

Article de recherche

Reçu: 27 Décembre 2021/Accepté: 16 Janvier 2022

Caractérisation caryologique de *Smilax aspera* L. (Smilacaceae), espèce lianescente de la forêt algérienne

K. Boubetra^{1*}, N. Azizi², N. Amirouche³, M. Bouyaiche¹, O. Zanndouche¹, A. Terkmani², L. Ouamrane², R. Amirouche³

¹ Institut National de la Recherche Forestière, INRF, BP 37, Chéraga, Alger, Algérie

² Université Alger 1- Benyoucef Benkhedda- Faculté des sciences

³ Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Faculté des Sciences Biologique, USTHB, BP 32 El-Alia, Bab Ezzouar, 16111, Alger

*Auteur correspondant : kenzaboubetra@yahoo.fr

ملخص

الهدف من العمل الحالي هو التوصيف الوراثي لـ *Smilax aspera* في الجزائر، يحتل هذا النوع مكانة مهمة في النظام البيئي للغابات ومعروف بخصائصه الدوائية. تستند هذه الدراسة على عينات من ثلاثة مواقع في القطاعات البيوجغرافية في الجزائر (الحمداية) والقبائل (جيجل وقريس). أظهرت الملاحظات تنوعاً مورفولوجياً عالياً للأوراق. كشفت تعداد الكروموسومات التي أجريت على الانقسامات عن عدد ثنائي الصبغيات ثابت من $2n = 2x = 32$ الصيغة و المعادلة هي $sm + 16m + 4st$. معظم الكروموسومات متساوئية والنمط النووي متمثل. الكلمات المفتاحية: كاريولوجي؛ النمط النووي. الكروموسومات. تنوع؛ *Smilax*.

Abstract

The aim of this work is to provide the karyological characters of *Smilax aspera* in Algeria. This species plays an important role in the forest ecosystem and known for its pharmacological properties. The study is based on samples from three sites of the biogeographical sectors of Algiers (Hamdania) and Kabylie (Jijel and Guerbès). The observations showed a high morphological variability of the leaves. Chromosomal counts performed on somatic mitoses revealed a constant diploid number of $2n = 2x = 32$. The karyotypic formula is $16m + 12sm + 4st$. Most of the chromosomes are metacentric and the karyotype tends to be symmetrical.

Keywords : Karyology; Karyotype; Chromosomes; Diversity; *Smilax*.

Résumé

Le présent travail a pour objectif la caractérisation caryologique de *Smilax aspera* en Algérie. Cette espèce lianescente joue un rôle important dans l'écosystème forestier et connue pour ces propriétés pharmacologiques. L'étude repose sur des échantillons provenant de trois sites des secteurs biogéographiques de l'Algérois (Hamdania) et de Kabylie (Jijel et Guerbès). Les observations sur le terrain ont montré une forte variabilité morphologique des feuilles. Les dénombrements chromosomiques effectués sur les mitoses somatiques ont révélé un nombre diploïde constant de $2n = 2x = 32$. La formule caryotypique est de $16m + 12sm + 4st$. La plupart des chromosomes sont métacentriques et le caryotype à tendance symétrique.

Mots clés : Caryologie ; Caryotype ; Chromosomes ; Diversité ; *Smilax*.

1. Introduction

Les changements climatiques peuvent avoir des incidences très importantes sur les écosystèmes forestiers, leur fonctionnement et la composition de la biodiversité. C'est particulièrement le cas de la forêt méditerranéenne où les premiers signes de dépérissement d'arbres et de modifications d'habitats sont visibles (Pramova et al. 2012).

La forêt méditerranéenne est caractérisée par une structuration verticale dont la strate lianescente joue un rôle fondamental dans le développement écologique et le maintien de la biodiversité (Schnitzler et Arnold, 2010). A cette strate participent plusieurs espèces dont les plus remarquables sont *Smilax aspera* L., *Hedera helix* L., *Dioscorea communis* L., *Asparagus acutifolius* L., *Aristolochia altissima* Desf. De par leurs exigences écologiques, ces espèces constituent des indicateurs potentiels pour le suivi et la dynamique des écosystèmes forestiers (Schnitzler et Arnold, 2010 ; Boubetra et al. 2017).

Les lianes sont généralement des plantes scia-philes caractérisées par une grande plasticité morphologique, physiologique et biochimique qui leur permet de réagir et de s'adapter aux variations de leur environnement. En réponse à des conditions écologiques nouvelles, la croissance rapide de certaines d'entre elles, leur confère un caractère envahissant devenant parfois, un véritable fléau pour les strates arbustive et arborée, comme c'est le cas de la salsepareille (*S. aspera*). D'un autre point de vue, la disparition des lianes sensibles serait la marque des stades régressifs de la forêt. Le genre *Smilax* compte plus de 300 espèces évoluant dans diverses conditions climatiques des régions tropicales et subtropicales d'Amérique, d'Afrique et d'Asie. Un autre petit genre *Heterosmilax* Kunth comprenant 10 à 12 espèces (Heywood et al. 2007) a été inclus dans le genre *Smilax* sur la base de phylogénies moléculaires (Qi et al. 2013a ; Judd et al. 2016).

Les espèces du genre *Smilax* sont généralement ligneuses vivaces grimpantes, exhibant une très grande variabilité morphologique. Certaines espèces sont utilisées en médecine traditionnelle contre diverses maladies telles que le diabète, le rhumatisme, l'anémie et les morsures de serpent (Harb et al. 2009). Plusieurs activités antimicro-

biennes (Hirota et al. 2016), immuno-modulatrices et anti-inflammatoires (Shu et al. 2006) et hypoglycémiantes (Romo-Pérez et al. 2019) ont été démontrées à partir d'extraits de rhizomes.

Sur le plan taxonomique, la complexité des relations interspécifiques au sein de ce genre, est liée à la dioécie et à la variabilité morphologique remarquable des feuilles (Ungson et Sastrapadja, 1976). De plus, des études cytogénétiques ont rapporté plusieurs nombres chromosomiques de base $x = 13$, $x = 14$, $x = 15$ et $x = 16$, ce dernier étant le nombre le plus fréquent (Vijayavalli et Mathew, 1989). Certaines espèces constituent des complexes spécifiques avec une série polyploïde comportant $2n = 32$, $2n = 64$, $2n = 96$ jusqu'à $2n = 128$ chromosomes (Kong et al. 2007). La présence de chromosomes hétéromorphes correspondrait à des hétérosomes (chromosomes sexuels) avec le type XY chez les pieds mâles et XX chez les pieds femelles (Vijayavalli et Mathew, 1989).

En Algérie, le genre *Smilax* est représenté par une seule espèce, *S. aspera* (Maire, 1958 ; Quézel et Santa, 1962). Les populations de *S. aspera* se rencontrent dans toute la zone tellienne, en sous-bois ou dans des formations ouvertes pré-forestières. Elles se développent dans des biotopes et des situations écologiques très contrastées.

Les données sur la taxonomie et la diversité génétique sur cette espèce sont très limitées. Le présent travail a pour but d'explorer et de réunir les données préliminaires sur les caractéristiques caryotypiques de *S. aspera*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Des rameaux feuillés et des baies de *S. aspera* ont été récoltés dans trois sites forestiers de deux secteurs biogéographiques différents ; Jijel et Guerbes pour le secteur Kabyle (K2) et Hamdania (Chrèa) pour le secteur Algérois (A1). Les rameaux feuillés ont été mis en herbier. La détermination systématique a été effectuée à l'aide des flores de Maire (1958) et de Quézel et Santa (1962).

2.2. Préparation des métaphases

Les observations ont été effectuées sur des mitoses somatiques de méristèmes racinaires de graines mises à germer en boîte de pétri. Les jeunes racines d'environ 0,5 à 1 cm de long, sont prétraitées dans une solution de 8-hydroxyquinoléine ou de colchicine 0,02% à température ambiante pendant 2h. Après rinçage à l'eau distillée, les racines sont fixées dans de l'éthanol-acétique (3:1 v/v) pendant 48 heures à température ambiante puis conservées au réfrigérateur dans de l'éthanol 70°. La méthode de coloration est celle de Feulgen (Jahier et al. 1992). Les pointes racinaires sont d'abord rincées à l'eau distillée puis soumises à une hydrolyse acide par HCl 1N à 60°C pendant 10 mn. Enfin, la coloration est effectuée avec le réactif de Schiff. L'écrasement de la pointe racinaire est fait entre lame et lamelle dans une goutte de carmin-acétique pour accentuer le contraste entre les chromosomes et le fond cellulaire. Les observations sont faites au microscope photonique. Les meilleures lames présentant de belles plaques métaphasiques sont conservées dans un montage permanent au DePex. Les photographies des métaphases sont prises à l'aide d'un microscope ZEISS Axiostar équipé d'un appareil numérique Canon.

2.3. Etablissement des caryotypes

Les paramètres morphométriques des chromosomes ont été mesurés à partir de tirages photographiques des métaphases de même stade de condensation. Les caryotypes ont été décrits selon la nomenclature de Levan et al. (1964). Les chromosomes sont classés sur la base de l'indice centromérique (IC) en métacentrique (m), submétacen-

trique (sm), subtélocentriques (st) et télocentrique (t) (Tableau 1).

3. Résultats et Discussion

3.1. Systématique et chorologie de *S. aspera* L. en Algérie

Les flores de Maire (1958) et de Quézel et Santa (1962) sont les ouvrages classiques actuellement en usage fournissant des « clés » essentiels de détermination systématique des espèces végétales en Algérie. Dans ces flores, *S. aspera* a pour synonymes hétérotypiques :

= *Smilax aspera* var. *altissima* Moris & De Not. (1839)

= *Smilax mauritanica* Poir. (1789)

= *Smilax aspera* var. *mauritanica* (Poir.) Gren. & Godr. (1855)

= *Smilax pendulina* Lowe (1833)

Une autre espèce rapportée par Maire (1958), *S. canariensis* Willd. (1806), est endémique aux Iles Canaries.

3.1.1. Caractères botaniques

Ce sont des plantes dioïques vertes et glabres avec un rhizome rameux, produisant des racines cylindriques et des tiges aériennes. Les tiges aériennes sont grêles, grimpantes, pouvant atteindre jusqu'à 15 m de hauteur sur les arbres (Figure 1A-C). Les rameaux sont très ramifiés portant des feuilles persistantes coriaces. Le limbe est très variable, cordiforme, cordiforme-triangulaire ou hasté. Chez certaines populations, les feuilles sont inermes ou portant des aiguillons sur les marges et sur les ner-

Tableau 1. Nomenclature des chromosomes selon Levan et al. (1964).

Position du centromère	R	IC	Type du chromosome
Région médiane	1,0 – 1,7	37,5 – 50,0	Métacentrique (m)
Région submédiane	1,7 – 3,0	25,0 – 37,5	Submétacentrique (sm)
Région subterminale	3,0 – 7,0	12,5 – 25,0	Subtélocentrique (st)
Région terminale	7,0 - ∞	0,0 – 12,5	Télocentrique (t)

IC, Indice centromérique = $L_{bc} / L_T \times 100$; R : Valeur moyenne des rapports bras long/ bras court ; Lbc: Longueur du bras court ; LT : Longueur totale du chromosome.



Figure 1. Illustrations de *Smilax aspera* L.

Plantes dans leur habitat naturel (A, B, C) ; inflorescence et fleurs males (D,E,F); Fleurs femelles (G) et baies rouges (H,I) [Forêt de Bainem, Chréa, Tlemcen et Tipaza - Photos: M. Bouyaiche (A,B,C,D); R. Amirouche (E-F,G,H,I)].

vures de la face inférieure. Les fleurs sont blanches, en cymes ombelliformes sessiles ou brièvement pédonculées, disposées en grappes terminales et axillaires (Figure 1D-G). Les fleurs femelles produisent des baies rouges, subglobuleuses ou ovées (Figure 1G-I) à graines brunes, lisses, subglobuleuses.

Selon la morphologie des feuilles, deux variétés de *S. aspera* ont été décrites dans la flore de Maire (1958) :

Feuilles épineuses sur les marges, ou bien sur la nervure médiane dorsale et aussi sur le pétiole, le limbe ordinairement étroit, allongé plus ou moins hasté :

- var. *genuina* G. G., Fl. Fr. 3, p. 234 (1855).

= *S. aspera* var. *eu-aspera* Maire in J. et M., Cat. Maroc, p. 136 (1931).

Feuilles ordinairement plus grandes, largement

cordiformes, inermes ou presque inermes :

- var. *altissima* Moris et De Not., Fl. Capr. p. 127 (1839).

= *S. aspera* var. *mauritanica* (Poirot) G. G., 5. c. (1855) ; B. et T., 1. c. ; B. et B., 1. c. ; J. et M., 1. c.

= *S. mauritanica* Poirot, Voyage, 2, p. 263 (1789) ; Desf., Fl. Atl. 2, p. 367.

Floraison : octobre-novembre.

Ces deux dernières variétés ont été également citées par Quézel et Santa (1962).

Cependant sur le terrain, au sein d'une même population, les feuilles montrent souvent une très grande diversité morphologique. Certaines feuilles peuvent être larges, cordées et épineuses, tandis que d'autres sont inermes avec une forme parfois très allongée (Figure 2). Ainsi, les deux variétés var *altissima* et var *genuina* sont très difficiles à distinguer l'une de l'autre et sont de ce fait, rejetées par



Figure 2. Diversité morphologique des feuilles de *Smilax aspera* L.

(A, D, F) feuilles allongées et hastées inermes ; (B, C, E) feuilles cordiformes inermes ; (G) feuille épineuse sur les marges ; (H) feuille épineuse sur les marges et nervure médiane dorsale.

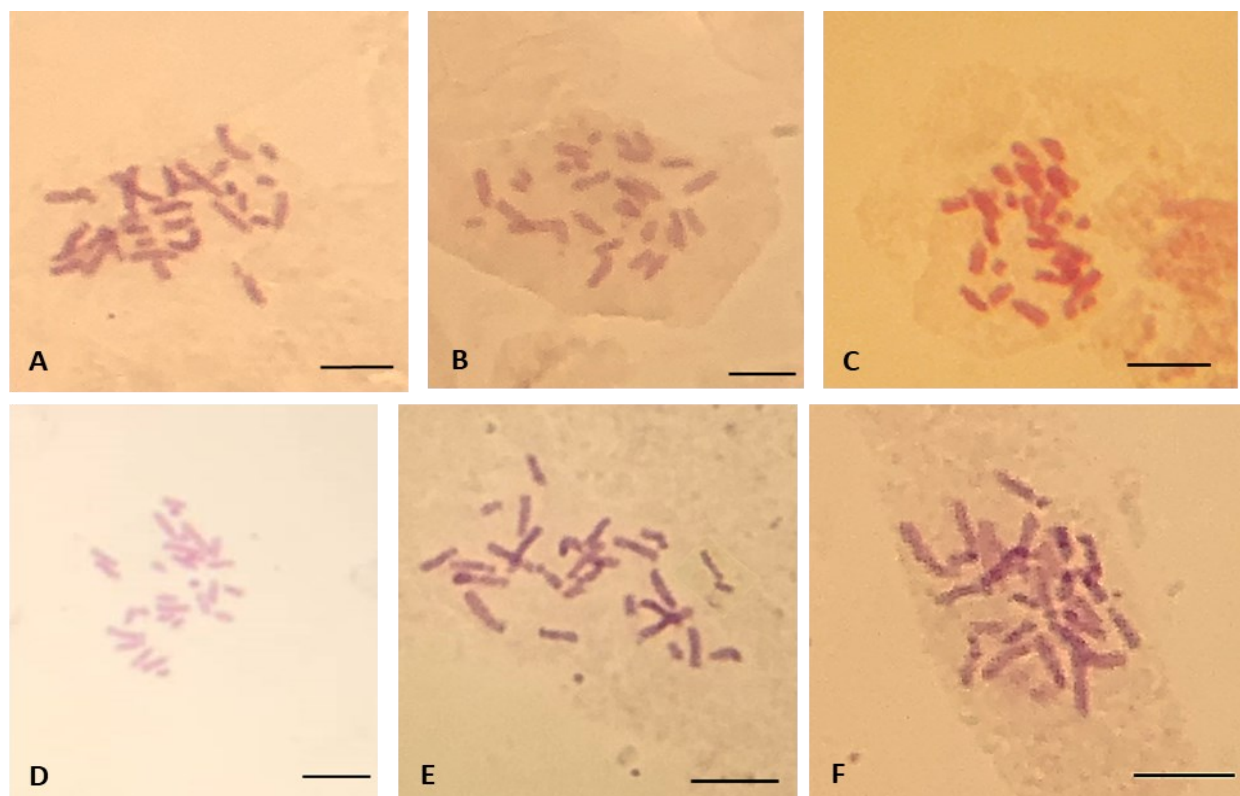


Figure 3. Métaphases somatiques de *Smilax aspera* à $2n = 2x = 32$
Populations de Jijel (A, B, C, D) ; Guerbes (E); Hamdania (F) [Barre = 5 μ m].

les sites de nomenclature, seule l'espèce *S. aspera* sensu lato est acceptée (Dobignard et Chatelain, 2013 ; Govaerts, 2015).

Habitat : *S. aspera* est une espèce largement répartie en Algérie. Elle pousse surtout dans des biotopes humides et subhumides. Elle est fréquente dans les forêts littorales en sous-bois de pins d'Alep avec *Myrtus communis*, *Quercus coccoifera*, *Pistacia lentiscus*, souvent en association avec d'autres ombrophiles lianescentes comme *Dioscorea communis*, *Clematis cirrhosa*, *Aristolochia altissima* (Bainem, Tipaza). Dans les suberaies et chênaies de montagnes elle est accompagnée de *Lonicera implexa*, *Asparagus acutifolius* et *Rubia peregrina* (Chrèa). Dans les forêts humides de chênes à *Q. faginea*, *Q. afares*, *Q. ilex* et *Q. suber*, elle est accompagnée de *D. communis* et *Ruscus aculeatus* (Yakouren, Guerrouche).

3.2. Dénombrement des chromosomes de *S. aspera*

Les dénombrements chromosomiques ont été effectués chez trois populations de *S. aspera* : Jijel, Hamdania et Guerbes (Figure 3). Les graines mises à germer ont montré des difficultés de germination probablement dû à une dormance (4 à 11 mois). La germination chez cette espèce nécessiterait des conditions particulières de la levée de dormance (Martins et al., 2011).

Le caryotype établi pour la population de Jijel avec $2n = 2x = 32$ (Figure 4), présente une formule caryotypique de $16m + 12sm + 4st$. Le caryotype est constitué de 16 paires de chromosomes dont :

- 8 paires métacentriques
- 6 paires submétacentriques
- 2 paires subtélocentriques

Dans l'ensemble, pour cette population, la plupart des chromosomes sont métacentriques.

Les dénombrements chromosomiques ont révélé chez les échantillons algériens examinés, un nombre diploïde à $2n = 2x = 32$ avec $x = 16$. Des cellules à $2n = 28$ et $2n = 30$ ont été rarement observées. Le nombre de base $x = 16$ est conforme à d'autres études sur des espèces du genre *Smilax* originaires d'Asie, d'Inde et du Brésil comme *S. rufescens*, *S. fluminensis*, *S. pmylantha*, *S. brasiliensis*, *S. campestris* et *S. cissoides* (Piazza et al. 2019).

Le caryotype de *S. aspera* des échantillons algériens est constitué majoritairement de chromosomes métacentriques (16) et submétacentriques (12) ; les constriction secondaires et les satellites n'ont pas pu être observés. Ce résultat concorde avec les observations de Piazza et al. (2019) sur des espèces brésiliennes dont les caryotypes comportent un grand nombre de chromosomes métacentriques. En revanche, Vijayavalli et Mathew (1989) ont mis en évidence des caryotypes bien plus asymétriques chez *S. aspera*, avec une seule paire de chromosomes métacentriques, 7 paires submétacentriques, 7 paires subtelocentriques et une paire télolocentrique. Dans notre étude, la taille

des chromosomes varie entre 1 μm et 4,5 μm , alors qu'elle est de 2,30 μm à 7,00 μm chez les populations brésiliennes (Piazza et al. 2019).

Cependant, au sein du genre *Smilax*, la polyploidie se manifeste avec plusieurs niveaux : diploïde ($2x$), tétraploïde ($4x$) et hexaploïde ($6x$) avec $x = 16$ comme nombre chromosomique de base le plus fréquent (Piazza et al. 2019). D'autres nombres ont été enregistrés $2n = 48$ et $2n = 64$ (Vijayavalli et Mathew, 1989 ; Kong et al. 2007). Selon ces auteurs, le nombre de base $x = 16$ pourrait être le nombre primitif dans le genre *Smilax*, à partir duquel les autres nombres inférieurs ont évolué par aneuploidie. Certains taxons comme *S. china*, constituent des complexes spécifiques polyploïdes avec des cytotypes diploïdes à $2n = 30$ et $2n = 32$, des tétraploïdes à $2n = 64$ et des hexaploïdes à $2n = 96$ (Sun et al. 2015).

Un hétéromorphisme de la taille des chromosomes homologues a été observé dans le caryotype de plantes mâles de *S. aspera*, *S. rufescens*, *S. pmylantha* et *S. goyazana* (Piazza et al. 2019 ; Vijayavalli et Mathew, 1989). Ces auteurs ont supposé un

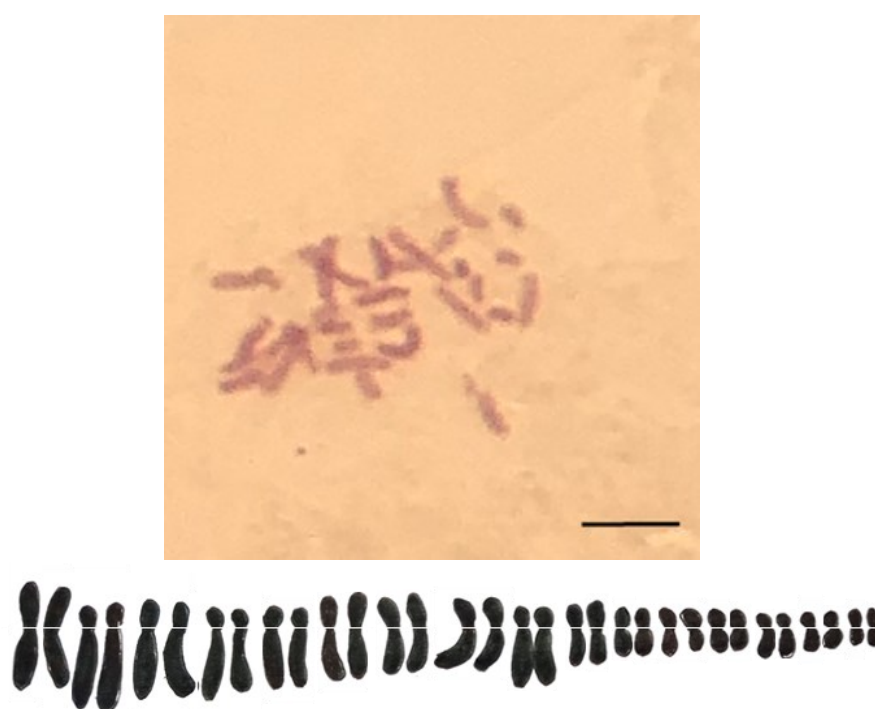


Figure 4. Caryotype de *Smilax aspera* à $2n = 32$ (Population de Jijel)
[Barre = 5 μm]

complexe chromosomique sexuel de type XY (mâle) et XX (femelle) pour ces espèces.

4. Conclusion

S. aspera est une liane qui s'adapte particulièrement à l'écosystème forestier méditerranéen. Elle constitue avec les autres espèces de la strate lianescente, des indicateurs potentiels dans le suivi de la dynamique des communautés et formations végétales en relation avec les changements climatiques. Ses populations exhibent une forte plasticité morphologique des feuilles.

L'étude caryologique a permis de rapporter pour la première fois le nombre chromosomique de *S. aspera* en Algérie et de souligner son originalité. Les résultats indiquent un nombre diploïde à $2n = 2x = 32$ et un caryotype à tendance symétrique, constitué essentiellement de chromosomes métacentriques et submétacentriques.

Un large échantillonnage devrait permettre d'appréhender plus finement la diversité caryosystématique de *S. aspera* en Algérie.

Références

- Boubetra A., 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.
- Dobignard A., Chatelain C. (2010–2013) Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du Nord. Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Genève (CH). <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/recherche.php> [dernier accès 5 décembre 2021]
- Govaerts R (2015) World Checklist of Selected Plant Families Asparagaceae. Royal Botanic Gardens, Kew. <http://apps.kew.org/wcspl/> [dernier accès 5 décembre 2021]
- Harb AH., Zarga M., Abdalla S. (2009). Effect of trans-resveratrol, isolated from *Smilax aspera*, on smooth muscle, blood pressure, and inflammation in rats and nociception in mice. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 2, 69-76.
- Heywood VH., Brummitt RK., Culham A., Seberg O. (2007). *Flowering Plant Families of the World*. Kew Royal Botanic Garden, London.
- Hirota B., Da Silva Paula C., Bednarczuk Oliveira V., Cunha JM. (2016). Phytochemical and Antinociceptive, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Studies of *Smilax larvata* (Smilacaceae). *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (1), 1-12.
- Jahier J. (1992). *Technique de cytogénétique végétale*. Jahier J. Edition INRA, Paris, 184 p.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. (2016). *Plant Systematics: a phylogenetic approach*, 4th ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Kong HH., Wang AL., Lee J., Fu C-X. 2007. Studies of systematic evolution and karyotypic variation in *Smilax* and *Heterosmilax* (Smilacaceae). *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 45, 257-273.
- Levan A., Fredga A., Sanderberg AA. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 201-220.
- Maire R. (1958). *Flore de l'Afrique du nord*. Edition P. Lechevalier, Paris, vol. 5, 307 p.
- Martins AR., Pütz N., Dionisia da Luz A., de Stefano Piedade SM., Appezzato da Glória B. (2011). Seed germination and seedling morphology of *Smilax polyantha* (Smilacaceae). *Biota Neotropica* 11, 2.
- Pizzaia D., Oliveira-Maekawa VM., Martins AR., Mondin M., Aguiar-Perecin MLR. (2019). Karyotype structure and NOR activity in *Brazilian Smilax* Linnaeus, 1753 species (Smilacaceae). *Comparative Cytogenetics*, 13 (3), 245-263.
- Pramova E., Locatelli B., Djoudi H., Somorin O. (2012). Forests and trees for social adaptation to climate variability and change. *Wiley interdisciplinary reviews: Climate Change*, 3(6), 581-596
- Qi ZK., Cameron M., Li P., Zhao Y., Chen S., Chen G., Fu C. (2013). Phylogenetics, character evolution, and distribution patterns of the greenbriers, Smilacaceae (Liliales), a near-cosmopolitan family of monocots. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 173, 535-54.
- Quézel P., Santa S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*.
- Romo-Pérez., Escandón-Rivera., Andrade-Cetto. (2019). Chronic hypoglycemic effect and phytochemical composition of *Smilax moranensis* roots. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 246-253.
- Schnitzler A., Arnold C. (2010). Contribution of vines to forest biodiversity in the Mediterranean basin. *Ecologia Mediterranea*, 36, 7-23.
- Shu XS., Hong ZH., Yang XL. (2006). Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Smilax china* L. aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 103 (3), 327-332.
- Sun ZS., Wang YH., Zhao YP., Fu CX. (2015). Molecular, chromosomal and morphological characters reveal a new diploid species in the *Smilax china* complex (Smilacaceae). *Phytotaxa*, 212, 199-212.
- Ungson, L.B., Sastrapradja, S. (1976). Variation in *Smilax* species [Sarsaparilla] of Java [Indonesia]. *BIOTROP Bulletin*.
- Vijayavalli B., Mathew PM. (1989). Karyomorphology of five South Indian species of *Smilax* Linn. *Cytologia*, 54, 65-72.