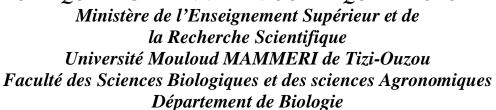
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ETPOPULAIRE





De Fin de Cycle

En vue de l'Obtention du Diplôme de MASTER en biologie Spécialité : *Génétique et Amélioration des Plantes*

Thème

Analyse cytogénétique de Hordeumbulbosum L. (Poacées) dans la station d'ADEKAR (Béjaïa)

Présenté par FEDOUL Djazia

Devant le jury:

M^{me}Ourari M. MCB.Univ. A. Mira (Béjaïa) Promoteur

M^{me}**Taleb**-Toudert K. MCB. Univ. M. Mammeri (Tizi-Ouzou) Co-promoteur

M^{me}**Sahmoune**F. MAA.Univ. M. Mammeri (Tizi-Ouzou) Président

M^{me}**Abdellaoui** K. MAA.Univ. M. Mammeri (Tizi-Ouzou) Examinateur

M.HargasH. MAA.Univ. M. Mammeri (Tizi-Ouzou) Examinateur

Promotion: 2016



Au terme de ce travail, qu'il me soit permis d'exprimer mes plus vifs remerciements à ma promotrice M^{me} **Ourari M.**, Maître de Conférences à l'université A. Mira (Béjaïa) pour avoir accepté de diriger ce travail et m'avoir proposée ce sujet et pour ses conseils et sa précieuse aide tout au long de cette étude.

J'adresse mes vifs remerciements et mon profond respect à M^{me} **Taleb K**., Maître de Conférences à L'UMMTO qui a co-dirigé ce travail et de m'avoir orientée et encouragée et pour son aide psychologique.

Je tiens à remercier également M^{me} **Djafri L.** enseignante à L'UAMB pour avoir consacré beaucoup de son temps et pour sa patience et sa présence durant la période de réalisation de ce travail.

Un très grand merci pour M^{me} **Benmouhoub H.,** MAA à l'UAMB pour son accueil chaleureux et son soutien et son amitié précieuse. Merci beaucoup.

Un très grand merci à M. **Abbassi H.**, MAA à l'UAMB, pour m'avoir initiée à l'utilisation des logiciels qui ont servi dans le traitement des données.

J'adresse mes vifs remerciements aux membres du jury qui ont bien voulu accepter de nous honorer par leur présence et d'examiner ce travail :

M^{me} Sahmoune F., M^{me} Abdellaoui K., M. Hargas H. (Maître assistants à l'UMMTO)

Je remercie également tout le personnel du laboratoire de recherche de l'UAMB pour leur aide, ainsi à tous les enseignants de l'UMMTO de la promo **GAP** 2015/2016, et toutes les personnes qui ont bien voulu m'apporter leur appui dans la réalisation de ce mémoire.

Fedoul Djazia



Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
Figure 1	Matériel végétal de Hordeumbulbosum L. échantillonné dans lastation	3
	d'Adékar(Béjaïa) utilisé dans les déférentes expérimentations	
Figure 2 :	Localisation de la station d'étude 'Adekar' (Google maps, échelle 5km)	4
Figure 3	Plaques métaphasiques de méristèmes racinaires de <i>Hordeumbulbosum</i> L.	10
	échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) montrant un nombre	
	chromosomique de $2n = 2x = 14$. La barre d'échelle correspond à $5\mu m$	
Figure 4	Caryotype de la population de <i>Hordeumbulbosum</i> L. échantillonnée dans la	11
	station d'Adékar (Béjaïa). La barre d'échelle correspond à 5µm	
Figure 5	Caryogramme de H. bulbosumL. population échantillonnée dans la station	13
	d'Adékar (Béjaïa). La barre d'échelle correspond à 5μm.	
Figure 6	Photographies des différentes étapes de la division réductionnelle des	15
	cellules mères polliniques de <i>H. bulbosum</i> L. échantillonné dans la station	
	d'Adékar (Béjaïa).	
Figure 7	Photographies des différentes étapes de la division équationnelle des	16
	cellules mères polliniques de H. bulbosumL. échantillonné dans la station	
	d'Adékar (Béjaïa).	
Figure 8	Photographies de cellules mères polliniques en Métaphase I montrant les	19
	différents types d'appariements observés chez la population d'	
	H.bulbosumL., échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa).	
Figure 9	Cellules mères polliniques de <i>H. bulbosum</i> L. échantillonné dans la station	21
	d'Adékar (Béjaïa) montrant des chromosomes retardataires	
Figure10	Cellules mères polliniques de <i>H. bulbosum</i> L échantillonné dans la station	22
	d'Adékar (Béjaïa) montrant des micronoyaux	

Figure18	d'Adékar (Béjaïa) présentant une cytomexie. Aspect des grains de pollen de <i>H. bulbosum</i> L. échantillonné dans la station	28
Figure17	Cellules mères polliniques de <i>H. bulbosum</i> L. échantillonné dans la station	27
Figure16	Cellules mères pollinique en télophase II de <i>H.bulbosum</i> L échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) présentant sous forme de triade(a) et une cellule tripolaire(b), La barre d'échelle correspond à 10µm	27
Figure15	Cellules de cellules mères de pollen en métaphase II de <i>H. bulbosum</i> L échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) présentant des chromosomes orientés vers trois pôles. La barre d'échelle correspond à 10μm.	26
Figure14	Cellules de cellules mères de pollen en métaphase I provenant de la fusion de deux méiocytes chez <i>H. bulbosum</i> L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa). La barre d'échelle correspond à 10µm	25
Figure13	Cellules mères polliniques de <i>Hordeumbulbosum</i> L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) en métaphase I présentant des bivalents désorientés. La barre d'échelle correspond à 10µm.	25
Figure12	Cellules mères polliniques à différents stades de division de <i>H. bulbosum</i> L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) présentant des ponts chromatiques. La barre d'échelle correspond à 10µm.	24
Figure11	Cellules mères polliniques en métaphase II de <i>H. bulbosum</i> L échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) présentant des divisions asynchrones. La barre d'échelle correspond à 10µm	23

Liste des tableaux

N° des Tableaux	Titre	Page
Tab. I	Données numériques caractérisant le caryotype de la population de Hordeum bulbosum L. échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa).	12
Tab. II	Données numériques de la moyenne des longueurs chromosomique en µm des quatre caryotypes de <i>H. bulbosum</i> L., de la population d'Adékar(Béjaïa).	13
Tab. III	Nombre moyen des <i>chiasmata</i> dans les cellules mères de pollen calculé pour la population de <i>H. bulbosum</i> L. échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa).	17
Tab. VI	Formules d'appariements et leurs fréquences dans la population de <i>H. bulbosum</i> échantillonnée à Adékar (Béjaïa).	18
Tab. V	Taux d'anomalies des cellules méiotiques de <i>H. bulbosum</i> L. échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa).	20
Tab. IV	Tableau de données numérique présente les taux de fertilités pollinique chez <i>Hordeum bulbosum</i> L, population échantiollonée dans la station Adékar(Béjaïa).	29

Sommaire

Introd	luction	1
MATE	ERIEL ET METHODES	
1.	Matériel	3
2.	Station d'étude	3
3.	Etude de la mitose	4
	3.1.Obtention des méristèmes racinaires	4
	3.2.Préfixation	4
	3.3.Fixation	5
	3.4. Hydrolyse	5
	3.5.Coloration	5
	3.6. Montage et observation	5
	3.7.Etablissement des caryotypes et caryogramme	6
4.	Etude de la méiose	6
	4.1.Hydrolyse	6
	4.2.Coloration	7
	4.3.Montage et observation	7
5.	Fertilité pollinique	7
	5.1.Prélèvement des grains de pollen	7
	5.2.Coloration et dénombrement	7
	5.3.Estimation de taux de fertilité pollinique	7
RESU	LTATS ET DISCUSSION	
1.	Divisions racinaires (Mitose)	10
	1.1.Enumération chromosomique	10
	1.2.Etablissement d'un caryotype	11
	1.3 Etablissement d'un carvogramme	12

2. Analyse des méioses polliniques	14
2.1.Phases de la méiose pollinique	14
2.1.1. Division réductionnelle	14
2.1.2. Division équationnelle	15
2.2. Types d'appariement	16
2.3.Anomalies méiotiques	19
2.3.1. Chromosomes retardataires	20
2.3.2. Micronoyaux	21
2.3.3. Divisions asynchrones	22
2.3.4. Ponts chromatiques	23
2.3.5. Bivalents désorientés	24
2.3.6. Fusion de deux méiocytes	25
2.3.7. Axe tripolaire	26
2.3.8. Triades et cellules tripolaire	26
2.3.9. Cytoméxie	27
3. Analyse de la fertilité pollinique	28
Conclusion	32
Références bibliographiques	35

Annexe

Introduction

La Cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du XIX siècle mais c'est surtout à partir de 1920 que la cytogénétique s'est développée et son importance n'a cessé de croître (Jahier*et al.*, 1992).

Le genre HordeumL. est classé dans la tribu des Triticeae et dans la famille des Poaceae. Cette famille inclue plusieurs espèces ayant un intérêt économique important comme le blé, le maïs, le seigle et l'orge. Le genre Hordeum L. regroupe 32 espèces (45 taxons au total, y compris les sous-espèces). Trois cytotypessont identifiés : un cytotypediploïde (2n = 2x = 14), un tétraploïde (2n = 4x = 28) et un hexaploïde (2n = 6x = 42) avec un nombre chromosomique de basex = 7 (Bothmer*et al.*, 1995).

Hordeumbulbosum L. appelée communément orge noueuse, appartient à la famille des Poacées. Originaire de la région méditerranéenne, elle s'étend jusqu'en Iran et en Afganistan (Bothmer, 1996). C'est une plante pérenne dont la multiplication végétative est facile grâce à un bulbe qui se forme à la base du chaume(Devaux P., 1983). La hauteur du chaume peut dépasser 1m. Elle pousse en haute altitude (au-dessus 700m) généralement dans les champs herbeux et sur les bords de la route. H.bulbosum L. estune espècestrictement allogame possédant un système d'incompatibilité sporophytique (Lundqvist, 1962;Bothmer, 1979in Symeonidiset al.,1985).La vernalisation est nécessaire pour induire la floraison (Devaux P., 1983). Il est considéré comme le plus proche parent de l'orge cultivée et comme source de gènes dans les programmes de sélection de H. vulgare. Il est largement utilisé dans l'haplo-diploïdisation, comme parent mâle dans les croisements (Snape et al.,1979; Devaux,1983;Subrahmanyam,1987; Bothmer,1991; Pickering, 1983; 2000; Jehan et al., 2008; Sato et al., 2014).

Cette espèce présente deux cytotypes diploïde (2n=2x=14) et tétraploïde2n=2x=28.La forme diploïde occupe les parties occidentales et centrales de la région méditerranéenne européenne et africaine. Le centre géographique principal des tétraploïdesest le Moyen-Orient jusqu'en Asie central (Drazena*et al.*, 1983).

Très peu d'études sont réalisées en cytogénétique sur l'espèce *Hordeumbulbosum* L. Nous citons les travaux de Papes *et al.* (1983) et de Khodayari*et al.* (2011) dans les régions iraniennes. Ils ont analysé la symétrie caryotypique des populations d'orge en relation avec la répartition géographique.

L'objectif visé par le présent travail est d'analyser les divisions mitotiques et méiotiques d'une population de *Hordeumbulbosum*L. récoltée dans la station d'Adékar (Béjaïa) en utilisant la technique de Feulgen.

La première partie de ce travail est consacrée à la présentation du matériel végétal et aux méthodes utilisées dans l'expérimentation, la deuxième partie est consacrée à l'exposition des résultats obtenus et leurs discussions et enfin la troisième partie est une conclusion générale.

Materiel et methodes

1. Matériel

L'étude a porté sur de jeunes épis récoltés avant l'anthèse au mois de mai et sur des épis mûrs récoltés au mois de juin. Des graines mûres sont également récoltées au mois de juillet.

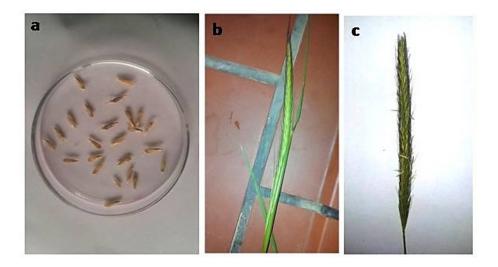


Fig. 1 : Matériel végétal de *Hordeumbulbosum* L. échantillonné dans la station d'Adékar(Béjaïa) utilisé dans l'étude cytogénétique.

a : Caryopses mûrs pour l'étude des mitoses ; b : jeune épis pour l'étude des méioses pollinique ;

c: épis mûre pour l'étude de la fertilité pollinique.

2. Station d'étude

L'échantillon de *Hordeumbulbosum* L. est récolté dans la station d'Adékar (Béjaïa). Cette station, à 960m d'altitude, se situe à 45km à l'ouest de Béjaïa (36° 41'47,41''Nord 4°40'11,65'4 Est ; Fig. 1). Elle est caractérisée par un bioclimat humide.



Fig.1: Localisation de la station d'étude 'Adekar' (Google maps, échelle 5km).

3. Etude de la mitose

Pour l'étude de la mitose, des méristèmes racinaires sont traités au réactif de Schiffpour colorer les chromosomes en rouge violacé. Le protocole expérimental adopté est le suivant :

3.1. Obtention de méristèmes racinaires

Des caryopses mûrs de *Hordeumbulbosum*L. sont mis à germer au mois de septembre dans des boites de Pétri tapissées de coton imbibé d'eau pendant 48 heures à l'obscurité. Des jeunes racines d'un centimètre de longueur sont prélevées pour l'étude des divisions mitotiques.

3.2. Préfixation

Les racines, encore en division, sont plongées dans une solution saturée à $1'\alpha$ bromonèphtalène(annexe) pendant 24 heures à 4° C.Le rôle principal de cet agent est de

rompre le fuseau achromatique et bloquer les divisions en métaphase. Il permet également de contracter les chromosomes (Jahier, 1992).

3.3. Fixation

Après le prétraitement, les racines sont rincées plusieurs fois à l'eau, puis conservées dans des piluliers contenant de l'éthanol 70°. Ce matériel peut être conservé pendant plusieurs mois dans l'éthanol 70° à 4°C.

3.4. Hydrolyse

L'hydrolyse se fait dans l'acide chlorhydrique (HCl, 1N) dans un bain-marie préchauffé à 60°C pendant 10 minutes. L'hydrolyse permet de rompre les liaisons N-glucidiques entre les bases puriques et les désoxyriboses et libère les groupements aldéhydes sur lesquels se fixe le colorant. Elle permet également le ramollissement des tissus pour pouvoir facilement séparer les cellules et les chromosomes (Jahier, 1992).

3.5. Coloration

La méthode de coloration utilisée dans cette étude de la mitose est la technique de Feulgen. Elle a été mise au point par Feulgen et Rosenbeck en 1924 (Darlington et Lacour, 1970 *in* Ourari., 1987). Les racines hydrolysées sont colorées dans le réactif de Schiff (annexe) pendant deux heures à l'obscurité. Le colorant se fixe sur les groupements aldéhydes précédemment libérés par l'hydrolyse et forme un complexe spécifique qui colore l'ADN en rougeviolacé.

3.6. Montage et observation

Sous une loupe binoculaire, la zone méristématique (l'apex racinaire) et écrasée entre lame et lamelle dans une goutte d'eau acétique à 45%. L'observation se fait au microscope optique à différents grossissements (100 puis 400). Les meilleures plaquessont photographiées au grossissement 1000 en utilisant l'huile à émersion. Les lames qui présentent les meilleures plaques sont scellées à l'aide d'un vernis à onglespour empêcherla dessiccation en vue de les conserver pendant quelques mois.

3.7. Établissement d'un caryotype et un caryogramme

Différents paramètres caractérisent un caryotype, tel que le nombre chromosomique de base, les longueurs des bras longs et des bras cours de chaque chromosome de base, la longueur totale des chromosomes, la présence des constrictions secondaires, et l'indice d'asymétrie selon Arano et Saito (1980)IAs% = 100 x (somme des longueurs des bras longs)/ (somme des longueurs totales).

Nous avons utilisé l'indice centromérique de Dosba et Cauderon (1973) pour établir la formule caryotypique de chaque chromosome, qui est le rapport de bras long et la longueur totale du chromosome : Ic= BL/ (BL+BC) (*in*Ourari, 1987) :

- métacentrique : Ic=0.5 à 0.63

- submétacentrique : Ic=0.63 à 0.75

- subtélocentrique : Ic=0.75 à 0.87

- télocentrique : Ic=0.87 à 1

Les mesures des caryotypes et le caryogramme sont réalisés avec le logiciel karyoTypeAnalysis 2.0 build.

Le caryogramme de la population de *H. bulbosum* L. de la station Adékar (béjaïa) est construit d'après des mesures des longueurs moyennes des chromosomes effectuées sur quatre plaques métaphasiques appartenant à plusieurs individus différents de la même population.

4. Etude de la méiose

L'analyse des méioses est réalisée sur les cellules mères de pollen extraites des anthères dejeunes boutons floraux. Les jeunes épis sont fixés immédiatement après récolte dans du carnoy II (annexe) qui permet le blocage rapide des divisions cellulaires. Ce fixateur est proposé par Carnoyen 1886 (Jahier, 1992). Après 48 heures dans le fixateur, les épis sont transférés dans l'alcool 70° et conservés au réfrigérateur à 4°C.

4.1. Hydrolyse

L'hydrolyse se fait dans l'acide chlorhydrique (1N), dans un bain-marie préchauffé à 55°Cpendant 5 minutes.

4.2. Coloration

Une double coloration au réactif de Shiff et à l'orcéine acétique est adoptée pour l'étude de la méiose. Les étamines d'abord colorées au réactif de Schiff sont ensuite écrasées dans une goutte d'orcéine acétique (annexe) entre lame et lamelle.

4.3. Montage et observation

L'observation se fait au microscope optique immédiatement après écrasement des anthères. Les meilleures plaques sont photographiées et les lames sont ensuite scellées à l'aide d'un vernis àongles et conservées dans des boites à lames à l'abri de la lumière.

5. Fertilité pollinique

Des épis matures, récoltésau mois de juin, sont fixés *in situ* dans du carnoy II (annexe) et conservésà 4°C jusqu'à l'utilisation.

5.1. Prélèvement des grains de pollen

Sous loupe binoculaire à l'aide d'une pince et d'une aiguille fine, les étamines sont prélevées de la fleur centrale et disséquées pour libérer le pollen.

5.2. Coloration et dénombrement

Les grains de pollen sont colorés au bleu de coton au lactophénol (annexe) pendant 30 minutes. L'observation et le dénombrement des grains de pollen se font sous microscope optique. Les grains de pollen uniformément colorés ayant une structure bien arrondie sont considérés commeétant viables et fertileset les grains mal colorés et d'une forme indéfiniesont considérés comme non viables et stériles. Au total, 15 fleurs appartenant à cinq individus différents sont analysées. Entre 1000 et 1200 grains de pollen sont dénombrés pour chaque fleur.

5.3. Estimation de taux de fertilité pollinique

Un taux de fertilité pollinique pour chaque individu, et pour la population entière est estimé. Le taux de fertilité pollinique (**TF**) est le rapport du nombre de grains de pollen viables ou fertiles (**F**), au nombre total (**T**) de grains de pollen analysés (viables +non viables).

TF = F/T

Resultats et discussion

Une population de *Hordeumbulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa) a fait l'objet d'analyse des divisions racinaires (mitose), des divisions des cellules mères de pollen (méiose) et de la fertilité pollinique. Pour les divisions racinaires, un nombre chromosomique, un caryotype et un caryogramme sont établis. L'analyse de la méiose a permis de mettre en évidence, en général, un déroulement normal des divisions. Cependant, quelques anomalies sont détectées avec un taux relativement faible.

1. Divisions racinaires (mitose)

1.1. Enumération chromosomique

Le dénombrement chromosomique est réalisé sur des cellules du méristème racinaire en division au stade métaphase. La population analysée ne montre qu'un seul cytotype diploïde à 2n=2x=14 avec un nombre chromosomique de base x=7 (Fig. 3).

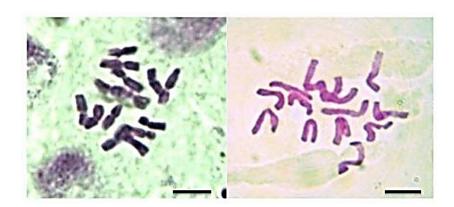


Fig. 3 : Plaques métaphasiques de méristèmes racinaires de *Hordeumbulbosum* L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) montrant un nombre chromosomique de 2n = 2x = 14.La barre d'échelle correspond à $5\mu m$.

Selon Thomas *et al.* (1988),les tétraploïdes se répartissent à l'est du la Grèce tandis les diploïdes se répartissent plutôt de l'ouest de la Grèce jusqu'au Maroc. Quelques triploïdes (2n=3x=21) sont localisés au sud de l'Espagne.Les diploïdes et tétraploïdes sont morphologiquement similaires ; ils ne diffèrent que par la taille et la répartition géographique (Papes *et al.*,1984).

1.2. Établissement d'un caryotype

La figure 4 montre un caryotype de la population de H. bulbosum L. analysée. La formule caryotypique selon la nomenclature de Levanet al. (1964) est : 2n = 2x = 10m + 4sm (2sat). Cette formule indique cinq paires de chromosomes métacentriques et deux paires submétacentriques dont une paire est pourvue d'une constriction secondaire (satellite).

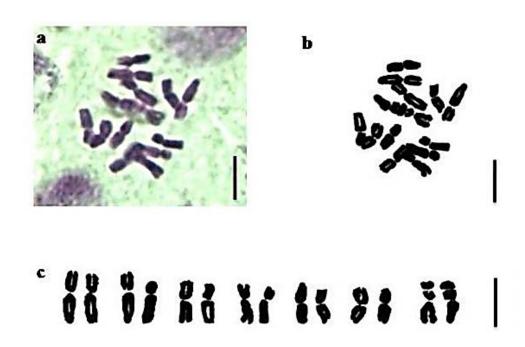


Fig. 4 : Caryotype de la population de *Hordeumbulbosum*L. échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa). La barre d'échelle correspond à **5μm**.

a: Microphotographie d'une plaque métaphasique ; b: Dessin de la plaque métaphasique ; c: Caryotype de la plaque

Le tableau I donne les valeurs numériques caractérisant ce caryotype.

Tab.I: Données numériques caractérisant le caryotype de la population de *Hordeumbulbosum*L. échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa).

BL: Longueur du bras long; **BC**: Longueur du bras court; **LT**: Longueur totale; **IC**: Indice centromérique= **BL/LTr**; **TC**: Type chromosomique; **m**: métacentrique; **sm**: submétacentrique; **sat**: satellites. Les longueurs sont données en μ m.

Paires de chromosomes	BL	BC	LT	IC	TC
1	2.96	1.95	4.92	0.60	m
2	2.89	1.54	4.44	0.65	sm
3	2.24	1.71	3.95	0.56	m
4	2.29	1.40	3.69	0.62	m
5	1.98	1.65	3.63	0.54	m
6	1.85	1.62	3.47	0.53	m
7	2.27	1.07	3.33	0.68	sm+sat
Σ	16.48		27.43		

Les longueurs totales des chromosomes chez cet individu sont comprises entre $3.3\mu m$ et $4.9\mu m$, et la valeur de l'indice d'asymétrie pour cette individu selon Arano et Saito (1980) est IAs= 60.08%.

1.3. Établissement d'un caryogramme

Le caryogramme donné dans la figure 4 est établi à partir d'une moyenne de quatre plaques métaphasiques. Le tableau II donne les paramètres ayant servi dans l'établissement du caryogramme.

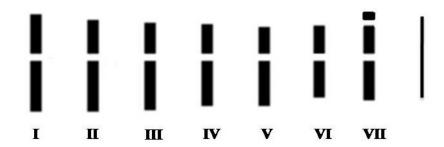


Fig. 5 : Caryogramme de *H.bulbosum*L.populationéchantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa). La barre d'échelle correspond à 5μm.

Nous avons calculé les longueurs moyennes des chromosomes homologues de quatre individus et classés selon un indice centromérique croissant et un ordre de taille décroissant.

Tab. II: Données numériques de la moyenne des longueurs chromosomique en μm des quatre caryotypes de *H.bulbosum* L., de la population d'Adékar(Béjaïa).

BL : bras long ;BC : bras cours ;LT : longueur totale ; **IC :** Indice centromériqueTC : type chromosomique. \mathbf{m} : métacentrique ; \mathbf{sm} : submétacentrique ; \mathbf{sat} : satellites. Les longueurs sont données en $\mu \mathbf{m}$.

paires	BL	BC	LT ±écart-type	IC	TC
1	3.12	2.40	5.52±1.18	0.56	m
2	3.10	2.06	5.17±1.19	0.60	m
3	3.05	1.87	4.92±1.3	0.61	m
4	2.73	1.83	4.57±1.17	0.59	m
5	2.75	1.61	4.36±1.15	0.63	sm
6	2.26	1.77	4.03±0.97	0.56	m
7	2.72	1.6	4.32±1.29	0.63	sm+ sat
Σ	19.73		32.89		

L'analyse des quatre plaques métaphasiques de la population d'Adékar (Tab. II) nous montre que la formule caryotypique de cette population est : 2n=2x=10m+4sm(2sat)cinq paires de chromosomes sont de type métacentrique (m), deux paires sont submétacentrique

(sm) avec une paire pourvue de stellites. Ces résultats confirment ceux obtenus par Symeonidis et ses collaborateurs en 1985 sur un diploïde de *H. bulbosum* L. récolté en Grèce. En revanche, la longueur totale moyenne calculée pour les chromosomes de la population analysée (LT) varie entre 4.03±0.97 μm et 5,52±1,18 μm alors que celle rapportée par Symeonidis*et al.* (1985) varie entre 5 et 7μm. L'indice d'asymétrie IAs moyenne obtenu pour la population d'Adékar (Béjaïa) est de 59,98%, ce qui signifie que le caryotype de la population est presque symétrique, ces résultats sont conformes aux résultats obtenupar Khodayari et Saeidi en 2011 sur *H. bulbosum*L. récolté en Iran, ils ont interprété que la symétrie des caryotypes caractérise les espèces les plus primitifs.

2. Analyse des méioses polliniques

Le comportement méiotique décrit le déroulement de la méiose qui est une succession complexe de la division réductionnelle et de la division équationnelle pour former des gamétophytes (Jahier*et al.*, 1992). A partir d'une cellule mère à 2n, la méiose aboutit à la formation de quatre cellules filles à 'n' chromosomes.

Des jeunes cellules mères de pollen de *Hordeumbulbosum* L. échantillonnées dans la station d'Adékar (Béjaïa) sont analysées en cytogénétique. Des formules méiotiques, des taux de chiasmata par cellule et par bivalent et des taux d'anomalies sont calculés.

2.1. Phases de la méiose pollinique

Les deux principales phases de division méiotique sont présentées comme suite :

2.1.1. Division réductionnelle

Dans cette première division, on obtient à partir d'une cellule mère 2n=14 deux cellules filles à n=7 chromosomes. La figure5montre les phases principales de la première division de la méiose pollinique observées sur la population *H.bulbosum*L. échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa).

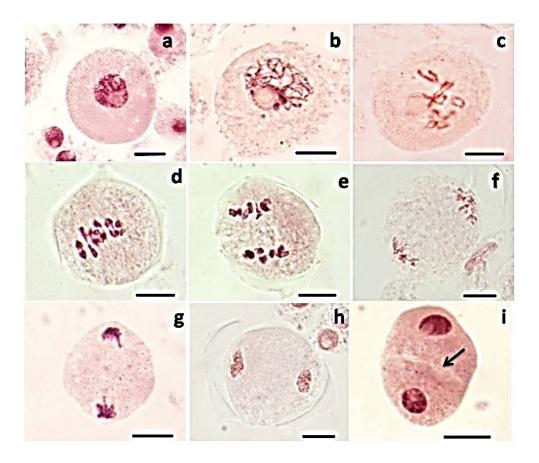


Fig. 6 : Photographies des différentes étapes de la division réductionnelle des cellules mères polliniques de *H. bulbosum*L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa).

a-c: Prophase I, a: Leptotène; b: Zygotène; c: Diacinèse; d: Métaphase I; e: Anaphase I; f: Fin d'anaphase I; g: Début de télophase I; h: Fin de télophase I; i: Cytocinèseavec formation de la membrane cytoplasmique (flèche). La barre d'échelle correspond à 10μm.

2.1.2.Division équationnelle

La division équationnelle correspond à la deuxième division qui sépare des deux chromatides de chacun des sept chromosomes. A partir des deux cellules filles à 'n' chromosomes on obtient quatre cellules haploïdes mono chromatidiennes n=7. La figure 6 illustre les phases de cette deuxième division.

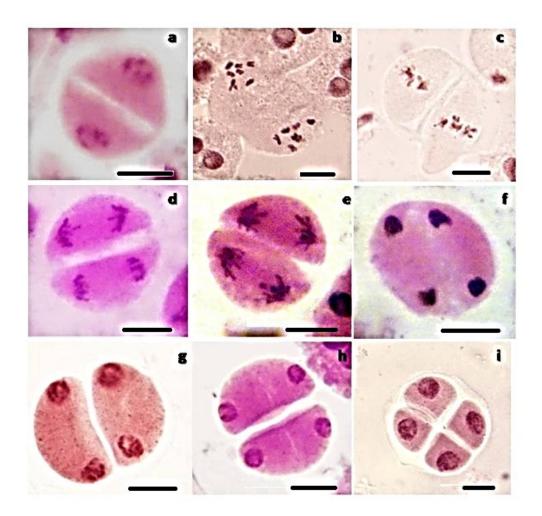


Fig. 7.Photographies des différentes étapes de la division équationnelle des cellules mères polliniques de *H. bulbosum*L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa).

a : Prophase II ; b : Diacinèse II ; c : Métaphase II ; d-e : Fin d'anaphase II ; f : Début de télophase II ;

g : Télophase II ; h : Cytocinèse II ; i : Tétrade. La barre d'échelle correspond à 10μm.

2.2. Types d'appariement

Le *chiasmas* est le phénomène d'enjambement (aussi appelé *crossing-over*) ou recombinaison intra-chromosomique, qui entraîne une importante diversité génétique(Gerton*et al.*,2005).Il se produit spontanément dans la prophase méiotique quand les chromosomes homologues s'apparient pendant la phase pachytène. Chaque *chiasmas* est considéré comme une conséquence d'un seul croisement. La structure du chromosome est liée

à la fréquence des*chiasmata*et donc les facteurs affectant l'ancien pourraient aussi avoir un effet sur la fréquence des*chiasmata*(Jahier*et al.*, 1992).

Dans le but d'étudier le type et de nombre d'appariements chromosomiques pendant le stade diacinèse de la prophase I, 489 cellules au stade métaphase I sont observées. Le tableau III montre le taux de *chiasmata* par bivalent, par tétravalent et par cellule.

Au total, nous avons dénombré 6622 *chiasmata*, ce qui donne la moyenne de 13,54 *chiasmata* par cellule, de 1,96 *chiasmas* par bivalent, et de 3,33 *chiasmata* par tétravalent. Certains chromosomes ne présentent aucun appariement formant ainsi des univalents.

L'analyse de Bothmer*et al* en (1986) sur 16 espèces de genre *Hordeum L*. à démontrés queleurs fréquences moyennes de*chiasmas* varis de 11,70 à 14,60 par cellule.Les échantillons proviennent des stations différentes dans le monde et ne sont pas bien adaptés à une serre chaude suédoise.

Jahan et ses collaborateurs en 1992 ont analysé 60 taxons de *Hordeum* L. Ils ont démontré que la fréquence des *chiasmata* par cellule en métaphase I varie de 14,96 à 20,08.dans les taxons diploïdes. Cette baisse de fréquence des *chiasmata* chez notre population de *H. bulbosum* L. de Adékar (Béjaïa), représentée par la formation des bivalents droits et des univalents pourrait être une conséquence des hautes températures(Bothmer, 1986).

Tab. III : Nombre moyen des *chiasmata*dans les cellules mères de pollen calculé pour la population de *H. bulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Adékar(Béjaïa).

Nombre total de cellules en MI est :	489
Nombre total de chiasmata est :	6622
Nombre moyen de chiasmata/ cellule est :	13,54
Nombre moyen de chiasmata/ bivalent est :	1,96
Nombre moyen de chiasmata/ Tétravalent est :	3,33

Trois formules méiotiquessont observées dans la population analysée (Tab. VI).

Tab. VI: Formules d'appariements et leurs fréquences dans la population de *H. bulbosum*L. échantillonnée à Adékar (Béjaïa).**I**: univalent; **IId**: bivalent droid; **IIa**: bivalent en anneau;

IVa : tétravalent en anneau ; IVd : tétravalent doit

Formule méiotique	Nombre de cellules	Fréquence de la formule (%)
0,52 IId + 6,48 IIa	436	89,34
2,1 I + 0,75 IId + 5,2 IIa	40	8,20
0,17 IId + 4,83 IIa + 0,83 IVa + 0,17 IVd	12	2,46
Nombre totale des cellules	488	100

L'analyse du tableau VI montre que la méiose dans la population de *H. bulbosum*L. analysée présente un déroulement régulier avec un pourcentage de 89,16% de bivalents.

Cependant, certaines cellules (40 sur un total de 488 cellules analysées) présentent des univalents sous la formule méiotique **2,1 I + 5,2 IIa + 0,75 IId**(Fig. 8.e) avec une fréquence de 8,17%. Un nombre de cellules relativement faible contient des tétravalents à la fois en anneau et droits sous la formule **4,83 IIa + 0,17 IId +0,83 IVa + 0,17 IVd** (Fig. 8.g-i)avec une fréquence de 2,45%. Nous avons également observé une cellule présentant un trivalent (Fig.8.f). La présence des tétravalentspourrait être due aux translocations entre chromosomes non homologues ou à des éléments transposables qui finissent par uniformiser les chromosomes. En effet, les génomes du genre *Hordeum* L. sont réputés pour être très riches en éléments transposables (Ourari, 2012).

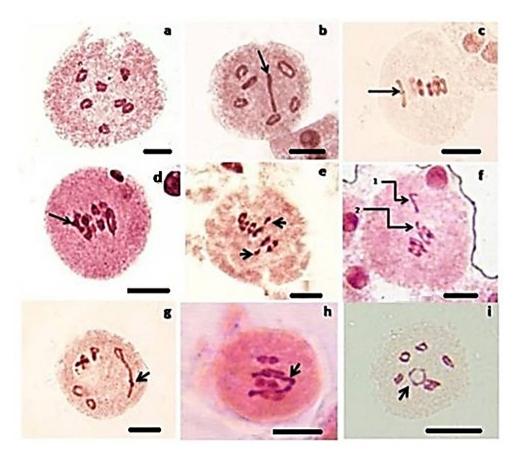


Fig. 8: Photographies de cellules mères polliniques en Métaphase I montrant les différents types d'appariements observés chez la population d'*H.bulbosum*L, échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa).

a : Cellule à 7 bivalents anneau ; b : Cellule a 6 bivalents anneaux et 1 droit ; c : Bivalent droit avec 2chiasmata; d : Bivalent anneau a 3chiasmata; e : Deux univalents ; f : un trivalent (1) et un univalent (2) ;g : Tétravalent droit avec4chiasmata; h : Tétravalent droit ; i : Tétravalent en anneau.
La barre d'échelle correspond à 10μm.

2.3. Anomalies méiotiques

L'analyse des cellules mères polliniques de *Hordeumbulbosum* L., à différents stades de la division a permis d'observer diverses anomalies méiotiques (Tab. V). Au total, 6934 cellules en division sont observées dont 397 cellules présentent des anomalies avec un taux de 5,71%. Selon Dawe (1998 *in*Aksic*et al.*,2016), ces irrégularités chromosomiques sont en partie due à des effets génétiques, et d'autres parts à des facteurs de l'environnement.

Tab. V : Taux d'anomalies des cellules méiotiques de *H. bulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa).

Type d'anomalie	Nombre	Fréquence %
Total des cellules analysées	6934	100
Total des cellules présentant des anomalies	397	5,71
Chromosomes retardataires	114	1,64
Micronoyaux	84	1,21
Divisions asynchrones	54	0,78
Des ponts chromatiques	24	0,35
Bivalents désorientés	20	0,29
Cellules tripolaires	18	0,26
Fusion de deux méiocytes	12	0,17
Triades	11	0,16
Axes tripolaires	7	0,10
Univalents	40	0,58
Tétravalents	12	0,17
Trivalents	1	0,01

Les chromosomes retardataires observés en anaphase I et II présentent le taux le plus élevé avec une fréquence de 1,64% dans la population, suivis par les cellules en télophase I ou II ainsi en prophase II présentent des micronoyaux avec un taux de 1,21%. Les divisions asynchrones en métaphase II présentent le taux le plus faible 0.78%.

2.3.2. Chromosomes retardataires

Les chromosomes retardataires (Fig. 9) peuvent êtres dus aux univalents formés pendant la métaphase I, et peuvent conduire à la formation de micronoyaux dans télophase I, s'ils ne sont pas réinsérés dans le noyau télophasique.

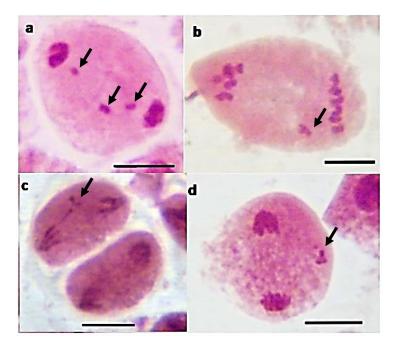


Fig. 9: Cellules mères polliniques de *H. bulbosum* L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) montrant des chromosomes retardataires.

 ${\bf a}$: Télophase I avec trois chromosomes retardataires ; ${\bf b}$: anaphase I avec un chromosome retardataire ; ${\bf c}$: Fin d'anaphase II avec chromosomes retardataires ; ${\bf d}$: Fin d'anaphase I. La barre d'échelle correspond à $10\mu m$.

2.3.3. Micronoyaux

Les micronoyaux (Fig. 10) sont formés principalement suite à la condensation des chromosomes retardataires qui n'ont pas pu rejoindre un des deux pôles. Les auteurs rapportentl'élimination de micronoyaux dans la phase tétrade, donnant des microspores avec la quantité de matériel génétique déséquilibré (Godoy *et al.*,2012). La cytocinèse est le fendage du cytoplasme qui suit un modèle déterminé selon la position et le nombre des noyaux(Kiihl*et al.*,2011). Cependant, en présence de micronoyaux, une secondecytocinèse se produit immédiatement divisant les méiocytes en trois ou quatre cellules en fonction dunombre de micronoyaux formé en télophase I (Felismino*et al.*,2008).

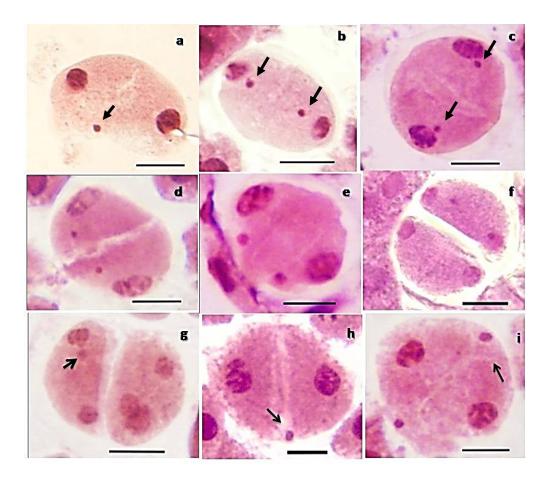


Fig. 10: Cellules mères polliniques de *H. bulbosum* L échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) montrant des micronoyaux.

a-c: Télophase I avec des micronoyaux ; d et e: Prophase II avec des micronoyaux ; f et g: Télophase II avec des micronoyaux ; h et i: Elimination des micronoyaux par cytocinèse. La barre d'échelle correspond à $10\mu m$.

2.3.6. Divisions asynchrones

Ces anomalies sont observées lors de l'anaphase II (Fig. 11). On a aperçu un blocage au niveau d'une cellule au stade métaphase tandis que l'autre cellule poursuit la division. Cela

induit la formation d'une triade avec une quantité du matériel génétique déséquilibrée.

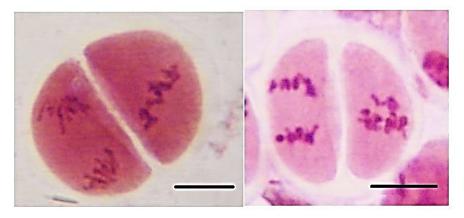


Fig. 11: Cellules mères polliniques en métaphase II de *H. bulbosum*L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) présentant des divisions asynchrones. La barre d'échelle correspond à **10μm**

2.3.4. Ponts chromatiques

La séparation non correcte des chromosomes liéspar les *chiasmata* en métaphase I cause la formation des ponts chromatiques en anaphase I. (Kiihl*etal.*, 2011). Le taux des cellules qui présentent des ponts chromatiques dans cette présente étude est 0,35%. La présence de ponts reflète des changements structurels tels que l'inversion hétérozygote, les délétions et les duplications. Les cellules mères polliniques en Anaphase II qui présentent de ponts pourraient être une preuve des inversions hétérozygotes avec 3 *chiasmas* dans la boucle d'inversion (Ruvalcaba-Ruiz *etal.*, 2002).

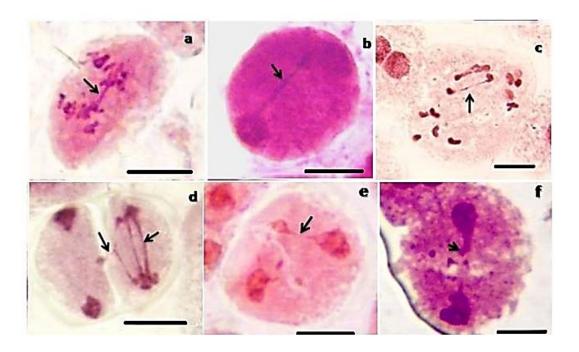


Fig. 12: Cellules mères polliniques à différents stades de division de *H.bulbosum*L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa)présentant des ponts chromatiques. La barre d'échelle correspond à 10μm.

2.3.1. Bivalents désorientés

Vingt cellules en métaphase I présentent des bivalents désorientés (Fig. 13), avec une fréquence de 0,29% dans la population analysée. Cette anomalie résulte d'un échec d'enchainement des fibres achromatiques au kinétochore. Cela provoque leurs dispersion dans le cytoplasme pendant que les autres bivalents sont alignés sur la plaque équatorial en métaphase I (Godoy *et al.*,2012).

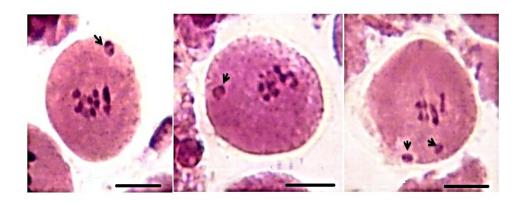


Fig. 13: Cellules mères polliniques de *Hordeumbulbosum* L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) en métaphase I présentant des bivalents désorientés.La barre d'échelle correspond à **10μm**.

2.3.5. Fusion de deux méiocytes

Deux cellules complètement fondues, dans lesquelles les génomes sont dans le même cytoplasme (Fig. 14) (Risso-pascotto*et al.*, 2006).Cette anomalie est présente dans la population échantillonnée dans la station d'Adékar (Béjaïa) avec un taux de 0,17%.

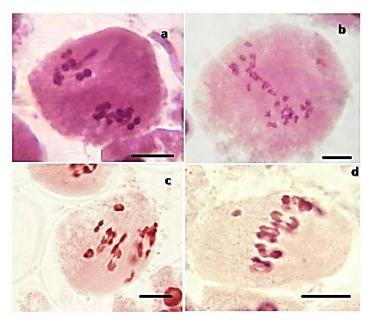


Fig. 14: Cellules de cellules mères de pollen en métaphase I provenant de la fusion de deux méiocytes chez *H. bulbosum*L.échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa).

La barre d'échelle correspond à **10μm**

2.3.8. Axe tripolaire

Une autre anomalie observée est la présence d'axe tripolaire pendant la métaphase II et anaphase II qui aboutit à la fusion de deux noyaux en télophase II en formant une triade (Fig. 15). Selon Dotez(1999), l'axe tripolaire est aussi appelé axe convergent ou axe V. Cette irrégularité peut avoir comme conséquence fusion des deux noyaux étroits, et obtenir à la fin de la méiose une triade au lieu d'une tétrade. Cette organisation irrégulière des axes est due a une mutation qui commande la division méiotique (Godoy *et al.*,2012).

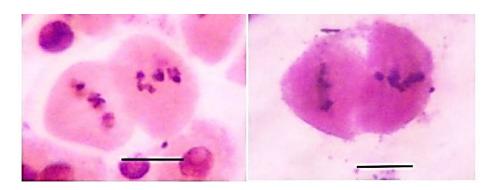


Fig. 15: Cellules de cellules mères de pollen en métaphase II de*H. bulbosum*L.
échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa)présentant des chromosomes orientés vers trois pôles. La barre d'échelle correspond à 10μm.

2.3.7. Triades et cellules tripolaire

Le taux des triades observées dans cette population est de 0,16% (Fig. 16a). Les cellules tripolaires présentent 0.10% (Fig. 16b). Cette anomalie méiotique observée également par Sheidai (2010) est expliquée par l'échec de l'anaphase II et l'absence de mouvement des chromosomes qui conduit à la formation de cellules tripolaires (Sheidai*et al.*, 2010).

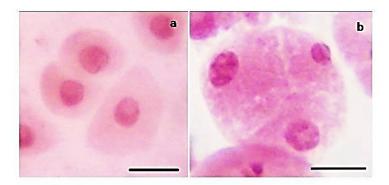


Fig. 16: Cellules mères pollinique en télophase IIde *H.bulbosum*L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) présentant sous forme de triade(a) et une cellule tripolaire(b),La barre d'échelle correspond à 10μm

2.3.9. Cytomexie

La cytomixie est caractérisée par une migration de chromatine ou de chromosomes entre des méiocytes proches (cellules mères polliniques) par des ponts ou canaux cytoplasmiques (Aksic*et al.*, 2015). Un seul cas de migration d'un bivalent entier est observé dans la population analysée de*Hordeumbulbosum*L. (Fig.17 a). La présence de cytomixiechez *Hordeumbulbosum*L. a déjà été rapportée par Sheidai en 2010.

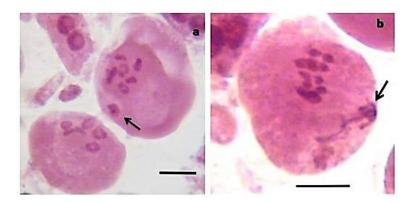


Fig. 17: Cellules mères polliniques de *H.bulbosum*L. échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa) présentant une cytomexie.

 a : Migration d'un bivalent par cytomixie ; b : chromatine extracellulaire diffusée par cytomixie. La barre d'échelle correspond à 10μm Ces anomalies méiotiquesmentionnées provoquent en général la stérilité du pollen (Sheidai*et al.*, 2010). Dans certains cas, elles induisent de la variabilité qui peut conduire à une spéciation telle que la polyploïdisation.

3. Analyse de la fertilité pollinique

Les grains de pollen de *Hordeumbulbosum*L.apparaissent sous forme sphérique avec une seule aperture bien visible sous microscope optique au grossissement 10x après coloration au bleu de coton.

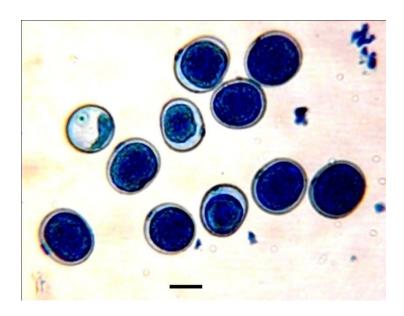


Fig. 18: Aspect des grains de pollen de *H.bulbosum* L.échantillonné dans la station d'Adékar (Béjaïa), vu au grossissement x10.La barre d'échelle correspond à **20μm.**

F: grain fertile; **NF**: grain non fertile.

Les grains fertiles sont bien colorés au bleu de coton tandis que les non fertiles sont mal colorés (Fig. 18; 19).

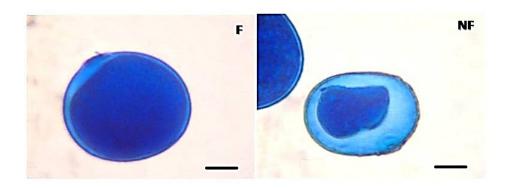


Fig. 19: Aspect d'un grain de pollen fertile(F) etd'un grain de pollen stérile(NF), vus au grossissement x40. La barre d'échelle correspond à $10~\mu m$.

L'évaluation du taux de fertilité pollinique est faite pour 05 individus avec 3 fleurs pour chacun. Nous avons dénombré 1000 à 1200 grains de pollen par fleur. Les résultats sont résumés dans le tableau VI.

Tab. IV : tableau de données numérique présente les taux de fertilités pollinique chez *Hordeumbulbosum*L, population échantillonnée dans la station Adékar(Béjaïa).

Individu	Taux de fertilité pollinique (%)			Moyenne(%)±ecart-
	Fleur 1	Fleur 2	Fleur 3	type
Individu 1	66,96	92,95	91,73	83,88±11,97
Individu 2	92,25	92	95,95	93.4±1,80
Individu 3	94,3	88,89	89,96	91,05±2,33
Individu 4	90,79	91,14	96,16	92,69±2,45
Individu 5	89,93	86,34	86,18	87,48±1,73
Taux de fertilité moyen de la population				89.7±3,55

Les taux de fertilité pollinique estimés varient de 66,96% à 96,16%. Nous pouvons traduire cette variabilité par la présence d'anomalies. Le taux moyen de la fertilité est estimé à 89,7% ±3,55. Ce taux relativement élevé avoisine celui obtenu par Papes (1983) sur le cytotype tétraploïde de *H.bulbosum* L échantillonné en Serbie et en Macédoine (90%). Les auteurs considèrent cette forte fertilité du pollen comme preuve que cette espèce s'adapte

Résultats et discussion

facilement aux différents facteurs écologiques (Papes *et al.*, 1984). Une autre étude de Sheidai (2010) confirme cette hypothèse où il a obtenu un taux de 98%.

Conclusion

Le présent travail porte sur une analyse cytogénétique d'une graminée pérenne Hordeumbulbosum Léchantillonnée dans la région d'Adékar (Béjaïa). Nous avons appliqué des méthodes de cytogénétique classique en utilisant la technique de Feulgen et Rosenbeck basée sur la coloration au réactif de Schiff. Celle-ci a donné des résultats satisfaisants pour l'analyse des mitoses. Cependant, les cellules mères polliniques présentent un échec de coloration par cette technique. Ce qui nous a incités à établir un autre protocole à double coloration en utilisant l'orcéine acétique.

Le dénombrement chromosomique sur des cellules en division mitotique du méristème racinaire en stade métaphasique a montré que la population de *Hordeumbulbosum* L. d'Adékarest une espèce diploïde 2n=2x=14 avec un nombre chromosome de bases x=7.

L'analyse des caryotypes de quatre individus a permis de dresser un caryogramme pour la population d'Adékar. Le génome présente un caryotype presque symétrique avec un indice d'asymétrie IAs de 59,98%. La formule chromosomique est de 2n = 2x = 10m + 4sm (2sat). La plupart des chromosomes sont de type métacentrique. La paire submétacentrique porte un pair satellite.Les longueurs moyennes des chromosomes de cette population sont comprises entre 4,03 et 5,52 μ m.

Le comportement méiotique estsuivi sur des cellules mères polliniques à différents stades de division.Le type d'appariement des chromosomesle plus fréquent pendant la métaphase I est les bivalents en anneaux avec deux *chiasmata*.Des irrégularités dans le processus d'appariement des chromosomes sont détectéstels que la formation des trivalents et des tétravalents. D'autres anomalies commel'absence d'appariement (univalent) sont également notées. Les principales anomalies observées lors de ségrégation des chromosomes en anaphase I et II sont la formation des ponts chromatiques et des chromosomes retardataires qui sont condensés par la suite pour donner en télophases I ou II des micronoyaux. Les ségrégations asynchrones des chromosomes pendant l'anaphase II forment des triades en télophase II. Ces anomalies provoquent la stérilité des gamètes due à la variation de leurs constitutions génétiques.

L'analyse de la fertilité pollinique arévélé que le taux de fertilité chez cette population est 89,7%. Les anomalies rencontrées dans cette étude ont surement contribué à l'induction de la stérilité pollinique.

En perspective, il serait souhaitable d'élargir le champ d'analyse de *Hordeumbulbosum* L. sur déférentes régions en Algérie, utiliser d'autre techniques moderne de cytogénétique dans le but de quantifier le génome de *H. bulbosum* L. et de montrer les éventuelles translocations chromosomiques à l'origine de la formation des tétravalents.

Références biblographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aksic M. F., Cerovic R., Ercisli S., Jensen M. (2015) Microsporogenesis and meiotic abnormalities in different 'Oblacinska' sour cherry (*Prunus cerasus L.*) clones.flora, Vol. 219, P. 25-34.

Bothmer R. V., Flink J., Landstrom T. (1986) Meiosis in interspecific *Hordeum* hybrids. I. Diploid combinations. *Can. J. Genet. Cytol.*, Vol.28, P. 525-535.

Bothmer R.V., Jacobsen N., Baden C., Jorgensen R.B., Linde-Laursen Ib. (1991) systematic and ecogeographic studies on crop genepools 7. *IBPGR*., Rome, P.15,27.

Bothmer R.V., Jacobsen N., Baden C., Jorgensen R.B., Linde-Laursen I. (1995) An ecogeographical study of the genus $Hordeum(2^{nd}edition)$. International Plant Genetic Resources Institut, Rome, P. 129.

Bothmer R. V.(1996) Distribution and habitat preferences in the genus *Hordeum* in Iran and Turkey. *Ann. Naturhist. Mus*, Vol. 98, P. 107-116.

Dawe R.K., (1998) Meiotic chromosome organization and segregation in plants. Annu. Rev. Plant Physio. *Plant Mol. Biol.*, Vol. 49, P. 371-395.

Devaux P., (1983) analyse cytogénétique de l'hybride *Hordeum vulgar* x *H. bulbosum* et de cytotype dérivé. *Bull. Soc. Bot. N.* Vol. 36, n°(3-4),P. 61-70.

Gerton J. L., Hawley R. S. (2005) Homologous chromosome interactions in meiosis: diversity amidst conservation, vol. 6, n°6, P. 477–87.

Godoy S. M., Pereira A. R. A., Romagnolo M. B., Risso-Pascotto C. (2012) Meiotic behavior during microsporogenesis of *Alchornea triplinervia* (Sprengel) Müller Argoviensis. *Ciência Rural*, Vol. 42, n°6, P. 1027-1032.

Jahan B., Vahidy A. A., and Ali1 S. I. (1992) Chiasma Frequency and Chromosome Associations in Sixteen Taxa of Hordeum Species. *Cytologia*. vol. 57, P. 51-57.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Jahan B and Vahidy A. A.(2008). Giemsa N-Banding pattern in two tetraploid cytotypes of wild barley(*Hordeumbulbosum L*). *Pak. J. Bot*, Vol. 40, n°.6, P. 2299-2305.

Jahier J., Chevre A. M., Eber F., Delourm R., Tanguy A. M. (1992) Techniques de cytogénétique végétale. ed. INRA., Paris, P. 5,15,53.

Khodayari H. and Saeidi H. (2011) Cytological study of *Hordeum bulbosum* L. in Iran. *Taxonomy and Biosystematics* 3rd year, n°. 8, P. 17-24.

Kiihl P. R. P., Pereira A. R. A., Godoy S. M., Stenzel N. M.C., Risso-Pascotto C. (2011) Chromosome stickiness during meiotic behavior analysis of *Passiflora serrato-digitata* L (*PASSIFLORACEAE*). *Ciência Rural*, P. 1-6.

Ourari M. (1987) contribution a l'étude cytotaxonomique de deux espèces du genre *Hordeum L. Mémoire de D.E.S.*, inst. Biol., U.S.T.H.B., Alger, P. 5-8

Ourari M. (2012) Polyploïdie et évolution des génomes dans le complexe *Hordeum* murinum-leporinum-glaucum, thèse de Doctorat, inst. Biol., U.S.T.H.B., Alger, P. 91

Papes D., Bosiljevac V.(1984) Tetraploid Populations Of Bulbous Barley (Hordeum bulbosum L.). Acta Bot, Vol. 43, P.335-340.

Pickering R. A. (1983) The location of a gene for incompatibility Between *Hordeum vulgare* L and *H. bulbosum* L. *heredity*, Vol. 51, n°2, P. 455-459.

Risso-Pascotto C., Pagliarini M.S., Valle C.B. (2006) Microsporogenesis in *Brachiaria dictyoneura* (Poaceae: Paniceae). Genet. Mol. Res, Vol. 5, n°4, P. 837-845.

Ruvalcaba-Ruiz D., Rodríguez-Garay B. (2002) Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana* Weber var. azul.BMC Plant Biology, Vol. 2, P. 10.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sato K., Flavell A., Russell J., Borner A., Valkoun J. (2014) Genetic diversity and germplasm management: wild barley, landraces, breeding materials. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, P. 21-36.

Sheidai M., Jaffari F., Noormohammadi Z., Beheshti S.(2010)Cytomixis and unreduced pollen grain formation in six *Hordeum* species. SRBIAU, Poonak, Tehran, Iran

Snape J. W., Chapman V., Moss J., Blanchard C. E. and Miller E. (1979) The crossabilities of wheat varieties with *Hordeum Bulbosum* L.*heredity*, Vol. 42, n°3, P. 291-298.

Subrahmanyam N.C and Bothmer R. V. (1987) Interspecific hybridization with *Hordeum bulbosum* and development of hybrids and haploids *Hereditas*, Vol. 06, P. 119-127.

Symeonidis L. A., Moustakas M. B., Coucoli H. D.(1985) Karyotype and seed protein profile analysis of diploid and tetraploid *Hordeum bulbosum* L. *Phyton*, Vol. 25, n°1, P .31-38.

Thomas H.M., Pickering R.A. (1988) The cytogenetics of a triploid of *Hordeum bulbosum* and of some of its hybrid and trisomic derivatives. *Teor. Appl. Genet.* Vol. 76, P. 93-96.

Annexe

ANNEXE

Préparation des solutions

1. α bromonaphtalène 1%

Une goutte de α-bromonaphtalène absolu dans 1L d'eau distillée permet de saturer la solution (Jahier*et al.*, 1992). La dilution se fait au moment de l'emploi, et la conservation au réfrigérateur ne doit pas dépasser une semaine.

2. Ractif de Schiff

- -Dissoudre 1g de la fushine basique dans un flacon contenant 100mL d'eau bouillante ;
 - -Laisser refroidir jusqu'à 50°C;
 - -Dans un autre flacon en verre fumé verser 3g de métabisulfite.
- -Filtrer la solution refroidie dans le flacon en verre fumé contenant le métabisulfite à l'aide d'un papier filtre.
 - Ajouter 30 ml de HCl (1N) sur le filtre.

Le réactif se conserve à l'obscurité, au réfrigérateur et dans le flacon en verre fumé.

3. Carnoy II

- 6 volumes d'éthanol
- 3volumes de chloroforme
- -1 volume d'acide acétique glacial

4. Orcéine acétique

Porter à ébullition le mélange de :

- 1g d'orcéine basique (poudre)
- 45 ml d'acide acétique glacial. C₂H₄O₂ (M=60,05mol).
- 55 ml d'eau distillée

Laisser refroidir puis filtrer et conserver dans des flacons en verre fumé à l'obscurité et à température ambiante.

ANNEXE

5. Bleu de coton au lactophénol

- -8 volumes de glycérine
- 4 volumes d'acide acétique à 85%
- -4 volumes du mélange de cristaux de phénol (1g de phénol + 4mL d'eau distillée)
- -2 volumes d'eau distillée
- 1 volume de bleu d'aniline à 1 % (0.05mL+100mL d'eau distillée)

Résumé

Une étude cytogénétique d'une graminée pérenne diploïde *Hordeumbulbosum* L. échantillonnée dans la station d'Adékar de Béjaïa est réalisée à l'aide d'une technique de cytogénétique classique basée sur la coloration au réactif de Schiff par la technique de Feulgen. Les résultats obtenus confirment le niveau de ploïdie de cette population qui est 2n = 2x = 14 avec un nombre de chromosomes de base x = 7. L'établissement du caryotype chez cette population a mis en évidence la présence de deux types chromosomiques métacentriques et submétacentriques munis d'une paire de satellites. L'analyse des cellules mères de pollen a montré un déroulement normal de la méiose avec taux d'appariement des chromosomes de 13,54 *chiasmata* par cellule. Cependant, des anomalies méiotiques (univalents, chromosomes retardataires, micronoyaux, cytomixie, fusion des méyocytes, ponts chromatiques, divisions asynchrones, formation de triades) sont notées. Ces anomalies peuvent être considérées comme des mécanismes possibles deformation des grains de pollen non fertiles. Cependant, une étude de la fertilité pollinique a révélé un taux de fertilité chez cette population relativement important de 89,7%.

Mots clés : *Hordeumbulbosum* L., Cytogénétique, Technique de Feulgen, caryotype, méiose pollinique.

Summary

A cytogenetic study of diploid perennial grass Hordeumbulbosum L. sampled in Adékar(Béjaïa)is performed using conventional cytogenetic technique based on Schiff staining reagent by the Feulgen technique. The results obtained confirm the ploidy level of this population with 2n = 2x = 14 with basic chromosomes number of x = 7. The karyotype of this population presents two kinds of chromosomes metacentric and submetacentric ones with one pair of satellites. Analysis of pollen mother cells showed normal meiosis with 13.54 chiasma per cell. However, meiotic abnormalities (monovalent, lagging chromosomes, micronuclei, cytomixis, chromatic bridges, asynchronous divisions, triads) were noted. These anomalies can be considered as possible mechanisms of formation of non- fertile pollen grains. However, a study of pollen fertility revealed a relatively large fertility rate of 89.7%.

Keywords : Hordeumbulbosum L., cytogenetics, Feulgen technique, caryotype, pollen meiosis.