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 Sciences Biologiques de L'environnement Spécialité Biodiversité et Sécurité Alimentaire



Réf :....

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

# MASTER

# Thème

# Irrégularités méiotiques chez quelques populations locales de *Oxalis cernua* Thunb. (Oxalidacées) dans la région de Béjaïa

Présenté par : IDJENANE Fouzia et HIBER Marina Soutenu le : xx Juin 2018

Devant le jury composé de :

ZEBOUDJ A	Professeur	Présidente
OURARI M	MCA	Encadreur
BENMOUHOUB H	MAA	Examinateur

# Année universitaire : 2017 / 2018

# Dédícaces

# Je dédie ce modeste travail

A la personne devant laquelle tous les mots de l'univers sont incapables d'exprimer mon amour et mon affection pour elle, à l'être qui m'est le plus cher, à ma douce mère.

A mon cher père, quí a payé des années d'amour et de sacrífices le príx de ma façon de penser. Père je te remercie d'avoir fait de moi une femme.

A mes très chers sœurs : Karíma, Samía et leurs famílles, Dída

A mes chers frèresè : Elchaní, Abdelah, Fetah et leurs famílles

A mon oncle Bachír

A mes deux grands-mères : Yamma baya et Yamma nounou

A mes chers amís : Djoughou, Nadía et son maríe,

A tous ceux quí me sont chers

A la promotion B.S.A 2017/2018

Fouzía

# Dédícaces

# Je dédie ce modeste travail

A la personne devant laquelle tous les mots de l'univers sont incapables d'exprimer mon amour et mon affection pour elle, à l'être qui m'est le plus cher, à ma douce mère.

A mon cher père, qui a payé des années d'amour et de sacrifices le prix de ma façon de penser. Père je te remercie d'avoir fait de moi une femme.

> A mes très chers sœurs : Massína, Thíllelí, Thínhínane

> > A toute la famille Hiber

A mes deux chers amís : Tarík et Djoudjou

A mon bínôme Fouzía

A tous ceux quí me sont chers

A la promotion B.S.A 2017/2018.

Marína

# Remerciement

Avant toute chose, nous exprimons nos remerciements à Dieu le tout puissant pour nous avoir donné le courage et la force de terminer notre travail et pour ça bienveillance.

Au premier lieu, nous tenons à remercier  $M^{elle}$  OURARI M., comme enseignante et comme promoteur, pour son aide, ses orientations et surtout pour ses précieux conseils pour la réalisation de ce mémoire de fin de cycle.

Nous tenons aussi à remercier  $M^{me}$  **DJAFRI-BOULLAG L.**, pour sa disponibilité tout te long de la préparation de ce mémoire, pour ses précieux conseils et toute son aide.

Nous remerciements vont également à M<sup>me</sup> ZABOUDJE, pour avoir accepté de présider le jury M<sup>elle</sup> BENMOUHOUB H., d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes vifs remerciements au  $M^r$  HAMLAT M., pour son aide, et ses encouragements. Ainsi que pour ces conseils sa disponibilité.

Ainsi tous les membres de labo 16 biologie physiologie végétal : M<sup>me</sup> BENHAMICHE., M<sup>r</sup> BACHIR, le technicien de laboratoire M<sup>r</sup>. BAKOURI et tous les binômes qui sont fait leur pratique avec nous ou laboratoire.

Nous remerciements tous les enseignants ainsi que tout le personnel du département SBE.

Enfin, nous remercions toute personne ayant contribuée de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail

### Sommaire

01

# INTRODUCTION CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1.	Présentation du Genre Oxalis Thunb.	02
	1.1. Phylogénie du genre Oxalis Thunb.	02
2.	Présentation de l'espèce Oxalis cernua Thunb.	03
3.	La Cytogénétique	05
	3.1. Méiose	06
	3.1.1. Division réductionnelle (méiose I)	06
	3.1.2. Division équationnelle (méiose II)	07
4.	Le grain de pollen	08

### **CHAPITRE II- MATERIEL ET METODES**

1.	Matériel végétal utilisé et zone d'étude	10
2.	Méthodes d'étude	10
	2.1.Analyse des méioses polliniques	11
	2.2. Étude de la fertilité pollinique	12

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

1. Etude de la méiose pollinique	14
1.1. Déroulement normal de la méiose	14
1.2. Divisions irrégulières	16
2. Analyse de la fertilité pollinique	27
CONCLUSION	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	30

## Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Classification phylogénétique du genre <i>Oxalis</i> Thunb. (APGIV, 2016).	03
Tableau II	Taux de divisions régulières calculés chez les deux populations analysées de <i>Oxalis cernua</i> Thunb.	15
Tableau III	Taux d'anomalies calculés chez les deux populations d' <i>Oxalis cernua</i> Thunb.	17

# Liste des Figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Variabilité de la pigmentation des feuilles d'Oxalis cernua Thunb. A	04
	: feuilles sans pigmentation ; B : feuilles avec pigmentation légère ;	
	C: feuilles avec pigmentation plus accentuée; D: pigmentations	
	couvrant la totalité des feuilles.	
Figure 02	Morphologie Oxalis cernua Thunb.	04
	A : plante Oxalis cernua ; B : racines et bulbilles ; C : fleur ; D :	
	capsule ; E : feuille.	
Figure 03	Différents morphes floraux chez Oxalis cernua Thunb. A : style	05
	court, B : style moyen, C : style long.	
Figure 04	Différents stades de la méiose chez les Angiospermes	08
Figure 05	Aperçu de la diversité morphologique du pollen vu microscope	08
	électronique.	
Eiguna 06	Dhotographics de la marphologia autorna d'Ouglig comus Thunh an	10
Figure 06	flour	10
Figure 07	Photographie d'un bouton floral d' <i>Oralis carnua</i> Thunh, utilisé dans	11
rigule 07	l'étude de la méjose	11
Figure 08	Photographie d'une fleur d' <i>Oxalis cernua</i> Thunb utilisée dans	13
I Iguie 00	l'étude de la viabilité pollinique	10
Figure 09	Différentes phases de la division méiotique des cellules mères de	14
	pollen chez les deux populations analysées de <i>Oxalis cernua</i> Thunb. a	
	: Prophase I, b : Métaphase I, c : Anaphase I, d : Télophase I, e :	
	Métaphase II, f : Prophase II, g : Anaphase II, h : Télophase II, i :	
1	-	1

## LISTE DES FIGURES

	Tétrade. La barre d'échelle = $10 \mu m$	
Figure 10	Aspect des cellules mères de pollen des deux populations de Oxalis	18
	<i>cernua</i> Thunb. montrant : a : Stickiness ; b ; c : Divisions	
	asynchrones, d : Ponts chromatiques. La barre d'échelle = $10\mu m$	
Figure 11	Aspects des cellules mères de pollen des populations analysées de	20
	<i>Oxalis cernua</i> Thunb. montrant des ponts cytomictiques. a : pont	
	chromatique entre deux cellules mères de pollen, b : trois ponts	
	chromatiques entre deux cellules mères de pollen, c : quatre ponts	
	chromatiques entre quatre cellules mères de pollen, c, d : cytomixie	
	entre un groupe de cellules mères de pollen, e : cytomixie entre les	
	novaux d'une tétrade. La barre d'échelle = $10$ um	
Figure 12	Aspect des cellules mères de pollen des deux populations de <i>Oralis</i>	22
11501012	<i>cernua</i> Thunh montrant des univalents en métanhase I a : un	
	univalent $\mathbf{h}$ · deux univalents $\mathbf{c}$ · trois univalents $\mathbf{d}$ · quatre	
	univalents. La barre d'échelle = $10 \text{ um}$	
Figure 13	Aspect des cellules mères de pollen des deux populations de <i>Oralis</i>	23
riguie 15	carnua Thunb, analysées montrant des bivalents, a : un bivalents, b :	23
	deux bivalents $c$ : trois bivalents $d$ : quatre bivalents I a barre	
	d'échelle = $10\mu m$	
	α echene – τομπ	
Eiguro 14	Aspect des collules mères de pollen des populations de Orglis comus	24
Figure 14	Thurk montront dos abromosomos non orientás un abromosomos	24
	rindho. montrant des chromosomes non orientes un chromosomes	
	mon oriente (a : metaphase i, o : telophase i, c : prophase ii, d :	
	metaphase II); deux chromosomes non orientes (e : metaphase II, f :	
	anaphase I); trois chromosomes non orientés; (g : anaphase II); quatre	
	chromosomes non orientés (h, i : métaphase I). La barre d'échelle =	
	10μm	
Figure 15	Aspect des cellules mères de pollen des populations de Oxalis cernua	25

# LISTE DES FIGURES

	Thunb. a : tétrade avec deux micronoyaux, b : trois tétrade avec deux	
	micronoyaux, c : tétrade avec quatre micronoyaux, d : tétrade avec	
	cinq micronoyaux, e : tétrade avec sept micronoyaux. La barre	
	d'échelle = $10\mu m$	
Figure 16	Aspect des différentes cellules multipolaires dans les populations	26
	analysées de Oxalis cernua Thunb. a : monade, b : diade, c : triade, d	
	: pentade, e : hexade, f : heptade.La barre d'échelle = 10μm	
Figure 17	Aspect des différentes cellules mères de pollen des populations de	27
	Oxalis cernua Thunb. a: Diade à $2\mu N$ , b: Diade à $4\mu N$ , c : Triade à	
	1µN, d : Triade à 2µN, e : Triade à 4µN, f : Triade à 5µN, g : Triade à	
	6µN, h : Pentade à 1µN, i : Pentade à 8µN, j : Hexade à 2µN,k :	
	Heptade à $2\mu N.\mu N$ = micronoyau, la barre d'échelle = $10\mu m$	
Figure 18	Aspect des grains de pollen observés dans les populations de Oxalis	28
	cernua Thunb. a: grain de pollen viable subsphérique et bien coloré,	
	d: grains de pollen viables triporés, c : grain de pollen non coloré	
	donc non viable et triporé, d, e : grains de pollen avec différentes	
	formes, tailles, viables (colorés) et non viables (non colorés). La barre	
	$d'$ échelle = 10 $\mu$ m	

## Liste des abréviations

- AE : élément axial.
- **SC :** complexe synaptonémal.
- LE : élément latéral.
- **CE :** élément central.
- **TE**: l'élément transverse.
- **CMP :** cellules mères des grains de pollen.

#### Introduction

Selon Türkmen (2010), le genre *Oxalis* (Oxalidaceae) est distribué dans le monde entier, mais il est très commun dans les régions tropicales et les régions subtropicales. Il représente le plus grand genre de la famille comprenant entre 800 et 900 espèces. Ce+s espèces sont des herbes annuelles ou vivaces et rarement arbustives (Obone, 2005 ; Türkmen, 2010)

*Oxalis pes-caprae* L. anciennement nommée *Oxalis cernua* Thunb. est une espèce originaire d'Afrique du Sud (Ater, 2000 ; Castro *et al.*, 2007 ). Elle a été introduite comme plante ornementale dans plusieurs zones du monde en particulier dans les régions à climat méditerranéen (Ater, 2000 ; Castro *et al.*, 2007)où elle est considérée actuellement comme mauvaise herbe car envahissante.

L'étude cytogénétique est indispensable pour connaitre et favoriser le développement d'une plante. Différents travaux ont été effectués sur le genre *Oxalis Cernua* du point de vue morphologique et génétique.

Notre travail consiste à analyser les cellules mères de pollen en division et la fertilité pollinique deux populations de *Oxalis cernua* Thunb. échantillonnées dans la station de Tadarte Mokrane (Timzrit) et la station Ilmaten dans la région de Bejaia. La technique utilisée est celle de la cytogénétique classique

Ce travail est structuré en trois parties :

- La 1<sup>ère</sup> partie comprend une présentation générale du genre *Oxalis*, l'aspect botanique de l'espèce étudiée avec un bref rappel de quelques notions de cytogénétiques.

- La 2<sup>ème</sup> partie décrit le matériel végétal et les méthodes employées.

- La 3<sup>ème</sup> partie résume les résultats expérimentaux obtenus, suivis d'une discussion.

- Enfin, une conclusion dans laquelle sont synthétisés les principaux résultats obtenus dans ce travail.

#### 1. Présentation du Genre Oxalis Thunb.

*Oxalis* est le plus grand genre de la famille des Oxalidaceae, qui comprend plus de 800 espèces à large répartition occupant des milieux très divers (Rani *et al.*, 2015).Le genre est principalement distribué en Amérique du Sud, dans la région du Cap africain et au Mexique central. Certaines espèces ont une aire de répartition s'étendant jusqu'au Chili, au nord des Andes, en Amérique centrale ainsi qu'aux États-Unis. En Inde, 10 espèces sont signalées alors que quatre espèces ont pu atteindre l'Himalaya occidental (Castro*et al.*, 2013).

Les espèces du genre sont vivaces et occupent une large gamme d'habitats. Les feuilles sont radiales à long pétiole et généralement à trois folioles. Les sépales et les pétales libres sont au nombre de cinq. Les 10étamines sont libres ou unies à la base. L'ovaire à 5 lobes donne après fécondation une capsule ovoïde à 5 angles. Selon (Mohamme*et al.*, 2015),les intoxications par l'oxalis sont assez fréquentes dans les régions méditerranéennes. En effet, les oxalis contiennent de l'acide oxalique qui est toxique pour les grands herbivores (DellaGreca, *et al.*, 2010;Mohamme*et al.*, 2015).Cet acide par réaction avec le calcium et le magnésium sanguins, forme des oxalates insolubles. Ces oxalates sont des poisons systémiques et corrosifs pour les reins.

#### 1.1. Phylogénie du genre Oxalis Thunb.

Les analyses morphologiques et moléculaires (séquences ADN)montrent que cette famille est monophylétique. Durant de nombreuses années, cette famille était considérée comme proche des Geraniaceae sur la base des caractéristiques morphologiques (fleurs àsymétrie radiaire, à pétales lobés et à 10 étamines). Cependant, il a été démontré que ces similarités sont des symplésiomorphies. Les études phylogénétiques (APGIII, 2009) ont pu rapprocher les Oxalidaceae des familles des Cunoniaceae (composée d'arbres tropicaux), des Cephalotaceae (composée de plantes carnivores australiennes) ainsi qu'à deux autres familles afin de former l'ordre des Oxalidales.La classification phylogénétique du genre *Oxalis* Thunb est donnée dans tableau I.

Tab. I : Classification phylogénétique du genre Oxalis Thunb. (APGIV, 2016)

Clade	Spermatophytes
Clade	Angiospermes
Clade	Eudicotyledones
Clade	Eudicotyledonessupérieures
Clade	Rosidées
Clade	Fabidées
Ordre	Oxalidales
Famille	Oxalidaceae
Genre	Oxalis
Espèce	Oxalis cernuaThunb.

#### 2. Présentation de l'espèce Oxaliscernua Thunb.

*Oxalis cernua*Thunb., ou *O. lybica*Viv. Ou*O.pes-caprae* L. est appelée communément Oxalis des Bermudes ou pied-de-chèvre. Localement, elle est appelée Homayda ou Karyoussa.

*Oxalis cernua*Thunb. Est une plante vivace qui appartient à la famille des Oxalidacées. Son aire de répartition s'étale depuis la région méditerranéenne de l'Europe, de l'Asie, de l'Afrique jusqu'au Cap de Bonne-Espérance, d'où elle serait originaire.

*Oxalis cernua*Thunb.Est une plante herbacée de petite taille (10 à 25cm).Les folioles triangulaires, profondément marginés, mesurent moins de 3,5cm de longueur. Les feuille se caractérisent par une grande diversité de pigmentation allant de zéro pigmentation jusqu'à une couverture totale des feuilles de couleur pourpre (Boussaha*et al.*, 2014) comme le montre la figure 1.



Fig. 1 : Variabilité de la pigmentation des feuilles de *Oxaliscernua*Thunb..A : feuilles sans pigmentation; B : feuilles avec pigmentation légère; C: feuilles avec pigmentation plus accentuée; D : pigmentations couvrant la totalité des feuilles. (Boussaha*et al.*, 2014).

Les feuilles fraîches mâchées ou en salade peuvent être efficaces contre les ulcérations de bouche. Les feuilles cuites en cataplasme sont utiles contre les abcès froids (Adouane, 2016).La tige souterraine est capable de produire plus 20 petites bulbilles blanchâtres chaque année.Le fruit après autofécondation est une capsule (Fig. 2).



Fig. 2 : Morphologie *Oxalis cernua*Thunb.A : plante *Oxaliscernua*; B : racines et bulbilles ; C : fleur ; D:capsule ; E : feuille

# ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les fleurs jaunes sont groupées en ombelle à l'apex d'un scape dépassant les feuilles. Les fleurs présentent une corolle à cinq pétales jaunes, un androcée à deux cycles de cinq étamines et un gynécée polymorphe à cinq stigmates (Castro*et al.*, 2007). En effet, *O. cernua* est une espèce hétérostylée avec des fleurs, présentant trois morphes floraux (courts, moyens, longs). Le gynécée surmontant les anthères est connu sous le nom de fleurs «longues», le stigmate en dessous du niveau de l'anthère, est connu sous le nom de fleurs «courtes» et le stigmate se situant entre les deux cycles d'étamines est connu sous le nom de fleurs «moyennes»» (Ornduff 1987 ;Castro *et al.*, 2007 ;Castro*et al.*, 2013 ;Tavares 2014) comme le montre la figure 3.



Fig. 3 : Différents morphes floraux chez *Oxalis cernua*Thunb.A : style court, B : style moyen, C : style long. (Tavares 2014).

*Oxalis cernua* se reproduit de manière asexuée grâce aux bulbilles. Celles-ci peuvent être déplacées par la perturbation du sol, le vent, l'eau (les bulbes flottent), et même par les oiseaux. Les bulbilles restent dormantes pendant l'été et pousse à l'automne (Gimeno et *al.*, 2006).

#### 3. La Cytogénétique

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique (Jahier *et al.*, 1992).Selon Zhang*et al.*, (1988), l'étude cytogénétique permet de préciser le comportement d'une espèce ou la structure génétique d'un groupe d'espèces et à même d'apporter des éléments indispensables à la mise en œuvre d'un programme d'amélioration génétique basé sur l'hybridation interspécifique.

Les méthodologies employées en cytogénétique sont nombreuses. Elles concernent notamment l'étude des chromosomes lors de la mitose et de la méiose par les techniques classiques mais également les techniques plus récentes telles que le banding ou les hybridations moléculaires *in situ* (Jahier*et al.*, 1992 ;Ahmed 2010)

#### 3.1. Méiose

La méiose est une étape essentielle pour tous les organismes à reproduction sexuée. Elle forme les gamètes mâles et femelles desquels résultera après fécondation, un nouvel individu diploïde. Elle donne naissance à des cellules haploïdes (spores ou gamètes). C'est un processus de grande stabilité évolutive réduisant le nombre de chromosomes (Pagliarini 2000).

Durant la méiose, deux étapes de ségrégation des chromosomes se déroulent. Dans la première division, appelée réductionnelle (méiose I), les chromosomes parentaux se séparent. Dans la deuxième division, dite division équationnelle (méiose II), ce sont les chromatides sœurs qui se séparent (Fig. 4).

#### 3.1.1. Division réductionnelle (méiose I)

Lors de la **première division méiotique (méiose I)**, les chromosomes homologues se séparent. Cette division passe par plusieurs étapes :

- La prophase I : appariement, synapse, recombinaison et chiasmas.

La prophase est l'étape la plus longue et la plus complexe de la méiose. Elle débute approximativement lorsque les chromosomes deviennent visibles (suite à une première condensation). À ce moment, la réplication de l'ADN est complète. La prophase est subdivisée en plusieurs stades selon l'organisation des chromosomes.(Roeder, 1997; Dawe, 1998; Bouchard, 2006; Dumont, 2011).

Au stade **leptotène**, les chromosomes sont visibles sous la forme de très longs filaments composés de deux chromatides sœurs. Les chromatides sœurs sont liées à l'élément axial(AE), une structure protéique qui les maintient dans une configuration en boucle. Au stade **zygotène**, les chromosomes homologues sont appariés et ils débutent la synapse. La synapse s'établit par le biais du complexe synaptonémal (SC). Le SC est composé de trois éléments protéiques : 1) l'élément latéral (LE) qui correspond à l'AE, 2) l'élément central (CE) situé entre les deux chromosomes et 3) l'élément transverse (TE) quirelie le LE et le CE. C'est à ce stade qu'est initiée la recombinaison génétique (Bouchard 2006). Le stade **pachytène** est marqué par la synapse complète des chromosomes homologues. La recombinaison génétique progresse et les chiasmas sont formés. La dissociation du SC au **diplotène** amène la séparation des chromosomes homologues qui restent attachés uniquement par les chiasmata. Finalement, à la **diacinèse**, les chromosomes sont complètement condensés et sont prêts pour les divisions méiotiques.

#### - La métaphase I :

Les chromosomes, éparpillés dans le noyau à la fin de la prophase, se regroupent sur la plaque équatoriale. Dès que les cellules atteignent le stade de la métaphase, la membrane nucléaire et les nucléoles disparaissent, et des fibres de broche apparaissent. Les bivalents sont disposés à la plaque équatoriale, avec leurs kinétochores face aux deux pôles de la cellule. Les chromosomes atteignent leurs contractions maximales.

#### - L'anaphase I

Lors de **l'anaphase I**, les chromosomes homologues seséparent, puis migrent vers les deux pôles de la cellule.

#### - La télophase I

À la **télophase I**, les deux groupes de chromosomes sont bien séparés. Chez certains organismes, la cellule se divise alors en deux. Il y a aussi parfois une interphase avec reprise de l'activité métabolique, mais il n'y a jamais de réplication de l'ADN.

#### 3.1.2. Division équationnelle (méiose II)

Lors de la seconde division méiotique (méiose II), les chromatides sœurs sont séparées.

Cette division est similaire à la division mitotique. Les chromosomes se condensent de nouveau en **prophase II**, puis chaque groupe s'aligne sur une plaque à la **métaphase II**. Lors de **l'anaphase II**, les centromères se séparent puis les chromatides sœurs migrent vers les deux pôles de la cellule. À la **télophase II**, les quatre groupes de chromosomes sont bien séparés et la cellule se divise en quatre cellules filles haploïdes. Les groupes de quatre cellules filles formées par les microsporocytes des plantes juste après la méiose sont appelés tétrades.



**Fig. 4** : Différents stades de la méiose chez les Angiospermes https://www.google.dz/search?biw=1366&bih=662&tbm=isch&sa=1&ei=N5ouW5PeC4HX Ue\_LgogD&q=d%C3%A9vision+de+la+m%C3%A9iose#imgrc=D\_EOViVzGms\_vM.

#### 4. Le grain de pollen.

Le grain de pollen est une structure de dispersion des gamètes mâles haploïdes chez les plantes à fleurs. Ils sont composés de deux à trois cellules protégées par une paroi. Cette paroi présente de nombreuses variations, qu'elles se situent au niveau de la structure ellemême, de l'épaisseur, de la composition, de la texture ou encore de l'ornementation de l'exine (Fig. 5).



**Fig. 5** : Aperçu de la diversité morphologique du pollen vu microscope électronique. https://www.google.dz/search?q=grain+de+pollen&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ah UKEwjar5nSvurbAhWMDMAKHSygBOIQ\_AUICigB#imgrc=FFZX98cTBP-BTM.

Selon(Penet2004), la morphologie du pollen est connue pour être variable, notamment en ce qui concerne le type apertural. Les trois grands groupes de plantes à fleurs (Angiospermes basales, Monocotylédones et Eudicotylédones) se partagent en deux ensembles du point de vue de la morphologie des grains de pollen : Monocotylédones et Angiospermes basales forment un ensemble paraphylétique dont les morphologies sont dérivées du type monosulqué, tandis que les Eudicotylédones ont des morphologies dérivées du type tricolpé (trois apertures perpendiculaires à l'équateur) - il s'agit d'une synapomorphie du groupe, appelé de ce fait « clade tricolpé».

## **MATERIEL ET METHODES**

#### Matériel et méthodes d'étude

Ce chapitre se propose de décrirel'origine du matériel, les stations de récolte et les différentes étapes des analyses cytogénétique et de viabilité de pollen réalisées.

#### 1. Matériel végétal utilisé et zone d'étude

L'espèceanalysée dans cette étude est *Oxalis cernua*Thunb.(Oxalidacées). C'est plante herbacée vivace àfleurs de couleur jaune. Ses feuilles, longuement pétiolées, sont toutes disposées en rosette dense, à 3 folioles en forme de cœur (Fig. 5).



Fig. 6:Photographies de la morphologie externe de OxaliscernuaThunb. en fleur.

*Oxalis cernua*Thunb. Fleurit en fin d'hiver et au printemps. Deux échantillons de bouton floraux sont récoltés dans la station de TadartMokrane (Timzrit) (36°36'23,5"N 4°44'30,0<sup>"</sup> E) et dans le village de Ilmaten (36°38'50.0"N°4 46'16.5" E) dans la région de Béjaïa.Les boutons floraux sont fixés *in situ* et conservés dans le carnoy (acide acétique 1V, chloroform 3V, éthanol 6V) jusqu'à analyse.

#### 2. Méthodes d'étude

Une analyse de la méiose pollinique de très jeunes boutons floraux et une étude de laviabilité pollinique sur des fleurs matures sont effectuées.

#### 2.1. Analyse des méioses polliniques

La mise en évidence de figures de méiose chez les végétaux est difficile à réaliser. En effet, la majorité des Angiospermes a une période de différenciation des cellules mères des grains de pollen (CMP) très courte et souvent très différente de la période de maturité des fleurs. Ainsi, même si les jeunes étamines sont un matériel de choix pour la mise en évidence de figures de méiose, la principale difficulté consiste à récolter les anthères au moment où les CMP subissent la division méiotique. Chez *Oxalis cernua*Thunb., les boutons floraux de 2mm à 3mm de long (Fig. 6) représentent le stade adéquat pour l'analyse de la méiose. Cette analyse requiert plusieurs étapes :



Fig. 7:Photographie d'un bouton floral de *Oxaliscernua*Thunb. Utilisé dans l'étude de la méiose.

#### - Fixation et conservation

Les jeunes boutons floraux (fleurs avant anthèse) sont prélevés, fixés et conservés *in situ* dans du Carnoy. Le Carnoy est un fixateur anhydre à base d'éthanol (6V), de chloroforme (3V) et d'acide acétique (1V). La fixation permet de disposer du matériel adéquat au cours de l'année. Elle renforce la structure des CMP, assure un arrêt rapide des divisions cellulaires sans léser ou détruire la structure chromosomique. De plus, elle permet de faire apparaître la zone du fuseau.

#### -Hydrolyse

Des boutons floraux de 2 mm de long sont soumis à une hydrolyse acide pendant 2 min dans du HCl 1N à 60°C dans un bain-marie. Les échantillons sont ensuite rincés cinq fois à l'eau du robinet pour assurer l'élimination de l'acide chloridrique. Cette étape a pour but de libérer les groupements aldéhydes de l'ADN par la destruction des liaisons entre base puriques et le désoxyribose pour permettre la fixation du colorant. Cette étape permet deramollir les parois cellulaires, d'éclaircir le cytoplasme et d'obtenir un bon étalement des chromosomes.

#### -Coloration

Il existe diverses colorations des chromosomestelles que la coloration de Feulgen, au carmin acétique et à l'orcéine. Elles sont basées sur le mêmeprincipe.La technique de coloration de Feulgen, adoptée dans ce travail, utilise le réactif de Schiff, qui est préparé à partir de fuchsine basique.Les échantillons analysés ont subi une double coloration d'abord à la fushine basique ensuite àl'orcéine acétique.

Dans un premier temps, les boutons floraux sont plongés dans des piluliers contenant le réactif de Schiff (fuschine basique) et gardés à l'obscurité pendant deux heures.

#### -Observation

Sous loupe binoculaire, les étamines colorées en rouge violacé par le Réactif de Schiff sont dégagées à l'aide d'aiguilles fines et écrasées entre lame et lamelle dans une goutte d'orcéine acétique.Les cellules mères en division sont repérées au microscope photonique à l'aide del'objectif 40. Pour une meilleure visualisation de l'image, le grossissement (x100) est utilisé après avoir déposé une goutte d'huile à immersion. Les meilleures plaques sontphotographiées à l'aide d'un appareil photo numérique. Les lamelles sont plaquées à l'aide d'un vernis à ongles et conservées au réfrigérateur.

#### 2.2. Étude de la fertilité pollinique

L'étude de la fertilité pollinique est réalisée sur des fleurs matures avant anthèsede 2cmde long (Fig. 8). 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 d'une fleur sont dégagées des autres pièces florales. Elles sont ensuite disséquées dans une goutte d'eau à l'aide de deux aiguilles pour libérer le pollen sous une

## **MATERIEL ET METHODES**

loupe binoculaire. Une fois les débris des anthères éliminés, une goutte de bleu de coton est déposée sur les grains de pollen. La lame est ensuite recouverte d'une lamelle. Après 30 min de coloration, l'observation du pollen est effectuée au microscope optique à l'objectif  $\times$  10.



Fig. 8:Photographie d'une fleur de *Oxaliscernua*Thunb. utilisée dans l'étude de la viabilité pollinique

Entre 5000 et 10000 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.

Un taux de fertilité pollinique est calculé selon la formule suivante :

 $TF(\%) = (N + AN) \times 100$  sachant que :

**TF**: taux de fertilité pollinique (en %) ;

N: nombres de grains de pollen normaux (fertiles) ;

AN: nombres de grain de pollen anormaux (stériles).

Le présent travail porte sur une analyse cytogénétique et une analyse de la viabilité de pollen de deux populations de *Oxalis cernua* Thunb. échantillonnées dans la région de Béjaia.

#### 1. Etude de la méiose pollinique

#### 1.1. Déroulement régulier de la méiose

Les préparations obtenues à partir des anthères des jeunes boutons floraux de *Oxalis cernua* Thunb. échantillonnés dans les stations de Tadart Mokrane (Timzrit) et Ilmaten dans la région de Béjaïa ont permis l'observation de toutes les étapes de la méiose allant de la prophase I jusqu'à la formation des tétrades (Fig. 9).



Fig. 9. Différentes phases de la division méiotique des cellules mères de pollen chez les deux populations analysées de *Oxalis cernua* Thunb. a : Prophase I, b : Métaphase I, c : Anaphase I, d : Télophase I, e : Métaphase II, f : Prophase II, g : Anaphase II, h : Télophase II, i : Tétrade. La barre d'échelle = 10μm

Les deux populations de Tadart Mokrane et celle d'Ilmaten présentent des taux relativement identiques de cellules régulières avec des pourcentages de 59,99% et de 59,28% respectivement (Tab. II).

Tab. II : Taux o	de divisions	régulières	calculés	chez les	deux	populations	analysées	de
Oxalis cernua Thunb.								

	Population Tadart Mokrane (Timzrit)		la population de Ilmaten		
	Nombre	%	Nombre	%	
Total de cellules analysées	11928	%	12402	%	
Prophase I	826	6,92	612	4,93	
Métaphase I	1388	11,64	2391	19,28	
Anaphase I	56	0,47	37	0,30	
Télophase I	128	1,07	398	3,21	
Prophase II	128	1,08	63	0,51	
Métaphase II	324	2,72	429	3,46	
Anaphase II	22	0,18	21	0,17	
Télophase II	1051	8,81	347	2,80	
Tétrades	3233	27,10	3053	24,62	
Total des cellules régulières	7157	59,99	7351	59,28	

Les chromosomes méiotiques deviennent clairement discernables en prophase I (Fig. 9a). À ce stade, les chromosomes bivalents se condensent et les chiasmas maintiennent la cohésion entre les homologues. Lors de la métaphase I (Fig. 9b), les chromosomes s'alignent sur le plan équatorial. Les homologues se séparent et migrent vers les deux pôles lors de l'anaphase I (Fig. 9c). La télophase I (Fig. 9d) et la prophase II (Fig. 9e) sont continues. Le seul changement observable du passage vers la prophase II est le regroupement d'organites contenant de l'ADN (plastes, mitochondries) aux environs du plan équatorial de la métaphase I. À la métaphase II (Fig. 9f), les deux groupes de chromosomes s'alignent sur deux nouvelles plaques méiotiques. Ces plaques sont grossièrement perpendiculaires au plan équatorial de la métaphase I et l'angle entre les deux plaques de la métaphase II (Fig. 9g), les chromatides sœurs sont séparées pour former quatre groupes de chromosomes univalents composés d'une seule

chromatide. Pendant la télophase II (Fig. 9h), des membranes nucléaires se forment autour des quatre groupes de chromosomes qui se décondensent partiellement. La cellule se scinde ensuite en quatre cellules filles qui forment une tétrade (Fig. 9i).

#### 1.2. Les divisions irrégulières

Des anomalies méiotiques sont détectées dans les boutons floraux des deux populations analysées (Tadart Mokrane, Ilmaten). Les anomalies observées concernent les chromosomes non orientés, les univalents et les bivalents non orientés en métaphase I. Nous avons également observé des chromosome agglutinés on métaphase I, des divisions asynchrones, de la cytomixie, des ponts chromatiques, des monades, des dyades, des triades, des pentades, des hexades, des heptades et des micro noyaux. La population de Tatadart Mokrane présente un pourcentage d'anomalies de 40,01%, et celle de Ilmaten un pourcentage de 40,53% (Tab. III).

**Tab. III :** Taux d'anomalies calculés chez les deux populations de *Oxalis cernua* Thunb. analysées.

	Tadart M	okrane	Ilmaten	
	Nombre	%	Nombre	%
Total de cellules analysées	11928	%	12402	%
Stickiness	20	0,17	0	0,00
Divisions asynchrones	8	0,07	2	0,02
Ponts chromatiques	0	0,00	10	0,08
Cytomixie	387	3,24	140	1,13
Univalents	52	0,44	93	0,75
Bivalents non-orientés	23	0,19	0	0,00
Chromosomes non-orientés	21	0,18	59	0,48
Micronoyaux	1649	14,54	1356	10,94
Cellules multipolaires	1901	15,93	2288	18,45
Cellules multipolaires avec micronoyaux	626	5,25	1103	8,68
Total de cellules irrégulières	4687	40,01	5051	40,53

#### - Stickiness (ou chromosomes agglutinés)

La stickiness a été identifiée par Koernicke (1905) et le terme «viscosité» a été utilisé pour la première fois par Beadle (1932), décrivant le comportement collant des chromosomes dans les cellules de maïs ayant subi une mutation (Srivastava et Kapoor, 2008). La viscosité des chromosomes devient visible à partir de la métaphase I. Lors de cette phase, les cellules présentent des grappes chromosomiques, formant des touffes denses et collantes de chromatine (Fig. 10a). Cette anomalie est présente avec un taux de 0,17% dans la population Tadart Mokrane alors qu'elle semble absente dans la population d'Ilmaten (Tab. III).



Fig. 10. Aspect des cellules mères de pollen des deux populations de Oxalis cernua Thunb. montrant : a : Stickiness ; b ; c : Divisions asynchrones, d : Ponts chromatiques. La barre d'échelle = 10μm

Selon Pierozzi *et al.*, (2008) ; Srivastava et Kapoor (2008) et Godoy *et al.*, (2012), des facteurs génétiques et environnementaux sont considérés comme agents causaux de la viscosité des chromosomes. Ces auteurs signalent que la viscosité des chromosomes résulte d'un fonctionnement déficient ou défectueux des protéines non-histones, de l'ADN topoisomérase II ou des protéines périphériques. Elle pourrait également être causée soit par une mutation du (des) gène (s) codant une protéine (adhérence héréditaire) soit par une anomalie résultant de l'interaction d'un mutagène avec une protéine fonctionnelle (viscosité induite). Des études sur le maïs (Godoy *et al.*, 2012) montrent une cause environnementale due à un sol saturé en aluminium. Les chromosomes collants peuvent entraîner la formation de la chromatine pycnotique au stade de la prophase I et des ponts chromatiques à l'anaphase / télophase. (*Ranjbar et al.*, 2014). Dans les cas graves de collage, l'absence de séparation chromosomique provoque la formation de plusieurs noyaux pycnotiques qui aboutissent à une dégénérescence complète de la chromatine. En fonction du degré de viscosité des chromosomes, la fertilité du pollen peut être partiellement ou complètement affectée (Srivastava et Kapoor, 2008).

#### - Divisions asynchrones

Cette anomalie est observée en méiose II. Les deux cellules en métaphase II se comportent normalement. Cependant, à la fin de la métaphase II, l'une des cellules de la diade est en anaphase, tandis que l'autre reste en métaphase (Fig. 10bc). Elle est très faiblement représentée dans les deux populations analysées avec un taux de 0,07% dans la station de Tadart Mokrane et de 0,02% dans la station de Ilmaten (Tab.III).

Selon De Souza *et al.* (2003), une irrégularité dans le fuseau achromatique pourrait être à l'origine de cette anomalie. Risso-Pascotto *et al.* (2003) signalent que les chromosomes arrêtés au stade métaphase II forment des micronoyaux là où ils sont. Un tel comportement asynchrone conduit à la formation de triades ou des tétrades avec des microspores de taille inégale.

#### - Ponts chromatiques

Des ponts de chromatine sont décrits pour la première fois dans les hybrides interspécifiques de *Glycine max* et *G. soja* par Ahmad *et al.* (1977), qui ont constaté que les anomalies étaient influencées par les conditions environnementales. La même anomalie est rapportée par Ahmad *et al.* (1984) et qui concluent que le comportement chromosomique et la fertilité dépendent d'au moins trois facteurs : génotype, interaction température-génotype et température. Le traitement à l'azoture de sodium produit également des ponts de chromatine chez *T. foenum-graecum*, mais en nombre relativement moindre (Srivastava et Kapoor, 2008).

Les ponts de chromatine représentent des chromosomes incomplètement ségrégés présentant un ADN reliant les pôles en anaphase I (Fig. 10d). Cette anomalie est présente à un taux de 0,08 % dans la population de Ilmaten alors qu'elle est absente dans la population Tadart Mokrane (Tab. III). Les intermédiaires de réplication ou de recombinaison peuvent conduire à des ponts de chromatine en anaphase (c'est-à-dire des chaînes de chromatine reliant les deux masses de ségrégation (Petsalak *et al.*, 2014). Les ponts de chromatine semblent être les résultats de la stickiness, de la disjonction tardive des bivalents, à la réunion des chromosomes ou à la viscosité des chromosomes à la métaphase.

### - Cytomixie

La cytomixie a d'abord été décrite par Arnoldy (1900) dans les organes reproducteurs des gymnospermes puis par Körnicke (1901) dans des cellules mères de pollen (PMC) de *Crocus sativus*. Par la suite, Gates (1908) a observé des fils délicats de cytoplasme reliant des PMC adjacentes chez des espèces de *Oenothera* (Mursalimov *et al.*, 2013 ; Ranjbar *et al.*, 2014). En 1911, Gates appelle cytomixie ce qui lui est paru être une migration de la chromatine d'une cellule-mère de pollen vers une autre (De Nettancourt, 1964).

Le phénomène de cytomixie est défini comme la migration de la matière chromatique entre les cellules proximales par des connexions cytoplasmiques ou des ponts intercellulaires et des canaux cytomictiques ainsi que par la dissolution de la paroi cellulaire (Mursalimov *et al.*, 2013 ; Kaur et Singhal, 2014). Selon Ranjbar *et al.*, (2014), ces connexions constituent une voie importante pour l'échange de matériel génétique et de cytoplasme entre les PMC proches. Chez *Oxalis cernua*, un échange de matériel génétique est observé entre les cellules mères de pollen (Fig. 11) à des taux de 3,24% dans la population de Tadart Mokrane et de 1,13% dans celle de d'Ilmaten (Tab. III).



Fig. 11. Aspects des cellules mères de pollen des populations analysées de Oxalis cernua Thunb. montrant des ponts cytomictiques. a : pont chromatique entre deux cellules mères de pollen, b : trois ponts chromatiques entre deux cellules mères de pollen, c : quatre ponts chromatiques entre quatre cellules mères de pollen, c, d : cytomixie entre un groupe de cellules mères de pollen, e : cytomixie entre les noyaux d'une tétrade. La barre d'échelle =

Elle est caractérisée par des troubles de la formation de bivalents, de la plaque métaphasique et cytokinèse (Kravets, 2012). Selon Kaur et Singhal (2014), certains facteurs considérés comme responsables de la cytomixie comprennent l'action d'agents chimiques tels que la colchicine, l'utilisation d'herbicides, l'inhibition partielle ou totale de la cytocinèse pendant la microsporogenèse, les facteurs physiologiques et environnementaux, la température les différences de pression, les facteurs de stress et le contrôle génétique.

La cytomixie est considérée comme une cause possible d'aneuploïdie et de polyploïdie où elle produit des grains de pollen non réduits comme rapporté chez plusieurs espèces de graminées dont *Dactylis* (Ranjbar *et al.*, 2014) ; Shabrangi *et al.*, (2013) ; Kaur et Singhal, 2014).

#### - Univalents

Il a été noté au début de l'histoire de la cytogénétique (Darlington, 1939) que les univalents en méiose ont tendance à se diviser (casser) à travers leurs centromères produisant des chromosomes télocentriques (Östergren et Vigfusson, 1953). La migration chromosomique précoce vers les pôles peut provenir de chromosomes univalents en métaphase I (Bione *et al.*, 2000). Un à quatre univalents sont observés (Fig. 12) avec un taux de 0,44% pour la population de Tadart Mokrane et avec un taux de 0,75% pour la population d'Ilmaten. Cette anomalie provient d'une absence d'appariement au stade pachytènes ou de mutants synaptiques (Srivastava et Kapoor, 2008). Les univalents peuvent également être une conséquence de la cytomixie.



Fig. 12 : Aspect des cellules mères de pollen des deux populations de Oxalis cernua Thunb. montrant des univalents en métaphase I. a : un univalents, b : deux univalents, c : trois univalents, d : quatre univalents. La barre d'échelle = 10μm

#### - Bivalents non-orientés

Un à quatre bivalents non-orientés sont observés à la métaphase I (Fig. 13) dans la population de Tadart Mokrane avec un taux de 0,19% alors que dans la population de Ilmaten, cette irrégularité semble absente. Selon Bione *et al.* (2000), un bivalent est une structure formé par 2 chromosomes reliés par des chiasmas et non positionné sur la plaque équatoriale.

Selon Godoy *et al.* (2012), les bivalents non orientés résultent d'une rupture de liaison des fibres du fuseau achromatique au kinétochore, les faisant se disperser dans le cytoplasme tandis que les autres bivalents sont alignés sur la plaque équatoriale en métaphase I. Les bivalents non orientés peuvent conduire à la formation de micronoyaux dans la télophase I si elles ne sont pas réintégrées au noyau télophasique.

### **Résultats et discussion**



Fig. 13 : Aspect des cellules mères de pollen des deux populations de Oxalis cernua
Thunb. analysées montrant des bivalents. a : un bivalents, b : deux bivalents, c : trois
bivalents, d : quatre bivalents. La barre d'échelle = 10μm

#### - Chromosomes non-orientés ou chromosomes retardataires

Cette irrégularité est attribuée à la dissociation partielle de nucléoprotéines et à l'altérations de leur structure d'organisation provoquées par un traitement mutagène. Au cours de la méiose, les chromosomes non-orientés sont remarqués en télophase I, anaphase II et en métaphase II. Un à quatre chromosomes non-orientés sont observés dans la population de Tadart Mokrane avec des taux de 0,18 % pour la population et de 0.09% pour la population de Ilmaten (Tab. III, Fig. 14). Les retardataires surviennent soit en raison du manque de synapse aux stades prophase ou de séparation précoce ou les deux à la fois. Ces retardataires pourraient dégénérer ou entraîner la formation de polyades.

Les chromosomes non orientés peuvent produire des micronoyaux ; ce qui peut mener à la formation de micro-pollen et probablement à des gamètes avec un déséquilibre numéraire dans les chromosomes tels que les aneuploïdes (Ranjbar *et al.*, 2014).



Fig. 14 : Aspect des cellules mères de pollen des populations de *Oxalis cernua* Thunb.
montrant des chromosomes non orientés. - un chromosomes non orienté (a : métaphaseI, b : telophaseI, c : prophase II, d : métaphase II); deux chromosomes non orientés (e : métaphase II, f : anaphase I); trois chromosomes non orientés; (g : anaphase II); quatre chromosomes non orientés (h, i : métaphase I). La barre d'échelle = 10µm

#### - Micronoyaux

La formation de micronoyaux est le phénomène le plus observé dans les divisions cellulaires méiotiques dans les populations anlysées. Les deux populations de *Oxalis cernua* Thunb. présentent des taux relativement élevés de l'ordre de14,54 % dans la population de Tadart Mokrane et de 10,94 % dans celle de Ilmaten (Tab. III, Fig. 15).

Les micronoyaux sont des indicateurs des aspects mutagènes (Shabrangi *et al.*, 2010). Selon Badr *et al.* (2014), ils pouvent entraîner la perte de matériel génétique. Les micronoyaux apparaissent également si les retardataires ou les chromosomes non orientés ne parviennent pas à atteindre les pôles à temps pour être dans le noyau principal de la télophase. Les micronoyaux peuvent dériver d'un chromosome retardataire. Des micronoyaux induits par le rayonnement  $\gamma$  semblent être le produit des ruptures chromosomiques (Badr *et al.*, 2014).



Fig. 15 : Aspect des cellules mères de pollen des populations de Oxalis cernua Thunb.
a : tétrade avec deux micronoyaux, b : trois tétrade avec deux micronoyaux, c : tétrade avec quatre micronoyaux, d : tétrade avec cinq micronoyaux, e : tétrade avec sept micronoyaux. La barre d'échelle = 10µm

#### - Cellules multipolaires

Les cellules multipolaires sont observées à la télophase II. Elles se présentent sous forme de monades, de diades, de triades, de pentades, d'hexades ou de heptades (Fig. 16). La population de Ilmaten se singularise avec un taux relativement élevé de 18,45% par rapport à la population de Tadart Mokrane (15,93%) (Tab. III). Cette anomalie serait également une conséquence de la cytomixie selon Bellucci et *al.*, (2003). Les divisions asynchrones induiraient la formation des triades (Risso-Pascotto *et al.*, 2003). Souza *et al.* (2008) considèrent ces cellules multipolaires comme une conséquence des chromosomes retardataires et des univalents observés en anaphase et en métaphase.



Fig. 16 : Aspect des différentes cellules multipolaires dans les populations analysées de *Oxalis cernua* Thunb. **a** : monade, **b** : diade, c : triade, **d** : pentade, **e** : hexade, **f** : heptade. La barre d'échelle =  $10\mu m$ 

#### - Cellules multipolaires avec micronoyaux

Les photographies de diade, triade, pentade, hexade heptade avec des micronoyaux sont illustrées dans la (Fig.17). Les cellules multipolaires avec micronoyaux sont observées à des pourcentages de 5,25 % dans la population de Tadart Mokrane et de 8,68% dans celle d'Ilmaten (Tab. III). Selon Risso-Pascotto *et al.*, (2003), cette anomalie résulte de la présence des chromosomes retardataires en anaphase I et des divisions asynchrones.



**Fig. 17** : Aspect des différentes cellules mères de pollen des populations de *Oxalis cernua* Thunb. **a** : Diade à  $2\mu$ N, **b** : Diade à  $4\mu$ N, **c** : Triade à  $1\mu$ N, **d** : Triade à  $2\mu$ N, **e** : Triade à  $4\mu$ N, **f** : Triade à  $5\mu$ N, **g** : Triade à  $6\mu$ N, **h** : Pentade à  $1\mu$ N, **i** : Pentade à  $8\mu$ N, **j** : Hexade à  $2\mu$ N, **k** : Heptade à  $2\mu$ N.  $\mu$ N = micronoyau, la barre d'échelle =  $10\mu$ m

#### 2. Analyse de la fertilité pollinique

Un taux de fertilité pollinique est estimé pour chaque population analysée. Il représente le rapport du nombre de grains de pollen fertiles au nombre de grains de pollen total observés. Les grains de pollen bien colorés et de forme régulière sont fertiles (Fig. 18a.), alors que les grains de forme et de couleur irrégulière sont considérés comme non fertiles (Fig. 18c).



Fig. 18 : Aspect des grains de pollen observés dans les populations de *Oxalis cernua* Thunb.
a: grain de pollen viable subsphérique et bien coloré, d: grains de pollen viables triporés, c : grain de pollen non coloré donc non viable et triporé, d, e : grains de pollen avec différentes formes, tailles, viables (colorés) et non viables (non colorés). La barre d'échelle = 10µm

Le pourcentage de viabilité du pollen est faible et variable. Ilmaten présente la valeur moyenne de 67,48%, tandis que Tadart Mokrane présente un taux plus faible de 57,73 %. Une variabilité est également observée dans la taille (grande, moyenne, petite) des grains de pollen dans chaque population étudiée. Les grains de pollen de *Oxalis cernua* ont une forme sphérique, ornementée et tri-aperturée.

Ces taux d'infertilité peuvent s'expliquer par les taux d'anomalies enregistrés dans les deux stations. La cytomixie est probablement le facteur important agissant sur la fertilité pollinique (Shabrangi *et al.*, 2013). Le stress abiotique (choc thermique) et le stress biotique (attaques parasitaires) peuvent également influer sur ce taux (Benmouhoub, 2007).

#### Conclusion

Deux populations d'*Oxalis cernua* Thunb. échantillonnées dans les villages de Tadart Mokrane et d'Ilmaten (Béjaïa) ont fait l'objet d'une analyse cytogénétique (analyse des cellules mères de pollen en division) et d'une analyse de la viabilité pollinique.

Une méthode de cytogénétique classique au Feulgen et à l'orcéine est appliquée à des très jeunes boutons floraux pour l'analyse de la méiose. Une coloration au bleu de coton est utilisée dans l'analyse de la viabilité du pollen.

L'étude des cellules mères de pollen d'*Oxalis cernua* montre un déroulement de la méiose avec un certain nombre d'anomalies. Parmi les aberrations rencontrées, nous citons la cytomixie, les micronoyaux, les chromosomes agglutinés (stickiness), les chromosomes non orientés, les bivalents, les univalents, les divisions asynchrones, les ponts chromatiques, les cellules multipolaires (monade, diade, triade, pentade, hexade, heptade) et les cellules multipolaires avec micronoyaux. Les pourcentage d'anomalies observées pour les deux populations est de 40,01% et 40,53%.

Les taux de fertilité pollinique calculés dans la population d'Ilmaten est de 67,48% et dans la population Tadart Mokrane est de 57,73%. Ce faible taux peut s'expliquer par la présence d'anomalies en méiose. On observe également une grande variabilité de la forme et de la taille des grains de pollen.

- Adouane S. 2016. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès, Université Mohamed Khider-Biskra. 195p.
- Ahmed M. S. 2010. Identification cytogénétique d'espèces annuelles du genre Medicago par les techniques de coloration au Feulgen et au Giemsa, Université Ahmed Ben Bella d'Oran1 Es Senia. 86p

**Angiosperm Phylogeny Group 2016**. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV (PDF), Botanical Journal of the Linnean Society, **181** (1): 1–20, doi:10.1111/boj.12385, retrieved 2016-06-11

- Ater M. 2000.Note sur la présence d'une forme stérile d'*Oxalis pes-caprae* L. au Maroc.259-261.
- Badr A., El-Shazly H. H., Halawa M. 2014. Cytological Effects of Gamma Radiation and Its Impact on Growth and Yield of M1 and M2 Plants of *Cowpea Cultivars.Cytologia* 79 (2): 195-206.
- Bellucci M., Roscini C., Mariani A. 2003. Cytomixis in Pollen Mother Cells of *Medicago* sativa L. Journal of Heredity 94 (6) : 512–516.
- Benmouhoub H. 2007. Analyse d'hybrides F1 et F2 intra- et/ou interspécifiques chez Medicago polymorpha L., M. intertexta (L.) Miller, M. ciliaris (L.) Krocker, M. arabica (L.) Hudson, M.orbicularis (L.) Bartal. Et M. minima (L.) Bartal.: interprétation taxogénétique. Magister en Biologie, Option : Biologie de la Conservation et Eco développement, Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, p.86.
- Bione N. C. P., Pagliarini M. S., Toledo J. F. F. d. 2000. Meiotic behavior of *several* Brazilian soybean varieties. Genetics and Molecular Biology 23 (3): 623-631.
- **Bouchard É. 2006.** Caractérisation morphologique et cytogénétique de deux lignées d'*Arabidopsis thaliana* déficientes pour PMS1, une protéine du système de correction des mésappariements [ressource électronique], Université Laval.83p.
- Boussaha A., Hayouni A., Marouani A. and Ben Naceur M. 2014. Diversité morpho génétique de Oxalis pes-caprae, L. au Péninsule du Cap Bon de la Tunisie, International Journal of Innovation and Scientific Research ISSN 2351-8014 Vol. 9 No. 2 Sep. 2014, pp. 376-385.

- Castro S., Ferrero V., Costa J., Sousa A J., Castro M., Navarro L., Loureiro J. 2013. Reproductive strategy of the invasive *Oxalis pes-caprae*: distribution patterns of floral morphs, ploidy levels and sexual reproduction.*Biological Invasions*15 (8) : 1863-1875.
- Castro S., Loureiro J., Santos C., Ater M., Ayensa G., Navarro L. 2007. Distribution of flower morphs, ploidy level and sexual reproduction of the invasive *weed Oxalis pescaprae* in the western area of the Mediterranean region. *Annals of Botany* **99** (3) : 507-517.
- Castro S., Loureiro J., Santos C., Ater M., Ayensa G., Navarro L. 2007. Distribution of flower morphs, ploidy level and sexual reproduction of the invasive weed *Oxalis pescaprae* in the western area of the Mediterranean region. *Annals of Botany* **99** (3) : 507-517.
- **Dawe R. K. 1998.** Meiotic chromosome organization and segregation in plants. *Annual review of plant biology* **49** (1): 371-395.
- **De Nettancourt D. 1964.** La Cytogénétique de Lotus (Leguminosae). *Cytologia* **29** (2) : 191-195.
- De Souza M. M., Pereira T. N., Viana A. P., Pereira M. G., Bernacci L.C., Sudré C.P., Da Cruz S. L. 2003. Meiotic irregularities and pollen viability in *Passiflora edmundoi* Sacco (Passifloraceae). Caryologia 56 (2) : 161-169.
- **DellaGreca M., Previtera L., Zarrelli A. 2010.** A new aromatic component from *Oxalis pescaprae. Natural product research* **24** (10) : 958-961.
- Dumont M. (2011). Mécanismes impliqués dans la formation des anomalies chromosomiques lors de la meiose en absence de *brca2* chez la plante *Arabidopsis thaliana*, Université Paris Sud-Paris XI.123p.
- Gimeno I., Vila M., Hulme P. E. I. 2006. Are islands more susceptible to plant invasion than continents? A test using Oxalis pes-caprae L. in the western Mediterranean. Journal of Biogeography33 (9) : 1559-1565.
- Godoy S. M. d., Pereira A. R. A., Romagnolo M.B., Risso-Pascotto C. 2012. Meiotic behavior during microsporogenesis of *Alchornea triplinervia* (Sprengel) Müller Argoviensis. *Ciência Rural* 42 (6) : 1027-1032.
- Jahier J., Chevre A., Eber F., Delourme R., Tanguy A. 1992. Techniques de cytogénétique végétale. *INRA*, Paris. 183p.

- Kaur M. and Singhal K. V. 2014. Fust Repeat of cytomixis, and Méiotic Nepetagovaniana Solang Valley, Kullu District, Himachal Pradesh. *Cytologia*; **79** : 227-233.
- **Kravets E. 2012.** Nature, significance, and cytological consequences of cytomixis. *Cytology and Genetics* **46** (3) : 188-195.
- Maninder K., Vijay K. S. 2013. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants. *Planta* 238 (3) : 415-423.
- Mohammedi D., Mohammedi S., Keck G. 2015. Principales intoxications végétales chez les ruminants en zone méditerranéenne. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 67 (4) : 163-171.
- Mursalimov S. R., Sidorchuk Y. V., Deineko E. V. 2013. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants. *Planta* 238 (3) : 415-423
- **Obone C. 2005.** The systematic significance of the fruit and seed morphology and anatomy in selected *Oxalis* L.(Oxalidaceae) species, Stellenbosch: University of Stellenbosch.77p.
- **Ornduff R. 1987.** Reproductive systems and chromosome races of *Oxalis pes-caprae* L. and their bearing on the genesis of a noxious weed. *Annals of the Missouri Botanical Garden*: 79-84.
- Östergren G. and VIGFUSSON E. 1953. ON POSITION CORRELATIONS OF UNIVALENTS AND QUASI-BIVALENTS FORMED BY STICKY UNIVALENTS. *Hereditas*. 39 (1-2) 33-50.
- Pagliarini M. S. 2000. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular biology* 23 (4) : 997-1002.
- **Penet L. 2005.** Evolution de la morphologie du pollen chez les Angiospermes: sélection naturelle et/ou contraintes développementales?,la thése de docteur en sciences de l'universite Paris 11.208p.
- Petsalak E., Dandoulaki M., Morrice N., Zachos G. 2014. Chk1 protects against chromatin bridges by constitutively phosphorylating BLM serine 502 to inhibit BLM degradation. J Cell Sci 127 (18): 3902-3908.
- Pierozzi N.I., Baroni R.M. Renata M. B., Benatti R. 2008. Cytological investigations of the microsporogenesis in male-sterile ramie (*Boehmeria nivea* Gaud.) and its offspring. *Cytologia* 73 (1): 21-31.

- Rani S., Jeelani, S M., Kumari S., Gupta R. C., Chahota R. K. 2015. Cytomorphology, Geographical Distribution and Ethnobotany of Genus *Oxalis* Linn. from Western Himalaya (India). *Cytologia* 80 (3) : 295-302.
- Ranjbar M., Karami S., Rostami M. 2014. Cytogenetic study and meiotic behaviour on 13 populations of *Fibigia* (Brassicaceae) in Iran. *Webbia* 69 (2) : 269-280.
- **Risso-Pascotto C ., Pagliarini M. S ., Valle C. B. d. 2003**. A mutation in the spindle checkpoint arresting meiosis II in *Brachiaria ruziziensis*. *Genome* **46** (4) : 724-728.
- Roeder G. S. 1997. Meiotic chromosomes: it takes two to tango. *Genes & development* 11 (20): 2600-2621.
- Shabrangi A., Majd A., Sheidai M. 2013. Comparing cytogenetic effects of extremely low frequency electromagnetic fields in *Brassica napus* L and *Zea mays* L. *Journal of Pharmaceutical and Health Sciences* 1 (3) : 185-192.
- Shabrangi A., Sheidai M., Majd A., NabIuni M., Dorranian D. 2010. Cytogenetic abnormalities caused by extremely low frequency electromagnetic fields in canola. *Science Asia* 36 : 292-296.
- Souza M. M., Pereira T. N. S. Vieira M. L. C. 2008. Cytogenetic studies in some species of Passiflora L. (Passifloraceae): a review emphasizing Brazilian species. Brazilian Archives of Biology and Technology 51 (2): 247-258.
- Srivastava A., Kapoor K. 2008. Seed yield is not impaired by chromosome stickiness in sodium azide treated *Trigonella foenum-graecum*. *Cytologia* **73** (2) : 115-121.
- **Tavares D. S. R. 2014.** Evolution of invasiveness: the case study of the invasive *Oxalis pescaprae* in the Mediterranean basin.universidade de coimbra 68
- Türkmen N. 2010. Oxalis pes-caprae f. pleniflora (Lowe) Sunding (Oxalidaceae), a new record for the flora of Turkey. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 7 (5): 596-599.
- Zhang Y., Salesses G., Lespinasse Y. 1988. Etude Cytogénétique de Quelques Clones Diploïdes et Polyploïdes de Pommier *Malus× domestica Borkh*. Considérations quant à l'origine du pommier. *Cytologia* 53 (4): 739-748.

#### Résumé

Une analyse de très jeunes boutons floraux des cellules mères de pollen en division méiotique chez *Oxalis cernua* et une évaluation de la fertilité pollinique sur des fleurs avant l'anthèse sont réalisées. Deux populations sont échantillonnées dans la région de Béjaïa : la station de Tadart Mokrane (Timzrit) et la station d'Ilmaten.

Des anomalies de méiose sont mises en évidence dans les deux stations analysées. Parmi ces anomalies, nous retrouvons des cellules multipolaires avec un taux relativement important (15,93 à 18,45%), des micronoyaux au stade tétrade (10,94 à 14,54%), des cellules multipolaires avec micronoyaux (5,25 à 8,68%), de la cytomixie (1,13 à 3,24%), des univalents en métaphase I, chromosomes non-orientés (0,44 à 0,75%), des bivalents nonorientés en métaphase I (0,19%), des ponts chromatiques en anaphase I (0,08%), des stickiness (0,17%) et des divisions asynchrones en métaphase I avec des taux faibles (0,02 à 0,07%). Les taux de fertilité pollinique calculés pour les deux populations sont de 57,73 % dans la population Tadart Mokrane (Timzrit) et de 67,48% dans la population du village d'Ilmaten. Ce faible taux de fertilité peut s'expliquer par la présence d'anomalies en méiose. **Mots-clés** :*Oxalis cernua* Thunb., anomalies méiotiques, fertilité pollinique, Béjaïa.

#### Summary

An analysis of very young flower buds of dividing pollen mother cells meiotic in *Oxalis cernua* and an assessment of pollen fertility on flowers before anthesis are performed. Two populations are sampled in the Béjaïa region: the Tadart Mokrane Station (Timzrit) and Ilmaten Station.

Meiosis abnormalities are highlighted in the two stations analyzed. Among these abnormalities, we find multipolar cells with a relatively (15.93 to 18.45%), micronuclei at the tetrad stage (10.94 to 14.54%), multipolar micronucleus (5.25 to 8.68%), cytomixia (1.13 to 3.24%), univalent metaphase I, non-oriented chromosomes (0.44 to 0.75%), unoriented bivalents in metaphase I (0.19%), chromatic bridges in anaphase I (0.08%), stickiness (0.17%) and metaphase I asynchronous divisions with low levels (0.02 to 0.07%). The pollen fertility rates calculated for the two populations are 57.73% in the population Tadart Mokrane (Timzrit) and 67.48% in the village population of Ilmaten. This low fertility rate can be explained by the presence of abnormalities in meiosis.

Keywords: Oxalis cernua Thmb., Meiotic anomalies, pollen fertility, Bejaia.