

Torrell Montserrat, Malika Cerbah, Sonja Siljak-Yakovlev & Joan Vallès

Étude cytogénétique de trois taxons du complexe d'*Artemisia campestris* L. (*Asteraceae*, *Anthemideae*): localisation de l'hétérochromatine et de l'ADN ribosomique

Abstract

Torrell, M., Cerbah, M., Siljak-Yakovlev, S. & Vallès, J.: Cytogenetic study of three taxa in the d'*Artemisia campestris* L. complex (*Asteraceae*, *Anthemideae*): location of the heterochromatine and ribosomal DNA. – *Bocconea* 13: 623-628. 2001. – ISSN 1120-4060.

The world-wide genus *Artemisia* L. contains some 500 species and is largely distributed in the Mediterranean region. Three taxa (four populations from the Iberian Peninsula and Egypt) from subg. *Dracunculus* Besser were studied from cytogenetical point of view. They form a polyploid series with the basic chromosome number $x=9$. Two fluorochromes, chromomycin A₃ and bisbenzimidazole Hoechst 33258, reveal the chromosomal regions where repetitive DNA is rich in GC and AT, respectively. The genes for the ribosomal DNA have been located by *in situ* hybridization for the first time in this genus. This first approach to a more detailed knowledge of the genome organisation of the taxa studied may be relevant to future taxonomic and evolutionary studies.

Introduction

Le genre *Artemisia* L. [ici considéré au sens classique et large, c'est à dire comprenant comme section ou sous-genre *Seriphidium* (Besser ex Hook.) Fourr., que quelques auteurs séparent comme genre indépendant] comprend environ 500 espèces et se trouve largement répandu dans la région méditerranéenne (Bremer & Humphries 1993). Nous avons étudié du point de vue cytogénétique trois taxons du sous-genre *Dracunculus* Besser qui forment un complexe d'espèces très proches provenant de la Péninsule Ibérique et d'Égypte et qui constituent également une série polyploïde basée sur le nombre $x=9$. Les trois espèces étudiées sont: *A. campestris* L., très abondante dans tout l'hémisphère nord, comportant des populations diploïdes et tétraploïdes; *A. monosperma* Delile, tétraploïde, qui s'étend de l'Arabie à la Lybie et *A. crithmifolia* L., hexaploïde, que l'on trouve le long de la côte atlantique du Portugal aux Pays Bas.

Matériel et méthodes

Les caractéristiques des populations étudiées, comprenant le nom de l'espèce, la localité, l'écologie, la date de récolte, le(s) collecteur(s) et le numéro d'échantillon déposé dans l'herbier BCF, du laboratoire de Botanique de la Faculté de Pharmacie de Barcelone, sont les suivantes:

A. campestris L. Espagne, Valence, Baix Segura: Oriola, bords de chemin. 15-XII-1996. M. Torrell & J. Vallès. BCF 44570.

A. campestris L. Espagne, Catalogne, Alt Empordà: Vilafant, bords de chemin. 8-XII-1996. M. Torrell & J. Vallès. BCF 43816.

A. monosperma Delile. Egypte: Medinat es Sadat, friche. 6-IV-1995. A. Badr, I. Kamel & J. Vallès. BCF 41580.

A. crithmifolia L. Portugal, Minho: Esposende, sables littoraux. 10-XII-1995. J.M. Poch & J. Vallès. BCF 44569.

Pour cette étude des méristèmes radiculaires ont été utilisés à partir de la germination des akènes sur du papier filtre humide dans des boîtes de Pétri. Le prétraitement des méristèmes a été réalisé à la colchicine 0,05% pendant 2-2,5 heures et la fixation dans l'éthanol-acide acétique (3:1). L'hydrolyse a été faite à 60°C, dans l'acide chlorhydrique 1N pendant 3 minutes pour la coloration à l'orcéine et dans l'acide acétique 45% pendant 5 minutes pour les colorations aux fluorochromes et l'hybridation *in situ*. Pour les colorations aux fluorochromes et l'hybridation *in situ* l'écrasement a été réalisé dans une goutte d'acide acétique 45%. Les lamelles ont été décollées à l'aide de la neige carbonique.

Trois méthodes ont été utilisées pour l'étude du caryotype:

a) Coloration à l'orcéine acétique pour le dénombrement chromosomique et l'étude morphométrique. Le calcul des données numériques des caryotypes et l'établissement des idiogrammes ont été réalisés à partir de 10 plaques métaphasiques par population, d'après les protocoles d'Oliva & Vallès (1994) et Vallès & Siljak-Yakovlev (1997).

b) Banding aux fluorochromes pour mettre en évidence les régions des chromosomes, respectivement riches en bases GC (avec la chromomycine A₃) et AT (avec le bisbenzimidazole Hoechst 33258), selon les protocoles décrits dans Vallès & Siljak-Yakovlev (1997).

c) Hybridation *in situ* pour la localisation chromosomique des gènes de l'ADN ribosomique 18S-5.8S-26S et 5S, selon le protocole décrit dans Cerbah & al. (1998).

Résultats et discussion

Pour chaque population étudiée, nous avons déterminé le nombre chromosomique somatique (2n) et calculé les données numériques du caryotype, avec lesquelles nous avons élaboré les idiogrammes haploïdes, présentés dans la Fig. 1. Sur ces idiogrammes, nous avons indiqué les régions riches en bases GC (colorées à la chromomycine) et AT (colorées au bisbenzimidazole), ainsi que la position des *loci* de l'ADN ribosomique mis en évidence par hybridation *in situ*. Le tableau 1 résume tous les résultats pour chaque population.

Les trois taxons étudiés appartiennent au groupe majoritaire au sein du genre *Artemisia* à nombre chromosomique de base $x=9$ (Oliva & Vallès 1994, Vallès & Siljak-Yakovlev

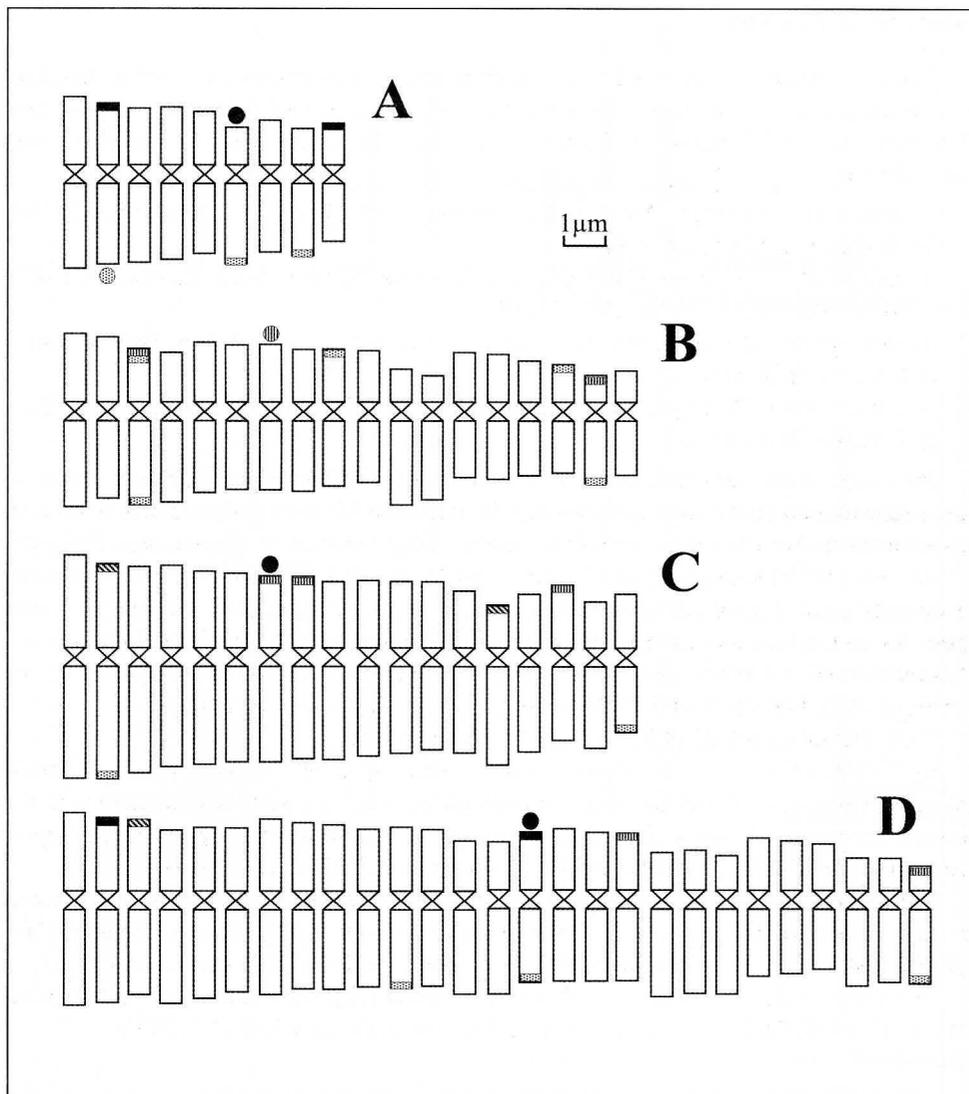


Fig. 1. Idiogrammes haploïdes des quatre populations d'*Artemisia* étudiées, montrant la position des marquages aux fluorochromes et des signaux d'hybridation *in situ*.

-  régions positives à la chromomycine.
-  régions positives au bisbenzimidazole.
-  sites d'ADNr.
-  coïncidence des marquages à la chromomycine et des loci d'ADNr.

A) *A. campestris*, Oriola. B) *A. campestris*, Vilafant. C) *A. monosperma*, Medinat es Sadat. D) *A. crithmifolia*, Esposende.

Tableau 1. Résultats des dénombrements chromosomiques, des colorations aux fluorochromes et de l'hybridation in situ.

Taxon	Population	Nombre chromosomique et niveau de ploïdie	Chromomycine	Bisbenzimidide	ADNr 5S et 18S
<i>A. campestris</i>	Oriola	2n=2x=18	4 bandes télomériques, 2 bandes satellifères	4 bandes télomériques, 2 bandes satellifères	4 sites télomériques, 2 sites satellifères (coïncidant avec chromomycine)
<i>A. campestris</i>	Vilafant	2n=4x=36	4 bandes télomériques, 2 bandes satellifères	10 bandes télomériques	Au moins 10 marquages 18S (résultats préliminaires)
<i>A. monosperma</i>	Medinates Sadat	2n=4x=36	4 bandes télomériques, 2 bandes satellifères	4 bandes télomériques	4 sites télomériques, 2 sites satellifères

1997). Nous confirmons l'existence de deux niveaux de ploïdie (2x et 4x) au sein d'*A. campestris* (voir liste de références dans Vallès & Torrell 1995). Le nombre chromosomique que nous avons trouvé chez *A. monosperma* ($2n=36$) coïncide avec celui reporté par Badr & al. (1997), mais diffère de celui donné par Nordenstam (1972), $2n=34$; de plus, le même nombre $2n=36$ a été trouvé dans deux autres populations de cette espèce (Torrell & Vallès, inéd.). Pour *A. crithmifolia*, le nombre de chromosomes $2n=54$ a déjà été signalé par plusieurs auteurs (Kawatani & Ohno 1964, Oliva & Vallès 1994, et voir Pastor 1992, pour d'autres références).

La morphométrie des caryotypes des quatre populations est assez similaire et les différences ne sont pas significatives. Néanmoins, les colorations aux fluorochromes permettent de signaler des différences. Ainsi, la population tétraploïde d'*A. campestris* est caractérisée par un nombre de bandes positives au bisbenzimidazole nettement supérieur à celui des autres populations étudiées. Par contre, *A. crithmifolia* a un nombre plus élevé de bandes positives à la chromomycine et, de plus, son caryotype est le plus asymétrique de la série.

Les résultats d'hybridation *in situ*, présentés ici pour la première fois chez le genre *Artemisia*, montrent une organisation assez similaire de l'ADN ribosomique dans le génome des espèces étudiées. En effet, 4 loci télomériques et 2 loci au niveau satellitaire ont été mis en évidence dans la plupart des populations. Le nombre de marquages est le même pour les trois taxons, indépendamment du niveau de ploïdie, sauf pour la population tétraploïde d'*A. campestris* (Vilafant) qui possède au moins 10 loci d'ADNr 18S-5,8S-26S. Chez la population diploïde d'*A. campestris*, ces sites sont de plus localisés au même niveau que les bandes positives à la chromomycine, représentant les régions hétérochromatiques riches en bases GC. L'utilisation simultanée des sondes d'ADNr 5S et 18S a permis de mettre en évidence le fait que ces deux types d'ADNr sont colocalisés sur les mêmes sites chromosomiques.

Des études plus complètes concernant un plus grand nombre d'espèces ont été entreprises et permettront de mieux connaître l'organisation du génome dans ce groupe de plantes, ce qui aurait des conséquences directes sur la compréhension des relations taxonomiques et évolutives au sein de ce large et complexe genre *Artemisia*.

Il a été démontré que les trois espèces étudiées sont très proches pas seulement de par leurs caractères macromorphologiques, mais aussi de par la structure du génome. Ces résultats amènent à considérer que des cytotypes diploïdes d'*A. campestris* ont pu contribuer à la formation des autres deux taxons, polyploïdes, tel qu'Oliva & Vallès (1994) l'ont affirmé à propos d'*A. crithmifolia*. Les espèces polyploïdes *A. monosperma* et *A. crithmifolia* sont deux taxons très similaires qui partagent les mêmes habitats et s'adaptent aux mêmes conditions écologiques. Il s'agit d'espèces psammophiles et fondamentalement littorales, quoique la première atteint des zones considérablement intérieures, toujours dans des terrains sablonneux. La disjonction des aires de répartition et la différence de valence chromosomique (4x et 6x) conduisent à la conclusion que le rapport entre ces deux taxons est de pseudovicariance.

Remerciements

Nous remercions Odile Robin de son assistance technique. Ce travail a été financé par le projet DGICYT PB-93-0032.

Références bibliographiques

- Badr, A., Kamel, E. A. & Garcia-Jacas, N. 1997: Chromosomal studies in the Egyptian flora. VI. Karyotype features of some species in subfamily *Asteroideae* (*Asteraeae*). — *Comp. Newsl.* **30**: 15-28.
- Bremer, K. & Humphries, C. J. 1993: Generic monograph of the *Asteraceae-Anthemideae*. — *Bull. Nat. Hist. Mus. Lond. (Bot.)* **23(2)**: 71-177.
- Cerbah, M., Coulaud, J. & Siljak-Yakovlev, S. 1998: rDNA organization and evolutionary relationships in the genus *Hypochoeris* (*Asteraceae*). — *J. Heredity* **89** (sous presse).
- Kawatani, T. & Ohno, T. 1964: Chromosome numbers in *Artemisia*. — *Bull. Natl. Inst. Hyg. Sci. Tokyo* **82**: 183-193.
- Nordenstam, B. 1972: Chromosome numbers in some *Compositae* from Egypt. — *Bot. Not.* **125**: 393-396.
- Oliva, M. & Vallès, J. 1994: Karyological studies in some taxa of the genus *Artemisia* (*Asteraceae*). — *Canad. J. Bot.* **72**: 1126-1135.
- Pastor, J. E. (ed.). 1992: Atlas cromosómico de la flora vascular de Andalucía occidental. — Sevilla.
- Vallès, J. & Siljak-Yakovlev, S. 1997: Cytogenetic studies in the genus *Artemisia* L.: fluorochrome banded karyotypes of five taxa, including the Iberian endemic species *Artemisia barrelieri* Besser. — *Canad. J. Bot.* **75**: 595-606.
- Vallès, J. & Torrell, M. 1995: Reports (552-558). [In Kamari, G., Felber, F. & Garbari, F. (ed.), *Mediterranean chromosome number reports - 5*]. — *Fl. Medit.* **5**: 357-363.

Adresses des auteurs:

Torrell Montserrat & Joan Vallès, Laboratori de Botànica, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona.

Malika Cerbah & Sonja Siljak-Yakovlev, Laboratoire d'Evolution et Systématique, URA CNRS 2154, Université de Paris-Sud XI, Bâtiment 362, 91405 Orsay Cédex.