

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou
Faculté de sciences Biologiques et sciences Agronomiques



Département de Biologie Animale et Végétale

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Génétique et Amélioration des plantes.

Thème

**Contribution à l'étude cytogénétique de deux espèces de
l'orge spontanée d'Algérie (*Hordeum marinum* L. et
Hordeum murinum L.)**

Présenté par :

BEN SIDI CHIHK Aicha

LOURCI Sakina

Soutenu devant le jury :

Présidente : M^{me} Mohamed Ouali D.

M.C.A. à l'UMMTO.

Promoteur : M^{me} Ourari M.

M.C.B. à l'UAMB.

Co-promoteur : M^{me} Yakoub-Bougdal S.

Professeur à l'UMMTO.

Examineur : M^{me} Taleb-Toudert K.

M.C.B. à l'UMMTO.

Examineur : M^{me} Lakabi L.

M.C.A. à l'UMMTO.

Promotion : 2014-2015



Remerciements

Nous remercions notre DIEU qui nous a aidées à faire ce modeste travail.

Nous tenons à remercier vivement notre dévouée promotrice M^{me} OURARI M. pour son encadrement et sa disponibilité et M^{me} YAKOUB-BOUGDAL S. pour son soutien en tant que responsable du Master Génétique et Amélioration des Plantes.

Nous remercions également Mme Mohamed Ouali D. en tant que présidente de jury. Mme Lakabi L. et Mme Taleb-Toudert K. d'avoir accepté d'examiner notre travail ainsi l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation et nos familles, pour leur amour, leur soutien, leur générosité et leur sacrifice.

Nos remerciements les plus chaleureux s'adressent à tous (tes) nos amis (es) et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Nous remercions tous ceux qui croient à la science et au savoir.

Dédicaces



Je tiens à dédier ce travail à:

- Ma mère, qui est la lumière de notre maison.

- Mon père, qui est le guide de réussite dans ma vie et à qui je souhaite une guérison.

- Je dédie aussi aux personnes qui sont chères à mon cœur parmi lesquelles :

Mes chères sœurs

*FATIHA et son époux RABAH, DHAHIDA et son époux MOUHAEDM,
FARIZA.*

Mes chers frères

MOUHAMED et son épouse AKILA;

YOUCEF et son épouse FATIHA;

YOUNES et son épouse LYDIA qui m'a beaucoup aidée et leur futur bébé.

Mes chers nièces et neveux

*LINA et MONA que j'aime et à qui je souhaite la réussite, NADINE, AMINA, la
future DJANA, ANAS, ISLAME et bien sûr mon chère ADAM*

Mes amis

*BAILLY que je respecte et qui m'a aidé le long de ce travail et son ami ALI,
LYNDA hbou et toutes notre promotion 2014-2015.*

Ma camarade

SAKINA et sa famille.

AICHA

Dédicaces



Je tiens à dédier ce travail à :

Ma très chère mère

Sans tes prières ; tes précieux conseils ; ton dévouement sans borne ; je n'en serais pas là aujourd'hui. Ta bonté ; ta générosité ta patience sont sans limite.

Tu as su être pour moi la mère ; la sœur et l'amie.

Que Dieu Tout Puissant te protège et te prête une longue vie.

Mon très cher père

Je te remercie pour toutes les valeurs morales que tu m'as inculquées et pour l'éducation que tu m'as donnée.

Mes très chères sœurs LYNDA ; HAYET et SAIDA

Vous êtes toujours aimables ; sages et généreuses avec moi.

Je vous souhaite un très bel avenir plein de joie et de réussite.

Mon très cher frère AZIZ

Je te souhaite un très bel avenir, aussi grand que ta gentillesse ; aussi beau que ta pureté d'âme.

Mon très cher cousin MADJID

En témoin de l'amour de l'estime que je te porte.

Merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

Tu as toujours été pour moi l'ami dont j'avais besoin.

Je prie Dieu de te prêter santé, bonheur, réussite et longue vie.

Mes oncles et tantes

Mes cousins et cousines

Puisse Dieu vous préserver santé et bonheur.

Mes amies FAHIMA ; LILIA ; SONIA ; SARAH ; CELIA-TINA et KATIA.

Ainsi que toute la promotion 2014-2015

Je vous souhaite tous un avenir plein de succès et de bonheur.

Ma camarade AICHA-KATIA et sa FAMILLE

Merci pour ta patience et ton aide.

Liste des figures

Figure 1 : Photographie des épillets chez <i>Hordeum murinum</i> L.	4
Figure 2 : Représentation schématique d'un épillet de <i>H. murinum ssp. glaucum</i> Steud. (Bothmer <i>et al.</i> , 1995, modifiée).....	5
Figure 3 : Représentation schématique d'un épillet de l'espèce <i>H. murinum ssp. murinum</i> L. (Bothmer <i>et al.</i> , 1995, modifiée)	6
Figure 4 : Représentation schématique d'un épillet de l'espèce <i>H. murinum ssp. leporinum</i> Link. (Bothmer <i>et al.</i> , 1995, modifiée)	7
Figure 5 : Photographie des épillets chez <i>Hordeum marinum</i> L.	8
Figure 6 : Représentation schématique des détails d'un épi de l'espèce <i>Hordeum marinum ssp. marinum</i> L. : a=épi, b=épillet latéral, c=glume latérale avec un rachis, d=glume interne de l'épillet latéral (Amer <i>et al.</i> , 2013)	9
Figure 7 : Représentation schématique d'un épi de l'espèce <i>Hordeum marinum ssp. gussoneanum</i> L. : a=épi, b=épillet latéral, c=glume latérale avec un rachis, d=glume interne de l'épillet latéral (Amer <i>et al.</i> , 2013).	10
Figure 8 : Principe de l'Hybridation <i>In Situ</i> en Fluorescence (FISH) (Cordier-Courel, 2010).	13
Figure 9 : Représentation schématique des principaux modes de formation des polyploïdes (Palacios, 2014).	15
Figure 10 : Représentation schématique de l'origine et type d'aneuploïdie (Mistiri, 2010).	17
Figure 11 : Photographie des épillets fixés dans HCl puis conservés à l'alcool 70°.	20
Figure 12 : Photographie des épis dans HCl 1N subissant une hydrolyse acide au bain marie.	21
Figure 13 : Photographie des épis rincés dans l'eau puis plongé dans le réactif de Schiff.	22
Fig. 14 : Photographie de dégagement et d'écrasement entre lame et lamelle des étamines.	23
Fig. 15 : Photographie de l'observation au microscope photonique et une lame luttée.	23
Figure 16 : Photographies de méiocytes mâles au stade leptotène (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade leptotène selon Bouchard (2006).	26
Figure 17 : Photographies de méiocytes mâles au stade zygotène (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade zygotène selon Bouchard (2006). ...	27

Figure 18 : Photographies de méiocytes mâles au stade pachytène (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade pachytène selon Bouchard (2006).	28
Figure 19 : Photographies de méiocytes mâles au stade diplotène(1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade diplotène selon Bouchard (2006).	29
Figure 20 : Photographies de méiocytes mâles au stade diacinèse (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade diacinèse selon Bouchard (2006). ...	30
Figure 21 : Photographies de méiocytes mâles au stade métaphase I. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade métaphase I, selon Bouchard (2006).	31
Figure 22 : Photographies de méiocytes mâles au stade anaphase I. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade anaphase I, selon Bouchard (2006).	32
Figure 23 : Photographies de méiocytes mâles au stade télophase I. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade télophase I, selon Bouchard (2006).	33
Figure 24 : Photographies de méiocytes mâles au stade intercinèse I. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade intercinèse I, selon Bouchard (2006).	34
Figure 25 : Photographies de méiocytes mâles au stade prophase II. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade Prophase II, selon Bouchard (2006).	35
Figure 26 : Photographies de méiocytes mâles au stade métaphase II. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade métaphase II, selon Bouchard (2006).	36
Figure 27 : Photographies de méiocytes mâles au stade anaphase II. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade anaphase II, selon Bouchard (2006).	37
Figure 28 : Photographies de méiocytes mâles au stade télophase II. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade télophase II, selon Bouchard (2006).	38
Figure 29 : Photographies de méiocytes mâles au stade interphase II. (1) chez <i>Hordeum marinum</i> L., (2) chez <i>Hordeum murinum</i> L., (3) schéma de stade interphase II, selon Bouchard (2006).	39
Figure 30 : Photographies de méiocytes mâles de <i>Hordeum marinum</i> L. au stade métaphase I montrant des bivalents droits avec un seul chiasma (1) et des bivalents droits avec deux chiasmata (2).	41

Figure 31 : Photographies de méiocytes mâles de <i>Hordeum murinum</i> L. au stade métaphase I montrant des bivalents droits avec un seul chiasma (1, 2) et un bivalent droit avec deux chiasmata (3).	42
Figure 32 : Photographies de méiocytes mâles de <i>Hordeum marinum</i> L. au stade métaphase I montrant des bivalents en anneau avec deux (1), un bivalent en anneau avec trois (2) et un bivalent en anneau à quatre chiasmata (3).	43
Figure 33 : Photographies de méiocytes mâles de <i>Hordeum murinum</i> L. au stade métaphase I montrant un bivalent en anneau avec deux (1), un bivalent en anneau avec trois (2) et un bivalent en anneau à quatre chiasmata (3).	43
Figure 34 : Photographie d'un méiocyte mâle de <i>Hordeum marinum</i> au stade anaphase II montrant une division asynchrone des deux cellules de la diade.	46
Figure 35 : Photographies des méiocytes mâles de <i>Hordeum marinum</i> L. (1 ; 2) et des méiocytes mâles de <i>Hordeum murinum</i> L. (3 ; 4) au stade anaphase I montrant des ponts chromatiques.	47
Figure 36 : Photographies d'un méiocyte mâle de <i>Hordeum marinum</i> L. (1) et d'un méiocyte mâle de <i>Hordeum murinum</i> L. (2) au stade métaphase I montrant des univalents.	48
Figure 37 : Photographies d'un méiocyte mâle chez <i>Hordeum marinum</i> L. (1) et d'un méiocyte mâle chez <i>Hordeum murinum</i> L. (2) au stade anaphase I montrant des chromosomes retardataires.	49

Liste des tableaux

Tableau 1 : Nombre chromosomique des cinq populations d'orge étudiées.	24
Tableau 2 : Synthèse des différentes phases de la méiose chez les deux espèces étudiées.	40
Tableau 3 : Synthèse des différentes anomalies rencontrées chez les deux espèces étudiées.	50

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse bibliographique

1. Le genre <i>Hordeum</i> L.	02
1.1. Morphologie	02
1.2. Systématique	02
1.3. Répartition géographique	03
2. Description des espèces étudiées	04
2.1. <i>Hordeum murinum</i> L.	04
2.2. <i>Hordeum maritimum</i> L.	07
3. Méiose	10
4. Cytogénétique	11
4.1. Hybridation <i>In Situ</i> en Fluorescence (FISH)	12
4.2. Hybridation Génomique <i>In Situ</i> (GISH)	13
5. Polyploïdie	14
6. Irrégularités méiotiques	17
6.1. Anomalies de nombre	17
6.2. Anomalies de structure	18

Matériel et méthodes

1. Matériel et stations d'étude	19
2. Méthodes d'analyse des méioses	19

2.1. Fixation et conservation20
2.2. Hydrolyse à HCl21
2.3. Coloration22
2.4. Observation23

Résultats et discussion

1. Enumération chromosomique24
2. Comportement méiotique25
 2.1. Les différents stades de la méiose26
 2.1.1. Division réductionnelle26
 2.1.2. Division équationnelle34
 2.2. Les différents types d'appariement41
 2.3. Les anomalies méiotiques45
 2.3.1 Divisions asynchrones46
 2.3.2. Ponts chromatiques47
 2.3.3. Univalents48
 2.3.4. Chromosomes retardataires49

Conclusion50

Références Bibliographiques.....51

Introduction générale

La région méditerranéenne abrite une diversité biologique de première importance. La plupart des espèces de la flore spontanée sont remarquablement résistantes et bien adaptées à la sécheresse et à la salinité. En Afrique du Nord, elles constituent une part très importante des ressources génétiques locales à valeurs pastorales, fourragères, alimentaires, aromatiques et médicinales. (Amirouche, 2009).

Le genre *Hordeum* L. de la famille des Poaceae regroupe 32 espèces dont l'espèce cultivée *H. vulgare*. Ces espèces d'orge sauvages, par leur diversité, portent de nombreux gènes à fort potentiel économique tels que la résistance aux maladies, la tolérance au froid et à la salinité, la résistance à la sécheresse et à la qualité des protéines de réserve. L'évaluation de la diversité ces espèces en tant que ressources génétiques est une étape importante dans les programmes d'amélioration des variétés cultivées.

La présente étude contribue à la connaissance de deux espèces d'orge spontanée d'Algérie en s'intéressant au complexe *Hordeum murinum* L. et à *Hordeum marinum* L.. Elle vise, par une analyse cytogénétique, à analyser le comportement méiotique des cellules mères de pollen. L'analyse du comportement des chromosomes à la méiose renseigne sur l'évolution et les relations entre les populations ainsi sur le type d'appariement des chromosomes permettant d'établir le degré d'homologie des génomes de base chez les polyploïdes.

Deux populations correspondant à l'espèce *Hordeum marinum* échantillonné dans la région d'Adekar et d'El-kseur et trois populations de *Hordeum murinum* L. échantillonnées à Sidi-Ahmed, à Targa-Ouzemour, et à Gouraya sont analysées.

La première partie de cette étude constitue une analyse bibliographique qui traite du genre *Hordeum* L. et de quelques notions de cytogénétique. La deuxième partie est consacrée au matériel et méthodes utilisées. La troisième partie porte sur les résultats obtenus et leur discussion. Enfin, une conclusion générale est apportée.

A decorative horizontal border with rounded ends, resembling a scroll, containing the title text.

Synthèse bibliographique

1. Genre *Hordeum* L.

1. 1. Morphologie

Le genre *Hordeum* L. se caractérise par des épillets à trois fleurs disposés à chaque nœud du rachis. Les deux fleurs latérales sont pédicellées, souvent rudimentaires ou stériles. La fleur centrale est sessile (rarement pédicellée) et fertile. La plupart des espèces sauvages du genre *Hordeum* se ressemblent dans la taille et dans l'apparence générale. Les plantes sont annuelles ou vivaces en touffes. Les gaines des feuilles inférieures sont généralement poilues, même si les feuilles supérieures sont glabres. Les anthères varient considérablement en taille. Le caryopse mûr est, en général, étroitement enfermé dans la lemme et la paléole (Bothmer *et al.*, 1995).

1. 2. Systématique

Le genre *Hordeum* L. est constitué de 45 taxons classés en 33 espèces (Brassac et Blattner, 2015). Trois niveaux de ploïdie sont décrits : les diploïdes à $2n = 2x = 14$, les tétraploïdes à $2n = 4x = 28$ et les hexaploïdes à $2n = 6x = 42$, avec un nombre chromosomique de base $x = 7$ (Taketa *et al.*, 2000).

Le genre appartient à la tribu des *Triticeae* de la famille Poaceae (Graminées). La tribu comprend un certain nombre de cultures de céréales, telles que le blé (*Triticum*), le seigle (*Secale cereale* L.) et l'orge (*Hordeum vulgare*). En plus de ces céréales, de nombreuses espèces fourragères importantes sont groupées dans cette tribu. Les Triticées comprennent environ 350 espèces (Dewey 1982, 1984, De l'Amour, 1984 *in* Bothmer *et al.*, 1995).

La délimitation taxonomique du genre n'est toujours pas résolue de façon satisfaisante. Des désaccords entre botanistes et cytogénéticiens demeurent dans les concepts génériques (Bothmer *et al.*, 1995). Les récentes études phylogénétiques (Brassac et Blattner, 2015) révèlent également pour de nombreux gènes que le genre *Hordeum* est un groupe non monophylétique.

Se basant sur la morphologie, il est divisé en quatre sections : section *Hordeum*, section *Stenostachys*, section *Anosolepis* et section *Critesion*. La Section *Hordeum* regroupe des espèces vivaces et annuelles à distribution eurasienne (Bothmer et Jacobsen, 1985 ; Zohary et Hopf, 1988 ; Bothmer, 1992 *in* Amer *et al.*, 2013).

D'autres analyses morphologiques (Bothmer et Jacobsen, 1985) et enzymatiques (Jorgensen, 1986) décrivent trente et quatre espèces d'orge qui se répartissent selon Jorgensen (1986) en trois groupes :

- Le groupe vulgare, qui comprend trois espèces : *H. vulgare* L., *H. bulbosum* L. et *H. murinum* L..
- Le groupe marinum représenté uniquement par une seule espèce *H. marinum* Huds.
- Le groupe pubiflorum regroupant les autres espèces américaines et Sud américaines.

1. 3. Répartition géographique

Les espèces du genre *Hordeum*, comme la plupart des autres espèces de la tribu des *Triticeae*, se répartissent dans les zones tempérées à la fois dans l'hémisphère Nord et dans l'hémisphère Sud. Cette répartition peut atteindre les zones subtropicales dans le centre de l'Amérique du Sud et les régions arctiques en Amérique du Nord et en Asie centrale. Elles se trouvent depuis les altitudes basses (niveau de la mer) jusqu'à plus de 4500m dans les Andes et l'Himalaya (Bothmer *et al.*, 1995).

2. Description des espèces étudiées

2.1. *Hordeum murinum* L.

Hordeum murinum L. appelé communément l'orge des murs ou l'orge des rats est un complexe d'espèces colonisatrices décrit pour la première fois par Linné. Ce complexe est représenté par des taxons annuels sub-cosmopolites. Ils se répartissent dans les formations rudérales, dans les pâturages et dans les pelouses du pourtour méditerranéen. Des représentants de ce complexe sont introduits partout en Europe, en Amérique, en Afrique du Sud, en Australie, en Nouvelle-Zélande et où ils se comportent comme des envahissantes hautement compétitives vis à vis des végétations autochtones (Ourari *et al.*, 2011).



Fig. 1 : Photographie des épillets chez *Hordeum murinum* L..

Ce complexe regroupe trois sous espèces à niveaux de ploïdie différents selon Tanno *et al.* (2010) : Une sous espèce diploïde (*H. murinum ssp. glaucum* Steud.) à $2n=2x=14$, une sous espèce tétraploïde à $2n=4x=28$ (*H. murinum ssp. murinum* L.), et une troisième sous-espèce à deux niveaux de ploïdie ; tétraploïde à $2n=4x=28$ et à $2n=6x=42$ correspondant à *H. murinum ssp. leporinum* Link..

La sous espèce *H. murinum ssp. glaucum* Steud. montre une préférence pour les habitats xériques de l'Afrique du Nord et du Proche Orient. Elle présente un phénotype plutôt de petite taille allant de 15 à 40 cm de hauteur. Les plantes sont de couleur vert-glaucue et souvent à maturité elles deviennent brunâtres. Les fleurs latérales sont relativement petites et d'un aspect plus gracile que dans les autres sous-espèces. Le pédicelle de la fleur centrale est relativement plus court que celui des latérales. Les anthères de la fleur centrale sont de 0,2 à 0,6 mm de longueur beaucoup plus courtes que celles des fleurs latérales (1,2-1,8 mm). Elles sont plus ou moins couvertes de taches pourpres. La paléole des fleurs latérales est plus ou moins densément pileuse en particulier dans la moitié inférieure (Fig. 2).

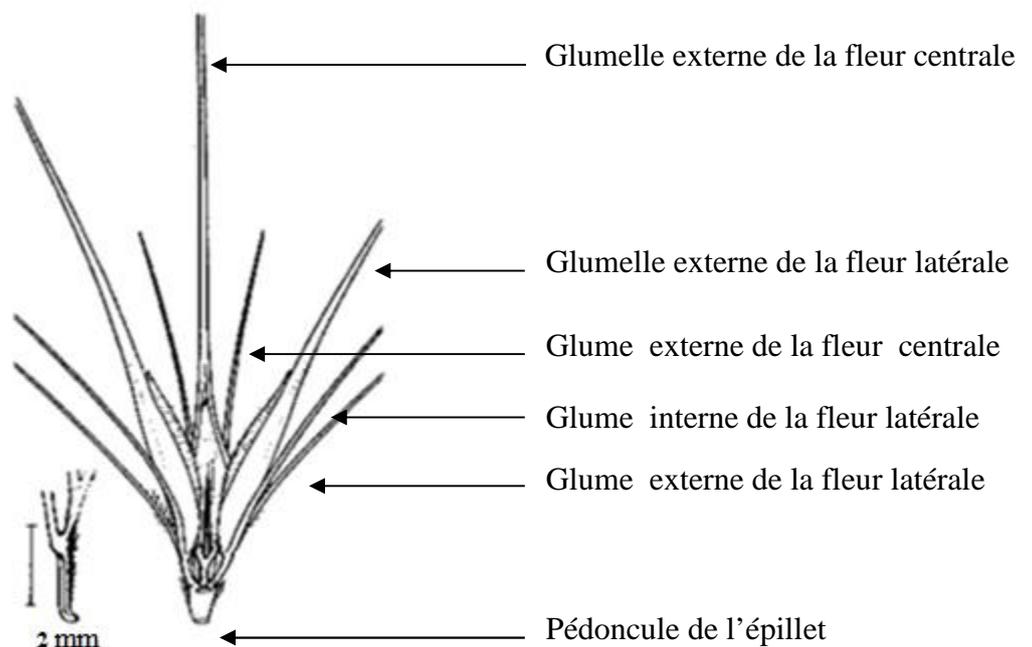


Fig. 2 : Représentation schématique d'un épillet de *H. murinum ssp. glaucum* Steud.
(Bothmer *et al.*, 1995, modifiée).

La sous espèce *H. murinum ssp. murinum* L. occupe préférentiellement les zones septentrionales tempérées de l'Europe et de l'Asie, de l'Atlantique jusqu'au Caucase sans atteindre la région méditerranéenne (Giles et Lefcovitch, 1986 ; Booth et Richards, 1976). Elle présente un phénotype, en général, de grande taille allant de 30 à 60 cm de hauteur (Fig. 3).

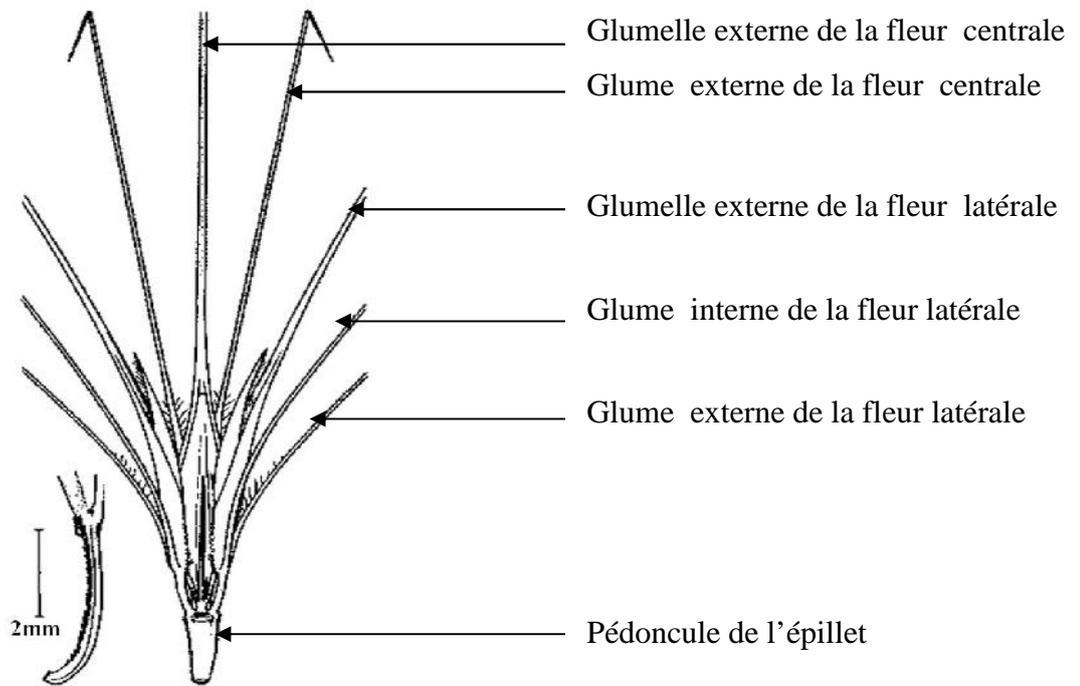


Fig. 3 : Représentation schématique d'un épillet de l'espèce *H. murinum ssp. murinum* L. (Bothmer *et al.*, 1995, modifiée).

La sous espèce tétraploïde *H. leporinum ssp. leporinum* Link. plus thermophile se rencontre plutôt dans l'aire méridionale autour du bassin méditerranéen (Cocks *et al.*, 1976 ; Booth et Richard, 1976). Elle est de grande taille, allant de 30 à 110 cm de hauteur. La fleur centrale est pédicellée, généralement beaucoup plus petite que les latérales et non ciliée. Les anthères de la fleur centrale sont plus courtes (0,9 à 3 mm) ou aussi longues que celles des fleurs latérales (1.2 à 3.2 mm). La paléole des fleurs latérales est scabreuse dans la moitié inférieure (Fig. 4).

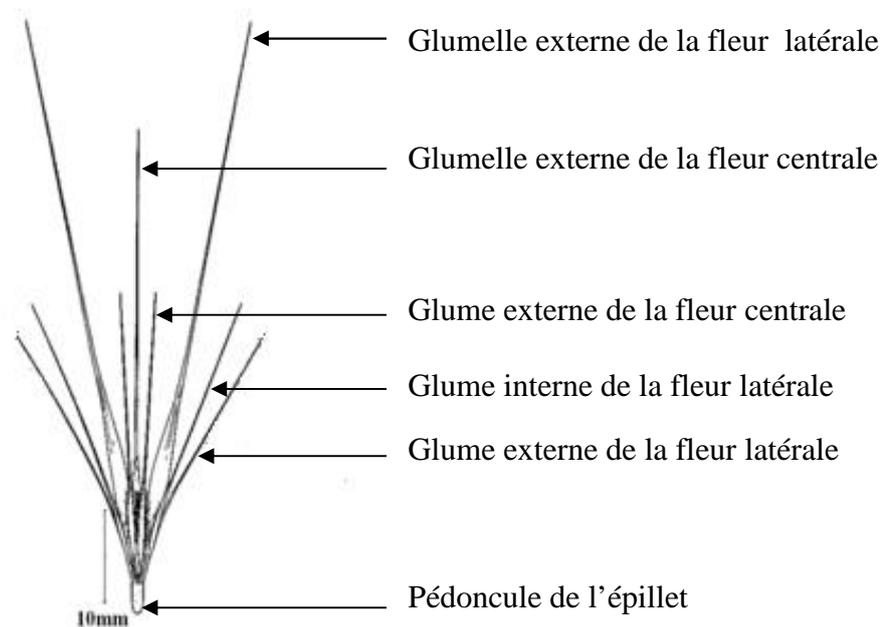


Fig. 4 : Représentation schématique d'un épillet de l'espèce *H. murinum ssp. leporinum* Link. (Bothmer *et al.*, 1995, modifiée).

La sous espèce hexaploïde *H. leporinum ssp. leporinum* Link. qui est une forme rare, est restreinte à l'Est de la Méditerranée entre la Turquie et l'Iran (Cocks *et al.*, 1976 ; Booth et Richard, 1976).

2.2. *Hordeum maritimum* L.

Hordeum maritimum L. appelé aussi *Hordeum maritimum* L.. Ce groupe est représenté par des taxons annuels très variables en taille en fonction des conditions de croissance. Ils se

répartissent principalement près des marais salés ou le long des côtes ou dans les terres, parfois dans les lits de rivières. Ils sont distribués en Europe occidentale et centrale, dans la région méditerranéenne, de l'Asie du Sud-Ouest, du Caucase, de l'Ouzbékistan, de l'Iran, de l'Afghanistan et de l'Ouest du Pakistan. Ils sont rencontrés dans plusieurs autres parties du monde sur les terrains vagues et dans les pâturages (Bothmer *et al.*, 1995).



Fig. 5 : Photographie des épillets chez *Hordeum marinum* L..

Deux niveaux de ploïdie et deux sous-espèces sont décrits dans ce taxon. Une sous-espèce diploïde à $2n=2x=14$ correspondant à *H. marinum ssp. marinum* L. et une autre sous-espèce à deux niveaux de ploïdie différents à $2n=2x=14$ et à $2n=4x=28$ correspondant à *H. marinum ssp. gussoneanum* L..

Le cytotype tétraploïde semble être d'origine autopolloïde avec une méiose diploïdisée (Bothmer *et al.*, 1989, Linde-Laursen *et al.*, 1992 in Bothmer *et al.*, 1995).

La sous-espèce *H. marinum ssp. marinum* L. ($2n=2x=14$) originaire de la partie occidentale de la région méditerranéenne se présente sous forme de touffes. La tige est feuillée jusqu'au sommet et glabre. Elle est ascendante et dressée sur la partie haute. Les ligules sont courtes et tronquées. Les feuilles sont étroites, épaisses et plus courtes comparées à celles de l'orge 'queue de rat' (*Hordeum murinum*). Elles sont glauques, glabres et planes de 5mm de largeur avec une ligule courte et tronquée. L'inflorescence est longue allant de 2 à 6 cm. Les épillets uniflores, sont groupés par trois, dans chaque excavation de l'axe. L'épillet central est sessile et fertile. Les deux latéraux sont stériles et pédicellés. L'arête de l'épillet fertile dépasse les arêtes des glumes. Les glumes sont toutes non ciliées (Fig. 6). Sa période de

floraison est courte allant du mois de mai au mois de juillet.

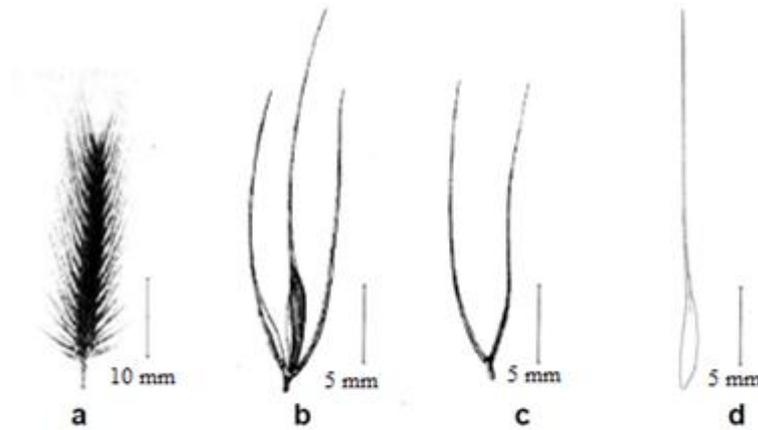


Fig. 6 : Représentation schématique des détails d'un épi de l'espèce *Hordeum marinum ssp. marinum* L. : a=épi, b=épillet latéral, c=glume latérale avec un rachis, d=glume interne de l'épillet latéral (Amer *et al.*, 2013).

La sous espèce *H. marinum ssp. gussoneanum* L. présente deux cytotypes diploïde et tétraploïde, morphologiquement identiques. Comme on ne peut les distinguer, ils sont traités dans le même taxon (Bothmer *et al.*, 1989).

Selon Bothmer *et al.* (1995), le cytotype diploïde de *H. marinum ssp. gussoneanum* se rencontre principalement en Méditerranée Orientale et en Asie du Sud-Ouest. En revanche, le cytotype tétraploïde est restreint à la Turquie et à l'Afghanistan.

Ces deux taxons diploïde et tétraploïde présentent un même phénotype de petite taille allant de 10 à 40 cm de hauteur avec des tiges en touffes ascendantes et feuillées jusqu'au sommet. Les feuilles sont planes et pubescentes au moins sur les gaines inférieures. Les ligules sont courtes et tronquées. L'épi est court et à axe fragile. Les épillets sont groupés par trois, le central est sessile et fertile. Les glumes sont égales, scabres et non ciliées. Les deux épillets latéraux sont plus petits, stériles, pédicellés et à glumes inégales. La glume interne est lancéolée et l'externe sétacée. La glumelle de l'épillet central est à longue arête dépassant les glumes. La glumelle des épillets latéraux est à arête plus courte (Fig.7).

La sous espèce *H. marinum ssp. gussoneanum* L. se distingue de la sous-espèce *marinum* L. par les épillets latéraux en ayant des glumes sétacées (Bothmer *et al.*, 1995).

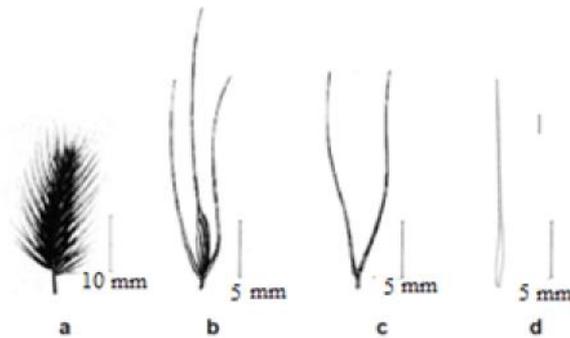


Fig. 7 : Représentation schématique d'un épi de l'espèce *Hordeum marinum ssp. gussoneanum* L. : a=épi, b=épillet latéral, c=glume latérale avec un rachis, d=glume interne de l'épillet latéral (Amer *et al.*, 2013).

3. Méiose

La méiose est un phénomène universel retrouvée chez tous les eucaryotes elle joue un rôle central dans le cycle vivant et permet le passage de l'état diploïde à l'état haploïde, générant ainsi les gamètes mâles et femelles essentiels à la reproduction sexuée. La méiose est précédée d'une phase de réplication de l'ADN, appelée réplication pré-méiotique et caractérisée par une phase G et une phase S rallongée (Hamant *et al.*, 2006 ; *in* Saintenc 2009).

La méiose est une série de deux divisions cellulaires successives par lesquelles une cellule diploïde donne naissance à quatre cellules haploïdes. Ces deux divisions successives sont désignées "méiose I" ou division réductionnelle et "méiose II" ou division équationnelle. Chacune de ces divisions se découpe en quatre phases : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase. La ségrégation correcte des chromosomes lors de la méiose dépend de leur association en paires d'homologues, ce qui est l'occasion de remaniements des associations de caractères génétique dont ils sont porteurs. La méiose ouvre donc une voie à la diversification des individus au sein d'une espèce (Samir, 2012).

Les mécanismes moléculaires qui rentrent dans cette division spécialisée commencent à être décryptés chez les plantes grâce à la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. Si certains mutants méiotiques d'*Arabidopsis* confirment le rôle de fonctions centrales déjà décrites, par exemple, chez la levure ou chez la souris, d'autres ont permis d'identifier des gènes dont la fonction centrale est inconnue à ce jour (Horlow et Dautriaux, 2003).

4. Cytogénétique

La cytogénétique est une discipline qui fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19^{ème} siècle mais c'est surtout à partir de 1920 que la cytogénétique s'est développée.

C'était d'abord une science d'investigation. Elle a ensuite pris une part active à la compréhension des mécanismes héréditaires chez les êtres vivants et dans leur diversité (taxonomie, phylogénie). C'est aussi une des nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes. Elle se situe avant tout en amont de la sélection. Elle participe à :

- la connaissance du matériel végétal : nombre de chromosomes, polyploïdie, allopolyploïdie,
- l'établissement de cartes génétiques grâce à la production et l'étude d'aneuploïdes (lignées monosomiques, télosomiques, lignée d'addition...),
- l'exploitation de la variabilité intraspécifique, interspécifique ou induite.

L'expérience montre que les outils de la cytogénétique sont indispensables à une exploitation rationnelle des hybrides interspécifiques. Par ailleurs, la cytogénétique a trouvé un nouveau domaine d'application dans l'étude et l'utilisation des produits issus de culture *in vitro* (hybrides somatiques, variants somaclonaux...).

La cytogénétique peut être impliquée au niveau de la création variétale en participant à l'explication et la résolution de problèmes ponctuels rencontrés par les sélectionneurs (instabilité, stérilité) (Jahier, 1992).

Ces dernières années, un important effort de développement, est consenti pour améliorer les techniques de cytogénétique. Des laboratoires spécialisés ont élaboré des techniques permettant une résolution poussée de l'analyse cytogénétique. On peut citer les techniques de bandes simples et celles du banding qui sont utilisées en clinique ainsi que dans

le domaine de l'amélioration des plantes. Actuellement des techniques moléculaires sont développées pour analyser la structure des génomes. Ces techniques ont également été utilisées pour cartographier les marqueurs sur les chromosomes (Hamon *et al.*, 2001). Parmi ces techniques, on peut citer l'Hybridation *In Situ* en Fluorescence (FISH) et l'Hybridation Génomique *In Situ* (GISH).

4.1. Hybridation *In Situ* en Fluorescence (FISH)

Décrites pour la première fois à la fin des années 60, les techniques d'hybridation *in situ* permettent de visualiser des sondes (séquences de nucléotides marquées) sur des chromosomes, des cellules ou sur des tissus. Cette technique a tout d'abord été mise au point dans le but de repérer des gènes ou des régions importantes des chromosomes (Julian, 2010). Le principe de la méthode de la FISH est donné dans la figure 6.

Elle est employée pour localiser les marqueurs des cartes génétiques sur les chromosomes et estimer les distances physiques. Cette technique a notamment été utilisée chez le sorgho (Kim *et al.*, 2005 *in* Saintenac, 2012), *Medicago truncatula* (Kulikova *et al.*, 2001 *in* Saintenac, 2012), le maïs (Wang *et al.*, 2006 *in* Saintenac, 2012), la tomate (Koo *et al.*, 2008 *in* Saintenac, 2012), la pomme de terre (Iovene *et al.*, 2008 *in* Saintenac, 2012) et le riz (Cheng *et al.*, 2001; Kao *et al.*, 2006 *in* Saintenac, 2012).

En utilisant l'hybridation fluorescente *in situ* (FISH), Han *et al.* (2005) ont mis en évidence une élimination rapide de 70 à 90% des copies d'une famille de séquences répétées chez différents polyploïdes synthétiques.

L'hybridation moléculaire *in situ* sur des métaphases colorées permet de localiser et d'ordonner directement des sondes correspondant à des gènes, des marqueurs génétiques, etc. Il est ainsi possible d'établir des cartes cytogénétiques dont la résolution maximale est environ une à trois Mb (Lazrek-Ben Friha, 2008).

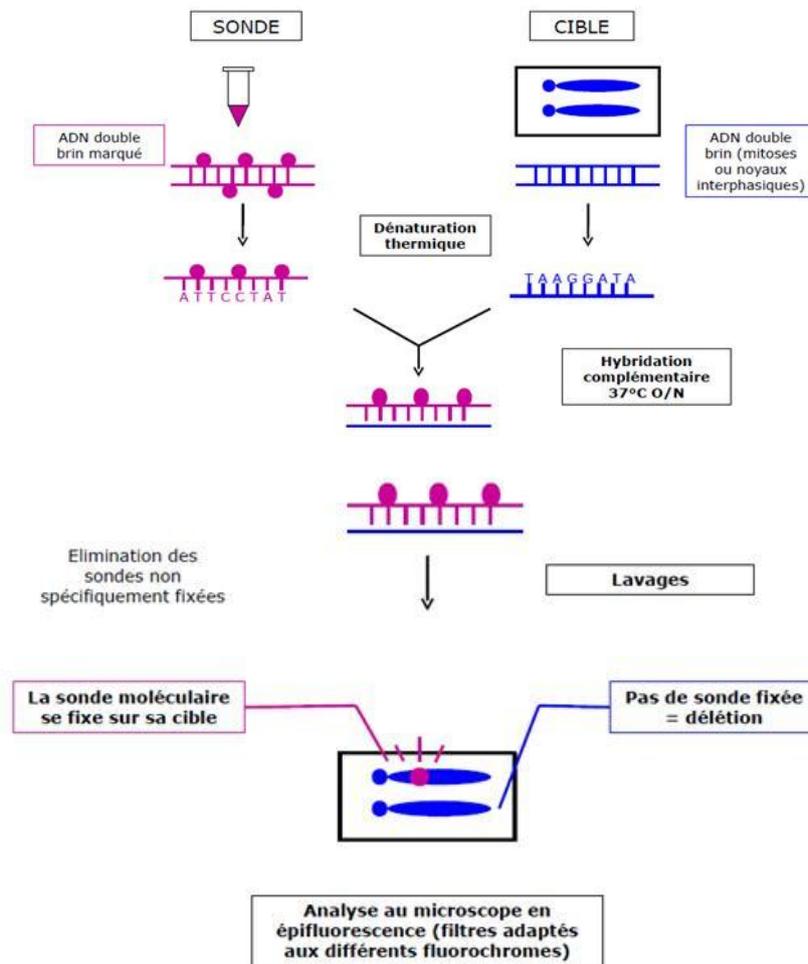


Fig. 8 : Principe de l'Hybridation *In Situ* en Fluorescence (FISH) (Cordier-Courel, 2010).

4.2. Hybridation Génomique *In Situ* (GISH)

La GISH (Genomic *In Situ* Hybridization) permet de différencier les chromosomes des espèces parentales chez les hybrides interspécifiques. Ces techniques sont particulièrement utiles chez les plantes possédant un nombre important de chromosomes (polyploïde) et/ou chez les plantes d'origine hybride interspécifique telles que la canne à sucre, le bananier, le caféier, le citronnier et le cotonnier. (Hamon *et al.*, 2001).

L'hybridation génomique *in situ* a également été utilisée, notamment pour caractériser l'appariement et la formation de crossing over entre les chromosomes de deux espèces éloignées (Fernandez-Calvin *et al.*, 1995; Ji et Chetelat, 2007; Wang *et al.*, 2005b; Zwierzykowski *et al.*, 2008 in Saintenac, 2012).

La GISH permet d'observer des réarrangements importants telles que des translocations à l'échelle du génome et permet d'étudier des éventuelles corrélations avec l'appariement homéologue. Elle a été réalisée sur les chromosomes en méiose pour étudier la nature de l'appariement chromosomique et sur les chromosomes en mitose pour identifier des remaniements chromosomiques (Mestiri, 2010).

5. Polyplöidie

Le terme polyplöidie a été introduit pour la première fois par Winkler en 1916. Il désigne la présence de plus de deux lots haploïdes de chromosomes dans une même cellule. Un ou plusieurs chromosomes en plus ou en moins peuvent se présenter également. C'est ce qu'on nomme 'aneuploïdie' par opposition à 'euploïdie' précédemment décrite. Elle représente un mécanisme très commun chez les plantes mais aussi chez les animaux (Griffiths *et al.*, 2010). Chez les Angiospermes, ce processus représente un mécanisme de spéciation majeur (Peer *et al.*, 2009; Wood *et al.*, 2009). De nombreuses études ont évalué la proportion des polyplöïdes chez les Angiospermes entre 30 et 80%. Il est maintenant reconnu que probablement toutes les lignées des Angiospermes ont connu un ou plusieurs cycles de polyplöïdisation dans leur histoire évolutive (Brassac *et al.*, 2012).

Otto et Whitton (2000) rappellent les trois mécanismes susceptibles d'être à la source d'individus polyplöïdes : l'endomitose, la production de gamètes non réduits et la polyspermie. Bien que le doublement somatique des lots chromosomiques soit possible, il est actuellement admis que la voie principale conduisant à la formation d'individus polyplöïdes est la production de gamètes non réduits.

La polyplöidie a été particulièrement importante dans l'évolution de la famille des Poaceae. En effet, elle a joué un rôle important dans la diversification du genre *Hordeum* L. qui contient des taxons diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes (Cuadrado *et al.*, 2013). On estime que près de la moitié des taxons du genre sont polyplöïdes. Pour les espèces diploïdes, il y a de nombreuses hypothèses émises sur leurs relations phylogénétiques. En revanche, peu d'informations sur les polyplöïdes (Brassac *et al.*, 2012).

Les individus polyploïdes peuvent être classés selon leur niveau de ploïdie (triploïde, tétraploïde, pentaploïde...), ainsi que selon l'origine de leur ploïdie. Ainsi, on distingue les autopolyploïdes des allopolyploïdes. Leur mode de formation est donné dans la figure 9.

Autopolyploïdes

Les autopolyploïdes sont des individus issus d'un dédoublement chromosomique intervenant au niveau intraspécifique (Fig. 9). Ils présentent plus de deux copies d'un même génome. L'appariement des chromosomes homologues en métaphase de la division méiotique aboutit souvent à la formation de multivalents d'où une hérédité polysomique. Selon Comber *et al.* (2010), les multivalents peuvent être à l'origine de gamètes ayant un nombre de chromosomes déséquilibré entraînant des problèmes de stérilité. La méiose peut toutefois se régulariser (diploïdisation cytologique) et devenir disomique.

Allopolyploïdes

Les allopolyploïdes sont des individus qui combinent les génomes d'au moins deux taxons différents (Stebbins, 1971). Ils résultent souvent d'une hybridation interspécifique suivie d'une duplication du génome hybride formé (Ramsey et Schemske, 1998). Leur mode de formation est donné dans la figure 7. Les allopolyploïdes segmentaires correspondent à la formation de taxons issus de l'hybridation de deux parents proches ayant en commun des segments chromosomiques (Leitch et Bennett, 1997). Chez les plantes, on estime que plus de 75% des espèces polyploïdes sont allopolyploïdes (Wood *et al.*, 2009).

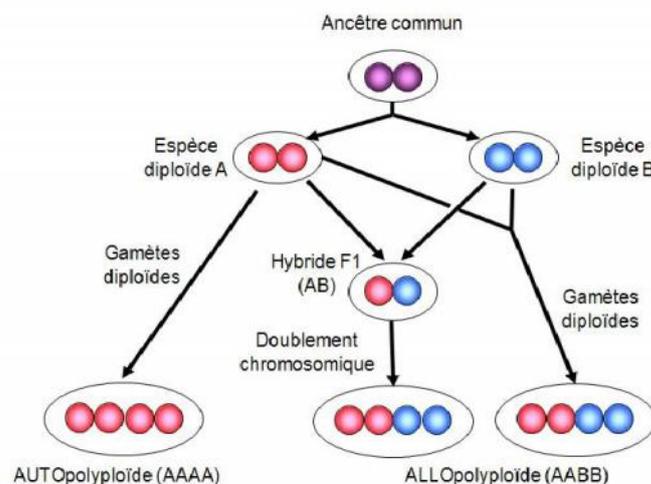


Fig. 9 : Représentation schématique des principaux modes de formation des polyploïdes (Palacios, 2014).

Aneuploïdie

L'aneuploïdie est la deuxième grande catégorie de mutations chromosomiques dues à un nombre irrégulier de chromosomes. Un aneuploïde est un organisme dont le nombre de chromosomes diffère de celui de l'espèce originelle par un, deux ou plusieurs chromosomes (en plus ou en moins). Les aneuploïdes peuvent comporter un nombre de chromosomes supérieur ou inférieur à celui de l'espèce ancestrale (Griffiths *et al.*, 2010).

La nomenclature des aneuploïdes est basée sur le nombre de copies des chromosomes concernés par la duplication ou la délétion. Dans le cas des organismes diploïdes, l'aneuploïde $2n+1$ est dit trisomique, $2n-1$ est monosomique et l'aneupolyploïde $2n-2$ est nullisomique.

Dans ce dernier cas, le «-2» représente la perte de deux chromosomes homologues. Chez les individus haploïdes, $n+1$ est dit disomique (Griffiths *et al.*, 2010). Les individus ayant perdu des chromosomes sont dits hypo-aneuploïdes, tandis que ceux possédant des chromosomes supplémentaires sont dits hyper-aneuploïdes (Gorenflot et Raicu, 1980).

La raison de la majorité des états aneuploïdes est la non-disjonction au cours de la méiose ou de la mitose. La disjonction désigne la ségrégation régulière des chromatides ou des chromosomes homologues vers les pôles opposés pendant les divisions mitotiques ou méiotiques. Lors de la non-disjonction méiotique, les chromosomes peuvent ne pas se séparer lors de la première ou de la deuxième division. Des gamètes $n+1$ et $n-1$ sont produits dans les deux cas. Si un gamète $n-1$ est fécondé par un gamète n , il se forme un zygote monosomique ($2n-1$). La fusion d'un gamète $n+1$ et d'un gamète n conduit à un individu trisomique ($2n+1$) (Gorenflot et Raicu, 1980). Le mode de formation des aneuploïdes est donné dans la figure 10.

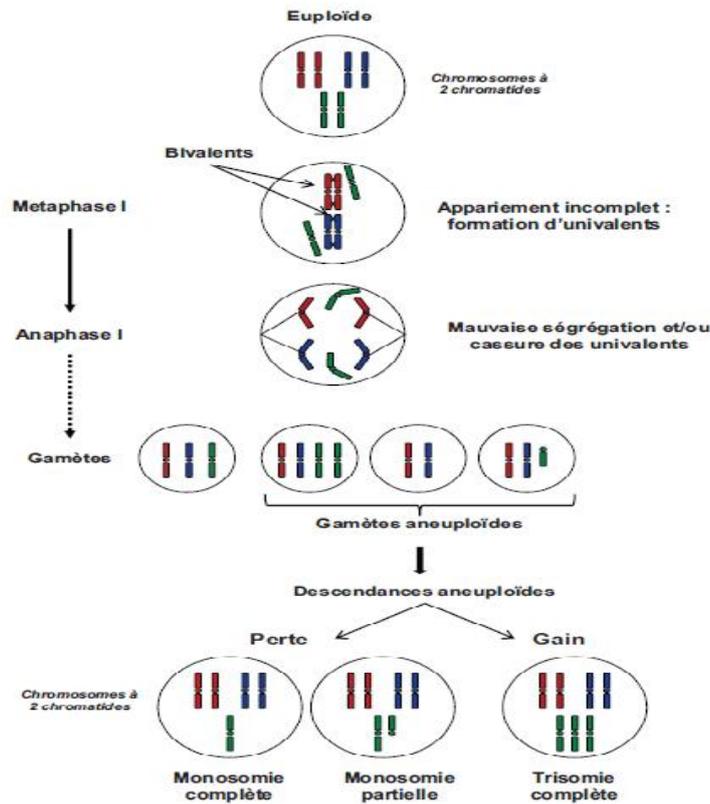


Fig.10: Représentation schématique de l'origine et type d'aneuploïdie (Mistiri, 2010).

6. Irrégularités méiotiques

On appelle irrégularité ou anomalie méiotique tout remaniement du nombre ou de la structure des chromosomes. Elle résulte d'un accident survenant soit au cours de la *méiose*, soit au cours d'une *mitose*. Elle peut impliquer un ou plusieurs chromosomes. Les anomalies méiotiques désignent également tout comportement irrégulier des chromosomes durant la méiose. Des erreurs peuvent parfois se produire lors de la formation des gamètes. Les cellules filles ainsi formées, peuvent présenter des anomalies soit de nombre soit de structure.

6.1. Anomalies de nombre

Elles peuvent se traduire par l'absence d'un ou plusieurs chromosomes. Cette anomalie est le résultat de la non-disjonction des chromosomes due à la mauvaise ségrégation au cours de l'anaphase I de la division méiotique. Elles peuvent se traduire également par la présence de chromosomes supplémentaires (multisomie). Ce phénomène de perte ou de gain est appelé aneuploïdie.

6.2. Anomalies de structure

Elles concernent un ou plusieurs chromosomes. Elles sont habituellement la conséquence de cassures chromosomiques suivies par une ou plusieurs soudures anormales. Ces anomalies de structure résultent principalement des délétions, des translocations, d'inversions ou de fusion. Les réarrangements touchant un seul chromosome sont :

Inversion péricentrique

Deux cassures sur le chromosome, une de chaque côté du centromère. Recollement après inversion du fragment centromérique. Conséquence : modification de l'indice centromérique du chromosome le plus souvent.

Inversion paracentrique

Deux cassures sur le même bras chromosomique et recollement après inversion du fragment. Pas de modification de l'indice centromérique, cette anomalie ne peut être détectée que par la modification des bandes chromosomiques.

Délétion

Perte d'un fragment de chromosome. Il s'agit toujours d'une anomalie déséquilibrée. La délétion est dite interstitielle quand il y a perte d'un fragment intermédiaire (deux points de cassure comme dans l'inversion), terminale quand l'extrémité d'un bras chromosomique est concernée (un seul point de cassure).

Microdélétions

Il s'agit, comme leur nom le suggère, d'une catégorie particulière de délétions de toute petite taille dont la caractéristique principale est de ne pas être visibles sur le caryotype standard. Ces pertes de matériel chromosomique concernent en effet au plus une sous-bande chromosomique et ne sont dépistées qu'avec les techniques de haute résolution ou actuellement par hybridation in situ fluorescente avec des sondes moléculaires spécifiques. Cette dernière approche est à la fois plus sensible et plus spécifique que le caryotype haute résolution, mais elle n'est applicable que quand la clinique est suffisamment évocatrice de tel ou tel syndrome pour orienter le choix de la région chromosomique à explorer et donc de la sonde à utiliser.

Matériel et Méthodes d'étude

Différentes méthodes sont décrites pour l'étude des chromosomes. Elles mettent en jeu l'application d'agents chimiques pour le prétraitement, la fixation et la coloration des cellules en division. Ces méthodes sont largement décrites dans le cahier des techniques de cytogénétique végétale (Jahier, 1992).

1. Matériel et stations d'étude

Notre travail consiste à analyser des méioses polliniques des espèces du genre *Hordeum* récoltées dans la région de Béjaïa. Deux populations correspondent à *Hordeum marinum* L. échantillonnées à El-kseur et à Adekar et trois populations correspondent à *Hordeum murinum* L. échantillonnées à Gouraya, Targa-Ouzemour et à Sidi-Ahmed.

Chaque population de *Hordeum marinum* L. porte 50 individus et celle de *Hordeum murinum* L. porte 30 individus.

Les échantillons sont récoltés dans des formations rudérales essentiellement de bords de route, entre avril et mai. Cette période correspond à l'anthèse c'est-à-dire que les épis sont encore enveloppés dans la feuille culmaire. La principale difficulté consiste à récolter les étamines au moment où les cellules mères des grains de pollen subissent la méiose car elles ont une courte période de différenciation.

Les conditions d'échantillonnage jouent un rôle important dans la réalisation du bon montage. Des prélèvements effectués en début de la matinée, dans des conditions de température fraîche et humide donnent de meilleurs résultats (Jahier, 1992).

2. Méthode d'analyse des méioses

L'étude des méioses est réalisée sur les anthères des jeunes boutons floraux où les cellules sont en division méiotique. Cette étude consiste à réaliser une coloration à la méthode de Feulgen. 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 (division asynchrone, chromosomes retardataires, ponts chromatiques...). Cette technique cytologique mise au point par Dayer (1963) nécessite plusieurs étapes :

2.1. Fixation et conservation

Sur le terrain, les épillets prélevés sont immédiatement plongés dans des tubes à essai contenant du Carnoy (fixateur). Ce fixateur est constitué de six volumes d'alcool absolu, de trois volumes de chloroforme et d'un volume d'acide acétique. Le Carnoy permet le blocage rapide des divisions cellulaires. Il permet également la conservation de l'intégrité structurale des chromosomes et l'amélioration de la coloration (Love and Love, 1975 ; Jahier, 1992). Après 48 heures dans ce fixateur, les épillets sont conservés dans l'alcool 70° à 4 °C, au réfrigérateur jusqu'à l'étape de la coloration.

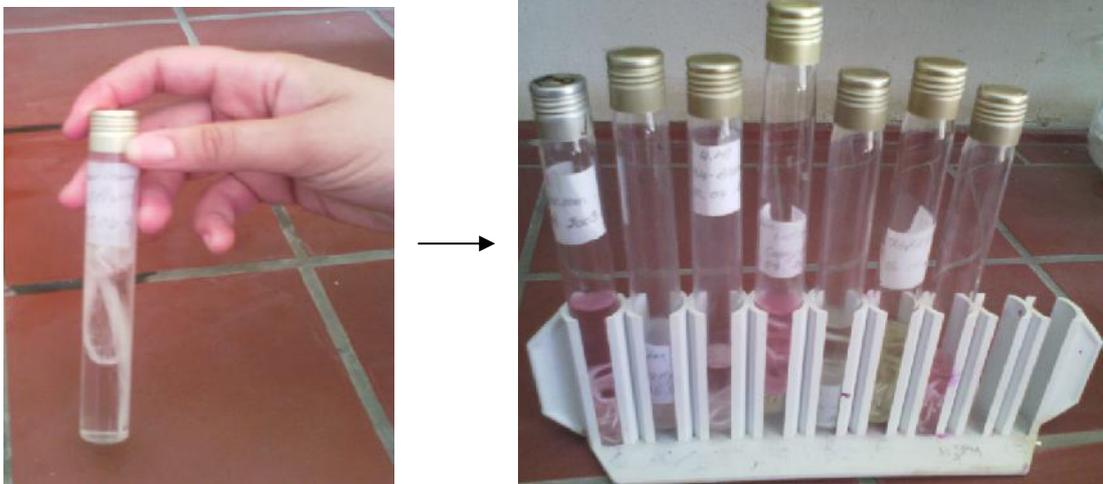


Fig. 11 : Photographie des épillets fixés dans HCl puis conservés à l'alcool 70°.

2.2. Hydrolyse à HCl

Cette étape permet, principalement, la libération des groupements aldéhydiques de l'ADN par la destruction des liaisons entre bases puriques et le désoxyribose pour permettre la fixation du colorant. L'agent employé dans cette étape est l'acide chlorhydrique HCl (N). Il permet également le ramollissement des tissus car son action peut être assimilée à celle d'une enzyme. Ainsi, l'hydrolyse dissout les substances pectiques de la lamelle moyenne et permet l'éclaircissement du cytoplasme. Elle est également nécessaire pour obtenir un bon étalement des cellules et des chromosomes. L'hydrolyse est réalisée à une température de 60 °C. au bain-marie pendant 5 minutes (Gaci S., 2007 ; Haicheur L., 2009).

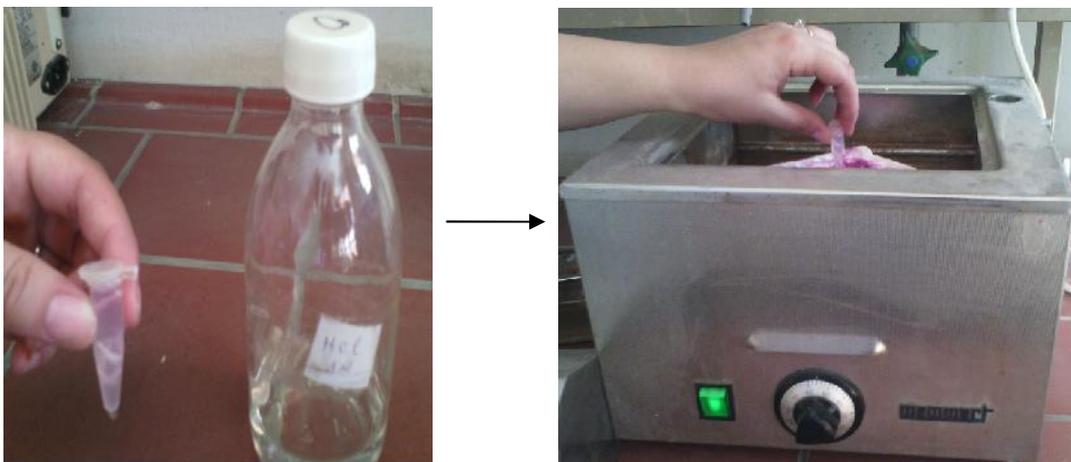


Fig. 12 : Photographie des épis dans HCl 1N subissant une hydrolyse acide au bain marie.

2.3. Coloration

Après l'étape de l'hydrolyse, les épillets sont rincés à l'eau distillée. Ils sont ensuite plongés dans des piluliers contenant le colorant. Le colorant utilisé est le réactif de Schiff adapté aux graminées. Il est préparé à partir de la fuchsine basique selon le protocole suivant :

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

Ce réactif peut être conservé au réfrigérateur pendant quelques mois.

Le réactif de Schiff 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 et Rossenbeck» car elle a été décrite pour la première fois par Feulgen en 1924.

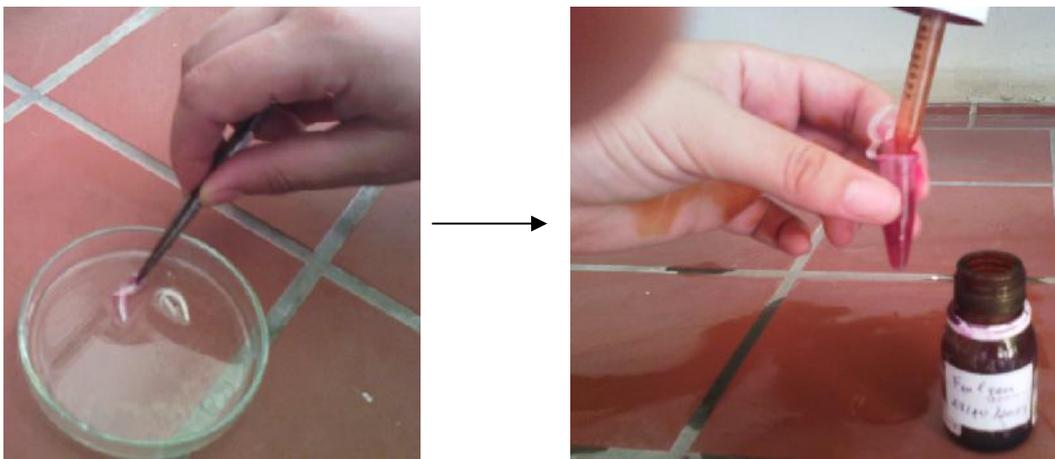


Fig. 13 : Photographie des épis rincés dans l'eau puis plongé dans le réactif de Schiff.

2.4. Observation et photographie

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'acide acétique 45 % ou de carmin acétique pour accroître le contraste entre les chromosomes et le cytoplasme. L'observation des cellules mères de pollen en division se fait au microscope photonique. Les cellules en divisions sont repérées au grossissement (10 x 8 x 1,25). L'observation des chromosomes se fait au grossissement (40 x 8 x 1,25) et (100 x 8 x 1,25). Les meilleures plaques sont lutées à l'aide d'un vernis ordinaire et sont photographiées à l'aide d'un appareil photographique numérique. Ces lames lutées peuvent être conservées au réfrigérateur pendant quelques mois.



Fig. 14 : Photographie de dégagement et d'écrasement entre lame et lamelle des étamines.



Fig. 15 : Photographie de l'observation au microscope photonique et une lame luttée.

A decorative horizontal border with rounded ends, resembling a scroll or a ribbon, framing the text. The border is black with a slight shadow effect on the top and right edges.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Enumération chromosomique

Le dénombrement chromosomique est effectué au stade métaphasique I sur des cellules mères des grains de pollen en division méiotique. Cette étude est réalisée sur trois échantillons de *H. murinum* et sur deux échantillons de *H. marinum*. Plusieurs cellules par population sont analysées. Pour éviter toute ambiguïté, seules les cellules où les chromosomes sont bien individualisés sont retenues.

Les résultats sont donnés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Nombre chromosomique des cinq populations d'orge étudiées.

Espèce	Population	Nombre chromosomique
<i>H. murinum</i>	Sidi-Ahmed	$2n=4x=28$
	Targa Ouzemour	$2n=4x=28$
	Gouraya	$2n=4x=28$
<i>H. marinum</i>	Adekar	$2n=2x=14$
	El-kseur	$2n=2x=14$

Bothmer *et al.* (1995) décrivent trois cytotypes chez *H. murinum* correspondant à trois taxons différents.

-*H. glaucum* Steud. à $2n=2x=14$,

-*H. murinum* L. *sstr.* à $2n=4x=28$,

-*H. leporinum* Link. à $2n=6x=42$, et à $2n=2x=28$.

Nos échantillons analysés dans la région de Béjaïa avec des conditions d'humidité ne montrent qu'un seul cytotype à $2n=4x=28$ correspondant *H. leporinum* Link. Le cytotype diploïde préférant les conditions plutôt xériques semble absent dans nos trois stations.

Le complexe *H. marinum* est reconnu comme un complexe à deux niveaux de ploïdie correspondant à deux taxons différents (Bothmer *et al.*, 1995).

- Une sous-espèce diploïde, *H. marinum ssp. marinum* à $2n=2x=14$,

- Une sous-espèce *H. marinum ssp. gussoneanum* à $2n=2x=14$ et à $2n=4x=28$.

Nos échantillons ne montrent qu'un seul cytotype diploïde correspondant à *H. marinum ssp. marinum* L..

De certains travaux de cytologie et d'écologie, se dégagent un consensus sur la distribution géographique des taxons du complexe polyploïde de *Hordeum murinum* L. Giles et Lefkovitch (1986) synthétisent ces études et établissent que *H. glaucum* ($2x$) se rencontre dans les conditions chaudes et sèches du climat méditerranéen, que *H. murinum* ($4x$) préfère les conditions froides et humides et les hautes altitudes alors que *H. leporinum* ($6x$) est endémique de l'Est de la Méditerranée (Afganistan).

Dans les stations d'étude de Gouraya, Sidi-Ahmed et de Targa-Ouzemour où les conditions du milieu sont relativement favorables avec une altitude basse et un climat humide, les individus tétraploïdes de *H. murinum* très performants ont pu écarter les diploïdes. Ces derniers se retrouveraient plutôt dans les zones méridionales de l'Algérie où les conditions sont plus sèches.

Cependant, Midoune et Ouabdelkader (2002), étudiant quelques populations de stations à niveaux d'altitude différents de la région de Béjaïa, mentionnent la présence du cytotype diploïde.

Ourari (2011) établit, sur des études faites sur le territoire Algérien, que les tétraploïdes se développent dans les conditions où les fluctuations bioclimatiques ne sont pas très fortes. Ils préfèrent les régions fraîches et humides du Nord où ils représentent un fort pourcentage. Leur fréquence diminue avec le gradient bioclimatique Nord-Sud. Ainsi, dans les régions arides aucun tétraploïde n'est récolté.

Nos échantillons de *H. marinum* se révèlent tous diploïdes. Les différentes études ne signalent aucune forme de tétraploïdes en Afrique du Nord. En effet, ces taxons sont répartis en Méditerranée orientale et en Asie du Sud-Ouest (Bothmer *et al.*, 1995).

2. Comportement méiotique

Nous avons suivi le déroulement de la méiose sur des cellules mères de pollen chez les deux taxons *H. murinum* et *H. marinum*. Nous avons analysé les différents stades méiotiques et nous avons noté les irrégularités qui peuvent nous renseigner sur le degré d'homologies des

génomés polyploïdes de base et sur les facteurs pouvant induire la variation au sein de ces deux complexes.

2.1. Différents stades de la méiose

2.1.1. Division réductionnelle

Cette première division est appelée division réductionnelle car elle aboutit à la formation de deux cellules à n chromosomes. Elle est précédée par une interphase identique à celle de la mitose, au cours de laquelle chacun des chromosomes se réplique et se retrouve constitué de deux chromatides-sœurs identiques (Samri, 2012). Elle comprend 4 phases :

- Prophase I

La prophase est l'étape la plus longue et la plus complexe de la méiose. Elle représente 90 % de la durée de la méiose. La prophase méiotique est plus complexe que la prophase mitotique ce qui a mené les cytologistes à la subdiviser en cinq stades (Dawe, 1998 ; Roeder, 1997).

Stade leptotène

Dans la figure 16, sont représentées deux cellules mères de pollen au stade leptotène photographiées chez les deux taxons analysés.

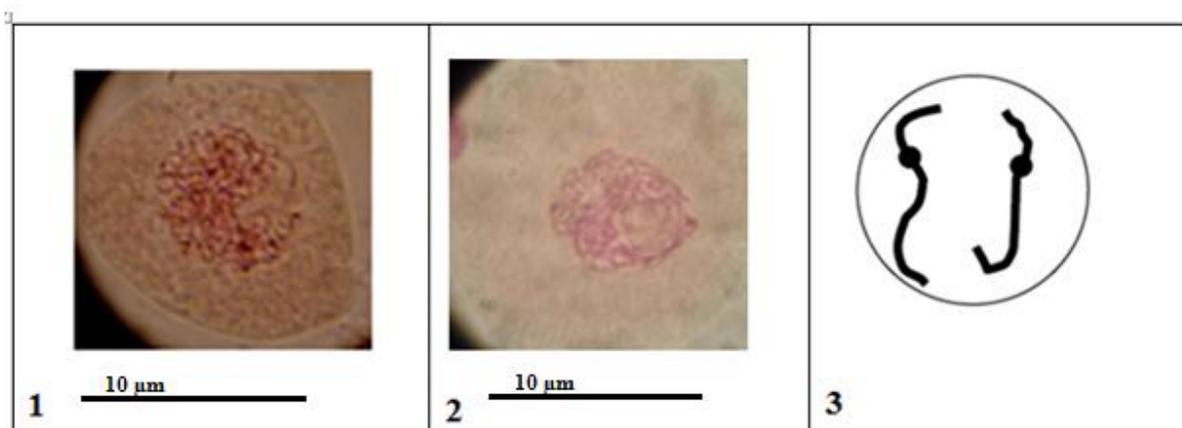


Fig. 16 : Photographies de méiocytes mâles au stade leptotène
(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade leptotène selon Bouchard (2006).

A ce stade les chromosomes commencent à se condenser. Ils sont visibles dans le noyau sous forme de longs filaments fins et l'élément axial apparaît le long de chacun d'entre eux. Les télomères s'attachent à l'enveloppe nucléaire et commencent leur migration vers l'un des pôles du noyau. De plus, les premiers stades de recombinaison méiotique s'initient (Gerton et Hawley, 2005 ; *in* Saintenac, 2009).

A ce stade, la duplication de l'ADN est achevée et chaque chromosome est constitué de deux chromatides. Selon, Grelon *et al.* (2001) *in* Horlow et Doutriaux (2003), la protéine SWI1 intervient dans l'établissement de la cohésion des chromatides sœurs mais son maintien est assuré par une autre protéine homologue (protéine Rad21).

Stade zygotène

Dans la figure 17, sont représentées deux cellules mères de pollen au stade zygotène photographiées chez les deux taxons analysés.

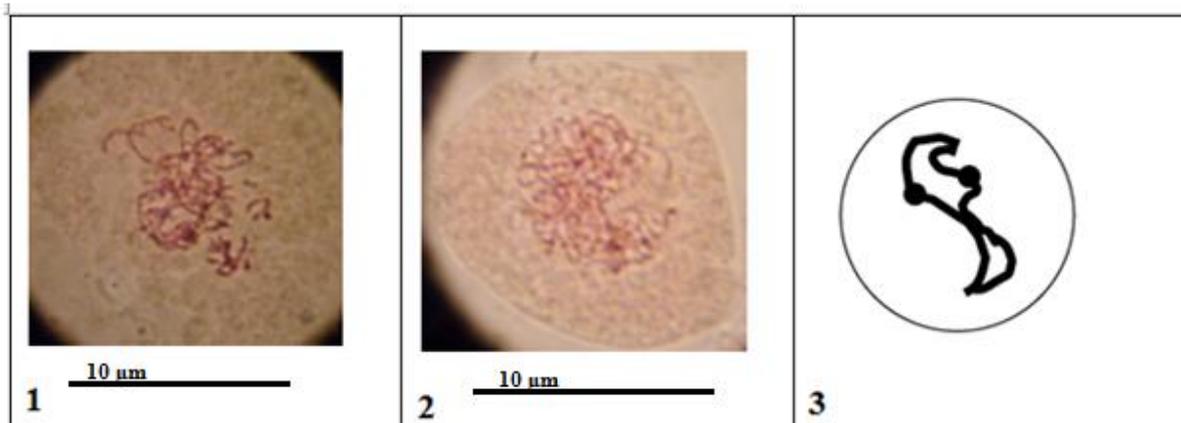


Fig. 17 : Photographies de méiocytes mâles au stade zygotène

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade zygotène selon Bouchard (2006).

Les chromosomes continuent à se condenser et commencent à s'aligner. Certains des ponts entre homologues évoluent en association axiale (AA) et permettent une connexion entre les éléments axiaux des deux homologues. La migration des télomères vers un des pôles de la cellule est terminée : c'est le bouquet télomérique (Saintenac, 2009).

La condensation des chromosomes se réalise grâce notamment à des protéines spécifiques en prophase I comme la meiotin-1 (Qureshi et Hasenkampf, 1995 *in* Dawe, 1998).

Les chromosomes homologues commencent à s'apparier et s'enroulent l'un autour de l'autre. L'appariement débute toujours en des points bien précis, appelés points de contact ou zygomère. A ce stade, une structure protéique particulière apparaît : le complexe synaptonémal. Ce complexe semble établir une connexion entre les chromosomes homologues sur toute leur longueur. La mise en place d'un complexe synaptonémal cohérent est nécessaire à la formation des bivalents. En son absence, le stade pachytène ne peut être défini. La formation du complexe synaptonémal nécessite une protéine homologue de la protéine Hop1 de levure *Schizosaccharomyces pombe* (Horlow et Doutriaux, 2003).

Stade pachytène

Dans la figure 18, sont représentées deux cellules mères de pollen au stade pachytène photographiées chez les deux taxons analysés.

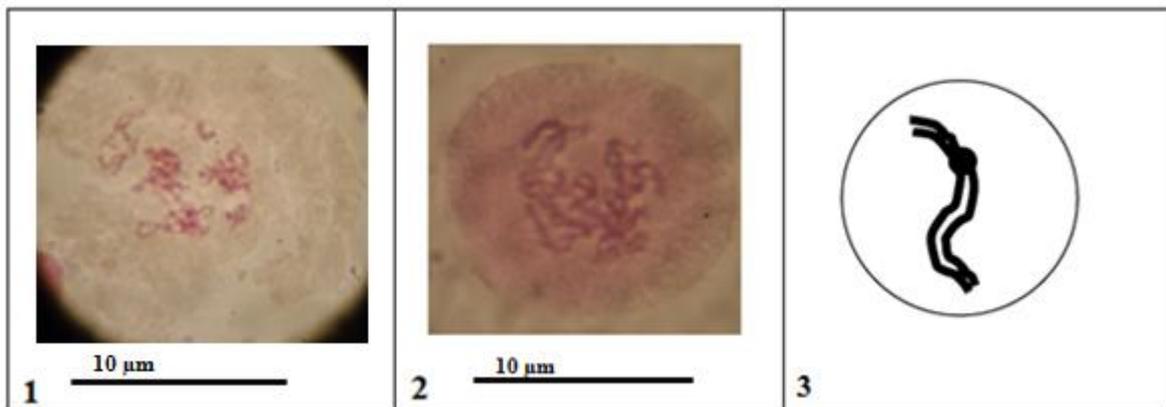


Fig. 18 : Photographies de méiocytes mâles au stade pachytène (1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade pachytène selon Bouchard (2006).

Les chromosomes homologues sont alignés et synapsés sur toute leur longueur. Ils continuent à se compacter et apparaissent plus courts et épais qu'aux stades précédents (Smithies et Powers, 1986 ; Roeder, 1997 in Dumont, 2011). C'est la phase où se déroulent les échanges génétiques par la recombinaison homologue «crossing-over».

Les chromosomes en pachytène sont plus longs que les chromosomes de la prophase mitotique (Donad *et al.*, 1983 ; Neuffer *et al.*, 1997 in Dawes, 1998). Ce stade peut

représenter comme chez *Arabidopsis* la moitié du temps de la prophase I méiotique (Dumont, 2011).

Stade diplotène

Dans la figure 19, sont représentées deux cellules mères de pollen au stade diplotène photographiées chez les deux taxons analysés.

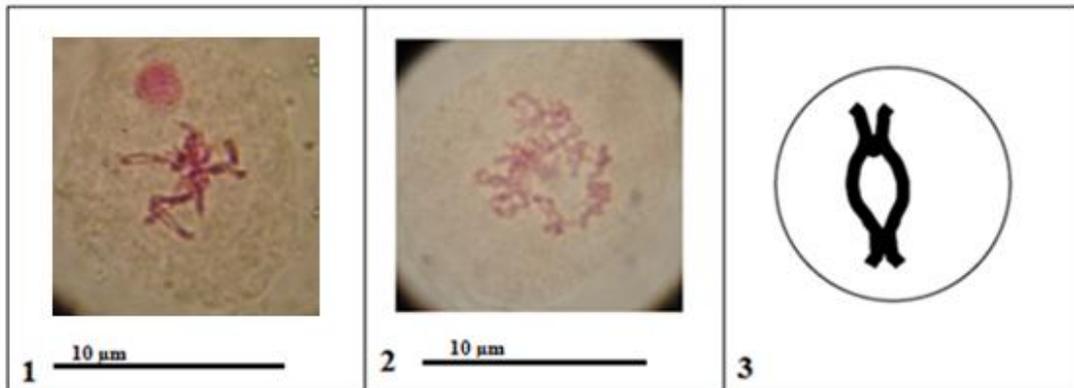


Fig. 19 : Photographies de méiocytes mâles au stade diplotène

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade diplotène selon Bouchard (2006).

Pendant le stade diplotène chaque chromosome est constitué d'une paire de chromatides sœurs. Les chromatides sœurs commencent à se séparer (Cummings et Spencer, 2006). Les chromosomes perdent les composants du complexe synaptonémal. Les chromosomes homologues se séparent légèrement mais restent associés au niveau des chiasmata, qui correspondent aux sites des crossing-over (Sturtevant, 1915 *in* Dumont, 2011).

Stade diacinèse

Dans la figure 20, sont représentées deux cellules mères de pollen au stade diacinèse photographiées chez les deux taxons analysés.

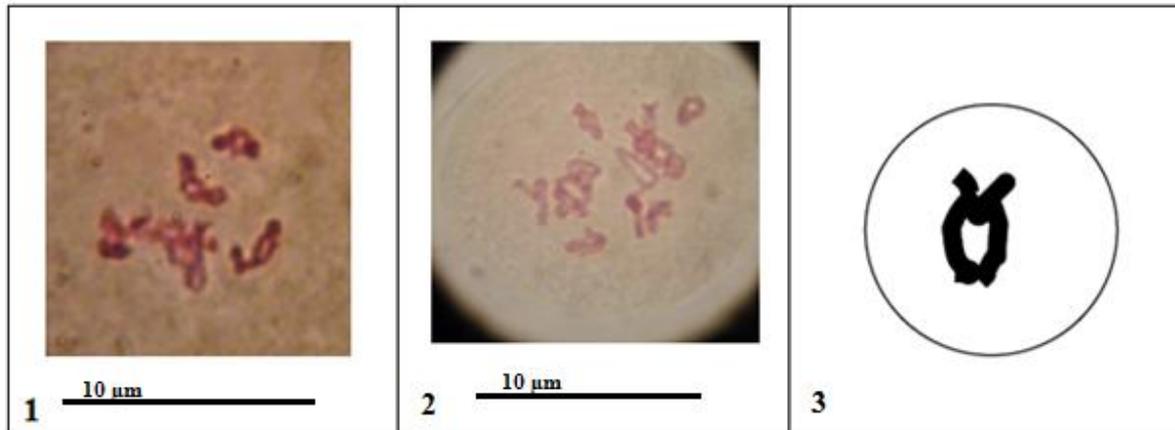


Fig. 20 : Photographies de méiocytes mâles au stade diacinèse

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade diacinèse selon Bouchard (2006).

La phase terminale de la prophase I est la diacinèse. Les chromosomes se séparent davantage, mais les chromatides non-sœurs restent encore attachées au niveau des chiasmata (Cummings et Spencer, 2006). Les chromosomes atteignent leur niveau de compaction maximal et se détachent de l'enveloppe nucléaire. Les chromosomes sont associés en bivalent grâce à la cohésion et aux chiasmata. La cohésion assure l'association des chromatides sœurs et les crossing-over génèrent un échange réciproque de fragments entre une des deux chromatides de chaque chromosome (Sturtevant, 1915 *in* Dumont, 2011). Les chromosomes homologues semblent se repousser l'un l'autre et les segments non retenus par un chiasma s'éloignent. Ces chromosomes se caractérisent en longueur par un processus spiral (Nakkala S. Nakkala C., 1975 ; *in* Dawe, 1998).

- Métaphase I

La figure 21 montre deux photographies de cellules en métaphase I chez les deux taxons analysés. *H. marinum* L montre 7 bivalents (Fig.14. 1) et *H. murinum* L. montre 14 bivalents (Fig. 14. 2).

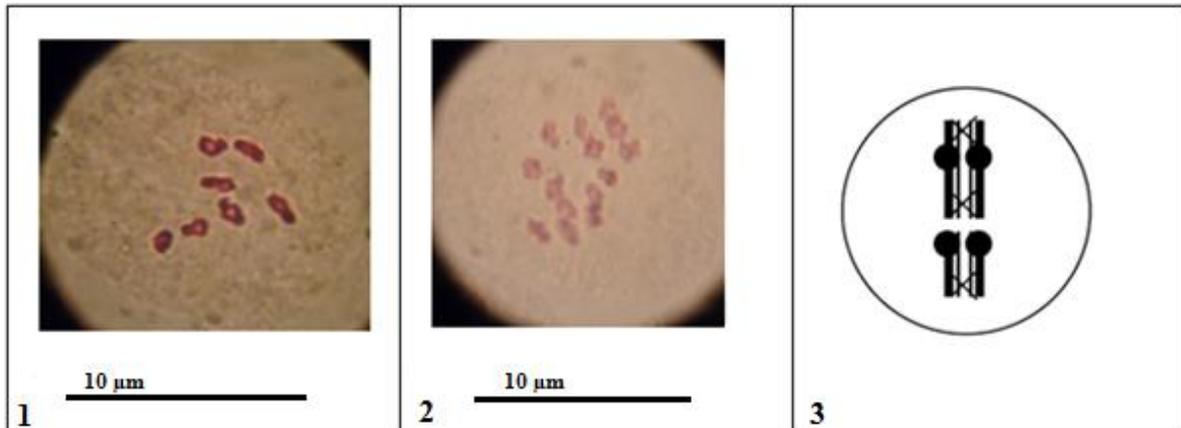


Fig. 21 : Photographies de méiocytes mâles au stade métaphase I.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade métaphase I, selon Bouchard (2006).

Lors de la cette phase les chromosomes ont tendance à se repousser et ils s'attachent aux fibres des fuseaux de microtubules au niveau des kinétochores qui sont une structure protéique située au niveau des centromères. Ils migrent ainsi en paires (Saintenac, 2009). Les chromosomes ont fini de raccourcir et de s'épaissir. Les chiasmata terminaux de chaque paire de chromosomes sont visibles et apparaissent et les bivalents se positionnent sur la plaque métaphasique ou équatoriale (Cummings et Spencer, 2006).

- Anaphase I

La figure 22 montre deux photographies de cellules en anaphase I chez les deux taxons analysés.

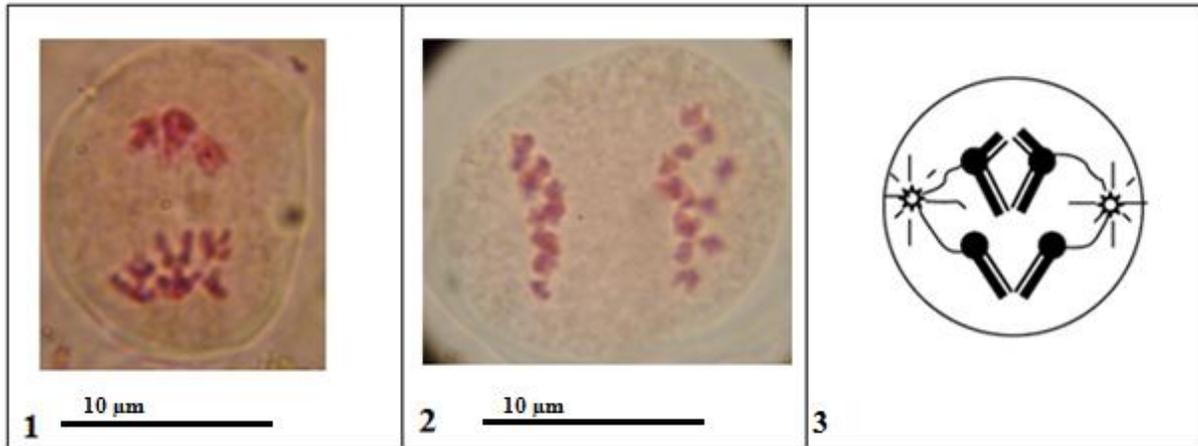


Fig. 22 : Photographies de méiocytes mâles au stade anaphase I.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade anaphase I, selon Bouchard (2006).

Les chromosomes homologues sont tirés de part et d'autre de la cellule par contraction des fibres ; il y a déplacement des deux lots de chromosomes jusqu'aux deux pôles de la cellule (Saintenac, 2009). Les centromères ne se divisent pas et continuent à maintenir les chromatides sœurs reliées. Les chromosomes homologues se séparent et migrent aux pôles opposés (chacun est constitué de deux chromatides sœurs). C'est cette migration qui permet de réduire le nombre de chromosomes de l'état diploïde ($2n$) à l'état haploïde (Griffiths *et al.*, 2001). Selon Yang *et al.*, 1999 in Doutriaux (2003), une protéine *ASK1* est responsable de la dégradation de structure qui connecte les chromosomes homologues, comme le complexe synaptonémal ou les chiasmata entraînant ainsi la séparation des homologues.

- Télaphase I

La figure 23 montre deux photographies de cellules en télaphase I chez les deux taxons analysés.

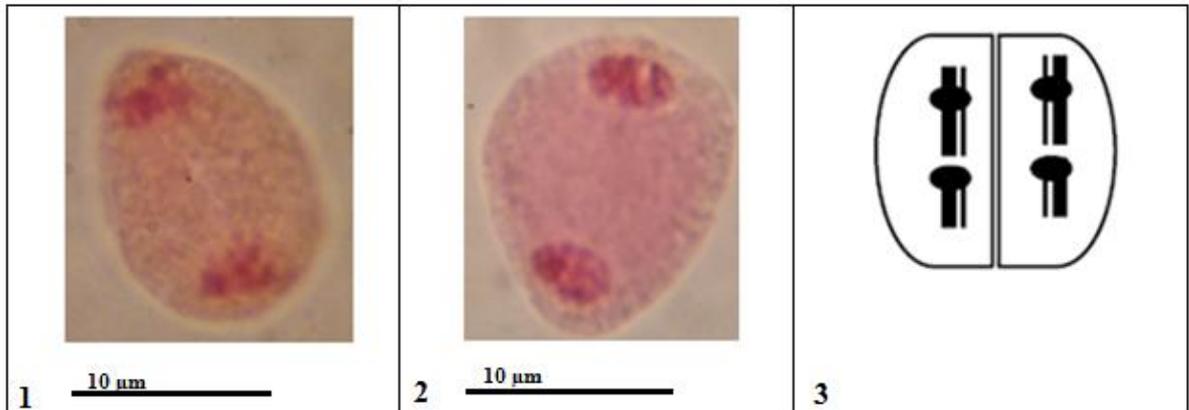


Fig. 23 : Photographies de méiocytes mâles au stade télaphase I.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade télaphase I, selon Bouchard (2006).

Au cours de cette dernière étape, il y a reformation de l'enveloppe nucléaire et dispersion des chromosomes. Les fibres du fuseau sont dissoutes et la cellule est coupée en deux par un anneau de protéines qui est l'actine : c'est la cytosinèse. Ceci permet la formation de deux nouvelles cellules haploïdes bi-chromatidiennes (Saintenac, 2009). Chez de nombreux organismes, après la formation de la membrane nucléaire autour des diades, le noyau entre dans une courte période interphasique (Cummings et Spencer, 2006).

- Intercinèse I

La figure 24 montre deux photographies de cellules au stade intercinèse I chez les deux taxons analysés.

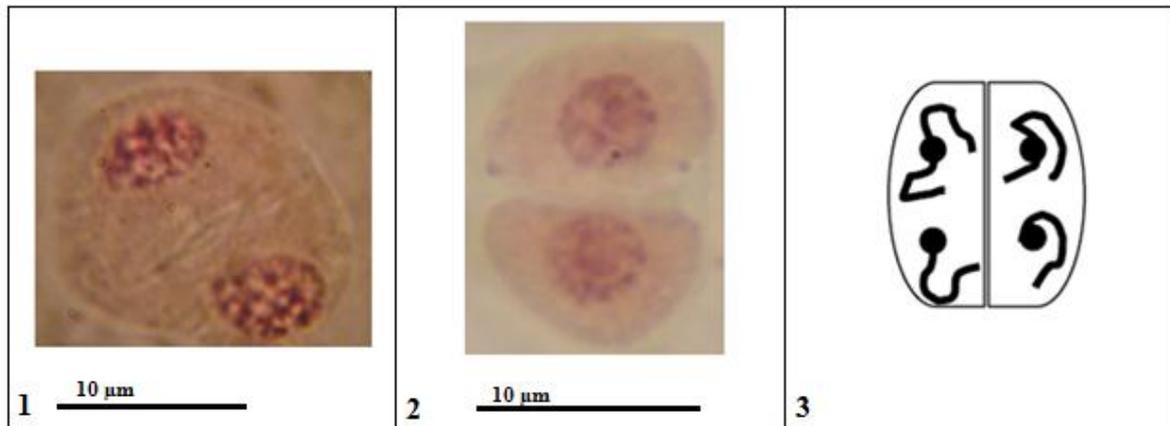


Fig. 24 : Photographies de méiocytes mâles au stade intercinèse I.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade intercinèse I, selon Bouchard (2006).

C'est une phase qui sépare les deux divisions de la méiose. Elle est d'une durée variable selon les espèces. Cette phase est caractérisée par la formation d'une membrane cellulaire entre les deux nouveaux noyaux. Chez les autres espèces autres que les Monocotylédones, cette cloison n'existe pas (Lints, 1991). Il n'ya pas de réplication d'ADN. Cette étape marque la fin de la première division réductionnelle (Griffiths *et al.*, 2001). La cellule mère de pollen se présente alors sous forme de diade.

2.1.2. Division équationnelle

La division équationnelle est identique à la mitose. Elle aboutit à la séparation des chromatides sœurs. Chaque cellule donne alors naissance à deux cellules haploïdes monochromatidiennes (Saintenac, 2009). Elle se déroule en cinq étapes :

- Prophase II

La figure 25 montre deux photographies de cellules au stade prophase II chez les deux taxons analysés.

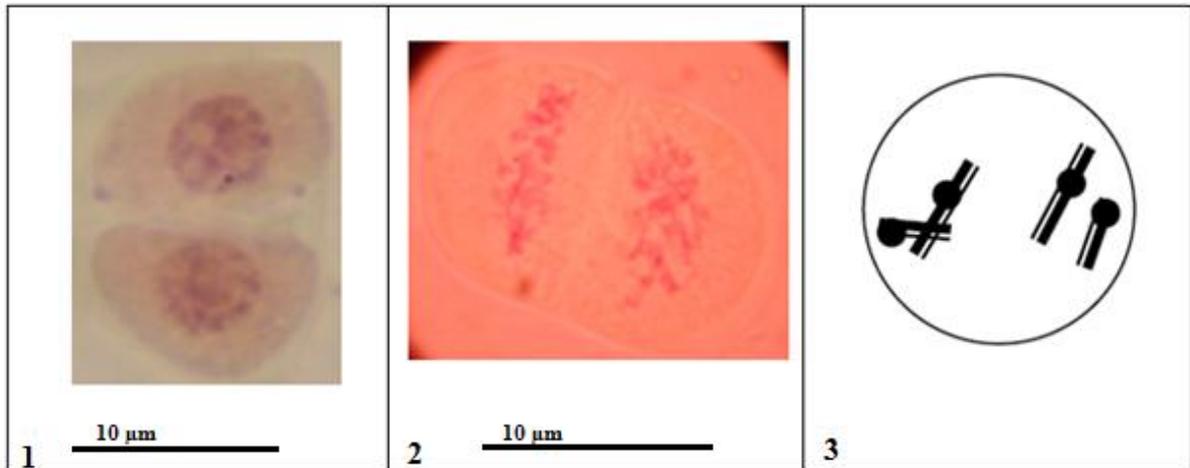


Fig. 25 : Photographies de méiocytes mâles au stade prophase II.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade Prophase II, selon Bouchard (2006).

Dans chaque diade, les chromosomes sont composés d'une paire de chromatides sœurs liées par un centromère (Cummings et Spencer, 2006). C'est une phase de contraction chromosomique par spiralisation. Cette phase n'existe pas chez toutes les espèces végétales (Griffiths *et al.*, 2001). D'après Lints (1991), celle-ci n'existe que chez les organismes subissant une télophase et une intercinèse.

- Métaphase II

La figure 26 montre deux photographies de cellules au stade métaphase II chez les deux taxons analysés.

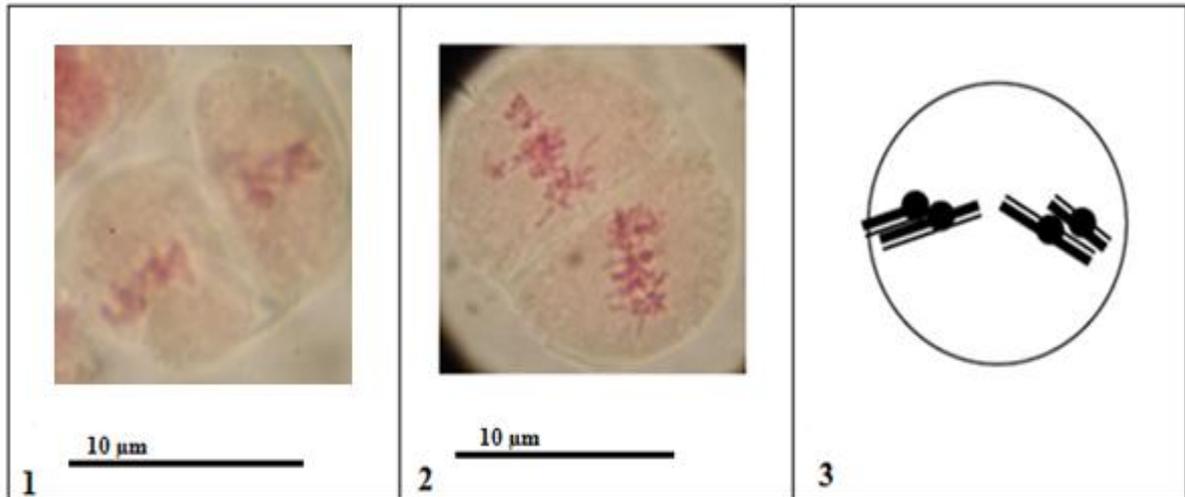


Fig. 26 : Photographies de méiocytes mâles au stade métaphase II.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade métaphase II, selon Bouchard (2006).

Au sein de cette phase, les noyaux issus de la première division réductionnelle entrent directement en division sans duplication préalable de leurs chromosomes. Les chromosomes se placent sur la plaque équatoriale de chacune des aires cytoplasmiques de la diade. Le centromère de chaque chromosome est relié au fuseau achromatique. A ce stade, les chromatides sœurs perdent leur cohésion et se séparent après la destruction des protéines Swi1 et Rad21 (Horlow et Doutriaux, 2003).

- Anaphase II

La figure 27 montre deux photographies de cellules au stade anaphase II chez les deux taxons analysés.

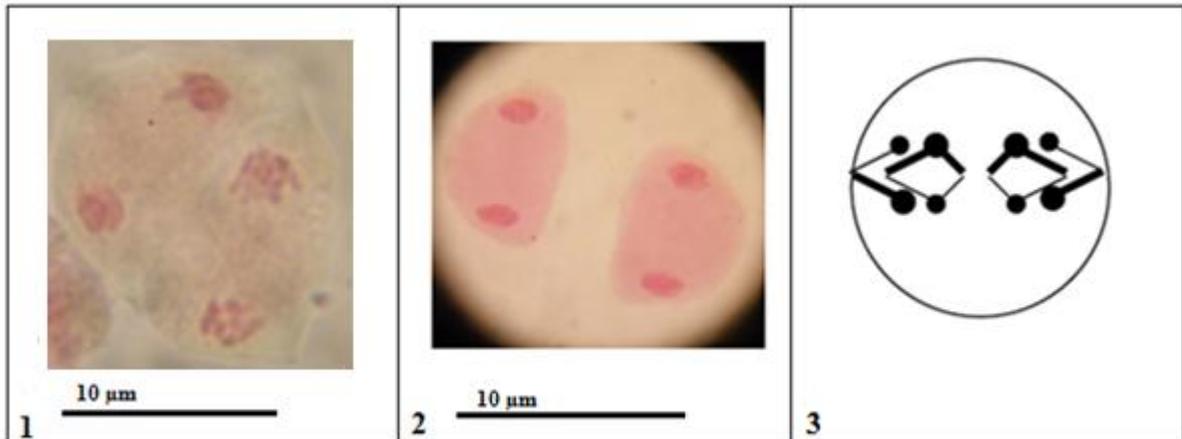


Fig. 27 : Photographies de méiocytes mâles au stade anaphase II.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade anaphase II, selon Bouchard (2006).

Les centromères se clivent longitudinalement et les chromatides sœurs de chaque chromosome migrent vers des pôles opposés du fuseau. Une fois les centromères séparés, chaque chromatide reconstruit un chromosome individualisé (Griffiths *et al.*, 2001).

- Télaphase II

La figure 28 montre deux photographies de cellules au stade télaphase II chez les deux taxons analysés.

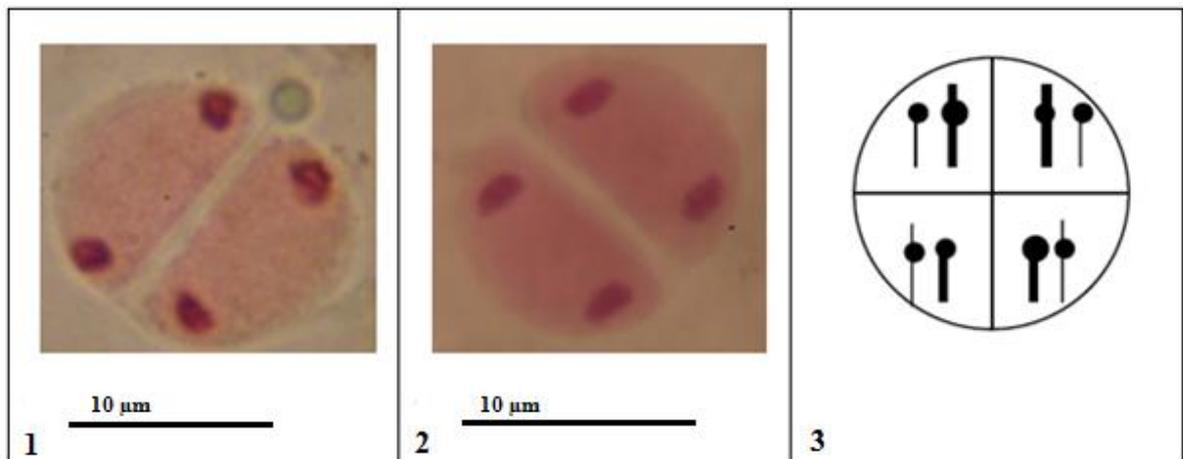


Fig. 28 : Photographies de méiocytes mâles au stade télaphase II.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade télaphase II, selon Bouchard (2006).

Au cours de ce stade il y a la reconstitution de la membrane nucléaire et cytotidérièze ,on obtient quatre cellules filles haploïdes et chaque cellule possède un simple jeu de chromosome non dupliqué et non identique suite aux recombinaisons génétique de la méiose I (Samri, 2012).

- Intercinèse II

La figure 29 montre deux photographies de cellules au stade interphase II chez les deux taxons analysés.

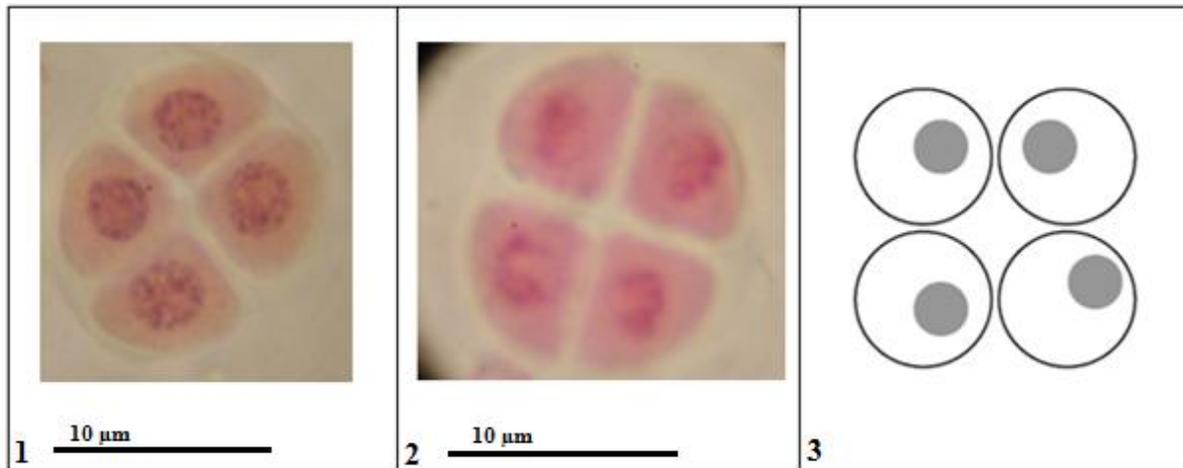


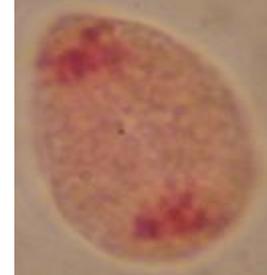
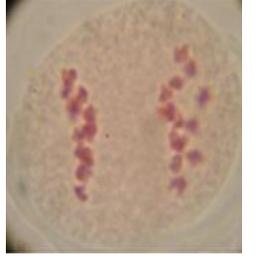
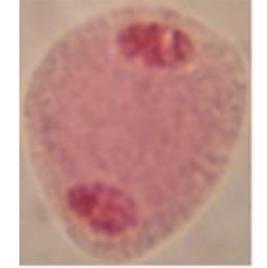
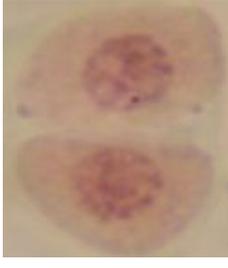
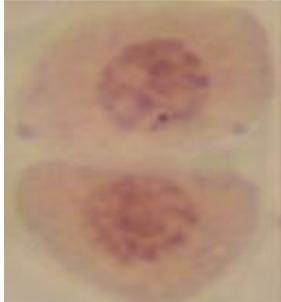
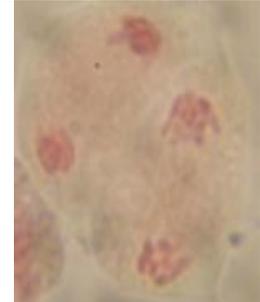
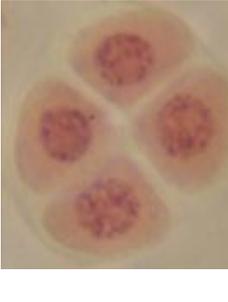
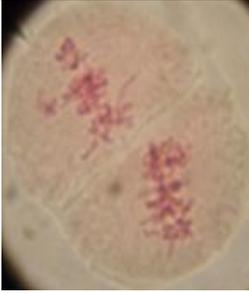
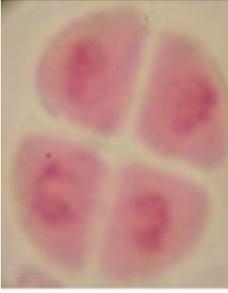
Fig. 29 : Photographies de méiocytes mâles au stade interphase II.

(1) chez *Hordeum marinum* L., (2) chez *Hordeum murinum* L., (3) schéma de stade interphase II, selon Bouchard (2006).

Ces figures montrent des lots chromosomiques bien individualisés. Les noyaux sont reconstitués et les membranes cellulaires se forment entre les quatre nouveaux noyaux (Griffiths *et al.*, 2001), constituant, ainsi des tétrades. Chaque noyau de la tétrade se développe pour donner une microspore qui est le grain de pollen.

Résultats et discussion

Tableau 2 : Synthèse des différentes phases de la méiose chez les deux espèces étudiées.

Première division	Pro. I	Méta. I	Ana. I	Télo. I	Inter. I
<i>H. marinum</i>					
<i>H. murinum</i>					
Deuxième division	Pro. II	Méta. II	Ana. II	Télo. II	Inter. II
<i>H. Marinum</i>					
<i>H. Murinum</i>					

2.2. Différents types d'appariement

Plusieurs types d'appariements chromosomiques sont mis en évidence chez les deux espèces analysées en fonction du nombre de chiasmata mis en jeu.

- Bivalents droits

La figure 30 représente des plaques métaphasiques montrant des bivalents droits avec un (Fig. 30.1) ou deux chiasmata (Fig. 30.2) observés chez *H. marinum* L..

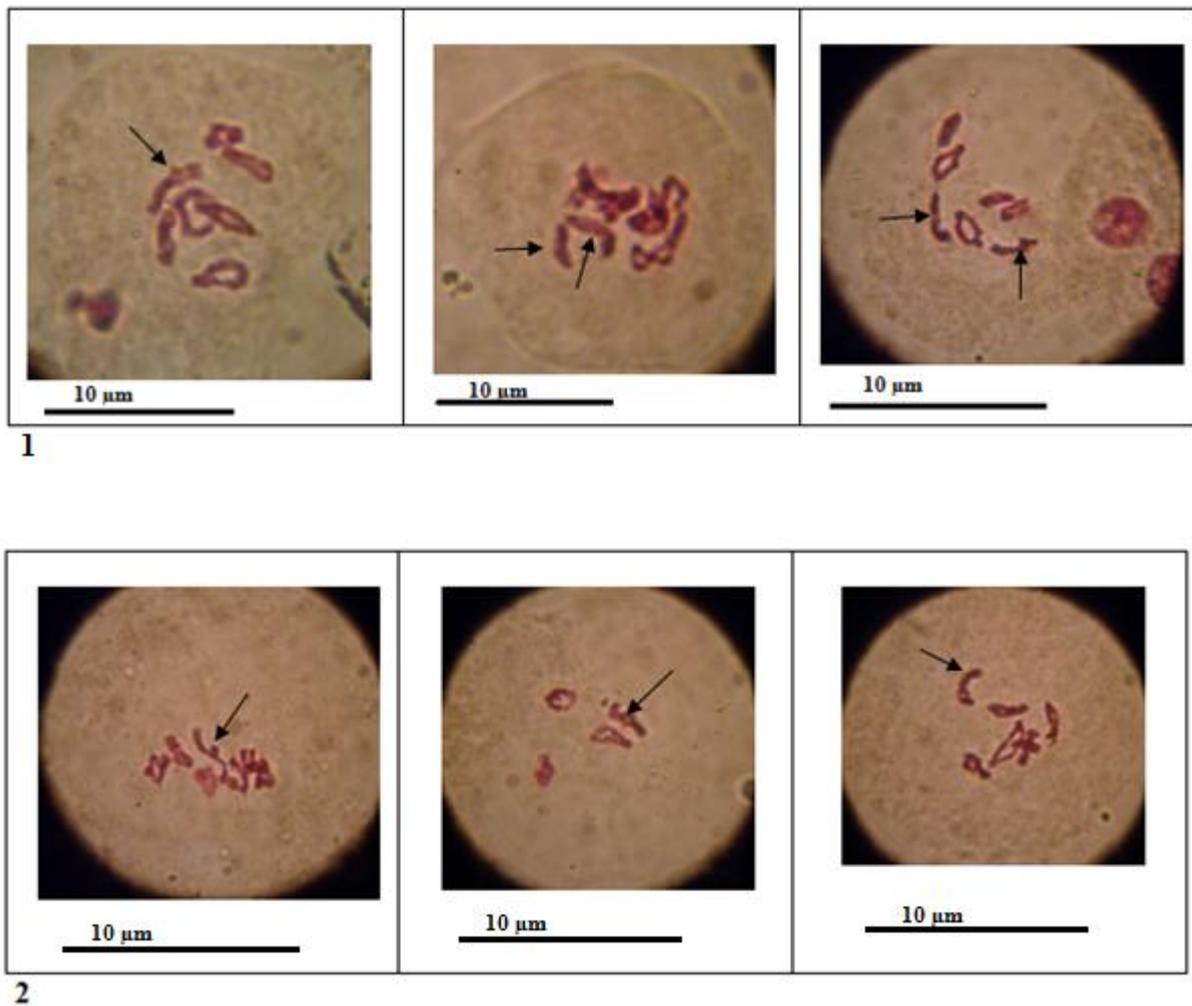


Fig. 30 : Photographies de méiocytes mâles de *Hordeum marinum* L. au stade métaphase I montrant des bivalents droits avec un seul chiasma (1) et des bivalents droits avec deux chiasmata (2).

La figure 31 représente des plaques métaphasiques montrant des bivalents droits avec un (Fig. 31.1. et 2) ou deux chiasmata (Fig. 31.3) observés chez *H. murinum* L..

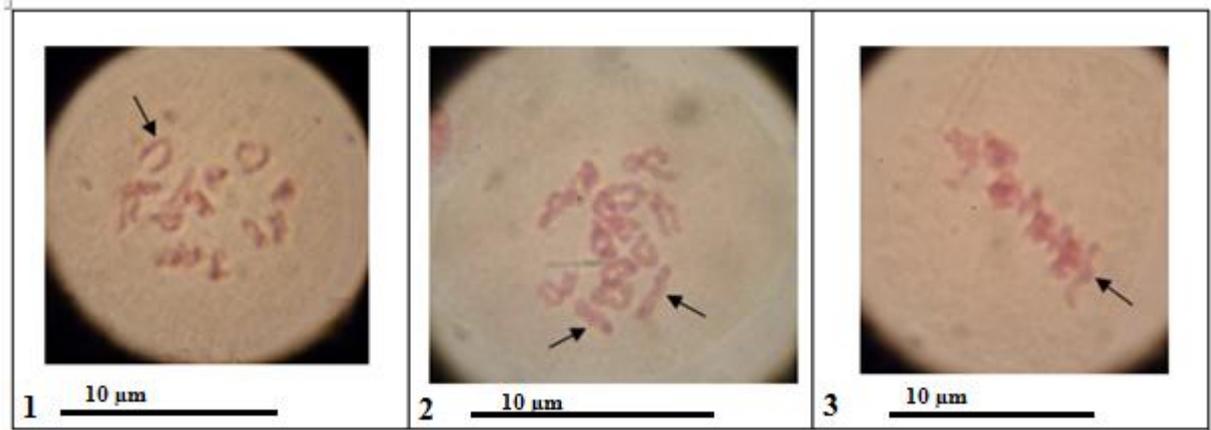


Fig. 31 : Photographies de méiocytes mâles de *Hordeum murinum* L. au stade métaphase I montrant des bivalents droits avec un seul chiasma (1, 2) et un bivalent droit avec deux chiasmata (3).

Les bivalents droits avec un seul chiasma montrent un seul crossing-over selon la théorie de la chiasmotypie partielle de (Janssen, 1909). La répulsion entre les chromosomes homologues ainsi que l'éloignement des centromères et le transfert des chiasmata vers les extrémités chromosomiques lors de la terminalisation ont donné naissance à une figure linéaire.

Les bivalents droits avec deux chiasmata présentent deux crossing-over à une extrémité des homologues. Selon la même théorie la répulsion des homologues et la terminalisation ont donné naissance à une figure en anneau ouverte avec une boucle.

- Bivalents en anneau

La figure 32 représente des plaques métaphasiques montrant des bivalents en anneaux avec deux (Fig. 32.1), trois (Fig. 32.2) et quatre chiasmata (Fig. 32.3) observés chez *H. marinum* L..

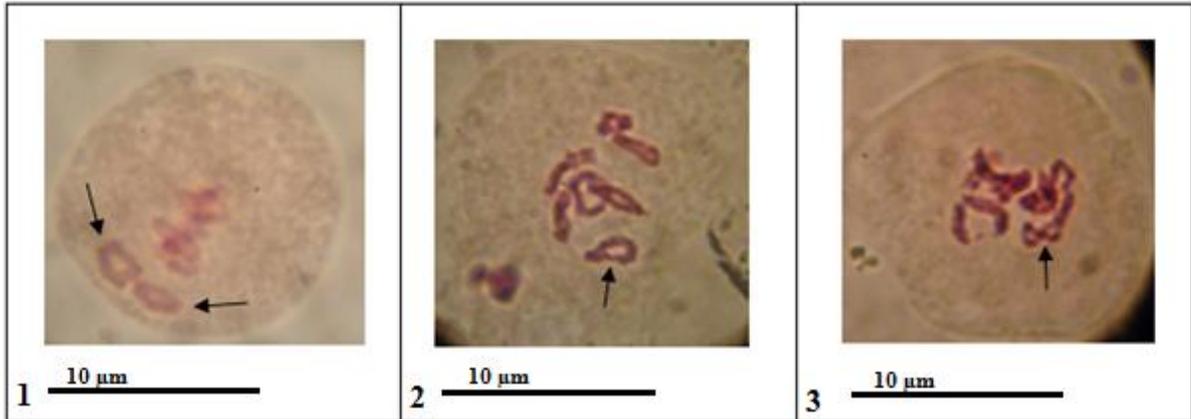


Fig. 32 : Photographies de méiocytes mâles de *Hordeum marinum* L. au stade métaphase I montrant des bivalents en anneau avec deux (1), un bivalent en anneau avec trois (2) et un bivalent en anneau à quatre chiasmata (3).

La figure 33 représente des plaques métaphasiques montrant un bivalent en anneaux avec deux (Fig. 33.1), un bivalent en anneau avec trois (Fig. 33.2) et un bivalent en anneau à quatre chiasmata (Fig. 33.3) observés chez *H. murinum* L..

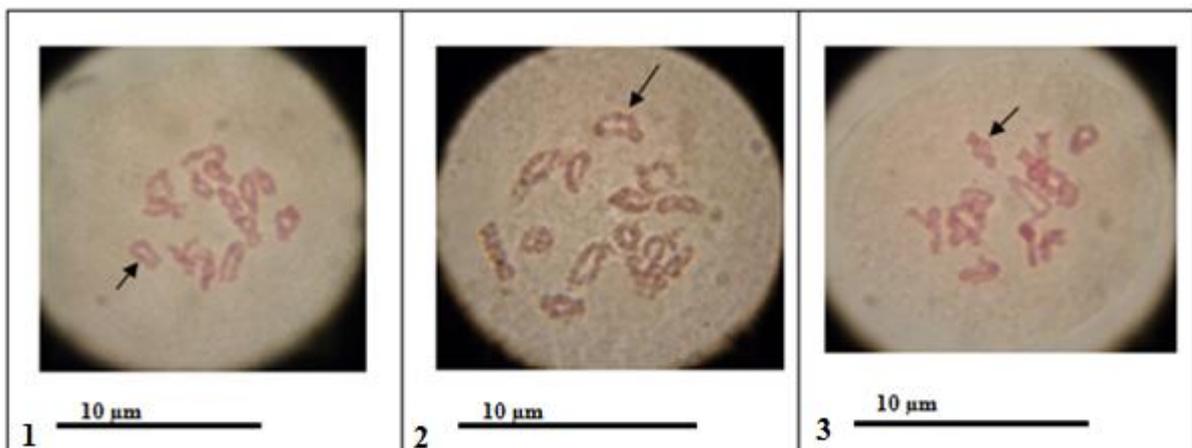


Fig. 33 : Photographies de méiocytes mâles de *Hordeum murinum* L. au stade métaphase I montrant un bivalent en anneau avec deux (1), un bivalent en anneau avec trois (2) et un bivalent en anneau à quatre chiasmata (3).

Les bivalents en anneau avec deux chiasmata montrent deux crossing-over aux extrémités des homologues et l'éloignement des centromères a donné naissance à une figure en anneau.

Les bivalents en anneau avec trois chiasmata montrent deux crossing-over à une extrémité et un autre à l'autre extrémité des homologues. L'éloignement des centromères a donné naissance à une figure en anneau avec une boucle.

Les bivalents en anneau avec quatre chiasmata montrent deux chiasmas de part et d'autre des centromères, leur éloignement et la terminalisation a donné naissance à une figure en anneau avec deux boucles.

La théorie de chiasmotypie de Janssens (1909-1924), qui est toujours admise, postule que ces chiasmata sont le résultat des crossing-over, responsables de la recombinaison génétique interchromosomique. Ils se forment en des points précis où des échanges de segments ont eu lieu entre chromatides homologues non sœurs.

Une étude des fréquences de recombinaison homologue montre une distribution non aléatoire des crossing-over méiotique chez *Arabidopsis*. Chez la levure, la protéine Spo11 induit la formation des cassures double-brin nécessaire à la mise en route de la recombinaison homologue méiotique. En revanche, la protéine Dmc1 est spécifiquement impliquée dans l'orientation de la recombinaison réparatrice vers le chromosome homologue (et non la chromatide sœur). Les plantes *Arabidopsis* ($2n=10$) mutants *Spo11* présentent une diminution drastique de la recombinaison homologue méiotique. De ce fait, il n'y a pas formation de bivalent et les dix chromosomes, à l'état d'univalent, ségrégent aléatoirement. Ce phénotype est similaire à celui des plantes mutantes *Dmc1*. Ces résultats suggèrent fortement que le déclenchement de la recombinaison homologue méiotique repose sur la création de cassures double brin par la protéine spo11. Leur réparation par *Dmc1* conditionne la formation des bivalents. Les plantes mutantes *spo11* ne présentent pas de stade pachytène discernable. Ce qui indique que l'établissement du complexe synaptonémal dépend du déclenchement de la recombinaison homologue chez *Arabidopsis* comme chez la souris et chez la levure (Horlow et Dutriaux, 2003).

La variation dans l'appariement des chromosomes en méiose observée chez les différentes espèces et au sein d'une même espèce serait due à plusieurs facteurs qui dirigeraient la formation de ces appariements. Les conditions de l'environnement influent

considérablement sur la fréquence des chiasmata (Fedak, 1973 *in* Deniz et Tufan, 1998). De nombreux travaux décrivent l'influence de changements de température sur cette fréquence (Dowrik, 1957 *in* Deniz et Tufan, 1998). Le traitement par les radiations ionisantes (Lawrence, 1961 *in* Deniz et Tufan, 1998) et le traitement minéral (Law, 1963 ; Bennett, 1970 *in* Deniz et Tufan, 1998) induisent la variation dans la formation de bivalents. Chez l'orge la composante génétique des fréquences des chiasmata est mise en évidence par Mather (1938) *in* Deniz et Tufan, (1998). D'autres facteurs génétiques peuvent déterminer la formation de bivalents tels que le gène de diploïdisation (Ph1) localisé sur le chromosome 5B. Il est mis en évidence chez deux variétés de blé (Chinese spring et Holdfast) en 1958 par deux équipes de chercheurs, l'une anglaise (Riley et Chapman), l'autre américain (Sears et Okamoto) *in* Gorenflot et Raicu (1980).

2.3. Anomalies méiotiques

Des anomalies méiotiques sont recherchées dans les différents stades de la méiose chez les deux espèces. Les anomalies observées sont les suivantes :

- Divisions asynchrones au stade anaphase II chez *Hordeum marinum* et au stade métaphase II chez *Hordeum murinum* L.
- Ponts chromatiques au stade anaphase I
- Univalents au stade métaphase I
- Chromosomes retardataires au stade anaphase I chez *Hordeum marinum* L. et au stade anaphase II chez *Hordeum murinum* L.

On remarque que le stade métaphase est le stade qui présente le plus d'anomalies.

2.3.1 Divisions asynchrones

La figure 34 montre une cellule mère de grain de pollen en division méiotique présentant une division asynchrone chez *Hordeum marinum* L..

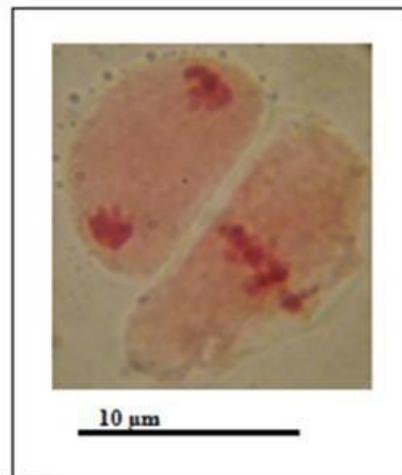


Fig. 34 : Photographie d'un méiocyte mâle de *Hordeum marinum* au stade anaphase II montrant une division asynchrone des deux cellules de la diade.

Au cours de la division équationnelle (méiose II), certaines cellules n'entrent pas en métaphase II simultanément. A l'anaphase II, on observe dans une aire cytoplasmique une séparation des chromatides sœurs alors que dans l'autre aire, les chromatides sœurs restent toujours liés.

Ce phénomène a été observé par Risso-Pascotto *et al.*, (2003) chez *Brachiaria ruziziensis*. Selon ces auteurs, une mutation qui affecte le checkpoint du fuseau achromatique empêche les chromosomes de l'une des cellules sœurs de rejoindre la plaque métaphasique. Ainsi, les chromosomes de cette cellule restent dispersés dans le cytoplasme tandis que la deuxième cellule poursuit sa division.

2.3.2. Ponts chromatiques

La figure 35 montre des cellules avec des ponts chromatiques au stade anaphase I observées chez les deux espèces étudiées.

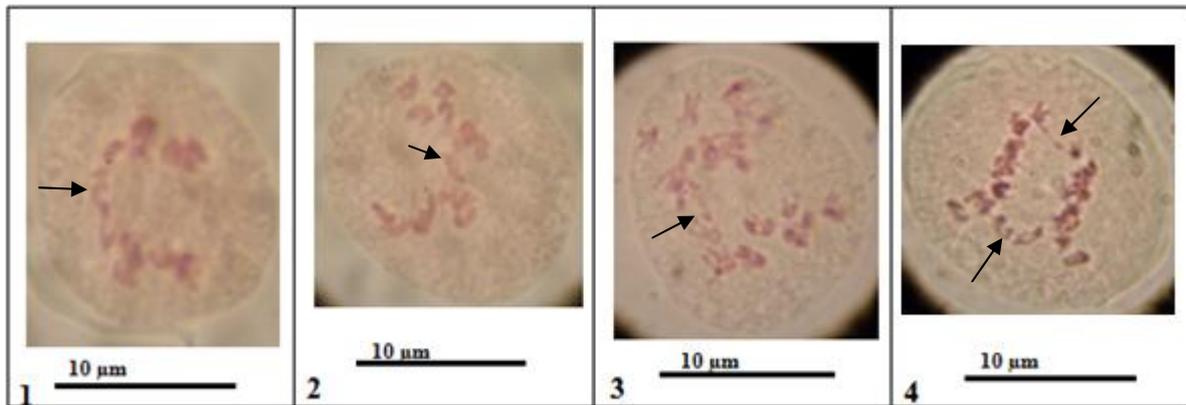


Fig. 35 : Photographies des méiocytes mâles de *Hordeum marinum* L. (1 ; 2) et des méiocytes mâles de *Hordeum murinum* L. (3 ; 4) au stade anaphase I montrant des ponts chromatiques.

Certaines cellules en anaphase présentent des ponts chromatiques reliant les chromosomes après leur séparation. Ces ponts seraient le résultat de la fragmentation chromosomique à la prophase I avec l'absence de réparation des cassures double brin induites par la protéine Spo11 suite à une mutation (Horlow et Dautriaux, 2003).

2.3.3. Univalents

La figure 36 montre des cellules en métaphase I qui présente des univalents.

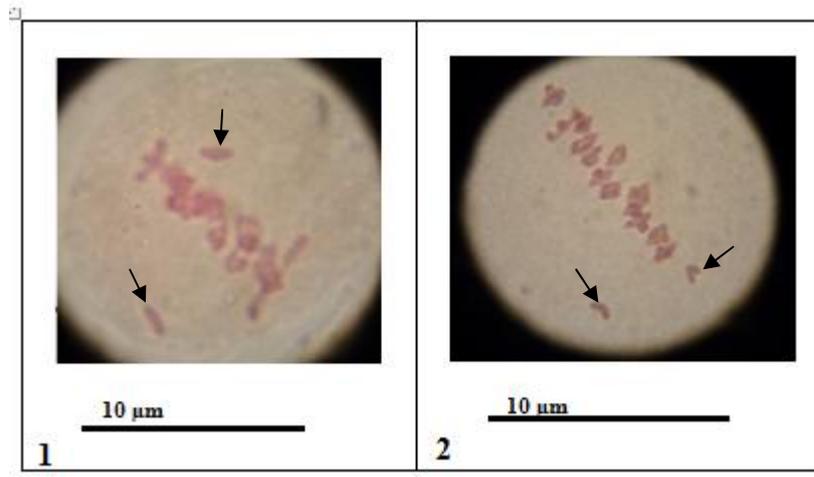


Fig. 36 : Photographies d'un méiocyte mâle de *Hordeum marinum* L. (1) et d'un méiocyte mâle de *Hordeum murinum* L. (2) au stade métaphase I montrant des univalents.

Deux chromosomes non appariés forment deux univalents. Pour que deux chromosomes homologues s'apparient, un complexe synaptonémal doit se former sur toute leurs longueurs au stade pachytène. La protéine spo11 induit la formation de cassures double-brin nécessaire à la mise en route de recombinaison homologue méiotique. La protéine DMC1 est impliquée dans l'orientation de la recombinaison réparatrice (Horlow et dautriaux, 2003). Chez la levure, la recombinaison méiotique est complètement bloquée chez les mutants *dmc1* (Neale et Keeney, 2006 in Saintenac, 2009). Une mutation du gène *dmc1* entraîne la formation d'univalents à la méiose chez *Arabidopsis* (Anderson et Stack, 2002 in Saintenac, 2009).

2.3.4. Chromosomes retardataires

La figure 37 montre des cellules mères de pollen au stade anaphase I chez *Hordeum marinum* L. et au stade anaphase II chez *Hordeum murinum* L. présentant des chromosomes retardataires.

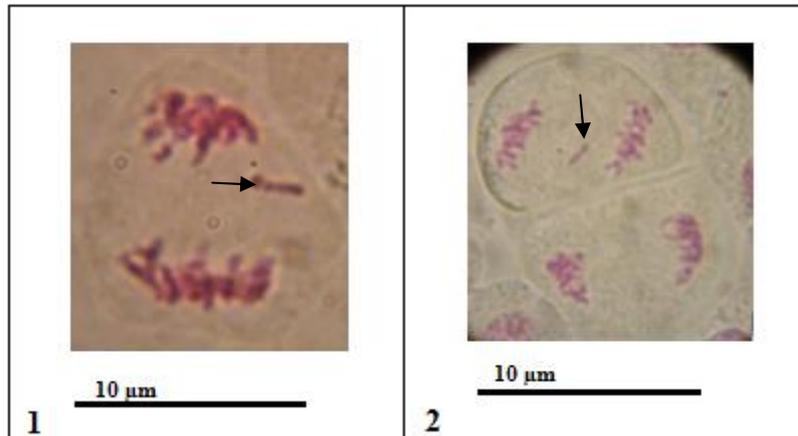
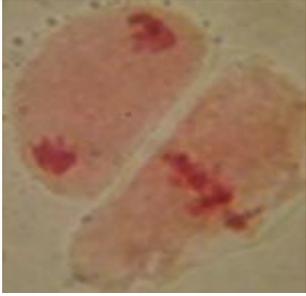
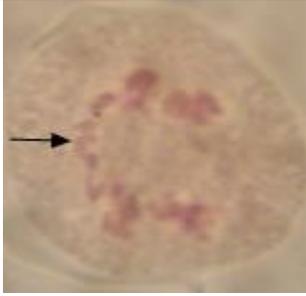
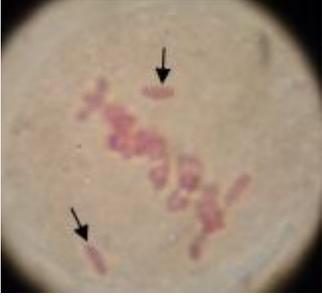
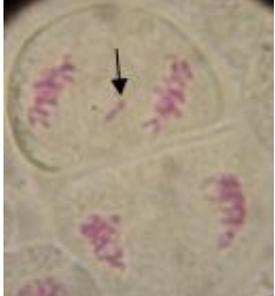


Fig. 37 : Photographies d'un méiocyte mâle chez *Hordeum marinum* L. au stade anaphase I (1) et d'un méiocyte mâle chez *Hordeum murinum* L. au stade anaphase II (2) montrant des chromosomes retardataires.

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 un composant du système d'ubiquitylation qui est homologue de *Skp1* chez la levure. *Ask1* est responsable de la dégradation des structures qui connectent les chromosomes homologues comme le complexe synaptonemal qui pourraient entraîner une mauvaise ségrégation des chromosomes empêchant ainsi le déroulement normal de l'anaphase (Horlow et Dautriaux, 2003).

Tableau 3 : synthèse des différentes anomalies rencontrées chez les deux espèces étudiées.

Anomalie Espèce	Divisions asynchrones	Ponts chromatiques	Univalents	Chromosomes retardataires
<i>H. Marinum</i>				
<i>H. Murinum</i>				

Conclusion générale

Ce travail a mis en application la technique de Feulgen et Rossenbeck sur des espèces sauvages de graminées. Cette technique utilise le réactif de Schiff pour colorer les chromosomes en rouge violacé.

Nous avons pu établir peu à peu un protocole adapté à nos deux espèces algériennes d'orge sauvage. Nous avons considéré deux échantillons de *Hordeum marinum* L. récoltés dans la région d'El-kseur et d'Adekar ainsi que trois populations de *Hordeum murinum* L. échantillonnées dans la région de Gouraya, Sidi-Ahmed et de Targa-Ouzemour.

Le dénombrement chromosomique effectué sur des cellules mères de pollen en division méiotique, observées au stade diacinèse et métaphase I a permis de confirmer que les populations de *Hordeum marinum* L. sont diploïdes à $2n=2x=14$ et les populations de *Hordeum murinum* L. sont tétraploïdes à $2n=4x=28$.

Les deux espèces étudiées montrent un déroulement régulier de la méiose dans la majorité des cellules analysées. Cette régularité montre que l'appariement entre les chromosomes homologues est bien contrôlé pour éviter les problèmes de fertilité et d'aneuploïdie.

L'appariement le plus fréquent est l'appariement en anneau avec quatre chiasmata. Cependant, d'autres types d'appariements sont observés à savoir : des bivalents droits à un, ou à deux chiasmata et/ou des bivalents en anneau à un, deux, trois ou à quatre chiasmata.

Certaines cellules observées chez les deux espèces montrent des irrégularités méiotiques à une fréquence très faible. Ainsi, des divisions asynchrones, des ponts chromatiques, des univalents ainsi que des chromosomes retardataires sont notés.

Malgré la faible fréquence de ces anomalies, elles entraîneraient au bout d'un certain nombre de générations la création d'une variabilité nécessaire à la pérennité des populations naturelles. Ces anomalies méiotiques sont importantes en biologie. Elles révèlent plusieurs caractéristiques importantes de la méiose et de l'architecture des chromosomes et elles renseignent sur le processus de l'évolution.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both with rounded ends and a slight shadow effect.

Références bibliographiques

- Amer W. M., Hegazy A. K. and Azer S. A., 2013.** Taxonomic revision of genus *Hordeum* L. (Gramineae) in Egypt. *International Journal of Biodiversity and Conservation* Vol. 5(4), pp. 198-208. Doi: 10.5897/IJBC11.248.
- Bothmer R. Von and Jacobsen N., 1985.** Origin, taxonomy and related species in barley. Agronomy monograph 26. Ed. Madlison, USA. 37p.
- Bothmer R. Von; Claesson L.; Flink J.; et Linde-Laursen I., 1989.** Triple hybridization with cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet.* Denmark. 78 : 818-824.
- Bothmer R. Von, Jacobsen N., Baden C., Jorgensen B. R. and Linde-Laursen I., 1995.** An Ecogeographical Study of the Genus *Hordeum*. (2nd edition). *International Plant Genetic Resources Institute*, Rome. 129p.
- Bouchard E., 2006.** Caractérisation morphologique et cytogénétique de deux lignées d'*Arabidopsis thaliana* déficientes pour PMSI, une protéine du système de création des mésappariements. *Mémoire de M. Sc , U. L. Q*, France, 72p.
- Brassac J.; Jakob S. S. et Blattner F. R., 2012.** Relations progénitrices dérivées de *Hordeum* Polyploïdes (Poaceae, Triticeae) inférées à partir de séquences de TOPO6, Un faible nombre de copies Gene Région nucléaire. DOI: 10.1371. *journal.pone*. 0033808.
- Brassac J. and Blattner F. R., 2015.** Species Level Phylogeny and Polyploid Relationships in *Hordeum* (Poaceae) Inferred by Next-Generation Sequencing and *In-Silico* Cloning of Multiple Nuclear Loci. *Syst Biol.* Doi: 10.1093/sysbio/syv035. First published online : June 5, 2015.
- Cocks G., Boyce K.G. and Klost P.M., 1976.** The *Hordeum murinum* complex in Australia. *Austral. J. Bot.*, 24 : 651-662.
- Cordier-Courel K., 2010.** Techniques de cytogénétique moléculaire : de la FISH aux puces à ADN. Ed. Laboratoire CERBA. France. 44p.
- Cuadrado A.; Carmona A.; Jouve N., 2013.** Chromosomique Caractérisation des Trois Subgenomes dans les polyploïdes de *orge des rats* L.: un nouvel éclairage sur l'évolution de ce complexe. *PLOS One*, 8 (12) : e81385.
- Dawe R. k., 1998.** Meiotic chromosome organization and segregation in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49 : 371-395.
- Deniz R. and Tufan A., 1998.** The effects of phosphate treatments on chromosome pairing in diploid and autotetraploid Meadow Fescue (*Festuca pratensis* Huds.). *J. of agriculture and Forestry*, 22 : 349-356.
- Dumont 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 thaliana*. *Thèse de Doctorat*. Univ . Scien .Vég .Orsay, Paris, 123p

- Giles B. E. and Lefcovitch L. P., 1986.** A taxonomic investigation of the *Hordeum murinum* complex (Poaceae). *Pl. Syst. Evol.* **153** : 181-197.
- Griffiths ; Wessler ; Lewontin et Carroll, 2010.** Introduction à l'analyse génétique, 5^{ème} édition. *De boeck*. 831p : 557-566.
- Gorenflot R. et Raicu P., 1980.** Cytogénétique et évolution. *Ed. Masson*, Paris, 181p.
- Griffiths A.J. F., Gelbart W. M., Miller J. H., et Lewontin R. C., 2001.** Analyse génétique moderne. *1ère édition. De Boeck université S. A.*, Paris, 676p.
- Hamon S.; Glaszmann J.Ch.; Delseny M.; Grignon C.; Dosba F.; Tardieu F.; Notteghem J.L.; Meunier J. et Charrier A., 2001.** Ressources génétiques Génomiques Biotechnologies végétales. *Ed. Avenue Agropolis*. France. 40p.
- 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.
- Jorgensen R. B., 1986.** Relationships in the barley genus (*Hordeum*) : An electrophoretic examination of proteins. *Hereditas*, **104** : 133-153.
- Jorgensen R. B. and Andersen B., 1989.** Karyotype analysis of regenerated plants from callus cultures of interspecific hybrids of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet*, Denmark, **77** : 343-351.
- 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.
- Lazrek-Ben Friha F., 2008.** Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. *Thèse Doct.* Université de Toulouse, France, 254p.
- Mestiri I. 2010.** Changements génétiques et épigénétiques en relation avec le comportement méiotique chez les allopolyploïdes de blé (genres *Aegilops* et *Triticum*). *Thèse de Doctorat* .Univ. E .V. E., France, 125p.
- Midoune S. et Ouabdelkader N., 2002.** Variabilité morphologique et caryologique du complexe *Hordeum murinum* L. dans la région de Béjaïa. *Mémoire de D.E. S.* Faculté Biol., U. A. M., Béjaïa, 58p.
- Naama S., 2015.** Techniques de cytogénétique conventionnelle et moderne. *Thèse Doct.* Université Mohammed V- Rabat. Maroc. 153p.
- Ourari M., 1987.** Contribution à l'étude cytotaxonomique de deux espèces du genre *Hordeum*. *Mémoire de D. E. S.*, Inst. Biol., USTHB. Alger, 31p.

- Ourari M., 1997.** Variabilité, structure génétique et polyploïdie du complexe *Hordeum murinum* L. (Poaceae) en Algérie. *Thèse de magistère*. Inst. Biol. USTHB., Alger, 120p.
- Ourari M., Ainouche A., Coriton O., Huteau V., Brown S., Misset M. T., Ainouche M. and Amirouche R., 2011.** Diversity and evolution of the *Hordeum murinum* polyploid complex in Algeria. *Genome* **54** : 639-654. Published by NRC Research Press. doi:10.1139/G11-032.
- Otto S.P. and Whitton J., 2000.** Polyploid incidence and evolution. *Annu. Rev. Genet.* **34** : 401-437.
- Palacios P. M., 2014.** Réponse des agents non codants du génome - éléments transposables et petits ARN à un événement d'allopoloïdie : le génome du colza (*Brassica napus*) comme modèle d'étude. *Thèse Doctorat*. Ecol. U.M. R., Paris, 216p.
- Risso-Pascotto C., Pagliarini M.S. and Borges do Valle C., 2009.** Microsporogenesis in *Brachiaria bovonie* (CHIOV.) and *B. Subulifolia* (MEZ) Clayton (Poaceae). *Sci. Agric.* (Piracicaba, Braz.), **V.66**, n.5, p. 691-696.
- Saintenac C., 2009.** Analyse de la distribution des crossing-over sur les chromosomes 3B du blé tendre (*Triticum aestivum*) et des facteurs influençant cette distribution. *Thèse de Doctorat*. Inst. Agro. UMR., France, 383p.
- Samri I., 2012.** Apport de la cytogénétique moléculaire dans les syndromes microdélétionnels. *Thèse de doctorat*. Univ. Sidi Mouhammed Ben Abdlah., Maroc, 229p.
- Taketa S., Ando H., Takda K. and Bothmer R. Von., 2001.** Physical locations of 5S and 18S-25S rDNA in Asian and American diploid *Hordeum* species with the I genome. *The Genetics society of Great Britain, Heredity*, Japan, **86**: 522-530.
- Tanno K.; Bothmer, R. Von; Yamane K., Takeda K. et Komatsuda T., 2010.** Analysis of DNA sequence polymorphism at the cMWG699 locus reveals phylogenetic relationships and allopolyploidy within *Hordeum murinum* subspecies. Lund. Sweden. *Hereditas*. **147**: 34-42.
- Yang, C., Simon, M.A., Mc-Neill, H., 1999.** mirror controls planar polarity and equator formation through repression of fringe expression and through control of cell affinities. *Development* **126** (24) : 5857-5866.

Résumé

Une étude cytogénétique est menée sur deux complexes d'espèces d'orge spontanées d'Algérie, *Hordeum murinum* L. et *Hordeum marinum* L. échantillonnées dans la région de Béjaïa (Algérie). La technique de coloration des chromosomes utilisée est celle de Feulguen et Rossenbeck (1924) qui utilise le réactif de Schiff. Le dénombrement chromosomique est effectué au stade métaphase I sur des cellules mères de pollen en division méiotique. Les résultats montrent un seul niveau de ploïdie dans chaque espèce. *H. murinum* L. s'est révélé tétraploïde alors que *H. marinum* L. est diploïde. Des irrégularités telles que des divisions asynchrones, ponts chromatiques, univalents, chromosomes retardataires sont notés chez les deux espèces.

Mots clés : *Hordeum murinum* L., *Hordeum marinum* L., méiose, irrégularités méiotiques, polyploïdie.

Abstract

Cytogenetic study was conducted on two wild barley complex; *Hordeum murinum* L. and *Hordeum marinum* L. sampled in Béjaïa (Algeria). Feulguen and Rossenbeck (1924) technique was used for chromosome staining using Schiff's reagent. The chromosome count was performed at metaphase I of pollen mother cells (PMCs) at meiotic division. The results showed one ploidy level in both species. *H. murinum* L. proved tetraploid whereas *H. marinum* L. is diploid. Meiotic irregularities such as asynchronous divisions, chromatic bridges, univalents, chromosome lagging were noted in both species.

Keyword: *Hordeum murinum* L., *Hordeum marinum* L., meiosis, meiotic irregularities, polyploidy.