

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Spécialité: Génétique Fondamentale et Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Analyse cytogénétique de *Salvia verbenaca* L., *S. lanigera* Poir. et *S. viridis* L. (Lamiacées) dans le Nord-Est Algérien.

Présenté par :

AREZKI Chérifa & AOUCHICHE Sonia

Soutenu le : **24 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme Y. BENMESSAOUD
Mr M. SAHNOUNE
Melle K. AYOUNI

MAA Présidente
Professeur Encadreur
MCB Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

Dédicaces

Je tiens vivement, à dédier ce travail en signe de respect
et de reconnaissance à:

Mes très chers grand parents Zina et Mohand, et parents
qui ont veillé sur moi depuis mon existence que dieu me
les protège,

Mes adorables frères: Hicham, Walid et Aimad,

Mes oncles et tentes,

Mes cousins et cousines,

Hassina et Malik qui n'ont pas hésité de nous aider,

Tous mes amis (es) et la promotion Génétique

Fondamentale et Appliquée,

A Tous ceux qui ont contribué à m'aider, de près ou de
loin, à la réalisation de ce modeste mémoire.

Spéciales dédicaces pour ma binôme (très chère amie)

Sonia, son fiancé Farouk et toute sa famille

A tout mes enseignants depuis le primaire jusqu'à mon
cursus universitaire.

Chérifa

Dédicaces

Je tiens vivement, à dédier ce travail en signe de respect
et de reconnaissance à:

Mes très chers grand parents, et parents qui ont veillé
sur moi depuis mon existence que dieu me les protège,

Mes adorables frères : Ali et Morad,

Mes sœurs : Samira, Nassira, Soraya, Chafika, Kenza et
Sissa,

Mon fiancé Farouk et toute sa famille,

Mes oncles et tentes,

Mes cousins et cousines,

Hassina qui n'a pas hésité de nous aider,

Tous mes amis (es) et à toute la promotion Génétique
Fondamentale et Appliquée,

A Tous ceux qui ont contribué à m'aider de près ou de loin
à la réalisation de ce modeste mémoire.

Spéciales dédicaces pour mon binôme (très chère amie)

Chérifa et toute sa famille

A tout mes enseignants depuis le primaire jusqu'à mon
cursus universitaire.

Sonia

Remerciements

Nous tenons à remercier tout d'abord le BON DIEU le tout puissant qui nous a procuré du courage, santé, et la volonté pour mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons à remercier :

- * Pr SAHNOUNE M. pour avoir dirigé ce travail ainsi que pour ses Conseils, son aide précieuse et ses encouragements tout au long de ce travail;*
- * M^{me} BENMASSAOUD Y. de nous avoir fait l'honneur de présider notre jury;*
- * M^{me} AYOUNI K. pour avoir accepté d'examiner notre mémoire;*
- * M^{lle} BENMOUHOU B H pour sa disponibilité, ses conseils et son soutien.*
- * Tous les membres du laboratoire de recherche en écologie et environnement pour nous avoir ouvert leurs portes et de nous avoir permis de faire notre Stage pratique dans de bonnes conditions particulièrement :*
 - ↪ Aux doctorants Mr MAHDJOUB M., M^{lle} MESBAH M. et M^{lle} ZEMMOURI T.*
 - ↪ Aux ingénieurs Mr ZEMMOURI M. et M^{me} BOUDERSA S.*
- * Enfin nous remercions tous ceux qui nous ont aidées, de près ou de loin , à l'achèvement de ce travail Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.*

Sommaire

Liste des abréviations.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	2
I.1. Famille des Lamaceae	2
I.2. Le Genre <i>Salvia</i> L.....	2
I.2.1. Importance des sauges.....	2
I.2.2. Description Botanique du genre <i>Salvia</i>	3
I.2.3. Description botanique des espèces de <i>Salvia</i> étudiées	3
I.2.4. Origine et répartition géographique du genre <i>Salvia</i>	5
I.2.5. Le genre <i>Salvia</i> en Algérie	5
I.3. Cytogénétique.....	5
I.3.1. Nombres chromosomique du genre <i>Salvia</i>	6
I.3.2. Division méiotique et mitotique chez les plantes	7
I.3.3. Anomalies méiotiques et mitotiques	7
I.3.3.1. Cytomixie	8
I.3.3.2. Micronoyaux (MN)	9
I.3.3.3. Chromosomes retardataires ou univalents	9
I.3.3.4. Chromosomes agglutinés.....	10
I.3.3.5. Divisions asynchrones	11

I.3.3.6. Les cellules multipolaires.....	11
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	12
II.1. Le matériel végétal.....	12
II.1.1. Les espèces de <i>Salvia</i> étudiées.....	12
II.2. Préparation des solutions.....	13
II.2.1. Préparation du fixateur.....	13
II.2.2. Préparation du colorant.....	14
II.3. Etude de la méiose.....	14
II.3.1. Echantillonnage.....	14
II.3.2. Les étapes de l'étude de la méiose.....	14
II.4. Etude de la mitose.....	16
II.5. Etude de la fertilité pollinique.....	18
Chapitre III : Résultat et Discussion.....	19
III.1 Résultat.....	19
III.1.1 Analyse de la méiose.....	19
III.1.1.1. Dénombrement chromosomique.....	19
III.1.1.2. Analyse des étapes de la méiose.....	22
III.1.1.3. Nombre des cellules analysée.....	22
III.1.1.4. Les anomalies méiotique.....	26
III.1.1.5. Taux d'anomalies observées chez les espèces étudiées.....	30
III.1.2. Analyse de la fertilité pollinique.....	32
III.1.2.1. Taux de fertilité pollinique.....	32

III.1.2. Analyse mitotique des méristèmes racinaires	34
III.1.2.1. Dénombrement chromosomique	34
III.1.2.2. Etapes de la division mitotique	34
III.2. Discussion.....	35
III.2.1. Analyse méiotique.....	35
III.2.1.1. Dénombrement chromosomique.....	35
III.2.1.2. Anomalies méiotiques.....	36
III.2.2.1.3.Fertilité pollinique.....	37
III.2.2. Analyse mitotique.....	37
Conclusion.....	38
Références Bibliographiques	39 - 44

Annexes

Résumé

Liste d'abréviation

ADN : Acide désoxyribonucléique,

Ask 1: Apoptosis signal-regulating kinase 1,

Asy 1: Asynapsis 1,

BrCa 2: Breast cancer 2,

CDB : cassure double brin,

CMP : cellule mère pollinique,

CNV : cellule non viable,

Cv : cellule viable,

Cyto: Cytomixie,

D.A: Division asynchrone,

DMC 1: Disrupted Meiotic Cdna 1,

FL : fleur latéral,

FM : fleur médiane,

HOP2 : Homologous pairing 2,

Mn : micronoyaux,

MND1: Meiotic Nuclear Divisions,

Rad50: Radiation sensitive 51,

Rad51c: Recombinase Rad51C,

RH: recombinaison homologue,

Prd1 : Proteinase yscD 1,

Skp: S-phase kinase-associated protein 2,

Spo11: Meiotic recombination protein spo11,

Spo11: SPOrulation-deficient 11,

XRCC3: X-ray repair cross-complementing gene 3,

.

Liste des tableaux

N°	Titres	page
Tab. I	Nombres chromosomiques comptés par différents auteurs de quelques espèces du genre <i>Salvia</i> L.	6
Tab. II	Quelques gènes impliqués dans la formation des anomalies chromosomiques lors de la méiose selon Dumont (2011).	8
Tab.III	Origine géographique, dates et heures de récolte des boutons floraux des 13 populations de <i>Salvia</i> étudiées (cinq de <i>S. verbenaca</i> , six de <i>S. lanigera</i> , et deux de <i>S. viridis</i>).	13
Tab. IV	Origine géographique et dates de récolte des graines de <i>Salviaverbenaca</i> , <i>S. lanigera</i> et <i>S. viridis</i> étudiées.	16
Tab. V	Nombre des CMPs en division méiotique avec les anomalies chez les deux espèces de <i>Salviaverbenacade</i> Kherrata et <i>S. lanigera</i> d'Amadane cimetièrè (Oued Ghir).	23
Tab. VI	Nombre de CMPs en division méiotique avec des anomalies des deux populations de Chikhounè et Akbou de <i>S. lanigera</i>	23
Tab.VII	Nombre des CMP en division méiotique avec des anomalies des deux populations (Timezrit et Kherrata 2) pour <i>S. verbenaca</i>	24
Tab.VIII	Nombres de CMPs en division méiotique et de CMPs avec des anomalies pour la population de la Crête rouge chez <i>Salvialanigera</i> et la population de Oued Ghir de <i>S. verbenaca</i> ;	24
Tab. IX	Nombres de CMPs en division méiotique et de CMPs avec des anomalies des deux populations d'Azekri et Thaassasth chez <i>Salviaviridis</i> .	25
Tab. X	Nombres de CMPs en division méiotique et de CMPs avec des anomalies pour la population de Azekri de <i>S. verbenaca</i> .	25
Tab.XI.	Denombrements chromosomiques des populations de <i>Salvia</i> étudiées.	35

Liste des figures

N°	Titre	Page
Fig.1	Photographie de <i>S. verbenaca</i>	3
Fig.2	Photographie de <i>S. clandestina</i> http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-048/salvia-clandestina95.jpg .07/05/2018.	4
Fig.3	Photographie de <i>S. viridis</i> L https://www.desertcart.ae/produces9633273-0-5g-approx-170-clary-sage-seeds-bot-salvia-viridis-bright-long-lasting-colors-tricolor-mix-fresh-seeds-best-before-12-2017 .07/05/2018.	4
Fig.4	Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> L. dans le monde (Walker <i>et al.</i> , 2004).	5
Fig.5	<i>Salvia verbenaca</i> à petites fleurs violettes à poils courts et sans glandes.	12
Fig.6	<i>Salvia lanigera</i> à grandes fleurs bleu-violacé, et à poils glanduleux.	12
Fig.7	<i>Salvia viridis</i> à fleurs rosées, assez petites, à calice velu.	12
Fig.8	Dénombrement chromosomiques en méiose de différentes populations octaploïdes ($2n = 8x = 56$) de <i>Salvia verbenaca</i> de la région de Béjaïa. a: population d'Azekri (28 bivalents en métaphase II) ; b, c : population de Kherrata (28 bivalents en métaphase I et 56 univalents en anaphase I respectivement) ; d, e: population de Timezrit (28 bivalents en Métaphase I et 56 univalents anaphase II) ; f: population de pompa de Oued Ghir (28 bivalents en Métaphase I). Barre d'échelle = 10 μ m.	19
Fig.9	Dénombrement chromosomique chez <i>Salvia verbenaca</i> de la population de Kherrata en métaphase I de la méiose avec 14 bivalents ($2n=4x=28$). Barre d'échelle = 10 μ m.	20
Fig.10	Dénombrement chromosomique de <i>Salvia lanigera</i> en métaphase I de la méiose avec 18 bivalents chez les deux populations tétraploïdes ($2n=4x=36$). a, b : population de Chikhounne ; c, d : population d'Akbou. Barre d'échelle = 10 μ m.	20
Fig.11	Dénombrement chromosomique en méiose de <i>Salvia lanigera</i> avec 21 bivalents chez deux populations hexaploïde. a : population d'Amadane (Oued Ghir) en Métaphase I ; b : population d'Amadane (Oued Ghir) en anaphase II ; c : population de la Crête Rouge en Anaphase II. Barre d'échelle = 10 μ m.	21
Fig.12	Dénombrement chromosomique chez <i>Salvia viridis</i> en métaphase I de la méiose chez les deux populations diploïdes. a: Thaassassth (8 bivalents); b: Azekri (7 bivalents). Barre d'échelle =10 μ m	21
Fig.13	Les différents stades de la méiose pollinique de <i>Salvia</i> : a : prophase I; b: métaphase I; c: anaphase I ; d : prophase II ; e : métaphase II ; f : anaphase II ; g : télophase ; h : tétrades. Barre d'échelle = 10 μ m	22
Fig.14	Anomalies de télophase. a: 3 cellules viables et une non viables; b : une dyade avec un micronoyau; c : une pentade; d: tétrade avec un micronoyau. (Voir Flèches). Barre d'échelle = 10 μ m.	26
Fig.15	Tétrades aux cellules non viables (Flèches). a: tétrades à 4 cellules non viables; b : tétrades à 3 cellules viables et une non viables; c : tétrades à 2 cellules viables et 2 non viables;; d : tétrades à 1 cellule viable + 3 cellules non viables. Barre d'échelle = 10 μ m.	26
Fig.16	Triades. a: triade viable ; b : triade à cellules non viables (Flèches). Barre d'échelle = 10 μ m.	27
Fig.17	Cellules à divisions asynchrones (Flèches). A : en métaphase I ; b: en anaphase II. Barre d'échelle = 10 μ m.	27

Fig.18	Cellules avec des chromosomes agglutinés (Flèches). A : Chromosomes agglutinés en métaphase I ; b : Chromosomes agglutinés en anaphase I. Barre d'échelle = 10 μ m.	28
Fig 19	Cellules en métaphase I avec des chromosomes retardataires (Flèches). a: un chromosome retardataire ; b : deux chromosomes retardataires ; c : plusieurs chromosomes retardataires. Barre d'échelle = 10 μ m.	28
Fig 20	CMPs avec des micronoyaux chez <i>Salvia</i> . a : Tétrade avec un micronoyau (Flèches) ; b : Triade avec deux micronoyaux; c : pentade avec un micronoyau; d : triade (2 cellules viables et une non viable) avec un micronoyau, e : monade avec un micronoyau. Barre d'échelle = 10 μ m	29
Fig.21	Cytomixies entre les méiocytes chez <i>Salvia</i> (Flèches). a : Cytomixie entre deux CMPs ; b : Cytomixie entre trois CMPs ; c : Cytomixie entre quatre CMPs ; d : Cytomixie entre cinq CMPs ; e, f : Cytomixie entre plusieurs CMPs ; g : Cytomixie entre deux CMPs et des cellules somatiques. Barre d'échelle = 10 μ m.	29
Fig.22	Taux d'anomalies chez les populations de <i>Salvia verbenaca</i> .	30
Fig.23	Taux d'anomalies chez les deux populations Chikhoune et Akbou de <i>Salvia lanigera</i>	30
Fig.24	Taux d'anomalies chez les deux populations Amadane cimetièrre et Crête Rouge de <i>Salvia lanigera</i> .	31
Fig.25	Taux d'anomalies chez les populations Thaassasth et Azekri de <i>Salvia viridis</i> .	31
Fig.26	Photographie des grains de pollen colorés au bleu de coton a : grain normal (fertile), b : grain anormal (stériles).	32
Fig.27	Photographie des grains de pollen colorés à l'orcéine lactopropionique. a : grain fertile, b : grain stérile.	32
Fig.28	Taux de fertilité pollinique chez les populations de <i>Salvia verberaca</i> .	32
Fig.29	Taux de fertilité pollinique chez les populations de <i>Salvia lanigera</i>	33
Fig.30	Taux de fertilité pollinique chez les deux populations de <i>S. clandestina 2</i> .	33
Fig.31	Taux de fertilité pollinique chez les deux populations de <i>Salvia viridis</i>	33
Fig.32	Dénombrement chromosomique en métaphase mitotique d'un méristème racinaire des populations étudiées. a: <i>Salvia lanigera</i> de Oued Abdi (Batna); b: <i>S. lanigera</i> d'Azekri; d : <i>S.verbinaca</i> de Azekri; e : <i>S. viridis</i> de Azekri ; f : <i>S. viridis</i> de Thaassassth. Barre d'échelle = 10 μ m.	34
Fig.33	Les étapes de la division mitotique chez <i>Salvia</i> . a : prophase ; b : métaphase C : anaphase ; d : télophase. Barre d'échelle = 10 μ m.	34

INTRODUCTION

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité floristique: méditerranéenne, saharienne et paléo-tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (Quézel et Santa, 1962-1963).

La famille des Lamiaceae ou Labiatae est une famille botanique très large qui fait partie des plantes angiospermes dicotylédones. Les Lamiaceae sont très abondantes dans les régions méditerranéennes (Cantino, 1999; Moreau, 1960 *in* Ramli I, 2013).

Le genre *Salvia* L. de la famille des labiées, fait partie de la gamme variée des plantes médicinales et aromatiques spontanées caractérisant la flore Algérienne (Quézel et Santa, 1963). Le genre en question compte, à lui seul, près de 1000 espèces (Walker *et al.*, 2004). En Algérie, les espèces de *Salvia* sont de l'ordre d'une trentaine (Madi, 2010).

Les plantes ont clairement été à l'avant-garde des observations cytologiques. Récemment, le contrôle génétique de la méiose et du comportement chromosomique chez les plantes supérieures a été bien caractérisé par les approches de la génétique (Murphy et Bass, 2012).

Salvia possède une variation remarquable du nombre chromosomique et semble être polybasique. Parmi les espèces de ce genre: *S. verbenaca* L. une espèce hautement polymorphe présentant une variation très large ($2n = 6x = 42$, $2n = 6x = 54$, $2n = 6x = 60$, $2n = 6x = 48$, $2n = 8x = 64$) (Ranjbar, 2015), *S. lanigera* Poir. qui est confuse avec *S. verbenaca* L. avec un nombre chromosomique aussi variable ($2n = 4x = 36$, $2n = 4x = 40$, $2n = 6x = 42$) (Kamari, 1996 : Lifante *et al.*, 1992 *in* Ranjbar, 2015) et *S. viridis*, une espèce présentant un nombre chromosomique de $2n = 2x = 16$. Les nombres de base dominants chez le genre *Salvia* sont $x = 7$ et $x = 8$, avec un nombre de $x = 6$ à ne pas négliger (Ranjbar, 2015).

Les études menées au sein du genre *Salvia* en Algérie sont très limitées surtout sur le plan cytogénétique. C'est ce qui nous a incités à étudier plus en détail la cytogénétique de quelques populations de *S. verbenaca* L., *S. lanigera* Poir. et *S. viridis* L. provenant de différentes stations dans le Nord-Est Algérien, c'est à dire, analyse méiotique et mitotique : repérer les différents stades de ces divisions cellulaires, effectuer des dénombrements chromosomiques et reconnaître les anomalies éventuelles ainsi que l'analyse de la fertilité pollinique.

I-1- Famille des Lamiacées (Labiées)

La famille des Lamiaceae ou Labiatae est une famille très large, qui comporte plus de 250 genres et 7000 espèces (Cantino, 1999 *in* Ramli, 2013). Elle fait partie des angiospermes dicotylédones à fleurs gamopétales irrégulières qui regroupe surtout des plantes herbacées et sous-arbustives réparties dans le monde entier. Les Lamiacées sont des herbacées, annuelles ou vivaces, par exemple les Thyms, les Lavandes, les Sauges et les Romarins, elles sont surtout abondantes dans les régions méditerranéennes (Moreau, 1960 *in* Ramli, 2013).

I-2- Le genre *Salvia* L.

Le genre *Salvia* est considéré comme étant le genre le plus large et le plus important de la famille des Lamiacées (Bektas *et al.*, 2005). Le mot *Salvia* provient de l'italien "salvare" qui veut dire sauver (Fellah *et al.*, 2006). Ce nom est corrompu populairement en "Sauja" et "Sauge" en Français et "Sawge" dans l'ancien anglais, devenu actuellement « Sage », en référence à ses propriétés médicinales, connues depuis les anciennes civilisations (Anthony, 2000). Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment "Essalma" qui ajoute qu'elle est appelée "Salbia" par les botanistes en Espagne. El djazairi indique l'expression "souek ennebi" comme synonyme de Saleme (Madi, 2010).

I-2-1- Importance des Sauges

Les espèces du genre *Salvia* L. sont des plantes très fascinantes, qui n'ont jamais perdu leur importance. Environ 1000 espèces ont été exploitées largement dans plusieurs domaines, par exemple, les huiles essentielles sont utilisées en parfumerie, l'huile des graines comme un adoucissant et les racines comme des tranquillisants (Aktas *et al.*, 2009; Hardman, 2000). Différentes propriétés médicinales ont été reconnues aux espèces *Salvia* telles que l'atténuation de la dépendance à la morphine, les propriétés cardio-actives, l'hypoglycémie, l'activité anti-nociceptive, anti-inflammatoire, antioxydante, activité anti-ulcère, antimutagène, et l'activité anti tumorale. En méditerranée, la sauge est utilisée pour ses propriétés antispasmodique, antibactérienne, antifongique, diurétique, régulatrice des désordres du cycle menstruel, antihémorragique (Hosseinzadeh *et al.*, 2009; Madi, 2010; Kheniche *et al.*, 2013; Shahneh *et al.*, 2013).

I-2-2- Description Botanique du genre *Salvia* L.

Les espèces de *Salvia* se présentent sous forme d'arbustes ou des plantes herbacées qui peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. Les fleurs se regroupent en inflorescences de type grappe ou panicule (grappe ramifiée et lâche), et produisent généralement un étalage formé de fleurs dont les couleurs vont du bleu au rouge, et moins souvent du blanc au jaune, à calice bilabié variable, à deux lèvres, une supérieure tridentée et une inférieure bidentée, corolle bilabée comportant 2 étamines à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthere, et l'autre, la plus courte, une écaille, ou terminée en pointe. Les sauges sont généralement pourvues de trichomes (poils) au niveau des feuilles (Quézel et Santa, 1963).

I-2-3-Description botanique des espèces de *Salvia* étudiées

- *S. verbenaca* L.

S. verbenaca L. (saugue verveine) est une plante herbacée, de 10-80 cm de hauteur, très polymorphe (Figure 1). Les feuilles sont simples, vertes, avec un limbe ovale ou ovale allongé dont les bords sont fortement crénelés ou découpés en lobes ou encore profondément divisés (Camarasa *et al.*, 1982). La tige est pubescente, quadrangulaire, bien feuillée. Les fleurs sont bilabées en épi de faux verticilles (verticillastres) de 5-10 flores et leur taille ne dépasse pas 15 mm (Pottier, 1981). Le calice est bilabié, variable, à lèvre supérieure tridentée, avec des dents courtes et réfléchies; l'inférieure bidentée. La corolle est bilabée (Quézel et Santa, 1963).



Fig. 1: Photographie de *S. verbenaca*

- *Salvia lanigera* = *S. clandestina*

Salvia lanigera (Figure 2) est une plante herbacée vivace à feuilles ovales-orbiculaires parfois un peu cordées à la base. Tiges à pilosité très dense et laineuse. Fleurs de 8- 10

mm, bleues-violacées en épis dressés, à lèvres inégales. Graines alvéolées. Calice à pilosité lâche, vert, bien visible (Quézel et Santa, 1963).



Fig. 2 : Photographie de *S. clandestina*
(<http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-048/salvia-clandestina95.jpg>).

- ***Salvia horminum L. = Salvia viridis L.***

Une plante annuelle ou pérennante à tige simple, dressée ou rameuse, rameaux ascendants de 20-40 cm, velue. Feuilles pétiolées, ovales-obtuses, finement crénelées sur le bord, d'un vert pale; Inflorescence en longs épis feuillés interrompus, composés de verticilles de 4-6 fleurs. Calices velus, accrescent, à lèvre supérieure tridentée, fructifères complètement réfléchis sur l'axe et ciliés sur les nervure. Corolles roses ou blanches (Figure 3) de 10-15 mm, dépassant à peine d'un tiers le calice, à lèvre supérieure peu arquée (Pottier, 1981).



Fig. 3: Photographie de *S. viridis L.* (<https://www.desertcart.ae/products/9633273-0-5g-approx-170-clary-sage-seeds-bot-salvia-viridis-bright-long-lasting-colors-tricolor-mix-fresh-seeds-best-before-12-2017>).

I-2-4-Origine et répartition géographique du genre *Salvia* L.

Le genre *Salvia* est riche d'environ 1000 espèces. Il représente un groupe cosmopolite qui montre une gamme remarquable de variation (Alziar, 1988–1993 in Atsuko Takano, 2017; Pistelli, 2006). Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde: 530 espèces en Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (Fig. 4) (Walker *et al.*, 2004).

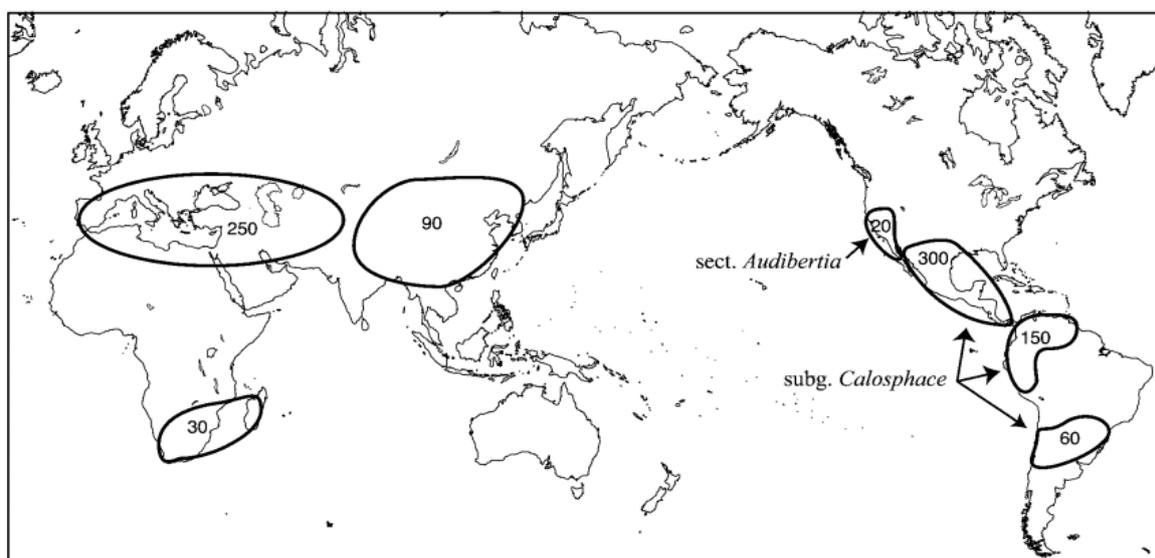


Fig. 4: Répartition géographique du genre *Salvia* L. dans le monde (Walker *et al.*, 2004).

I-2-5-Le genre *Salvia* en Algérie

En Algérie les espèces de *Salvia* qui ont été déterminées sont à l'ordre d'une trentaine (Madi, 2010), dont dix-huit ont été citées par Quézel et Santa, (1963): *Salvia Balansae* de Noé; *S. officinalis* L.; *S. chudaei* Batt. et Trab.; *S. triloba* L. fils; *S. lavandulaefolia* Vahl.; *S. Aucheri* Benth.; *S. phlomoides* Asso.; *S. Jaminiana* de Noé; *S. verbenaca* (L.) Briq.; *S. Horminum* L.; *S. aegyptiaca* L.; *S. silvestris* L.; *S. tingitana* Ette.; *S. Sclarea* L.; *S. Æthiopsis* L.; *S. algeriensis* Desf.; *S. Barrelieri* Ettl. et *S. argentea* L.

I-3- Cytogénétique

La cytogénétique est une étude qui offre une forte opportunité pour répondre aux questions et problématiques non résolues sur les chromosomes et leurs changements

structurelles en méiose, ainsi que la régulation de la progression des stades méiotiques chez les plantes (Murphy et Bass, 2012).

I-3-1-Nombres chromosomiques du genre *Salvia* L.

Salvia possède une variation remarquable du nombre chromosomique du fait qu'il est polybasique: $x = 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 17, 19$ (Haque, 1981) et présente une grande variation du niveau de ploïdie allant diploïde ($2x$) à octaploïde ($8x$) en passant par les tétra- ($4x$) et les hexaploïdes ($6x$) (Tableau I), il en résulte une grande variation d'un nombre somatique de chromosomes allant de $2n = 12$ à $2n = 88$ (Ranjbar, 2015). Les chromosomes des cellules somatiques de *Salvia* sont très courts ($0.46 - 2.94 \mu\text{m}$) et la taille réduite de ses chromosomes, avec leur centromère non visible, a entravé une analyse détaillée du caryotype (Yang *et al.*, 2009)

Tableau I: Nombres chromosomiques comptés par différents auteurs de quelques espèces du genre *Salvia* L.

Espèce	2n	X	Auteurs	Localité
<i>S. xanthochilla</i>	22	11	Sheidai <i>et al.</i> (2010)	Iran
<i>S. tiliifolia</i> Vahl	22	11	Haque (1981)	Mexique
<i>S. barrelieri</i> Ettling	38	19	Rice <i>et al.</i> (2015) in Mahdjoub <i>et al.</i> (2018)	Méditerranée
<i>S. aucheri</i> Benth.	28	7	Afzal-Rafii (1972)	Turquie
<i>S. officinalis</i> L.	14	7	Haque <i>et al.</i> (1980)	Inde
<i>S. horminum</i>	16	8		
<i>S. verbenacea</i>	54	9		
<i>S. sclarea</i> L.	22	11	Özdemir et Şenel(1998)	Turquie
<i>S. reuteriana</i>	20	10	Ranjbar (2016)	Iran
<i>S. argentea</i> L.	22	11	Afzal-Rafii(1980)	France
<i>S. lavanduloides</i>	66	11	Palomino <i>et al.</i> (1986)	Mexique
<i>S. verbenaca</i> L.	54	9	Kamariet <i>al.</i> (1996)	Méditerrané
<i>S. verbenaca</i> L.	56	7		
<i>S. candidissima</i>	22	11	Baltisberger (2002)	Alban
<i>S. verbenaca</i>	48	8	Afzal-Rafii(1972)	Marseille (France)
<i>S. verbenaca</i>	56	7		
<i>S. verbenaca</i>	72	9		
<i>S. viridis</i> L	16	8	Afzal-Rafii (1981)	Iran
<i>S. horminum</i>	16	8	Afzal-Rafii (1972)	Russie
<i>S. clandestina</i>	42	7	Kamari(1996); Del carretore et Garbari (1996) in Tekinet <i>al.</i> (2016)	Portugal
<i>S. verbenaca</i>	42	7	Ranjbar (2015)	Iran
<i>S. lanigera</i>	40	10	Lifante <i>et al.</i> (1992) in Ranjbar (2015)	Méditerrané Syrie
<i>S. lanigera</i>	36	9		
<i>S. verbenaca</i> L.	60	10	Martinet <i>al.</i> , (2011)	Turquie

<i>S. verbenaca</i> (L.) Briq.	28	7	Love et Love (1982) in Joly et al., (1992)	Paris
<i>S. aegyptiaca</i> L.	28	7	Al-Turki et al. (2000)	Arabie Saoudite
<i>S. limbata</i> C. A. Mey	22	11	Afzal-Rafii (1981); Sheidai et al. (2010)	Iran
<i>S. triloba</i> L.f.	14	7	Baltisberger (2006)	Albania
<i>S. virgata</i>	16	6	Kharazian (2011)	Iran
<i>S. chudaei</i> Batt. et Trab.	28	14	Haifa et Joumena 1991 in Ranjbar, (2015)	Afrique
<i>S. chionantha</i>	22	11	Martinet et al. (2015)	Turquie
<i>S. horminum</i>	16	8		
<i>S. argentea</i> L.	22	11	Afzal-Rafii (1980)	France
<i>S. lavandulifolia</i>	14	7	Afzal-Rafii (1976)	Sud-Méditerranéen
<i>S. flava</i>	16	6	Zhiyun et al. (2004)	Chine
<i>S. fruticosa</i> Miller	14	7	Kamari et al (1996)	Nord du Cyprus Kyrenia
<i>S. algeriensis</i> Desf.	38	19	Darlington et Wylie (1955) in Mahdjoub et al. (2018)	Algérie
<i>S. Balansae</i> de Noé	28	7	(Reese, 1957; Dobignard and Chatelain, 2012; Rice et al., 2015 in Mahdjoub et al. (2018)	Algérie
<i>S. aethiopsis</i>	22	11	Gedik et al. (2016)	Turquie
<i>S. jaminiana</i>	16	8	Mahdjoub et al., 2018	Algérie

I-3-2-Division méiotique et mitotique chez les plantes

Le chromosome est la forme la plus compactée de l'ADN. Il est formé, après la réplication, lors des divisions cellulaires somatiques (la mitose) et méiotique (la méiose).

La méiose est une étape essentielle pour tous les organismes à reproduction sexuée permettant la stabilité du nombre chromosomique des espèces et assurant la viabilité des gamètes. Elle assure également un brassage génétique entre chromosomes parentaux grâce à la recombinaison méiotique d'une part et à la ségrégation chromosomique dans les cellules filles d'autre part. Lors de la microsporogénèse dans les anthères, les microsporangies (sacs polliniques) contiennent des microsporocytes (CMP) qui donnent, après la méiose quatre microspores haploïdes. Après une endomitose, les microspores se transforment en grain de pollen (Pagliarini, 2000).

I-3-3- Anomalies méiotiques et mitotiques

Lors de la division, les cellules subissent fréquemment des erreurs générant des changements du nombre ou la structure chromosomique (Potapova et Gorbsky, 2017).

La gamétogénèse est contrôlée par un grand nombre de gènes codant pour des protéines qui interviennent dans la méiose (de la phase pré-méiotique à la phase post-méiotique) (Pagliarini, 2000) (Tableau II).

Chez les plantes, des mutations touchant ces gènes causeraient des anomalies qui peuvent affecter la fertilité pollinique. Parmi les anomalies les plus fréquentes, il y a la ségrégation chromosomique irrégulière (ex : gène XRCC3 et Rad51C), Chromosomes univalents (ex : gène Dmc1), chromosome agglutiné (ex gène : sticky st), cytomixie, division asynchrone ainsi que des anomalies rares telles que l'élimination chromosomique (chromosomes rejetés) durant la microsporogénèse (Pagliarini, 2000; Dumont, 2011)

Tableau. II: Quelques gènes impliqués dans la formation des anomalies chromosomiques lors de la méiose selon Dumont (2011).

Gène	Rôle dans la méiose	Phénotype méiotique du mutant	Références
Spo11	Provoque des CDB	Réduction de la recombinaison méiotique, diminution de la fertilité, chromosome univalents.	Keeney <i>et al.</i> (1997)
Rad51	Réparation CDB	Stérilité.	Li <i>et al.</i> (2004)
Prd1	Recombinaison méiotique.	Ségrégation aléatoire, stérilité.	Muyt <i>et al.</i> (2007)
Dmc1	Réparation de l'ADN.	Chromosome univalents, stérilité.	Yoshida <i>et al.</i> (1998)
Brca2	Réparation CBD, RH causé par spo11	Stérilité, défauts chromosomiques méiotiques.	Siaud <i>et al.</i> (2004)
Rad50	Réparation de l'ADN lors de la division	Défauts chromosomiques méiotiques.	Gallego <i>et al.</i> (2001)
HOP2	Réparation des CDB	Formation anarchique du complexe synaptonémal.	Leu <i>et al.</i> (1998); Petukhova <i>et al.</i> (2003)
MND1	Réparation des CDB	Arrêt de la méiose en première division.	Shinohara et Shinohara, (2004)
Xrcc3	Interviennent dans la méiose	Fragmentation chromosomique à la fin du pachytène, ségrégation chromosomique irrégulière.	Bleuyard et White, (2004); Abe <i>et al.</i> (2005); Bleuyard <i>et al.</i> (2005)
Rad51C			
Asy1	Formation du complexe synaptonémal	Empêche la formation des bivalents.	Hollingsworth <i>et al.</i> , (1990); Caryl <i>et al.</i> (2000)

I-3-3-1- Cytomixie

La Cytomixie a été rapportée pour la première fois par Arnoldy (1900) dans les organes reproductifs chez les gymnospermes, suivi par Koernicke (1901) dans les CMPs de *Crocus vernus*. L. Le terme cytomixie a été initialement utilisé par Gates (1911), qui a rapporté le phénomène chez *Oenothera gegas* (Kumar et Chaudhary, 2014). La cytomixie est observée

dans les tissus végétatifs et reproductifs (Kravets, 2012). La notion de la cytomixie désigne la migration nucléaire (des chromosomes) entre les CMPs. Ce phénomène a été noté chez 400 espèces d'angiospermes et de gymnospermes (Mursalimov *et al.*, 2013). Elle est également observée dans les microsporangies, et peut considérablement affecter le produit de la méiose. Néanmoins, il y a des divergences entre les scientifiques à son sujet, certains la considèrent comme une interaction normale commune chez les plantes, d'autres pensent que c'est un cas pathologique (Dagne, 1994 ; Bellucci *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004; Lone et Lone, 2013; Sidorchuk, 2016). La cytomixie jouerait un rôle important dans la variabilité génétique des plantes (Mursalimov *et al.*, 2013) et dans l'évolution qui est à l'origine des aneuploïdies et des polyploïdies (Pagliarini, 2000) et aussi elle induit des anomalies des microspores aberrantes (monades, dyades, triades ...) et une stérilité pollinique (Bellucci *et al.*, 2003). Des conditions environnementales et des facteurs génétiques peuvent induire cette anomalie (Bass *et al.*, 2003). La cytomixie jouerait un rôle spécial dans la stabilisation des génomes néosynthétisés (Mursalimov et Deineko, 2018).

I-3-3-2- Micronoyaux (MN)

La ségrégation irrégulière des chromosomes durant la division cellulaire est la cause majeure de la formation des micronoyaux (Kiihl, 2011) qui sont principalement issus des fragments chromosomiques acentriques, fragments de chromatides acentriques, ou des chromosomes entiers qui sont perdus lors de l'achèvement de la télophase durant la division s'ils ne sont pas attachés au fuseau pendant le processus de la ségrégation en anaphase (Fenech *et al.*, 2011). Ils peuvent aussi provenir de la condensation du matériel génétique issu de la cytomixie (Kaur et Singhal, 2014 ; Reis *et al.*, 2015) ou suite à la condensation des chromosomes retardataires qui ne peuvent rejoindre les deux pôles (Sidorchuk *et al.*, 2015). Aussi, accordé à Mendes *et al.* (2001), l'occurrence de la non-terminaison du chiasma ou la présence du chromosome agglutiné est un facteur pouvant causer la formation d'un pont chromosomique qui peut persister jusqu'à la phase télophase où il subit une cassure, formant un micronoyau.

I-3-3-3- Chromosomes retardataires ou univalents

Cette anomalie se caractérise par la séparation défectueuse des chromosomes homologues lors de l'anaphase I chez le mutant *ask1*. Cette mutation résulte d'une insertion dans le gène du système d'ubiquitylation (Bellucci *et al.*, 2003). Risso- Pascotto (2012),

suggère que les chromosomes non orientés résultent de la dissociation du fuseau au kinetochore, qui fait qu'il se disperse dans le cytoplasme. Selon Szostak *et al* (1983) *in* Horlow et Dautriaux (2003), la recombinaison homologue (RH) est initiée par des cassures d'ADN double brin par la protéine Spo11. Les plantes mutantes Spo11, présentent une diminution drastique de la RH méiotique. De ce fait, il n'y a pas formation de bivalents et les chromosomes restent à l'état d'univalents, ségrégeant aléatoirement. Ce phénotype est similaire à celui des plantes mutantes Dmcl. Le gène *Asy1* est l'acteur principal de la formation du complexe synaptonémal ; une mutation au sein de ce gène entrainerait l'absence de la formation de bivalents. Les chromosomes se comportent alors comme des univalents (Hollingsworth *et al.*, 1990; Caryl *et al.* 2000 *in* Dumont, 2011). D'après Kravets, (2012) et Reis *et al.* (2015) les univalents peuvent aussi être une conséquence du phénomène de la cytomixie.

I-3-3-4- Chromosomes agglutinés

Les chromosomes agglutinés sont caractérisés par un regroupement intense de chromosomes durant une des phases de la division cellulaire (Rao *et al.*, 1990) qui peut être causé par des facteurs environnementaux tels que les rayons x, la température, les compositions du sol (Mendes *et al.*, 2001), ou par le contrôle génétique (Généralement ce phénomène affecte la viabilité des grains de pollen et contribue à la formation d'autres anomalies telles que les monades, les dyades et les triades (Pagliarini 2000; Mendes *et al.*, 2001; Kiihl, 2011).

Le chromosome agglutiné a été rapporté pour la première fois par Beadle (1932) chez le maïs, et il propose que cette anomalie serait causée par une mutation d'un gène récessif dit Sticky (st), ou par l'interaction de plusieurs gènes pouvant être récessifs ou dominants, qui contrôlent et affectent la microsporogénèse en provoquant des changements dans l'organisation structurelle de chromosomes (Singh, 1993). Koernicke (1905) le considère comme un effet de la fragmentation au niveau de la prophase I. Dowd *et al.* (1986) déclarent que cette irrégularité est généralement associée à des cassures chromosomiques et fragments acentriques de différentes tailles qui peuvent donner naissance à un micronoyau (Pessim *et al.*, 2015).

I-3-3-5- Divisions asynchrones

Whelan *et al.*(1969) rapportent que la synchronisation des méiocytes est liée à la présence des connexions cytoplasmiques au cours de la méiose I, tandis que l'absence de ces connexions induit une grande asynchronisation. Cette anomalie a été également observée par Sampson, (1981) chez la famille primitive des Winteraceae, où il suggère qu'il existe deux types de division, synchrone et asynchrone. Dans le type synchrone, les quatre grains de pollen sont exactement au même stade de division au cours de la formation des noyaux et des connexions cytoplasmiques relativement grandes relient les membres d'une tétrade. Dans le type asynchrone, les quatre grains de pollen ne sont pas exactement au même stade de la division nucléaire; dans cette division, les connexions cytoplasmiques sont absentes. Chaque type est restreint à un taxon particulier.

I-3-3-6- Les cellules multipolaires

Les cellules multipolaires sont considérées comme une conséquence des chromosomes retardataires, ou des univalents observés en anaphase et en métaphase (Souza *et al.*, 2010). Les divisions asynchrones induiraient la formation de triades (Risso-Pascotto *et al.*, 2003). La présence de chromosomes agglutinés vérifiée pendant les phases de méiose qui précèdent le clivage du cytoplasme peut causer une défaillance dans le processus de la cytokinèse, formant des triades, des dyades et des monades. Selon Endow (1999), l'organisation irrégulière des fuseaux induit la formation d'un fuseau tripolaire également appelé fuseau convergent ou fuseau en V (Risso-Pascotto *et al.*,2003). Cette irrégularité peut entraîner la fusion de deux noyaux proches, à l'origine de triades au lieu de tétrades à la fin de la méiose (Risso- Pascotto, *et al.*, 2012). L'organisation irrégulière des fuseaux est due à une mutation du gène qui contrôle la division méiotique (Bellucci *et al.*, 2003).

II- Matériel et méthodes

II- 1- Matériel végétal

II- 1- 1- Les espèces de *Salvia* étudiées

Notre travail est basé sur l'étude de la mitose, la méiose et la fertilité pollinique chez quelques populations de trois espèces de *Salvia*: *S. verbenaca* L. (Figure 5), *S. Lanigera* Poir. (Figure 6), et *S. viridis* L. (Figure 7) afin d'en déterminer les nombres chromosomiques, de noter les différentes anomalies méiotiques et d'estimer les taux de fertilités polliniques. Les populations étudiées sont données en Tableau III.



Fig. 5: *Salvia verbenaca* à petites fleurs violettes à poils courts et sans glandes.



Fig. 6: *Salvia lanigera* à grandes fleurs bleu-violacé, et à poils glanduleux.



Fig. 7: *Salvia viridis* à fleurs rosées, assez petites, à calice velu.

Tab. III: Origine géographique, dates et heures de récolte des boutons floraux des 13 populations de *Salvia* étudiées (cinq de *S. verbenaca*, six de *S. lanigera*, et deux de *S. viridis*).

Espèce	Zone de prélèvement	Nombre de populations	Date et heure de récolte	Repères GPS
<i>S. verbenaca</i>	Oued Ghir (pompa)	1	20/03/2018 à 9 h 30	36°42'22.05"N 4°57'39.40"E Alt. : 19m
	Kherrata	2	22/04/2018 à 13 h 40 16/03/2018 à 10 h 00	
	Azekri	1	03/03/2018 à 11 h 00	Gps: 36°31' 52.86"N 4°35' 41.37"E Alt: 367 m
	Timezrit (Tala n' Tzourine)	1	05/04/2018 à 9 h 30	
<i>S. lanigera</i>	Bouira (Crête Rouge)	1	25/02/2018 à 10 h 00	
	Oued Ghir (Amadane Cimetiere)	1	03/04/2018 à 9 h 30	36°42'46.30"N 4°57'22.70"E Alt. : 106m
	Timezri (Tala n' Tzourine)	1	27/03/2018 à 9 h 30	
	Ighzer Amokrane (Chikhoune)	1	03/03/2018 à 14 h 30	Gps: 36°31' 37.71'' N 4°35' 42.36'' E Alt: 195 m
	Akbou	1	10/03/2017 à 10 h 30	Gps: 36°27' 19.17"N 4°31' 47.65"E Alt: 225 m
	Sedouk	1	11/02/2017 10 h 00	Gps: 36°32'44. "N 4°41'31.49"E Alt: 367 m
<i>S. viridis</i>	Ighzer Amokrane (Thaassasth)	1	01/04/2018 à 14 h 56	
	Ighzer Amokrane (Azekri)	1	07/04/2018 à 10h 00	Gps: 36°31' 52.86'' N 4°35' 41.37'' E Alt: 367 m

II- 2- Préparation des solutions

II – 2- 1- Préparation du fixateur

Le fixateur Carnoy II est un mélange de 6 V d'éthanol, 3 V de chloroforme et 1 V d'acide acétique. Son rôle dans la cytogénétique est d'assurer un arrêt rapide des divisions cellulaires sans détruire la structure chromosomique et une bonne conservation du matériel

végétal pendant une longue période par son rôle aseptisant, lorsqu'il est conservé à l'obscurité à 4°C (Jahier *et al.*, 1992).

II- 2- 2- Préparation du colorant

▪ Orcéine lacto-propionique

Le colorant utilisé est à base d'orcéine lacto-propionique et préparé selon Dyer (1963) modifié selon Löve and Löve (1975). Dans un grand erlenmeyer, on dissout 2g d'orcéine dans 23ml d'acide propionique et 23ml d'acide lactique, ensuite on ajoute de l'eau distillée jusqu'à 100ml et on agite bien la solution puis on filtre. Ainsi, La solution d'orcéine obtenue se conserve longtemps dans un flacon en verre fumé.

II- 3- Etude de la méiose

II- 3 - 1- Echantillonnage

Durant la période de floraison, sous des conditions de température fraîche et d'humidité optimale, les premières jeunes inflorescences sont prélevées immédiatement dans des tubes à essai contenant la solution de fixateur Carnoy II (voir la préparation des solutions). L'origine géographique des populations et les dates de récolte des boutons floraux sont regroupées dans le Tableau III.

II- 3- 2 - Les étapes de l'étude de la méiose

Cette analyse est réalisée sur des anthères des fleurs médianes et des fleurs latérales de très jeunes boutons floraux où les cellules mères polliniques (CMPs) sont en division méiotique. Cela consiste à réaliser d'abord une coloration des anthères à l'orcéine lacto-propionique pour ensuite les préparer à l'observation au microscope photonique. Le stade métaphase I est particulièrement intéressant pour les dénombrements chromosomiques, les autres stades sont également pris en considération pour leur importance dans la mise en évidence des éventuelles irrégularités (divisions asynchrones, chromosomes retardataires, ponts chromatiques, cytomixie...). Pour avoir de bonnes observations nous avons suivi les étapes suivantes :

- **Récupération des anthères**

Sous une loupe binoculaire, on a séparé pour chaque triplet d'un verticillastre les deux fleurs latérales de la fleur médiane d'un bouton floral à l'aide de deux pinces. Puis, chaque fleur choisie est prise isolément dans une goutte d'eau sur une lame porte objet afin de la disséquer avec deux aiguilles pour en faire sortir les deux anthères qu'on sépare l'une de l'autre. On sèche à l'aide du papier absorbant la goutte d'eau et on passe directement à l'hydrolyse (voir ci-après).

La principale difficulté dans cette étape est de trouver les anthères au moment où les CMPs subissent la méiose.

- **Hydrolyse**

Une hydrolyse acide est réalisée pendant 5 minutes dans une goutte d'HCl 1N au bain-marie 60°C. Cette opération permet de ramollir les parois pecto-cellulosiques des cellules. En outre, l'acide chlorhydrique libère les groupements aldéhydiques sur les molécules de sucre de l'ADN par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose. (Jahier *et al.*, 1992).

- **Coloration**

Après l'hydrolyse des anthères, on sèche la goutte d'HCl avec du papier absorbant et on ajoute une goutte de colorant puis on les remet au bain-marie à 60°C pendant 6 minutes. Le colorant se fixe sur les groupements aldéhydiques pour donner une coloration rouge aux chromosomes (Jahier *et al.*, 1992).

La préparation est ensuite recouverte d'une lamelle.

- **Ecrasement**

Les anthères sont écrasées entre lame et lamelle en exerçant une légère pression avec le pouce pour libérer les cellules mères polliniques.

- **Observation**

L'observation porte généralement en priorité sur les configurations chromosomiques présentes à la métaphase I.

Sous un microscope photonique, les CMPs en division sont observées avec un objectif de grossissement ($G = 10$) ou ($G = 40$). Pour pouvoir compter les chromosomes, on passe au grossissement supérieur ($G = 100$) après avoir déposé une goutte d'huile à immersion.

Les préparations réussies seront marquées et lutées avec du vernis à ongles transparent pour les photographier et ensuite les conserver au réfrigérateur à 4°C.

- **Photographie**

A l'aide d'un appareil photo (OPTIKAM Pro 3) adaptable sur un microscope photonique triloculaire (OPTIKA -B-350), les lames lutées sont photographiées avec un objectif de grossissement ($G = 100$).

II- 4- Etude de la mitose

L'origine géographique et les dates de récolte des graines des cinq populations de *Salvia* sont regroupées dans le tableau IV suivant:

Tab. IV : Origine géographique et dates de récolte des graines de *Salvia verbenaca*, *S. lanigera* et *S. viridis* étudiées.

Espèce	Nombre de populations	Zone de récolte	Date de récolte
<i>S. verbenaca</i>	1	Azekri (Ighzer Amokrane)	02/04/2016
<i>S. lanigera</i>	1	Azekri (Ighzer Amokrane)	30/04/2016
	1	Oued Abdi (Batna)	30/05/2016
<i>S. viridis</i>	1	Azekri (Ighzer Amokrane)	08/05/2016
	1	Béjaia	24/05/2016

- **Germination des graines**

Les graines sont mises à germer à température ambiante dans des boîtes de Pétri tapissées de papier absorbant imbibé d'eau, à l'obscurité. La durée de la germination varie entre 3 à 6 jours selon l'espèce.

- **Prétraitement**

Nous avons déterminé la période de la journée pendant laquelle le coefficient mitotique était le plus important; celle-ci se situe le plus souvent entre 9h et 13h. Pour bloquer les divisions mitotiques au stade métaphase et contracter les chromosomes, les méristèmes primaires des racines en croissance active sont prélevés le matin et immergées immédiatement dans une solution de 8- hydroxyquinoleine (0.002%) pendant 2 à 3h à température ambiante, à l'obscurité. La 8- hydroxyquinoleine inhibe la formation du fuseau achromatique et retarde la division du centromère et permet également l'éparpillement des chromosomes dans la cellule et l'obtention d'un indice mitotique élevé.

- **Fixation et conservation**

Les racines sont ensuite fixées dans de l'éthanol acétique (3:1 v/v) à 4°C pour bloquer toute évolution des divisions et permettre la conservation de l'intégrité structurale des chromosomes.

- **Hydrolyse**

Les pointes racinaires sont hydrolysées dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl 1N) à 60°C au bain-marie pendant 7 min. L'hydrolyse a pour but de ramollir les méristèmes primaires et de libérer les groupements aldéhydes de l'ADN. Elle facilite, par ailleurs, l'écrasement et l'étalement des cellules.

- **Coloration**

Les extrémités racinaires sont colorées à l'orcéine lacto-propionique durant 10 min à 60°C au bain-marie.

- **Ecrasement**

L'écrasement est effectué par la technique du squash qui consiste à écraser les méristèmes racinaires entre lame et lamelle dans une gouttelette d'orcéine lacto-propionique par un léger appui sec avec le pouce. Si l'écrasement n'est pas suffisant on tapote légèrement avec la tête d'une tige en bois pour mieux étaler les cellules méristématiques.

- **Observation et photographie**

L'observation des chromosomes en mitose se fait immédiatement après écrasement des racines colorées. Les cellules en division sont repérées au microscope photonique d'abord au faible grossissement ($G=10$). Pour une meilleure visualisation de l'image, le grossissement ($G=100$) est utilisé après avoir déposé une goutte d'huile à immersion. Les cellules en division seront photographiées à l'aide d'un appareil photo (OPTIKAM Pro 3) adaptable sur un microscope photonique triloculaire (OPTIKA -B-350).

II- 5- Étude de la fertilité pollinique

L'étude de la fertilité pollinique est réalisée sur des fleurs (médianes et latérales) matures avant anthèse. La technique utilisée est inspirée du protocole de Mertens and Hammersmith (1998) qui consiste à réaliser une coloration au bleu de coton. Sur une lame porte objet, les anthères de chaque fleur sont dégagées des autres pièces florales et sont ensuite disséquées dans une goutte d'eau à l'aide de deux aiguilles pour libérer le pollen sous une loupe binoculaire. Une goutte de bleu de coton est déposée sur les grains de pollen après avoir éliminé les débris des anthères. La lame est ensuite recouverte d'une lamelle. Après coloration, le pollen est observé au microscope optique à l'objectif $\times 10$. Entre 400 et 600 grains de pollen sont observés pour compter le nombre de grains normaux (fertiles) et le nombre de grains anormaux (stériles). Les grains de pollen colorés uniformément et ayant une forme bien définie sont considérés comme viables et fertiles, alors que ceux de forme et de taille anormales et non colorés uniformément sont considérés comme non viables et stériles.

Taux de la fertilité pollinique (TF) est calculé selon la formule suivante :

$$TF(\%) = \frac{F}{(F+S)} \times 100.$$

Avec :

TF: Taux de fertilité pollinique (en %) ;

F: Nombre de grains de pollen fertiles (normaux);

S: Nombre de grain de pollen stériles (anormaux).

III-1-Résultats

III-1- 1- Analyse de la méiose

III-1-1-1- Dénombrements chromosomiques

- *Salvia verbenaca*

Chez les quatre populations de *Salvia verbenaca* localisées dans la région de : Azekri, Kherrata, Timezrit, et Oued Ghir nous nous avons pu observer 28 bivalents que nous interprétons comme un octaploïde avec $2n=8x=56$ (Figure 8) avec un nombre chromosomique de base $x = 7$ signalé par Afzal-Rafii (1972).

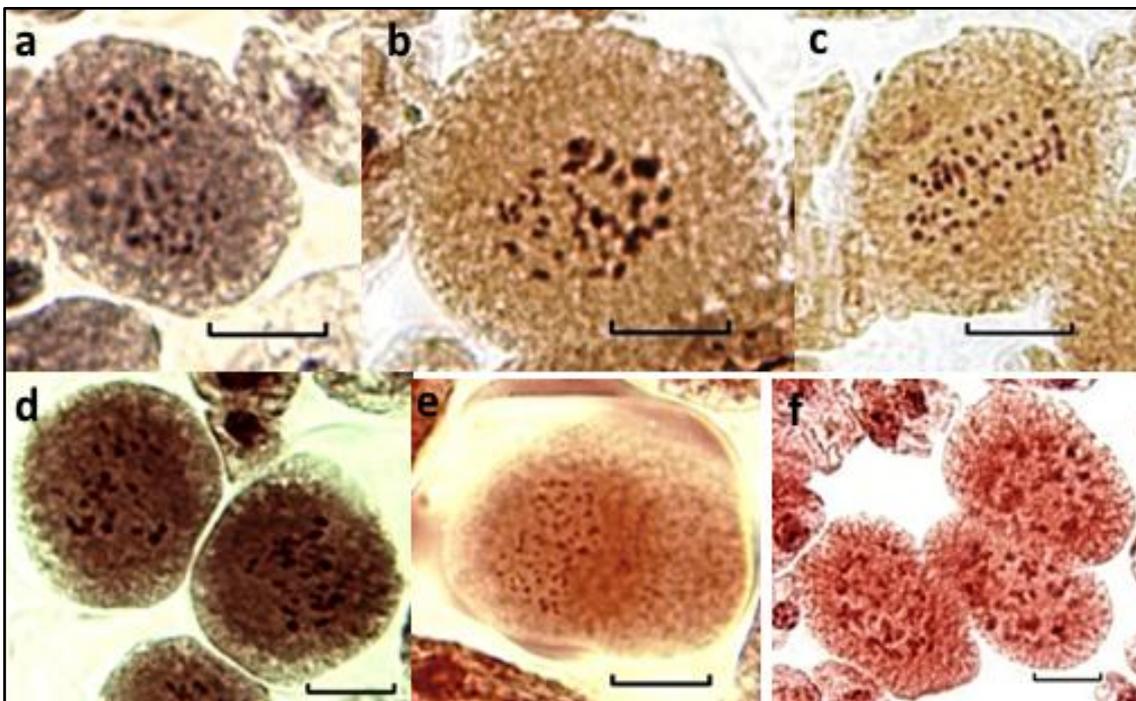


Fig. 8: Dénombrements chromosomiques en méiose de différentes populations octaploïdes ($2n = 8x = 56$) de *Salvia verbenaca* de la région de Béjaïa. a: population d’Azekri (28 bivalents en métaphase II) ; b, c : population de Kherrata (28 bivalents en métaphase I et 56 univalents en anaphase I respectivement) ; d, e: population de Timezrit (28 bivalents en Métaphase I et 56 univalents anaphase II) ; f: population de pompa de Oued Ghir (28 bivalents en Métaphase I). Barre d’échelle = 10 μ m.

Chez la population de Kherrata, nous avons observé 14 bivalents que nous interprétons comme un tétraploïde à $2n=4x=28$ (Figure 9) avec un nombre de base $x=7$.

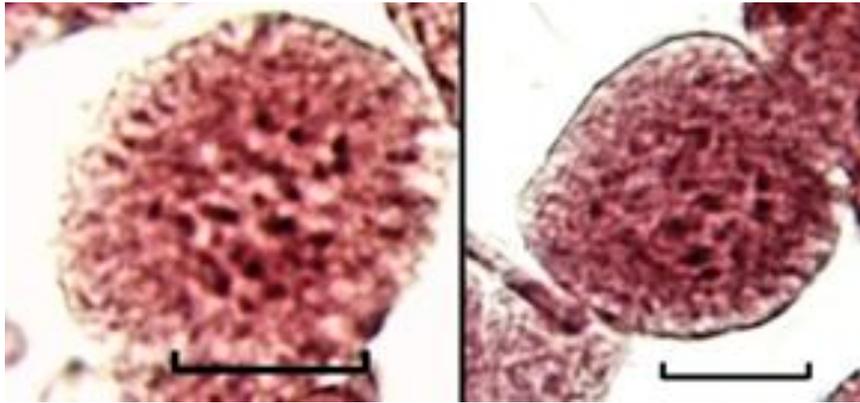


Fig. 9: Dénombrement chromosomique chez *Salvia verbenaca* de la population de Kherrata en métaphase I de la méiose avec 14 bivalents ($2n=4x=28$). Barre d'échelle = 10 μ m.

- *Salvia lanigera*

Pour cette espèce, nous avons étudié deux populations (Chikhouné et Akbou) où nous avons observé 18 bivalents en métaphase I correspondant à un nombre chromosomique de $2n=4x=36$ (cytotype tétraploïde) (Figure 10) avec un nombre chromosomique de base $x=9$ signalé par Lifante *et al.*, (1992, *in* Ranjbar, 2015).

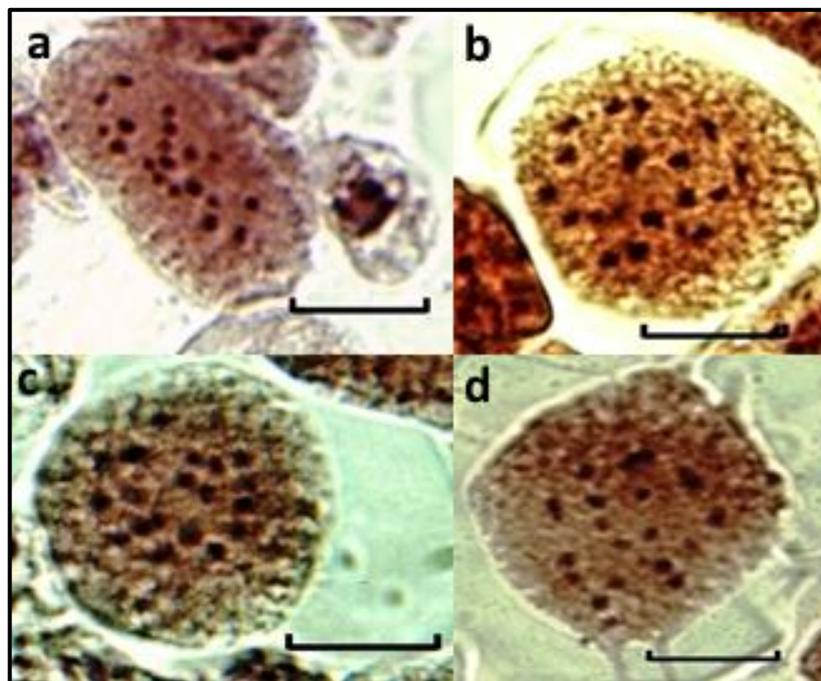


Fig. 10: Dénombrement chromosomique de *Salvia lanigera* en métaphase I de la méiose avec 18 bivalents chez les deux populations tétraploïdes ($2n=4x=36$). a, b : population de Chikhouné ; c, d : population d'Akbou. Barre d'échelle = 10 μ m.

Chez les deux populations d'Amadane cimetière (Oued Ghir) et la Crête rouge (Bouira) de *Salvia lanigera*, nous avons compté 21 bivalents avec un nombre chromosomique de $2n=6x=42$ (hexaplo ide) (Figure 11) avec $x=7$ signalé par Kamari (1996).

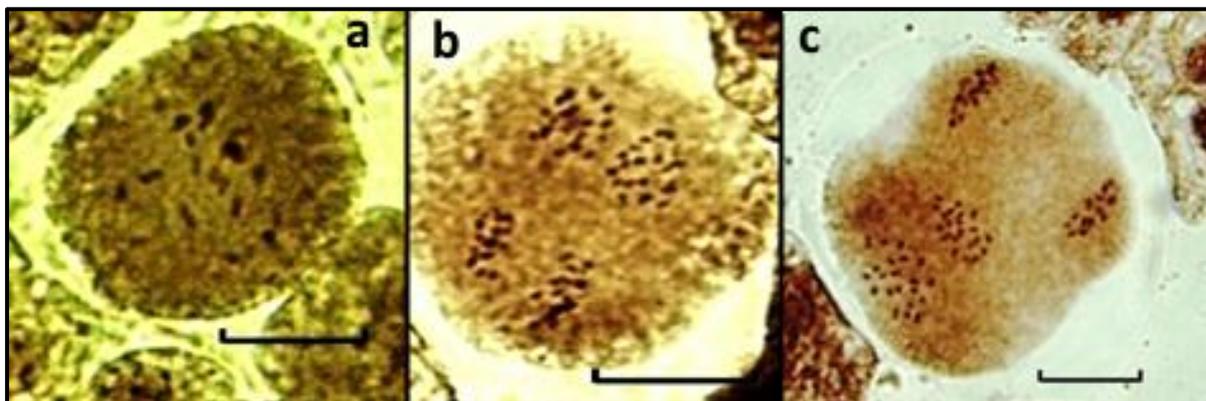


Fig. 11: Dénombrement chromosomique en méiose de *Salvia lanigera* avec 21 bivalents chez deux populations hexaplo ide. a : population d'Amadane (Oued Ghir) en Métaphase I ; b : population d'Amadane (Oued Ghir) en anaphase II ; c : population de la Crête Rouge en Anaphase II. Barre d'échelle = 10 μ m.

- *Salvia viridis*

Chez les deux populations de Thaassasth et Azekri, nous avons observé différents nombres chromosomiques (7, 8...bivalents), mais le nombre le plus fréquent est 8 bivalents inerpr t  comme un cytotype diplo ide   $2n=2x=16$ (Figure 12) avec $x=8$ comme nombre de base signalé par Afzal-Rafii, (1972, 1981).

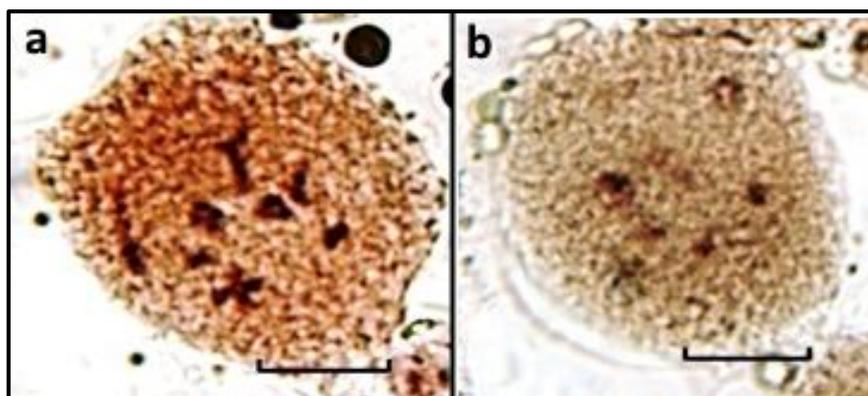


Fig. 12: Dénombrement chromosomique chez *Salvia viridis* en métaphase I de la méiose chez les deux populations diplo ides. a: Thaassasth (8 bivalents); b: Azekri (7 bivalents). Barre d'échelle =10 μ m.

III-1-1-2- Analyse des étapes de la méiose

Les différentes phases de la méiose pollinique observées chez les populations *Salvia* que nous avons étudiées sont illustrées dans la Figure 13.

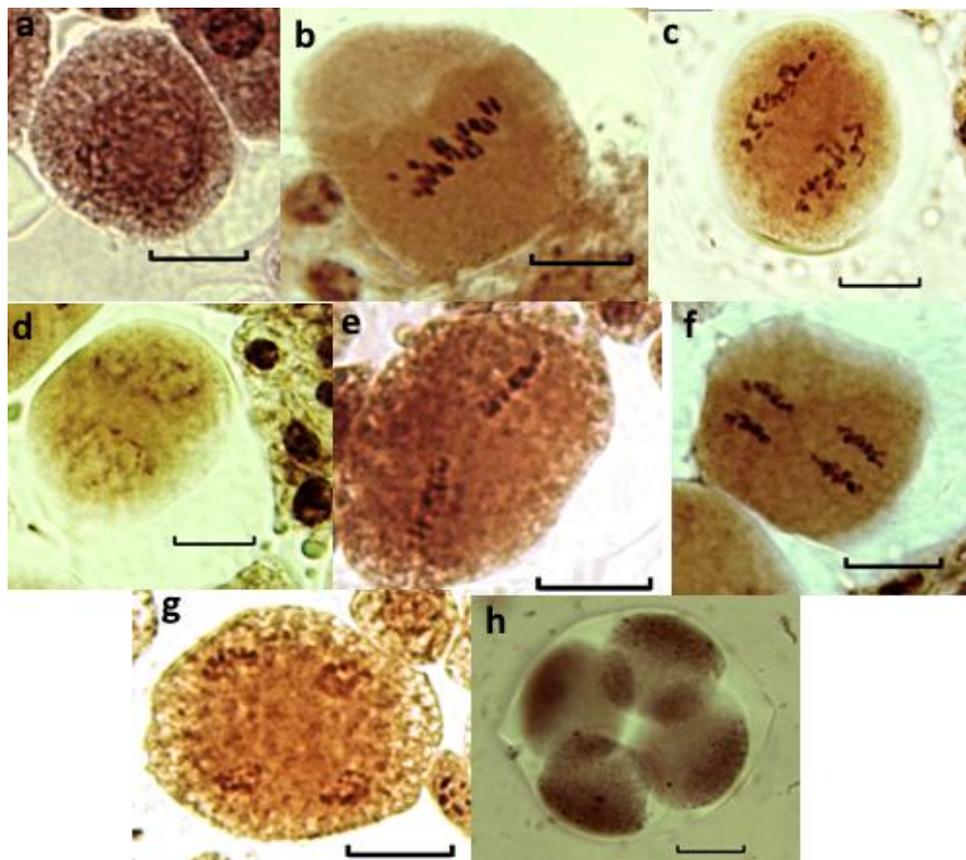


Fig. 13: Les différents stades de la méiose pollinique de *Salvia* : a : prophase I ; b : métaphase I ; c : anaphase I ; d : prophase II ; e : métaphase II ; f : anaphase II ; g : télophase ; h : tétrades. Barre d'échelle = 10 μ m.

III-1-1-3- Nombre des cellules analysées

Les nombres des cellules mères polliniques (CMPs) en division méiotique avec les différentes anomalies sont présentés dans les Tableaux V-X:

Tab. V: Nombre des CMPs en division méiotique avec les anomalies chez les deux espèces de *Salvia verbenaca* de Kherrata et *S. lanigera* d'Amadane cimetièrè (Oued Ghir). Fm = fleur médiane ; fl = fleur latérale; cv = cellule viables; cnv = cellules non viables.

Population	<i>S. verbenaca</i>		Nombre de cellules	<i>S. lanigera</i>		Nombre de cellules
	Kherrata			Amadane cimetièrè		
Fleurs	fm	fl	/	fm	fl	/
Prophases I	1394	981	2375	45	80	125
Métaphases I	31	28	66	80	0	80
Anaphases I	28	13	41	40	80	0
Prophases II	0	28	28	100	120	0
Métaphases II	0	0	0	0	20	20
Anaphases II	0	0	0	0	0	0
Télophases	10	736	746	44	32	76
Tétrades	0	0	0	13	174	187
Tétrades (3 cv+ 1cnv)	0	0	0	0	2	2
Tétrades (2 cv+ 2 cnv)	0	0	0	0	2	2
Tétrades (1 cv+ 3 cnv)	0	0	0	0	4	4
Dyades	1	0	1	0	1	1
Cytomixies	0	4	4	0	0	0
Nombre total de cellules	1464	1790	3254	322	515	837

Tab. VI: Nombre de CMPs en division méiotique avec des anomalies des deux populations de Chikhoune et Akbou de *S. lanigera*. Fm = fleur médiane, fl = fleur latérale ; cv = cellule viables; cnv = cellules non viables.

Population	<i>S. lanigera</i>		Nombre de cellules	<i>S. lanigera</i>		Nombre de cellules
	Chikhoune			Akbou		
Fleurs	fm	fl	/	fm	fl	/
Prophases I	0	151	151	0	0	0
Télophases II	0	847	847	0	0	0
Tétrades	0	3252	3252	191	461	652
Tétrades à cnv	0	4	4	0	0	0
Tétrades (2 cv+ 2 cnv)	0	19	19	0	2	2
Tétrades (3 cv+ 1cnv)	0	108	108	0	0	0
Tétrades (1cv +3 cnv)	0	5	5	0	0	0
Tétrades + 1 mn	0	3	3	0	0	0
Tétrades + 2 mn	0	2	2	0	0	0
Dyades	0	0	0	3	16	19
Triades	0	86	86	121	481	602
Triades (2 cv +1 cnv)	0	2	2	0	3	3
Triades (1 cv+ 2cnv)	0	3	3	0	1	1
Triades+ 3 mn	0	2	2	0	0	0
Pentades	0	1	1	0	0	0
Nombre total des c	0	4485	4485	191	461	1279

Tab. VII: Nombre des CMP en division méiotique avec des anomalies des deux populations (Timezrit et Kherrata 2) pour *S. verbenaca*. fm = fleur médiane, fl= fleur latérale ; cv = cellule viables ; cnv : cellules non viables ; mn= micronoyau.

Population	<i>S. verbenaca</i>		Nombre de cellules	<i>S. verbenaca</i>		Nombre de cellules
	Timezrit			Kherrata2		
Fleurs	fm	fl	/	fm	fl	/
Prophases I	0	205	205	144	150	194
Métaphases I	125	318	443	0	20	20
Anaphases I	3	44	32	0	9	9
Prophases II	87	347	434	0	150	150
Métaphases II	0	241	241	0	15	15
Anaphases II	5	4	9	0	8	8
Télophases	190	397	587	215	0	215
Tétrades	162	16	208	10	239	249
Tétrades (cv et 2 cnv)	12	0	12	0	0	0
Tétrades (1 cv et 3 cnv)	3	0	3	0	0	0
Dyades + 2nm	1	0	1	0	0	0
Triades	5	0	5	0	34	0
Pentades	0	0	0	0	3	3
Tétrades (1 cv+3 cnv+mn)	1	0	0	0	0	0
Cytomixies entre 2 cellules	0	1	0	0	0	0
Nombre total des cellules	594	1573	2167	429	628	1057

Tab. VIII : Nombres de CMPs en division méiotique et de CMPs avec des anomalies pour la population de la Crête rouge chez *Salvia lanigera* et la population de Oued Ghir de *S. verbenaca*; fm = fleur médiane, fl= fleur latérale ; cv = cellule viables; cnv = cellules non viables.

Population	<i>S. lanigera</i>		Nombre de cellules	<i>S. verbenaca</i>		Nombre de cellules
	Crête rouge			Oued Ghir pompa		
Fleurs	fm	fl	/	fm	fl	/
Prophases I	2833	1189	4022	107	334	441
Métaphases I	191	0	191	125	7	132
Anaphases I	4	5	9	0	0	0
Prophases II	18	0	18	0	0	0
Métaphases II	9	0	9	189	3	192
Anaphases II	14	5	19	0	0	0
Télophases	407	288	695	2	221	223
Tétrades	222	99	321	172	403	575
Tétrades (3 cv+1nv)	0	0	0	3	4	7
Dyades	7	0	7	0	0	0
Triades	0	22	22	0	0	0
Pentades	0	1	1	0	0	0
Divisions asynchrones	2	0	2	0	0	0
Total des cellules	3704	1487	5290	598	972	1570

Tab. IX: Nombres de CMPs en division méiotique et de CMPs avec des anomalies des deux populations d'Azekri et Thaassasth chez *Salvia viridis*. fm = fleur médiane, fl= fleur latérale ; cv= cellule viables; cnv = cellules non viables ; mn= micronoyau ; cs= cellules somatiques.

Population	<i>S. viridis</i>		Nombre de cellules	<i>S. viridis</i>		Nombre de cellules
	Thaassasth		/	Azekri		/
Fleurs	fm	fl	/	fm	fl	/
Prophases I	977	0	977	1000	0	1000
Métaphases I	1000	0	1000	1219	0	1219
Télophases	0	100	100	0	187	187
Fins de télophase	0	700	700	0	1056	1056
Tétrades	800	243	1043	1113	500	1613
Tétrades à 3 cv et 1cnv	28	26	54	60	20	80
Tétrades à 2cv+ 2 cnv	8	0	8	13	5	18
Tétrades à 1 cv et cnv	1	0	1	1	1	2
Triades	0	2	2	0	3	3
Triades + 2 mn	0	0	0	1	0	1
Cytomixies entre 2 cellules	12	0	12	20	0	20
Cytomixies entre 3 cellules	6	0	6	6	0	6
Cytomixies entre 4 cellules	7	0	7	0	0	0
Cytomixies entre 5 cellules	1	0	1	0	0	0
Cytomixies (plusieurs cellules)	0	0	0	1	1	2
Cytomixies (CMP et cs)	6	0	6	6	0	6
Tétrades +1mn	1	0	1	1	0	1
Nombre total de cellules	2847	1071	3918	3441	1773	5214

Tab. X: Nombres de CMPs en division méiotique et de CMPs avec des anomalies pour la population de Azekri de *S. verbenaca*. . fm = fleur médiane, fl= fleur latérale ; cv = cellule viables; cnv = cellules non viables.

Espèce	<i>S. verbinaca</i>		Nombre de cellules
station	Azekri		/
Fleurs	fm	fl	/
prophases I	257	475	732
Métaphases I	169	125	294
Anaphases I	12	30	32
Métaphases II	80	4	84
Anaphases II	11	31	42
télophases	474	0	474
Fins de télophase	71	0	71
Tétrades	74	319	
Tétrades (3 cv+ 1cnv)	0	2	2
Tétrades (1 cv+ cnv)	0	1	1
Triades	16	5	21
Triades + 2mn	1	0	1
Nombre total de cellules	1165	992	2157

III-1-1-4- Anomalies méiotiques

Quelques anomalies ont été révélées lors de l'étude du déroulement de la méiose.

- **Anomalies de télophase**

Les anomalies de télophase que nous avons observées sont illustrées en Figure 14.

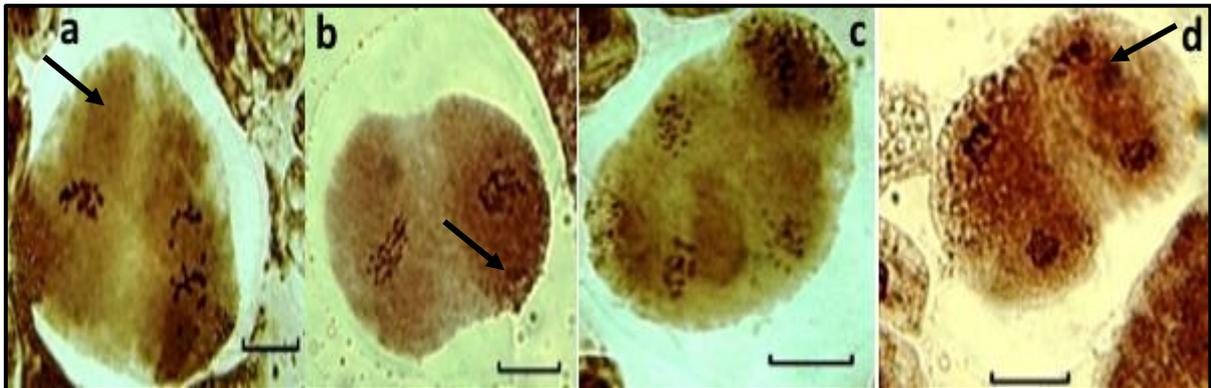


Fig. 14 : Anomalies de télophase. a : 3 cellules viables et une non viables; b : une dyade avec un micronoyau; c : une pentade; d : tétrade avec un micronoyau. (Voir Flèches). Barre d'échelle = 10 μ m.

- **Cellules multipolaires**
- **Tétrades aux cellules non viables**



Fig. 15. Tétrades aux cellules non viables (**Flèches**). a : tétrades à 4 cellules non viables; b : tétrades à 3 cellules viables et une non viable; c : tétrades à 2 cellules viables et 2 non viables; d : tétrades à 1 cellule viable + 3 cellules non viables. Barre d'échelle = 10 μ m.

- Triades

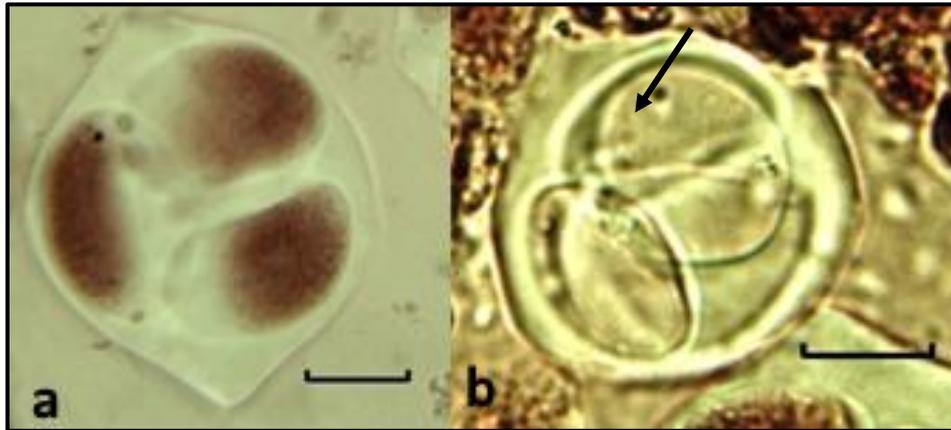


Fig. 16. Triades. a: triade viable ; b : triade à cellules non viables (**Flèches**). Barre d'échelle = 10 μ m.

- Divisions asynchrones

Correspondent à des divisions nucléaires dans deux phases différentes (Fig.17).

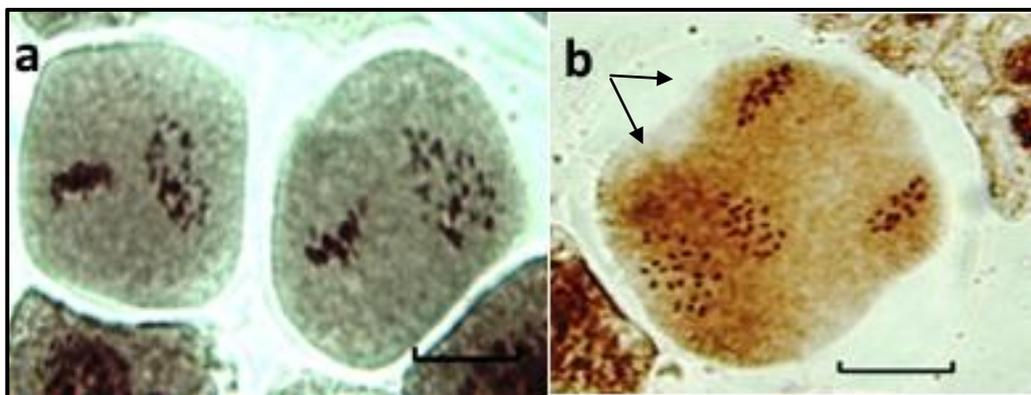


Fig. 17. Cellules à divisions asynchrones (**Flèches**). A : en métaphase I ; b: en anaphase II. Barre d'échelle = 10 μ m.

- chromosomes agglutinés

C'est un regroupement intense de chromosomes durant une des phases de la méiose (Fig. 18).

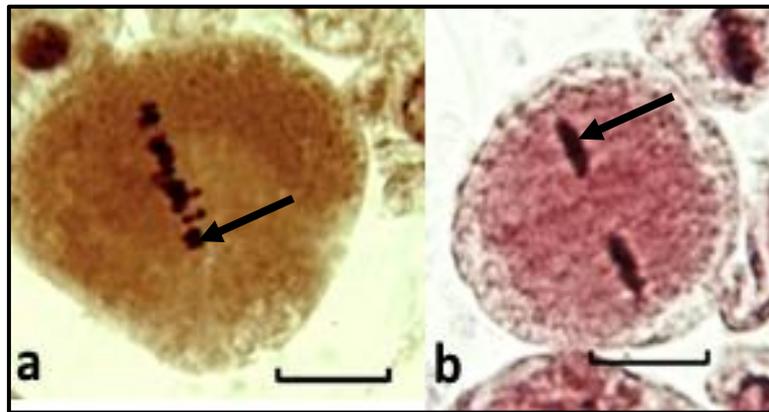


Fig. 18. Cellules avec des chromosomes agglutinés (Flèches). A : Chromosomes agglutinés en métaphase I ; b : Chromosomes agglutinés en anaphase I. Barre d'échelle = 10 μ m.

- Chromosomes retardataires ou univalents

Cette irrégularité se caractérise par la séparation défectueuse des chromosomes homologues lors de la métaphase I (Fig. 19).

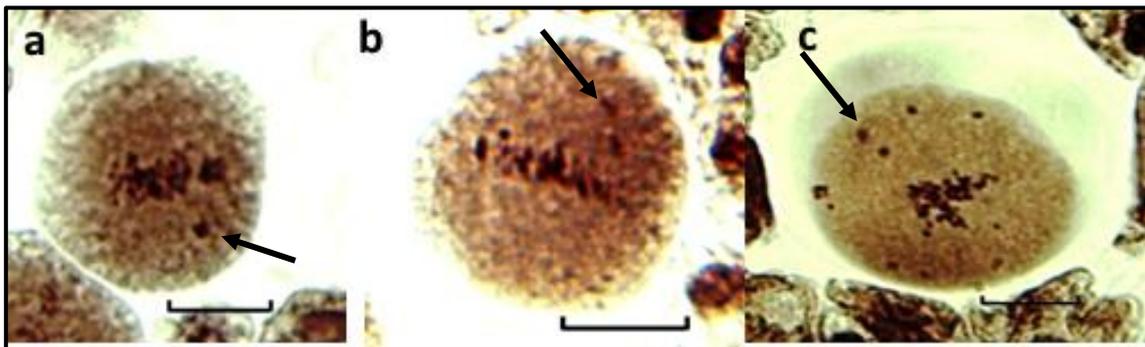


Fig 19: Cellules en métaphase I avec des chromosomes retardataires (Flèches). a: un chromosome retardataire ; b : deux chromosomes retardataires ; c : plusieurs chromosomes retardataires. Barre d'échelle = 10 μ m.

- **Micronoyaux (MN)**

Les MNs sont principalement observés dans les tétrades (Figure 20).

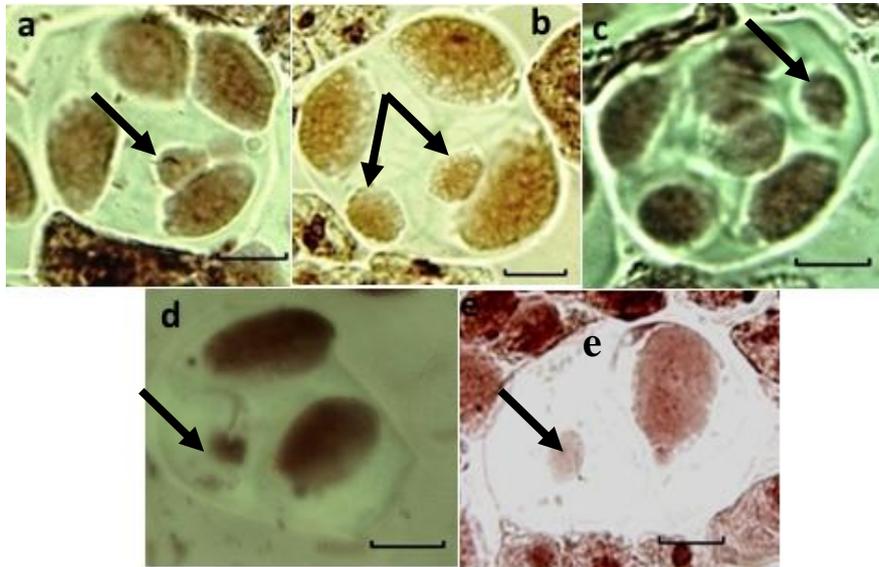


Fig 20: CMPs avec des micronoyaux chez *Salvia*. **a :** Tétrade avec un micronoyau (**Flèches**) ; **b :** Triade avec deux micronoyaux; **c :** pentade avec un micronoyau; **d :** triade (2 cellules viables et une non viable) avec un micronoyau, **e :** monade avec un micronoyau. Barre d'échelle = 10 μm

- **Cytomixie**

La cytomixie est généralement observée au stade métaphase I de la méiose pollinique (Fig. 21).

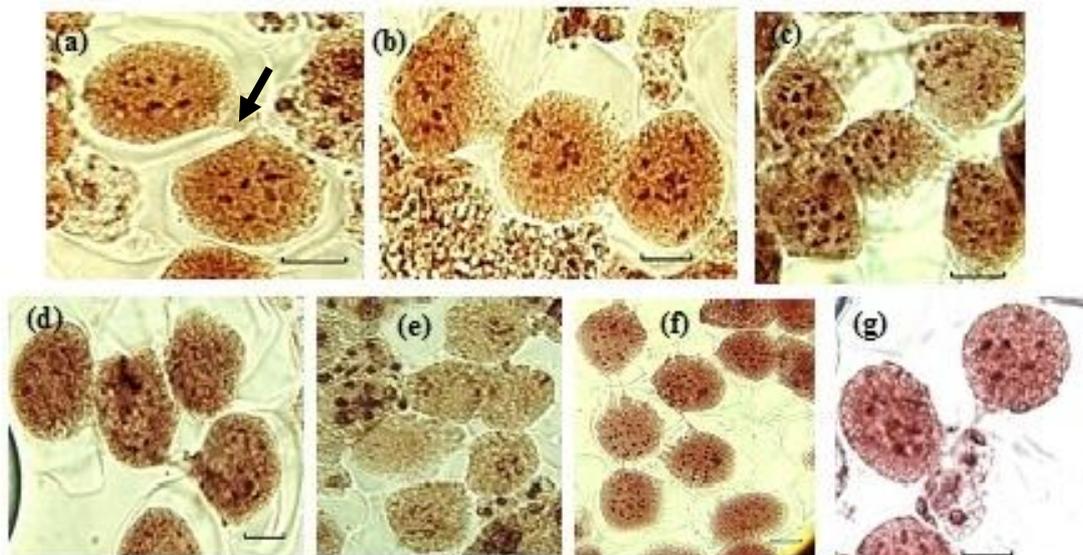


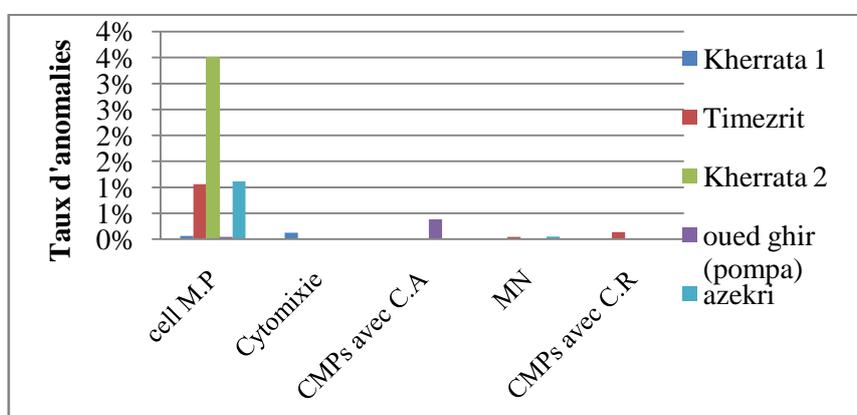
Fig. 21: Cytomixies entre les méiocytes chez *Salvia* (Flèches). **a :** Cytomixie entre deux CMPs ; **b :** Cytomixie entre trois CMPs ; **c :** Cytomixie entre cinq CMPs ; **d :** Cytomixie entre quatre CMPs ; **e, f :** Cytomixie entre plusieurs CMPs ; **g :** Cytomixie entre deux CMPs et des cellules somatiques. Barre d'échelle = 10 μm .

III-1-1-5- Taux d'anomalies observés chez les espèces étudiées

Plusieurs anomalies (Cytomixie, Cellules multipolaires, Divisions asynchrones...etc.) ont été observées en méiose chez les différentes populations étudiées. Le taux de ces irrégularités de chaque espèce est présenté dans les histogrammes (Figures 22-26) :

- *S. verbenaca*

L'anomalie la plus observée chez les populations de Kherrata 1, Timezrit, Kherrata 2, Oued Ghir (pompa) et Azekri de *S. Verbenaca* est celle des cellules multipolaires. D'autres anomalies (Cytomixie, CMPs avec chromosomes agglutinés et CMPs avec chromosomes retardataires) sont moins observées (Fig. 22) voir (annexe 1-2).

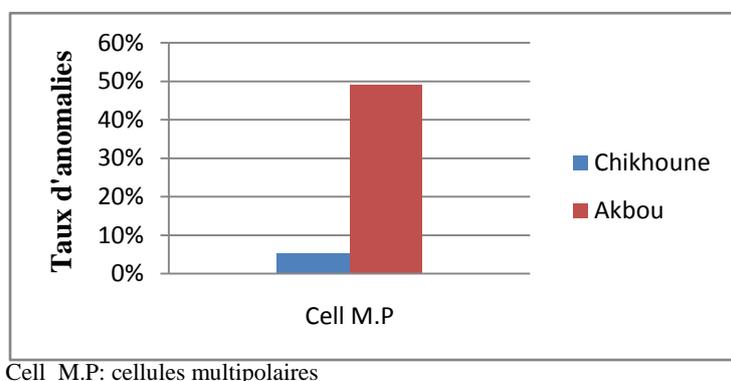


Cellules M.P: cellules multipolaires; C.A: chromosomes agglutinés; C.R: chromosomes retardataires ; MN : micronoyau

Fig. 22: Taux d'anomalies chez les populations de *Salvia verbenaca*.

- *S. lanigera*

Une seule anomalie a été observée chez les deux populations Chikhouné et Akbou de *S. lanigera*, c'est celle de cellules multipolaires (Fig. 23) voir (annexe 3).

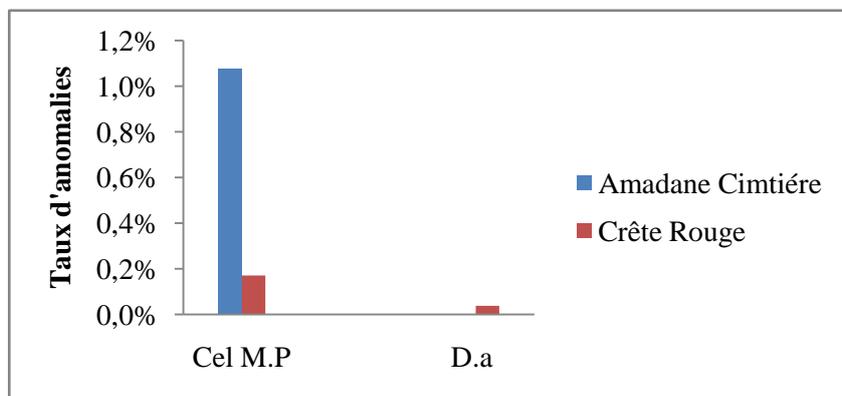


Cell M.P: cellules multipolaires

Fig. 23: Taux d'anomalies chez les deux populations Chikhouné et Akbou de *Salvia lanigera*.

- *S. lanigera hexaploïde*

Les anomalies observées sont les cellules multipolaires chez les deux populations Amadane cimetièrre et la Crête Rouge de *S. lanigera* hexaploïde et la division asynchrone chez la population de la Crête Rouge (Fig. 24) voir (annexe 4).

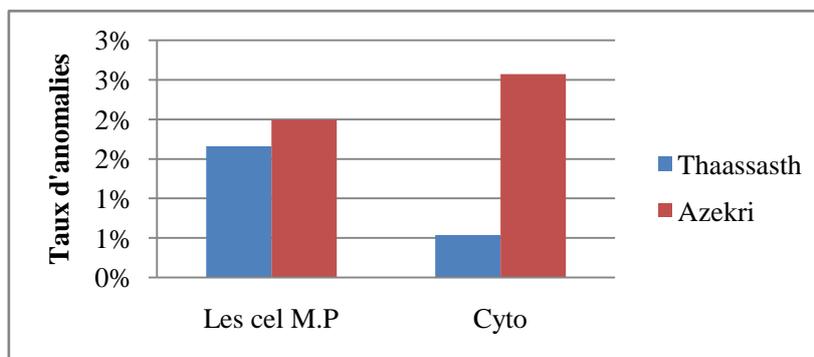


Ce M.P: cellules multipolaires; D.a : Division asynchrone

Fig. 24: Taux d'anomalies chez les deux populations Amadane cimetièrre et Crête Rouge de *Salvia lanigera*.

- *S. viridis*

Deux anomalies éventuelles (cellules multipolaires et cytomixie) ont été observées chez les deux populations Thaassasth et Azekri de *S. Viridis* (Fig. 25) voir annexe 5.



Cellules M.P: cellules multipolaires; cyto : cytomixie

Fig. 25: Taux d'anomalies chez les populations Thaassasth et Azekri de *Salvia viridis*.

III-1-2- Analyse de la fertilité pollinique

Le taux de la fertilité pollinique est estimé pour onze populations. Les grains de pollen fertiles sont de forme régulière et bien colorés tandis que les grains stériles sont de forme et de couleurs irrégulières (Fig. 26).

Les grains de pollen des espèces étudiées ont une forme sphérique et hexa-aperturée, elle est mieux observée à l'océine lacto-propionique (Fig. 27). Les taux de la fertilité sont estimés sur 50 fleurs choisies au hasard (généralement on prend trois fleurs latérales contre deux fleurs médianes).

Les grains de pollen de chaque population étudiée ont pratiquement la même forme, ils sont illustrés dans les Fig. 26 et Fig. 27.

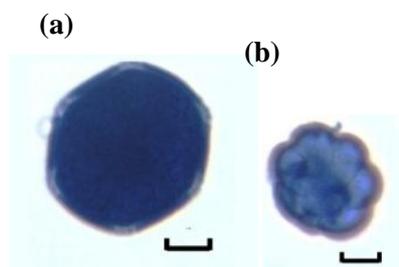


Fig. 26. Photographie des grains de pollen colorés au bleu de coton
a : grain normal (fertile),
b : grain anormal (stériles).

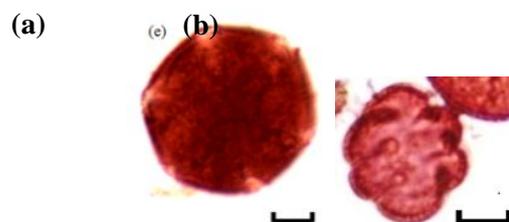


Fig.27: Photographie des grains de pollen colorés à l'orcéine lactopropionique.
a : grain fertile,
b : grain stérile.

III-1-2-1- Taux de fertilité pollinique

Les taux de la fertilité pollinique des populations étudiées sont présentés dans les histogrammes (figures 28- 31) annexes (6- 11).

- *S. verbenaca*

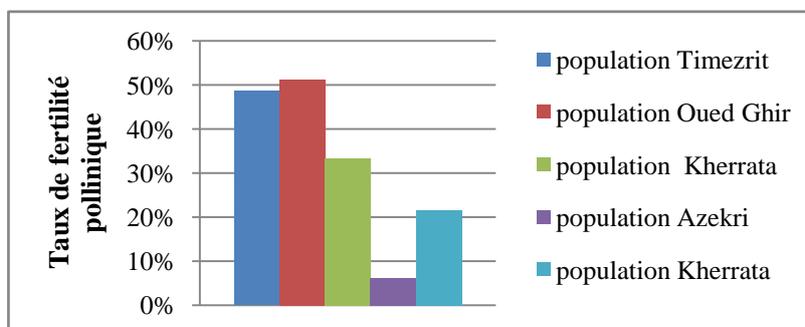


Fig. 28: Taux de fertilité pollinique chez les populations de *Salvia verbenaca*.

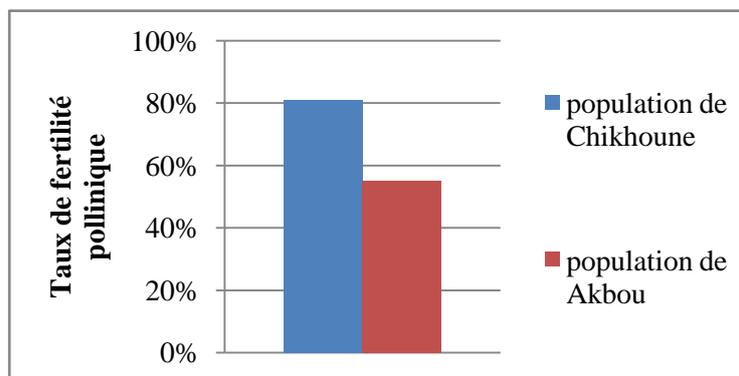
S. lanigera

Fig.29: Taux de fertilité pollinique chez les populations de *Salvia lanigera*

- *S. lanigera* hexaploïde

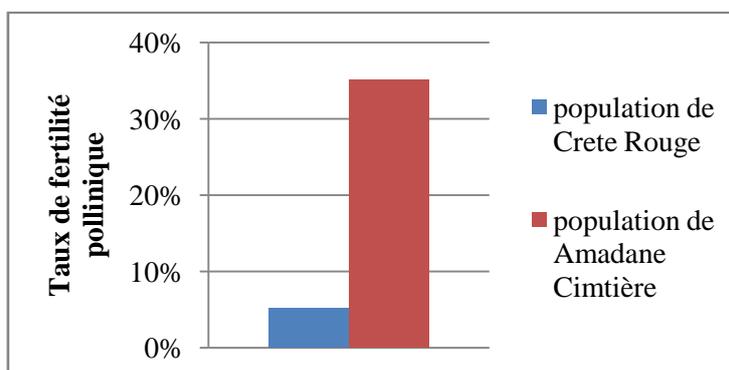


Fig. 30: Taux de fertilité pollinique chez les deux populations de *S. clandestina* 2.

- *S. viridis*

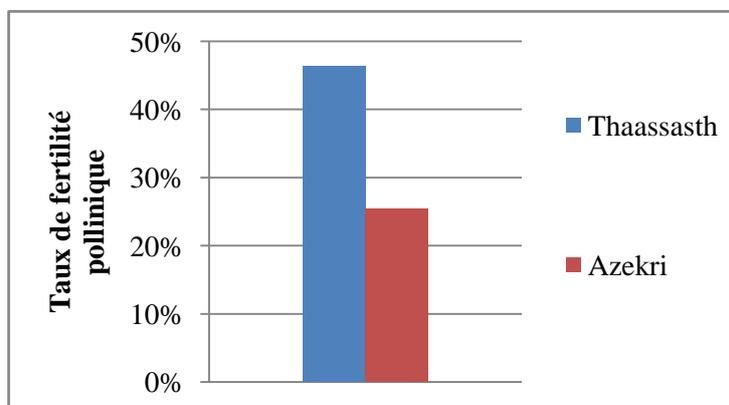


Fig. 31: Taux de fertilité pollinique chez les deux populations de *Salvia viridis*.

III-1-2-Analyse mitotique des méristèmes racinaires

III-1-2-1- Dénombrement chromosomique

L'analyse mitotique nous confirme les résultats obtenus dans l'analyse méiotique (le dénombrement chromosomique). Dans les métaphases mitotiques obtenues, les chromosomes sont bien individualisés, ce qui nous a facilité le dénombrement chromosomique.

Chez *S. lanigera* de Oued Abdi (Batna), nous avons pu compter $2n=40$; *S. lanigera* de Azekri $2n=36$; *S. verbinaca* de Azekri $2n=56$; chez *S. viridis* de Azekri et de Bejaia $2n=16$ (Fig. 32).

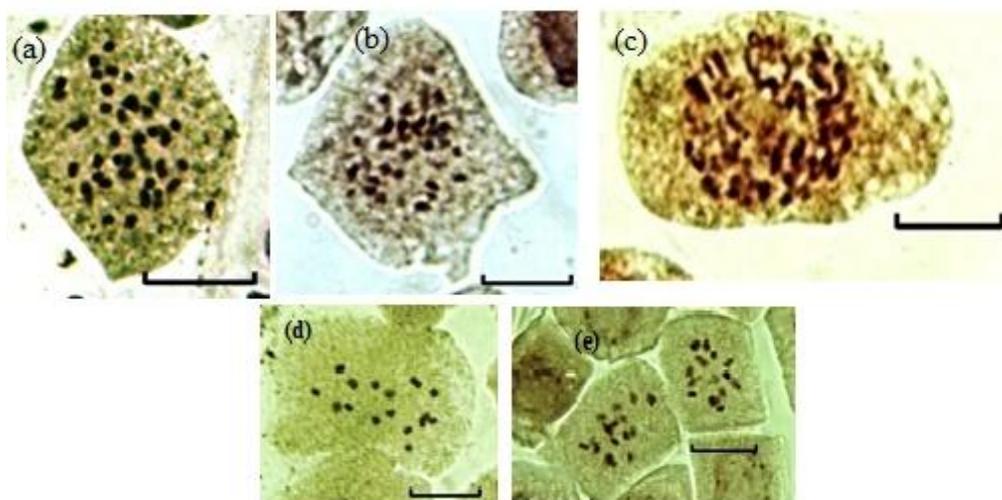


Fig. 32: Dénombrement chromosomique en métaphase mitotique d'un méristème racinaire des populations étudiées. a: *Salvia lanigera* de Oued Abdi (Batna) (20 bivalents); b: *S. lanigera* d'Azekri (18 bivalents); d: *S. verbinaca* de Azekri (28 bivalents); e: *S. viridis* de Azekri (16 bivalents); f: *S. viridis* de Thaassassth (16 bivalents). Barre d'échelle = 10 µm.

III-1-2-2- Etapes de la division mitotique

Les différentes étapes de la division mitotique sont illustrées dans la Figure 33.

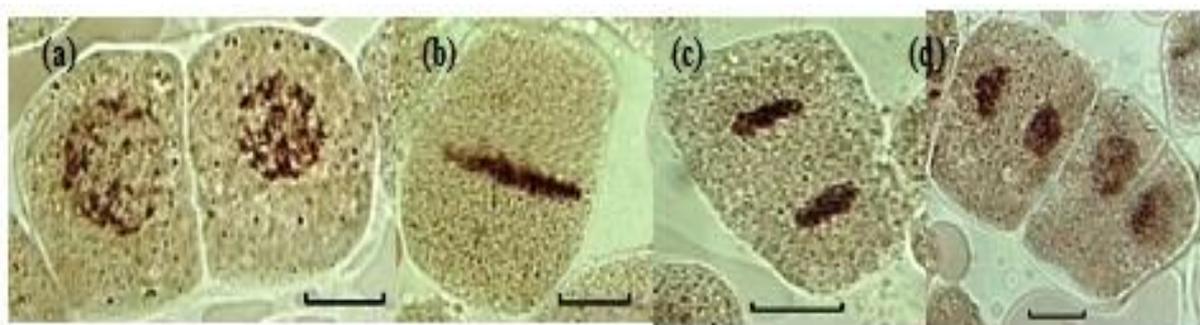


Fig. 33: Les étapes de la division mitotique chez *Salvia*. a : prophase ; b : métaphase ; c : anaphase ; d : télophase. Barre d'échelle = 10 µm.

III- 2- Discussion

III-2-1- Analyse méiotique

III-2-1-1- Dénombrement chromosomique

Afin de déterminer avec certitude le nombre chromosomique pour chaque population de cette espèce, plusieurs essais sont effectués sur les CMPs.

Dans le Tableau XI ci-dessous, nous avons recensé les nombres chromosomiques que nous avons comptés chez les douze populations étudiées de *S.verbenaca*, *S. lanigera* et *S. viridis*.

Tab. XI : Denombrements chromosomiques des populations de *Salvia* étudiées.

espèce	population	X	ploidie	n	2n
<i>S. verbenaca</i>	Azekri	7	8x	28	56
	Timezrit	7	8x	28	56
	Oued Ghir (pompa)	7	8x	28	56
	Kherrata 1	7	8x	28	56
	Kherrata 2	7	4x	14	28
<i>S. lanigera</i>	Amadane cimetièrè	7	6x	21	42
	Crête Rouge	7	6x	21	42
	Akbou	9	4x	18	36
	Chikhoune	9	4x	18	36
<i>S. viridis</i>	Taassasth	8	2x	8	16
	Azekri	8	2x	8	16

- *S. verbenaca*

Les populations d'Azekri, Kherrata 1, Timezrit et Oued Ghir sont des cytotypes octaploïdes avec $2n=8x=56$, donc le nombre chromosomique de base de ces populations est de $x=7$ (Fig. 8). Ce cytotype a déjà été signalé chez cette espèce par Afzal-Rafii (1972; 1979), Haque (1981), Kamari *et al.* (1996) et Ranjbar (2015). En revanche, la population de Kherrata 2 s'est révélée être un tétraploïde avec $2n=4x=28$ et $x=7$. Ce nombre a été signalé une seule fois pour *S. verbenaca* var. *horminioides* Pourr. par Delestaing (1954) en Russie.

D'après ces observations, on peut admettre que le nombre de base chez *S.verbenaca* est $x=7$, c'est le nombre le plus fréquemment rencontré.

- *S. lanigera*

Les deux populations de Chikhoune et Akbou sont des cytotypes tétraploïdes avec $2n=4x=36$, donc de nombre chromosomique de base $x=9$ (Fig. 9) comme l'ont déjà signalé Lifante *et al.* (1992, in Ranjbar, 2015) pour d'autres populations.

Les populations de Oued Ghir et la Crête rouge se sont révélés être des hexaploïdes $2n=6x=42$ (Fig. 10). Ce cytotype hexaploïde a été signalé par Kamari (1996); Del Carretore et Garbari (1996) in Tekin *et al.* (2016) mais pour *S. verbenaca*. Par leur morphologie, nos populations hexaploïdes sont intermédiaires entre *S. lanigera* tétraploïde et *S. verbenaca* octaploïde, c'est pourquoi nous leur soupçonnons une origine hybride entre ces deux espèces qui peuvent être sympatriques.

- *S. viridis*

Les deux populations de Thaassassth et Azekri se sont révélées diploïdes à $2n=2x=16$ avec $x=8$ (Fig. 11), en accord avec Afzal-Rafii, (1972, 1981) et Martin *et al.* (2015). Le $2n = 2x = 14$ que nous avons compté sur certaines préparations pourrait correspondre en fait au $2n = 2x = 16$ où tous les chromosomes n'étaient visibles (à confirmer).

III-2-1-2- Anomalies méiotiques

Lors de cette étude, nous avons observé plusieurs anomalies quasiment chez toutes les populations étudiées, mais à des fréquences très réduites à l'exception de *S. lanigera* de la population de Akbou qui est avec un taux plus élevé (49%) de cellules multipolaires (Figs. 15- 16). Cette irrégularité est la plus fréquente chez la plupart des populations. Les cellules multipolaires peuvent être causées soit par des conditions environnementales défavorables ou par un contrôle génétique défaillant. Cette anomalie a été signalée par: Bellucci *et al.* (2003), Risso-Pascotto *et al.* (2003), Souza *et al.* (2010) et Risso-Pascotto *et al.* (2012) chez différentes espèces. D'autres anomalies sont moins fréquentes. La cytomixie (Fig. 21) observée avec un taux de 2.5% chez *S. viridis* de la population de Azekri. Cette anomalie a été observée pour la première fois par Arnoldy (1900) suivi par Koernicke (1901) et Gates (1911), cités par Kumar et Chaudhary (2014), Kravets (2012) et Mursalimov *et al.* (2013), Ranjbar (2015) et Mahdjoub *et al.* (2018). Les chromosomes agglutinés (Fig. 18) observés chez *S. verbenaca* de Pompa de Oued Ghir (0.38%) ont été aussi signalés par Beadle (1932),

Singh (1993) et Pagliarini (2000). Les chromosomes retardataires (Fig. 19) observés chez *S. verbenaca* avec une fréquence de 0.14% pour la population de Timezrit ont aussi été mentionnés par Szostak *et al* (1983), Bellucci *et al.* (2003) et Risso-Pascotto (2012). La division asynchrone (Fig. 17) observée avec un taux de 0.03% chez *S. lanigera* de la Crête Rouge a aussi été signalée par Whelan *et al.* (1969), Sampson (1981), Ranjbar (2015). Les micronoyaux révélés chez *S. verbenaca* des deux populations Azekri et timezrit avec une fréquence de 0.05% ont été aussi rapportés par Kiihl (2011), Fenech *et al.*, (2011) et Sidorchuk *et al.* (2015) chez d'autres espèces.

III-2-1-3- Fertilité pollinique

Le taux de fertilité pollinique est très variable d'une population à une autre, il est relativement élevé chez *S. lanigera* des deux populations de Chikhoune (81%) et Akbou (55%), *S.verbenaca* de la population Pompa de Oued Ghir (52%), *S. viridis* de la population de Thaassasth (46%), moins important chez *S. lanigera* hexaploïde de la population de Amadane Cimetière (35%) et *S. verbenaca* des deux populations de Kherrata 1 (33%), Timezrit (48%) ainsi que chez *S. viridis* de Azekri (25%) et *S. verbenaca* de Kherrata 2 (21.42), et un taux très faible chez *S. verbenaca* de Azekri (6%), *S. lanigera* de la Crête Rouge (5%). Le taux de fertilité réduit peut être dû à des conditions environnementales non favorables (température, composition du sol, sécheresse...etc.), à des facteurs génétiques ou causé par des anomalies produites en méiose (Pagliarini, 2000 ; Keeney *et al.* 1997 ; Li *et al.* (2004 in Dumont 2011; Bellucci *et al.*, 2003). La stérilité peut également être causée par la polyploïdisation menant vers une mauvaise ségrégation des chromosomes en méioses donc des gamètes (grains de pollen) déséquilibrés non fonctionnels (stériles).

III-2-2- Analyse mitotique

Les nombres chromosomiques comptés en mitose ($2n=56$ chez *S. verbenaca*, $2n=36$ chez *S. lanigera* de Azekri et $2n=16$ chez *S. viridis* d'Azekri et de Thassassth) correspondent aux nombres chromosomiques trouvés en méiose. Chez *S. lanigera* de Oued Abdi (Batna) nous avons compté $2n=40$ comme déjà signalé par Díaz Lifante *et al.*, (1992) pour d'autres populations.

Afzal-Rafii Z. (1972). Contribution à l'étude cytotaxinomique des *Salvia* L de Turquie, II . *Bulletin de la Société Botanique France*. V:119. Issue: 3-4, p. 167 -175.

Afzal-Rafii Z. (1980). In chromosome number reports LXVII. *Taxon*. 29: P. 365–366.

Afzal-Rafii Z. (1981). In chromosome number reports LXX. *Taxon*. 30: P. 73–74.

Aktas K, Özdemir C, Özkan M, Akyol Y et Baran P. (2009). Morphological and anatomical characteristics of *Salvia tchihatcheffii* endemic to Turkey *African Journal of Biotechnology, Turque*. Vol. 8 (18), p. 4519-4528.

Al-Turki T. A, Filfilan S. A, Mehmood S. F. (2000). A cytological study of flowering plants from Saudi Arabia. *Willdenowia*. 30, p. 339–358.

Anthony C. D. (2000). The folklore and cosmetic use of various *Salvia* species. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia*. p. 01-25. Athens, Greece: Overseas Publishers Association.

Baltisberger M. (2002). Données cytologiques de quelques plantes albanaises. *Candollea* 56, p.245-259.

Beadle G.W. (1932). A gene in *Zea mays* for failure of cytokinesis during meiosis. *Cytologia*, v.3, p. 142.

Bektas B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae), *Food Chemistry*, 90, p. 333–340.

Bellucci M, Roscini C, Mariani A. (2003). Cytomixis in pollen mother cells of *Medicago sativa* L. *Journal of Hered* 94, p. 512–516.

Camarasa J, Canigueral S, iglesias J, Marin E. (1982). sur les aglycones flavoniques des feuilles de *salvia verbenaca* l.: hydroxy-5 diméthoxy-7,4' flavone, flavonoïde nouveau pour le genre *salvia* L. *Plantes médicinales et phytothérapie* Tome XVI, n° 3, p. 192-196.

Cantino. (1999). Caryopteris (Lamiaceae) and the conflict between phylogenetic and pragmatic considerations in botanical nomenclature - *Systematic botany quarterly journal of the American Society of Plant Taxonomists*, 23:369–386.

Dagne K. (1994). Meiosis in interspecific hybrids and genomic interrelationships in *Guizoriu Cash* (Compositne). *Hereditas* 121, p. 119 -129.

Del Carratore F, Garbari F. (1996). Mediterranean chromosome number reports 6, p. 700–

704. *Flora Mediterranea*. 6, p. 266–277.

Delestaing. (1954) in Rice et al. 2015. The Chromosome Counts Database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. *New Phytol.* 206(1): 19-26.

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.

Dyer A. (1963). The use of lacto-propionic orcein in rapid squash methods for chromosome preparations. *Stain Technology*, 38(2), p. 85-90.

Fellah S, Romdhane M, & Abderraba M. (2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *J.Soc.Alger. Chim* , 16 (2), p. 194

Fenech M, Kirsch-V M, Natarajan A. T, Surralles J, Crott J W, Parry J, Norppa Y. H, Eastmond D. A, Tucker J. D. and Thomas P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis* vol. 26 no. 1, p. 125–132.

Haque M. S, and. Ghoshal K. K. (1980). Karyotypes and Chromosome Morphology in the Genus *Salvia Linn.*1, West Bengal, *India Cytologia* 4, p. 627-640.

Haque M. S. (1981). Chromosome numbers in the genus *Salvia Linn.* *Proceedings Indian academy science.* 47, p. 419– 426.

Hardman R. (2000). Medicinal and Aromatic Plants—*Industrial Profiles*, Grèce; vol. 14, Sage ed. Spiridon E.Kintzios. p.10.

Horlow C et Marie-Pascale D. (2003). Les mécanismes moléculaires de la méiose chez les plantes. v 19, p. 6-7.

Hosseinzadeh H, Sadeghnia H. R, Imenshahidi M, Sedigheh B, Bazzaz F. (2009). Review of the Pharmacological and Toxicological Effects of *Salvia leriifolia*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences Iran J Basic Med Sci*, Vol. 12, No. 1, p. 1-8.

Jahier J, Chever A. M, Eber F, Delourne R, Et Tanguy A. M. (1992). *Techniques de la cytogénétique végétale.* Ed. INRA, Paris. p. 183.

Kamari G, Felber F, & Garbari F. (1996). Mediterranean chromosome number reports – 6. *Fl. Medit.* 6, p. 223 -337.

Kharazian N. (2011). Karyotypic Study of Some *Salvia* Lamiaceae Species from Iran. *Journal of Applied Biological Sciences* 5 (3), p. 21-25.

Kheniche S, Arizeu G, Smaili T, Belkacem T, Benkhaled A, Ourari A. (2013). Extraction des huiles essentielles de *Salvia verbenaca* d'Algérie composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante. The first international seminar on medicinal plants, Health and environment. université M'sila, p. 54.

Kravets E. A. (2012). Nature, Significance, and Cytological Consequences of Cytomixis. *Cyt. and Gen.* 46(3), p. 188–195

Kumar S. V, Puja Garg, Kumar P. (2014). Cytological Studies of Some Dicots from the Hills of Mandi District (Himachal Pradesh) in Northwest Indian Himalayas. India . *Cytologia* 78(1), p. 1–14.

Lone F. A, et Lone S. (2013). Cytomixis – a well known but less understood phenomenon in plants. *International Journal of Recent Scientific Research*, v. 4, Issue, 4, p. 347 – 352.

Love A, & Love D. (1975). *Plant chromosomes*. T1, Ed. Cramer. P. 184 .

Madi A. (2010). *Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques*, Thèse de doctorat. p. 18.

Mahdjoub M, Zemouri T, Benmouhoub H, Sahnoune M. (2018). Morphological, karyological and biogeographical study of the Algerian endemic species *Salvia jaminiana* de Noé (Lamiaceae), with taxonomic and evolutionary interpretations. Bejaia, Algeria. *Flora* 242 , p. 102–119.

Maksimovic M, DAnijela V, Mladen M, Marija E S, Sabaheta A, et Sonja S Y. (2007). Effet of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric *Salvia* species: *Salvia brachydon vandas* and *Salvia officinalis* L. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35 , p .473-478.

Martin E, Cetin O, Kahraman A, Celep F, & Dogan M. (2011). A cytomorphological study in some taxa of the genus *Salvia* L.(Lamiaceae). *Caryologia*, 64(3), p. 272-287.

Martin E, Cetin O, Kahraman A, Celep F, & Dogan M. (2015). Karyomorphological studies in seven taxa of the genus *Salvia* (Lamiaceae) in Turkey, *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*. p. 1-6

Mendes- Bonato A. B, Pagliarini M.S, de Silva N, and Borger de Valle C. (2001). Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumens* Stapf. (Gramineae). *Acta*

Scientiarum Maringa 23 (2), p. 619_625.

Moreau F. (1960) "*Botanique : Procaryotes (cyanophytes et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs).* La plante dans ses rapports avec le milieu." Ed. Paris, Gallimard.

Murphy S .P, H. W. (2012). Plant Cytogenetics: Genetics and Cytology of Meiotic chromosome Behavior in Plants. Department of Biological Science, The Florida State University, Tallahassee, FL 32306-4295, USA8, p. 193-229.

Mursalimov S. R, Sidorchuk Y.0 V, Deineko E. V. (2013). New insights in to cytomixis : specific cellular features and prevalence in higher plants. *Planta* 238, p. 415-423.

Mursalimov S, Deineko E. (2018). Cytomixis in plants: facts and doubts. *Protoplasma* 255(3), p. 719-731.

Özdemir et Şenel G. (1998). The Morphological, Anatomical and Karyological Properties of *Salvia sclarea* L. 19 Mayıs University Faculty of Art and Science Department of Biology Samsun-TURKEY, p. 7.

Pagliarini M. S. (2000). Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular Biology, Brasil.* 23, 4, p. 997-1002.

Palomino G, Mercado P, Ramamoorthy T. P. (1986). Chromosomes of *Salvia Subgenus Calosphace* (Lamiaceae), a Preliminary Report *Cytologia* 51, p. 381-386.

Pessim C, Pagliarini M S, Silva N et Jank L. (2015). Chromosome stickiness impairs meiosis and influences reproductive success in *Panicum maximum* (Poaceae) hybrid plants. *Genetics and Molecular Research* 14 (2), p. 4195-4202.

Joly P.B et Trommetter M. (1992). L'analyse économique de la conservation du patrimoine génétique : les leçons du passé et les modèles pour l'avenir Grenoble cedex 09, France INRA/SERD, BP 47, 38040, p. 528-637.

Pistelli L. (2006). Photochemicals from lamiaceae: from nutraceuticals to Hallucinogens. International symposium The Labiatae: Advances in Production, *Biotechnology and Utilization*, Sanremo, Italy. P. 22-25.

Potapova T, and Gorbsky G. J. (2017). The Consequences of Chromosome Segregation Errors in Mitosis and Meiosis. MDPI, Basel, Switzerland, p. 1-33, *Biology.* 2017, 6, 12, p. 2-33.

Pottier A. G. (1981). *Flore de la Tunisie angiospermes dicotyledones, gamopetales.* Partie I, p. 799-800.

- Quézel P, Santa S.** (1962). *Nouvelle Flore d'Algérie et de régions Désertiques Méridionales*. Tomes I et II. CNRS.
- Quézel P, Santa S.** (1963). *Nouvelle Flore d'Algérie et de régions Désertiques Méridionales*. Tomes I et II. CNRS.
- Ramli I.** (2013). *Etude, in vitro, de l'activité anti leishmanienne de certaines plantes médicinales : cas de la famille de lamiacees*. Thèse de doctorat. universite constantine 1, p. 53.
- Ranjbar M, Pakatchi , Babataheri Z.** (2015). Chromosome number evolution, biogeography and phylogenetic relationships in *Salvia* (Lamiaceae), *Webbia*, p. 13-19.
- Rao P.N, Ranganadham P. Nirmala A.** (1990). *Behavior of a sticky desynaptic mutant in pearl millet*, v.81, p. 221.
- Reis A C, Sousa S M, and Viccini L.** (2015). High frequency of cytomixis observed at zygotene in tetraploid *Lippia alba*. *Plant Systematics and Evolution* DOI: 10.1007/s00606-015-1249-3. 302(1).
- Risso-Pascotto C, Pagliarin M .S et Vall C.B.** (2003). A mutation in the spindle checkpoint arresting meiosis II in *Brachiaria ruziziensis*, 46, p. 724–728.
- Kühl P. R. P, Rodrigues Alonso Pereira Andréia, Sara Mataroli de Godoy I, Neusa Maria Colauto Stenzel C, Risso-Pascotto C.** (2011). Chromosome stickiness during meiotic behavior analysis of *Passiflora serrato-digitata* L. (*PASSIFLORACEAE*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v.41, n.6, p.1018-1023.
- Mataroli de Godoy S, Alonso Pereira A. R, Romagnolo M. B, Risso-Pascotto C.** (2012). Meiotic behavior during microsporogenesis of *Alchornea triplinervia* (Sprengel) Müller Argoviensis. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.42, n.6, p.1027-1032.
- Sampson F. B.** (1981). Synchronous versus Asynchronous Mitosis within Permanent Pollen Tetrads of the Winteraceae, *Grana*, 20:1, p. 19-23.
- Shahneh F. Z, Valiyari1 S, Baradaran B, Abdolalizadeh J, Bandehagh A, Azadmehr A, Hajiaghae R.** (2013). Inhibitory and Cytotoxic Activities of *Salvia Officinalis* L. Extract on Human Lymphoma and Leukemia Cells by Induction of Apoptosis. *Iran. Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(1), p. 51-55.
- Sheidai M, Alijanpoo B, Khayyami M.** (2010). Contribution to cytology of genus *Salvia* L. (Lamiaceae) in Iran. *Caryologia*. 63(4), p. 405–410.
- Sidrchuk Y, Novikovskaya A. A et Deineko E. V.** (2015). Cytomixis in the cereal

(Gramineae) microsporogenesis. *Protoplasma*. 253, p. 291-298.

Sidorchuk Y. V, Kravets E. A, Mursalimov S .R, Plokhovskaya S. G, Goryunova I. I, Yemets A. I, Blume Y. B, and Deineko E. V. (2016). Efficiency of the Induction of Cytomixis in the Microsporogenesis of Dicotyledonous (*N. tabacum* L.) and Monocotyledonous (*H. distichum* L.). Plants by thermal stress. *Russian journal of developmental biology*. Vol. 47 No.6, p. 335- 336.

Singh R. J. (1993). Plant cytogenetic. CRC Press, Boca Raton.

Souza M. M. (2010). Cytogenetic studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): a review emphasizing Brazilian species, v.51, p. 247-258.

Takano A. (2017). Taxonomic study on Japanese *Salvia* (Lamiaceae): Phylogenetic position of *S. akiensis*, and polyphyletic nature of *S. lutescens* var. *intermedia*. *PhytoKeys* 80, p 88.

Tekin M, Gedik O, Kiran Y, Kursu M. (2016). Karyological studies on six Endemic Plant Taxa in Turkey, *cytologia* 81 (4), p. 363-370.

Walker J. B, Sytsma K. J, Treutlein J, Wink M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*. 91(7), p. 1115-1125.

Wang X. Y, Hong C. Y, Xin i, Wang C. Y, and C. Z. G. (2004). Ultrastructural Aspects and Possible Origin of Cytoplasmic Channels Providing Intercellular Connection in Vegetative Tissues of Anthers. *Russian journal of plant physiology* v. 51 No.1, p. 97–106.

Whelan E. D. P, HORNBY C. A. (1969). Meiotic synchrony, cytoplasmic continuity and cytomictic phenomena during microsporogenesis of *Prunus avium*. *Cytol. 11* : 668-672.

Yang Zhiyun, Xun Gong, Yuezhi P-an. (2004). Cytological study of six *Salvia* species (lamiaceae) from the Hengduanshan Mountains region of China. *Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan 650204, P. R. China, Vol. 57, no. 4,*

<http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-048/salvia-clandestina95.jpg>. 07//05/2018.

<http://www.thehypertufagardener.com/salvia-viridis-or-annual-clary-sage.07/05/2018>.

Annexes

Annexe 1 : Taux d'anomalies des populations de Kherrata 2, Pompa de Oued ghir et de Azekri chez *Salvia verbenaca*.

population	kherrata 2		Oued ghir (pompa)		azekri	
	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)
Cell M. P	74	7,00	7	0,45	24	1,11
Cytom	0		0		0	
CMPs avec C. A	0	0	6	0,38	0	0
Nombre des cellules analysées	1 057	100%	1 570	100%	2 157	100%

Cell M.P: cellule multipolaire, Cytom: cytomixie, MN: micronoyau; CMPs avec C.A: cellules mère pollinique avec chromosomes agglutinés.

Annexe 2 : Taux d'anomalies des populations de Kherrata 2 et de Timezrit chez *Salvia verbenaca*.

population	Kherratta 1		Timezrit	
	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)
Cell M. P	1	0,03	21	0,97
Cytom	4	0,12	1	0,05
MN	1	0,03	1	0,05
CMPs avec C. R	0	0	3	0,14
Nombre des cellules analysées	3 254	100%	2 167	100%

Cell M.P: cellule multipolaire, Cytom: cytomixie, MN: micronoyau; CMPs avec CMPs avec C.R: cellules mère pollinique.

Annexe 3 : Taux d'anomalies des populations de Chikhoune et de Akbou chez *Salvia lanigera*.

Espèce	<i>S. lanigera</i>			
Population	Chikhoune		Akbou	
Anomalie	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)
Cell M,P	233	5,20	627	49,02
Nombre des cellules analysées	4485	100	1279	100

Cell M.P: cellule multipolaire

Annexe 4 : Taux d'anomalies des populations de Chikhoune et de Akbou chez *Salvia lanigera hexaploïde*

Espèce	<i>S. lanigera hexaploïde</i>			
Population	Crête rouge		Amadane cimetièrre	
Anomalie	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)
Cell M,P	30	0,57	9	1,075
D.a	2	0,04	0	0
Nombre total des cellules	5290	100%	837	100%

Cell M.P: cellule multipolaire, D.A : division asynchrone

Annexe 5 : Taux d'anomalies des populations de Thaassasth et Azekri chez *Salvia viridis*.

Espèce	<i>S. viridis</i>			
Population	Thaassasth		Azekri	
Anomalie	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)	Nombre de cellule	Taux d'anomalies (%)
Cell M,P	38	0.8%	105	2.01%
Cytomixie	62	1.58%	33	0.63%
Nombre total des cellules	3918	100%	5214	100%

Annexe 6: Taux de la fertilité pollinique de *S. verbenaca* calculé pour la population de Timezrit et Oued ghir.

	<i>S. verbenaca</i>									
	Timezrit					Pompa de Oued Ghir				
	FL1	FL2	FL3	FM1	FM2	FL1	FL2	FL3	FM1	FM2
	34.1	36.6	46.8	59.8	65.8	36.17	36.95	59.33	55.85	67.72
moyenne	48.62					51.21				

Annexe 7: Taux de la fertilité pollinique de *S. verbenaca* calculé pour la population de Kherrata et de Azekri.

	<i>S. verbenaca</i>									
	Kherrata					Azekri				
	FL1	FL2	FL3	FM1	FM2	FL1	FL2	FL3	FM1	FM2
	27.6	45	45	22.45	41.4	0	3.6	4.3	0.4	23
moyenne	33.32					6.26				

Annexe 8: Taux de la fertilité pollinique de *S. verbenaca* calculé pour la population de Kherrata.

	<i>S. verbenaca</i>				
	Population de Kharatta				
	FL1	FL2	FL3	FM1	FM2
	0.07	14.8	20.8	33.1	38.34
moyenne	21.42				

Annexe 9: Taux de la fertilité pollinique de *S. lanigera* calculé pour la population de Crête Rouge et Amadane Cimetière.

	<i>S. lanigera</i>					<i>S. lanigera</i>				
	Chikhoune					Akbou				
	FL1	FL2	FL3	FM1	FM2	FL1	FL2	FL3	FL4	FM1
	41.04	99.43	100	77.87	87.73	8.9	31.42	53.87	97.9	84.03
moyenne	81.21					55.22				

Annexe 10: Taux de la fertilité pollinique de *S. lanigera hexaploïde* calculé pour la population de Crête Rouge et Amadane Cimetière.

	<i>S. lanigera hexaploïde</i>									
	Crête Rouge (Bouira)					Amadane Cimetière				
	FL1	FL2	FL3	FM1	FIM2	FL1	FL2	FL3	FM1	FM2
	0	8.18	8.21	0.14	9.35	10.4	46.61	47.10	63.75	67.83
moyenne	5.17					35.13				

Annexe 11: Taux de la fertilité pollinique calculé pour la population de Thaassasth et Azekri de *S. viridis*.

	<i>S. viridis</i>									
	Thaassasth					Azekri				
	FL1	FL2	FL3	FM1	FM2	FL1	FL2	FL3	FM1	FM1
	20.10	25.3	30.15	76.17	80	3.74	6.16	11.12	12.98	92.95
moyenne	46.34					25.39				

