

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES  
AGRONOMIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

# Mémoire de fin de cycle

*En vue de l'obtention du Diplôme de Master en  
biologie*

Option : Génétique et Amélioration végétale

Thème :

Contribution à l'étude cytogénétique d'une  
population de *Hordeum bulbosum* L.  
d'Ighzer Amokrane (Béjaïa)

Présenté par *SEDKI Wahiba*

Membres de jury :

Président : M<sup>me</sup> SAHMOUNE F.                      MACCA      Univ. UMMTO

Examineur : M<sup>me</sup> ABDLLAOUI K.                      MACCA      Univ. UMMTO

Examineur : M<sup>r</sup> HARGAS H.                              MACCA      Univ. UMMTO

Promoteur : M<sup>me</sup> OURARI M.                              MCB              Univ. Béjaïa

Co- Promoteur : M<sup>me</sup> TALEB K.                              MACCB      Univ. UMMTO

Promotion : 2015-2016

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES  
AGRONOMIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

# Mémoire de fin de cycle

*En vue de l'obtention du Diplôme de Master en  
biologie*

Option : Génétique et Amélioration végétale

Thème :

Contribution à l'étude cytogénétique d'une  
population de *Hordeum bulbosum* L.  
d'Ighzer Amokrane (Béjaïa)

Présenté par *SEDKI Wahiba*

Membres de jury :

Président : M<sup>me</sup> SAHMOUNE F.                      MACCA      Univ. UMMTO

Examineur : M<sup>me</sup> ABDLLAOUI K.                      MACCA      Univ. UMMTO

Examineur : M<sup>r</sup> HARGAS H.                              MACCA      Univ. UMMTO

Promoteur : M<sup>me</sup> OURARI M.                              MCB              Univ. Béjaïa

Co- Promoteur : M<sup>me</sup> TALEB K.                              MACCB      Univ. UMMTO

Promotion : 2015-2016

A decorative border consisting of a series of black arrows pointing upwards and to the right, arranged in a slightly curved pattern around the perimeter of the page.

## Remerciements

Je remercie vivement Madame SEHMOUNE F. Professeur à UMMTO  
D'avoir accepté d'examiner ce travail et de présider le jury.

Je me fais un immense plaisir de remercier Madame ABDLLAOUI K.  
Professeur à UMMTO d'avoir accepté de faire partie du jury.

Je suis également reconnaissante à Monsieur HARGAZ H. Professeur à  
UMMTO d'avoir accepté de faire partie du jury.

C'est avec beaucoup de gratitude que je remercie ma promotrice Madame  
OURARI M. professeur à l'université de béjaia. Je suis fière d'avoir été son  
étudiante. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde et sincère  
reconnaissance pour m'avoir guidée tout au long de cette recherche et pour avoir  
partagé ses connaissances, son expérience et sa disponibilité.

Je tiens à remercier profondément Madame DJAFRI-BOUALLAG L.  
professeur à l'université de béjaia pour sa précieuse aide et pour ces remarques  
sur la méthodologie dans le travail.

Je me fais un immense plaisir de remercier ma Co-Promotrice Madame  
TALEB K. professeur à l'université Mouloud Mammerie de Tizi-Ouzou pour ces  
encouragements et sa précieuse aide.

Monsieur FERRAGUI N. professeur à UMMTO, Madame  
BENMOUHOUH H. professeur à l'université de béjaia, qu'ils trouvent dans ces  
quelques mots mes remerciements les plus sincères pour leurs aides.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous ceux qui ont contribué de près  
ou de loin à la réalisation de ce travail, mes vifs remerciements.

A decorative border of arrows with a dotted trail, pointing towards the center of the page, framing the text.

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, qui m'ont soutenu et encouragé durant ce parcours,  
je les remerciais jamais assez

A mes très chers frères : Bilal, Hcen et Houcine.

A ma sœur Lynda et son époux m'hand et ma nièce adorable wissam.

A toute ma famille.

A tous ceux et celles qui m'ont offert amitié et soutien.

A toutes la spéciale promotion 2015/2016.

---

## Sommaire

Liste des tableaux.

Liste des figures.

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Matériels et méthodes</b> .....	3
1. Origine de matériel.....	3
2. Méthode d'analyse .....	3
<b>2.1. Divisions mitotiques</b> .....	3
<b>2.1.1. Germination</b> .....	3
<b>2.1.2. Prétraitement</b> .....	3
<b>2.1.3. Fixation</b> .....	3
<b>2.1.4. Hydrolyse</b> .....	4
<b>2.1.4. Coloration</b> .....	4
<b>2.1.6. Montage</b> .....	4
<b>2.1.7. Observation</b> .....	4
<b>2.1.8. Caryogrammes</b> .....	4
<b>2.2. Divisions méiotiques</b> .....	5
<b>2.2.1. Fixation et conservation</b> .....	5
<b>2.2.2. Hydrolyse</b> .....	5
<b>2.2.3. Coloration</b> .....	6
<b>2.2.4. Double coloration</b> .....	6
<b>2.2.5. Observation et photographie</b> .....	6

---

2.3. Fertilité pollinique.....	6
<b>Résultats et discussion</b> .....	7
<b>1. Divisions racinaires</b> .....	7
1.1. Dénombrement chromosomiques.....	7
1.2. Caryotype et caryogramme.....	7
<b>2. Comportement méiotique</b> .....	10
2.1. Division réductionnelle.....	10
2.1.1. Prophase I.....	10
2.1.2. Métaphase I.....	13
2.1.3. Anaphase I.....	13
2.1.4. Télophase I.....	14
2.2. Division équationnelle.....	14
2.2.1. La prophase II.....	14
2.2.2. Métaphase II.....	15
2.2.3. Anaphase II.....	15
2.2.4. Télophase II.....	15
2.2.5. Intercinèse II.....	15
2.3. Principaux types d'appariement.....	15
<b>3. Facteurs irrégulier de la méiose (anomalies méiotiques)</b> .....	20
3.1. Univalents.....	23
3.2. Tétravalents.....	23
3.3. Chromosomes retardataires et les micronoyaux.....	23
3.4. Ponts chromatiques .....	24

3.5. Division asynchrones.....	24
3.6. Cytomixie.....	24
4. Analyse de la fertilité pollinique .....	26
<b>Conclusion</b> .....	27

**Liste des tableaux**

**Tab. I.** Données morphométriques du caryogramme de *H. bulbosum* L. de la population Ighzer Amoukrane .....9

**Tab. II.** Différentes formules méiotiques observées chez *Hordeum bulbosum* L. dans la population d'Ighzer Amokrane. ....17

**Tab. III.** Nombre moyen de chiasmata par cellule, par bivalent et par tétravalent .....19

**Tab. IV.** Taux d'anomalies méiotiques calculées pour la population de *Hordeum bulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Ighzer Amokrane.....21

**Tab. V. :** Taux de la fertilité pollinique de *H. bulbosum* L. calculé pour la population d'Ighzer Amokrane.....26

Liste des figures

**Fig. 1.** ; Caractéristiques morphocaryologiques de l'échantillon diploïde de *Hordeum bulbosum* L. ....8

**Fig. 2.** Aspects des différents stades de la division réductionnelle des cellules mères de pollen observés chez *H. bulbosum* L.....11

**Fig. 3.** Aspects des différents stades de la division équationnelle des cellules mères de pollen observés chez *H. bulbosum* L.....14

**Fig. 4.** Aspects des différents types d'appariements lors de la métaphase I chez *H. bulbosum* L.....16

**Fig. 5.** Différents types de bivalents observés dans les cellules mères de pollen en division dans la population de *H. bulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Ighzer Amokrane.....18

**Fig. 6.** Différents types de tétravalents observés dans les cellules mères de pollen en division dans la population de *H. bulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Ighzer Amokrane.....18

**Fig. 7.** Aspect des différentes anomalies méiotiques des cellules mères de pollen chez *H. bulbosum* L.....22

**Fig. 8.** Aspect des différents types de cytomixies entre les cellules mères de pollen chez *H. bulbosum* L.....25

## INTRODUCTION

Depuis quelques décennies, les spécialistes en amélioration des plantes s'intéressent particulièrement aux formes spontanées apparentées aux espèces cultivées. L'amélioration génétique de l'orge cultivée repose en grande partie sur la gestion et l'exploitation des ressources génétiques que constituent ces espèces spontanées. Elles sont connues pour leur adaptation aux conditions climatiques difficiles et représentent ainsi, un véritable réservoir de variabilité génétique. L'évaluation de ces espèces en tant que ressources génétiques nécessite plusieurs approches notamment écophysiologiques, biochimiques et cytogénétiques.

La cytogénétique a pour objet l'étude de la structure et du fonctionnement normal et pathologique des chromosomes. C'est une science hybride qui fait le lien entre des événements cellulaires, principalement ceux des chromosomes, et des phénomènes génétiques (Elrod et Stansfield, 2003). Cette discipline fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux cytogénétiques sur les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19<sup>ème</sup> siècle ou elle fut d'abord une science d'investigation. Elle est à l'origine de la compréhension de certains mécanismes héréditaires du monde végétal dans sa diversité (taxonomie, phylogénie). Actuellement, de nouvelles techniques de cytogénétique explorent l'aspect moléculaire des chromosomes tels que l'hybridation fluorescente *in situ* (FISH) et l'hybridation génomique *in situ* (GISH).

Chaque espèce a un nombre caractéristique de chromosomes. La plupart des organismes supérieurs sont diploïdes, et possèdent deux lots de chromosomes homologues, provenant des deux parents. Dans la nature, on peut souvent observer une variation de ce nombre de lots de chromosomes (ploïdie) (Elrod et Stansfield, 2003).

Le genre *Hordeum*. contient 30 espèces qui se développent habituellement dans les conditions éco-géographiques très variées. Elles ont une grande aptitude adaptative et jouent un rôle pionnier dans la colonisation des espaces remaniés et dégradés. En Algérie, on les rencontre depuis le littoral jusqu'à l'Atlas saharien. Parmi les espèces sauvages on cite : *H. jubatum*, *H. marinum*, *H. murinum*, *H. bulbosum*, *H. leporinum*.

*Hordeum bulbosum* L. est une espèce originaire de la région méditerranéenne. Elle présente un cytotype diploïde ( $2n=2x=14$ ) et un cytotype tétraploïde ( $2n=2x=28$ ) (Bothmer *et al.*, 1991). Cette espèce pérenne, présente un entre-nœud basal élargi en bulbe elle est

allogame stricte avec un système d'auto-incompatibilité. Elle peut se propager au moyen de bulbes (Hanifi, 1999).

Le présent travail s'inscrit dans un cadre qui vise à connaître les espèces sauvages d'Algérie. Il consiste à analyser, sur le plan caryologique, une population naturelle de *Hordeum bulbosum* L. échantillonnée dans la région de Béjaïa.

A la suite de l'introduction, la première partie de ce travail est consacrée au matériel végétal analysé ainsi qu'à la méthodologie utilisée.

Dans la deuxième partie nous exposons les résultats et leurs discussions. Nous terminons avec une conclusion générale et des perspectives.

# Matériel et méthodes

## MATERIEL ET METHODES D'ANALYSE

### 1. Origine du matériel

Ce travail porte sur une population naturelle d'orge noueuse *Hordeum bulbosum* L. récoltée dans la région de Béjaïa (Ighzer Amokrane ; 36°32'23,53'' Nord et 4°33'51,85'' Est ; 750m d'altitude).

### 2. Méthodes d'analyse

Ce travail consiste en une étude des cellules en division mitotique et des cellules en division méiotique. Une étude de la fertilité pollinique est également réalisée.

#### 2.1. Les divisions mitotiques

Les mitoses somatiques sont étudiées sur des méristèmes de jeunes racines.

##### 2.1.1. Germination

Des caryopses de *Hordeum bulbosum* L. sont mis à germer dans des boîtes de Pétri tapissées de papier absorbant humide. Ils sont maintenus à 24°C à l'obscurité pendant 48h. Des jeunes racines de 1cm de longueur sont prélevées.

##### 2.1.2. Prétraitement

Les jeunes racines sont immédiatement immergées dans une solution de  $\alpha$  bromonaphtalène pour une durée de 24 heures à 4°C. Cette étape a pour but de bloquer les divisions mitotiques en métaphase et de contracter les chromosomes. Le  $\alpha$  bromonaphtalène inhibe la formation du fuseau achromatique et retarde la division du centromère. Cette étape permet également l'éparpillement des chromosomes dans la cellule et l'obtention d'un indice mitotique élevé.

##### 2.1.3. Fixation

La fixation se fait dans l'alcool à 70°. Le fixateur détruit toute vie cellulaire, bloque toute évolution des divisions et permet la conservation de l'intégrité structurale des chromosomes.

#### **2.1.4. Hydrolyse**

L'hydrolyse se déroule dans l'acide chlorhydrique (HCl) 1N à 60°C pendant 10 minutes. Elle permet la libération des groupements aldéhydiques des molécules de sucre de l'ADN par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose (Jahier *et al.*, 1992). Elle permet également le ramollissement des tissus et un bon étalement des cellules et des chromosomes.

#### **2.1.4. Coloration**

Les racines sont colorées dans le réactif de Schiff pendant deux heures à l'obscurité. Le réactif de Schiff préparé à base de fuchsine basique se fixe sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse pour donner une coloration rouge aux chromosomes. Cette technique de coloration est appelée technique de «Feulgen» car elle a été décrite pour la première fois par Feulgen en 1926 (Jahier *et al.*, 1992).

#### **2.1.6. Montage**

Après coloration, la zone méristématique est déposée sur une lame porte objet dans une goutte d'acide acétique à 45% et écrasée entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules. L'acide acétique accentue le contraste entre les chromosomes et le cytoplasme.

#### **2.1.7. Observation**

L'observation des chromosomes se fait immédiatement après écrasement des racines colorées. Les cellules en division sont repérées au microscope photonique d'abord au faible grossissement (10x10). L'analyse des divisions cellulaires est faite aux grossissements supérieurs (10x40, 10x100). Les meilleures plaques sont photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique de marque Sony à 16.1 mégapixels. Les lames sont en suite lutées à l'aide d'un vernis ordinaire et conservées au réfrigérateur.

#### **2.1.8. Caryogrammes**

Le caryogramme ou idiogramme est la représentation schématique du caryotype moyen du génome de base. Il est le plus souvent haploïde. Dans le cas où il existe une homéologie (non homologie) entre les chromosomes d'une paire, il est souhaitable de présenter un idiogramme diploïde. Pour cette étude l'indice centromérique de DOSBA et

CAUDERON (1973) et l'indice d'asymétrie (AsI %) de ARANO et SATTO (1980) sont calculés.

IC = longueur de bras long / longueur totale du chromosome.

Les chromosomes sont ainsi divisés en :

- Métacentriques : IC = 0,5 à 0,63
- Submétacentriques : IC = 0,63 à 0,75
- Subtélolocentriques : IC = 0,75 à 0,87
- Télolocentriques : IC = 0,87 à 1.

Le caryogramme du cytotype diploïde analysé est établi à partir de cinq plaques mitotiques sur lesquelles nous avons réalisé des mesures et des calculs statistiques à l'aide d'un logiciel **Karyotype 2.0 for mac.**

## **2.2. Les divisions méiotiques**

Cette analyse est réalisée sur des anthères de très jeunes boutons floraux où les cellules mères de pollen sont en division méiotique. Elle consiste à réaliser une double coloration à la fushine basique et à l'orcéine acétique. Le stade métaphase I est particulièrement intéressant pour l'analyse des différents types d'appariements chromosomiques. Les autres stades sont également pris en considération pour leur importance dans la mise en évidence des éventuelles irrégularités (divisions asynchrones, chromosomes retardataires, ponts chromatiques, cytomixie...).

### **2.2.1. Fixation et conservation**

Les jeunes épillets sont récoltés *in-situ* au mois de mai, période avant l'anthèse quand ils sont encore enveloppés dans la feuille culmaire. Ils sont fixés immédiatement dans le mélange alcool absolu, chloroforme et acide acétique appelé carnoy (6V/ 3V/ 1V). Le carnoy est un fixateur qui assure un arrêt rapide des divisions cellulaires sans léser la structure chromosomique (Jahier *et al.*, 1992).

### **2.2.2. Hydrolyse**

L'hydrolyse est réalisée dans l'HCl 1N à une température de 60°C au bain-marie pendant 7 minutes.

### **2.2.3. Coloration**

Après rinçage à l'eau, les épis sont plongés dans des piluliers contenant le réactif de Schiff et gardés à l'obscurité pendant deux heures.

### **2.2.4. Double coloration**

Sous loupe binoculaire, les étamines colorées en rouge violacé par le réactif de schiff sont dégagées à l'aide d'aiguilles fines. Elles sont ensuite écrasées entre lame et lamelle dans une goutte d'orcéine acétique.

### **2.2.5. Observation et photographie**

Les cellules mères en division sont repérées au microscope photonique à l'aide de l'objectif de faible grossissement (x10). Pour une meilleure visualisation de l'image, le grossissement (x100) est utilisé après avoir déposé une goutte d'huile à immersion. Les cellules mères en division seront photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique à 16.1 mégapixels de marque Sony.

## **2.3. La fertilité pollinique**

Des boutons floraux mûrs sont récoltés après anthèse et sont immédiatement fixés dans le carnoy. La technique utilisée pour la fertilité pollinique est inspirée du protocole de Mertens et Hmnersmith (1998). Cette technique utilise la coloration au bleu de coton.

Les grains de pollens libérés des anthères sous loupe binoculaire, sont colorés au bleu de coton pendant une demi-heure environ. Sous microscope photonique et au faible grossissement, les grains de pollen sont dénombrés. Les grains colorés uniformément d'un bleu foncé sont considérés comme viables et fertile alors que ceux de formes et de tailles anormales et non colorés uniformément sont considérés non viables et stériles.

Un taux de fertilité pollinique (TF) est estimé. Il est exprimé par le rapport du nombre de grains de pollen viables (F) sur le nombre total de grains de pollen viables et non viables (T).

$$TF = F/T$$

# Résultats et discussion

### RESULTATS ET DISCUSSION

Une analyse des divisions des méristèmes racinaires et des divisions des cellules mères de pollen est réalisée dans une population de *Hordeum bulbosum* L. échantillonnée dans la station Ighzer Amokrane (Béjaïa). Dans l'analyse des mitoses, un caryotype et un caryogramme sont établis. Dans l'analyse des divisions polliniques, le déroulement du comportement méiotique est décrit et des irrégularités sont notées. Un taux de fertilité pollinique est également estimé.

#### 1. Les divisions racinaires

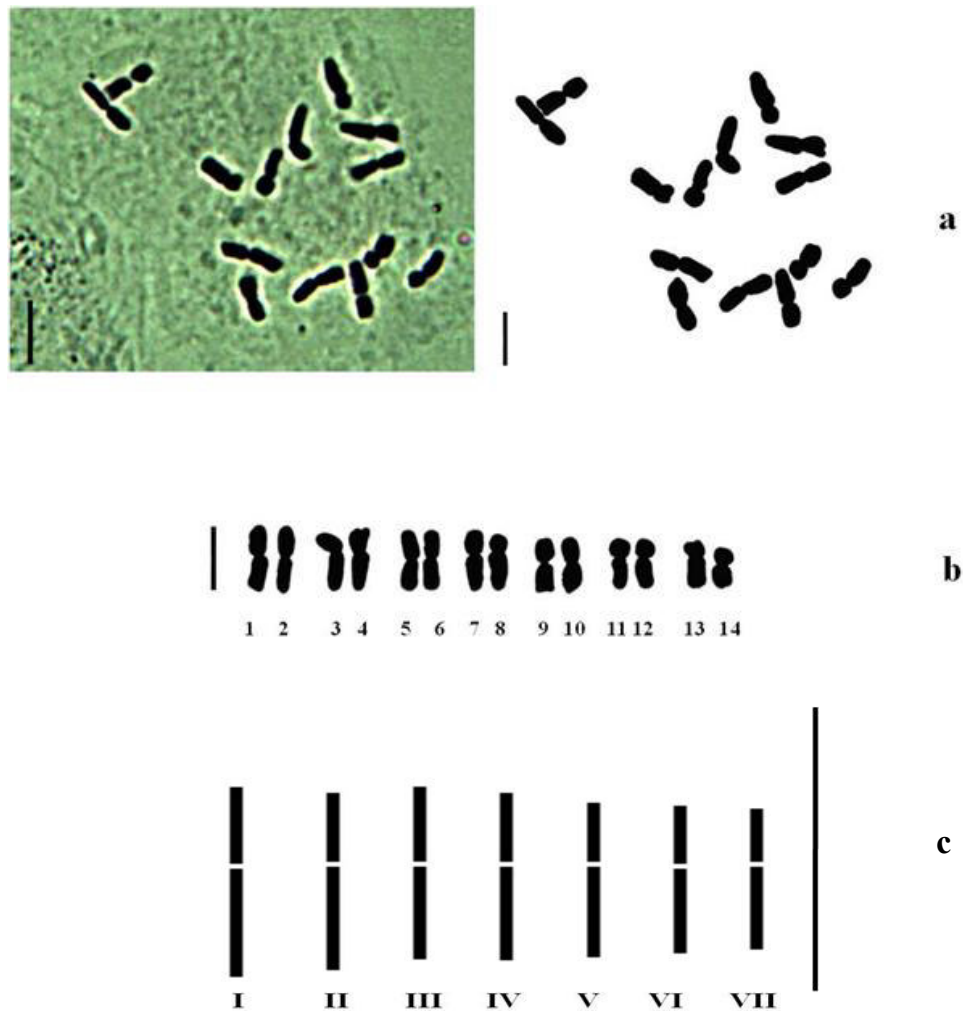
##### 1.1. Dénombrement chromosomique

Le dénombrement chromosomique est effectué sur des cellules méristématiques racinaires au stade métaphase où les chromosomes sont bien individualisés. L'observation des plaques métaphasiques de *H. bulbosum* L. montre un seul nombre chromosomique correspondant au cytotype diploïde à  $2n=2x=14$  chromosomes (Fig. 1b). Symeonidis *et al.* (1985) signalent l'existence de deux cytotypes chez *Hordeum bulbosum* L : un cytotype diploïde ( $2n=14$ ) et un autre tétraploïde ( $2n=28$ ). Selon Bothmer *et al.* (1991), les diploïdes se retrouvent en Grèce et en Egypt alors que les tétraploïdes, moins répandus, se répartissent à l'Est de la Grèce et localement au sud de l'Espagne. Le cytotype diploïde est largement utilisé dans l'hybridation expérimente avec l'orge cultivé (*H. vulgare*). Plus récemment Jensen (1877) développe la méthode de «*bulbosum*» qu'il applique dans les croisements intergénériques pour la production des polyploïdes chez les Triticeae. *Hordeum bulbosum* L. est rapporté comme objet de travail cytologique par Morrison en 1959.

##### 1.2. Caryotype et Caryogramme

Le caryotype (Fig. 1a et 1b) est la représentation des chromosomes contenus dans une cellule en métaphase mitotique. Cette représentation tient compte du nombre de chromosomes, de leur forme, la position de centromère, la présence de satellites et les constructions secondaires. D'autres caractères sont également utilisés pour l'étude de caryotypes tels que : la longueur totale des chromosomes, la longueur relative des chromosomes, l'asymétrie du caryotype mesurée par l'indice d'asymétrie ( $IA_3\%$ ), le rapport de la plus longue paire de chromosomes sur la paire de chromosomes la plus courte. Les

chromosomes sont rangés selon un indice centromérique croissant et un ordre de taille décroissant. Le caryotype représenté dans la figure 1b est établi à partir d'une cellule mitotique (Fig. 1a) chez laquelle tous les chromosomes sont individualisés et répartis sur un même plan. Le calcul de l'indice centromérique (Ic) et le rapport bras long sur bras court permettent de reconnaître les chromosomes homologues. Ceux-ci montrent qu'il existe deux types de chromosomes : quatre sont métacentriques, il s'agit des paires (1, 2), (3, 4), (5, 6), (7, 8) et trois submétacentriques, il s'agit des paires (9, 10), (11, 12), (13, 14). Tous les chromosomes sont dépourvus de satellites et aucune construction secondaire n'est observée.



**Fig. 1.** Caractéristiques morphocaryologiques de l'échantillon diploïde de *Hordeum bulbosum* L. **a** : Représentation d'une plaque métaphasique ; **b** : Caryotype correspondant ; **c** : Caryogramme. La barre d'échelle correspond à 10µm

Le caryogramme est établi à partir de cinq caryotypes (Fig. 1c). Les données ayant servi dans son établissement sont consignées dans le tableau I. La longueur des chromosomes varie entre 3,93 et 5,38  $\mu\text{m}$  avec une moyenne de 4,63  $\mu\text{m}$ . Le rapport (R) du plus long chromosome au plus court est de 1,3. Le caryogramme est de type symétrique avec un indice d'asymétrie ( $IA_s\%$ ) de 0.58. Le caryogramme présente quatre paires de chromosomes métacentriques et trois paires submétacentriques avec une formule chromosomique de  $2n = 2x = 14 = 4m + 3sm$ .

**Tab. I.** Données morphométriques du caryogramme de *H. bulbosum* L. de la population Ighzer Amoukrane. **PCh** : paire chromosome; **BL** : bras long; **BC** : bras court ; **LT** : longueur totale des chromosomes = BL+ BC

PCh	BL	BC	LT	IC	R
1	3,16±0,30	2,22±0,48	5,38±0,65	0,58	1,49
2	3,01±0,29	2,03±0,38	5,05±0,51	0,59	1,42
3	2,68±0,19	2,19±0,36	4,87±0,53	0,55	1,27
4	2,73±0,58	2,00±0,13	4,73±0,48	0,57	1,29
5	2,64±0,29	1,71±0,38	4,35±0,44	0,60	1,45
6	2,44±0,39	1,69±0,23	4,14±0,49	0,58	1,54
7	2,40±0,56	1,54±0,20	3,93±0,63	0,61	1,56

En 1983, Symoendis et ses collaborateurs ont réalisé une étude sur des populations naturelles grecques représentant les deux cytotypes diploïdes et tétraploïdes de *H. bulbosum* L. Pour ces auteurs, les diploïdes présentent un caryotype de type symétrique avec des longueurs de chromosomes variant de 5 à 7  $\mu\text{m}$ . La symétrie du génome nous renseigne sur l'évolution de l'espèce qui, selon Gorenflot et Raicu (1980), s'est fait des caryotypes symétriques vers les caryotypes asymétriques. Ces mêmes auteurs montrent six paires de chromosomes strictement métacentriques et la septième étant submétacentrique. Ces auteurs notent également la présence d'une constriction secondaire. Notons seulement que ces constriction secondaires ne sont pas toujours visibles spécialement en métaphase où les chromosomes sont très contractés comme l'ont souligné Richards et Booth (1976). Des discordances dans le nombre de constriction secondaires sont rapportées chez d'autres taxons telles que *Bromus* et *Pennisetum* (Ainouche, 1993 ; Khalfallah, 1993).

### 2. Comportement méiotique

La méiose est une succession de deux divisions, l'une réductionnelle, l'autre équationnelle, conduisant à la formation des gamétophytes. Lors de la division réductionnelle, les chromosomes se condensent et se regroupent par paires d'homologues formant des bivalents, qui s'alignent sur la plaque équatoriale et qui finissent par migrer vers les pôles opposés de la cellule. Lors de la division équationnelle, les chromosomes s'alignent sur la plaque équatoriale puis les chromatides sœurs se séparent. Ces deux divisions chromosomiques successives se produisent après une seule étape de réplication de l'ADN. Ainsi la cellule mère diploïde donnera quatre cellules filles haploïdes. Le niveau de ploïdie sera ensuite restauré lors de la fécondation, par la fusion de deux gamètes de sexes opposés (Dumont, 2011).

#### 2.1. La division réductionnelle

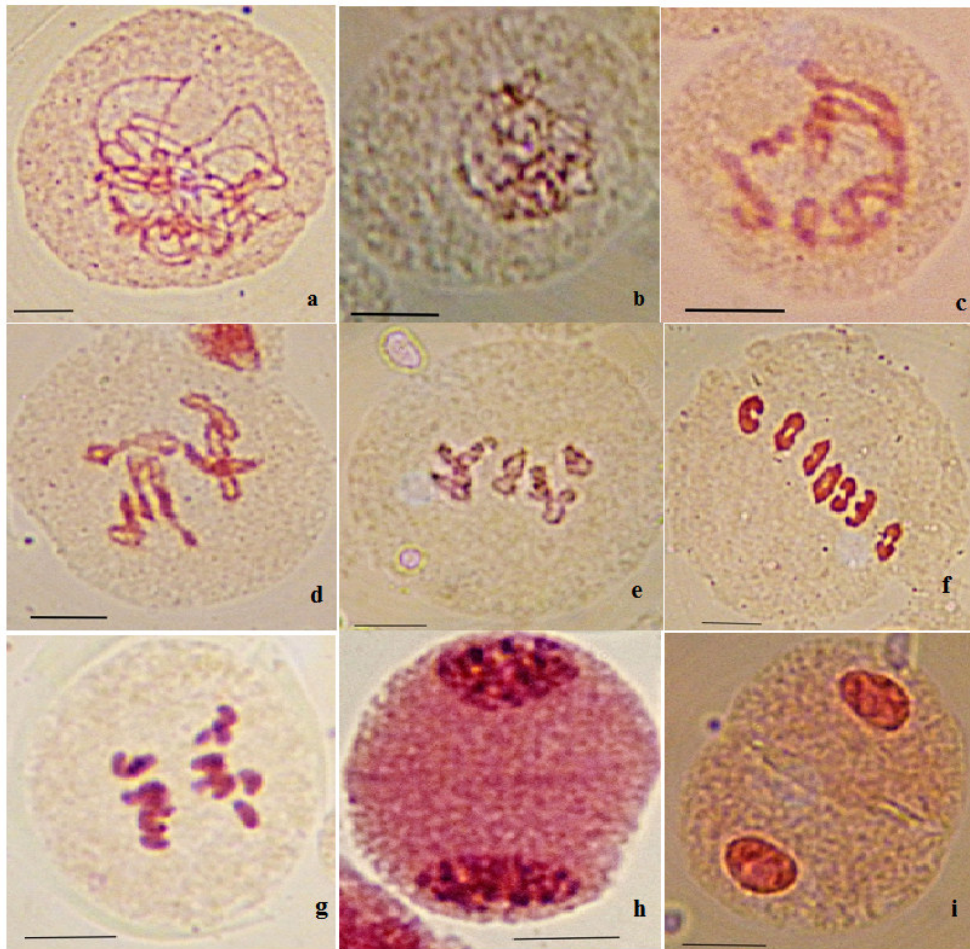
Les différents stades de la division réductionnelle observés chez *H. bulbosum* L. sont consignés dans la figure 2.

##### 2.1.1. Prophase I

La première étape de la méiose, la prophase I (Fig. 2 a, b, c, d, e) est la phase la plus longue et la plus complexe. Sa durée varie d'une espèce à l'autre. En prophase I, les chromosomes se condensent et s'assemblent en bivalents. La prophase I se divise en cinq stades nommés chronologiquement leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse.

##### - **Leptotène** (*leptos* = tenu, allongé)

C'est à ce stade que la chromatine devient visible sous forme de filaments longs et minces (Fig. 2a). Ces filaments peuvent être orientés avec des kinétochores vers le même côté du noyau, formant un « bouquet ». Les cellules en leptotène ont une enveloppe nucléaire distincte et un grand nucléole (Singh, 2002). A ce stade, la duplication de l'ADN est achevée et chaque filament est constitué de deux chromatides. Selon, Grelon *et al.*, (2001) *in* Horlow et Doutriaux (2003), la protéine *SWil* intervient dans l'établissement de la cohésion des chromatides sœurs mais son maintien est assuré par une autre protéine homologue (protéine Rad21).



**Fig. 2.** Aspects des différents stades de la division réductionnelle des cellules mères de pollen observés chez *H. bulbosum* L.

**a, b, c, d, e** : stades de la prophase I. **a** : leptotène, **b** : zygotène, **c** : pachytène, **d** : diplotène, **e** : diacinese. **f** : métaphase I. **g** : anaphase I. **h** : télophase I. **i** : diade. Barre d'échelle=10µm

**- Zygotène** (*zygos* = union)

A ce stade (Fig. 2b), les deux chromosomes homologues commencent à se rapprocher l'un de l'autre pour s'associer intimement sur toute leur longueur pour former des unités bivalentes. C'est ce qu'on appelle 'union de synapsis' des chromosomes. La synapsis commence souvent par un rapprochement des extrémités homologues des deux chromosomes au niveau de l'enveloppe nucléaire, qui progresse, comme une fermeture éclair, à partir des deux extrémités, alignant les deux chromosomes homologues l'un en face de l'autre. Chaque

gène serait donc juxtaposé à son gène homologue situé sur le chromosome opposé. Au moment de l'appariement des homologues, leurs axes protéiniques à structure en cordage sont rassemblés pour former les deux éléments latéraux, ou « montants » de la longue structure en forme d'échelle qu'est le complexe synaptonémal (Singh, 2002). La formation de complexe synaptonémal nécessite une protéine homologue de la protéine *Hop1* de levure *Schizosaccharomyces pombe* (Horlow et Doutriaux, 2003)

### - **Pachytène** (*pachys* = épais)

La figure 2c illustre ce stade avec des chromosomes de plus en plus compacts. Lors de la transition du zygotène au pachytène, l'enroulement et le raccourcissement des chromosomes se poursuit, ainsi que le développement du complexe synaptonémal qui prend place entre les membres de chaque bivalent. Ce qui conduit à un appariement plus étroit (Clug *et al.*, 2006). A ce stade des nodules de recombinaison apparaissent par intervalles sur les complexes synaptonémaux, et interviennent dans les échanges chromosomiques. Ces échanges aboutissent à la formation d'enjambements entre les deux chromatides non-sœurs, c'est-à-dire l'une de chacun des deux chromosomes homologues appariés. Bien qu'invisible au stade pachytène, chacun de ces enjambements apparaîtra plus tard sous la forme d'un chiasma (Singh, 2002).

### - **Diploène** (*Diploos* = double)

Pendant le stade diploène, il devient plus évident que chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs (Fig. 2d). Chaque paire de chromatides sœurs commence à se séparer. Cependant, une ou plusieurs zones restent en contact. Chacune de ces zones est appelée chiasma, représentant un point où les chromatides non-sœurs ont subi un échange de matériel génétique par *crossing-over* (Clug *et al.*, 2006).

### - Diacinèse

La phase terminale de la prophase I est la diacinèse (Fig. 2e). Les chromosomes se séparent davantage, mais les chromatides non-sœurs restent encore attachées au niveau des chiasmata. La séparation se poursuivant, les chiasmata se déplacent vers l'extrémité des chromosomes. Ce processus appelé résolution des chiasmata, commence à la fin du stade diplotène et s'achève au cours de la diacinèse. Durant cette étape de la prophase I, l'enveloppe nucléaire disparaît et les deux centromères de chaque chromosome s'attachent au fuseau mitotique récemment formé. A la fin de la prophase I, les centromères se trouvent au niveau du plan équatorial de la cellule (Clug *et al.*, 2006).

#### 2.1.2. Métaphase I

Dès que les cellules atteignent cette étape, le nucléole et la membrane nucléaire disparaissent et les fibres d'axe apparaissent (Fig. 2f). Les centromères s'alignent sur les fibres du fuseau et les chromatides s'orientent dans le plan équatorial. Les chromosomes homologues sont toujours groupés par paires (Russel, 1980). Les chromosomes ont fini de raccourcir et de s'épaissir. Les chiasmata sont visibles et apparaissent comme le seul facteur maintenant ensemble les chromatides non-sœurs. Chaque bivalent interagit avec les fibres du fuseau mitotique, qui facilitent leur mouvement jusqu'à la plaque métaphasique (Clug *et al.*, 2006).

#### 2.1.3. Anaphase I

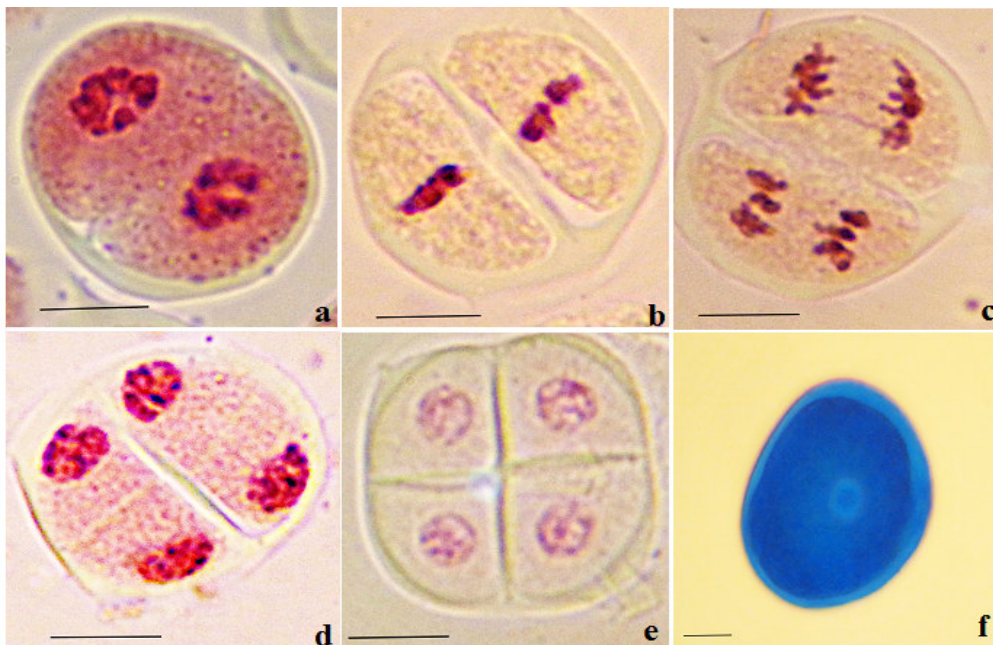
Lors de l'anaphase I, la moitié de chaque bivalent (une paire de chromatides sœurs) migre vers chaque pôle de la cellule en division (Fig.2g). Le mouvement de chromosomes est dû au rapetissement des microtubules d'axe ou aux microtubules de mastication de moteurs de kinétochore tractant ainsi, les chromosomes vers les pôles (Singh, 2002). Ce processus de séparation est la base physique de ce qui est appelé la disjonction, qui mène à la séparation de deux chromosomes. Parfois, des erreurs surviennent lorsque la séparation n'est pas achevée et le terme de non-disjonction désigne de telles erreurs.

### 2.1.4. Télaphase I

Une fois les deux groupes de chromosomes atteignent les pôles, ils s'entourent d'une enveloppe nucléaire. Les chromosomes se despiralisent (Fig. 2h). Cette télaphase et l'interphase qui la suit forme ce qu'on appelle «intercinèse» (Clug *et al.*, 2006). A la fin de la télaphase I qui se déroule normalement, une diade à 'n' chromosomes est formée (Fig. 2i).

### 2.2. La division équationnelle

Il n'y a aucune interphase ni aucune réplication d'ADN entre la division réductionnelle et la division équationnelle. Les différents stades de la division équationnelle observés chez *H. bulbosum* L. sont consignés dans la figure 3.



**Fig. 3** : Aspects des différents stades de la division équationnelle des cellules mères de pollen observés chez *H. bulbosum* L. **a** : prophase II, **b** : métaphase II, **c** : anaphase II, **d** : télaphase II, **e** : tétrade. **f** : grains de pollen. Barre d'échelle=10µm

#### 2.2.1. La prophase II

Au cours de la prophase II (Fig. 3a), chaque chromosome est composé d'une paire de chromatides sœurs liées par un même centromère. Les chromosomes se condensent et leurs centromères se divisent (Clug *et al.*, 2006).

### 2.2.2. Métaphase II

Au cours de la métaphase II (Fig. 3b), les centromères se positionnent au niveau du plan équatorial (Clug *et al.*, 2006).

### 2.2.3. Anaphase II

Au cours de ce stade (Fig. 3c), les centromères migrent vers les pôles opposés du fuseau entraînant chacun une chromatide (Russel, 1980).

### 2.2.4. Télophase II

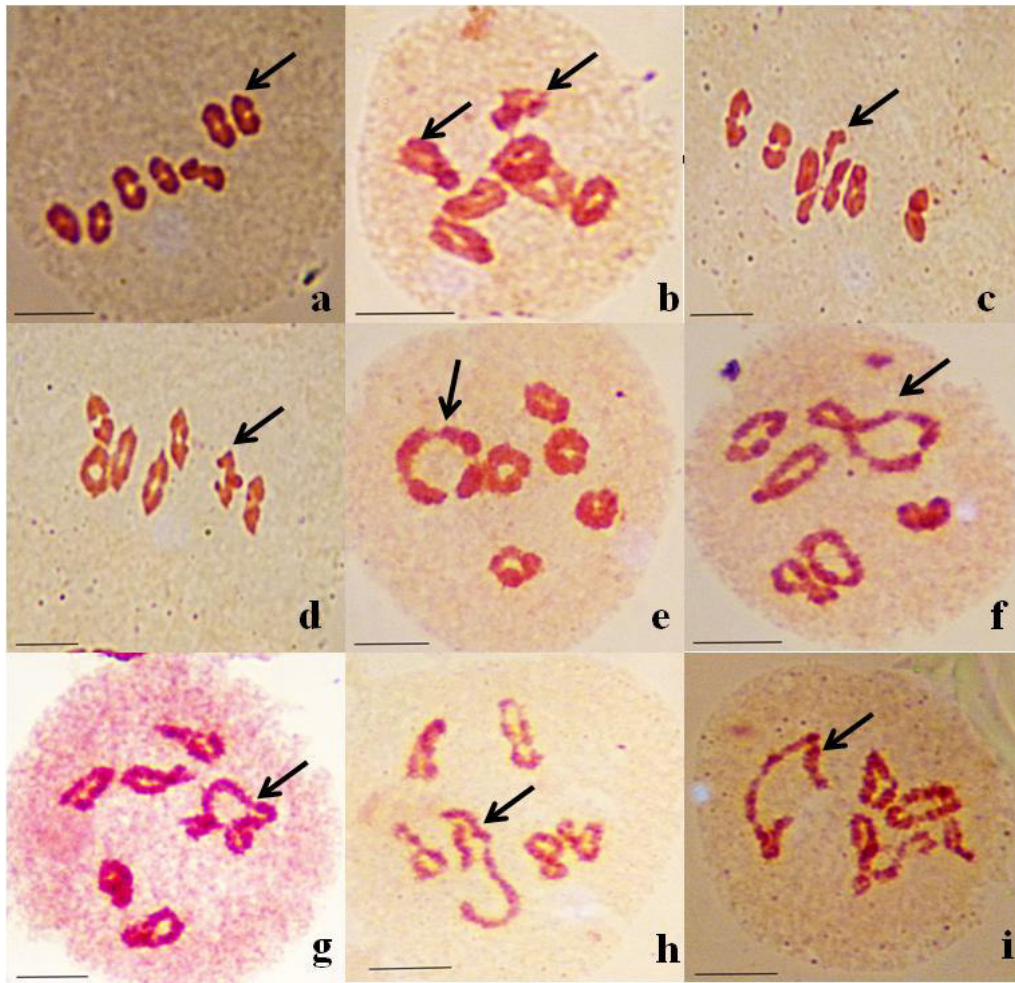
Chacune des deux cellules produites par la première division méiotique se divise à son tour (Fig. 3d). On obtient donc quatre noyaux haploïdes à partir d'une seule cellule diploïde. Les chromosomes s'allongent et se désenroulent et une nouvelle enveloppe nucléaire se forme. Les quatre cellules haploïdes formées contiennent la moitié de nombre de chromosomes de la cellule diploïde.

### 2.2.5. Intercinèse II

A ce stade, l'enveloppe nucléaire néoformée est bien visible ainsi que les membranes cellulaires (Fig. 3e). Chaque noyau de la tétrade se développe pour donner une microspore qui est le grain de pollen.

## 2.3. Principaux types d'appariement

Lors de la division réductionnelle, au cours de la métaphase I et de la diacinèse, les chromosomes homologues appariés sont rendus visibles. En général, les cellules observées montrent une métaphase normale avec sept bivalents. Cependant, nous avons noté la présence d'univalents et de tétravalents. Les bivalents observés sont soit en anneau avec deux ou trois chiasmata (Fig 4 a, b) soit droits avec un ou deux chiasmata (Fig 4 c, d). Les tétravalents sont également de deux types, en anneau avec quatre, cinq ou six chiasmata ou en chaîne avec trois ou quatre chiasmata (Fig 4 e, f, g, h, i). Nous avons estimé, dans la population étudiée le nombre moyen de chaque type d'appariement et le nombre moyen de chiasmata par bivalent et par cellule. Le tableau II montre le nombre moyen des différentes associations chromosomiques.



**Fig. 4.** Aspects des différents types d'appariements en métaphase I chez *H. bulbosum* L. **a** : bivalents en anneau à chiasmata ; **b** : bivalents en anneau avec trois chiasmata ; **c** : bivalent droit avec un seul chiasma ; **d** : bivalent droit avec deux chiasmata ; **e** : tétravalent avec quatre chiasmata ; **f** : tétravalent avec cinq chiasmata ; **g** : tétravalent avec six chiasmata ; **h** : tétravalent en chaîne avec trois chiasmata ; **i** : tétravalent en chaîne avec quatre chiasmata. Barre d'échelle correspond à 10µm

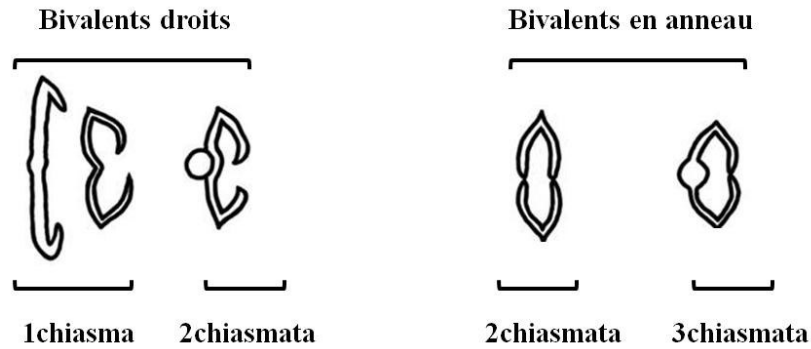
**Tableau II.** Différentes formules méiotiques observées chez *Hordeum bulbosum* L. dans la population d'Ighzer Amokrane. I : univalent ; IId : bivalent droit ; IIa : bivalent en anneau ; IVa : tétravalent en anneau ; IVc : tétravalent en chaîne

Les différentes formules méiotiques	Taux de différentes formules méiotiques	Total des cellules en métaphase	Fréquence de la formule
		5943	
<b>IIa</b>	7IIa	4475	75,30%
<b>IId + IIa</b>	1,24 IId + 5,76 IIa	358	6,03%
<b>I + IId + IIa</b>	2,34 I + 0,06 IId + 5,77 IIa	52	0,87%
<b>IId + IIa + IVc + IVd</b>	0,07 IId + 4,93 IIa + 0,06 IVc + 0,94 IVa	1040	17,50%
<b>I + IIa + IId + IVc + IVd</b>	2,34 I + 3,83 IIa + 0,06 IVc + 0,94 IVa	18	0,30%

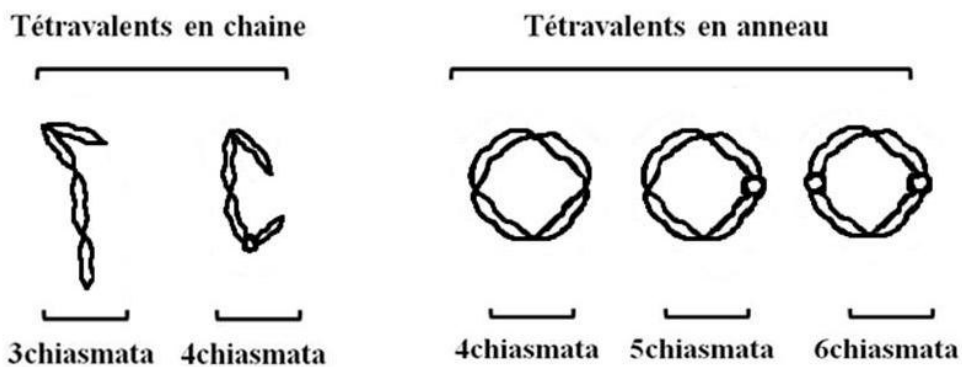
En général, toutes les cellules observées comportent plus de trois bivalents en anneau. Les deux formules à bivalents exclusifs (IIa et IId + IIa ) totalisent une fréquence de 81,33%. Ce qui montre un déroulement régulier de la méiose. Les univalents sont très peu présents avec une fréquence de 1.17%. En revanche, les tétravalents sont relativement fréquents. Ils représentent 17.50% tétravalents en anneau et 0.30% tétravalents en chaîne.

Pendant la prophase I, les chromosomes homologues s'associent par bivalent à l'aide des protéines formant un complexe synaptonémal. Des complexes multienzymatiques de très grande taille appelés modules de recombinaison se mettent en place le long du complexe synaptonémal. En 1983, Szostak *et al in* Horlow et Dautriaux (2003). Proposent que la recombinaison homologue est initiée par la cassure du double brin d'ADN dans les nodules de recombinaison grâce à la protéine spo11. Une mutation au sein de la protéine *Asy1*, responsable de la formation de complexe synaptonémal entraîne l'absence de formation de bivalents. Les chromosomes se comportent comme des univalents. Ainsi que la réorganisation structurelle des chromosomes induite par les délétions, duplication, inversions, translocation détermine une modification de l'homologie entre les chromosomes. D'où la formation des tétravalents chez les espèces diploïdes.

Comme plusieurs types d'associations chromosomiques sont observés (Fig. 5 ; Fig. 6), nous avons calculé le taux moyen de chiasmata par cellule, par bivalent et par tétravalent.



**Fig. 5.** Différents types de bivalents observés dans les cellules mères de pollen en division dans la population de *H. bulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Ighzer Amokrane (Béjaïa)



**Fig. 6.** Différents types de tétravalents observés dans les cellules mères de pollen en division dans la population de *H. bulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Ighzer Amokrane (Béjaïa)

**Tableau III.** Nombre moyen de chiasmata par cellule, par bivalent et par tétravalent.

<b>Nombre total de chiasmata</b>	83147
<b>Nombre total de cellules en MI</b>	5943
<b>Nombre moyen de chiasmata/ cellule</b>	13,99
<b>Nombre moyen de chiasmata/ bivalent</b>	2,00
<b>Nombre moyen de chiasmata/ Tétravalent</b>	4,18

Le tableau III montre un nombre moyen par cellule particulièrement élevé de chiasmata (13.99). Le nombre de chiasmata par bivalent est de 2 alors que celui des tétravalents avoisine 4,18.

Les échanges chromosomiques, autrement appelés *crossing-over*, représentent un processus crucial dans la méiose. En effet, la recombinaison méiotique est primordiale en permettant la création de la diversité génétique grâce au brassage des allèles. Elle établit des connexions physiques (chiasmata) entre les chromosomes homologues afin de maintenir leur attachement jusqu'à leur ségrégation, et ainsi permettre une séparation correcte des bivalents (Julian, 2010). Ces chiasmata reflètent, au niveau moléculaire, les lieux de la recombinaison homologue où les chromatides non-sœurs ont subi un échange de matériel génétique par *crossing-over*.

Le complexe synaptonémal permet l'appariement des chromosomes homologues et leur ségrégation durant la méiose. Dans certains cas où aucun complexe synaptonémal n'est formé, l'appariement n'est pas complet et les *crossing-over* se produisent de façon réduite ou ne se produisent pas du tout (Kulg *et al.*, 2006).

Selon Kumar et Singhal (2013), la fréquence de chiasmata dans les cellules avec des tétravalents est plus élevée que dans les cellules sans multivalent indiquant l'effet des translocations réciproques sur la fréquence des chiasmata. En revanche, la présence d'univalents (moins de chiasmata) présente un effet négatif sur l'appariement des chromosomes et par conséquent sur la fertilité pollinique. Cette observation suggère que le complexe synaptonémal pourrait être important dans la formation de chiasma et la formation de *crossing over*.

L'étude de *zip1*, une mutation chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, a apporté de nouvelles informations sur l'appariement des chromosomes. Dans des cellules qui portent cette mutation, on observe un alignement approximatif entre les chromosomes homologues et un appariement incomplet. Le produit du gène *zip1* semble être un composant de l'élément central du complexe synaptonémal puisque celui-ci est absent dans les cellules mutantes. Cette observation suggère qu'un complexe synaptonémal complet et intact est essentiel à la transition de l'appariement approximatif à l'appariement plus important (Kulg *et al.*, 2006).

### **3. Facteurs irréguliers de la méiose (anomalies méiotiques)**

L'étude du déroulement de la méiose a révélé l'existence de quelques anomalies affectant la première et la deuxième division (Fig. 6) :

- Univalents et les tétravalents en métaphase I ;
- Chromosomes retardataires et micronoyaux ;
- Ponts chromatiques ;
- Divisions asynchrones des diades ;
- Cytomixie.

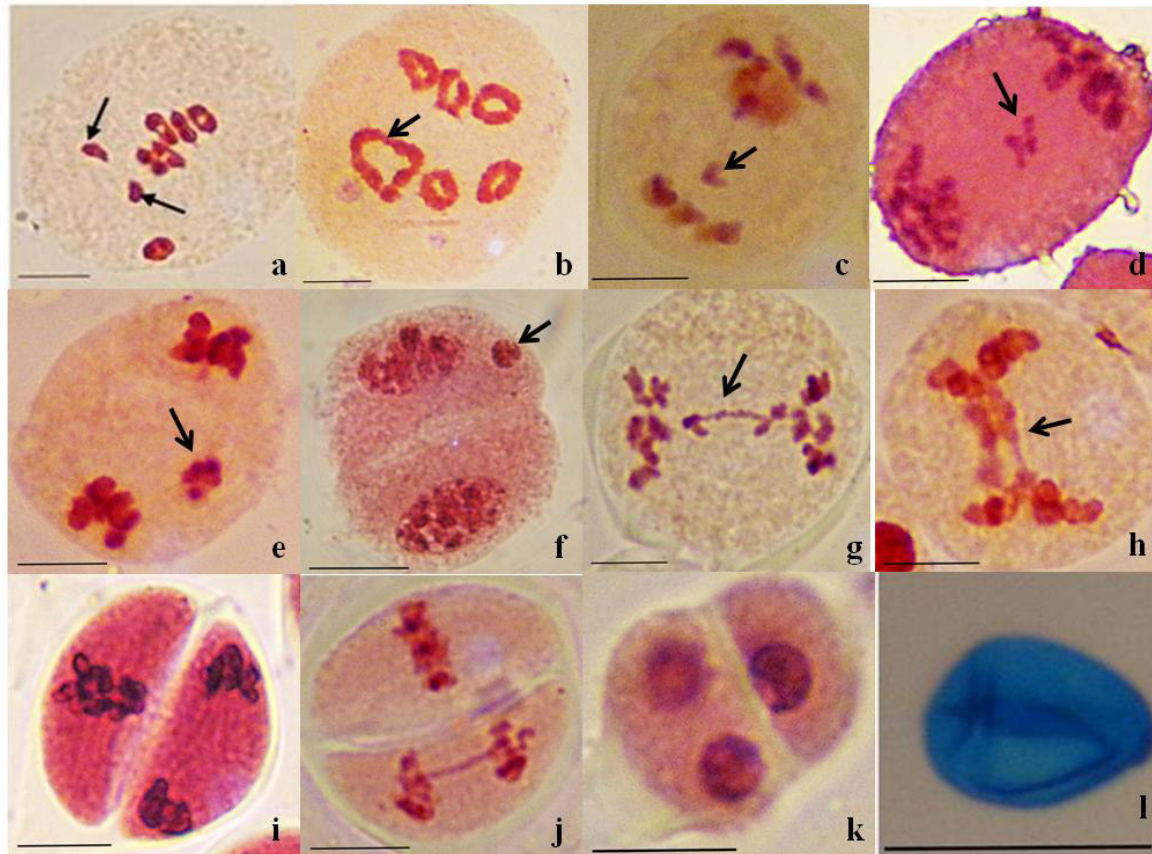
Le taux de chaque anomalie est donné dans le tableau IV.

**Tableau IV :** Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population de *Hordeum bulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Ighzer Amokrane.

Types d'anomalie	Nombre	Fréquence
Cellules mères analysées	21978	100%
Cellules présentant des divisions asynchrones	211	0,96%
Cellules présentant la cytomixie	42	0,19%
Cellules présentant des ponts chromatiques	33	0,15%
Cellules présentant des chromosomes retardataires	27	0,12%
Cellules présentant des micronoyaux	16	0,07%
Cellules présentant des univalents	70	0,31%
Cellules présentant des tétravalents	1058	4,81%
Total des anomalies	1457	6,63 %

L'échantillon de *Hordeum bulbosum* L. présente un taux d'anomalies de l'ordre de 6,63%. La présence de ponts chromatiques, de divisions asynchrones et des chromosomes retardataires chez la population d'Ighzer Amokrane peut engendrer une disjonction déséquilibrée du matériel génétique avec pour conséquence la formation des gamètes non fonctionnels entraînant une stérilité des plantes. L'analyse de la fertilité pollinique permet de vérifier la viabilité du pollen a montré que celui-ci est viable à 80,55 %. Il semble donc que les cellules mères du pollen évoluent normalement et les tétraspores, libérés à la fin de la méiose, possèdent pour la plus part un cytoplasme et un noyau normal.

Les différentes anomalies méiotiques observées chez *H. bulbosum* L. sont illustrées dans la figure 7.



**Fig. 7.** Aspect des différentes anomalies méiotiques dans les cellules mères de pollen en division chez *H. bulbosum* L. de la population d'Ighzer Amokrane  
**a** : Cellule en métaphase I avec univalents ; **b** : Cellule avec tétravalent ; **c, d, e** : Cellules en anaphase I avec un, deux et plusieurs chromosomes retardataires respectivement ; **f** : Cellule en télophase I avec un micronoyau ; **g, h** : Cellules en anaphase I avec un et deux ponts chromatiques respectivement ; **i** : Cellule montrant une division asynchrone ; **j** : Cellule montrant une division asynchrone et un pont chromatique ; **k** : Triade, **l** : Grain de pollen non viable. Barre d'échelle=10µm

### 3.1. Les univalents

La formation des bivalents nécessite la mise en place d'un complexe synaptonémal cohérent. Ce dernier est une structure protéique qui semble établir une connexion entre les chromosomes homologues sur toute leur longueur. Une mutation au sein de la protéine *Asy1*, responsable de la formation de ce complexe entraîne l'absence de formation de bivalents. Les chromosomes se comportent comme des univalents (Fig. 7a).

Le déclenchement de la recombinaison homologue méiotique repose sur la création de cassure double-brin par la protéine *Spo11* chez les plantes. La réparation par *Dmcl* conditionne la formation des bivalents. Une mutation au sein de la protéine *Spo11* présente une diminution drastique de la recombinaison homologue méiotique. De ce fait, il n'ya pas formation de bivalent, et les chromosomes restent à l'état d'univalents et ségrégent aléatoirement (Horlow et Dautriaux, 2003).

### 3.2. Les tétravalents

L'analyse méiotique de *Hordeum bulbosum* L. montre que les chromosomes sont principalement associés en bivalents et en univalents. Des tétravalents sont également observés (Fig. 7b). Un tel appariement aléatoire de chromosomes est prévu par l'association de quatre chromosomes homologues. Dans quelques cellules, les 14 chromosomes sont associés en cinq bivalents et un tétravalent. La formation de ces tétravalents pourrait s'expliquer par la présence de translocations réciproques entre chromosomes non homologues. Elle pourrait également s'expliquer par la présence d'éléments transposables qui sont réputés être très fréquents dans le genre *Hordeum* L. (Ourari, 2012).

### 3.3. Les chromosomes retardataires et les micronoyaux

La séparation des chromosomes homologues lors de l'anaphase I est défectueuse chez le mutant *Ask1*. La mutation résulte d'une insertion dans un gène qui code probablement pour un composant du système d'ubiquitinylation qui est homologue de *Skp1* chez la levure. *Ask1* est responsable de la dégradation des structures qui connectent les chromosomes homologues comme le complexe synaptonémal qui pourraient entraîner une mauvaise ségrégation des chromosomes empêchant ainsi le déroulement normal de l'anaphase (Horlow et Dautriaux, 2003). La présence des chromosomes retardataires (Fig 7 c, d, e) a comme conséquence la formation des micronoyaux en télophase (Fig. 7f). Les micronoyaux peuvent également avoir

une origine cytomixique. La chromatine émigrée, en dépit d'une forte compression dans le canal cytomixique, garde postérieurement sa structure dans la cellule réceptrice et forme un micronoyau. Si la chromatine migre par plusieurs canaux cytomixiques plusieurs micronoyaux seront formés (Sidorchuk *et al.*, 2015).

### **3.1.4. Les ponts chromatiques**

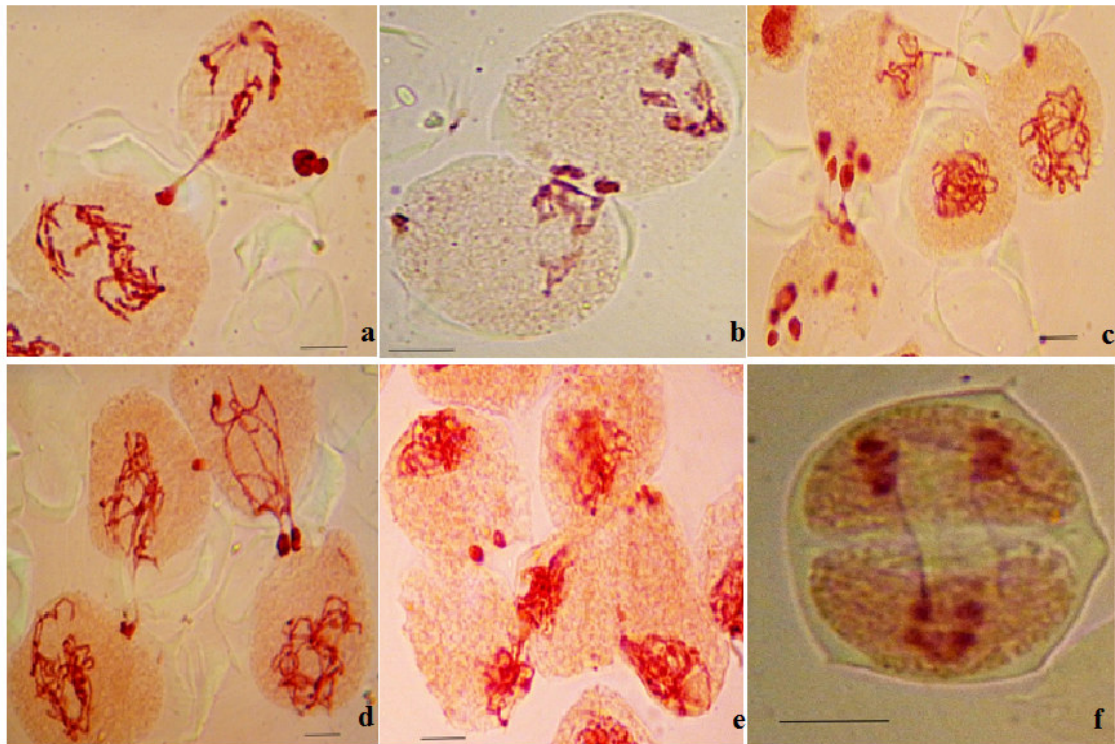
En anaphase, certaines cellules présentent des ponts chromatiques (Fig. 7g ; 7h) reliant les chromosomes après leur séparation. Ces ponts seraient le résultat d'un fonctionnement anormal aux endroits où les chiasmata sont formés. Ils sont dus à une fragmentation chromosomique à la prophase I avec l'absence de réparation des cassures double-brin (Horlow et Doutriaux, 2003). L'épaisseur des ponts dépend du nombre de chromosomes impliqués dans leur formation (Ruvalcaba-Ruiz et Rodriguez-Garay, 2002).

### **3.1.5. La division asynchrone**

Le point de contrôle du fuseau méiotique (checkpoint) est essentiel pour assurer une ségrégation correcte des chromosomes lors de l'anaphase. Une mutation affecte le « check point » du fuseau achromatique empêche les chromosomes de l'une des cellules sœurs de rejoindre la plaque métaphasique (Fig. 7i ; 7j). Ainsi les chromosomes de cette cellule restent dans le cytoplasme tandis que la deuxième cellule poursuit sa division et entre en anaphase II puis en télophase II (Julian, 2010).

### **3.1.6. La cytomixie**

La cytomixie a été identifiée pour la première fois dans la méiose des végétaux. Ce phénomène est caractérisé par une migration de matériel génétique entre les cellules mères de pollen adjacentes. Le transfert de chromatine s'est produit principalement en formant des canaux cytoplasmiques simple et multiple (Fig. 8a), ou par le contact étroit entre les cellules (Fig. 8b) (Kaur et Singhal, 2014). La figure 8 illustre des cellules mères de pollen présentant des cytomixies.



**Fig. 8.** Aspect des différents types de cytomixies entre les cellules mères de pollen chez *H. bulbosum* L. **a** : cytomixie entre deux cellules ; **b** : Changement de matériel génétique par contact étroit entre deux cellules ; **c** : Cytomixie entre trois cellules ; **d** : Cytomixie entre quatre cellules, **e** : Cytomixie entre cinq cellules ; **f** : Cytomixie entre deux cellules sœurs d'une diade. Barre d'échelle correspond 10 $\mu$ m.

La cytomixie est potentiellement un moyen pour maintenir l'hétérozygotie des gamètes. Elle représente un outil additionnel pour l'évolution phylogénétique du caryotype en réduisant ou en augmentant le nombre de base de chromosomes. En outre, la cytomixie est considérée comme une caractéristique des plantes génétiquement non équilibrées telles que les hybrides, les mutants et les aneuploïdes (Guan *et al.*, 2012).

Selon Bellicci *et al.* (2003), la cytomixie peut avoir des conséquences génétiques telles que la formation de cellules mères de pollen avec des anomalies de nombre de chromosomes et la formation aberrante de microspores. Ces microspores peuvent former des triades, pentades, hexades...).

Il ya des vues divergentes et des explications concernant les causes et les significations des cytomixies. Les causes possibles suggérées sont abiotiques telle la pollution, la

température élevé, les différences de pression. D'autres explications sont mises en avant par de nombreux auteurs. La cytomixie pourrait être un phénomène normal commandé par des facteurs génétiques comme il à été proposé par différents travaux (Omara, 1976 ; De et Sharma, 1983 ; Singhal et Gill, 1985 ; Haroum, 1995 ; Bellucci *et al.*, 2003 ; Ghanima et Talaat, 2003 ; Lattoo *et al.*, 2006 ; Singhal *et al.*, 2007 ; 2010 ; Singhal et Kumar, 2008 ; Kumar *et al.*, 2008 ; 2011 ; 2012 ; Guan *et al.*, 2012) in Kaur et Singhel (2014).

#### 4. Analyse de la fertilité pollinique

Les grains de pollen de *H. bulbosum* L. se colorent bien au bleu de coton. Ils sont de forme subsphérique avec une surface lisse non ornementée et présentant une seule ouverture (Fig. 3f). Les grains de pollen stériles (Fig. 7l) peuvent être aisément reconnus à coté des grains de pollen fertiles par leur forme et par leur couleur.

Les taux de fertilité ont été estimés sur 12 fleurs choisies au hasard à partir d'un lot provenant d'un échantillon de plusieurs individus. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau V. Le pourcentage de fertilité pollinique estimé des fleurs est très variable d'une fleur à l'autre. Il varie de 19,52% au 98,15% avec une moyenne de 80,55%.

**Tab. V:** Taux de la fertilité pollinique de *H. bulbosum* L. calculé pour la population d'Ighzer Amokrane.

Taux de fertilité pollinique (%)					
Fleur 1	Fleur 2	Fleur 3	Fleur 4	Fleur 5	Fleur 6
75.95	83.35	89.07	73.68	19.51	78.07
Fleur 7	Fleur 8	Fleur 9	Fleur 10	Fleur 11	Fleur 12
80.36	98.15	95.71	86.94	95.53	91
<b>Moyenne ± écart-type (%) = 85.55±20.87</b>					

Le taux de fertilité pollinique observé chez la population de *Hordeum bulbosum* L. est relativement élevé pour une espèce qui se propager au moyen de bulbes. Selon Kravets. (2013), La productivité de pollen chez certaines espèces d'orge dépasse habituellement le vrai

besoin. Malgré la présence de plusieurs anomalies. Selon l'auteur les anomalies fournissent l'entretien de la fertilité pollinique que sa perte.

---

## CONCLUSION

Par le présent travail, nous nous sommes proposés d'appréhender les facteurs à l'origine de la variabilité génétique de *Hordeum bulbosum* L. Une analyse des divisions de méristèmes racinaires (mitoses) et des divisions de cellules mères de pollen (méioses) est réalisée. Une estimation du taux de fertilité est également calculée.

L'énumération chromosomique, effectuée sur des méristèmes racinaires au stade métaphasique a permis de confirmer l'existence d'un cytotype diploïde de *H. bulbosum* L. à  $2n = 2x = 14$ . L'analyse des caryotypes et du caryogramme, montrent que les génomes sont de type «symétrique» à chromosomes métacentriques et submétacentriques avec une formule chromosomique de  $2n = 2x = 14 = 4m + 3sm$ . Aucun chromosome pourvu de satellite n'a été observé.

En plus du dénombrement chromosomique, l'analyse des méioses nous a permis d'observer les différentes phases de la méiose, ou quelques anomalies sont constatées avec un taux, qui est relativement faible (6,63 %).

Au cours de la métaphase I des divisions méiotiques des cellules mères polliniques de *Hordeum bulbosum* L. Des univalents et des tétravalents sont observés. Les formules méiotiques sont les suivantes: 7IIa ; 1,24 II d + 5,76 IIa ; 2,34 I + 0,06 II d + 5,77 IIa ; 0,07 II d + 4,93 IIa + 0,06 IVc + 0,94 IVa et 2,34 I + 3,83 IIa + 0,06 IVc + 0,94 IVa. Au cours de l'anaphase nous avons observé des ponts chromatiques reliant les bivalents après leur séparation. Des chromosomes retardataires, des micronoyaux, des divisions asynchrones et des cytomixies entre les méiocytes mâles de *H. bulbosum* L. sont également observés.

Les grains de pollen de *Hordeum bulbosum* L. présentent une seule ouverture de forme subsphérique. Le taux de fertilité pollinique varie de 19,52% à 98,15% avec une moyenne de 80,55%. Ce taux de fertilité pollinique chez la population est probablement dû aux anomalies observées au cours de la méiose, notamment la cytomixie.

En effet, la méiose chez *Hordeum bulbosum* L. semble se dérouler selon les mêmes modalités que dans la plupart des plantes diploïdes. Le rétablissement de bivalents stables est un prérequis à la ségrégation correcte des chromosomes et dépend de la cohésion des chromatides sœurs, de la présence de complexe synaptonémal avec formation des chiasmata et de mise en route de la recombinaison homologue.

En perspective, il est nécessaire de connaître, de promouvoir la conservation et la préservation de ces espèces spontanées importantes à la survie des espèces cultivées. Ces espèces spontanées sont nécessaires à la création de variétés résistantes tout en développant des méthodes permettant d'examiner ce matériel, d'hybrider et de faciliter le transfert sélectif d'éléments chromosomiques des géniteurs choisis vers les espèces domestiques.

- Ainouche M., 1993.** Contribution à l'étude biosystématique de bromes annuels (genre *bromus* L., sect. *Bromus* Sm.) principalement en Algérie. Thèse *Doct. 3<sup>e</sup> cycle*. Inst., U. S. T. H.B., Alger, 213p.
- Bellucci M., Roscini C. et Mariani A., 2003.** Cytomixis in Pollen Mother Cells of *Medicago sativa* L. *Journal of Heredity* 94(6):512–516. DOI: 10.1093/jhered/esg096.
- Bothmer R. von., Jacobsen., Jorgensen B.R. et linde-Lausen I., 1991.** An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. Systematic and ecogeographic studies on crop. I. B. P.G. R; Rome, 127p.
- Domont M., 2011.** Mécanismes impliqués dans la formation des anomalies chromosomiques lors de la méiose en absence de braca2 lors de la méiose chez la plante *Arabidopsis thalianea*. *Thèse de doctorat*. Univ. Scien. Vég. Orsay, paris, 123p.
- Elrod S., Stansfield W., 2003.** Génétique. 4<sup>ème</sup> édition. *ISBN*. Paris, 490p.
- Guan J. Z., Wang Z. H., Liu Y., Li Z. Y., 2012.** Cytomixis and meiotic abnormalities during microsporogenesis are responsible for male sterility and chromosome variations in *Houttuynia cordata*. *Genetics and Molecular Research* 11 (1): 121-130.
- Hanifi L., 1999.** Contribution a l'étude de l'hétérosis et de l'intérêt des F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> et lignées haploïdes doublées chez l'orge. *Thèse Doct.* Université de Lille. France. 166p.
- Holow C. et Dautriaux M. P., 2003.** Les mécanismes moléculaires de la méiose chez les plantes. *Medecine science*. 19 :717-723.
- Jahier J., Chèvre A. M., Eber F., Delourme R. et Tanguy A. M., 1992.** Techniques de cytogénétique végétale. *Ed. INRA.*, Paris, 181p.
- Julian K., 2010.** Caractérisation moléculaire d'inversions péri- et paracentriques et analyse de leurs effets sur la méiose d'individus porteurs hétérozygotes. *Thèse Doct.* Université de toulouse. France. 165p.
- Kaur M. et Singhal V. K., 2014.** First Report of Cytomixis and Meiotic Abnormalities in *Nepeta govaniana* from Solang Valley, Kullu District, Himachal Pradesh. DOI: 10.1508. journal. cytologia.79.227.

- Kumar P. et Singhal V. K., 2013.** Reduction in chiasma frequency and pollen fertility due to multiple chromosomal associations and univalents in *Saxifraga diversifolia* from alpine regions of northwest Himalayas (India). *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*. Vol. 66, No. 2, 120–127, Doi.org/10.1080/00087114.2013.821830.
- Kulg W., Cummings M., Spencer C., 2006.** Génétique. 8<sup>ème</sup> édition. P.E.F, Paris, 704p.
- Kravets E. A., 2013.** Cytomixis and Its Role in the Regulation of Plant Fertility. *Russian Journal of Developmental Biology*. Vol. 44, No. 3 pp. 147–165.
- Ourari M., 2012.** Polyploïdie et évolution des génomes dans le complexe *Hordeum murinum-leporinum-glaucum*. Thèse Doct. Université de Béjaia. Alger., 110p.
- Russel P. M., 1980.** Cours de génétique de la biologie moléculaire aux lois de Mandel. Ed. MEDSI., Paris, 292p.
- Ruvalcaba-Ruiz D. et Rodriguez-Garay., 2002.** Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana* Weber var. azul. *BMC Plant Biology*, 1471-2229/2/10.
- Sidorchuk Y. V., Novikovskaya A. A. et Deineko E. V., 2015.** Cytomixis in the cereal (Gramineae) microsporogenesis. *Protoplasma* 253:291–298. DOI 10.1007/s00709-015-0807-4.
- Symeonidis L. A., Moustakas M. B. et Coucoli H. D., (1985).** Karyotype and seed protein profile analysis of diploid and tetraploid *Hordeum bulbosum* L. vol. 25. Fasc. 1 31-38 28. 2.

### **Préparation de réactif de Schiff**

- Dissoudre 1 g de fuchsine basique dans 100 ml d'eau bouillante.
- Laisser refroidir à 50°C puis filtrer.
- Rincer le filtre avec 30 ml d'HCl N.
- Mettre au fond du flacon en verre fumé dans lequel on place le réactif, 3 g de métrasulfite de potassium ou le natrium bisulfite.
- Mettre au réfrigérateur. Après 2 heures la solution est prête à l'emploi.

### **Préparation de Carnoy**

- 6 volumes de l'alcool absolu (600 ml).
- 3 volumes de chloroforme (300 ml).
- 1 volume d'acide acétique (100 ml).

### **Préparation d'Orciene 1%**

- 1 g d'orcine.
- 45 ml d'acide acétique glacial.
- 55 ml d'eau distillée porté à ébullition.

Continuer à bouillir jusqu'à la dissolution totale, laisser refroidir et filtrer.