

Les ressources phylogénétiques fourragères et pastorales : de l'érosion à la conservation

Abdelkefi A., Marrakchi M.

in

Sulas L. (ed.).
Legumes for Mediterranean forage crops, pastures and alternative uses

Zaragoza : CIHEAM
Cahiers Options Méditerranéennes; n. 45

2000
pages 15-27

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=600161>

To cite this article / Pour citer cet article

Abdelkefi A., Marrakchi M. **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, 2000. p. 15-27 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 45)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

Les ressources phylogénétiques fourragères et pastorales: de l'érosion à la conservation

A. Abdelkefi and M. Marrakchi

Lab. Génétique, Faculté des Sciences, 1060 Tunis, Tunisie

Résumé - L'érosion phylogénétique s'accroît à la suite de pressions anthropiques multiformes: propagation des monocultures à base génétique étroite, homogénéisation progressive et irréversible du matériel végétal utilisé et diffusé, extension des terres cultivées, destruction irrémédiable de la végétation naturelle, surpâturage. Ce constat impose des programmes de sauvegarde des ressources phylogénétiques, faute de pouvoir préserver les «centres de diversité» génétique. Un large cortège floristique constitue les ressources phylogénétiques fourragères et/ou pastorales, toutefois les graminées et les légumineuses en tant que plantes cultivées forment la pierre angulaire dans les stratégies d'alimentation du bétail. La palette d'outils adaptées à l'évaluation, la caractérisation et la conservation des ressources phylogénétiques s'élargit régulièrement au fur et à mesure des mises au point biotechnologiques nouvelles.

Mots clés: ressources phylogénétiques, fourragères, pastorales, conservation, évaluation, biotechnologies

Summary - Genetic erosion is emphasized following diverse anthropic pressures such as extension of monoculture with narrow genetic base, continuous and irreversible homogenization of plant material utilised at larger scale, extension of cultivated lands, overgrazing and destruction of natural vegetation. These considerations require drastic safeguard programs of genetic resources because of the impossibility of preserving the «genetic diversity centers ». A large spectrum of flora constitutes the forage and for the pastoral genetic resources. However, both graminea or leguminous cultivated species, constitute the basic elements in the feeding strategies of cattle. The methodologies and tools used to evaluate, characterize and preserve the plant genetic resources are more and more diverse following the establishment of new biotechnology procedures.

Key-words: forage, pastoral, genetic resources, preservation, evaluation, biotechnologies

Introduction

Dans les pays méditerranéens marqués par une insuffisance pluviométrique chronique (particulièrement la péninsule Ibérique et les pays de la rive sud) l'extension des espaces naturels dégradés est la résultante de pressions anthropiques multiformes associées à la sécheresse: pression démographique et extension urbaine au détriment des meilleures terres agricoles, déboisement, défrichement des parcours et réduction des espaces réservés au pâturage, mise en culture opportuniste et abandon des terres, surpâturage. La destruction du tapis végétal accentue l'érosion éolienne, favorise l'érosion hydrique et entraîne la disparition de nombreuses espèces végétales, exposant ainsi la région à la désertification. "D'après Le Houérou (1993) le terme "désertification" est ambigu et revêt au moins trois sens différents : *1. réduction du potentiel productif des terres = dégradation; *2.abandon des terres (surtout en Europe occidentale) = "déprise" = exode rural = désertion; *3.extension irréversible des conditions désertiques à des zones arides qui n'en présentaient pas les caractères = désertisation ."

Suivant les régions considérées l'un ou l'autre aspect de cette définition s'applique .Si les pays de la rive nord sont en général concernés par la "dégradation" et la "déprise", les pays du sud de la Méditerranée doivent affronter les problèmes complexes posés par la désertisation.

La Tunisie, retenue comme exemple d'étude, illustre bien les situations rencontrées généralement dans les pays du sud. L'extension des terres mises en culture a dévasté, beaucoup plus que le nomadisme, la végétation naturelle. (Despois, 1955). L'accroissement du cheptel tend, comme l'augmentation des surfaces emblavées, à suivre l'explosion démographique de la population humaine constatée dans les pays du sud. Ces pressions, d'ordre anthropique, entraînent une disparition progressive des steppes au profit des jachères céréalières et une dénudation de plus en plus intense des terres non labourables à la suite d'un surpâturage excessif. Lorsque la pluviosité automnale est suffisante, une céréaliculture aléatoire et opportuniste s'exerce sur les meilleures terres réservées aux parcours, cette pratique réduit, ainsi, comme une peau de chagrin les espaces consacrés au pâturage. La généralisation du machinisme, la propagation des monocultures à base génétique étroite ainsi que le surpâturage en milieu aride ont engendré d'une part une perte de pools géniques traditionnellement entretenus dans les cultivars locaux et d'autre part une érosion génétique au sein des espèces spontanées. Sur la rive sud, les limites de la mobilisation de nouvelles terres cultivables sont déjà atteintes, l'amélioration de la productivité, tout en étant un impératif, doit, aussi, permettre l'installation d'un système agraire et/ou agro-pastoral durable en favorisant l'entretien et la sauvegarde de la biodiversité.

L'agriculture au nord de la Méditerranée repose sur les systèmes intensifs et les moyens retenus pour "l'artificialisation" du milieu de culture permettent de mieux contrôler les paramètres de production et d'améliorer l'efficacité des filières productives.

L'agriculture intensive conduit à privilégier les variétés à forte productivité. Cette option est réalisée en assurant une bonne alimentation minérale (engrais), en éliminant la biomasse concurrente (herbicides) et en assurant l'état phytosanitaire (pesticides) de la plante cultivée. Les limites actuelles de cette méthode sont les menaces sur l'environnement, en effet la notion d'équilibre entre les besoins de la plante et les apports en intrants est loin d'être connue et maîtrisée. Cette méconnaissance est à la source des problèmes de pollution chimique d'origine agricole.

L'utilisation quasi exclusive des variétés à haut rendement pose avec acuité les problèmes liés à l'érosion phytogénétique et la nécessité du maintien des réservoirs de variabilité indispensable pour la réalisation de nouveaux programmes de sélection, et répondre aux besoins nouveaux chaque fois qu'ils s'expriment.

La création variétale fourragère démarre véritablement vers "1930" aux U.S.A. et dans les pays d'Europe du nord. Cette activité prend réellement son essor en France seulement après la seconde guerre mondiale. L'inscription au catalogue officiel des variétés fourragères et la certification obligatoire des semences sont les deux piliers du cadre réglementaire qui régit actuellement la création variétale et la production des semences fourragères. Ce cadre législatif apporte aux utilisateurs une garantie sur l'identité et la pureté variétale ainsi que sur les caractéristiques technologiques de la semence.

Les règles édictées par "l'International Seeds Testing Association" : "I.S.T.A.", favorisent la normalisation des procédures de certification des semences. L'harmonisation de ces critères d'évaluation garantit une équivalence de jugement quel que soit le pays de certification, elle permet ainsi de fiabiliser et faciliter les échanges de semences et de variétés entre pays.

Le renforcement des courants d'échanges à caractère commercial tend à standardiser et à homogénéiser au fur et à mesure le matériel végétal utilisé dans une même région agricole.

Si l'homologation des méthodes d'analyses et de traçabilité des semences est importante et indispensable pour protéger les intérêts des agriculteurs et des éleveurs, le catalogue officiel des variétés, en jouant le rôle d'une liste recommandée, participe, d'une certaine manière, à la réduction de la base génétique du matériel biologique utilisé et diffusé. Les nouvelles variétés remplacent au fur et à mesure les cultivars et les vieilles populations de pays.

Par ailleurs la tendance actuelle à la réduction constante du nombre de sélectionneurs et le regroupement des sociétés semencières (Huyghe, 1996) révèle la prédominance sur le marché d'un nombre plus restreint d'obteneurs et marque à notre avis un autre aspect de la réduction de la base de la variabilité des plantes cultivées.

D'après Harlan (1987) les anciens "centres de diversité" sont en train de disparaître, et certains n'existent déjà plus; bientôt, la variabilité disponible pour l'amélioration des plantes proviendra essentiellement de deux sources: -les collections entretenues sous forme de "banques de gènes" ainsi que leurs collections de travail satellites entretenues par les sélectionneurs et *les cultivars couramment utilisés. L'érosion phytogénétique concerne, donc, actuellement l'ensemble de la flore. Toutefois des urgences s'imposent. La priorité nous semble être la sauvegarde des plantes cultivées et les adventices qui leur sont apparentées ainsi que les plantes à vocation fourragère et/ou pastorale.

L'égoïsme de l'homme le pousse naturellement à vouloir amasser des quantités de plus en plus considérables de matériel biologique parce que ces ressources phytogénétiques contiennent, selon le mot de Pernès (1984), "un trésor caché". Il s'agit en fait de savoir comment le déceler.

La prospection et la collecte ne consistent pas seulement à ramasser des plantes ou parties de plantes en attribuant à chacune une fiche de renseignements. Bien qu'il n'existe aucun procédé standard, cette activité doit tenir compte de quelques règles élémentaires et indispensables qu'il faut savoir respecter.

L'échantillonnage en constitue la phase clé. Les méthodes varient selon le type de matériel collecté : graines, organes de propagation végétative (tubercules, bulbes, stolon, ou autre, fruits).

Les méthodes de collecte et les normes d'échantillonnage varient beaucoup selon l'espèce recherchée, sa fréquence, l'étendue de sa culture ou de son aire de répartition pour les plantes spontanées, ainsi que son mode de reproduction: allogame ou autogame.

La collecte, préalable indispensable, conditionne la réussite des étapes suivantes : l'évaluation et le mode de conservation.

L'analyse de la variabilité peut être abordée par un ensemble de techniques allant de l'observation macroscopique du phénotype jusqu'à l'analyse intime de l'A.D.N.

I.) Les Ressources Phytogénétiques Fourragères et Pastorales.

Suivant les régions, l'élevage repose essentiellement soit sur des systèmes performants de production fourragère (Europe occidentale) soit sur une activité de cueillette (pacage sur les parcours naturels dans les pays du sud de la Méditerranée) Quel que soit le type d'élevage, les stratégies d'alimentation du bétail font appel à une large gamme d'espèces dont les rôles sont complémentaires et parfois redondants. Les plantes à vocation fourragère et/ou pastorale sont constituées pour l'essentiel par les **graminées** et les **légumineuses** cependant un certain nombre d'espèces appartenant à d'autres familles, peuvent répondre aux besoins des éleveurs. Un exemple de plantes constitué par les familles suivantes, est cultivé comme fourrages annuels: - *Les Crucifères*: (*Chou fourrager*: "*Brassica oleracea* L.", *Colza*: "*Brassica napus* var. *oleifera*"). - *Les Composées*: (*Tournesol*: "*Helianthus annuus* L.", *Topinambour*: "*Helianthus tuberosus* L."). - *Les Chenopodiacées*: (*Betterave fourragère*: "*Beta vulgaris* L.") etc.

Une large série d'espèces est utilisée comme réserves sur pied particulièrement en zones sèches - *Les Cactacées*: (diverses espèces d'*Opuntia* "*O. ficus indica* var. *inermis*"), - *Les Salsolacées*: (diverses espèces d'*Atriplex*). D'autres catégories de plantes légumineuses et ligneuses (arbres ou arbustes) comme le caroubier, le prosopis ou les acacias, ainsi que les oléastres et même le jujubier fournissent, en zones arides, des réserves fourragères sur pied importantes et utiles en périodes de soudure ou de disette. Enfin toutes les espèces du couvert

végétal, qui constituent la partie plus ou moins "alibile" de la biomasse des parcours naturels, sont considérées comme plantes à vocation pastorale.

L'ensemble de ce cortège floristique forme les ressources phytogénétiques fourragères et pastorales. La sauvegarde de ce patrimoine phytogénétique est indispensable, mais représente une tâche colossale; elle doit être envisagée avec méthode et dans un ordre de priorité dicté par les urgences exprimées dans chaque région.

Quelques exemples, pris parmi ce grand ensemble floristique, seront développés

II) **Les Légumineuses Fourragères** participent, de manière efficace, à une bonne gestion de l'espace dans un milieu caractérisé par la grande variabilité des conditions pédo-climatiques. Certaines espèces annuelles, mais à resemis naturel, ou pérennes peuvent constituer des peuplements rustiques et persistants. Elles offrent, à travers leur grande diversité, une souplesse d'exploitation permettant la mise en place de différentes stratégies d'utilisation adaptées aux besoins et conditions de la région concernée.

II.1) **Le genre Medicago** présente 56 espèces annuelles diploïdes ($2n=16$) et pérennes tétraploïdes ($2n=4x=32$) (Nègre, 1959; Heyn, 1963; Lesins et Lesins, 1979; Small et Jomph, 1989). Une seule espèce arbustive (*M. arborea*) a été recensée. Les formes annuelles sont réputées comme étant autogames, les tétraploïdes sont préférentiellement allogames.

Le pourtour Méditerranéen est l'aire d'expansion naturelle des **Medicago annuelles**. Dans ce continuum écogéographique, les espèces annuelles se retrouvent dans tous les étages bioclimatiques: de l'humide au saharien. Les unes sont à large spectre de répartition les autres ont une distribution spatiale plus délimitée. *M. truncatula* et *M. polymorpha*, présentes dans tous les étages bioclimatiques, sont considérées comme des formes ubiquistes, un ensemble d'espèces formé par *M. ciliaris*, *M. intertexta*, *M. orbicularis* et *M. murex*, s'étend de l'étage humide au semi-aride. Tandis que *M. laciniata* et *M. minima* sont présentes du semi-aride au saharien.

Les espèces annuelles ou "Medics" produisent une grande quantité de gousses indéhiscents contenant des graines dures. La diaspore est l'élément essentiel de la propagation de ces espèces (propagation zoochore), dans les conditions naturelles, les graines germent à l'intérieur de la gousse qui reste fixée au collet de la plante. Toutefois la germination n'intéresse pas la totalité des graines de la gousse, celles qui n'ont pas germé, génétiquement apparentées aux premières, conservent leur pouvoir germinatif. Une période de sécheresse prolongée ou un pâturage précoce entraînent l'élimination des jeunes plantes issues de la première vague de germination. Les graines non germées contenues dans la gousse constituent donc une réserve de semence apte à la réinstallation de la population dès le retour à de nouvelles conditions favorables (Abdelkèfi, 1987). Ce mécanisme permet de conserver le stock de graines à un niveau satisfaisant dans le sol et favorise le maintien *in situ* des populations naturelles. Les *Medicago* annuelles, par leur qualité d'adaptation et de productivité, peuvent entrer dans un assolement biennal "Medics- Céréales" en remplacement de la jachère, particulièrement sur les hauts plateaux d'Afrique du nord et les zones arides d'Espagne, à l'image du système "ley farming" australien. Utilisées en association avec des graminées ou des céréales, les Medics telles que *M. scutellata* fournissent en zone Méditerranéenne un potentiel de production performant aussi bien en pâture qu'en fauche (Prosperi *et al.*, 1993) L'enherbement des vignobles ou des vergers par des Medics limite l'érosion des sols, réduit le développement des adventices, et diminue l'utilisation des herbicides. Les espèces annuelles améliorent les qualités physique et biologique des sols (réduction des pertes en azote par lessivage, apport de matière organique, diminution de la fréquence de certains parasites) et interviennent dans la dégradation des pesticides, enfin en raison de leur cycle végétatif court elles n'entrent pas en compétition avec la strate arborée pour l'eau et l'azote. Ces espèces peuvent valoriser les parcours dégradés en zone aride (Maghreb, Péninsule Ibérique) et participer à la revégétalisation des "pare-feu" et des

territoires perturbés et marginaux sur l'ensemble du pourtour Méditerranéen. La relation entre milieu d'origine des cultivars sélectionnés et la capacité d'adaptation au milieu de culture et d'exploitation des Medics est régulièrement confirmée par les différents travaux (Gachet, 1972; Abdelguerfi, 1976; Prosperi, 1993).

Les Medicago pérennes se rencontrent essentiellement sur les rives nord de la Méditerranée et s'étendent jusqu'en Asie centrale; quelques formes spontanées sont localisées sur les hauts plateaux des chaînes de l'Atlas Nord Africain. Dans le complexe d'espèces pérennes l'interfertilité est entretenue naturellement entre les différentes formes spontanées qui le composent, ainsi le maintien de types différents (populations naturelles ayant des caractères singuliers) est dû essentiellement à l'isolement géographique. Grâce à l'étendue de son aire de culture, la luzerne, espèce pivot du groupe des *Medicago* pérennes, a une expansion mondiale. La luzerne cultivée, (*Medicago sativa* L.) répond à deux filières l'une réservée à la déshydratation, l'autre à l'élevage. Les critères auxquels une luzerne, destinée à la déshydratation, doit répondre sont la qualité et une bonne répartition de la production dans l'année ainsi que la résistance à la verse et aux maladies. Pour le secteur de l'élevage, la pérennité en sec et la tolérance au pâturage de la luzerne sont de plus en plus recherchés. Le cultivar "Luzelle" à port étalé semble manifester, dans un essai en association avec un dactyle, une pérennité correcte et une bonne adaptation aux conditions du pâturage (Charrier *et al.*, 1993). Les *Medicago* pérennes rhizomateuses comme les "Mielga" espagnoles, tout comme *Medicago sativa ssp. tunetana*, sont à port étalé; ces formes spontanées peuvent valoriser les parcours et coloniser les terres marginales. L'important réservoir de variabilité génétique de la luzerne permet de développer des formes caractérisées par leur souplesse d'utilisation et leur plasticité, mais aussi adaptées aux milieux de culture et à l'environnement

Les Medicago arbustives sont représentées, depuis peu, par trois espèces pérennes ligneuses récemment décrites -*Medicago arborea* ($2n=4x=32$) présente en Méditerranée orientale, seule espèce ligneuse cultivée.- *Medicago citrina* ($2n=6x=48$) localisée dans le bassin occidental de la Méditerranée, forme insulaire.- *Medicago strasseri*, endémique de Crète, est une forme insulaire. Ces espèces arbustives ont été soumises à une caractérisation morphologique et moléculaire par RAPD (Chebbi *et al.*, 1995) qui a permis de déceler que *M.strasseri* et *M.arborea* (originaire de Grèce) sont génétiquement similaires et s'écartent suffisamment de *M.arborea* (collection F.A.O) alors que *M.citrina* constitue un groupe parfaitement distinct. Ce travail indique l'importance de l'isolement géographique dans la structuration de la variabilité des populations naturelles.

II.2) **Le genre Trifolium** regroupe environ 250 espèces de trèfles dont 30 espèces sont cultivées. Deux espèces pérennes, le trèfle blanc (*Trifolium repens* L.) et le trèfle violet (*Trifolium pratense* L.), sont les plus répandues et constituent, avec la luzerne, les principales légumineuses fourragères cultivées dans de nombreux pays. Les espèces annuelles les plus rencontrées dans nos régions sont le trèfle d'Alexandrie, ou bersim, (*Trifolium alexandrinum* L.), le trèfle de Perse (*Trifolium resupinatum* L.), le trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum* L.), et le trèfle incarnat (*Trifolium incarnatum* L.). Ainsi, il apparaît clairement que seuls les intérêts immédiats, agronomiques et économiques, offerts par certaines espèces de trèfles, justifient et expliquent le nombre restreint d'espèces retenues dans cette liste de trèfles cultivées. A l'état spontané, différentes espèces de trèfles font partie du cortège floristique des prairies et des parcours; cette observation laisse penser que ces espèces ont commencé, de toute évidence, à être exploitées dès les débuts de l'élevage. Ce premier constat quantitatif montre bien que la domestication commence, dans un premier temps, par réduire la gamme spécifique.

Trifolium repens L. ($2n=4x=32$): le trèfle blanc, plante vivace et résistante au froid, est originaire du bassin Méditerranéen. Cette espèce rustique à port rampant (plagiotope) est adaptée au pâturage, elle supporte le piétinement parce que son système racinaire est de type

stolonifère. En tant que plante spontanée, le trèfle blanc valorise les prairies permanentes; sa pérennité est assurée par l'enracinement des stolons et le resemis naturel. Trois grands types de trèfle blanc sont répertoriés (Mousset Déclas, 1995), le type nain, à petites feuilles, est représenté particulièrement par des formes diploïdes spontanées, à port rampant, ce type persistant est adapté au pâturage intensif, mais il est peu productif, le type à feuilles moyennes ou type *hollandicum* regroupe des formes tétraploïdes dont de nombreuses variétés améliorées, le type Ladino est un trèfle tétraploïde à grandes feuilles originaire d'Italie du nord; il est moins persistant que les types précédents mais il offre une bonne repousse après la coupe.

Trifolium pratense L. (2n=14): le trèfle violet est une plante biologiquement pérenne, mais il se comporte dans la pratique comme une forme bisannuelle sensible à la sécheresse. Son aire de répartition couvre les deux rives de la Méditerranée et s'étend jusqu'en Asie centrale. En zone Méditerranéenne le trèfle violet est limité aux territoires frais et humides d'altitude.

Trifolium alexandrinum L. (2n=16): le bersim est une plante annuelle, à pousse hivernale, sensible au froid et au sel. Le trèfle d'Alexandrie, originaire d'Asie Mineure, est une culture fourragère importante en Egypte.

Trifolium subterraneum L. (2n=16): le trèfle souterrain, présent dans toute la zone Méditerranéenne, est une plante annuelle inféodée aux sols acides. Ce trèfle, à croissance hivernale, assure, selon la gamme de précocité, une production fourragère d'hiver-printemps; la floraison des cultivars les plus tardifs démarre lorsque les variétés précoces terminent la leur et achèvent leur cycle de végétation; ce constat révèle la diversité génétique des cultivars répertoriés capables de répondre à des situations agronomiques variées. La production de semences (glomérules) contribue non seulement à fournir une ressource pâturable estivale non négligeable, mais à assurer, aussi la régénération et la pérennisation du trèfle souterrain. Une bonne gestion du stock de graines dans le sol permet la persistance du trèfle souterrain dans un système pâturé. Cette espèce, tolérante au pâturage, valorise les terrains neutres ou acides sur lesquels les Medics ne peuvent pas se développer.

II.3) Le genre **Hedysarum** se compose de deux groupes d'espèces le premier est formé par un ensemble d'espèces arctique et asiatique dont le nombre chromosomique de base est $x=7$, le second groupe, d'origine Méditerranéenne, est défini par un nombre chromosomique de base $x=8$ (Boussaid *et al.*, 1995). Seul le groupe Méditerranéen sera envisagé et il comporte 10 espèces.

Hedysarum coronarium L. (2n=16): le sulla est une plante bisannuelle à port prostré; à l'état spontané l'aire de répartition de l'espèce couvre l'Europe méridionale et la rive sud de la Méditerranée; le régime allogame de *H. coronarium* est confirmé par l'utilisation du marqueur "fleur acyanique"(présence/absence d'anthocyanes) dont le déterminisme a été défini par des études génétique et biochimique (Chriki, 1985).

Hedysarum flexuosum L. (2n=16) est limité au sud de la péninsule Ibérique et à l'Afrique du Nord. Cette plante, dont le développement végétatif est hivernal, est adaptée aussi bien à la fauche qu'à la pâture grâce à son port érigé.

Hedysarum spinosissimum L. (2n=16) est subdivisé sur la base de caractères morphologiques (particulièrement floraux) en deux sous-espèces *H. capitatum* plante tardive et préférentiellement allogame et *H. euspinosissimum* sous-espèce précoce et autogame. Toutes les tentatives d'hybridations entre ces deux taxons ont échoué. En Tunisie *H. capitatum* est localisé au nord de la dorsale tunisienne (chaîne de l'Atlas) entre les étages bioclimatiques "humide" et "semi-aride", alors que *H. euspinosissimum* occupe une aire, au sud de la dorsale tunisienne, s'étendant des étages "semi-aride" au "saharien". Les régimes de reproduction adoptés par chaque forme sous spécifique réduisent nettement la probabilité de réalisation d'échanges géniques entre les deux taxons. L'absence de flux génique associée à la présence de barrières géographiques renforcent la divergence entre les deux formes.

Cependant les analyses isoenzymatiques n'ont pas permis de distinguer les deux taxons, seule l'étude du "polymorphisme de longueur des fragments de restriction" de l'ADN mitochondrial (R.F.L.P.) a permis d'identifier les populations naturelles appartenant à chacune de ces deux sous-espèces (Baatout *et al.*, 1991 b).

Hedysarum carnosum ($2n=16$) est localisé, à l'état spontané, dans les régions arides et subdésertiques d'Afrique du nord. Cette espèce annuelle, à port érigé, outre sa tolérance au sel est bien adaptée aux irrégularités climatiques des milieux arides, Boussaid *et al.* (1989). L'ensemble de ces qualités lui confèrent un statut particulier dans la revalorisation des parcours dégradés en zone aride.

Hedysarum pallidum, cantonné au niveau de l'étage semi-aride, se présente sous les deux niveaux de ploïdie ($2n=16$ et $2n=4x=32$) ; le compartiment tétraploïde apparaît comme une forme d'altitude. Ce complexe devient de plus en plus rare dans son aire naturelle de répartition.

Parmi les espèces du genre *Hedysarum*, seul *H. coronarium* est cultivé. Les cultivars, sélectionnés en Italie, se distinguent par un port érigé contrairement aux populations naturelles plagiotropes. Trois vagues d'introduction ont concerné la Tunisie: la variété Sgaravatti en 1954, la variété Sparacia en 1976 et la variété Grimaldi en 1980. Cette culture, sporadique en Tunisie, est implantée dans l'aire de répartition naturelle de l'espèce. Une étude comparative, entre les formes spontanées et les cultivars, montre une convergence des résultats établis à partir des caractères morphologiques et du polymorphisme isoenzymatique. Les deux approches mettent en évidence une variabilité importante des formes cultivées et des formes spontanées (Trifi, 1986). Les cultivars, définis par des caractéristiques morphologiques et agronomiques, n'ont pas subi un grand appauvrissement génétique. Ceci témoigne de leur domestication récente (1766 Italie) et des flux géniques favorisés par l'allogamie et la sympatrie entre formes spontanées et cultivées.

II.4) **le genre *Onobrychis*** est représenté par un grand nombre d'espèces (une centaine environ) plus ou moins bien définies) pérennes ou annuelles dont certaines sont répertoriées en Afrique du Nord *Onobrychis argentea* Boissier, plante vivace à port arborescent, pourrait être retenue comme plante de lutte anti-érosive. La principale espèce cultivée est le Sainfoin : *Onobrychis viciaefolia* Scop.= (*O. sativa* Lam.). La plante, à port dressé, est pérenne, mais sa persistance est limitée dans le temps, (trois à quatre années de culture puis la production diminue considérablement). Bien que l'espèce offre de bonnes qualités exigées chez une plante fourragère (facilité d'installation, plante non météorisante, bonne digestibilité, souplesse d'exploitation), la culture du sainfoin régresse en raison de la difficulté de production de semences.

III) **Les Graminées Fourragères.** L'intensification de la production fourragère a bénéficié du perfectionnement des techniques agronomiques, mais elle repose essentiellement sur l'amélioration génétique des plantes; en effet les variétés de Graminées fourragères ont été sélectionnées pour une productivité accrue en fauche avec des apports systématiques d'azote.

Actuellement, la recherche de la réduction des coûts de production et la volonté de respecter scrupuleusement les normes réglementaires en matière d'environnement, définissent les nouveaux objectifs assignés à la sélection végétale en général et celle des Graminées fourragères en particulier. Les critères retenus tournent autour de la polyvalence du matériel végétal sélectionné (souplesse d'utilisation: fauche et pâture) et de la pérennité de la plante (Hazard, 1996).

III1) **Le genre *Festuca*** est formé par une multitude d'espèces dont le nombre varie d'un auteur à l'autre, cette situation est à l'origine de redondances et de confusions dans les appellations spécifiques. Après l'importance de l'appareil végétatif de ces espèces pérennes, deux groupes sont définis: les grandes fétuques et les petites fétuques (Lapeyronie, 1982).

Dans le groupe des grandes fétuques, l'énumération se limitera aux espèces qui présentent un intérêt agronomique.

Festuca pratensis Hud. ssp. *pratensis* ($2n=14$) ou fétuque des prés; l'autre sous-espèce répertoriée est la forme alpine qui est cantonnée aux altitudes supérieures à 1500m: *F. pratensis* ssp. *apennina* ($2n=4x=28$). La fétuque des prés est résistante au froid, mais elle ne tolère pas la sécheresse.

Festuca arundinacea Schreb. ssp. *arundinacea* ($2n=6x=42$) : la fétuque élevée est représentée par deux "races géographiques": une "race Européenne" dont l'aire de culture s'étend largement à travers le monde et une "race Méditerranéenne" autochtone de l'Afrique du Nord et du sud de l'Espagne, l'hybridation entre ces deux "races géographiques" fournit une descendance fortement stérile (Ghesquiere *et al.*, 1995). Des études phylogéniques, faisant appel aux techniques d'hybridation moléculaire in situ, sur la fétuque élevée ($2n=6x=42$) montrent que cette forme est le produit de l'introgression de *F. pratensis* ssp. *pratensis* ($2n=14$) et *F. arundinacea* var. *glaucescens* Boiss. ($2n=4x=28$) (Humphreys *et al.*, 1995). La fétuque élevée résiste au froid, elle tolère aussi bien la sécheresse que la submersion, elle peut se développer sur des sols dont la gamme de pH varie de (4,5 à 10), elle est bien adaptée au piétinement et à la dent des animaux. Ainsi cette plante rustique, grâce à ses qualités adaptatives à différents milieux, peut participer efficacement à la lutte contre l'érosion

III.2) **Le genre Lolium** comprend seulement des espèces diploïdes ($2n=14$) à l'état spontané. Ce complexe d'espèces est subdivisé en deux compartiments définis par leur régime de reproduction respectif. Le compartiment allogame renferme *Lolium perenne* L.: Ray Grass anglais; *Lolium multiflorum* Lam.: Ray Grass d'Italie plante annuelle ou bisannuelle et *Lolium rigidum* Gaud. espèce annuelle. Des flux de gènes existent, avec des fréquences de réalisation variables, entre les compartiments et en leur sein : les espèces allogames sont interfertiles, les autogames se croisent moins facilement et donnent une descendance peu viable ou mâle-stérile; le croisement entre une espèce allogame et une espèce autogame fournit en général un nombre réduit d'individus le plus souvent stériles. *Lolium perenne* est rencontré dans le bassin Méditerranéen particulièrement en montagne, certaines populations de Ray grass anglais ont été localisées dans des régions en Tunisie recevant à peine 400 mm de pluviométrie par an; toutefois sa production n'est satisfaisante que dans les régions les mieux arrosées. Par contre les *loliums* annuels et bisannuels sont bien mieux adaptés aux conditions Méditerranéennes. Le Ray grass d'Italie (*Lolium multiflorum*) est une espèce annuelle ou bisannuelle dont la croissance végétative hivernale est extrêmement rapide; le Ray grass hybride (*Lolium multiflorum* x *L. perenne*) est relativement plus proche du parent italien, sa persistance peut atteindre trois années.

III.3) **Les Festulolium.** Des hybrides intergénériques naturels entre *Festuca* x *Lolium* ont été décrits. Des croisements contrôlés, dans le cadre de programmes d'amélioration, ont été réalisés entre *Lolium* et plusieurs espèces de fétuques à grandes feuilles afin de combiner au sein d'une même structure génotypique les qualités recherchées chez les fétuques et celles appréciées chez les Ray grass. Un exemple d'une telle hybridation concerne le Ray grass d'Italie et une espèce tétraploïde ancêtre de la fétuque élevée (*Lolium multiflorum* x *Festuca arundinacea* var. *glaucescens*), chez cet hybride le programme tente d'associer une bonne appétence à une pérennité accrue (Barrière *et al.*, 1996).

IV.) **Les biotechnologies: outils de la gestion des ressources phylogénétiques.**

Les biotechnologies peuvent être sommairement décomposées en trois grandes familles de techniques: la culture in-vitro, les techniques de manipulation et de caractérisation du génome et enfin la transgène. Dans le domaine végétal, les biotechnologies sont d'abord développées pour contourner les difficultés rencontrées en sélection et amélioration des

plantes, toutefois elles peuvent intervenir, aussi, de manière efficace comme outils de la conservation, de la caractérisation et de l'évaluation des ressources phylogénétiques.

IV.1) Actuellement, la palette des modes de conservation des ressources phylogénétiques s'élargit et englobe différentes techniques qui font appel à l'utilisation du froid, à la lyophilisation des graines et du pollen, ou enfin aux cultures *in-vitro*.

IV.1.a) Le froid pour la conservation des semences: Le maintien de la faculté germinative des graines dépend de leur teneur en eau, ainsi que du degré d'hygrométrie et de la température qui règnent au cours du stockage. La bonne définition de ces paramètres en fonction du type de graines (orthodoxes ou récalcitrantes) autorise une conservation à moyen ou à long terme.

IV.1.b) La lyophilisation bloque le métabolisme des graines (de type orthodoxe) ou du pollen, elle préserve, en principe, leur viabilité. Les graines ou le pollen lyophilisés sont conservés, sous vide, pour une longue durée.

IV.1.c) Les techniques de culture *in vitro* offrent de nombreuses potentialités pour la multiplication rapide et accrue des génotypes. La reproduction conforme qualifiée de micropropagation peut être obtenue par deux voies: la culture *in vitro* des méristèmes ou "**organogénèse**", la culture *in vitro* de tissus (fragments d'organes : feuilles, tiges, racines...) ou "**embryogénèse somatique**". Toutefois cette technique pose de réels problèmes de généralisation de la méthode parfois au sein d'une même espèce, par exemple chez la luzerne, l'aptitude à l'embryogénèse somatique dépend du génotype (Bianchi *et al.*, 1988).

Les deux voies de la multiplication conforme, associées à l'utilisation du froid, peuvent constituer des méthodes de conservation des ressources phylogénétiques. Seule l'organogénèse offre une bonne garantie de stabilité génétique, tandis que l'embryogénèse somatique est susceptible d'induire des mutations remaniant le patrimoine génétique du matériel considéré, elle peut, aussi, être génératrice de variations soma-clonales (phénovariants). La variabilité ainsi induite peut constituer un réservoir potentiel de diversité mis à la disposition des utilisateurs (généticiens, sélectionneurs). Ainsi il apparaît clairement que la culture *in vitro*, comme procédé de conservation, constitue un recours palliatif, seulement lorsqu'il y a une impossibilité d'obtention de graines ou une urgence de sauvetage de matériel biologique.

La maîtrise de la technique de la culture *in vitro* ouvre, par ailleurs, de nouvelles perspectives d'utilisation du réservoir de la variabilité génétique.

L'androgénèse suivie du rétablissement du niveau initial de ploïdie (Haplo-diploïdisation) permet de stabiliser rapidement le matériel introgressé au niveau tétraploïde (exemple: Ray grass x Fétuque) .

L'hybridation somatique par fusion de protoplastes offre la possibilité de contourner les "barrières" de la reproduction sexuée. La fusion somatique permet une contribution équilibrée des deux partenaires dans la constitution de la variabilité génétique d'origine cytoplasmique des "cybrides". Cette technique, dont les produits régénérés sont hétérogènes, tente de réduire les délais imposés par les méthodes classiques de sélection comme dans le cas de l'hybridation interspécifique Fétuque élevée x Ray grass. Mais il est parfaitement clair que les protoplastes sont d'abord des outils d'étude de la génétique cytoplasmique et des interactions nucléo-plasmiques (Demarly, 1992).

La conservation des ressources phylogénétiques doit être impérativement associée à une remise en culture périodique pour assurer un bon entretien des accessions conservées. Enfin le couplage de la sauvegarde "*in situ*" et du stockage en conditions artificielles constitue la meilleure réponse aux problèmes posés par le phénomène de "Coévolution : Plante-Milieu-Pathogène".

IV.2) Identification et Evaluation des ressources phylogénétiques.

Les caractères morphologiques et physiologiques, bien que soumis à l'influence des facteurs du milieu, fournissent des informations utiles pour décrire et identifier le matériel biologique. Cependant l'évolution rapide des techniques de biologie moléculaire offre des moyens de plus en plus performants pour la caractérisation des ressources génétiques. Suivant la technique adoptée, les marqueurs moléculaires peuvent révéler le polymorphisme soit au niveau protéique (isoenzymes) soit directement au niveau de l'ADN.

Le marquage isoenzymatique est devenu un outil classique, depuis quelques années, pour décrire la structure de la variabilité entre et au sein des populations naturelles et pour préciser leurs régimes de reproduction respectifs (autogame ou allogame). Dans ce cadre d'étude J.A Oliveira et al (1997), après avoir défini le régime allogame des populations naturelles de *Lolium perenne* L., ont mis en évidence un polymorphisme isoenzymatique global associé à la latitude (variation clinale nord/sud) et à l'altitude des lieux de collectes des populations naturelles Espagnoles et Françaises de Ray grass anglais. Le marquage isoenzymatique est utilisé pour l'identification et le contrôle variétal; les tests par électrophorèse sont de plus en plus retenus comme paramètres dans les études préparatoires à l'inscription au catalogue officiel (Lallemand, 1990). L'électrophorèse des protéines, bien qu'elle révèle des marqueurs affranchis de l'influence des facteurs du milieu, ne détecte pas l'ensemble de la gamme de la variabilité du matériel étudié.

Cependant le marquage moléculaire fondé sur l'ADN permet de mieux explorer la variabilité disponible. Les marqueurs (RFLP, PCR, RAPD) révélés par les différentes techniques sont utilisés dans la description de la variabilité des populations naturelles, l'identification variétale, l'établissement de cartes génétiques et le repérage de gènes associés dans l'expression de caractères agronomiques. Les espèces fourragères cultivées sont en général polyploïdes, la complexité de ce niveau de ploïdie justifie que la cartographie génétique ait commencé par les espèces diploïdes apparentées aux espèces cultivées; pour les légumineuses, le choix pour l'établissement d'une carte génétique s'est porté sur *Medicago truncatula* espèce diploïde et annuelle; tandis que pour les graminées fourragères des cartes génétiques partielles ont été publiées pour le Ray grass d'Italie (*Lolium multiflorum*) et la Fétuque des prés (*Festuca pratensis*), (Julier et Ghesquière, 1996). Les biotechnologies d'étiquetage et de repérage des gènes, ainsi appelées d'après le classement des biotechnologies dressé par Demarly (1992), révèlent un grand nombre de caractères non soumis à l'influence des facteurs du milieu et dont le contrôle génétique est évident. Les marqueurs moléculaires, grâce à ces qualités, ont un immense pouvoir de discrimination. Ils peuvent décrire l'organisation de la structure de la variabilité et établir des distances génétiques entre groupes à différents niveaux de la classification naturelle (populations, espèces, genres...); la synthèse de l'ensemble de ces informations permet de développer des études phylogénétiques. Ce marquage, à haut pouvoir discriminant, permet de caractériser nettement un matériel végétal au point d'en dresser sa "carte d'identité". Ainsi les marqueurs moléculaires constituent des outils performants d'une part dans l'identification variétale et d'autre part dans la gestion des ressources phylogénétiques. A titre d'exemple, Crochemore et al. (1996) proposent un classement de populations appartenant au "complexe *Medicago pérenne*" fondé sur des marqueurs RAPD.

L'identification d'un marqueur moléculaire lié à un caractère agronomique, dont le contrôle génétique est simple, autorise une sélection plus aisée si le caractère présente des difficultés d'évaluation. Grâce à la recherche de liaisons entre marqueurs moléculaires et caractères quantitatifs, la détection de "QTL" ouvre la voie à la sélection assistée par marqueurs.

IV.3) La transformation génétique est une technique qui cherche à intégrer un gène étranger dans le génome d'une plante hôte. Pour réaliser cet objectif il est impératif, tout

d'abord, de repérer, isoler et cloner des gènes utiles et intéressants sur le plan agronomique, c'est à dire constituer des banques d'ADN. Les gènes à transférer sont classés, d'après Julier et Ghesquière (1996), en fonction des caractéristiques recherchées à faire acquérir à la plante transformée :

les gènes de résistance à des stress biotiques: résistance à des insectes, virus, maladies,

les gènes de résistance à des stress abiotiques: résistance au sel, à la sécheresse, aux chocs thermiques,

*les gènes qui interviennent dans les voies de biosynthèse.

*les gènes qui jouent un rôle dans la symbiose Rhizobium-Légumineuses.

La constitution de banques d'ADN représente un outil d'avenir pour la sauvegarde et la conservation des ressources génétiques, dans la mesure où les biotechnologies de transformations génétiques sont en perpétuelle évolution et peuvent bénéficier d'améliorations techniques rapides.

La transformation par les vecteurs *Agrobacterium* ne présente pas de difficultés majeures chez les légumineuses et plus particulièrement chez la luzerne et d'autres espèces du genre *Medicago* parce qu'elles présentent de bonnes aptitudes à l'embryogénèse somatique et à la régénération. Alors que les techniques de l'électroporation ou de la biolistique sont les voies retenues pour la transformation des graminées fourragères. Ainsi pour chaque type de plante des solutions techniques sont développées pour rendre la transformation génétique possible et réalisable. Toutefois cette biotechnologie pose une série de problèmes tels que le bon fonctionnement du gène inséré dans le génome hôte, la stabilité de l'expression du gène dans le temps et au cours des générations, la dissémination incontrôlée de gènes chez les adventices apparentées aux plantes allogames transformées. Il en ressort que la place de la transformation génétique doit être réfléchie dans les schémas de sélection et le choix des caractéristiques agronomiques à "transformer" en constitue l'enjeu. Même si les biotechnologies moléculaires offrent un apport réel dans la manipulation de l'ADN; elles ne peuvent, en aucun cas, remplacer à elles seules les méthodes classiques de création variétale dans les programmes d'amélioration des plantes.

Conclusion

La sauvegarde des ressources phytogénétiques nécessite la mise en oeuvre d'un ensemble de moyens, non seulement, pour répertorier, étiqueter, identifier et évaluer le matériel biologique, mais aussi pour conserver et entretenir les collections "ex situ" et maintenir "in situ", autant que faire se peut, la diversité génétique des espèces cultivées et celle des formes sauvages qui leur sont apparentées. La préservation d'un réservoir, où la variabilité disponible est la plus large, est une garantie pour l'avenir de la sélection. Le patrimoine phytogénétique est protégé pour répondre à tous les besoins qui peuvent s'exprimer dans le futur; ainsi l'exploitation des collections, à des fins d'amélioration de plantes, indique parfaitement bien qu'une "banque de gènes" n'a pas pour seule vocation la conservation des ressources génétiques, mais aussi leur caractérisation et leur évaluation, ces travaux de base permettent d'établir les "données de passeport" sans lesquelles une collection conservée présente peu d'intérêt et beaucoup de charges.

Grâce au perfectionnement permanent des biotechnologies et plus particulièrement du génie génétique, les "banques de gènes" pourront se doter d'une "bibliothèque de gènes" (banque d'ADN). Cette nouvelle option technique permettra de récupérer plus facilement des gènes utiles afin de les insérer dans du matériel en cours de sélection.

Entre les ressources phytogénétiques, l'amélioration des plantes et les biotechnologies, il y a des relations dialectiques; le développement du génie génétique pourrait dépendre d'une part du perfectionnement des outils de gestion des ressources phytogénétiques et d'autre part

du niveau d'intervention de ces biotechnologies dans les schémas de sélection; enfin sans l'existence de réservoir de variabilité génétique la sélection végétale est inopérante, même si les biotechnologies sont performantes.

Toutes les techniques de caractérisation et d'évaluation sont bonnes à prendre, elles sont complémentaires et non exclusives. Chacune a son intérêt, ses contraintes et ses limites. S'ouvrir à toutes les techniques est une nécessité, ne pas céder à la mode est une sagesse.

Références bibliographiques

- Abdelguerfi, A., Chapot, J., Conesa, AP., Roseau, R. (1988b). Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Medicago* L. en Algérie. I. Répartition des espèces en fonction des facteurs du milieu. *Ann. Inst. Nat. Agro.* El-Harrach 12(1), 304-328.
- Abdelkéfi, A. (1987). La germination des graines dans la gousse : facteur de "pérennité" des populations naturelles des espèces annuelles du genre *Medicago* L. *Proc. Eucarpia Fodder Crops Section*, Meeting September 1987 Lusignan, France. 63-69
- Baatout, H., Marrakchi, M., Combes, D. (1991.b). Genetic divergence and allozyme variation within and among population: *Hedysarum spinosissimum* (Papilionaceae). *Taxon* 40, 239-252.
- Barrière, Y., Bourgoïn, B., Chabosseau, J.M., Demarly, Y., Ghesquière, M., Huyghe, C., Julier, B., Mansat, P., Poisson, C. (1996). La station INRA d'amélioration des plantes fourragères de Lusignan : des projets sur "l'herbe". *Fourrages* 148, 311-331.
- Bianchi, S., Flament, P., Dattée, Y. (1988). Embryogénèse somatique et organogénèse in vitro chez la luzerne: évaluation des potentialités de divers génotypes. *Agronomie* 8, 121-126.
- Boussaid, M., Abdelkéfi, A., Marrakchi, M. (1989). Erosion génétique et aridité: cas de trois légumineuses pastorales susceptibles d'intervenir dans l'amélioration des parcours en zones arides. *Revue des régions arides Médenine Tunisie* (Numéro spécial) 147-153.
- Boussaid, M., Ben Fadhel, N., Trifi-Farah, N., Abdelkéfi, A., Marrakchi, M. (1995). Les espèces méditerranéennes du genre *Hedysarum* L. In: *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*. BRG / INRA Ed. Paris . 115-130
- Charrier, X., Emile, J.C., Guy, P. (1993). Recherche de génotypes de luzerne adaptés au pâturage. *Fourrages* 135, 507-510.
- Chebbi, H., Pascual-Villalobos, M.J., Cenis, J.L., Correal, E. (1995). Caractérisation morphologique et moléculaire des espèces ligneuses du genre *Medicago*. *Fourrages* 142, 191-206.
- Chriki, A., Combes, D., Marrakchi, M. (1982). Hérité et analyse chromatographique de la pigmentation des fleurs chez l'espèce *Hedysarum coronarium* L. *Agronomie* 2(10), 915-922.
- Crochemore, M.L., Huyghe, C., Kerlan, M.C., Durand, F., Julier, B. (1996). Partitioning and distribution of RAPD variation in a set of populations of the *Medicago sativa* complex. *Agronomie* 16 (7) 421-432.
- Demarly, Y. (1992). Les biotechnologies applicables à la luzerne. *Proc. 10th Int. Conf. Eucarpia Medicago ssp. Group*, Lodi 1992, 141-179.
- Despois, J. (1955). La Tunisie orientale: Sahel et Basses Steppes. PUF Ed. 2e édition 550p.
- Gachet, J.R., Elmir, A. (1972). Etude monographique des *Medicago* annuelles. *Annales INRA de Tunisie* 45 45p.
- Ghesquière, M., Jadas-Hecart, J. (1995). Les Fétuques ou le genre *Festuca*. In: *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*. BRG / INRA Ed. Paris. 53-77.
- Harlan, J.R. (1987). Les plantes cultivées et l'homme. Traduction française de "*Crops and Man*" PUF Ed. 414p.

- Hazard, L. (1996). La plasticité pour une meilleure souplesse d'utilisation des graminées fourragères. *Fourrages* 147, 293-302.
- Heyn, C.C. (1963). The annual species of *Medicago*. *Scripta Hierosolymitana*. Publications of the Hebrew University. Jerusalem. 154p.
- Humphreys, M.W., Thomas, H.M., Morgan, W.G., Meredith, M.R., Harper, J.A., Thomas, H., Zwierzykowski, Z., Ghesquière, M. (1995). Discriminating the ancestral progenitors of hexaploid *Festuca arundinacea* using GISH. *Heredity* 75, 171-174.
- Huyghe, C. (1996). La création variétale fourragère privée et publique. *Fourrages* 147, 247-256.
- Julier, B., Ghesquière, M. (1996): Possibilités nouvelles offertes par les biotechnologies chez les plantes fourragères. *Fourrages* 147, 273-292.
- Lallemand, J. (1990). Identification et contrôle des variétés de ray-grass au moyen de marqueurs génétiques. *Fourrages* 124, 421-428.
- Lapeyronie, A. (1982). Les productions fourragères méditerranéennes Tome I. G.P. *Maisonneuve* et Larose Ed. Paris 425p.
- Le Houérou, H.N. (1993). Changements climatiques et désertisation. *Sécheresse* 4 (2) 95-111.
- Lesins, K., Lesins, I. (1979). Genus *Medicago* (Leguminosae), a taxogenetic study. W Junk bv publishers. 228p.
- Moussé Déclas, C. (1995). Les Trèfles ou le genre *Trifolium*. In: *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*. BRG /INRA Ed. Paris 177-211.
- Nègre, R. (1959). Révision des *Medicago* d'Afrique du Nord. *Bull. Soc. Hist. Nat. de l'Afrique du Nord* 50, 267-314.
- Oliveira, J.A., Balfourier, F., Charmet, G., Arbones, E. (1997). Isozyme polymorphism in a collection of Spanish and French perennial ryegrass populations. *Agronomie* 17 (6-7) 335-342.
- Pernès, J. (1984). Gestion des ressources génétiques des plantes. *Tome 1: Monographies*, 211p. *Tome 2 : Manuel*, 346p. Tech. et Doc. Lavoisier Ed Paris.
- Prosperi, J.M., Angevain, M., Genier, G., Olivieri, I., Mansat, P. (1993). Sélection de nouvelles légumineuses fourragères pour les zones difficiles méditerranéennes. *Fourrages* 135, 343-354.
- Small, E., Jomph, M. (1989). A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae). *Can. J. Bot.* 67, 3260-3294.
- Trifi-Farah, N. (1986). Analyse de la variabilité morphologique et enzymatique : relations entre formes cultivées et spontanées de *Hedysarum coronarium*. *Thèse de spécialité* Fac. Sci.Tunis; 102p.