinder, B.A., Rico, L. & Clark, R. (2013). A linear sequence of legume genera set in a phylogenetic context : A tool for collections management and taxon sampling. *South African Journal of Botany*. 89 : 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.005>.
- Lilley, J.M., Bolger, T.P. Gifford RM. (2001). Productivity of *Trifolium subterraneum* and *Phalaris aquatica* under warmer, high CO<sub>2</sub> conditions. *New Phytologist*. 150 : 371-383.
- Loftus Hills, K. (1944b). Dormancy and hardseededness in *T. subterraneum*. 4. Variation between varieties. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research*. 17 : 242-250.
- LPWG (Legume Phylogeny Working Group). (2013a). Legume phylogeny and classification in the 21st century : Progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon*. 62 : 217- 248. <https://doi.org/10.12705/622.8>.
- LPWG (The Legume Phylogeny Working Group). (2017). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*. 66 (1) : 44-57. <https://doi.org/10.12705/661.3>.
- Lucas, R.J., Smith, M.C., Jarvis, P., Mills, A., Moot, D.J. ( 2005). Nitrogen fixation by subterranean and white clovers in dryland cocks foot pastures. *Proceeding of New Zeland Grassland Association*. 72 :141-146.
- Lucas, R., Moot, D.J., Teixeira, C., Olykan, S., Woolset, G. (2016). Guide for subterranean clover identification and use in New Zealand. 1st Edition. Dryland Pastures Research Team Lincoln University.
- Lukjanová, E., Řepková, J. (2021). Chromosome and Genome Diversity in the Genus *Trifolium* (Fabaceae). *Plants* (Basel). 10 (11) : 2518. doi : 10.3390/plants10112518.
- Mackay, J.H.E. (1981). Register of Australian herbage plant cultivars. 1981. Supplement to the 1972 edition. Common wealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO). Melbourne, AU., 137 p.

- Marshall, T. (1974). Effect of legume species on ewe fertility in south Western Australia. III. Esperance. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 10, 138.
- Marshall, D.R. and Broue, P. (1973). Outcrossing rates in Australian populations of subterranean clover. *Australian Journal of Agricultural Research*. 24 : 863–867.
- Masson, P., Collins, W., Gladstones, J.S, Alquier, G. (1996). Caractérisation des populations françaises de trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum L.*). *Acta Botanica Gallica*. 143 (4/5) : 281-289.
- Masson, P. (1997). Des prairies de très longue durée avec des espèces annuelles à ressemis spontané : les pâtures à trèfle souterrain. *Fourrages*. 153 : 139-146.
- Maureira-Butler, I.J., Pfeil, B.E., Muangprom, A., Osborn, T.C., Doyle, J.J. (2008). The reticulate history of *Medicago* (Fabaceae). *Systematic Biology*. 57 : 466–482.
- McGuire, W. S. (1985). Subterranean clover. In *Clover Science and Technology* (Ed. N. L. Taylor), 515–534. Madison, WI : American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America.
- McWilliam, J.R., Clements, R.J., Dowling, P.M. (1970). Some factors influencing the germination and early seedling development of pasture plants. *Australian Journal of Agricultural Research*. 21 :19-32.
- Mebarkia, A. (2019). Les cultures fourragères En Algérie : Les principales contraintes et l'importance des cultures annuelles et pérennes. 3<sup>ème</sup> séminaire international sur les Pâturages, les parcours et l'alimentation des animaux dans le Bassin Méditerranéen. Le 09 et 10 Avril.2019. El Tarf. Algérie.
- Medoukali, I., Bellil, I., Khelifi, D. (2015). Evaluation of Genetic Variability in Algerian Clover (*Trifolium L.*) Based on Morphological and Isozyme markers. *Czech Journal Genetics and Plant Breeding*. 51(2) : 50–61.
- Millington, A.J, Francis, C.M, McKeown, N.R. (1964). Wether bioassay of annual pasture legumes. II. The oestrogenic activity of nine strains of *Trifolium subterraneum L.* *Australian Journal of Agricultural Research*. 15 : 527–536. doi :10.1071/AR9640527.
- Mills, A. Lucas, R.J. & Moot, D.J. (2015). Max Clover grazing experiment : I. Annual yields, botanical composition and growth rates of six dryland pastures over nine years. *Grass and Forage Science*. 70 : 557–570. <https://doi.org/10.1111/gfs.12132>.
- Minitab Inc (2003). MINITAB statistical software, release 16.1.1 for Windows, State College, Pennsylvania.
- Monks, D.P., Sadat Asilan, K., Moot, D.J. (2009). Cardinal temperatures and thermal time requirements for germination of annual and perennial temperate pasture species. *Agronomy New Zealand*. 39 : 95–109.
- Moot, D.J. (2012). An overview of dryland legume research in New Zealand. *Crop and Pasture Science*. 726-733.
- Morley, F.H.W., Francis, C.M. (1968). Varietal and environmental variations in isoflavone concentrations in subterranean clover (*Trifolium subterraneum L.*). *Australian Journal of Agricultural Research*. 19 : 15–26. doi :10.1071/AR9680015.
- Muñoz-Rodríguez, A.F. (1995). *Trifolium* sect. *Paramesus* and Sect. *Trifolium* in the Iberian Peninsula II. " estudio cariológico". *Studia Botanica*. 14 :103–128.
- Nadeem, M.A., Nawaz, M.A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yildiz, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N.O., Zkan, H. 2018. DNA molecular markers in plant breeding : status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnol Equipment*. 32(2) : 261–285.

- Nichols, P.G.H. (2004). Evolution in sown mixtures of Subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). PhD. Thesis, The University of Adelaide, Australia. 296 p.
- Nichols, P. (2017). Subterranean clover. Western Australia Dept of primary industries and regional development, agriculture and food. <https://www.agric.wa.gov.au/pasture-species/subterranean-clover?page=0%2C2> (Consulté le 20 juillet 2022).
- Nichols, P.G.H., Cocks, P. S., Francis, C.M. (2009a). Evolution over 16 years in a bulk-hybrid population of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) at two contrasting sites in South-Western Australia. *Euphytica*. 169 : 31–48. doi :10.1007/s10681-009-9906-7.
- Nichols, P.G. H., Collins, W.J. & Barbetti, M. J. (1996). Registered cultivars of subterranean clover-their characteristics, origin and identification, Bulletin No. 4327. South Perth, Western Australia: Agriculture Western Australia; Available at: <http://esearchlibrary.agric.wa.gov.au/cgi/viewcontent.cgi?article=1231&content=bulletins>.
- Nichols, P. and Dear, B. (2007b). Factsheet : subterranean/sub clover (ssp. *subterraneum*). Pastures Australia.[http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/pastures/Html/SubterraneanSub\\_clover\\_\(ssp.\\_subterraneum\).htm](http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/pastures/Html/SubterraneanSub_clover_(ssp._subterraneum).htm).
- Nichols, P.G.H., Foster, K.J., Piano, E., Pecetti, L., Kaur, P., Ghamkhar, K. and Collins, W. J. (2013). Genetic improvement of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). 1. Germplasm, traits and future prospects. *Crop and Pasture Science*. 64 : 312–346.
- Nichols, P., Jones, R., Ridsdill-Smith, T., Barbetti, M. (2014). Genetic improvement of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). 2. Breeding for disease and pest resistance. *Crop Pasture Science*. 65 : 1207–1229.
- Nichols, P.G.H., Jones, R.A.C., Ridsdill-Smith, T.J., Barbetti, M.J. (2014). Genetic improvement of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). 2. Breeding for disease and pest resistance. *Crop and Pasture Science*. 65 : 1207–1229.
- Nichols, P.G.H., Revell, C.K., Humphries, A.W., Howie, J.H., Hall, E.J., Sandral, G.A., Ghamkhar, K., Harris, C.A. (2012). Temperate pasture legumes in Australia— their history, current use and future prospects. *Crop and Pasture Science*. 63 : 691–725. doi :10.1071/CP12194.
- Norman, H.C., Cocks, P.S., Galwey, N.W. (2005). Annual clovers (*Trifolium spp.*) have different reproductive strategies to achieve persistence in Mediterranean-type climates. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56 : 33-43.
- Norman, H.C., Smith, F.P., Nichols, P.G.H., Si, P., Galwey, N.W. (2006). Variation in seed softening patterns and impact of seed production environment on hardseededness in early maturing genotypes of subterranean clover. *Australian Journal of Agricultural Research*. 57 : 65–74. doi : 10.1071/AR05116.
- Olea, L. and San Miguel-Ayanz, A. 2006. Sustainable grassland productivity : Proceedings of the 21st General Meeting of the European Grassland Federation, Badajoz, Spain, 3-6 April, 2006.
- Oregon State U. (2015). Forage Information. Oregon State University Department of Crop and Soil Science. <http://forages.oregonstate.edu> . [accessed 25 Feb 2016].
- Palmer, R.G., Perez, P.T., Ortiz-Perez, E., Maalouf, F., Suso, M.J. (2009). The role of crop-pollinator relationships in breeding for pollinator-friendly legumes : From a breeding perspective. *Euphytica*, 170 : 35–52.
- Palm, R. (1998). L'analyse en composantes principales : Principes et applications. *Notes stat. Inform.* (Gembloux) 98/2, 33 p.
- Panitsa, M., Trigas, P., Iatrou, G., Sfenthourakis, S. (2010). Factors effecting plant species richness and endemism on land-bridge islands—An example from the East Aegean archipelago. *Acta Oecologic*. 36 : 431–437.

- Pecetti, L. & Piano, E. (1994). Observations on the rapidity of seed and burr growth in subterranean clover. *Journal of Genetics and Breeding*. 48 : 225–228.
- Pecetti, L. & Piano, E. (1998). Leaf size variation in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L. sensu lato). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 45 : 161–165.
- Pecetti, L. & Piano, E. (2002). Variation of morphological and adaptive traits in subterranean clover populations from Sardinia (Italy). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 49 : 189–197.
- Pecetti, L., Tava, A., Pagnotta, M.A., Russi, L. (2007). Variation in forage quality and chemical composition among Italian accessions of *Bituminaria bituminosa* (L.) Stirt. In : *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87 : 985–991.
- Piano, E. (1984). Preliminary observations on the structure and variability of Sardinia populations of subterranean clover. *Genetica Agraria*. 38 : 75–90.
- Piano, E. and Pecetti, L. (1996). Selecting subterranean clover varieties for Mediterranean environments in Italy. In 'Grassland and land use systems. Proceedings of the 16th EGF Meeting'. Gorizia, Italy. (Eds G Parente, J Frame, S Orsi), 283–286. (European Grasslands Federation : Zurich).
- Piano, E. and Pecetti, L. (2010). Minor legume species. In 'Handbook of Plant Breeding. Vol. 5. Fodder crops and amenity grasses'. (Eds B Boller, UK Posselt, F Veronesi), 477–500. (Springer : New York).
- Piano, E., Sardara, M., Pusceddu, S. (1982). Observations on the distribution and ecology of subterranean clover and other annual legumes in Sardinia. *Rivista di Agronomia*. 16 : 273–283.
- Piano, E., Spanu, F., Pecetti, L. (1993). Structure and variation of subterranean clover populations from Sicily, Italy. *Euphytica*. 68 : 43–51.
- Piemontese S., Pazzi, G., Argenti, G., Pardini, A., Talamucci, P. (1995). "Alcuni dati sull'impiego di leguminose annuali autoriseminanti nella protezione dei territori declivi a elevata intensità viticola", *Rivista di Agronomia*. 29 (3) : 273–280.
- Piluzza, G., Pecetti, L., Bullitta, S., Piano, E. (2005). Discrimination among subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L. complex) genotypes using RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 52 : 193–199.
- Polhill, R.M., Raven, P.H. and Stirto, C.H. (1981). Evolution and Systematics of the Leguminosae. In : Polhill, R.M. and Raven, P.H., Eds., *Advances in Legume Systematics, Part I*, Royal Botanic Garden, Kew, 1–26.
- Porqueddu, C., Ates, S., Louhaichi, M., Kyriazopoulos, A., Moreno, G., del Pozo, A., Ovalle, C., Ewing, M., Nichols, P. (2016). Grasslands in 'Old World' and 'New World' Mediterranean climate zones : past trends, current status and future research priorities. *Grass Forage Science*. 71 : 1–35.
- Porqueddu, C., Ledda, L., Roggero, P.P. (2000). Role of forage legumes and constraints for forage legume seed production in Mediterranean Europe. *Méditerranéennes*. 45 : 453–460.
- Porqueddu, C. G. Parente and M. Elsaesser. (2003). *Potential of grasslands*. In : *Grassland Science In Europe*. 8 : 11–20.
- Presl, C.B. (1831). *Trifolium*. In : *Symbolae Botanicae*. Calve JG, Prague. pp. 44–50.
- Pritchard, A.J. (1969). Chromosome numbers in some species of *Trifolium*. *Australian Journal of Agricultural Research*. 20 : 883–887.
- Puckridge, D.W. French, R. J. (1983). The annual legume pasture in cereal-ley farming systems of southern Australia : a review *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 9 : 229–267. doi : 10.1016/0167-8809(83)90100-7.
- Quezel, P. Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Ed. CNRS, France.

- Quinlivan, B.J. Nicol, H.I. (1971). Embryo dormancy in subterranean clover seeds. I. Environmental control. *Australian Journal of Agricultural Research*. 22 : 599-606.
- Rakotonandrasana, M.A and Masson, P. (2000). Dynamique et lessivage de l'azote nitrique sous couvert de trèfle souterrain. *Fourrages*. 161 : 39-52.
- Romero Zarco, C. (1986). A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon*. 35 : 526- 530.
- Rossiter, R.C. (1959). The influence of maturity grading on total yield and seed production in strains of *Trifolium subterraneum* L. grown as single plants and in swards. *Australian Journal of Agricultural Research*. 10 : 305–321. doi :10.1071/AR9590305.
- Rossiter, R.C. (1966). The success or failure of strains of *Trifolium subterraneum* L. in a Mediterranean environment. *Australian Journal of Agricultural Research*. 17 : 425–446.
- Rossiter, R.C. (1974). The relative success of strains of *Trifolium subterraneum* L. in binary mixtures under field conditions. *Australian Journal of Agricultural Research*. 25 : 757–766. doi : 10.1071/AR9740757.
- Rossiter, R.C. & Collins, W.J. (1988a). Genetic diversity in old subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) populations in Western Australia. 1. Pastures sown initially to the Dwalganup strain. *Australian Journal of Agricultural Research*. 39 : 1051–1062.
- Rossiter, R.C. & Collins, W.J. (1988b). Genetic diversity in old subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) populations in Western Australia. 2. Pastures sown initially to the Mount Barker strain. *Australian Journal of Agricultural Research*. 39 : 1063–1074.
- Russi, L., Cocks, P.S and Roberts, E.H. (1992). Coat thickness and hard-seededness in some *Medicago* and *Trifolium* species. *Seed Science Research*. 2 : 243-249.
- Rutland, J.P. (1941). The menton catalogue. A list of chromosome numbers of British plants. Suppl. *New Phytologist*. 40 : 210.
- Sabudak, T. & Guler, N. (2009). *Trifolium* L. – A Review on its Phytochemical and Pharmacological Profile. *Phytother research*. 23 : 439–446.
- Salimpour, F., Sharifnia., Mostafavi, G., Hajrasoliha, S., Ukhneh, E., (2008). Chromosome counts and determination of ploidy levels in iranian species of *Trifolium*. *Chromosome Botany*. 3 : 53-63. doi : 10.3199/iscb.3.53.
- Saslis-Lagoudakis, C.H., Klitgård, B.B., Forest, F., Francis, L., Savolainen, V., Williamson, E.M. & Hawkins, JA. (2011). The Use of phylogeny to interpret cross-cultural patterns in plant use and guide medicinal plant discovery : An example from *Pterocarpus* (Leguminosae). *PLoS ONE*. 6(7) : e22275. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0022275>
- Schifino, M.T., Moreas-Fernandes, M.I.B. (1986). Cytological comparison of diploid and autotetraploid *Trifolium riograndense* Burkart (Leguminosae). *Revista Brasileira de Genetica*. IX (4) : 637–643.
- Scoppola. A., López Tirado, J., Manzano Gutiérrez, F., Magrini, S. (2018). The genus *Trifolium* (Fabaceae) in south Europe : a critical review on species richness and distribution. *Nordic Journal of Botany*. 36 : njb-01723. <https://doi.org/10.1111/njb.01723>.
- Senn, H. A. (1938). Chromosome number relationship in the *Leguminosae*. *Bibliographia Genetica*. 7 : 175-336.
- Shutt, D.A., Braden, A.W.H. (1968). The significance of equol in relation to the oestrogenic responses in sheep ingesting clover with a high formononetin content. *Australian Journal of Agricultural Research*. 19 : 545–553. doi :10.1071/AR9680545.
- Siljak-Yakovlev, S. (1996). La dysplöidie et l'évolution du caryotype. *Boccone*. 5 : 211–220.

- Siljak-Yakovlev, S., Godell, B., Zoldos, V., Vallès, J., Garnatje, T., Hidalgo, O. (2017). Evolutionary implications of heterochromatin and rDNA in chromosome number and genome size changes during dysploidy : A case study in *Reichardia* genus. *PLoS One*. 12(8) : e0182318. doi.org/ 10.1371/journal.Pone .0182318.
- Singh, R.J. (2018). Practical manual on plant cytogenetics. CRC Press, Boca Raton, Boca Raton, FL 33487-2742 © 2018 by Taylor & Francis Group, LLC, pp 1-347.
- Slattery, H.D. (1981). Physiological and genetic control of seed coat impermeability in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). PhD Thesis, University of Western Australia.
- Smetham, M.L. (2003a). A review of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) : Its ecology, and use as a pasture legume in Australasia. *Advances in Agronomy*. 79 :303–350. doi :10.1016/S0065-2113(02)79006-8.
- Smetham, M.L., Jack, D.W., Hammond, S.E.H. (1994). The influence of patterns of flowering of some subterranean clover accessions and cultivars on total seed set and autumn germination in a cool temperate environment with sporadic summer rain. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*. 56 : 127–131.
- Smith, G.R., Randel, R.D., Bradshaw, C. (1986). Influence of harvest date, cultivar and sample storage method on concentration of isoflavones in subterranean clover. *Crop Science*. 26 : 1013– 1016. doi :10.2135/ crops1986.0011183X002600050035x.
- Smykal, P., Coyne, C.J., Ambrose, M.J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M.W., Berger, J., Greene, S.L., Nelson, M.N., Besharat, N., Vymyslicky, T. (2015). Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 34 : 43-104. doi : 10.1080/07352689.2014.897904.
- Spanu, F., Tava, A., Pecetti, L., Piano E. (1993). Variability of oestrogenic isoflavone content in a collection of subterranean clover from Sicily. *Journal of Genetics and Breeding*. 47 : 27–34.
- Sprent, J.I. (2008). 60MA of legume nodulation. What's news ? What's changing ? *Journal of experimental botany*. 59(5) : 1081-1904.
- Sprent, J.I. (2009). Legume nodulation : A global perspective. West Sussex : Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781444316384>.
- Steele, K.P, & Wojciechowski, M.F. (2003). Phylogenetic analyses of tribes Trifolieae and Viciae, based on sequences of the plastid gene matK (Papilionoideae : Leguminosae). In : Klitgaard, B.B. and Bruneau, A. (eds.), *Advances in legume systematics, part 10, Higher level systematics*. 355-370. Richmond, U.K. : Royal Botanic Gardens, Kew.
- Sulas, L. (2005). The future role of forage legumes in Mediterranean climate areas. In *Grasslands : Developments, opportunities, perspectives*. (Eds SG Reynolds, J Frame) pp. 29–54 (FAO : Rome).
- Sultana, S., Foster, K., Lim, L.Y., Hammer, K., Locher, C.A. (2022). Review of the Phytochemistry and Bioactivity of Clover Honeys (*Trifolium* spp.). *Foods*. 11, 1901. <https://doi.org/10.3390/foods11131901>.
- Tan, B.H., Collins, W.J. (1987). Multi-allelic nature of the locus controlling leaf marking in subterranean clover. *Australian Journal of Agricultural Research*. 38 : 547–558.
- Tava, A., Pecio, L., Lo Scalzo, R., Stochmal, A. and Pecetti, L. (2019). Phenolic Content and Antioxidant Activity in *Trifolium* Germplasm from Different Environments. *Molecules*. 24, 298. doi :10.3390/molecules24020298.
- Taylor, G.B., Ewing, M.A. (1988). Effect of depth of burial on the longevity of hard seeds of subterranean clover and annual medics. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 28 : 77– 81. doi :10.1071/EA9880077.

- Taylor, G.B. (1970). The germinability of soft seed of a number of strains of subterranean clover. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 10, 293–297. doi:10.1071/EA9700293.
- Taylor, G.B. (2005). Hardseededness in Mediterranean annual legumes in Australia : a review. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56 : 645–661. doi:10.1071/AR04284.
- Taylor, N.L. (Editor). (1985). Clovers around the world. In : Clover science and technology. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisc. pp. 1–6.
- Taylor, N.L., Quesenberry, K.H., Anderson, M.K. ( 1979). Genetic system relationships in *Trifolium*. *Economic Botany*. 33 : 431-441.
- Taylor, G.B., Rossiter, R.C., Palmer, M.J. (1984). Long term patterns of seed softening and seedling establishment from single seed crops of subterranean clover. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 24 : 200–212. doi :10.1071/EA9840200.
- Teixeira, C.S.P. (2019). Phenological development and hardseededness of subterranean clover. Phd Thesis. Lincoln University. New Zeland. 243p.
- Teixeira, C.S.P., Hampton, J.G., Moot, D.J. (2019). Thermal time requirements for germination of four subterranean clover cultivars. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1–14. doi.org/10.1080/00288233.2019.1614074.
- Teixeira, C. S, P., Hampton, J.G. & Moot, D. J. (2020). Reproductive development in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) : A reanalysis of Oceania datasets. *European Journal of Agronomy*. 119 : 126123. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126123>.
- Teixeira CSP., Lucas RJ And Moot DJ., (2018). Seed yield and subsequent emergence pattern of subterranean clover cultivars in response to summer rain. *Journal of New Zealand Grasslands*. 80 : 91-96.
- Thomas, R.G. (2003). Comparative growth forms of dryland forage legumes. *Proceedings of New Zealand Grassland Association (Inc.)*. Symposium held at Lincoln University, 18-19 November, 2003/ editor D.J. Moot.
- Tucak, M., Cupic, T., Popovic, S., Stjepanovi, M., Gantner, R., Meglic, V. (2009). Agronomic evaluation and utilization of red clover (*Trifolium pratense* L.) germplasm. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 37 : 206–210.
- UPOV. (2001). Trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum*), principes directeurs pour la conduite de l'examen des caractères distinctifs, de l'homogénéité et de la stabilité, TG/170/3.
- Uslu, E. (2012). Karyology of nine *Trifolium* L. taxa from Turkey. *Caryologia*. 65(4) : 304–310.
- Uslu, E., Ertuğrul, G. D. & Babaç, M.T. (2013). Assessment of genetic diversity in naturally growing 29 *Trifolium* L. taxa from Bolu Province using RAPD and SSR markers. *Turkish Journal of Biology*. 37 (4) : 479-490. <https://doi.org/10.3906/biy-1212-27>.
- Van der Maesen, L.J.G. & Somaatmadja, S.E. (1992). Plant resources of South East Asia (PROSEA), no. 1, *Pulses*. Wageningen The Netherlands : Pudoc.
- Varis, E., Peltola, U., Kauppila, R. 1990. Seed yield and seed quality of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in growing conditions of Finland. *Journal of Agricultural Science in Finland*. 62 : 221- 226.
- Vasileva, V. & Enchev, S. (2018). Self-seeding of subterranean clover in degraded birdsfoot trefoil seed production stands, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 24 (Suppl. 2) :104-108.
- Vasileva, V. & Vasilev E. (2020). Agronomic characterization and the possibility for potential use of Subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in the forage production in Bulgaria. *Pakistan Journal of Botany*. 52(2) : 565-568.

- Venable, D.L. (1992). Size number trade-offs and the variation of seed size with plant resource status. *American Naturalist*. 140 : 287–304.
- Vizintin, L., Javornik, B. & Bohanec, B. (2006). Genetic characterization of selected 15 *Trifolium* species as revealed by nuclear DNA content and ITS rDNA region analysis, *Plant Science*. 170 : 859-866.
- Vozárová, R., Macková, E., Vlk, D3 & Řepková, J. (2021). Variation in Ribosomal DNA in the Genus *Trifolium* (Fabaceae) *Plants*. 10 (9) : 1771. <https://doi.org/10.3390/plants10091771>.
- Vymyslicky, T., Pelikan, J., Gottwaldova, P. & Nedelnik J. (2010). The Czech core collection of *Trifolium repens* L. In : Sustainable use of genetic diversity in forage and Turf Breeding. pp. 167–172. Huyghe, C., Ed., Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Vymyslicky, T., Smarda, P., Pelikan, J., Cholastova, T., Nedelnik, J., Moravcova, H., Pokorny, R., Soldanova, M. & Polakova M. (2012). Evaluation of the Czech core collection of *Trifolium pratense*, including morphological, molecular and phytopathological data. *African Journal of Biotechnology*. 11 : 3583–3595.
- Wallace, D.H., Baudoin, J.P., Beaver, J., Coyne, D.P., Halseth, D.E., Masaya, P.N., Munger, H.M., Myers, J.R., Silbernalgel, M., Yourstone, K.S., Zobel, R.W. (1993). Improving efficiency of breeding for higher crop yield. *Theoretical and Applied Genetics*. 86 (1) : 27–40.
- Weselxén, H. 1928. Chromosome number and morphology in *Trifolium*. University of California. Publ. *Agricultural Science*. 2 : 255-376.
- Xlstat, (2016). Statistical Software for *Microsoft Excel*. Version 02. 27444. Addinsoft. Inc., New York.
- Yahara, T., Javadi, F., Onoda, Y., Queiroz, L.P., Faith, D., Prado, D.E., Akasaka, M., Kadoya, T., Ishihama, F., Davies, S., Slik, J.W.F., Yi, T., Ma, K., Bin, C., Darnaedi, D., Pennington, R.T., Tuda, M., Shimada, M., Ito, M., Egan, A.N., Buerki, S., Raes, N., Kajita, T., Vatanparast, M., Mimura, M., Tachida, H., Iwasa, Y., Smith, G.F., Victor, J.E and Nkonki, T. (2013). Global legume diversity assessment: Concepts, key indicators, and strategies. *Taxon*. 62 : 249-266. <https://doi.org/10.12705/622.12>.
- Yates, J.J. (1957). Seed-setting in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) I. The importance of the microenvironment. *Australian Journal of Agricultural Research*. 8 : 433–443.
- Yates, J.J. & Brittan, N.H. (1952). Cytological studies of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *Australian Journal of Agricultural Research*. 3 : 300–304. doi : 10.1071/ AR9520300.
- Zatout, M. (1995). Contribution à l'étude de la répartition des espèces spontanées du genre *Trifolium* L. en Algérie. Thèse Magister. INA. Algérie. 137p.
- Zhang, X. & Evans, P.M. 2004. Grain yield production in relation to plant growth of wheat and canola following clover pastures in southern Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 44, 1003–1012. doi :10.1071/EA03064.
- Zirmi-Zembri, N. & Kadi S.A. (2019). Mode d'utilisation et valeur nutritive d'une ressource fourragère pastorale (*Hedysarum flexuosum*) En Kabylie. 3<sup>ème</sup> séminaire international sur les pâturages, les parcours et l'alimentation des Animaux dans le Bassin Méditerranéen. Le 09 et 10 Avril.2019. El Tarf. Algérie.
- Zohary, M. (1970). *Trifolium* L. In *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 3, Davis PH(ed.). University Press : Edinburgh. 384–448.
- Zohary, M. (1972). Origin and evolution in the genus *Trifolium*. *Botanic Notiser*. 125 : 501–511.
- Zohary, M. & Heller, D. (1984). The genus *Trifolium*. *Israel Academy of Sciences and Humanities*. Jerusalem. pp.1-606.
- Zoric, L., Merkilov, J., Jadranka, L., Lukovi, J., Boza, P. 2010. Comparative seed morphology of *Trifolium* L. species (Fabaceae). *Periodicum Biologorum*. 112 (3) : 263-272.

# *Annexes*

Tableaux (1-23) : Résultats de l'analyse de la variance des caractères morpho- phénologiques quantitatifs chez 26 populations algériennes de *Trifolium subterraneum* L.

**Tableau 1. Date de levée (jours)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
12/10	15	51	34,13	12,25	35,9
21/10	21	44	32,47	7,65	23,57
22/10	17	51	32,25	10,98	34,03
3/10	21	44	31,13	8,3	26,65
23/10	21	48	30,8	9,65	31,32
18/10	21	44	30,27	9,14	30,19
27/10	21	51	30,07	10,94	36,4
26/10	21	51	29,37	8,68	29,55
17/10	21	48	29,14	9,77	33,54
24/10	21	44	28,33	7,6	26,84
10/10	17	44	28,13	9,54	33,9
6/10	17	48	27,82	8,36	30,04
37/10	15	38	27,07	7,87	29,07
7/10	21	44	25,87	6,08	23,51
16/10	15	38	25,8	8,22	31,87
20/10	21	38	25,67	6,9	26,9
25/10	15	51	25,53	8,92	34,93
19/10	20	38	25,53	5,58	21,85
13/10	21	44	25,53	6,98	27,33
33/10	15	38	25,36	6,23	24,55
29/10	15	38	24,69	7,04	28,5
4/10	20	31	23,67	4,37	18,46
11/10	17	38	23,47	5,48	23,33
2/10	15	31	22,27	6,45	28,98
39/10	15	38	20,4	6,41	17,75
38/10	15	24	20	3,62	32,07

**Tableau 2. Développement hivernal en hauteur (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart -type	C.V (%)
11/10	1,2	5,8	2,97	1,18	39,73
17/10	1,1	5,3	2,91	1,26	43,21
7/10	1,1	7	2,77	1,45	52,23
16/10	1,1	5,7	2,58	1,38	53,57
38/10	1,3	4,5	2,55	0,95	37,13
3/10	0,9	5,5	2,55	1,40	54,95
4/10	0,7	5,25	2,50	1,10	43,97
10/10	1,2	5,2	2,46	1,12	45,63
23/10	1,1	4,1	2,43	0,90	36,88
29/10	1,2	6,5	2,43	1,24	51,1
39/10	1,3	5,3	2,37	0,96	40,34
37/10	1,3	3,3	2,25	0,68	30,03
26/10	1,4	4,8	2,23	0,79	35,51
33/10	0,9	4,3	2,22	0,86	38,97
2/10	1	4	2,13	0,85	39,88
13/10	1,1	4	2,09	0,93	44,54
27/10	1,1	3,9	2,09	0,80	38,41
20/10	0,7	3,1	2,09	0,61	29,37
22/10	1,1	2,5	2,04	0,42	20,75
6/10	0,4	3,5	1,96	0,88	45,04
19/10	1,2	2,7	1,90	0,59	30,83
24/10	0,8	3,1	1,74	0,56	32,35
18/10	0,8	2,7	1,69	0,59	34,85
25/10	1	3,2	1,69	0,58	34,12
21/10	0,8	2,7	1,66	0,53	32,06
12/10	0,5	3,5	1,59	0,78	48,87

**Tableau 3. Développement hivernal en largeur (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart -type	C.V (%)
37/10	6,5	27,2	13,97	5,34	38,23
2/10	3,2	21,9	13,11	4,93	37,62
19/10	5,48	20,8	13,00	4,48	34,48
4/10	7,8	19,78	12,42	3,79	30,48
39/10	3,4	19,2	10,39	4,76	45,84
16/10	2,7	18,1	10,19	4,85	47,56
38/10	2,1	20,5	9,70	5,74	59,22
26/10	2,3	18,7	9,11	4,44	48,77
10/10	3,5	22,4	8,80	5,05	57,4
23/10	2,3	20,7	8,79	5,11	58,12
21/10	4,3	16,5	8,77	3,13	35,66
25/10	1,8	16	8,58	4,24	49,39
29/10	2,5	18,7	8,49	3,98	46,92
13/10	1,3	18	8,38	5,24	62,53
11/10	2,5	17,5	8,36	3,67	43,91
3/10	1,8	17,5	8,32	4,37	52,57
33/10	2,3	17,2	8,20	3,65	44,54
17/10	1	15,9	7,99	4,30	53,87
20/10	2,1	14	7,94	3,91	49,18
18/10	1,5	15,8	7,87	4,21	53,48
6/10	1,4	16,75	7,66	4,16	54,33
22/10	3,35	12,3	7,48	2,55	34,1
27/10	3,3	16	7,36	4,14	56,27
24/10	1,9	13,7	7,03	3,46	49,2
12/10	2,3	13,8	6,70	3,39	50,52
7/10	1,78	13,1	6,43	3,11	48,32

**Tableau 4. Développement printanier en hauteur (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
4/10	3,80	8,80	5,14	1,37	26,6
37/10	2,20	8,20	4,89	1,71	35,04
19/10	1,80	6,80	4,53	1,51	33,26
24/10	1,90	7,80	4,41	1,59	36,03
38/10	2,20	6,10	4,30	1,18	27,49
3/10	2,50	7,20	4,28	1,24	29,02
10/10	2,20	7,50	4,25	1,74	40,84
23/10	1,70	6,20	4,11	1,30	31,55
12/10	2,20	7,50	4,08	1,40	34,37
18/10	2,30	6,10	4,06	1,26	31
25/10	1,80	7,00	4,05	1,23	30,3
29/10	1,50	6,50	4,04	1,43	35,33
16/10	1,90	6,50	4,03	1,21	30,03
21/10	2,20	5,80	3,93	1,18	30,05
11/10	1,90	5,10	3,83	1,05	27,33
13/10	1,50	8,00	3,81	1,80	47,22
39/10	2,30	7,40	3,79	1,60	42,17
22/10	1,65	6,50	3,79	1,12	29,55
6/10	1,20	5,00	3,73	1,06	28,32
7/10	1,90	5,50	3,67	1,05	28,75
17/10	2,00	5,20	3,65	0,83	22,75
20/10	2,10	6,10	3,62	1,23	33,88
26/10	1,50	5,40	3,60	0,93	25,83
2/10	1,80	5,20	3,54	0,86	24,25
33/10	2,10	4,90	3,40	0,96	28,25
27/10	1,10	4,90	3,24	1,07	33,01

**Tableau 5. Développement printanier en hauteur (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
4/10	70	152,2	108,67	24,65	22,68
19/10	48,5	131,5	102,19	23,32	22,82
37/10	38,1	137,3	98,61	28,75	29,15
10/10	51,5	124,1	91,31	25,29	26,47
13/10	53,3	131	88,42	23,79	26,91
3/10	54	110,7	87,07	16,08	18,46
11/10	39,4	136	84,46	27,14	32,13
18/10	43,9	122,3	81,3	20,74	25,51
2/10	45,5	137	80,91	30,51	37,71
16/10	38,7	117,5	80,59	29,29	36,35
17/10	56,3	114,1	79,35	16,01	20,17
21/10	17,5	136,5	77,89	30,04	38,57
38/10	35,2	138	77,7	28,39	36,53
7/10	37,2	120,7	77,67	20,56	34,51
33/10	35	121,5	76,64	22,62	29,51
29/10	33	107,8	74,7	20,65	27,65
39/10	35,3	117,2	74,35	24,61	33,1
6/10	12,5	115,5	73,64	25,41	34,51
25/10	40,1	114,5	73,46	20,33	27,67
24/10	17,7	113,8	70,07	23,64	33,74
12/10	19,4	126	69,42	27,42	39,5
26/10	35	95,5	68,85	17,71	25,72
27/10	18,2	107	68,19	28,43	41,7
23/10	25,5	126,5	67,1	28,98	43,19
22/10	25,7	78,79	61,06	20,77	34,01
20/10	12,3	95,5	54,91	22,32	40,64

**Tableau 6. Vitesse de croissance hivernale (cm/j)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
19/10	0,07	0,58	0,22	0,14	64,18
37/10	0,08	0,34	0,19	0,07	36,29
2/10	0,05	0,34	0,18	0,08	43,17
26/10	0,03	0,46	0,16	0,13	80,83
4/10	0,10	0,24	0,16	0,04	27,91
16/10	0,04	0,24	0,13	0,06	46,69
27/10	0,05	0,48	0,13	0,11	85,09
39/10	0,04	0,25	0,13	0,06	46,4
21/10	0,07	0,23	0,12	0,04	35,46
23/10	0,03	0,26	0,12	0,07	54,74
10/10	0,06	0,29	0,12	0,06	53,43
29/10	0,03	0,21	0,12	0,04	37,42
38/10	0,03	0,24	0,12	0,07	57,1
3/10	0,02	0,22	0,12	0,05	46,06
17/10	0,01	0,22	0,11	0,06	55,11
25/10	0,02	0,20	0,11	0,05	47,44
22/10	0,06	0,21	0,11	0,04	33,69
18/10	0,02	0,21	0,11	0,06	53,56
13/10	0,02	0,23	0,11	0,07	61,08
33/10	0,03	0,21	0,11	0,05	41,53
11/10	0,04	0,21	0,11	0,04	41,79
20/10	0,03	0,18	0,10	0,05	49,69
6/10	0,02	0,21	0,10	0,05	50,01
12/10	0,03	0,22	0,10	0,05	53,1
24/10	0,03	0,19	0,10	0,05	48,2
7/10	0,03	0,17	0,08	0,04	47,1

Tableau 7. Vitesse de croissance printanière (cm/j)

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V(%)
4/10	1,00	2,21	1,60	0,37	23,1
19/10	0,65	1,85	1,49	0,35	23,39
37/10	0,46	2,04	1,41	0,44	31,05
10/10	0,60	1,98	1,38	0,44	32,11
13/10	0,87	2,08	1,33	0,37	27,74
3/10	0,71	1,75	1,31	0,28	21,03
11/10	0,59	2,08	1,27	0,42	32,97
18/10	0,62	1,88	1,22	0,33	27,28
17/10	0,79	1,77	1,19	0,26	21,91
7/10	0,55	1,79	1,19	0,32	27,05
16/10	0,54	1,75	1,17	0,42	35,84
21/10	0,17	2,13	1,15	0,49	42,41
33/10	0,40	1,87	1,14	0,38	33,25
38/10	0,46	1,96	1,13	0,41	36,5
2/10	0,44	1,99	1,13	0,50	44,4
29/10	0,51	1,66	1,10	0,31	28,53
6/10	0,19	1,77	1,10	0,39	35,78
25/10	0,60	1,64	1,08	0,32	29,22
39/10	0,51	1,71	1,07	0,35	33,28
24/10	0,26	1,74	1,05	0,39	36,66
12/10	0,29	2,03	1,05	0,44	42,42
27/10	0,06	1,58	0,99	0,48	48,83
23/10	0,31	1,89	0,97	0,45	46,04
26/10	0,15	1,52	0,97	0,38	39,34
22/10	0,38	1,16	0,89	0,31	34,73
20/10	0,01	1,36	0,78	0,36	45,59

Tableau 8. Nombre de ramifications / Rameau plus vigoureux

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V(%)
4	3,0	14,0	6,93	3,41	52,17
37/10	4,00	12,00	6,73	2,37	35,26
2/10	3,0	12,0	6,60	2,97	45,02
25/10	4,0	12,0	6,53	2,42	36,98
18/10	1,0	12,0	6,53	3,07	46,95
29/10	2,0	14,0	6,42	3,65	56,83
33/10	3,0	14,0	6,05	2,68	44,25
38/10	2,0	16,0	6,00	3,30	54,92
27/10	2,0	12,0	6,00	3,02	50,4
19/10	2,0	14,0	5,80	3,41	58,72
26/10	2,0	14,0	5,61	2,73	48,66
39/10	2,0	10,0	5,47	2,36	43,1
17/10	3,0	8,0	5,43	1,45	26,71
24/10	2,0	9,0	5,40	2,10	38,84
11/10	2,0	10,0	5,13	2,45	47,64
6/10	2,0	14,0	5,09	2,86	56,22
21/10	3,0	9,0	5,07	1,94	38,38
10/10	2,0	11,0	5,07	2,71	53,52
3/10	3,0	11,0	5,07	2,37	46,86
23/10	2,0	7,0	5,00	1,69	33,81
20/10	2,0	7,0	4,53	1,55	34,24
13/10	2,0	7,0	4,40	1,64	37,25
12/10	2,0	6,0	4,38	1,09	24,85
7/10	2,0	7,0	4,33	1,35	31,04
22/10	2,0	5,4	4,27	1,29	30,19
16/10	2,0	6,0	3,53	1,36	38,37

**Tableau 9. Longueur de la foliole centrale (cm)**

Populations	Min	Maxi	Ecart-type	Moyenne	C.V (%)
10/10	1,10	2,10	0,25	1,35	18,59
17/10	1,00	1,60	0,19	1,32	14,58
27/10	0,60	1,80	0,29	1,31	21,89
16/10	0,90	2,10	0,31	1,29	23,83
29/10	1,10	2,40	0,32	1,29	25,09
23/10	0,90	1,60	0,20	1,28	15,4
37/10	0,90	1,50	0,19	1,27	14,68
3/10	0,80	1,80	0,29	1,27	23,24
39/10	0,70	2,10	0,33	1,27	26,3
11/10	0,70	1,70	0,22	1,26	17,7
19/10	0,80	2,10	0,30	1,25	24,1
33/10	1,10	1,50	0,12	1,23	9,85
21/10	0,90	1,70	0,24	1,21	19,42
4/10	1,10	1,50	0,14	1,21	11,49
2/10	0,80	1,60	0,18	1,21	14,85
13/10	1,10	1,80	0,20	1,21	16,42
25/10	1,10	1,40	0,11	1,20	8,91
18/10	0,80	1,60	0,22	1,19	18,26
7/10	0,90	1,80	0,21	1,17	18,07
26/10	0,80	1,50	0,17	1,17	14,94
20/10	0,70	1,50	0,22	1,16	18,66
12/10	0,60	1,90	0,28	1,15	24,19
6/10	0,80	1,22	0,12	1,11	10,8
38/10	0,60	1,30	0,17	1,10	15,37
24/10	0,80	1,60	0,19	1,07	18,12
22/10	0,50	1,22	0,23	1,07	21,16

**Tableau 10. Largeur de la foliole centrale (cm)**

Populations	Min	Maxi	Ecart-type	Moyenne	C.V (%)
10/10	0,95	1,90	0,24	1,43	17,52
23/10	0,85	1,70	0,23	1,40	16,24
37/10	1,05	1,65	0,19	1,40	13,83
27/10	0,90	1,85	0,25	1,39	18,1
7/10	0,90	1,95	0,26	1,38	19,01
18/10	0,95	1,85	0,27	1,35	20,29
17/10	0,90	1,75	0,28	1,35	20,45
3/10	0,75	1,90	0,30	1,34	22,04
33/10	1,10	1,80	0,18	1,34	13,58
13/10	1,05	1,95	0,25	1,34	18,83
2/10	0,90	1,65	0,21	1,33	15,76
21/10	1,05	1,65	0,19	1,31	14,87
16/10	0,90	1,95	0,25	1,31	19,34
11/10	0,65	1,70	0,23	1,29	18,14
20/10	0,50	1,75	0,30	1,26	23,72
39/10	0,55	1,90	0,33	1,26	26,3
29/10	0,60	1,90	0,31	1,25	24,56
19/10	0,95	1,70	0,24	1,24	19,6
25/10	0,90	1,55	0,20	1,23	16,25
12/10	0,55	1,75	0,36	1,20	30,15
22/10	0,95	1,28	0,13	1,18	10,96
26/10	0,60	1,55	0,23	1,18	19,5
38/10	0,90	1,45	0,15	1,16	13,26
24/10	0,80	1,75	0,23	1,15	20,15
4/10	0,65	1,75	0,26	1,13	23,27
6/10	0,80	1,28	0,17	1,10	15,37

**Tableau 11. Longueur du pétiole (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
3/10	2,8	10,0	4,39	1,7	2,84
39/10	2,9	5,7	4,37	0,8	14,84
23/10	2,2	6,5	4,05	1,2	1,99
2/10	2,3	6,2	4,05	1,2	14,66
12/10	2,4	6,1	4,05	1,1	16,12
10/10	2,3	6,1	4,04	1,0	6,54
11/10	2,7	5,8	3,95	0,9	1,48
4/10	2,6	5,9	3,92	1,0	15,26
24/10	2,1	7,1	3,85	1,4	37,84
27/10	1,5	9,2	3,84	2,0	6,21
13/10	2,0	5,9	3,83	0,9	28,43
29/10	2,5	5,7	3,62	0,8	7,97
19/10	2,1	5,2	3,61	1,1	1,89
22/10	2,3	6,2	3,60	0,8	16,21
38/10	2,7	4,9	3,57	0,6	8,61
20/10	0,8	7,9	3,56	1,5	15,83
18/10	2,3	5,7	3,55	0,9	6,34
37/10	2,4	4,6	3,42	0,7	2,68
16/10	2,3	6,1	3,31	0,9	11,35
33/10	2,0	5,9	3,27	1,2	26,30
17/10	1,5	5,0	3,26	0,8	13,00
7/10	2,1	4,1	3,19	0,5	21,15
25/10	1,7	7,7	3,17	1,4	45,88
26/10	1,2	5,1	3,09	1,0	14,37
21/10	1,6	5,4	3,07	1,0	3,57
6/10	2,1	3,6	2,74	0,5	10,16

**Tableau 12. Longueur du pédoncule floral (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
27/10	1,10	8,70	4,53	2,09	1,69
11/10	2,70	6,10	4,19	1,01	7,13
3/10	2,80	6,80	4,15	1,08	7,22
13/10	2,50	6,60	4,01	1,17	41,49
39/10	1,20	7,60	3,94	1,65	14,31
37/10	2,60	6,10	3,89	1,00	9,33
17/10	1,80	6,40	3,87	1,39	8,88
29/10	2,30	5,10	3,73	0,93	12,78
23/10	1,20	6,70	3,62	1,45	14,99
10/10	2,30	4,90	3,60	0,83	27,41
2/10	2,70	5,10	3,60	0,65	24,23
7/10	1,10	4,70	3,51	1,05	5,78
19/10	1,30	5,50	3,50	1,08	8,09
16/10	1,70	5,90	3,43	1,34	1,76
22/10	2,40	4,30	3,42	0,43	19,62
33/10	1,60	4,60	3,32	1,13	9,30
20/10	1,10	6,90	3,25	1,40	11,83
24/10	1,20	5,80	3,20	1,36	48,01
26/10	1,60	4,90	3,14	0,97	5,55
18/10	1,20	4,90	3,14	1,13	18,89
25/10	1,50	5,40	3,04	1,09	31,94
4/10	1,90	4,40	3,03	0,75	24,55
21/10	1,80	5,20	2,99	1,03	19,45
12/10	1,10	4,50	2,90	1,03	17,83
6/10	1,10	4,10	2,84	1,11	23,81
38/10	1,20	4,10	2,71	0,80	37,21

**Tableau 13. Longueur des entre-Nœuds (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
16/10	5,22	5,8	5,51	0,29	5,26
29/10	4,54	5,73	5,12	0,6	11,62
19/10	4,72	5,3	5	0,29	5,82
27/10	4,5	5,5	4,96	0,5	10,15
2/10	4,57	5,29	4,9	0,37	7,45
24/10	4,52	5,29	4,88	0,39	7,94
12/10	3,5	5,66	4,86	1,19	24,39
13/10	4,14	5,9	4,85	0,93	19,13
4/10	4,5	4,93	4,78	0,24	5,03
11/10	4,7	4,8	4,76	0,05	1,11
33/10	4,33	5,1	4,67	0,39	8,41
18/10	4,2	5,1	4,63	0,45	9,73
3/10	4,2	4,84	4,57	0,33	7,25
23/10	3,86	5,5	4,56	0,85	18,6
7/10	3,2	5,5	4,52	1,19	26,25
37/10	3,39	5,38	4,52	1,02	22,6
17/10	3,78	5,23	4,5	0,73	16,1
25/10	3,4	5,5	4,45	1,05	23,6
26/10	3,45	5,38	4,44	0,97	21,75
10/10	3,5	5	4,42	0,8	18,2
22/10	3,5	5,32	4,41	0,91	20,63
38/10	4,22	4,5	4,36	0,14	3,21
39/10	3,5	5,11	4,31	0,81	18,69
21/10	4,02	4,66	4,28	0,34	7,91
20/10	3,2	4,76	3,98	0,78	19,6
6/10	3,66	3,94	3,8	0,14	3,68

**Tableau 14. Premier bouton floral (jours)**

Populations	Min	Max	Ecart-type	Moyenne	C.V (%)
38/10	101	129	111,47	8	7,18
39/10	89	121	107,87	7,83	7,26
7/10	92	121	107,67	7,27	6,75
13/10	97	125	107,53	8,13	7,56
11/10	90	125	107	9,5	8,88
2/10	94	115	105,8	6,37	6,02
29/10	90	131	105,38	8,75	8,31
16/10	82	121	104,13	9,58	9,2
33/10	90	113	103,35	6,2	6
4/10	97	112	103,13	4,6	4,46
10/10	83	126	102,27	11,88	11,61
24/10	96	115	102,2	4,89	4,78
17/10	86	118	102,11	9,15	8,97
23/10	83	121	101,73	10,56	10,38
3/10	88	121	101,2	9,08	8,97
25/10	81	119	101,13	10,29	10,17
26/10	86	106	100,66	4,93	4,89
27/10	84	118	100,47	10,23	10,18
20/10	87	107	100,07	6,44	6,44
19/10	90	105	100,07	4,5	4,49
6/10	80	108	99,98	7,86	7,87
18/10	86	111	99,87	7,9	7,91
21/10	88	109	99,13	5,79	5,84
22/10	82	105	98	8,56	8,74
37/10	84	107	97,93	8,08	8,25
12/10	71	115	96,83	11,74	12,12

**Tableau 15. Première fleur (jours)**

Populations	Min	Max	Ecart-type	Moyenne	C.V (%)
38/10	106	133	115,4	7,9	6,85
7/10	98	125	112,4	7,4	6,59
39/10	94	127	111,87	8,44	7,55
13/10	101	127	111,13	8,11	7,3
11/10	94	129	110,8	9,49	8,56
29/10	95	133	109,31	8,01	7,33
2/10	96	118	108,67	6,6	6,07
16/10	86	125	108,2	9,6	8,87
33/10	94	117	107,61	6,28	5,84
17/10	91	121	106,5	8,44	7,93
10/10	88	129	106,4	11,89	11,18
24/10	101	121	106,33	5,02	4,72
23/10	88	125	106,2	10,5	9,89
25/10	88	122	106,13	8,03	7,57
4/10	100	115	106,13	4,52	4,26
3/10	92	125	104,93	9,04	8,62
26/10	91	109	104,78	4,46	4,25
27/10	88	121	104,6	10,07	9,63
6/10	84	116	104,24	8,12	7,79
18/10	90	115	103,93	8,12	7,81
20/10	93	111	103,87	6,08	5,85
19/10	94	108	103,6	4,32	4,17
21/10	92	112	103,13	5,34	5,18
22/10	85	109	101,59	8,92	8,78
37/10	87	111	101,27	7,98	7,88
12/10	74	121	101	11,93	11,82

**Tableau 16. Pleine floraison (jours)**

Populations	Min	Max	Ecart-type	Moyenne	C.V (%)
38/10	118	154	128	8,97	7,01
7/10	109	142	126,2	7,59	6,01
39/10	108	139	125,33	8,76	6,99
11/10	104	144	122,73	10,78	8,78
29/10	115	145	122,49	7,31	5,97
13/10	108	139	122,2	8,77	7,18
2/10	115	131	121,87	4,61	3,78
16/10	98	136	121,2	11,19	9,24
25/10	104	136	120,93	8,8	7,28
33/10	104	131	120,81	6,82	5,65
4/10	111	127	119,8	4	3,34
19/10	108	126	119,47	5,76	4,82
23/10	102	139	119,33	10,55	8,84
10/10	102	139	119,13	10,37	8,71
26/10	104	126	119,13	4,68	3,93
17/10	105	129	119,05	7,31	6,14
37/10	101	188	118,53	20,39	17,2
24/10	108	132	118,33	6,68	5,65
6/10	98	129	117,42	8,76	7,46
27/10	94	135	117	11,43	9,77
18/10	104	129	116,73	7,37	6,32
21/10	105	126	116,4	5,87	5,04
3/10	104	129	116,4	8,05	6,92
20/10	105	122	116	5,71	4,92
22/10	98	127	115,57	9,52	8,24
12/10	95	133	114,53	10,6	9,25

**Tableau 17. Fin Floraison (jours)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
25/10	137	176	162,6	11,15	6,86
11/10	150	186	161,47	10,29	6,73
19/10	142	168	154,87	6,66	4,3
4/10	148	164	153,8	4,63	3,01
38/10	143	171	153	6,57	4,29
20/10	130	167	152,6	10,64	6,97
13/10	133	163	152,4	7,49	4,92
29/10	139	165	151,67	6,65	4,39
33/10	134	161	151,33	6,6	4,36
39/10	128	160	150,6	7,91	5,25
17/10	127	162	150,27	10,12	6,73
7/10	137	165	150,2	6,98	4,65
2/10	138	160	150,07	6,97	4,65
10/10	138	164	149,8	7,43	4,97
16/10	123	167	149,27	10,77	8,78
21/10	133	165	149	10,15	6,81
6/10	135	159	148,87	7,08	4,76
12/10	130	174	148,73	14,76	9,92
18/10	126	162	148	10,55	7,13
26/10	132	153	147,8	5,17	3,5
3/10	129	168	145,47	10,32	7,1
23/10	119	157	145,4	9,34	6,42
22/10	122	156	143,87	11,4	7,92
24/10	131	156	143,53	7,52	5,24
37/10	124	155	143,07	10,01	7
27/10	121	156	142,87	10,8	7,56

**Tableau 18. Durée de floraison (jours)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
25/10	45	66	56,6	11,96	11,96
19/10	41	67	51,27	12,69	12,69
11/10	30	71	50,67	22,86	22,86
20/10	37	61	48,73	13,71	13,71
12/10	33	63	47,73	16,56	16,56
4/10	38	56	47,67	10,48	10,48
21/10	31	59	45,87	18,91	18,91
6/10	37	51	44,63	11,2	11,2
18/10	33	67	44,07	22,11	22,11
17/10	32	51	43,77	14,12	14,12
33/10	30	51	43,73	10,37	10,37
10/10	27	57	43,07	23,28	23,28
26/10	33	46	43,03	7,48	7,48
22/10	30	50	42,5	11,3	11,3
29/10	32	54	42,36	14,46	14,46
37/10	35	46	41,8	9,1	9,1
13/10	27	56	41,27	19,59	19,59
2/10	33	49	41,13	12,76	12,76
16/10	28	56	41,07	20,52	23,33
3/10	23	59	40,53	23,79	23,79
23/10	23	49	39,2	22,1	22,1
39/10	33	50	39,13	11,74	11,74
27/10	30	45	38,27	12,08	12,08
7/10	25	57	37,8	23,67	23,67
38/10	21	47	37,6	19,33	19,33
24/10	24	52	37,2	21,02	21,02

**Tableau 19. Nombre de fleurs /plant**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V(%)
37/10	81	337	143,8	65	50,52
4/10	59	276	143,3	64,6	44,58
24/10	48	299	138,1	76,8	55,59
19/10	39	328	127,4	74,4	58,43
2/10	45	315	124,9	83,8	67,11
13/10	19	315	110,2	92,9	83,56
16/10	16	302	109,3	95,4	87,23
18/10	35	215	104,1	57,3	55,06
29/10	29	283	100,3	70,9	70,58
11/10	33	182	99,1	58,4	58,95
20/10	21	221	96,4	66	66,8
25/10	16	246	88,6	71	79,66
10/10	38	198	87,3	49,4	56,52
23/10	25	198	85	49,5	61,49
33/10	37	144	80,21	32,3	40,27
38/10	34	198	79,4	44	55,27
3/10	21	169	79,3	42,4	53,86
7/10	32	183	79,2	44,8	56,55
12/10	23	169	74,2	52,8	70,55
6/10	17	237	73,4	51,6	69,33
17/10	17	194	73,2	50,2	67,58
39/10	21	165	66,2	44,8	67,03
21/10	17	135	66	37,43	56,72
22/10	16	92,55	63,01	29,23	44,94
27/10	15	318	62	79,4	129,24
26/10	19	92,55	61,18	27,65	45,19

**Tableau 20. Première gousse (jours)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V(%)
7/10	116	153	128,93	9,5	7,37
38/10	115	152	127,47	9,23	7,24
39/10	105	143	126,07	9,28	7,37
13/10	111	139	123,67	7,22	5,84
25/10	109	133	123,2	7,13	5,79
4/10	111	129	123	5,17	4,2
29/10	112	142	122,83	6,47	5,27
2/10	111	131	122,67	5,85	4,77
11/10	105	145	122,27	11	8,99
24/10	110	132	120,87	5,11	4,23
16/10	96	134	119,53	11,34	9,49
10/10	100	139	119,53	10,13	8,48
33/10	104	127	119,5	5,73	4,8
21/10	102	145	119,33	10,24	8,58
26/10	115	125	119,31	2,8	2,35
19/10	106	125	119	5,55	4,67
17/10	102	132	118,94	8,3	6,98
20/10	103	149	118,6	10,69	9,01
6/10	101	125	118,29	7,15	6,05
23/10	98	134	117,53	10,36	8,82
37/10	97	131	116,53	9,3	7,98
3/10	103	128	116,33	7,84	6,74
18/10	103	131	115,93	8,19	7,06
27/10	95	132	115,6	10,51	9,09
22/10	94	129	114,53	9,98	8,71
12/10	91	130	114,07	10,77	9,44

**Tableau 21. Pleine formation de gousses (jours)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V(%)
11/10	150	186	161,67	9,71	6,01
25/10	142	174	158,07	9,39	5,94
19/10	143	162	154,53	5,97	3,87
13/10	133	163	153,33	7,45	4,86
29/10	142	165	152,85	6,51	4,26
18/10	135	165	152,4	8,34	5,47
20/10	126	162	151,93	10,65	7,01
4/10	145	160	151,8	4,3	2,83
33/10	139	163	151,57	6,08	4,01
2/10	140	160	150,53	6,56	4,36
38/10	138	158	150,47	5,78	3,84
39/10	128	160	150,2	7,91	5,27
10/10	139	164	150,13	6,5	4,33
17/10	137	162	149,93	6,22	4,15
21/10	135	165	149,47	9,54	6,38
16/10	126	162	149,47	9,84	8,28
7/10	135	162	149,4	6,74	4,51
26/10	133	155	149,03	5	3,36
12/10	126	172	148,53	14,8	9,97
6/10	133	158	147,25	7,86	5,34
23/10	119	157	145,4	9,34	6,42
22/10	125	158	145,15	10,66	7,35
3/10	129	161	144	9,23	6,41
24/10	131	154	143,87	7,21	5,01
37/10	124	155	143,4	9,87	6,88
27/10	123	156	143,13	9,7	6,78

**Tableau 22. Début de maturité des gousses (jours)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V(%)
38/10	145	168	152	7,58	4,99
7/10	137	161	151,67	7,05	4,65
39/10	133	160	149,6	7,04	4,7
13/10	133	162	149,4	8,09	5,41
29/10	129	166	149,2	11,11	7,44
2/10	140	156	147,93	4,59	3,1
11/10	131	160	147,4	8,37	5,68
33/10	131	157	146,73	7,59	5,17
10/10	133	166	146,53	10,89	7,43
27/10	125	167	146,47	12,7	8,67
25/10	118	166	146,47	12,81	8,74
26/10	133	158	146,46	7,36	5,02
17/10	126	160	145,67	8,15	5,59
4/10	132	156	145,13	5,66	3,9
21/10	132	159	144,33	7,78	5,39
24/10	132	157	144,07	7,11	4,93
19/10	129	150	143,73	5,8	4,04
3/10	131	163	142,73	9,52	6,67
18/10	127	160	142,67	8,85	6,2
6/10	121	154	142,53	8,78	6,16
20/10	116	156	141,53	9,62	6,8
16/10	114	153	141,47	9,98	7,06
23/10	120	156	141,13	10,39	7,36
22/10	120	153	139,73	10,46	7,49
37/10	127	152	138,47	7,91	5,71
12/10	120	154	136,6	11,28	8,26

**Tableau 23. Dessèchement total (jours)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V(%)
25/10	148	186	173,73	9,3	5,35
38/10	159	186	173,53	7,94	4,57
11/10	159	182	173	7,29	4,21
39/10	150	180	171,73	8,55	4,98
19/10	160	182	171,4	7,45	4,35
29/10	156	184	170,92	7,43	4,34
7/10	151	181	170,47	8,43	4,94
4/10	164	178	169,93	3,95	2,33
2/10	152	178	169,87	7,16	4,22
33/10	153	178	169,62	6,54	3,86
13/10	146	178	168,33	8,62	5,12
10/10	151	186	167,8	10,25	6,11
20/10	144	182	167,53	11,04	6,59
26/10	155	179	167,46	6,76	4,04
17/10	144	182	166,97	10,61	6,36
21/10	147	181	166,4	10,89	6,55
3/10	151	178	165,87	8,06	4,86
27/10	144	179	165,67	11,44	6,9
6/10	154	178	165,12	7,22	4,37
16/10	142	182	165,33	9,92	7,27
22/10	150	178	164,6	7,69	4,67
37/10	144	180	164,2	10,5	6,4
23/10	148	170	163,27	6,13	3,76
24/10	153	174	162,67	7,25	4,46
18/10	143	178	161,87	10,71	6,62
12/10	145	187	159,87	12,86	8,04

Tableau 24 : Résultats des notations des marqueurs morphologiques qualitatifs chez 26 populations algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

Populations	Feuilles			Marques Foliaires			Pigmentation anthocyanique (Feuilles ; stipules ; fleurs)				Pilosité			Graines		Infrutescences
	Forme Feuilles	Denticulation (Folioles)	Feuille (Pilosité face supérieure)	Largeur croissant	Largeur bras	Couleur des bras	Tâches diffuses	Mouchetures	Stipules	Tube du calice	Tige	Pétiole	Pédoncule floral	Forme	Couleur	Enfouissement
	(1-3)	(0-4)	(0-8)	(Absent-C4)	(Absent -A <sub>3</sub> )		(0-6)	(0-6)	(0-6)	(0-8)	(0-8)	(0-8)	(1-3)	(1-3)	(0-1)	
2/10	2	0	2	C2	A1	Vert pâle	6	0	2	2	2	2	2	Marron	1	
3/10	1	2	2	C2	A1	Blanc	6	0	4	4	2	2	2	Marron	1	
4/10	2	0	2	C2	A1	Blanc	6	2	6	2	4	4	2	Marron	1	
6/10	2	2	2	C2	A2	Vert pâle	2	4	4	2	4	2	4	Marron	1	
7/10	3	4	2	Absent	Absent	-	6	2	6	2	6	2	4	Marron	1	
10/10	3	0	2		A1	Vert pâle	6	2	4	2	4	2	2	Marron	1	
11/10	3	0	2	Absent	Absent	-	6	2	6	2	4	4	4	Marron	1	
12/10	2	0	2	C2	A2	Vert pâle	6	2	6	2	4	4	4	Marron	1	
13/10	3	0	2	C2	A2	Vert pâle	6	2	6	2	6	4	4	Marron	1	
16/10	2	0	2	C1	A1	Blanc	4	0	2	2	4	2	6	Marron	1	
17/10	2	0	2		A1	Vert pâle	4	2	4	2	4	6	6	Marron	1	
18/10	2	4	2	Absent	Absent	-	4	0	6	2	6	2	2	Marron	1	
19/10	2	0	2	C2	A2	Vert pâle	4	4	6	4	2	2	6	Marron	1	
20/10	2	0	2	Absent	Absent	-	4	2	2	4	4	2	2	Marron	1	
21/10	2	0	4	C2	A1	Vert pâle	4	2	6	2	4	4	4	Marron	1	
22/10	2	0	2	C3	A1	Vert pâle	2	0	4	2	2	2	4	Noire	1	
23/10	2	0	2	C2	A1	Vert pâle	2	2	2	2	2	4	6	Marron	1	
24/10	1	0	2	C1	A1	Blanc	6	0	2	2	2	2	4	Marron	1	
25/10	3	0	4	C3	A1	Vert pâle	2	0	6	2	4	4	4	Marron	1	
26/10	2	0	2	C3	A1	Blanc	2	0	4	2	4	2	4	Marron	1	
27/10	1	2	4	C3	A1	Blanc	2	0	2	2	4	2	4	Marron	1	
29/10	3	0	4	Absent	Absent	-	6	0	4	2	6	4	6	Marron	1	
33/10	1	0	4		A1	Vert pâle	4	0	2	2	6	4	6	Noire	1	
37/10	1	0	2		A1	Vert pâle	6	0	4	4	4	6	6	Marron	1	
38/10	1	2	2	C2	A1	Blanc	6	0	2	2	2	4	6	Marron	1	
39/10	1	2	2	C2	A2	Blanc	6	0	2	2	2	2	2	Marron	1	

C1 : petit point ; C2 : s'étendant approximativement du centre à la moitié de la distance vers les bords de la feuille ; C3 : s'étendant approximativement du centre à deux tiers de la distance vers les bords de la feuille ;  
A1 : bras étroits ; A2 : bras intermédiaires ; A3 : bras épais.

**Tableau 25.** Paramètres statistiques chez 26 populations mères (G0) de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. en Algérie.

Populations	PIF0	RGI0	PMG0
2/10	2,98	0,28	7,32
3/10	2,08	0,25	4,59
4/10	2,58	0,24	7,26
6/10	2,32	0,23	4,38
7/10	2,34	0,32	7,24
10/10	2,83	0,24	6,11
11/10	4,46	0,22	7,41
12/10	2,67	0,21	5,37
13/10	2,95	0,26	5,73
16/10	2,47	0,18	4,65
17/10	2,35	0,21	4,06
18/10	2,13	0,16	3,55
19/10	1,66	0,29	4,66
20/10	2,22	0,19	4,11
21/10	2,09	0,28	5,81
22/10	2,54	0,21	4,39
23/10	1,94	0,23	4,84
24/10	1,77	0,26	4,26
25/10	2,10	0,22	4,68
26/10	2,02	0,35	7,24
27/10	2,57	0,23	5,15
29/10	2,16	0,19	4,27
33/10	2,94	0,20	5,47
37/10	3,01	0,24	7,62
38/10	1,65	0,29	5,91
39/10	2,94	0,27	5,69

**Tableau 26.** Paramètres statistiques chez 26 populations de la première descendance (G1) de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. en Algérie.

Populations	PIF1	RGI1	PMG1
2/10	3,75	0,22	7,40
3/10	4,87	0,22	7,70
4/10	5,42	0,2	8,51
6/10	3,32	0,25	6,92
7/10	3,94	0,23	6,15
10/10	4,24	0,25	7,56
11/10	4,4	0,2	6,47
12/10	4,03	0,26	7,01
13/10	4,71	0,21	6,48
16/10	4,44	0,21	6,84
17/10	3,73	0,24	6,47
18/10	4,56	0,23	8,30
19/10	4,17	0,21	6,01
20/10	4	0,26	6,40
21/10	4,64	0,23	8,44
22/10	2,77	0,23	4,42
23/10	3	0,25	5,06
24/10	4,51	0,23	8,05
25/10	3,34	0,3	5,68
26/10	3,96	0,36	9,56
27/10	3,4	0,25	6,51
29/10	4,43	0,23	8,38
33/10	4,53	0,15	5,12
37/10	4,51	0,23	8,43
38/10	3,86	0,27	8,04
39/10	3,42	0,23	6,47

Tableaux (27-32) : Données biométriques des graines mères (génération G0) chez 26 populations algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

**Tableau 27. Longueur des infrutescences (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
11/10	0,68	1,05	0,85	0,10	12,41
26/10	0,65	1,20	0,78	0,13	16,29
16/10	0,60	1,04	0,72	0,10	14,31
2/10	0,60	0,87	0,72	0,07	9,40
39/10	0,58	0,85	0,70	0,06	8,23
13/10	0,53	0,85	0,70	0,08	11,42
4/10	0,54	0,89	0,70	0,09	12,27
37/10	0,58	0,85	0,69	0,07	9,57
12/10	0,52	1,07	0,69	0,12	17,52
33/10	0,57	0,85	0,69	0,06	9,40
18/10	0,52	0,90	0,69	0,09	13,55
6/10	0,55	0,88	0,68	0,07	10,42
10/10	0,58	1,01	0,68	0,09	12,56
29/10	0,58	0,90	0,68	0,07	9,87
20/10	0,55	0,89	0,67	0,08	11,97
3/10	0,58	0,88	0,67	0,07	10,26
27/10	0,55	0,78	0,67	0,06	8,94
22/10	0,52	0,79	0,66	0,07	10,77
17/10	0,53	0,80	0,65	0,07	10,24
23/10	0,55	0,71	0,64	0,05	7,26
21/10	0,53	0,80	0,64	0,06	10,06
38/10	0,50	0,80	0,63	0,07	10,77
25/10	0,50	0,72	0,63	0,06	9,32
19/10	0,50	0,80	0,62	0,07	10,47
7/10	0,52	0,72	0,62	0,06	10,15
24/10	0,48	0,67	0,59	0,05	8,04

**Tableau 28. Largeur des infrutescences (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
11/10	0,85	1,30	1,07	0,15	14,15
13/10	0,75	1,12	0,89	0,12	13,73
2/10	0,75	1,12	0,87	0,10	10,93
26/10	0,62	1,26	0,86	0,16	18,85
33/10	0,70	1,10	0,86	0,10	11,22
37/10	0,69	1,08	0,84	0,08	9,50
27/10	0,65	1,05	0,84	0,09	11,09
17/10	0,72	1,01	0,84	0,08	8,94
39/10	0,63	1,25	0,84	0,12	14,74
18/10	0,65	1,20	0,82	0,14	17,31
16/10	0,67	1,10	0,82	0,12	14,44
7/10	0,68	1,15	0,82	0,09	10,81
4/10	0,68	1,10	0,80	0,10	12,47
6/10	0,62	1,02	0,80	0,09	10,88
20/10	0,62	1,10	0,78	0,11	13,82
19/10	0,63	1,03	0,77	0,08	9,82
29/10	0,68	0,90	0,76	0,06	7,45
25/10	0,68	0,88	0,75	0,05	7,28
3/10	0,62	0,92	0,75	0,06	8,15
10/10	0,65	0,85	0,75	0,06	7,54
12/10	0,61	0,93	0,74	0,07	10,07
23/10	0,62	0,82	0,73	0,06	7,96
24/10	0,65	0,82	0,73	0,05	7,37
22/10	0,56	0,86	0,73	0,08	10,34
38/10	0,53	0,88	0,73	0,08	10,87
21/10	0,60	0,88	0,72	0,08	11,26

**Tableau 29. Nombre de gousses/ infrutescence**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
11/10	4,00	6,00	4,70	0,54	11,38
7/10	3,00	6,00	4,67	0,71	15,24
18/10	2,00	8,00	4,60	1,13	24,62
39/10	3,00	5,00	4,33	0,80	18,51
22/10	3,00	6,00	4,33	0,66	15,25
27/10	1,00	6,00	4,27	1,02	23,79
17/10	2,00	7,00	4,27	0,98	22,97
6/10	2,00	8,00	4,27	1,17	27,48
20/10	3,00	7,00	4,23	0,90	21,20
13/10	3,00	5,00	4,23	0,73	17,20
24/10	2,00	8,00	4,20	1,47	35,04
2/10	1,00	5,00	4,17	0,91	21,91
29/10	2,00	5,00	4,07	1,02	24,95
25/10	2,00	5,00	4,03	0,85	21,08
23/10	2,00	7,00	3,97	1,22	30,69
10/10	2,00	5,00	3,87	1,04	26,94
19/10	2,00	5,00	3,80	0,81	21,19
3/10	1,00	6,00	3,80	1,19	31,21
37/10	2,00	6,00	3,77	1,01	26,72
16/10	2,00	6,00	3,73	1,17	31,41
33/10	1,00	5,00	3,63	1,03	28,44
21/10	2,00	5,00	3,63	0,81	22,26
26/10	1,00	5,00	3,50	0,86	24,60
12/10	1,00	5,00	3,50	1,14	32,49
38/10	1,00	5,00	2,90	1,06	36,62
4/10	1,00	5,00	2,87	1,36	47,37

Tableau 30. Nombre de graines / infrutescence

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
11/10	3,00	6,00	4,43	0,73	16,42
7/10	3,00	6,00	4,43	0,86	19,36
39/10	3,00	5,00	4,30	0,79	18,47
13/10	2,00	5,00	4,10	0,85	20,61
17/10	1,00	5,00	4,00	0,95	23,67
6/10	1,00	6,00	3,93	1,34	34,00
2/10	1,00	5,00	3,93	0,98	24,92
18/10	2,00	7,00	3,90	1,03	26,38
27/10	1,00	5,00	3,83	1,29	33,62
22/10	2,00	5,00	3,83	0,87	22,81
24/10	2,00	8,00	3,80	1,47	38,73
10/10	2,00	5,00	3,70	1,09	29,39
25v	1,00	5,00	3,60	1,19	33,11
20/10	1,00	7,00	3,50	1,20	34,18
29/10	1,00	5,00	3,47	1,25	36,12
12/10	1,00	5,00	3,43	1,10	32,16
16/10	2,00	5,00	3,40	1,16	34,20
3/10	1,00	6,00	3,40	1,25	36,72
33/10	1,00	5,00	3,37	1,13	33,54
26/10	1,00	5,00	3,33	0,92	27,67
21/10	1,00	5,00	3,27	0,98	30,01
19/10	1,00	5,00	3,27	1,08	33,08
37/10	1,00	5,00	3,13	1,33	42,52
23/10	1,00	5,00	2,93	1,14	38,96
38/10	1,00	5,00	2,80	1,13	40,23
4/10	1,00	5,00	2,73	1,36	49,86

Tableau 31. Longueur des graines (mm)

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
2/10	2,77	3,93	3,40	0,28	8,18
4/10	2,67	4,10	3,28	0,30	9,07
26/10	2,80	3,73	3,25	0,28	8,69
37/10	2,53	3,60	3,20	0,27	8,31
21/10	2,47	3,85	3,12	0,30	9,60
16/10	2,53	3,93	3,07	0,32	10,42
27/10	2,53	3,75	3,06	0,28	9,17
12/10	2,25	3,77	3,02	0,30	10,03
11/10	2,23	3,67	2,97	0,38	12,74
39/10	2,30	3,43	2,95	0,30	10,07
10/10	2,57	3,35	2,94	0,22	7,45
23/10	2,30	3,47	2,93	0,30	10,40
33/10	2,30	3,80	2,93	0,36	12,13
25/10	2,25	3,90	2,90	0,36	12,34
6/10	2,30	3,65	2,88	0,29	9,96
13/10	2,23	3,70	2,85	0,34	12,08
17/10	2,27	3,57	2,84	0,31	10,81
29/10	2,43	3,30	2,82	0,21	7,44
7/10	2,37	3,33	2,82	0,22	7,66
3/10	2,03	3,80	2,78	0,43	15,27
22/10	2,30	3,20	2,77	0,23	8,40
38/10	2,17	3,60	2,72	0,31	11,52
20/10	2,10	3,27	2,66	0,28	10,56
18/10	2,13	3,50	2,63	0,33	12,72
19/10	1,90	3,20	2,62	0,25	9,45
24/10	2,27	2,97	2,60	0,17	6,67

Tableau 32. Largeur des graines (mm)

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
2/10	1,70	2,63	2,22	0,25	11,46
27/10	1,83	2,50	2,15	0,17	8,04
37/10	1,43	2,50	2,14	0,24	11,42
26/10	1,70	2,40	2,13	0,18	8,66
39/10	1,70	2,53	2,07	0,24	11,69
12/10	1,50	2,50	2,05	0,23	11,21
10/10	1,73	2,30	2,04	0,16	7,73
4/10	1,43	2,60	2,04	0,29	14,02
21/10	1,53	2,50	2,03	0,25	12,52
29/10	1,73	2,33	2,03	0,17	8,44
16/10	1,53	2,40	2,00	0,22	10,73
25/10	1,50	2,63	1,99	0,26	12,86
11/10	1,57	2,47	1,99	0,26	12,90
7/10	1,57	2,27	1,93	0,20	10,08
33/10	1,53	2,50	1,90	0,24	12,77
13/10	1,47	2,37	1,89	0,24	12,52
17/10	1,50	2,43	1,86	0,24	12,82
23/10	1,53	2,20	1,85	0,17	9,34
6/10	1,60	2,30	1,85	0,19	10,38
38/10	1,57	2,27	1,85	0,19	10,26
3/10	1,37	2,40	1,79	0,24	15,27
22/10	1,33	2,13	1,71	0,14	8,14
18/10	1,37	2,10	1,70	0,18	10,80
20/10	1,47	2,20	1,68	0,15	8,92
19/10	1,30	2,10	1,68	0,17	10,06
24/10	1,40	1,87	1,61	0,12	7,54

Tableaux (33-38) : Données biométriques des graines de la première descendance (génération G1) chez 26 populations algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

**Tableau 33. Longueur des infrutescences (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
19/10	0,70	1,10	0,92	0,12	13,27
20/10	0,68	1,85	0,91	0,21	23,44
13/10	0,60	1,05	0,86	0,10	11,89
12/10	0,70	1,20	0,86	0,12	13,70
26/10	0,71	1,00	0,83	0,08	9,25
22/10	0,65	1,22	0,83	0,13	15,85
23/10	0,70	1,12	0,82	0,09	10,92
33/10	0,70	1,00	0,81	0,07	8,92
39/10	0,70	0,92	0,80	0,06	7,42
21/10	0,70	0,88	0,79	0,05	6,79
4/10	0,68	0,88	0,79	0,05	5,74
29/10	0,60	0,90	0,78	0,07	8,60
18/10	0,67	0,91	0,77	0,06	7,31
25/10	0,62	1,00	0,77	0,07	9,61
11/10	0,62	0,95	0,76	0,09	11,64
38/10	0,65	0,82	0,75	0,05	7,21
6/10	0,60	0,82	0,75	0,06	8,17
16/10	0,65	0,90	0,75	0,06	7,89
7/10	0,60	0,82	0,74	0,06	7,95
27/10	0,60	0,82	0,74	0,05	7,13
37/10	0,65	0,90	0,74	0,07	8,94
17/10	0,57	0,90	0,73	0,07	9,98
3/10	0,58	0,90	0,73	0,07	10,17
2/10	0,60	0,85	0,72	0,06	8,93
24/10	0,60	0,82	0,72	0,06	7,82
10/10	0,60	0,87	0,71	0,07	9,34

**Tableau 34. Largeur des infrutescences (cm)**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
13/10	0,72	1,13	0,88	0,10	10,99
37/10	0,65	1,10	0,87	0,11	12,88
3/10	0,70	1,20	0,86	0,12	14,37
26/10	0,70	1,20	0,86	0,09	10,05
18/10	0,72	1,05	0,86	0,07	8,15
2/10	0,71	1,10	0,85	0,08	9,81
11/10	0,70	1,10	0,84	0,10	11,77
38/10	0,70	1,00	0,84	0,07	7,96
16/10	0,70	1,10	0,84	0,08	9,80
29/10	0,70	1,02	0,83	0,07	8,98
7/10	0,70	0,95	0,83	0,06	7,74
4/10	0,65	1,10	0,82	0,09	10,97
24/10	0,70	0,91	0,82	0,06	7,22
27/10	0,62	0,95	0,81	0,07	8,47
21/10	0,65	0,95	0,81	0,07	8,11
20/10	0,68	1,00	0,81	0,09	10,56
25/10	0,69	1,10	0,81	0,12	14,38
33/10	0,62	1,10	0,81	0,10	12,96
22/10	0,65	1,08	0,80	0,10	12,83
17/10	0,70	1,05	0,80	0,09	10,65
6/10	0,68	0,90	0,79	0,06	7,70
10/10	0,60	1,02	0,78	0,09	11,61
19/10	0,60	1,05	0,78	0,09	11,96
23/10	0,60	0,95	0,75	0,09	11,68
12/10	0,60	0,91	0,75	0,08	10,65
39/10	0,60	0,85	0,74	0,07	9,27

**Tableau 35. Nombre de gousses/ infrutescence**

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
17/10	3	7	5,10	0,89	17,35
7/10	3	7	4,90	0,76	15,49
10/10	3	6	4,87	0,97	20,00
11/10	4	6	4,80	0,61	12,71
3/10	3	8	4,80	0,85	17,64
25/10	2	9	4,67	1,21	25,99
13/10	2	6	4,57	0,90	19,66
2/10	2	8	4,57	1,14	24,86
26/10	3	8	4,50	0,94	20,84
27/10	2	6	4,47	0,86	19,26
19/10	2	10	4,43	1,50	33,86
16/10	2	6	4,43	0,90	20,25
4/10	2	5	4,40	0,68	15,33
29/10	3	5	4,33	0,76	17,49
20/10	2	5	4,33	0,84	19,48
23/10	1	5	4,30	0,88	20,39
12/10	1	7	4,30	1,02	23,77
38/10	1	5	4,27	0,87	20,35
24/10	2	5	4,27	0,74	17,34
37/10	2	5	4,23	0,73	17,20
22/10	2	5	4,23	0,73	17,20
18/10	2	5	4,07	0,87	21,35
33/10	1	6	4,00	1,41	35,36
6/10	2	5	3,97	0,81	20,39
21/10	2	5	3,90	0,66	16,97
39/10	1	5	3,83	1,05	27,47

Tableau 36. Nombre de graines / infrutescence

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
17/10	3	7	5,03	0,96	19,16
7/10	3	7	4,90	0,76	15,49
10/10	2	7	4,87	1,11	22,72
11/10	4	6	4,80	0,61	12,71
3/10	3	6	4,70	0,60	12,68
25/10	2	9	4,63	1,22	26,27
13/10	2	6	4,53	0,90	19,84
26/10	3	8	4,47	0,94	20,98
20/10	2	6	4,47	0,90	20,14
16/10	2	6	4,47	0,94	20,98
27/10	2	6	4,43	0,90	20,25
19/10	2	10	4,43	1,50	33,86
2/10	2	6	4,40	0,97	22,01
38/10	1	6	4,30	0,92	21,29
23/10	1	5	4,30	0,88	20,39
12/10	1	7	4,30	1,02	23,77
37/10	2	5	4,23	0,73	17,20
29/10	2	5	4,23	0,86	20,28
24/10	2	5	4,23	0,73	17,20
18/10	2	6	4,13	0,94	22,67
4/10	1	5	4,13	1,17	28,22
22/10	2	5	4,10	0,71	17,37
6/10	2	5	3,97	0,81	20,39
33/10	1	6	3,87	1,53	39,45
39/10	1	5	3,83	1,05	27,47
21/10	2	5	3,77	0,68	18,02

Tableau 37. Longueur des graines (mm)

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
26/10	2,63	4,13	3,35	0,30	8,92
4/10	2,87	3,73	3,27	0,23	6,89
21/10	2,70	3,63	3,20	0,24	7,39
24/10	2,47	3,80	3,15	0,27	8,46
20/10	2,70	3,73	3,12	0,26	8,35
37/10	2,50	3,60	3,11	0,29	9,26
3/10	1,90	3,57	3,06	0,33	10,66
12/10	2,27	3,70	3,05	0,36	11,75
6/10	2,53	3,57	3,03	0,29	9,66
38/10	2,37	3,70	3,02	0,33	10,89
23/10	2,35	3,67	2,96	0,36	12,00
13/10	2,17	3,33	2,94	0,26	8,93
10/10	1,75	3,73	2,94	0,41	13,86
16/10	2,40	3,37	2,94	0,25	8,46
18/10	2,63	3,63	2,93	0,25	8,44
29/10	2,37	3,40	2,93	0,30	10,23
13/10	2,47	3,43	2,90	0,26	8,98
25/10	2,07	3,63	2,88	0,35	12,19
33/10	2,20	3,67	2,86	0,37	12,93
7/10	2,20	3,33	2,85	0,25	8,70
17/10	2,17	3,33	2,83	0,28	9,87
11/10	2,33	3,27	2,80	0,23	8,37
22/10	2,57	3,23	2,79	0,17	5,96
2/10	2,00	3,20	2,78	0,27	9,84
27/10	2,10	3,33	2,71	0,34	12,56
39/10	2,07	3,30	2,68	0,36	13,30

Tableau 38. Largeur des graines (mm)

Populations	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	C.V (%)
26/10	1,67	2,43	2,16	0,16	7,49
21/10	1,63	2,33	2,02	0,19	9,32
29/10	1,67	2,27	2,01	0,16	7,92
4/10	1,73	2,37	2,00	0,13	6,54
24/10	1,47	2,30	1,96	0,22	11,11
3/10	1,70	2,63	1,95	0,21	10,52
12/10	1,53	2,30	1,95	0,20	10,25
38/10	1,57	2,30	1,94	0,19	9,79
20/10	1,73	2,30	1,92	0,17	8,71
18/10	1,53	2,37	1,90	0,19	10,10
13/10	1,57	2,23	1,90	0,19	9,81
25/10	1,53	2,27	1,87	0,22	11,63
6/10	1,63	2,33	1,85	0,18	9,85
17/10	1,50	2,57	1,84	0,22	12,01
10/10	1,35	2,27	1,83	0,26	14,11
19/10	1,43	2,87	1,83	0,26	14,30
16/10	1,60	2,13	1,83	0,15	8,31
7/10	1,57	2,10	1,83	0,16	8,88
37/10	1,57	2,13	1,82	0,17	9,17
39/10	1,47	2,43	1,81	0,25	13,65
11/10	1,57	2,10	1,80	0,14	7,59
23/10	1,50	2,10	1,77	0,18	9,89
2/10	1,47	2,03	1,77	0,13	7,63
33/10	1,45	2,25	1,74	0,21	12,12
27/10	1,43	2,03	1,71	0,16	9,49
22/10	1,53	1,90	1,69	0,09	5,44

Tableau 39 : Résultats du test t de Student chez les 26 populations mères (G0) et de la première descendance (G1) de l'espèce *Trifolium subterraneum* L. en Algérie.

Populations/ Générations	LIF	IIF	NGS	NGR	LGR	IGR	
2/10	G0	0,72	0,87	4,17	3,93	3,4	2,22
	G1	0,72	0,85	4,57	4,4	2,78	1,77
	p	0.641NS	0.321NS	0.138NS	0.069NS	0.000***	0.000***
3/10	G0	0,67	0,75	3,8	3,4	2,78	1,79
	G1	0,73	0,86	4,8	4,7	3,06	1,95
	p	0.002**	0.000***	0.000***	0.000***	0.006**	0.006**
4/10	G0	0,70	0,8	2,87	2,73	3,28	2,04
	G1	0,79	0,82	4,4	4,13	3,27	2
	p	0.000***	0.406 NS	0.000***	0.000***	0.808 NS	0.519 NS
6/10	G0	0,68	0,8	4,27	3,93	2,88	1,85
	G1	0,75	0,79	3,97	3,97	3,03	1,85
	p	0.001***	0.557 NS	0.253 NS	0.907 NS	0.052 NS	0.918 NS
7/10	G0	0,62	0,82	4,67	4,43	2,82	1,93
	G1	0,74	0,83	4,9	4,9	2,85	1,83
	p	0.000***	0.615 NS	0.224 NS	0.030*	0.645 NS	0.023*
10/10	G0	0,68	0,75	3,87	3,7	2,94	2,04
	G1	0,71	0,78	4,87	4,87	2,94	1,83
	p	0.085NS	0.06 NS	0.000***	0.000***	0.958NS	0.000***
11/10	G0	0,85	1,07	4,7	4,43	2,97	1,99
	G1	0,76	0,84	4,8	4,8	2,8	1,8
	p	0.003**	0.000***	0.502 NS	0.039 *	0.038*	0.001***
12/10	G0	0,69	0,74	3,5	3,43	3,02	2,05
	G1	0,86	0,75	4,3	4,3	3,05	1,95
	p	0.000***	0.524 NS	0.006**	0.030*	0.703 NS	0.055 NS
13/10	G0	0,70	0,89	4,23	4,1	2,85	1,89
	G1	0,86	0,88	4,57	4,53	2,94	1,9
	p	0.000***	0.860 NS	0.120 NS	0.059 NS	0.278 NS	0.856 NS
16/10	G0	0,72	0,82	3,73	3,4	3,07	2,00
	G1	0,75	0,84	4,43	4,47	2,94	1,83
	p	0.2NS	0.649 NS	0.012 *	0.000***	0.092 NS	0.001***
17/10	G0	0,65	0,84	4,27	4	2,84	1,86
	G1	0,73	0,81	5,1	5,03	2,83	1,84
	p	0.000***	0.104 NS	0.001***	0.000***	0.959 NS	0.738 NS
18/10	G0	0,69	0,82	4,6	3,9	2,63	1,7
	G1	0,77	0,86	4,07	4,13	2,93	1,9
	p	0.000***	0.208 NS	0.045*	0.362 NS	0.000***	0.000***
19/10	G0	0,62	0,77	3,8	3,27	2,62	1,68
	G1	0,92	0,78	4,43	4,43	2,9	1,83
	p	0.000***	0.607 NS	0.046*	0.001***	0.000***	0.01**
20/10	G0	0,67	0,78	4,23	3,5	2,66	1,68
	G1	0,91	0,81	4,33	4,47	3,12	1,92
	p	0.000***	0.203 NS	0.658NS	0.001***	0.000***	0.000***
21/10	G0	0,64	0,72	3,63	3,27	3,12	2,03
	G1	0,79	0,81	3,9	3,77	3,2	2,02
	p	0.000***	0.000***	0.168 NS	0.025*	0.279 NS	0.796 NS
22/10	G0	0,66	0,73	4,33	3,83	2,77	1,71
	G1	0,83	0,81	4,23	4,1	2,79	1,69
	p	0.002**	10,71**	0.580NS	0.20 NS	0.680 NS	0.503 NS
23/10	G0	0,64	0,73	3,97	2,93	2,93	1,85
	G1	0,82	0,75	4,3	4,3	2,96	1,77
	p	0.000***	0.296 NS	0.229 NS	0.000***	0.712 NS	0.079 NS
24/10	G0	0,59	0,73	4,2	3,8	2,6	1,61
	G1	0,72	0,82	4,27	4,23	3,15	1,96
	p	0.000***	0.000***	0.825 NS	0.154 NS	0.000***	0.000***
25/10	G0	0,63	0,75	4,03	3,6 a	2,9	1,99
	G1	0,77	0,81	4,67	4,63	2,88	1,87
	p	0.000***	0.02*	0.023*	0.002**	0.828 NS	0.071 NS
26/10	G0	0,78	0,86	3,5	3,33	3,25	2,13
	G1	0,83	0,86	4,5	4,47	3,35	2,16
	p	0.051 NS	0.953 NS	0.000***	0.000***	0.206 NS	0.546 NS
27/10	G0	0,67	0,84	4,27	3,83	3,06	2,15
	G1	0,74	0,82	4,47	4,43	2,71	1,71
	p	0.000***	0.219 NS	0.414 NS	0.041 *	0.000***	0.000***
29/10	G0	0,68	0,76	4,07	3,47	2,82	2,03
	G1	0,78	0,83	4,33	4,23	2,93	2,01
	p	0.000***	0.000***	0.254 NS	0.008**	0.118 NS	0.577NS
33/10	G0	0,69	0,86	3,63	3,37	2,93	1,9
	G1	0,81	0,81	4,00	3,87	2,86	1,74
	p	0.000***	0.054 NS	0.256 NS	0.154 NS	0.509 NS	0.012 *
37/10	G0	0,69	0,84	3,77	3,13	3,2	2,14
	G1	0,74	0,87	4,23	4,23	3,11	1,82
	p	0.013*	0.260 NS	0.044 *	0.000***	0.187 NS	0.000***
38/10	G0	0,63	0,73	2,9	2,8	2,72	1,85
	G1	0,75	0,84	4,27	4,3	3,02	1,94
	p	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.001***	0.067 NS
39/10	G0	0,70	0,84	4,33	4,3	2,95	2,07
	G1	0,8	0,74	3,83	3,83	2,68	1,81
	p	0.000***	0.000***	0.043*	0.058 NS	0.002**	0.000***

G0 :populations mères issues de l'habitat naturel, G1 : la première descendance. Signification : \* : P ≤0.05, \*\* : P ≤0, 01, \*\*\* : P ≤0, 001 et NS. Non significatif

Tableau 40 : Relation entre les marqueurs morphologiques qualitatifs et les caractères quantitatifs chez 26 populations algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

Variables	DL	DHH	DHL	DPH	DPL	VCH	VCP	BF	PRF	PF	FF	DF	PRG	PFG	DMG	NFP	LF	IF	LTP	FDL	LCF	LBF	CBF	ITD	STP	PTT
DHH	-0,4 <sup>†</sup>	-																								
DHL	-0,46 <sup>*</sup>	0,09	-																							
DPH	-0,08	-0,01	0,52 <sup>**</sup>																							
DPL	-0,28	0,23	0,66 <sup>***</sup>	0,67 <sup>***</sup>																						
VCH	-0,2	-0,05	0,89 <sup>***</sup>	0,39	0,56 <sup>***</sup>																					
VCP	-0,23	0,24	0,55 <sup>***</sup>	0,66 <sup>***</sup>	0,99 <sup>***</sup>	0,44 <sup>*</sup>																				
BF	-0,79 <sup>***</sup>	0,57 <sup>***</sup>	0,07	-0,11	0,13	-0,17	0,14																			
PRF	-0,76 <sup>***</sup>	0,57 <sup>***</sup>	-0,02	-0,16	0,07	-0,25	0,09	0,99 <sup>***</sup>																		
PF	-0,82 <sup>***</sup>	0,53 <sup>***</sup>	0,2	-0,03	0,19	-0,02	0,18	0,93 <sup>***</sup>	0,93 <sup>***</sup>																	
FF	-0,55 <sup>***</sup>	0,16	0,1	0,02	0,22	-0,03	0,23	0,4 <sup>*</sup>	0,41 <sup>*</sup>	0,44 <sup>*</sup>																
DF	0,01	-0,28	0,12	0,14	0,16	0,16	0,16	-0,35	-0,35	-0,26	0,71 <sup>***</sup>															
PRG	-0,79 <sup>***</sup>	0,39 <sup>†</sup>	0,12	0,01	0,17	-0,11	0,18	0,87 <sup>***</sup>	0,88 <sup>***</sup>	0,91 <sup>***</sup>	0,52 <sup>**</sup>	-0,14														
PFG	-0,49 <sup>**</sup>	0,12	0,08	-0,05	0,21	-0,02	0,23	0,38	0,38	0,39 <sup>†</sup>	0,95 <sup>***</sup>	0,68 <sup>***</sup>	0,44 <sup>*</sup>													
DMG	-0,67 <sup>***</sup>	0,41 <sup>†</sup>	-0,03	-0,27	0,1	-0,13	0,11	0,85 <sup>***</sup>	0,86 <sup>***</sup>	0,82 <sup>***</sup>	0,41 <sup>*</sup>	-0,23	0,85 <sup>***</sup>	0,4 <sup>†</sup>												
DSH	-0,8 <sup>***</sup>	0,4 <sup>†</sup>	0,29	-0,05	0,25	0,15	0,22	0,68 <sup>***</sup>	0,67 <sup>***</sup>	0,75 <sup>***</sup>	0,75 <sup>***</sup>	0,26	0,77 <sup>***</sup>	0,66 <sup>***</sup>	0,77 <sup>***</sup>											
NFP	-0,36	-0,05	0,59 <sup>***</sup>	0,64 <sup>***</sup>	0,59 <sup>***</sup>	0,44 <sup>*</sup>	0,56 <sup>***</sup>	0,07	0,00	0,07	0,13	0,13	0,13	0,16	-0,1	-										
NRR	-0,32	-0,13	0,48 <sup>**</sup>	0,27	0,36	0,45 <sup>*</sup>	0,3	0,02	-0,01	0,13	0,14	0,15	0,11	0,14	0,23	0,33										
LF	-0,06	0,45 <sup>†</sup>	0,27	0,00	0,38	0,28	0,37	0,07	0,07	0,08	0,07	0,02	-0,07	0,11	0,11	0,01	-									
IF	0,15	0,28	0,03	-0,2	0,14	0,03	0,15	0,03	0,04	0,02	-0,2	-0,24	-0,12	-0,1	0,06	-0,07	0,71 <sup>***</sup>	-								
LTP	-0,1	0,15	0,14	0,22	0,15	0,05	0,15	0,2	0,15	0,03	-0,11	-0,22	-0,02	-0,09	0,01	0,18	0,26	0,21	-							
LTF	-0,04	0,45 <sup>†</sup>	0,06	-0,22	0,14	0,1	0,13	0,16	0,14	0,07	-0,15	-0,26	-0,07	-0,09	0,16	-0,02	0,66 <sup>***</sup>	0,62 <sup>***</sup>	0,47 <sup>*</sup>							
FDL	-0,03	0,13	-0,19	-0,08	0,07	-0,19	0,12	0,14	0,16	0,15	0,55 <sup>***</sup>	0,44 <sup>*</sup>	0,26	0,62 <sup>***</sup>	0,22	0,04	0,13	0,1	-0,17	-						
LCF	0,17	-0,39	0,07	-0,06	-0,16	0,22	-0,21	-0,16	-0,17	-0,14	-0,09	0,04	-0,11	-0,21	-0,06	-0,28	-0,3	-0,4 <sup>†</sup>	0,07	-0,18	-					
LBF	0,15	-0,41 <sup>†</sup>	0,2	0,09	0,17	0,26	0,15	-0,19	-0,2	-0,15	-0,12	0,04	-0,13	-0,21	-0,17	-0,13	-0,07	-0,24	0,02	-0,25	0,57 <sup>***</sup>					
CBF	-0,06	-0,05	0,33	0,27	0,22	0,41 <sup>*</sup>	0,17	0,01	-0,01	0,02	-0,26	-0,25	-0,03	-0,39 <sup>*</sup>	-0,01	0,03	0,00	-0,29	0,2	-0,60 <sup>***</sup>	0,6 <sup>***</sup>	0,57 <sup>***</sup>				
ITD	-0,41 <sup>*</sup>	0,30	0,24	0,4 <sup>*</sup>	0,48 <sup>**</sup>	-0,01	0,50 <sup>**</sup>	0,49 <sup>**</sup>	0,43 <sup>†</sup>	0,4 <sup>*</sup>	0,12	-0,21	0,44 <sup>*</sup>	0,14	0,29	0,45 <sup>†</sup>	0,11	0,11	0,50 <sup>**</sup>	0,02	-0,46 <sup>*</sup>	-0,09	-0,07			
IMF	0,1	0,01	-0,02	0,11	0,24	0,05	0,28	-0,15	-0,14	-0,15	0,27	0,38	-0,02	0,23	-0,13	0,05	0,02	-0,11	-0,18	0,39 <sup>†</sup>	-0,08	0,32	-0,18	-0,06		
STP	0,23	-0,16	-0,05	0,29	0,44 <sup>*</sup>	0,01	0,50 <sup>**</sup>	-0,19	-0,19	-0,12	0,41 <sup>*</sup>	0,57 <sup>***</sup>	0,02	0,46 <sup>**</sup>	-0,04	0,1	-0,05	-0,06	-0,17	0,59 <sup>***</sup>	0,00	0,07	-0,32	0,11	-	
CLP	0,03	-0,03	0,38	0,34	0,25	0,44 <sup>*</sup>	0,21	-0,33	-0,37	-0,28	-0,09	0,19	-0,29	-0,14	-0,38	0,30	0,13	0,13	0,12	-0,28	-0,15	-0,03	0,06	0,12	0,00	
PTT	0,04	0,02	-0,32	-0,23	0,07	-0,33	0,13	0,05	0,08	0,06	0,2	0,13	0,1	0,32	0,2	-0,02	0,16	0,26	-0,42 <sup>*</sup>	0,46 <sup>†</sup>	-0,49 <sup>**</sup>	-0,33	-0,58 <sup>***</sup>	0,05	0,40 <sup>*</sup>	-
ALT	0,22	-0,04	0,01	0,04	-0,22	0,18	-0,26	-0,27	-0,26	-0,25	-0,08	0,12	-0,24	-0,08	-0,17	-0,10	-0,06	-0,21	0,03	0,03	0,43 <sup>*</sup>	-0,1	0,23	-0,57 <sup>***</sup>	-0,1	-0,49 <sup>*</sup>
PLU	0,12	-0,43 <sup>†</sup>	0,09	0,05	-0,24	0,12	-0,29	-0,30	-0,28	-0,18	0,04	0,27	-0,13	0,01	-0,15	-0,19	-0,08	-0,09	0,09	-0,14	0,46 <sup>†</sup>	0,2	0,19	-0,36	0,00	-0,43 <sup>*</sup>

Signification : \*p≤0,05, \*\*p≤0,01, et \*\*\*p≤0,001.

Tableau 41 : Relations entre les caractères biométriques de 26 populations algériennes (graines mères, G0) de l'espèce *Trifolium subterraneum* L., et certains facteurs écologiques du milieu d'origine (Altitude et pluviométrie).

Variables	LIF <sub>0</sub>	IIF <sub>0</sub>	NGS <sub>0</sub>	NGR <sub>0</sub>	LGR <sub>0</sub>	IGR <sub>0</sub>	PIF <sub>0</sub>	RGI <sub>0</sub>	PMG <sub>0</sub>
IIF <sub>0</sub>	0,79***	-							
NGS <sub>0</sub>	0,08	0,38	-						
NGR <sub>0</sub>	0,21	0,51**	0,87***	-					
LGR <sub>0</sub>	0,50**	0,32	-0,33	-0,17	-				
IGR <sub>0</sub>	0,46*	0,32	-0,21	-0,01	0,88***	-			
PIF <sub>0</sub>	0,74***	0,79***	0,32	0,48*	0,41*	0,44*	-		
RGI <sub>0</sub>	-0,08	-0,01	-0,22	-0,01	0,26	0,24	-0,19	-	
PMG <sub>0</sub>	0,48*	0,47*	-0,24	-0,01	0,71***	0,67***	0,51**	0,59**	-
ALT	0,12	-0,04	0,10	-0,08	0,05	-0,18	-0,18	0,13	-0,09
PLU	-0,12	-0,21	0,05	-0,04	0,03	0,04	-0,07	0,07	-0,07

Signification : \*p≤0.05, \*\*p≤0.01, et \*\*\*p≤0.001.

Tableau 42 : Relations entre les caractères biométriques de 26 populations algériennes (première descendance, G1) de l'espèce *Trifolium subterraneum* L., et certains facteurs écologiques du milieu d'origine (Altitude et pluviométrie).

Variables	LIF <sub>1</sub>	IIF <sub>1</sub>	NGS <sub>1</sub>	NGR <sub>1</sub>	LGR <sub>1</sub>	IGR <sub>1</sub>	PIF <sub>1</sub>	RGI <sub>1</sub>	PMG <sub>1</sub>
IIF <sub>1</sub>	-0,27	-							
NGS <sub>1</sub>	-0,30	0,24	-						
NGR <sub>1</sub>	-0,25	0,21	0,97***	-					
LGR <sub>1</sub>	0,13	0,25	-0,15	-0,17	-				
IGR <sub>1</sub>	0,12	0,28	-0,04	-0,057	0,81***	-			
PIF <sub>1</sub>	-0,07	0,50**	0,06	0,01	0,49*	0,49*	-		
RGI <sub>1</sub>	0,05	-0,03	0,12	0,20	0,35	0,47*	-0,42*	-	
PMG <sub>1</sub>	-0,30	0,46*	-0,07	-0,09	0,66***	0,77***	0,60**	0,31	-
ALT	-0,01	-0,13	0,05	0,04	0,14	0,06	-0,38	0,48*	0,01
PLU	0,14	-0,29	-0,31	-0,29	-0,05	-0,06	-0,37	0,35	-0,12

Signification : \*p≤0.05, \*\*p≤0.01, et \*\*\*p≤0.001.

Tableau 43 : Relation entre les caractères morpho-phénologiques et biométriques étudiés chez 26 populations Algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

Paramètres	DHH	DHL	DPL	VCP	PF	DF	PRG	PFG	DSH	NFP	LF	LFP	NGS <sub>1</sub>	LGR <sub>1</sub>	IGR <sub>1</sub>	PIF <sub>1</sub>	RGI <sub>1</sub>
DL	-0,40*	-0,46*	-0,28	-0,23	-0,82***	0,01	-0,79**	-0,49*	-0,80***	-0,36	-0,06	-0,04	0,00	0,25	0,08	-0,11	0,21
DPH	-0,01	0,52**	0,67***	0,66***	-0,03	0,14	0,01	-0,05	-0,05	0,64***	0,00	-0,22	-0,04	0,48*	0,29	0,49*	-0,12
DPL	0,23	0,66***	-	0,99***	0,19	0,16	0,17	0,21	0,25	0,59***	0,38	0,14	0,22	0,13	0,07	0,63***	-0,41
VCH	-0,05	0,89***	0,56**	0,44*	-0,02	0,16	-0,11	-0,02	0,15	0,44*	0,28	0,10	-0,04	0,14	0,02	0,13	0,01
VCP	0,24	0,55**	0,99***	-	0,18	0,16	0,18	0,23	0,22	0,56**	0,37	0,13	0,25	0,12	0,07	0,66***	-0,44*
PRF	0,57**	-0,02	0,07	0,09	0,93***	-0,35	0,88***	0,38	0,67***	0,00	0,07	0,14	0,20	-0,34	-0,03	0,05	0,15
PF	0,53**	0,20	0,19	0,18	-	-0,26	0,91***	0,39*	0,75***	0,07	0,08	0,07	0,14	-0,32	-0,06	0,00	0,10
FF	0,16	0,10	0,22	0,23	0,44*	0,71***	0,52**	0,95***	0,75***	0,13	0,07	-0,15	0,25	-0,14	0,09	0,12	0,03
DF	-0,28	0,12	0,16	0,16	-0,26	-	-0,14	0,68***	0,26	0,13	0,02	-0,26	0,10	0,10	0,11	0,08	0,08
PRG	0,39	0,12	0,17	0,18	0,91***	-0,14	-	0,44*	0,77***	0,13	-0,07	-0,07	0,16	-0,14	0,14	0,10	0,04
PFG	0,12	0,08	0,21	0,23	0,39*	0,68***	0,44*	-	0,66***	0,16	0,11	0,09	0,21	-0,18	0,09	0,19	0,10
DMG	0,41*	-0,03	0,10	0,11	0,82***	-0,23	0,85***	0,40*	0,77***	-0,10	0,11	0,16	0,24	-0,30	0,07	0,05	0,01
DSH	0,40*	0,29	0,25	0,22	0,75***	0,26	0,77***	0,66***	-	0,04	0,15	0,09	0,23	-0,27	-0,02	0,02	0,06
NFP	-0,05	0,59***	0,59***	0,56**	0,07	0,13	0,13	0,16	0,04	-	0,01	-0,02	0,05	0,22	0,06	0,55**	0,38
NRR	-0,13	0,48*	0,36	0,30	0,13	0,15	0,11	0,14	0,30	0,33	0,13	-0,02	-0,13	0,03	0,10	0,16	0,02
IF	0,28	0,03	0,14	0,15	0,02	-0,24	-0,12	-0,10	-0,10	-0,07	0,71***	0,62***	0,34	-0,38	-0,42*	0,05	0,25
ENT	0,10	0,20	0,30	0,29	0,13	-0,11	-0,01	0,09	-0,03	0,43*	0,34	0,31	0,22	-0,19	-0,07	0,35	0,35
LPT	0,15	0,14	0,15	0,15	0,03	-0,22	-0,02	-0,09	-0,32	0,18	0,26	0,47*	0,13	-0,25	-0,16	0,11	0,24
LFP	0,45*	0,06	0,14	0,13	0,07	-0,26	-0,07	-0,09	0,09	-0,02	0,66***	-	0,40*	-0,53**	-0,43*	-0,01	0,29
LIF <sub>1</sub>	-0,36	0,06	-0,14	-0,16	-0,20	0,41*	-0,16	0,26	0,01	-0,01	-0,21	-0,19	-0,30	0,13	0,12	-0,08	0,05
ILF <sub>1</sub>	0,15	0,16	0,27	0,26	0,14	-0,14	0,14	0,08	0,10	0,34	-0,08	0,14	0,24	0,25	0,28	0,50**	0,03
NGS <sub>1</sub>	0,54**	-0,10	0,22	0,25	0,14	0,10	0,16	0,21	0,23	0,05	0,36	0,40*	-	-0,15	-0,04	0,06	0,12
NGR <sub>1</sub>	0,52**	-0,16	0,13	0,16	0,15	0,09	0,14	0,22	0,19	0,02	0,34	0,38	0,97***	-0,17	-0,05	0,00	0,20
LGR <sub>1</sub>	-0,21	0,11	0,13	0,12	-0,32	0,10	-0,14	-0,18	-0,27	0,22	-0,32	-0,53**	-0,15	-	0,81***	0,49*	0,35
PIF <sub>1</sub>	0,09	0,24	0,63***	0,66***	0,00	0,08	0,10	0,19	0,02	0,55**	0,17	-0,01	0,06	0,49*	0,49*	-	-0,44*
PMG <sub>1</sub>	-0,05	0,26	0,31	0,29	-0,02	-0,14	0,07	-0,11	-0,10	0,25	-0,02	-0,21	-0,07	0,66***	0,77***	0,57***	0,31
ALT	0,04	0,01	-0,22	-0,26	-0,25	0,12	-0,24	-0,08	-0,07	-0,10	-0,06	0,02	0,05	0,14	0,06	-0,38	0,48*
PLU	-0,43*	0,09	-0,24	-0,29	-0,18	0,27	-0,13	0,01	0,05	-0,19	-0,08	-0,03	-0,31	-0,05	-0,06	-0,37	0,35

Signification : \*p≤0.05, \*\*p≤0.01, et \*\*\*p≤0.001.

Tableau 44 : Relation entre les caractères morpho-phénologiques, biométriques (quantitatifs), et les marqueurs morphologiques (qualitatifs), étudiés chez 26 populations algériennes de l'espèce *Trifolium subterraneum* L.

Paramètres	DFD	LCF	LBF	CBF	ITD	STP	PTC	PPT	PTT	PPF	FGR
DL	-0.03	0.17	0.15	-0.06	-0.41	0.23	0.03	0.03	0.04	0.00	0.23
DHH	0.13	-0.39	-0.41*	-0.05	0.30	-0.16	-0.03	-0.03	0.02	0.17	-0.27
DPH	-0.08	-0.06	0.09	0.27	0.40*	0.29	0.34	0.34	-0.23	0.03	0.12
DPL	0.07	-0.16	0.17	0.22	0.48**	0.44*	0.25	0.25	0.07	0.00	0.00
VCH	-0.19	0.22	0.26	0.41*	-0.01	0.01	0.44*	0.44*	-0.33	0.14	0.17
VCP	0.12	-0.21	0.15	0.17	0.50**	0.50**	0.21	0.21	0.13	-0.01	-0.01
BF	0.14	-0.16	-0.19	0.01	0.49**	-0.19	-0.33	-0.33	0.05	0.05	-0.28
PRF	0.16	-0.17	-0.20	-0.01	0.43*	-0.19	-0.33	-0.37	0.08	0.08	-0.29
PF	0.15	-0.14	-0.15	0.02	0.40*	-0.12	-0.28	-0.28	0.06	0.21	-0.35
FF	0.58***	-0.09	-0.12	-0.26	0.12	0.41*	-0.09	-0.09	0.20	-0.01	0.07
DF	0.44*	0.04	0.04	-0.25	-0.21	0.57***	0.19	0.19	0.13	-0.08	0.29
PRG	0.26	-0.11	-0.13	-0.03	0.44*	0.02	-0.29	-0.29	0.10	-0.01	-0.16
PFG	0.62***	-0.21	-0.21	-0.39	0.14	0.46*	-0.14	-0.14	0.32	-0.04	-0.03
NFP	0.04	-0.28	-0.13	0.03	0.45*	0.10	0.30	0.30	-0.02	-0.02	0.20
LPT	-0.17	0.07	0.02	0.20	0.50**	-0.17	0.12	0.12	-0.42*	-0.42*	-0.10
LGR <sub>1</sub>	-0.10	0.07	0.07	0.19	0.03	0.17	0.22	0.22	0.02	-0.06	0.47*
IGR <sub>1</sub>	0.09	0.08	0.02	0.12	0.18	0.29	0.03	0.03	0.15	-0.13	0.39
PIF <sub>1</sub>	0.00	-0.40*	-0.11	0.04	0.61***	0.33	0.22	0.22	0.37	-0.14	0.10
RGI <sub>1</sub>	0.09	0.41*	-0.01	0.12	-0.41*	-0.01	-0.08	-0.07	-0.17	-0.08	0.20
NGS <sub>1</sub>	0.46*	-0.18	-0.35	-0.11	0.17	0.23	0.06	0.10	0.07	-0.03	0.11
NGR <sub>1</sub>	0.46*	-0.24	-0.38	0.17	0.14	0.19	0.12	0.05	0.08	-0.01	0.08
ALT	0.28	0.43*	-0.10	0.23	-0.57***	-0.10	-0.77	-0.08	-0.49*	-0.13	0.18
PLU	-0.14	0.46*	-0.20	0.19	0.36	0.02	0.01	0.01	-0.41*	-0.19	-0.04

Signification : \*p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01, et \*\*\*p&lt;0.001.

Tableau 45 : Valeurs des coordonnées et des cosinus carrés des variables mesurées sur les deux premiers axes (1 et 2) de l'analyse en composantes principales chez les populations algériennes de *Trifolium subterraneum* L.

Variables	Axe 1		Axe 2	
DL	-0,867	0,751	0,001	0,000
DHH	0,581	0,338	-0,139	0,019
DHL	0,340	0,115	0,709	0,502
DPH	0,097	0,009	0,790	0,624
DPL	0,453	0,205	0,775	0,601
VCP	0,443	0,197	0,728	0,530
VCH	0,117	0,014	0,683	0,466
BF	0,872	0,760	-0,294	0,087
PRF	0,852	0,726	-0,372	0,139
PF	0,888	0,788	-0,236	0,056
FF	0,644	0,415	-0,094	0,009
PFG	0,607	0,369	-0,070	0,005
PRG	0,865	0,748	-0,208	0,043
DMG	0,818	0,670	-0,324	0,105
DSH	0,864	0,746	-0,143	0,021
NFP	0,277	0,077	0,710	0,505
NRR	0,262	0,069	0,455	0,207
LF	0,253	0,064	0,171	0,029
LPT	0,120	0,014	0,105	0,011
ILF	0,271	0,074	0,324	0,105
LGR	-0,258	0,067	0,523	0,273
NGS	0,351	0,123	-0,066	0,004
NGR	0,317	0,100	-0,137	0,019
PMG	0,072	0,005	0,569	0,324
PIF	0,252	0,063	0,664	0,441
ALT	-0,233	0,054	-0,021	0,000
PLU	-0,233	0,054	-0,055	0,003

Colonne 1 : coordonnées des variables sur les axes 1 et 2. Colonne 2 : valeurs des cosinus carrés.

## **Composition des solutions utilisées dans la partie caryologie**

### **1- $\alpha$ Bromonaphtalène 1%**

Diluer 1ml de  $\alpha$  Bromonaphtalène dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir une solution saturée.

### **2 - Solution de coloration « Orceïne lacto-propionique »**

#### **❖ Solution mère de l'orceïne**

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

#### **❖ Dilution**

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

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

### **3- Carmin acétique à 1%**

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

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



**Citation:** Z. Bouziane, R. Issolah, A. Tahar (2019) Analysis of the chromosome variation within some natural populations of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L., Fabaceae) in Algeria. *Caryologia* 72(4): 93-104. doi: 10.13128/caryologia-164

**Published:** December 23, 2019

**Copyright:** © 2019 Z. Bouziane, R. Issolah, A. Tahar. This is an open access, peer-reviewed article published by Firenze University Press (<http://www.fupress.com/caryologia>) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Competing Interests:** The Author(s) declare(s) no conflict of interest.

## Analysis of the chromosome variation within some natural populations of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L., Fabaceae) in Algeria

ZAHIRA BOUZIANE<sup>1,3</sup>, RACHIDA ISSOLAH<sup>2,\*</sup>, ALI TAHAR<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Université Abbès Laghrour, Khenchela, Algérie

<sup>2</sup> INRAA, CRP Mehdi Boualem, Division de Recherche sur les ressources phylogénétiques, BP 37, Baraki, Alger, Algérie

<sup>3</sup> Université Badji Mokhtar, Laboratoire de Biologie végétale et de l'environnement, Annaba, Algérie

\*Corresponding author: rachida.issolah@yahoo.com

**Abstract.** Nine natural populations of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) coming from different eco-geographical sites of the North-East Algeria, have been studied for their chromosome number and karyotype features. The study is part of the evaluation and valorization of plant genetic resources of fodder and pastoral interest in Algeria. The results of mitosis detect two groups of populations, and reveal diversity in the number among and within populations. The Algerian populations of *T. subterraneum* are characterized by two chromosomal formulas. The first formula ( $2n=2x=16m$ ) (median), more common in most of the studied populations, is in conformity with previous reports in this species. The karyotype of these populations is symmetrical for size and form. The second ( $2n=2x=18m$ ), is detected for the first time and described as a new chromosomal formula in *T. subterraneum*. The latter is relatively more frequent than the first one and characterizes the populations coming from high altitude areas. The karyotype ( $2n=2x=18m$ ) is relatively symmetrical. At the level of the two established Karyotypes, satellites are highlighted at the first pair. A variation in the size and frequency of these satellites is observed. The species exhibits regular meiotic behaviour, confirming the presence of two basic chromosome numbers ( $x=8$  and  $9$ ). The study also highlights the role of ecological factors (Altitude and Rainfall) of the originating environment of Algerian populations in the variation and evolution of chromosome numbers in *T. subterraneum*. The new cytogenetic data can be exploited in the taxonomy of the species in Algeria in order to select and develop this plant genetic resource in the agricultural field.

**Keywords.** Chromosomes, Intraspecific variability, Karyotype, Subterranean clover, *Trifolium subterraneum* L.

---

### INTRODUCTION

The genus *Trifolium* is one of the largest genera of the *Fabaceae* family (sub-family, *Papilionoideae*). It has more than 255 annual and perennial spe-

cies (Zohary and Heller 1984; Gillet and Taylor 2001). Most of them are of great agricultural importance and widely grown as fodder and green manure (Ellison et al. 2006). The genus *Trifolium* is originating from Mediterranean, because of the greatest diversity of numbers and chromosome forms have been found in this region (Taylor 1985). It has been subdivided into eight sections: *Lotoidea*, *Paramesus*, *Mystillus*, *Vesicaria*, *Chronosemium*, *Trifolium*, *Trichocephalum* and *Involucrarium* (Zohary and Heller 1984). The principal geographical centers of diversity of *Trifolium* are the Mediterranean basin, the West of North America, and the highlands of Eastern Africa (Ellison et al. 2006). The cytotaxonomic studies carried out on *Trifolium* have shown that it presents a surprising variety of chromosome numbers, and the changes in the number of chromosomes have played a large part in its evolution (Falistocco et al. 2013). Britten (1963) and Pritchard (1969) have shown that an aneuploid series of basic numbers  $x=5, 6, 7$  and  $8$  are found in this genus. The presence of  $x=8$  in about 80% of the species suggests that  $x=8$  is the ancestral number of the genus (Senn 1938; Pritchard 1969; Zohary and Heller 1984; Ellison et al. 2006), from which the numbers  $x = 7, 6$  and  $5$  are derived. Polyploidy is more common in perennial species (Kiran et al. 2010; Falistocco et al. 2013).

Subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L., sect *Trichocephalum*), commonly known as the burrowing clover or sower, is a winter annual species, native to the Mediterranean Basin, West Asia and the Atlantic coast of Western Europe (Gladstones and Collins 1983 ; Zohary and Heller 1984). The plant of subterranean clover is autogamous, characterized by mechanisms of burial of reproductive structures, ensuring thus, its own self-regenerating (Masson 1997). The species constitutes an heterogenous complex, divided into three subspecies: *subterraneum*, *brachycalycinum* and *yanninicum* (Katznelson 1984), identifiable enough by their morphology, karyotypes, isozymes and polymorphisms for molecular markers (Piluzza et al. 2005). In Algeria, the subterranean clover is very common in the Tell and the mountain meadows (Quezel and Santa 1962), adapted to different ecological conditions (Issolah et al. 2015). This species is represented by three varieties belonging to the *subterraneum* subspecies (Subsp. *subterraneum* Var. *subterraneum*, Var. *brachycladum*, Var. *flagelliforme*) on the eight varieties described in Algeria (Zohary and Heller 1984). Despite the agronomic importance of the species in the world, as cattle feed and soil improvement, its cytological characterization remains very restricted.

This is because of the small size of chromosomes like all the other species of *Trifolium* (Zohary and Heller 1984).

The first investigations on *T. subterraneum* focused only on the determination of the chromosome number ( $2n=16$ ), but without establishing the karyotype (Weselx 1928; Yates and Brittan 1952; Brock 1953; Hutton and Peak 1954; Zohary and Katznelson 1958; Kliphuis 1962; Britten 1963; Katznelson and Morley 1965a). Later, some karyotype studies were performed in Spain (Angelo et al. 1975, 1977, 1983), Iran (Hezamzadeh Hijazi and Ziaeinassab 2006) and Italy (Falistocco et al. 1987; Falistocco et al. 2013).

The present study is interested in the evaluation and the valorization of the phylogenetic resources of fodder and [pastoral] interest in Algeria.

Its aim is the analysis of the chromosomal diversity presents in the natural populations of *Trifolium subterraneum* L., and the establishment of its karyotype.

It follows the different studies carried out on natural fodder legumes (Issolah and Abdelguerfi 1999a; Issolah and Khalfallah 2007; Issolah et al. 2006, 2012, 2015, 2016).

## MATERIAL AND METHODS

### *Plant materials*

The *Trifolium subterraneum* specimens were collected by INRAA (National Institute of Agronomic Research of Algeria), in July 2010. Nine natural populations sampled from North-East Algeria (Issolah et al. 2015), were the subject of a karyological study (Table 1).

### *Chromosome counting*

The seeds belonging to the nine studied populations, were scarified to remove in tegumentary hardness, and then germinated on wet filter paper in Petri dishes at room temperature. The root tips meristems (1 to 1.5 cm in length) were excised in the morning between 8 am- 8.30 am and pretreated with  $\alpha$ -bromonaphthalene (1%) at room temperature for 2h45mn. The use of this pretreatment increases the number of metaphase mitotic cells, allows the chromosomes to be well spread in the cell, straightens the chromatids, and contracts the chromosomes, which makes primary and secondary constrictions very noticeable (Singh 2018). For chromosomes analysis, root tips were hydrolyzed in 1N HCl and stained in lactopropionic orcein (Dyer 1963). The chromosomal observations were repeated several times. For each population, five plates of chromosomes were selected from at least 30 individuals (seeds). Then, they were observed and photographed using a Primo Star Zeiss

microscope. Chromosome counts were performed on metaphase plates with well individualized chromosomes.

### Karyotype analysis

The karyomorphological analysis was carried out according to the following parameters: the length of long arm (L), short arm (S), the total length of the chromosome ( $LT = L + S$ ), the difference between arms ( $d = L - S$ ), and the relative length ( $LR (\%) = 1000 \times TL / \Sigma TL$ ). Centromere position and chromosome types were determined from the two parameters: arm ratio ( $r = L/S$ ), and centromeric index ( $CI \% = S/LT \times 100$ ) according to the nomenclature of Levan et al. (1964). For determining the asymmetry of the karyotype, three parameters were estimated: [(Ias.  $K\% = (\Sigma L / \Sigma LT) \times 100$  (Aran and Saito 1980)], the ratio between the longest and the shortest chromosome pairs (R), and the inter-chromosomal

asymmetry coefficient (A2) (standard deviation of chromosome length / mean chromosome length) (Romeo Zarco 1986). Chromosome measurements, based on five plates per population, were performed using the Axio-vision software (1999-2009). The different karyotype calculations were made thanks to Excel (2007).

### Meiosis

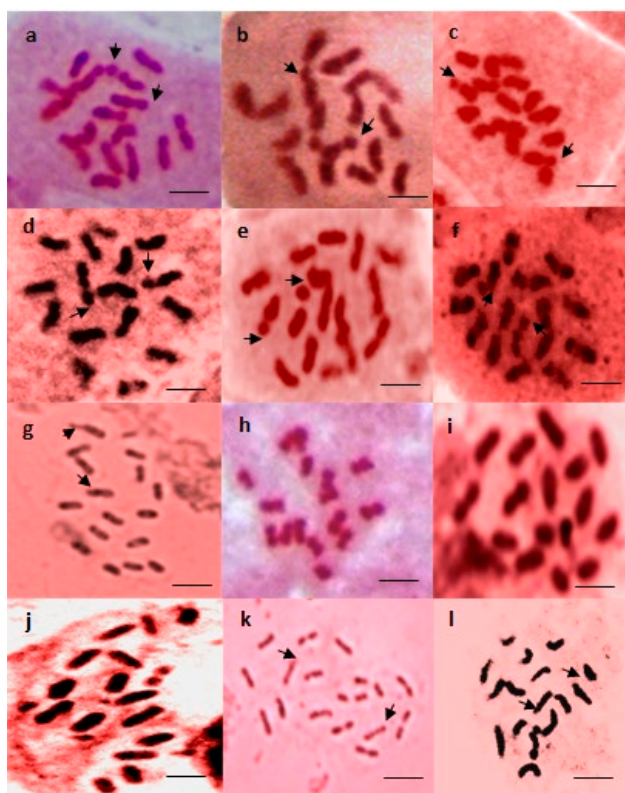
To confirm the results corresponding to the numbers found by mitosis (presence of supernumerary chromosome pair for certain populations), the meiotic behaviour of the nine populations was also analysed. For this purpose, a trial has been conducted at the experimental station of INRAA (November 2014). Each population was represented by twenty individuals (seeds) and sowed in total randomization (field) for identifying the different phases of meiosis (laboratory). The flower buds collect period was spread over a month before flowering (recovering flower buds of variable size). For each plant, at least five flower buds were collected (April 2015) in the early morning (from 8h), then fixed in Carnoy solution (Ethanol-acetic acid 3 : 1, v/v) for at least 48 h at 4°C. After dissection of the anthers, the pollen mother cells (PMC) were crushed in an acetic carmine drop 1% (Jahier et al. 1992). Observations and photographs at different phases were performed using a Primo Star Zeiss microscope.

## RESULTS

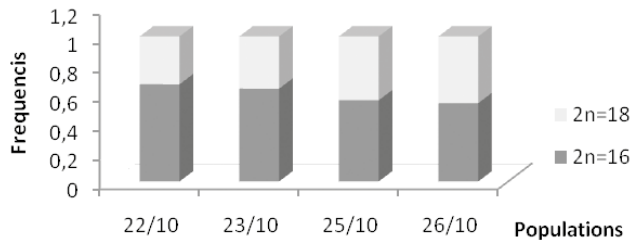
### Chromosome counting

All mitotic metaphase plates of investigated populations of the species *Trifolium subterraneum* L. showed a diploid number of chromosomes ( $2n = 16$ ) (Figure 1). This number is frequently observed in individuals of the populations 12/10; 13/10; 19/10; 20/10 and 33/10. However, the somatic metaphases of the four populations 22/10; 23/10; 25/10; 26/10, have presented along with the characteristic number of the species ( $2n = 16$ ), a second and new number of chromosomes ( $2n = 18$ ), often encountered during this study in these later populations (Figure 1). The two chromosome numbers ( $2n = 16$  and 18) are observed within the cells of the same individual, and also in different individuals of the same population. This indicates a chromosomal variation within and between the populations of *Trifolium subterraneum*.

The analysis of 15 individuals per population, indicated that the variation of the chromosome numbers ( $2n = 16$  and 18) was not in the same frequency in these



**Figure 1.** Mitotic metaphases of Algerian natural populations of *Trifolium subterraneum* L. with two chromosome numbers  $2n=16$  and  $2n=18$  respectively: (a) population 12/10; (b) population 13/10; (c) population 19/10; (d) population 20/10; (e) population 22/10; (f) population 23/10; (g) population 25/10; (h) population 26/10; (i) population 33/10; (j) population 22/10 ( $2n=18$ ); (k) population 25/10 ( $2n=18$ ); (l) population 26/10 ( $2n=18$ ). Arrows: satellites. Bar: 2.5 $\mu$ m.



**Figure 2.** Frequencies of the two chromosomes numbers (2n=16 and 18) in the four populations of *Trifolium subterraneum* L. (15 individuals / population).

latter populations (Figure 2). Indeed, within the populations (22/10 and 23/10), the frequency of the number (2n = 16) represents twice the frequency of the number (2n=18) (0.67 and 0.33; 0.64 and 0.36, respectively). However, very similar frequency values are shown in the other two populations (25/10 and 26/10) (0.56 and 0.44; 0.5 and 0.46 respectively) (Figure 2).

#### Karyotype analysis

In all investigated populations, the morphology and chromosome structure are almost identical (Table 2-5). Our results showed that the chromosomes of the Algerian population of the species *Trifolium subterraneum* L. are small. The size of the chromosomes varies from 1.02  $\mu\text{m}$  (Table 3) to 3.01  $\mu\text{m}$  (Table 2). The total lengths of diploid chromosome set are comprised between 12.82  $\mu\text{m}$  (Table 4) and 18.87  $\mu\text{m}$  (Table 2). The mean value of the total length (TLG) of all studied populations is 1.92 $\mu\text{m}$ . The results of this study indicate also that the population 22/10 (2n =16) is characterized by the highest values for the selected parameters, like the mean value of chromosome length, which gives an estimated size of the genome (18.87  $\mu\text{m}$ ) and the largest first pair and eighth pair (3.01 $\mu\text{m}$ -1.72 $\mu\text{m}$ ) (Table 2). Thus, we

note that the two additional chromosomes present in the populations (2n = 18), have the same form, with a mean size of 1.09  $\mu\text{m}$  (Figure 1, Table 3 and 5). The results of this study indicated also that satellites are located at the first chromosome pair within all investigated populations. A variation of the size and an abundance of these satellites are noticed. Thus, the metaphase plates of the populations characterized by (2n= 16), present a considerable size of these satellites compared to that noted on the plates of the populations characterized by (2n=18) with 0.25  $\mu\text{m} \pm 0.022$ ; 0.18  $\mu\text{m} \pm 0.025$ , respectively.

These satellites are more abundant in the metaphases of populations with 2n = 18 compared to those with 2n = 16. Their frequencies are 0.70 and 0.44, respectively (Figure 1). Otherwise, the results of the centromeric index (Ic) and the ratio between the long arm and the short arm (r) allowed us to determine the homologous chromosomes and to classify the different chromosomal types. Therefore, all the studied populations are characterized by the karyograms, presenting median chromosomes (Figure 3b).

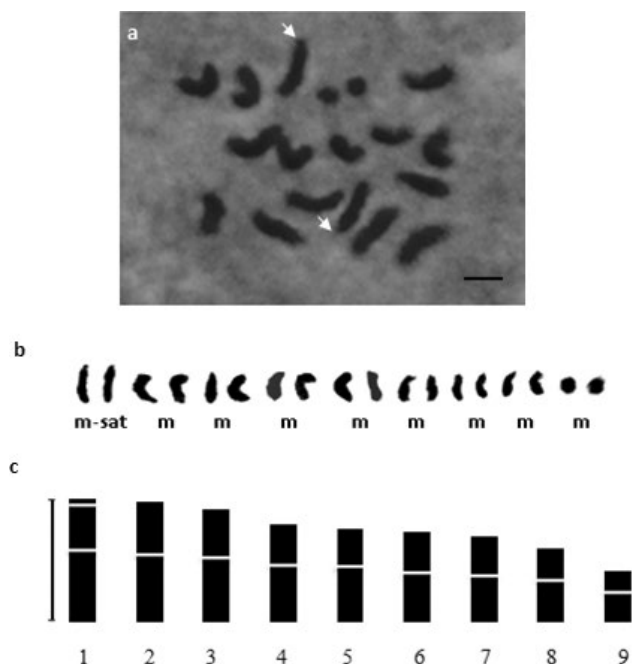
**Table 1.** Geographical origin and ecological characteristics of the sampling sites of nine populations of *Trifolium subterraneum* L. in Algeria

N° of populations	Origin	Altitude (m)	Rainfall (mm)
12/10	Guelma	170	600
13/10	Guelma	200	558
19/10	Tarf	665	661
20/10	Tarf	555	661
22/10	Souk Ahras	950	800
23/10	Souk Ahras	1040	700
25/10	Souk Ahras	800	900
26/10	Souk Ahras	1110	700
33/10	Skikda	110	562

Source (Issolah et al. 2015)

**Table 2.** Morphometric data within the population 22/10 (2n=16) of *Trifolium subterraneum* L. in Algeria.

Ch p	L ( $\mu\text{m}$ ) ( $\pm\text{SD}$ )	S ( $\mu\text{m}$ ) ( $\pm\text{SD}$ )	TL ( $\mu\text{m}$ )	RL %	d	r	Ci %	Ct
1	1.69 (0.41)	1.32 (0.26)	3.01	159.36	0.37	1.28	43.90	m-sat
2	1.42 (0.31)	1.26 (0.43)	2.68	141.96	0.17	1.13	46.86	M
3	1.53 (0.38)	1.08 (0.35)	2.61	138.52	0.45	1.42	41.33	M
4	1.26 (0.50)	1.09 (0.40)	2.35	124.38	0.17	1.15	46.45	M
5	1.23 (0.50)	1.05 (0.43)	2.28	120.85	0.18	1.17	45.98	M
6	1.18 (0.40)	1.05 (0.31)	2.23	118.11	0.13	1.12	47.12	M
7	1.05 (0.29)	0.94 (0.32)	1.99	105.65	0.11	1.12	47.16	M
8	0.92 (0.31)	0.80 (0.19)	1.72	91.17	0.12	1.15	46.61	M
Iias% =54.48		$\Sigma\text{TL}$ =18.87	TLG=2.36	R1=1.75	$A_{2(1)}=0.14$			



**Figure 3.** Karyotype of *Trifolium subterraneum* L. in Algeria. (a) Somatic metaphase ( $2n=18$ , population 23/10); (b) Karyogram; (c) Idiogram; arrow (satellites). Bar:  $2\mu\text{m}$ .

The values of the asymmetry index  $I_{as}\%$  (Arano and Saito, 1980), the ratio between the largest and the smallest chromosome pairs (R), and the interchromosomal index A2 (Romero Zarko 2006) gives indications on the evolution of chromosomes in plants. The results of the three parameters [(R1: 1.75, R3 =1.78), ( $I_{1as}\% = 54.48$ ,  $I_{3as}\% = 55.81$ ), and ( $A_2(1) = 0.14$ ,  $A_2(3) = 0.19$ )] (Table 2 and 4) are weak and indicate that the karyotype ( $2n=16m$ ) is very symmetrical for the size and the form. It is therefore primitive. Nevertheless, although the asymmetry indices are low ( $I_{2as}\%: 56.69$ ,  $I_{4as}\% 55.07$ ) in the populations ( $2n = 18$ ), they showed a karyotype with more or less uniform sizes except for the ninth pair. This is reflected by relatively high values of the ratio (R) and interchromosomal asymmetry A2, compared to those found for the karyotype ( $2n = 16$ ) (Table 3 and 5).

#### Meiosis analysis

The study of meiotic behaviour showed that the nine natural populations of the species *Trifolium subterraneum* exhibit normal and regular meiosis, with dominance of bivalents at the diakinesis, metaphases I and

**Table 3.** Morphometric data within the population 23/10 ( $2n=18$ ) of *Trifolium subterraneum* L. in Algeria.

Ch p	L ( $\mu\text{m}$ ) ( $\pm\text{SD}$ )	S ( $\mu\text{m}$ ) ( $\pm\text{SD}$ )	TL ( $\mu\text{m}$ )	RL %	d	r	Ci %	Ct
1	1.45 (0.17)	1.05 (0.14)	2.50	146.23	0.40	1,38	42.06	m-sat
2	1.39 (0.13)	1.02 (0.16)	2.41	140.86	0.37	1,37	42.27	M
3	1.33 (0.11)	0.93 (0.08)	2.26	132.46	0.39	1,42	41.31	M
4	1.09 (0.32)	0.89 (0.08)	1.98	116.14	0.20	1,23	44.84	M
5	1.07 (0.25)	0.80 (0.22)	1.87	109.50	0.27	1,33	42.97	M
6	1,01 (0.24)	0.81 (0.19)	1.82	106.51	0.21	1,26	44.30	M
7	0.92 (0.25)	0.81 (0.19)	1.73	101.41	0.11	1,13	46.86	M
8	0.85 (0.30)	0.63 (0.04)	1.48	86.93	0,21	1,34	42.77	M
9	0.57 (0.24)	0.45 (0.15)	1.02	59.96	0.11	1,25	44.42	M
	$I_{2as}\%=56.69$	$\Sigma\text{TL}=17.08$	$\text{TLG}=1.90$	$\text{R2}=2.45$	$A_{2(2)}=0.25$			

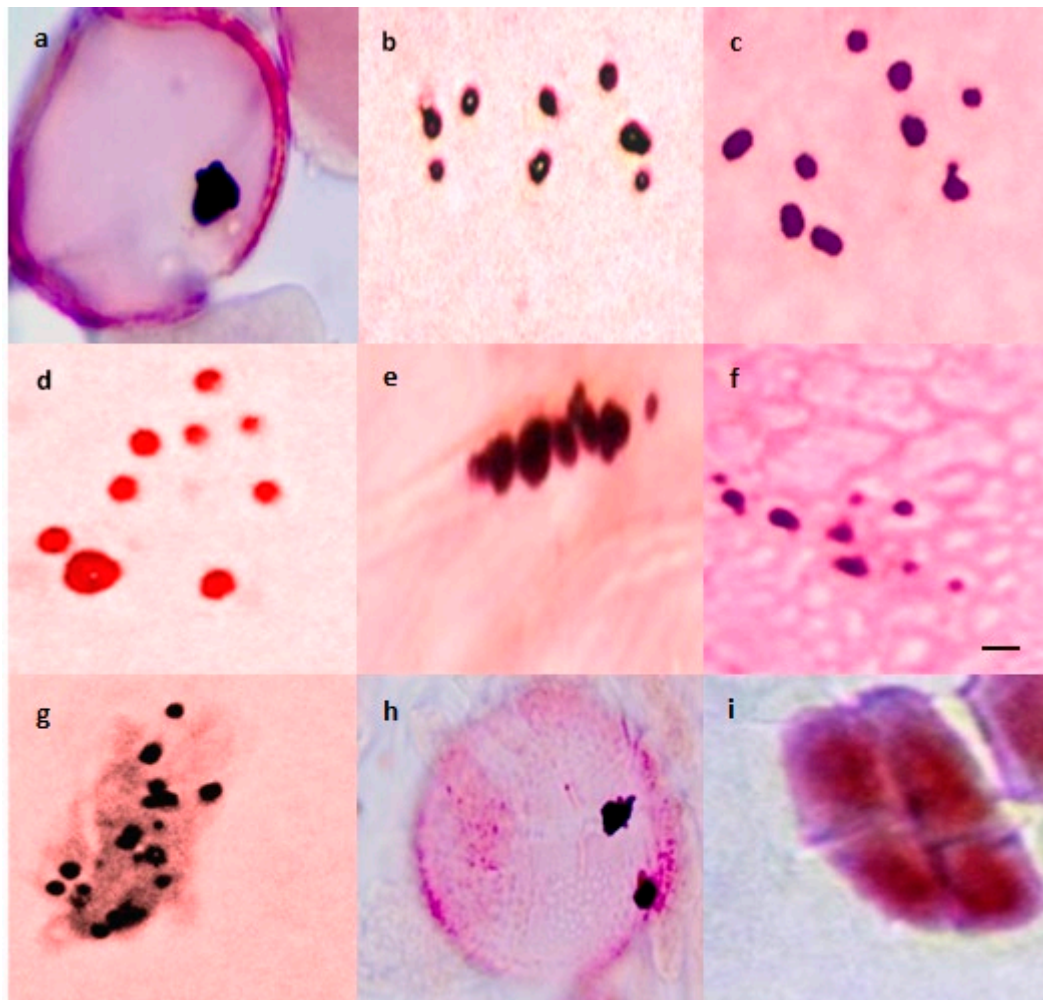
**Table 4.** Morphometric data within the population 25/10 ( $2n=16$ ) of *Trifolium subterraneum* L. in Algeria.

Ch p	L ( $\mu\text{m}$ ) ( $\pm\text{SD}$ )	S ( $\mu\text{m}$ ) ( $\pm\text{SD}$ )	TL ( $\mu\text{m}$ )	RL %	d	r	Ci %	Ct
1	1.14 (0.23)	0.91 (0.02)	2.05	159.96	0.22	1.24	44.57	m-sat
2	1.12 (0.10)	0.82 (0.01)	1.94	151.56	0.31	1.37	42.14	M
3	0.96 (0.09)	0.80 (0.01)	1.76	137.50	0.16	1.20	45.60	M
4	0.99 (0.01)	0.73 (0.02)	1.72	134.38	0.26	1.35	42.30	M
5	0.83 (0.06)	0.67 (0.02)	1.50	117.00	0.16	1.24	44.50	M
6	0.80 (0.02)	0.61 (0.15)	1.41	110.16	0.19	1.31	43.09	M
7	0.73 (0.06)	0.56 (0.20)	1.29	100.78	0.17	1.30	43.41	M
8	0.60 (0.17)	0.56 (0.18)	1.15	90.04	0.04	1.08	48.16	M
	$I_{3as}\%=55.81$	$\Sigma\text{TL}=12.82$	$\text{TLG}=1.6$	$\text{R3}=1.78$	$A_{2(3)}=0.19$			

**Table 5.** Morphometric data within the population 26/10 (2n=18) of *Trifolium subterraneum* L. in Algeria.

Ch p	L ( $\mu\text{m}$ ) ( $\pm\text{SD}$ )	S ( $\mu\text{m}$ ) ( $\pm\text{SD}$ )	TL ( $\mu\text{m}$ )	RL‰	d	r	Ci %	Ct
1	1.36 (0.49)	1.25 (0.36)	2.61	160.10	0.11	1.09	47.94	m-sat
2	1.22 (0.43)	1.04 (0.41)	2.26	138.20	0.18	1.17	46.01	M
3	1.25 (0.58)	0.90 (0.33)	2.15	131.45	0.35	1.38	41.96	M
4	1.14 (0.50)	0.85 (0.39)	1.99	121.50	0.29	1.34	42.75	M
5	1.00 (0.52)	0.75 (0.43)	1.75	107.40	0.25	1.33	42.94	M
6	0.91 (0.38)	0.70 (0.28)	1.61	98.97	0.21	1.30	43.50	M
7	0.82 (0.16)	0.68 (0.23)	1.50	92.08	0.14	1.20	45.42	M
8	0.77 (0.30)	0.71 (0.25)	1.48	90.55	0.06	1.09	47.88	M
9	0.56 (0.05)	0.47 (0.02)	1.03	62.48	0.09	1.20	45.15	M
I4as%=55.07		$\Sigma\text{TL}=16.38$	TLG=1.82	R4=2.54	$A_{2(4)}=0.26$			

Ch p: chromosome pair, L: long arm, S: short arm, TL: total length of chromosome, LR (‰): relative length, d: long arm - short arm; r: long arm / short arm, Ic: centromeric index, Ct: chromosome type, Ias%: asymmetry index, R: longest / shortest pair,  $\Sigma\text{TL}$ : total length of diploid set, TLG: average of total length, A2: interchromosomal asymmetry index, (SD): standard deviation, sat: satellites.



**Figure 4.** Pollen meiosis in some natural populations of *Trifolium subterraneum* L. in Algeria L. (a) pollen cell; (b) Diakinesis (population 22/10, n=x=8); (c) Diakinesis (22/10, n=x=9); (d) Diakinesis (population 23/10, n=x=8); (e) Metaphase I (population 23/10, n=x=8); (f) Metaphase I (population 23/10 n=x=9); (g) Anaphase I; (h) Telophase I; (i) Tetrade. Bar: 2  $\mu\text{m}$ .

anaphases I (Figure 4). This allowed us to authenticate the basic haploid number ( $x = 8$ ) for the populations (12/10; 13/10; 19/10; 20/10; 33/10). Likewise, it confirms the presence of the two chromosome numbers ( $2n = 16$  and  $18$ ) detected in mitosis, within the four populations (22/10; 23/10; 25/10; 26/10), through the appearance of two basic haploid numbers ( $x = 8$ ) and ( $x = 9$ ).

## DISCUSSION

In this study, the chromosome numbers, karyogram, idiogram and karyotype asymmetry of naturel populations of *Trifolium subterraneum*, were determined. Mitotic metaphases showed both the same chromosome number ( $2n=16$ ) in all studied populations. This number was previously reported by several authors within different ecotypes and varieties from several areas (Senn 1938; Angelo 1975, 1977, 1983; Zohary and Heller 1984; Hezamzadeh Hijazi and Ziaeinasab 2006; Vizintin et al. 2006; Falistocco et al. 1987; Falistocco et al. 2013), considering  $x=8$ , as being the ancestral basic chromosome number of the species. Meanwhile, four populations presented two numbers of chromosome ( $2n=16$  and  $18$ ) within the cells of the same individual, and also in different individuals of the same population.

The number of chromosomes, as one of the genetic variations, is extremely variable ranging from low numbers to relatively high numbers (Eroğlu and Per 2016). A change in the basic chromosome number of a species represents dysploidy (Yakovlev 1996). According to the same author, this change can occur either in the direction of an increase (ascending dysploidy) or a decrease (downward dysploidy). In plants, this last case seems to be the most frequent, it results from the simultaneous or successive action of several cytogenetic mechanisms (Robertsonian translocation, deletion ...) (Yakovlev 1996).

Contandriopoulos (1978) reports  $2n = 30, 32$  and  $34$  for *Sideritis libanotica* Labill. This author notes that dysploidy still seems anarchic and has not succeeded to form populations with stable karyotypes having their own geographical distribution and a particular morphological differentiation. In such case, according to the same author, it would seem more judicious to speak about hyper and hypoaneuploidy. Aneuploidy may present the beginning of the mechanism leading to dysploidy, provided that the individuals carrying the aneuploid number are able to multiply then impose itself in the population (Contandriopoulos 1978).

Yakovlev (1996) considers that a variable chromosome number within the same population is both an aneuploidy and dysploidy phenomenon, which is dif-

ficult to draw the line between these two phenomena, especially when it is polyploid taxa. An Intra-specific dysploidy represents a transitional step towards a definitive change in the basic chromosome number (Yakovlev 1996). The populations in which such change has occurred and fixed represent, well probably, the direct ancestors of future dysploide species (Yakovlev 1996).

In the genus *Trifolium*, many variations of the nombre de chromosomes ( $2n = 16, 14, 12,$  and  $10$ ) characterize different diploid species, and in some instances cytological variants occur within the same species (Falistocco et al. 2013).

Brock (1953) counted two different chromosome numbers ( $2n = 12$  and  $16$ ) in the species *Trifolium subterraneum* growing in various regions. This author suggested that the difference could be the result of a chromosomal rearrangement without loss of genetic material.

In the same genus, two basic numbers ( $X = 8$  and  $9$ ) were highlighted within the populations of two species of *Trifolium*: *T. ornithopodiodes* from the British Isles (Rutland 1941; Muñoz-Rodríguez 1995), and also in *T. montanum* var. *montanum*. of Iberian Peninsula (Bleier 1925a; Muñoz-Rodríguez 1995). Issolah and Abdelguerfi (1999b), evenly showed the presence of two basic chromosome numbers ( $x = 5$  and  $6$ ) in the Algerian populations of *Trifolium scabrum*.

According to Pritchard (1969) and Zohary and Heller (1984), the dysploidy is consistently linked to the annual species, and are most common within sections that are at a more advanced stage of evolution, such as *Trifolium* and *Tricocephalum*, in which all the four basic numbers ( $x = 8, 7, 6$  and  $5$ ) may be found. Uslu (2012) has shown that taxa in the *Trifolium* section, growing in Turkey, have three numbers ( $x = 6, 7$  and  $8$ ).

Within the tribe *Trifolieae*, Darlington and Jamaki (1945) and Darlington and Wylie (1945) reported three basic numbers ( $x = 7, 8,$  and  $9$ ). The last basic number ( $x = 9$ ) was detected in Europe in *Trigonella ornithopodiodes* L. (DC) (Darlington and Wylie 1945). This species was reclassified later, for taxonomic reasons, in the *Trifolium* genus (Allen and Allen 1981).

Within the *Fabaceae* family, several cases, observing more than one basic chromosome number, have been reported in different genera including *Onobrychis*, with  $x = 7$  and  $x = 8$  (Hejazi et al. 2010, Arslan et al. 2012) and *Genista* where the most common number of chromosomes is  $2n = 48$ , with the exception of the aneuploid number ( $2n = 44$ ) revealed in *Genista ovina* (Bacchetta et al. 2012). The same process was detected in species of the genus *Hedysarum*, among which, *H. pallidum* ( $2n = 16$  and  $18$ ) (Benhizia et al. 2003); *H. coronarium* ( $2n =$

16 and  $2n = 18$ ) (Issolah et al. 2006) and *H. perrauderianum* ( $2n = 32$  and  $18$ ) (Benhizia et al. 2013).

In the *Poaceae* family, dysploidy was observed in *Lygeum spartum* L., whose cytogenetic study revealed two basic chromosome numbers, in two Algerian populations of different origins ( $2n = 16$  and  $40$ ) (Abddaim-Boughanmi et al. 2009). According to the same authors, the population ( $2n = 40$ ), also presented a variability of the chromosome number within the same individual.

Yakovlev et al. (2017) have shown that constitutive heterochromatin, DNA GC rich and rRNA are involved in chromosomal rearrangements during the change in basic chromosome numbers in Mediterranean species of the genus *Reichardia* Roth. (*Asteraceae*). These species are characterized by three basic chromosome numbers ( $x = 9, 8$  and  $7$ ), which have contributed to the evolution of the genus in the Mediterranean region (Yakovlev et al. 2017).

Concerning chromosome size, our results ( $1.02-3.1\mu\text{m}$ ) seem to be relatively inferior to those found by Falistocco et al. (2013) on Italian accessions of *Trifolium subterraneum* ( $2.5-3.5\mu\text{m}$ ). But then, this size appears to be very similar to that recorded in *T. lappaceum* species of Iran ( $3.03\mu\text{m}$ ), but smaller than the sizes reported in other *Trifolium* species of Iran (*T. angustifolium*:  $14.56\mu\text{m}$ , *T. leucanthum*:  $12.32\mu\text{m}$ , *T. tumens*:  $11.09\mu\text{m}$ ) (Alimardani et al. 2014). Our data are also close to those found within some *Trifolium* species in Turkey, such as *T. echinatum* ( $1.41-2.74\mu\text{m}$ ) and *T. phleoides* ( $1.73-2.78\mu\text{m}$ ) (Uslu 2012), and appear to be superior to those recorded by kiran et al. (2010) in *T. speciosum* Willd. ( $0.99-1.64\mu\text{m}$ ) and *T. campestris* Scherb ( $1.13-1.73\mu\text{m}$ ).

Within the same family (*Fabaceae*), the size of *T. subterraneum* chromosomes, found during our study, is relatively close to those reported for some species of the genera *Hedysarum*, *Astragalus* and *Asparagus* studied in Algeria (Benhizia et al. 2003 ; Issolah et al. 2006, Benhizia et al. 2013; Baaziz et al. 2014 and Boubetra et al. 2017).

Our observations highlighted satellites at the first pair of chromosomes. The presence of satellites and their location on the first chromosome pair joins the result found by Falistocco et al. (2013) on Italian accessions. According to Falistocco et al. (1987) and Falistocco et al. (2013), these satellites are present in the three subspecies of *T. subterraneum* (*subterraneum*, *brachycalycinum*, *yanninicum*), and their size can be used for discriminating the three subspecies. The satellites are more important in *yanninicum* and medium in the other two subspecies (Falistocco et al. 1987).

In all populations, the chromosomes are median. This confirm the results of Falistocco et al. (2013) on Italian accessions, characterized also by median chro-

mosomes, whereas, Angelo et al. (1983) have described two chromosomes types (median and submedian) for Spanish ecotypes. Moreover, two types of karyotypes were identified for the Iranian accessions: the first consists on eight median pairs; the second karyotype is composed by six median pairs and two submedian pairs (Hezamzadeh Hijazi and Ziaeinassab 2006).

Karyotype asymmetry is an important parameter in karyological studies (Eroğlu 2015). In our case, the karyotype ( $2n=16$ ) of Algerian populations of *Trifolium subterraneum* is very symmetrical. This seems to be a common trait with Italian populations of *T. subterraneum* karyotype (Falistocco et al. 2013), but differs from the Iranian ones. The latter populations of *T. subterraneum* ( $2n = 16$ ) are characterized by low intrachromosomal symmetry (Hezamzadeh Hijazi and Ziaeinassab 2006).

On the other hand, the karyotype of the population  $2n = 18$  is considered relatively symmetrical because of the high value of interchromosomal asymmetry. Thus, Muñoz-Rodríguez (1995) does not consider the karyotype of the species *Trifolium ornithopodioides* ( $2n=18$ ) as asymmetrical, despite the high value of the asymmetry index A2 (0.20). The author noticed this, because of the more or less uniform sizes of the chromosome pairs, except for the first pair, which was larger than the others (Muñoz-Rodríguez 1995).

In the species *Reichardia picroides* (*Asteraceae*), Yakovlev (1986) has suggested that this is a case of secondary symmetry due to chromosomal rearrangements.

The analysis of pollen meiosis confirmed the results obtained in mitosis. At the end of these results we have found that the Algerian populations of *T. subterraneum* are characterized by two chromosomal formulas. The first, ( $2n = 2x = 16m$ ) (median) usually reported by previous authors, and the second ( $2n = 2x = 18m$ ) revealed for the first time in this species throughout our present work. It is important to note that the new formula ( $2n = 2x = 18m$ ) is observed particularly in populations sampled from high altitude sites (800-1110 m), belonging to the same biogeographic area and characterized by a high rainfall (700-900 mm). Consequently, the variation in the chromosome number observed in the populations of this species and the appearance of a new chromosome pair seems to be influenced by these two ecological factors (altitude and rainfall).

Meanwhile, the same populations considered through our study have been the subject of previous work on the ecological characterization of the natural habitat of *T. subterraneum* in Algeria (Issolah et al. 2015). Thus, the results of this latest study have shown that the variation of the edaphic, climatic, and topographic characteristics of the origin sites of these popu-

lations influences the distribution of this species in the North-Est Algeria (Issolah et al. 2015). Significant relationships were found between altitude and rainfall and the physico-chemical parameters of the soils of these populations, and the effect of altitude was relatively more pronounced notably on the nitrogen, clay, pH and C / N ratio (Issolah et al. 2015). Abdelguerfi et al. (2006) indicate that *T. subterraneum* is more prevalent in heavily watered and moist regions. Rossiter and Collins (1988a, 1988b) and Cocks (1992) also observed greater variability of subterranean clover populations in high rainfall areas in Australia.

Various studies have shown that differences in the origin's areas of populations and the variation of the environmental factors of the natural habitat may explain the intra-specific differences. Thus, they can affect the variation of chromosome numbers, ploidy level, chromosome structure, and asymmetry of karyotype in certain species belonging to the genera: *Trifolium* (Issolah and Abdelguerfi, 1999b, Issolah 2006); *Hedysarum* (Issolah et al. 2006, Benhezia et al. 2013); *Bellevalia* and *Muscari* (Azizi et al. 2016); *Asparagus* (Boubetra et al. 2017). Environmental factors also, influenced karyotype parameters in *Aegilops* (*Poaceae*) species (Baik et al. 2017). Significant relationships were found between Altitude, total lengths chromosome set and interchromosomal asymmetry on the one hand and, on the other hand, between rainfall and intrachromosomal asymmetry (Baik et al. 2017).

According to Hayward and Breese (1993), natural habitats are rarely, if ever, uniform in space and time and can encompass several distinct micro-niches or go through large seasonal fluctuations. Although *Trifolium subterraneum* is a self-pollinating species, Allard and Adams (1969) and Hayward and Breese (1993), report that fluctuations and variation in edaphic conditions at the site of origin trigger in self-pollinated species, a disruptive selection that produces and maintains high levels of variability in wild populations.

In Italy, a relationship between many morphological characteristics and the ecological factors of the environment of origin (altitude and rainfall) has been determined in several populations of *T. subterraneum* from Sicily (Piano et al. 1993, Pecetti and Piano 1998).

In a large collection of subsp. *subterraneum* germplasm of Sardinia, Piano et al. (1996, 2002) found that the level of complexity for various traits varied greatly among populations and was influenced by the climatic characteristics of the collection sites.

Within the genus *Trifolium*, interesting relationships have been found between many morphological characteristics and some ecological factors (altitude and rainfall) of the environment of origin of several spon-

aneous Algerian populations belonging to various species (*T. campestre*, *T. glomeratum*, *T. tomentosum*, *T. resupinatum*, *T. scabrum*, *T. lappaceum*, *T. spumosum*) (Issolah and Abdelguerfi 1993, 1995, 2003 ; Issolah 2006). In addition, Medoukali et al. (2015), do not report any significant relationship between the morphological characteristics and the environment of origin of populations belonging to several *Trifolium* species (*T. angustifolium*, *T. lappaceum*, *T. resupinatum*, *T. tomentosum*, *T. scabrum*, *T. campestre*, *T. fragiferum*, *T. pallidum*, *T. pallescens*, *T. squarrosum*, *T. glomeratum*, *T. cherleri*, *T. stellatum*, *T. repens* and *T. spumosum*). Nevertheless, a large genetic variation of isoenzymes has been observed (Medoukali et al. 2015).

Although the species is self-pollinated with cleistogamous flowers (Katznelson and Morley 1965), there is a possibility of occasional cross breeding, and this exceptional rarefaction could be of great importance for the evolution of *T. subterraneum*. Marshall and Broué (1973) estimated the cross-pollination rate of the Australian clover populations at 0.15%. Variation released by occasional hybridization can then be fixed by selfing and made available to natural selective pressures (Cocks 1992b). According to Piano (1984), natural populations of subterranean clover were formed by clusters of several genetically distinct strains. This would probably explain the chromosomal variation observed in this study within and between populations. As a result, the different populations of *T. subterraneum* would have been crossed.

Meanwhile, four populations from the same region exhibited the same somatic behaviour ( $2n = 16$  and  $18$ ) (within the same individual and between different individuals) and meiotic ( $n = x = 8$  and  $n = x = 9$ ). These populations would probably be evolved in time, since they belong to a species of the "*Trichocephaleum*" section considered, according to Zohary and Heller (1984), as the most evolved section compared to other sections of the genus *Trifolium*. This section is therefore composed of species, whose interaction, with the various ecological characteristics of the natural habitat, would affect the chromosomal rearrangements and evolutionary trends of the populations within *T. subterraneum* species.

## CONCLUSION

This study permitted to identify and analyse the intraspecific diversity of the chromosome numbers and karyotypes within nine natural populations of *Trifolium subterraneum*, originating from the different areas of the north eastern Algeria. Two chromosome numbers

are distinguished in this species:  $2n=16$  ( $x=8$ ) and  $2n=18$  ( $x=9$ ). The first number ( $2n=16$ ), is widely detected by previous authors, while the second one ( $2n=18$ ) is newly observed in Algerian populations of this species. The latter number ( $2n=18$ ) is frequently met in populations coming from the high altitude areas. The ecological conditions of the origin's environment of the populations would have an effect on the changes in the genetic and karyological structure, particularly the altitude factor. This karyological approach provides new information that will help researchers to elucidate and complete the systematics and the nature of diversity within *Trifolium subterraneum* species. However, thorough investigations of the morphological and molecular aspects of these natural populations would be necessary, to determine the limits of dysploidy. Furthermore, comparative analysis with other populations from different origins would help to understand more about the genome evolution process of *T. subterraneum* populations in their environment of origin. This would permit to valorize and develop this plant genetic resource in the Mediterranean area, especially in Algeria.

#### REFERENCES

- Allen O N, Allen E.K.1981. *The leguminosae*, Macmillon.C.O, London.
- Abdeddaim-Boughanmi k and Kaid-Harche M. 2009. Structure, ultrastructure of the Anther pollen microsporogenesis and morphology of pollen grains of two populations of *Lygeum spartum* L. in Algeria. *Americ J. Agric. and Biol Sci.* 4 (3) 201-205.
- Abdelguerfi A, Abdelguerfi-Laouar M, M'hammedi Bouzina M, Guittonneau GG, Huguet T, Abbas K, Mebarkia A, Aouani M E and Madani T. 2006. Distribution et écologie de quelques Fabaceae spontanées d'intérêt pastoral et / ou fourrager en Algérie. Workshop international sur la Diversité des fabacées fourragères et de leurs symbiotes : Applications biotechnologiques, agronomiques et environnementales. Alger, 19-22 Février 2006: 27-36.
- Alimardani F, Torabi S, Naghavi R, Ebrahimi A. 2014. Study of cytological among some *Trifolium* species of Iran. *Interciencia.* 39 (4) 147- 151.
- Allard RW. 1965. Genetic systems associated with colonizing ability in predominantly self-pollinated species. In: Baker H.G. and Stebbins G.L. (Eds), Proc. First International Union of Biological Sciences Symp. Academic Press, New York, pp. 49- 75.
- Allard RW, Adams J. 1969. Population studies in predominantly self-pollinating species. XII. Intergenotypic competition and population structure in barley and wheat. *Am. Nat.* 103: 621- 645.
- Angulo MD, Sanchez de Rivera A.M. 1975. Studies on *Trifolium subterraneum* ecotypes. *Cytologia*, 40: 415-423.
- Angulo MD, Sanchez de Rivera.1977. Comparative chromosomal study of Spanish ecotypes and Australian cultivars of *Trifolium Subterraneum* L. *Cytologia* 42: 473-482.
- Angulo MD, Sanchez de Rivera.1983. Karyological studies on Spanish taxa of *Trifolium subterraneum* L. *Cytologia* 48: 305-312.
- Arano H, Saito H. 1980. Cytological studies in family Umbelliferae.V. Karyotypes of seven species in subtribe *Seselinae*. *Chromosoma.* 2 (17): 471-480.
- Arslan E, Ertuğrul K, Tugay O, Dural H. 2012. Karyological studies of the genus *Onobrychis* Mill. and the related genera *Hedysarum* L. and *Sartoria* Boiss. & Heldr. (*Fabaceae*, *Hedysareae*) from Turkey. *Caryologia.* 65 (1): 11-17.
- AxioVision 1999- 2009. By Carl Zeiss. Release 4.8.1.
- Azizi N, Amirouche R, Amirouche N. 2016. Karyological investigations and new chromosome number reports in *Bellevalia* Lapeyrouse, 1808 and *Muscari* Miller 1758 (*Asparagaceae*) from Algeria. *Comp Cytogen* 10: 171-187. doi : 10.3897/CompCytogen.v10i1.6445.
- Bacchetta G, Brullo S, Velari TC, Chiappella LF, Kosovel V. 2012. Analysis of the *Genista ephedroides* group (*Fabaceae*) based on karyological, molecular and morphological data. *Caryologia.* 65(1):47-61.
- Baaziz K, Benamara-Bellagha M, Pustahija F, Brown CS, Siljak-Yakovlev S, Khalfallah N. 2014. First karyotype analysis, physical rDNA mapping and genome size assessment in four North African *Astragalus* taxa (*Fabaceae*). *Turkish J. Bot.*, 38: 1248-1258. doi: 10.3906/bot-1405-40.
- Baik N, Maamri F, Bandou H. 2017. Karyological study and meiotic analysis of four species of *Aegilops* (*Poaceae*) in Algeria. *Caryologia.*70 (4) : 324-337. Doi.org/10.1080/00087114.2017.1387340.
- Benhizia H, Benhizia Y, Ghernoub L, Siljak-Yakovlev S, Khalfallah N. 2013. Meiotic behaviour and karyotype features of endangered endemic fodder species *Hedysarum perrauderianum* (*Fabaceae*) in some populations from Algeria. *Caryologia \_Firenze.* doi: 10.1080/00087114.2013.821838.
- Benhizia H, Rached-Mosbah O, Benhizia Y, Kouachi A, Khalfallah N. 2003. Etude cytogenétique d'*Hedysarum pallidum* Desf. Espece endémique Nord-africaine, tolérante à l'antimoine. *Université de Constantine. Sciences et Technologie C.* 20: 7-13.
- Boubetra K, Amirouche N, Amirouche R. 2017. Comparative morphological and cytogenetic study of

- five *Asparagus* (*Asparagaceae*) species from Algeria including the endemic *A. altissimus* Munby. *Turk J Bot.* 41: 588-599. doi: 10.3906/bot-1612-63
- Bleier, H. 1925 b. Chromosomenzahlen und Kern volumina in der Gattung *Trifolium*. *Ber. Deutsch Bot. Ges.* 43(5): 236-238.
- Britten E. 1963. Chromosome number in the genus *Trifolium*. *Cytologia*, 28: 428-449.
- Brock RD.1953. Species formation in *Trifolium subterraneum*. *Nature*, 171:939. doi 10.1038/171939a0. PMID: 13054785.
- Cocks, P.S. 1992b. Evolution in sown populations of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in South Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 43:1583–1595.
- Contandriopoulos J. 1978. Contribution à l'étude cytologique des *Sideritis* section *Empedoclea* (*Labiatae*). *Plant Syst. Evol.* 129(4): 277-289.
- Darlington CD, Janaki Ammal, E.K. 1945. Chromosome Atlas of cultivated plants. Allen and Unwin, London.
- Darlington CD, Wylie AP. 1945. Chromosome Atlas for flowering plants, George Allen and Unwin Ltd., London.
- Dyer AF. 1963. The use of lactopropionic orcein in rapid squash methods for chromosome preparations. *Stain. Technol.* 38: 85–90.
- Ellison NW, Liston A, Steiner JJ, Williams WM, Taylor NL. 2006. Molecular phylogenetics of the clover genus (*Trifolium-Leguminosae*), *Mol. Phylogenet. Evol.* 39 (2): 688-705.
- Eroğlu HE. 2015. Which chromosomes are subtelo-centric or acrocentric? A new karyotype symmetry/asymmetry index. *Caryologia*. 68: 239- 245.
- Eroğlu HE, Per S. 2016. Karyotype analysis of *Zygoribatula cognata* (Oudemans) (Acari: Oribatida: *Oribatulidae*). *Turk Entomol. Derg.* 40: 33-38.
- Excel 2007. Windows 8. Microsoft office.
- Falistooco E, Piccirilli M, Falcinelli M. 1987. Cytotaxonomy of *Trifolium subterraneum* L. *Caryologia*. 40: 123–130.
- Falistooco E, Marconi G, Falcinelli M. 2013. Comparative cytogenetic study on *Trifolium subterraneum* (2n = 16) and *Trifolium israeliticum* (2n = 12). *Genome* 56: 307–313.
- Gillett J M, Taylor NL. 2001. *The World of Clovers*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Gladstones JS, Collins WJ.1983. Subterranean clover as a naturalized plant in Australia. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 49: 191–202.
- Hayward MD, Breese EL. 1993. Population structure and variability. In: Hayward M.D., Bosemark N.O. and Romagosa I. (Eds), *Plant breeding. Principles and Prospects*. Chapman & Hall, London, pp. 16–29
- Hezamzadeh Hijazi S M, Ziaeinassab M. 2006. Karyological study on some of species of *Trifolium* Genus in Iran. *Iran. J. of Biol.* 19 (3): 299 - 313.
- Hejazi H, Mohsen S, Nasab MZ. 2010. Cytotaxonomy of some *Onobrychis* (*Fabaceae*) species and populations in Iran. *Caryologia*. 63(1):18–31.
- Hutton EM, Peak JW. 1954. The Effect of autotetraploidy in five varieties of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) *J.agrc .Res.* 5: 356-364.
- Issolah R, Abdelguerfi A. 1999 a. Variability within 31 spontaneous populations of *Trifolium scabrum* L., nature of relations with factors of the site of origin. *Cahiers options méditerranéennes*, 39: 123-127.
- Issolah R, Abdelguerfi A. 1999b. Chromosome numbers within some spontaneous populations of *Trifolium* species in Algeria. *Caryologia*, 52: 151-154.
- Issolah R. 2006. Synthèse de travaux réalisés sur des populations algériennes de plusieurs espèces du genre *Trifolium* L. Workshop international « Diversité des Fabacées fourragères et de leurs symbiotes : Applications Biotechnologiques, Agronomiques et Environnementales ». Alger, Algérie. 19-22 Février 2006: 81-83.
- Issolah R, Benhizia H, Khalfallah N. 2006. Karyotype variation within some natural populations of *Sulla* (*Hedysarum coronarium* L., *Fabaceae*) in Algeria. *Genet Resourc Crop. Evol.* 53(8):1653– 1664.
- Issolah R, Khalfallah N. 2007. Analysis of the morpho-physiological variation within some Algerian populations of *Sulla* (*Hedysarum coronarium* L.; *Fabaceae*). *J. Biol. Sci.*, 7: 1082-1091.
- Issolah R, Tahar A, Derbal N, Zidoun F, Ait Meziane MZ, Oussadi A, Dehiles I, Bradai R, Ailane M, Terki N, Aziez F, Zouahra, A, Djellal L. 2012. Caractérisation écologique de l'habitat naturel du *Sulla* (*Fabaceae*) dans le Nord-Est de l'Algérie. *Rev. Ecol. (Terre et Vie)*, 67: 295-304.
- Issolah R, Bouazza L, Tahar A, Terki N, Dehiles I, Mansour B, Nagoudi T. 2015. Caractérisation écologique de l'habitat naturel du trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum* L., *Fabaceae*) dans le Nord- Est de l'Algérie. *Rev. Ecol.*, 70: 182-193.
- Issolah R, Tahar A, Sadi S, Adjebi M, Alane F, Chellingsiziani, Lebied M. 2016. Analysis of the behaviour and the chemical composition within populations of *Trifolium subterraneum* L. *J.Biol.Sci.*, 16: 148-154. doi:10.3923/jb.2016.148.154.
- Jahier J, Chevre AM, Delourme R, Eber F, Tangay AM. 1992. Techniques de cytogénétique végétale. INRA. Paris, pp. 1-184.
- Kiran Y, Sahin A, Turkoglu I, Kursat M, Emre I. 2010. Karyology of seven *Trifolium* L. taxa growing in Turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52: 81-85.

- Kliphuis E. 1962. Chromosome numbers of some annual *Trifolium* species, occurring in the Netherlands. Acta Bot. Neerland 11: 90-92.
- Katznelson J. 1974. Biological flora of Israel. 5. The subterranean clovers of *Trifolium* subsect. *Calycomorphum* Katzn. *Trifolium subterraneum* L. (sensu lato). Isr J Bot 23: 69-108.
- Katznelson J, Morley F. 1965 a. Speciation processus in *Trifolium subterraneum* L. Israel J. Bot. 14:15-35.
- Levan A, Freda K, Sandberg AA 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas. 52: 201-220.
- Marshall DR, Broue' P. 1973. Outcrossing rates in Australian populations of subterranean clover. Aust. J. Agric. Res. 24: 863-867.
- Masson P. 1997. Des prairies de très longue durée avec des espèces annuelles à ressemis spontané : les pâtures à trèfle souterrain. *Fourrages*, 153: 139-146.
- Medoukali I, Bellil I, Khelifi D. 2015. Evaluation of Genetic Variability in Algerian Clover (*Trifolium* L.) Based on Morphological and Isozyme markers. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 51(2): 50-61.
- Muñoz-Rodríguez AF. 1995. *Trifolium* sect. *Paramesus* and Sect. *Trifolium* in the Iberian Peninsula II. Karyological study. Stud Bot. 14:103-128.
- Pecetti L, Piano E. 1998. Leaf size variation in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L. sensu lato). Gene.Res.crop. Evol. 45: 161-165
- Pecetti L, Piano E. 2002. Variation of morphological and adaptive traits in subterranean clover populations from Sardinia (Italy). Gene.Res.crop. Evol. 00:0-1.
- Piano E. 1984. Preliminary observations on the structure and variability of Sardinia populations of subterranean clover. Genet. Agr. 38: 75-90.
- Piano E, Spanu F, Pecetti L. 1993. Structure and variation of subterranean clover populations from Sicily, Italy. Euphytica 68: 43-51.
- Piano E, Pecetti L. 1996. Selecting subterranean clover varieties for Mediterranean environments in Italy. In: Parente G., Frame J. and Orsi S. (Eds), Grassland and land use system. Proc 16th EGF Meet. ERSA, Gorizia, pp. 283-286.
- Piluzza G, Pecetti L, Bullitta S, Piano E. 2005. Discrimination among subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L. complex) genotypes using RAPD markers. Genetic Resources and Crop Evolution 52, 193-199.
- Pritchard A J. 1969. Chromosome numbers in some species of *Trifolium*. Austral. J. Agric. Res. 20: 883- 887.
- Quezel P, Santa S. 1962. Nouvelle flore de l'Algerie et des régions desertiques meridionales. Tome I. Ed. CNRS, France.
- Rossiter RC, Collins WJ. 1988 a. Genetic diversity in old subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) populations in Western Australia. 1. Pastures sown initially to the Dwalganup strain. Aust. J. Agric. Res. 39: 1051-1062.
- Rossiter RC, Collins WJ. 1988 b. Genetic diversity in old subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) populations in Western Australia. 2. Pastures sown initially to the Mount Barker strain. Aust. J. Agric. Res. 39: 1063-1074.
- Romero Zarco C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35:526-530.
- Rutland J.P. 1941. The menton catalogue. A list of chromosome numbers of British plants. Suppl. 1. New Phytol. 40: 210.
- Senn HA. 1938. Chromosome number relationship in the *Leguminosae*. Biblioth. Genet. 7: 175- 336.
- Siljak-Yakovlev S 1996. La dysploïdie et l'évolution du caryotype. Bocconea. 5: 211-220.
- Siljak-Yakovlev S, Godelle B, Zoldos V, Vallès J, Garnatje T , Hidalgo O.2017. Evolutionary implications of heterochromatin and rDNA in chromosome number and genome size changes during dysploidy: A case study in *Reichardia* genus. Plosone 12(8): e0182318. doi.org/ 10.1371/ journal. Pone .0182318.
- Singh R J. 2018. Practical manual on plant cytogenetics. CRC Press, Boca Raton, Boca Raton, FL 33487-2742 © 2018 by Taylor & Francis Group, LLC, pp 1-347.
- Taylor NL. (Editor). 1985. Clovers around the world. In Clover science and technology. American Society of Agronomy, Madison, Wisc. pp. 1-6.
- Uslu E. 2012. Karyology of nine *Trifolium* L. taxa from Turkey. Caryologia. 65(4): 304-310.
- Vizintin L, Javornik B, and Bohanec B. 2006. Genetic characterization of selected 15 *Trifolium* species as revealed by nuclear DNA content and ITS rDNA region analysis, 16 Plant. Sci. 170: 859-866.
- Yates JJ, Brittan NH. 1952. Cytological studies of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). Aust. J. Agric. Res. 3: 300-304. doi: 10.1071/ AR9520300.
- Weselxén H. 1928. Chromosome number and morphology in *Trifolium*. Univ .of Calif. Publ. Agric. Sci.2: 255-376.
- Zohary D, Katznelson J. 1958. Two species of subterranean clover in Israel. Aust. J. Bot. 6: 177-182. doi: 10.1071/BT9580177.
- Zohary M, Heller D. 1984. The genus *Trifolium*. Israel Academy of Sciences and Humanities. Jerusalem. pp. 1-606.