

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département: Sciences Biologiques de l'Environnement
Spécialité: Biodiversité et Sécurité Alimentaire



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en **Biodiversité et Sécurité**
Alimentaire

Thème

Analyse cytogénétique d'une population du Clade
des Fabids (Angiospermes) dans la région
d'Adékar (Bejaia)

Présenté par :

M^{elle} KERKADENE Lydia & M^{elle} LEKDIM Nora

Soutenu le : **25 Juin 2023**

Devant le jury composé de :

Noms et Prénoms	Grade	Fonction	Lieu d'exercice
Mr BALLA El Hacéne	Professeure	Président	Université de Bejaia
Mme OURARI Malika	M.C.A	Promotrice	Université de Bejaia
Mme DJAFRI-BOUALLAGE Lynda	M.A.A	Examinatrice	Université de Bejaia

Année universitaire : 2022 / 2023

REMERCIEMENTS

Avant tout, on remercie Dieu Le Tout Puissant de nous avoir donné santé, volonté, force et courage d'entamer et de continuer ce travail jusqu'à la fin.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre promotrice, Madame **OURARI Malika**. On la remercie de nous avoir encadrées, orientées, aidées et conseillées.

Nos sincères remerciements s'adressent également à Madame **BOUALLAG-DJAFRI Lynda** pour son aide et son apport durant toutes les différentes étapes de la réalisation de ce travail et de nous avoir fait l'honneur d'être examinatrice ce travail.

Nos remerciements les plus vifs vont à Monsieur **BALLA El hacéne** qui nous a fait le très grand honneur d'accepter la présidence du jury de ce travail.

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents pour leur soutien, leur patience, leur encouragement durant mon parcours

A mes sœurs **MESSOUDA** et **FATIHA** ainsi leur maris et leur enfants

A mes frères **M-REDA**, **RACHID** et **BELALE** ainsi qu'à leurs femmes et leur enfants

A mon fiancé **SOFIANE BOUZEKRI**

A tous mes amis, tout particulièrement **IKRAM BOUZEKRI**

A **NORA LEKDIM**, chère amie avant d'être binôme

Lydia

DÉDICACES

A l'homme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon cher père.

A mon adorable mère, le précieux don de Dieu, à qui je dois la vie, ma réussite

A mon fiancé **Valid** qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

A mes chères sœurs **Leila, Celia** et ma petite sœur **Soumia**, sans oublier mes frère **Yahia** et **Abd-Alhafid**. Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

A mes chères tantes **Karima, Malia, Nora, Sabrina, Yasmina**

A ma meilleure **Nissa** qui ne m'a jamais laissée seule et qui m'a soutenu dans tous les moments difficiles.

A mes amies **Asma, Sabah, Khawla, Kahina** et ma belle-sœur **Hadjer**

Sans oublier ma binôme **Lydia** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

NORA

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Synthèse bibliographique

1. Les Angiospermes	3
1.1 Définition	3
1.2. La fleur des Angiospermes	3
2. Cytogénétique.....	4
3. L'hybridation interspécifique	5
4. La méiose	5
4.1. Les étapes de la méiose	5
4.1.1. Division réductionnelle.....	6
4.1.2. Division équationnelle	7
5. Les anomalies de la méiose	9
6. Le pollen.....	10
6.1. Définition.....	10
6.2. Formation de pollen.....	10
6.3. Taille des grains de pollen	11
6.4. Forme des grains de pollen.....	11
6.5. Structure des grains de pollen.....	11
6.7. Viabilité du pollen	12

Matériels et méthodes

1. Lieu de réalisation du travail	13
2. Matériel de laboratoire utilisé.....	13
3. Le matériel végétal	14
4. Méthodes d'étude	14
4.1. Analyse de la méiose pollinique	14
4.2. Analyse du pollen	15

Résultats et Discussions

1. Etude de la méiose.....	16
1.1. Méiose régulière	16
1.2. Déroulement irrégulier de la méiose	17
2. Analyse du pollen.....	18
2.1. Morphologie du pollen	19
2.2. Evaluation de la production de pollen	20
2.3. Evaluation de la viabilité pollinique.....	21
2.4. Evaluation de la surface des grains de pollen.....	22
Conclusion.....	24
Liste des références	25

Liste des figures

Figure	Titre	page
Figure.1	Deux exemples d'organisation de la fleur des Angiospermes (Charlotte 2018)	4
Figure.2	Aspects des différents stades de la méiose. (Peter et al. 2011)	9
Figure.3	Les différentes étapes de la formation du pollen (Richard et al. 2012)	10
Figure.4	Détail de la paroi du grain de pollen (Priou 2015)	12
Figure 5	Photographies du matériel utilisé	13
Figure 6	Différents stades de la méiose I observés dans la population de Fabids analysée	16
Figure 7	Différents stades de la méiose II observés dans la population de Fabids analysée	16
Figure 8	Cas d'anomalies méiotiques observés dans la population des Fabids analysée au microscope optique	18
Figure 9	photographie des grains de pollen montre un forme triporé	19
Figure10	Photographie d'une préparation montrant les différentes formes des grains de pollen	19
Figure 11	Nombre de grains de pollen produits par fleur de l'échantillon analysé	20
Figure 12	Nombre de grains de pollen produit par étamine de l'échantillon analysé	20
Figure 13	photographie d'une préparation montrant des grains de pollen viable et non viable après coloration au bleu de coton	21
Figure 14	taux de viabilité pollinique estimé par fleur dans la population de clade analysé	22
Figure 15	variation de la surface cellulaire des grains de pollen par fleur de l'échantillon des fabids analysé.	23



INTRODUCTION

Introduction

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié de 19^e siècle mais c'est surtout à partir des années 1920 que la cytogénétique s'est développée et son importance n'a cessé de croître (Jahier et al.1992). La cytogénétique est l'une de nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes. Elle participe à la connaissance du matériel végétal utilisé, et l'exploitation de la variabilité infra spécifique (Jahier et al.1992)

Les Angiospermes sont des plantes à ovaire, apparues il y a plus de 400 millions d'années. Sur les 300 000 espèces végétales répertoriées (environ), 85% seraient des Angiospermes Elles constituent l'élément végétal dominant dans les forêts tropicales, les étendues d'arbustes et les déserts. Elles représentent la quasi-totalité des végétaux cultivés par l'homme pour leurs graines et pour leurs fruits (Christenhusz et al, 2016).

La méiose est une étape essentielle chez les espèces à reproduction sexuée. Elle comporte des mécanismes génétiques hautement conservés qui assurent la viabilité des gamètes donc des espèces. Dans la méiose, toutes les étapes sont contrôlées par des gènes spécifiques pour que la méiose se produise de manière régulière (Pagliarini, 2000). La méiose comprend deux phases successives : la division réductionnelle et la division équationnelle.

Le pollen est le gamétophyte mâle des plantes à ovules, c'est-à-dire la structure qui produit et contient les deux gamètes mâles.

A cause de l'implantation de presque toutes les Angiospermes, leur pollen est une adaptation pour acheminer les gamètes mâles jusqu'au stigmate lors de la pollinisation au moyen de différents vecteurs (insectes, eau, vent...). La science qui a pour objet l'étude du pollen est la palynologie (Alhamidi, 2017). Le pollen des Angiospermes est composé de deux cellules entourées d'une paroi épaisse (l'exine). Cette dernière est amincie dans certaines régions appelées apertures, permettant les échanges entre le pollen et le milieu extérieur, la

germination et la formation du tube pollinique et limitant les risques de rupture de la paroi (Bousmid, 2019).

Dans ce mémoire qui compte quatre parties, nous présentons en premier lieu, une synthèse bibliographique sur les Angiospermes, sur la cytogénétique, sur l'hybridation interspécifique, sur la méiose et sur la viabilité pollinique. La deuxième partie est consacrée au matériel végétal analysé ainsi qu'à la méthodologie utilisée. Dans la troisième partie nous exposons les résultats obtenus et leur interprétation. Nous terminons avec une conclusion générale et des perspectives.



SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les Angiospermes

1.1 Définition

Le terme « angiosperme » provient du grec *aggeion* signifiant « capsule » et *sperma* signifiant « semence ». Il désigne des plantes appartenant au clade des spermatophytes ou plantes à ovules. Ce sont des végétaux dont les organes reproducteurs sont condensés en une fleur et dont les graines fécondées sont enfermées dans un fruit.

Il existe aussi bien des Angiospermes dioïques (les fleurs mâles et femelles sont portées par des pieds différents) que monoïques (les fleurs mâles et femelles sont portées par le même pied). Cependant, en général, les fleurs sont bisexuées. On retrouve alors à la fois l'organe reproducteur femelle, le pistil, et l'organe reproducteur mâle, l'étamine.

1.2. La fleur des Angiospermes

Les Angiospermes ont colonisé tous les milieux, des déserts chauds et froids aux prairies boréales, et certaines espèces sont même retournées secondairement en milieu aquatique (adaptation ou milieu terrestre). Les Angiospermes présentent donc une grande diversité en termes d'adaptations et de modes de vie, et cette diversité se retrouve également au niveau de la fleur qui constitue une innovation (caractère nouveau) évolutive pour ce groupe (Fig.1).

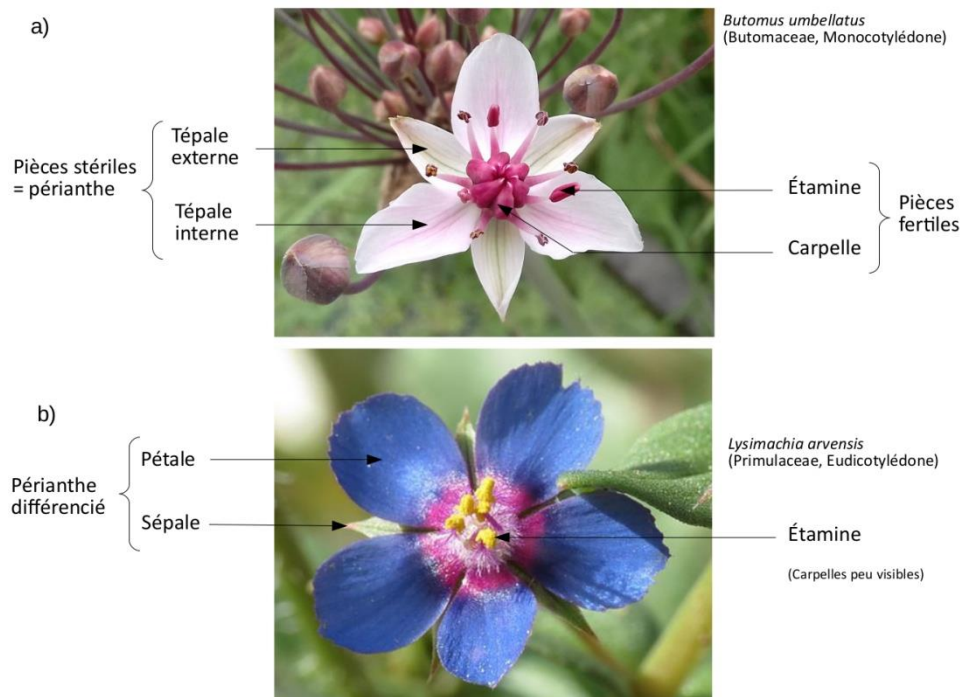


Fig.1 : Deux exemples d'organisation de la fleur des Angiospermes (charlotte .2018)

a : Fleur avec un périanthe indifférencié, composé de tépales, b : Fleur avec un périanthe différencié en sépales et pétales.

Les fleurs des Angiospermes présentent une grande variabilité de tailles, d'organisations et de formes. Avant les résultats obtenus en phylogénie moléculaire, les systèmes de classification proposés pour les Angiospermes étaient essentiellement basés sur la structure de la fleur.

2. Cytogénétique

La cytogénétique est une étude qui permet de répondre aux questions et problématiques non résolues sur le fonctionnement normal et pathologique des chromosomes (condensation, recombinaison, réparation, ségrégation, transmission). Cette discipline fait le lien entre la cytologie et la génétique .Les premiers travaux cytogénétiques sur les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19èmesiècle. Elle est à l'origine de la compréhension de certains mécanismes héréditaires du monde végétal dans sa diversité (taxonomie, phylogénie). Actuellement, des techniques nouvelles exploitent l'aspect moléculaire des chromosomes tels

que l'hybridation fluorescente *in situ*(FISH) et l'hybridation génomique *in situ* (GISH). C'est une discipline sur laquelle s'appuie notamment l'amélioration des plantes. Elle participe à:

- la connaissance du matériel végétal en déterminant le nombre chromosomique et le niveau de ploïdie des taxons (alloploïdie, autopoïdie...).
- l'établissement des cartes génétiques (FISH)
- l'exploitation de la variabilité interspécifique et intraspécifique.

En outre la cytogénétique peut être impliquée au niveau de la création variétale en participant à l'explication et la résolution des problèmes ponctuels rencontrés (Jahier et al.1992).

3. L'hybridation interspécifique

L'hybridation interspécifique est le croisement entre individus appartenant à deux espèces différentes mais relativement proches phylogénétiquement. Les croisements demeurent néanmoins difficiles vu les biologies florales complexes, la compétition pollinique, l'incompatibilité, la non fécondation, etc. (Demarly, 1977). L'absence ou la faible fréquence d'appariement entre les chromosomes conduit le plus souvent à des formes stériles à la première génération (Cauderon, 1978 *in* Chaker e tDjenadi, 1995).

4. La méiose

La méiose est un ensemble de deux divisions successives qui, à partir d'une cellule à $2n$ chromosomes (cellule diploïde), donne naissance à quatre cellules à n chromosomes (cellules haploïdes). Cette réduction chromatique compense exactement le doublement du nombre de chromosomes qui résulte de la fécondation et assure la permanence du stock chromosomique au cours des générations successives.

4.1. Les étapes de la méiose

Au cours de la méiose, la cellule mère subit une première division appelée division réductionnelle puis une deuxième dite division équationnelle.

4.1.1. Division réductionnelle

C'est une division très différente de la mitose somatique au cours de laquelle le nombre des chromosomes est réduit de moitié. Elle commence par une prophase longue au cours de laquelle les chromosomes homologues s'apparient. On distingue quatre phases différentes :

- La prophase I

Cette phase est la plus longue et la plus complexe (Fig.2 a, b, c). Elle commence après l'interphase, elle est divisée en cinq stades :

Le stade leptotène (*leptos*= tenu, allongé): Les chromosomes formés de 2 chromatides sont longs et fins, se condensent autour d'un axe protéique et deviennent visibles. Les chromatides, accolées, sont ancrées à l'enveloppe nucléaire au niveau de plaques d'attachement. Souvent, ces chromosomes convergent vers un pôle du noyau (disposition dite en bouquet).

Le stade Zygotène (*zygos*= union) est caractérisé par l'appariement des chromosomes homologues qui sont étroitement joints de telle sorte que les gènes homologues d'origine paternelle et maternelle sont juxtaposés. Ces homologues sont maintenus entre eux par une structure appelée complexe synaptonémal. Chaque paire de chromosomes ainsi accolées est appelée « bivalent ».

Le stade Pachytène (*pachys*= épais) débute lorsque l'appariement des homologues est terminé. Les chromosomes homologues de chaque paire deviennent très enroulés, plus courts et plus épais. La fin de ce stade est souvent appelée « strepsitène ».

Le Stade Diplotène (*Diploos*= double) : les deux chromosomes homologues de chaque bivalent s'écartent l'un de l'autre. On constate alors que chacun des deux homologues est dédoublé sur toute sa longueur, excepté au centromère. Ce dédoublement s'effectue durant l'interphase pré-méiotique, mais ne devient visible qu'au stade diplotène. Les deux homologues ne sont pas séparés entièrement, ils restent attachés en des endroits où on a une structure en forme de croix. Ces structures sont appelées *chiasmata*. Elles sont formées par les *crossing-over*. Ces derniers ont lieu durant le stade de pachytène ou zygotène. Ces *crossing-over* (enjambements) aboutissent à un échange de segments de chromosomes entre chromatides non sœurs appartenant à des chromosomes homologues.

Le stade Diacinèse est l'étape finale de la prophase se caractérise par l'arrêt des synthèses d'ARN et l'arrêt de la condensation des chromosomes qui se détachent de

l'enveloppe nucléaire et dont les chromatides deviennent visibles en microscopie photonique. Les chromatides homologues s'éloignent, les chiasmas glissent vers les extrémités mais restent présents.

- La métaphase I

La métaphase (Fig.2 d) de la méiose I est comparable à la métaphase de la mitose, sauf que ce sont les chromosomes et non les chromatides qui se déplacent vers la plaque métaphasique (ou plaque équatoriale). Les mouvements des chromosomes sont sous contrôle des microtubules fusoriaux.

- L'anaphase I

Durant l'anaphase I (Fig.2 e, f) les deux chromosomes d'une même paire se séparent, pour se diriger vers les pôles de la cellule. Chaque chromosome qui migre est composé de 2 chromatides. A chaque pôle de la cellule, il y a donc un chromosome de chaque paire. Ces cellules sont haploïdes.

- La télophase I

Lorsque les chromosomes sont parvenus à chaque pôle, de nouvelles membranes nucléaires se différencient mais les chromosomes se modifient peu et conservent en général leur individualité. Une cyto-diérèse se produit parfois (Fig.2g).

4.1.2. Division équationnelle

C'est une mitose qui suit immédiatement la division réductionnelle et maintient le nombre haploïde des chromosomes. Au terme de ce stade, on observe quatre noyaux possédant la moitié du nombre de chromosomes par rapport à la cellule originelle. Ces noyaux se développent et donnent des spores ou des gamètes.

- La prophase II

Elle débute rapidement après la fin de la télophase I. Cette phase est courte (Fig.2 h). Les deux lots de chromosomes entrent dans une brève prophase II, sans stade S (interphase). Les enveloppes nucléaires se rompent et un nouveau fuseau se forme (Ravene et al. 2011).

- Métaphase II

En métaphase II (Fig.2 i), les fibres fusoriales des deux pôles s'unissent aux kinétochores des différentes chromatides sœurs, permettant la migration des chromosomes vers la plaque métaphasique suite à la tension exercée sur eux par les microtubules tirant les centromères frères (Ravene al. 2011).

- Anaphase II

Les fibres fusoriales sera accourcissent et le complexe de cohésion unissant les centromères des chromatides sœurs est détruit (Fig.2 g). Les centromères se scindent et les chromatides vont vers les pôles opposés (Ravene et al. 2011).

- Télophase II

A chaque pôle de la cellule (Fig.2 k), il y a reconstitution d'un noyau autour des chromosomes. Chaque chromosome n'est composé que d'une chromatide. On obtient donc 4 cellules haploïdes différentes. Ces cellules sont différentes puisqu'elles ne contiennent pas la même information génétique.

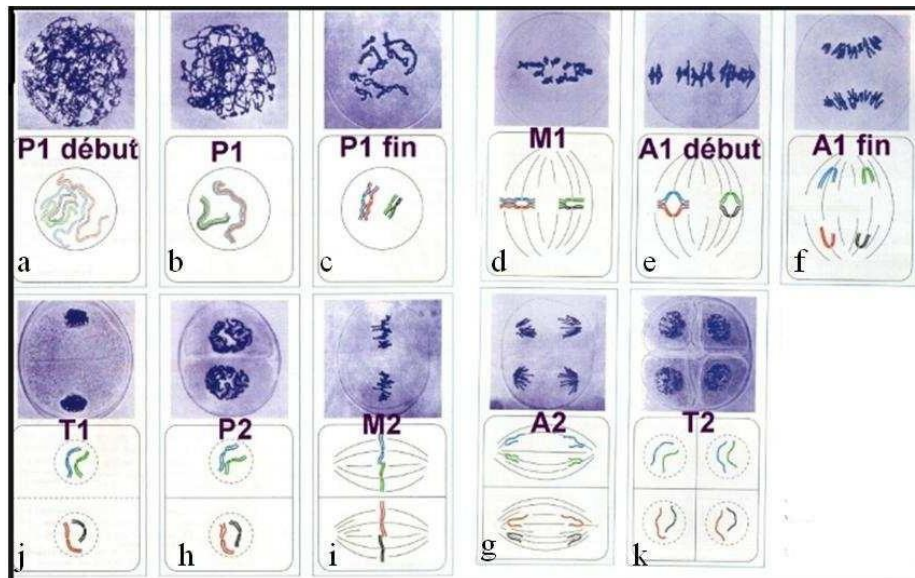


Fig.2:Aspects des différents stades de la méiose. (Ravene.et al., 2011).

a : Cellule au début d'une prophase I ; **b :** Cellule en prophase I ; **c :** Cellule à la fin d'une prophase; **d :** Cellule en métaphase I; **e :** Cellule en début d'anaphase; **f :** Cellule en fin d'anaphase; **g :** Cellule en télophase ; **h :** Cellule en prophase II ; **i :** Cellule en métaphase II ; **g :** Cellule en anaphase II ;**k:** cellule en télophase II.

5. Les anomalies de la méiose

L'étude des différents stades de la méiose renseigne sur le comportement chromosomique et la fertilité d'une espèce. Les facteurs environnementaux et épigénétiques peuvent influencer le déroulement du processus méiotique en agissant sur les gènes qui contrôlent les différents événements méiotiques. Il en résulte des irrégularités qui peuvent altérer le cours normal de la méiose et conduire à une diminution de la fertilité des gamètes donc la stérilité de la plante (Lavinsky et al., 2017).

Les principales irrégularités (anomalies) méiotiques sont la cytomixie, les micronoyaux (MN), les chromosomes retardataires, orientation anormale du fuseau achromatique, les cellules fusionnées ou syncytes, les ponts chromosomiques, la viscosité des chromosomes et la ségrégation chromosomique irrégulière.

6. Le pollen

6.1. Définition

Le pollen est le gamétophyte mâle, donc le producteur de gamètes mâles, contenus dans les sacs polliniques de l'anthere des étamines. Le terme « pollen » vient du grec "palê" qui désigne la farine. Le mot "palynologie", qui est issu de la même racine, signifie l'étude scientifique du pollen (Donadieu, 1982 ; Dutau, 2008). Chaque grain de pollen comporte deux cellules : une cellule végétative et une reproductrice. On distingue le pollen transporté par le vent, dit anémophile, et le pollen entomophile, transporté par les insectes, et en grande partie par les abeilles.

6.2. Formation de pollen

La gamétogenèse mâle se déroule dans les anthères où les cellules mères de pollen subissent différentes étapes de transformation (Fig.3). Elle démarre par une méiose de la cellule mère pour aboutir ensuite à la formation d'une forme appelée tétrade. Sous l'action conjointe d'enzymes comme des pectines méthyle-stérases (Francis et al, 2006), des glucanases (Hird et al. 1993) issues du tapis staminal, les microspores sont libérées après la dégradation de la paroi de la tétrade. La microspore subit ensuite une première mitose (mitose asymétrique) qui aboutit à la formation de la cellule génératrice qui formera les deux gamètes mâles après la mitose 2 (Twell, 2011). Le grain de pollen se déshydrate afin de ralentir son métabolisme (Flavien, 2019; Bedinger, 1992).

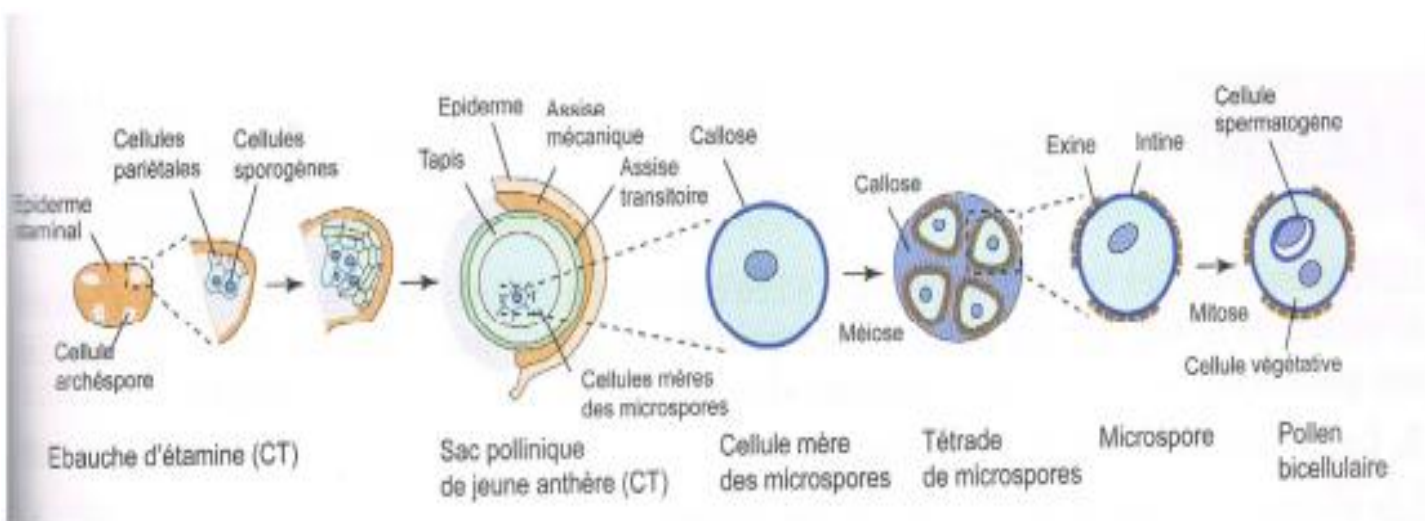


Fig. 3. Les différentes étapes de la formation du pollen (Richard et al. 2012).

6.3. Taille des grains de pollen

Un grain de pollen est spécifique d'un groupe végétal, parfois même de l'espèce, ce qui permet d'identifier les plantes (Dutau, 2008). Les grains de pollen se différencient par leurs tailles, allant de 7 μ m pour le myosotis à plus de 100 μ m les malvacées et jusqu'à 150 μ m pour la courge.

6.4. Forme des grains de pollen

La forme est un élément important pour déterminer les grains de pollen. Les grains peuvent être sphériques ou allongés. Lorsqu'ils sont allongés selon son axe polaire, ils sont dits longiaxes. Lorsqu'ils sont aplatis selon cet axe polaire, ils sont dits bréviaxes (Dobson, 2000).

6.5. Structure des grains de pollen

Le grain de pollen mûr est composé de deux cellules haploïdes : une grande cellule végétative et une cellule spermato-gène.

Chaque grain de pollen comporte deux couches protectrices (Fig.4). L'enveloppe externe, appelée exine, définit la forme du grain, se compose de deux couches : l'endexine interne et l'ectexine externe. Elle est indestructible, sinon par l'oxydation. Cette propriété nous permet de retrouver des grains de pollen fossilisés datant de millions d'années (Bondallaz et al., 2021). L'enveloppe interne, l'intine est de nature cellulosique. Souvent, elle se compose de deux à trois couches, la plus externe (exospore) ayant une teneur élevée en pectine (Richard et al., 2012 ; Bousmid, 2019). L'exine s'amincit en plusieurs endroits formant les apertures. Plus il y a d'apertures, plus la germination du pollen est rapide, et ceci en particulier en conditions humides. À l'opposé, un petit nombre d'apertures signifie un grain plus résistant, ce qui est un avantage en milieu sec avec peu d'insectes pollinisateurs (Bondallaz et al., 2021). De plus ces grains peuvent être sans apertures (inaperturés), porés, ou colporés (Charlotte, 2016).

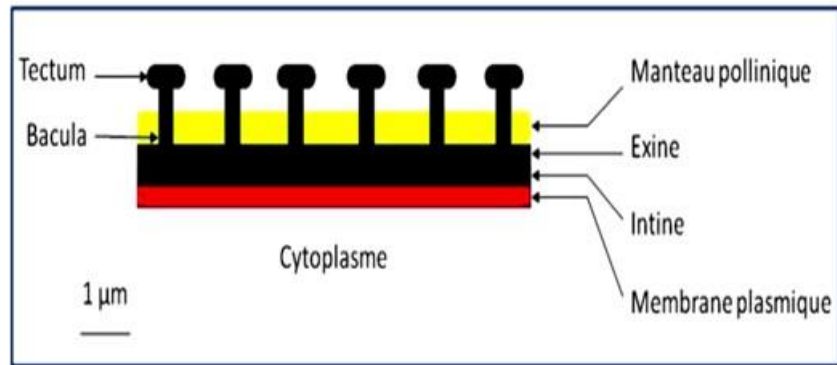


Fig. 4 : Détail de la paroi du grain de pollen (Prieu, 2015).

6.7. Viabilité du pollen

Selon les espèces, les grains de pollen restent vivants pendant un temps plus ou moins long après leur libération. On peut déterminer la qualité du pollen par des méthodes classiques, comme les techniques de coloration ou la germination du pollen *in vitro* (Heidmann, 2016).



**MATÉRIEL ET
MÉTHODES D'ÉTUDE**

Matériel et méthodes d'étude

1. Lieu de réalisation du travail

Notre expérimentation a eu lieu au niveau du laboratoire pédagogique de Biologie et Physiologie végétales de la faculté SNV à l'université Abderrahmane Mira de Béjaïa.

2. Matériel de laboratoire utilisé

Le matériel utilisé dans cette étude est :

- Microscope optique
- Lames et lamelles
- Aiguilles et pinces
- Bain-marie
- Loupe binoculaire
- Tubes à Eppendorf
- Colorants (Bleu de coton, Réactif de Schiff)

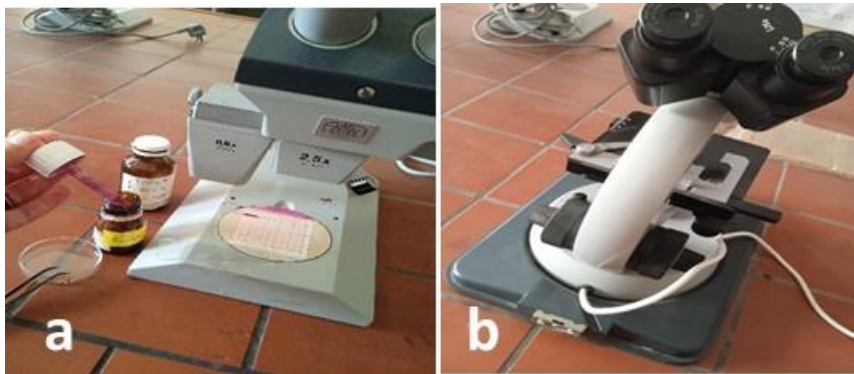


Figure 5 : Photographies du matériel utilisé. a : Loupe binoculaire, b : Microscope optique

3. Le matériel végétal

Cette étude porte sur une population du clade des Fabids (Angiospermes) échantillonnée dans la région d'Adékar (Bejaia). L'échantillonnage a été effectué par Madame OURARI M. durant la période de floraison. Le matériel végétal utilisé consiste en des fleurs récoltées puis fixées *in situ* et conservées dans des flacons en verre fumé contenant du Carnoy.

4. Méthodes d'étude

Deux analyses sont menées dans ce travail : l'analyse du déroulement de la méiose pollinique et une analyse du pollen.

4.1. Analyse de la méiose pollinique

Pour suivre le déroulement de la méiose, la méthode utilisée est la méthode de Feulgen. Elle consiste en trois étapes :

- Hydrolyse acide

Dans un tube à Eppendorf, deux boutons floraux subissent une hydrolyse acide dans une goutte d'HCl (1N) dans bain-marie à 60°C pendant deux minutes. Ensuite, les boutons floraux sont rincés à l'eau distillée.

- Coloration

Cette étape consiste en une simple coloration avec l'orcéine. Les boutons floraux sont d'abord colorés dans de l'orcéine pendant deux heures à l'obscurité. Sur une lame porte objet qui contient les étamines, on dépose une goutte d'orcéine acétique et on recouvre d'une lamelle en mettant du papier filtre sur la lamelle pour éliminer l'excès du colorant, puis on exerce une légère pression avec la gomme de crayon pour écraser les étamines et libérer les cellules mères polliniques.

- Observation au microscope optique :

Les observations se font au microscope optique au grossissement 10x40 et les meilleures observations sont photographiées.

4.2. Analyse du pollen

Le nombre de grains de pollen produits par fleur, le taux de viabilité et la surface de 100 grains de pollen sont calculés pour 15 fleurs analysées.

Les boutons floraux mûrs récoltés au stade avant l'anthèse sont mis tout de suite dans du fixateur. La technique utilisée pour étudier le pollen a été inspirée du protocole de Mertens et Hamnersmith (1998 *in* Djafri-Bouallag et al. 2019) qui est une technique de coloration au Bleu de coton. Sous une loupe binoculaire, les anthères sont déposées sur une lame porte objet, dans une goutte d'eau, puis disséquées à l'aide d'une aiguille fine, afin de libérer les grains de pollen. Ces derniers sont ensuite colorés dans une goutte de Bleu de coton puis recouverts d'une lamelle avant de passer à l'observation au microscope optique. Les grains de pollen colorés uniformément d'un bleu foncé sont considérés comme viables alors que ceux de forme et de tailles anormales, plasmolysés et non colorés uniformément sont considérés comme non viables et stériles.

Le nombre total de grains de pollen, le nombre de grains viables et non viables sont déterminés.

Le taux de viabilité pollinique est calculé selon la formule suivante :

$$\text{TV}(\%) = (V / (V + NV)) \times 100$$

TV : taux de viabilité pollinique

V : nombre de grain de pollen viable (fertiles).

NV : nombre de grain de pollen non viable (stériles).

La détermination la taille du grain de pollen est réalisée sur des photographies du pollen viable en utilisant deux logiciels :

- Adobe Photoshop qui est un outil de création graphique et de retouche photos.
- ImageJ qui est un outil d'analyse et de traitement d'image.

En premier lieu, grâce au logiciel adobe Photoshop cc, les grains de pollen viables de chaque étamine sont délimités et isolés. En second lieu, la surface cellulaire des grains de pollen est mesurée, grâce au logiciel ImageJ.



RÉSULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussion

Le présent travail porte sur une analyse du déroulement de la méiose en cytogénétique et sur une analyse du pollen d'une population des Fabids (Angiospermes) échantillonnée dans la région d'Adékar (Bejaia).

1. Etude de la méiose

L'étude de la méiose est réalisée sur des cellules mères de pollen obtenues à partir des anthères des jeunes boutons floraux. En général, la méiose est régulière mais quelques irrégularités sont notées.

1.1. Méiose régulière

Les différentes étapes de la méiose I et II sont observées. La méiose I est illustrée par la figure 6.

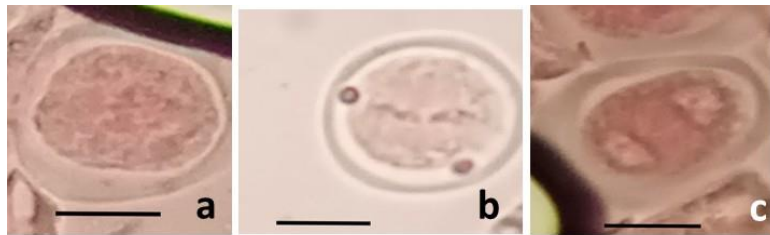


Fig. 6. Différents stades de la méiose I observés dans la population de Fabids analysée. a : prophase I, b : métaphase I, c : anaphase I. Barre d'échelle=10 μ m

Les stades de la méiose II sont illustrés par la figure 7.

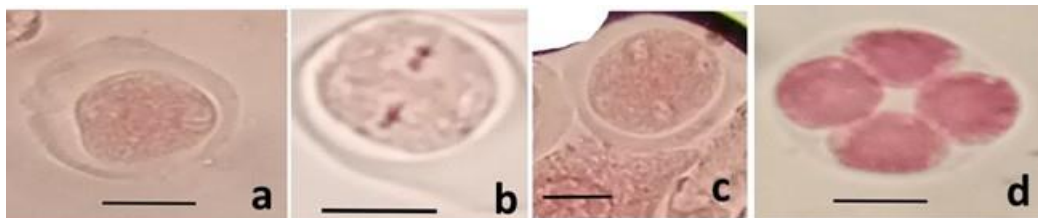


Fig.7. Différents stades de la méiose II observés dans la population de Fabids analysée. a : prophase II, b : métaphase II, c : anaphase II, d : tétrade. Barre d'échelle=10 μ m

La méiose est un processus complexe qui permet la production de gamètes contenant un mélange unique de gènes. Les étapes de la méiose sont essentielles pour que chaque gamète soit génétiquement différent et pour produire une grande variabilité génétique dans la population de descendants.

Dans la division réductionnelle on a observé trois phases (prophase I, métaphase I et anaphase I).

La prophase I (Fig. 6a) : les chromosomes se condensent et apparaissent sous forme de paires homologues. A ce stade, les chromosomes s'apparient et échangent des segments d'ADN, ce qui est appelé la recombinaison génétique. Cela permet une grande variabilité génétique dans les gamètes produits.

La métaphase I (Fig. 6b) : les paires homologues de chromosomes se dirigent vers le centre de la cellule et s'alignent sur la plaque équatoriale.

L'anaphase I : (Fig. 6c) les paires homologues se séparent et se dirigent vers les pôles opposés de la cellule.

Dans la division équationnelle on a observé quatre phases (prophase II, métaphase II, anaphase II et des tétrades)

La prophase II (Fig. 7a) : les deux cellules filles issues de la méiose I entrent en prophase II et les chromosomes se condensent à nouveau.

La métaphase II (Fig. 7 b) : les chromosomes s'alignent sur la plaque équatoriale dans chaque cellule fille.

L'anaphase II (Fig. 7c) : les chromatides sœurs se séparent et sont tirées vers les pôles opposés de la cellule.

Tétrade (Fig. 7d): c'est une structure formée par quatre microspores

1.2. Déroulement irrégulier de la méiose

Les quelques cas irréguliers de la méiose observés sont les triades et la cytomixie et sont illustrées par la figure 8.

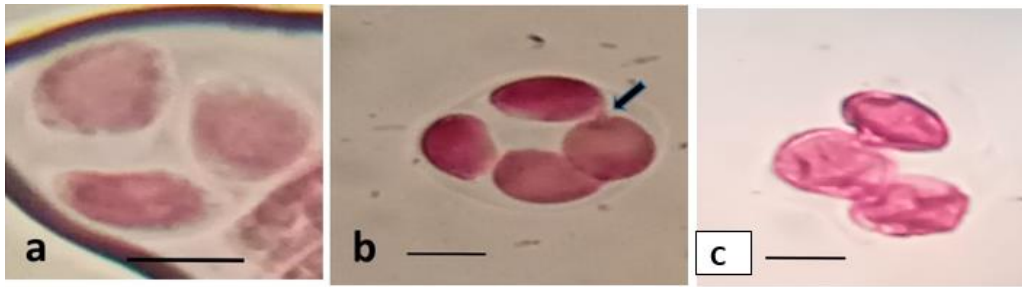


Fig. 8. Cas d'anomalies méiotiques observés dans la population des Fabids analysée au microscope optique. a : triade, b : cytomixie entre deux microspores (tétrade), c : cytomixie entre deux microspores au stade triade .Barre d'échelle=10 μ m

Lors de la méiose, des anomalies peuvent survenir, notamment des erreurs de séparation des chromosomes homologues ou des chromatides sœurs. Ces anomalies peuvent entraîner des effets néfastes sur la santé et le développement de l'organisme.

Les triades (Fig. 8a) dans la méiose sont des structures générées par une mauvaise orientation du fuseau achromatique. Leur formation peut causer des maladies génétiques.

La cytomixie (Fig. 8bc) est un processus de transfert du matériel génétique d'une cellule à l'autre par le biais de canaux cytomictiques conduisant à une augmentation de la variabilité génétique dans la population étudiée.

2. Analyse du pollen

Cette partie regroupe les résultats de l'étude du pollen de clade des Fabids pour chaque fleur.

Dans cette partie, sont analysés :

- la forme du pollen,
- la production du pollen
- la viabilité du pollen
- la taille du pollen

2.1. Morphologie du pollen

La morphologie du pollen est déterminée par simple observation au microscope optique des grains de pollen colorés au bleu de coton. En général, les grains de pollen de l'espèce du clade des Fabids (Angiospermes) observés sont une forme sphérique et tripore (Fig. 9).

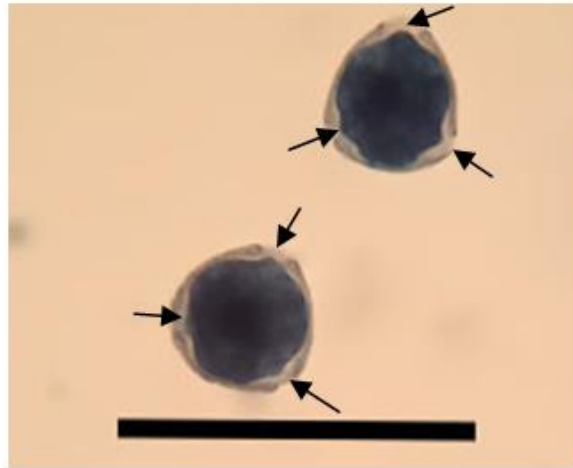


Fig. 9. Photographies des grains de pollen montrant une forme arrondie et présentant trois pores (triporé) observés au microscope optique G : 10x40. Barre d'échelle=10 μ m

Certains grains de pollen de l'espèce étudiée montrent une forme ovale (Fig.10).

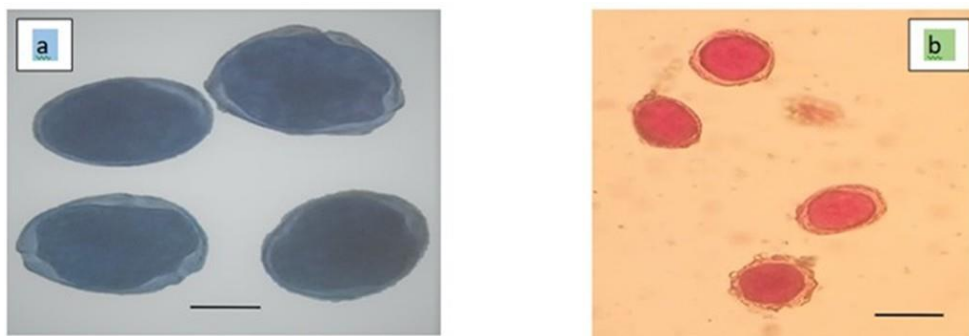


Fig. 10. Photographies de préparations montrant les différentes formes des grains de pollen de la population étudiée observé au microscope optique G : 10x40. a : forme ovale; b : forme sphérique. Barre d'échelle=10 μ m

2.2. Evaluation de la production de pollen

La production de pollen correspond au nombre total de grains de pollen viables et non viables produits par fleur .Dans cette étude nous avons estimé la production de pollen pour 15 fleurs prises au hasard. Le nombre de grains de pollen produits par étamine est également estimé. Par la suite, une comparaison est réalisée entre elles.

Au cours de cette analyse, nous avons constaté que cette espèce produit en moyenne 3890,33 grains de pollen par fleur (Fig.11).La moyenne par étamine est illustrée par la figure 12.

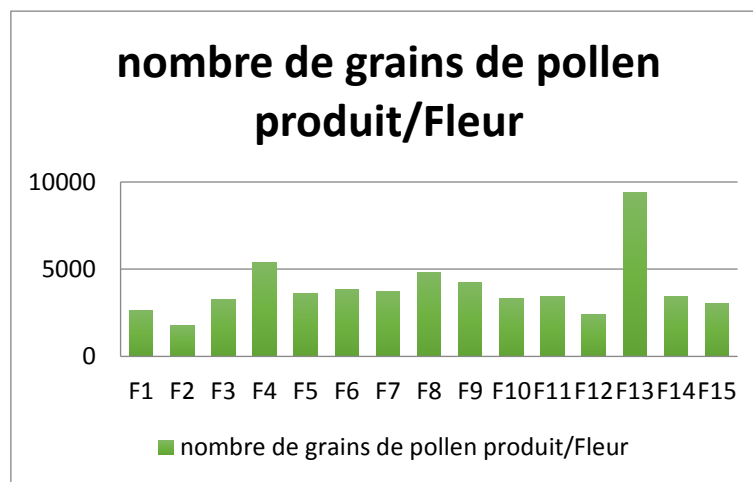


Fig. 11. Axe présente le nombre de grains de pollen produits par fleur de l'échantillon analysé

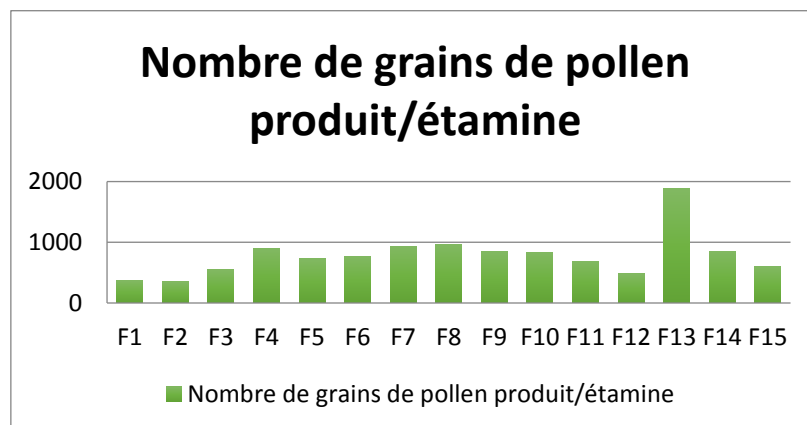


Fig. 12. Axe présente le nombre de grains de pollen produit par étamine de l'échantillon analysé

Nous avons remarqué que le nombre d'étamines de l'espèce étudiée est différent d'une fleur à l'autre.

Au cours de cette étude, nous avons également remarqué que dans cette population, la production de grains de pollen par fleur ou par étamine est très variable d'une fleur à une autre. Dans certaines fleurs il y'a des étamines qui produisent beaucoup plus de grains de pollen par rapport à d'autres. Dans d'autres fleurs la production de pollen/étamine est presque similaire.

La production des grains de pollen varie de 2400 à 9393 grains de pollen/fleur, et de 352 à 1878,6 grains de pollen/étamine.

D'après notre étude la fleur 13 contient le plus grand nombre d'étamines, et produit le plus grand nombre grains de pollen par fleur.

2. 3. Evaluation de la viabilité pollinique

La viabilité pollinique est exprimée en pourcentage, c'est le rapport du nombre de grains de pollen viables au nombre de grains de pollen total observé. Les grains de pollen viables sont de forme régulière et bien colorés au bleu de coton tandis que les grains de pollen non viables sont des formes et de couleurs irrégulières (Fig. 13).

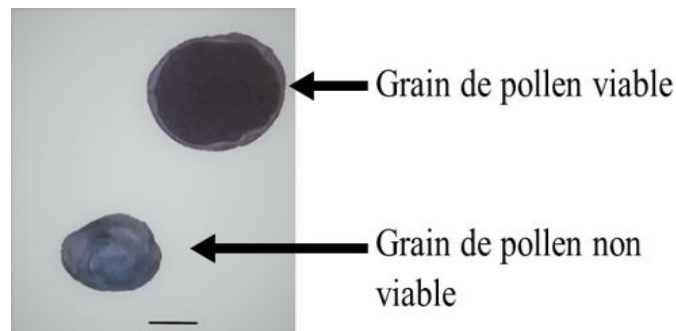


Fig. 13. Photographie d'une préparation montrant des grains de pollen viable et non viable observés au microscope optique après coloration au bleu de coton dans la population étudiée, G :10x40. Barre d'échelle=10µm

Les taux de la viabilité pollinique de la population étudiée sont présentés dans l'histogramme de la figure 14. Le pourcentage de viabilité pollinique estimé des fleurs est très variable d'une fleur à l'autre. Il varie de 60,15% au 93,62% avec une moyenne de 77,52.

Tab. 1. Taux de viabilité pollinique de la population de Fabids analysée

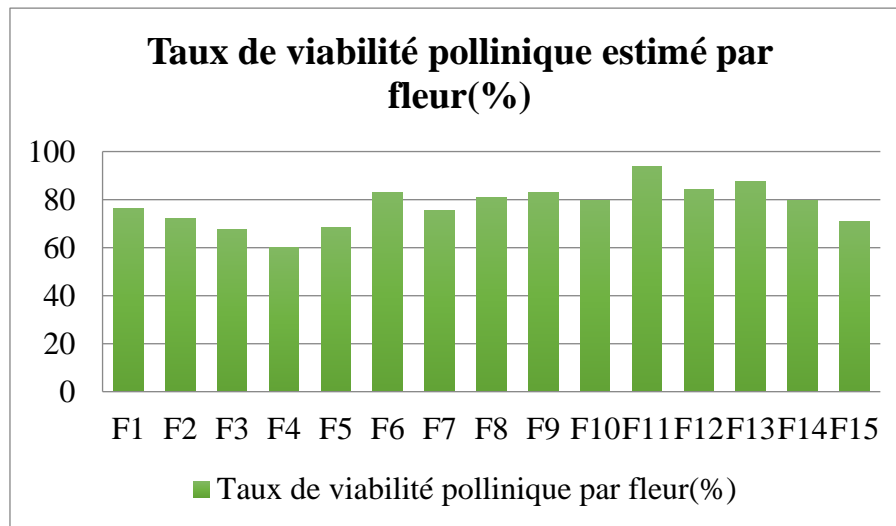


Fig. 14. Axe présente le Taux de viabilité pollinique estimé par fleur dans la population des Fabids analysée

2.4. Evaluation de la surface des grains de pollen

Les traitements des données sont réalisés sur des images des grains de pollen viable. 100 grains de pollen sont mesurés à l'aide du logiciel ImageJ après le traitement des images avec le logiciel photoshop.

La taille de 100 grains de pollen par fleur est estimée et les résultats pour chaque fleur sont donnés dans la figure 15.

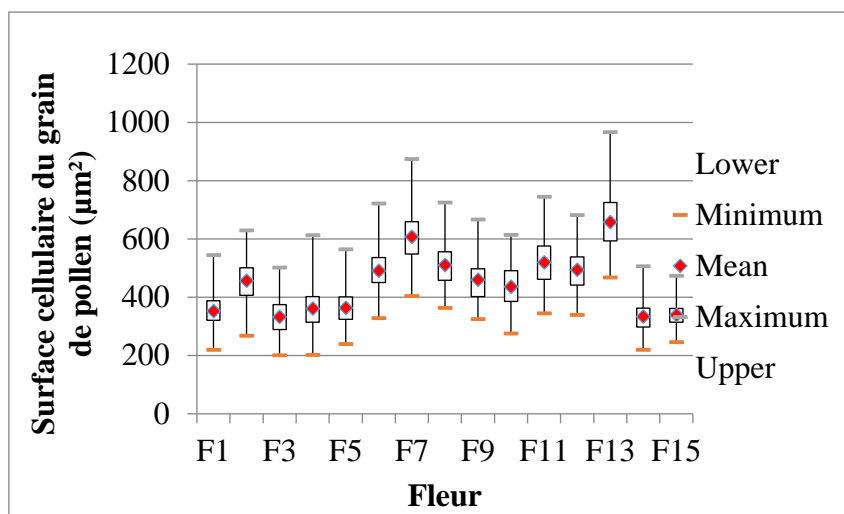


Fig.15. Axe présente la variation de la surface cellulaire des grains de pollen par fleur de l'échantillon des fabids analysé.

Concernant la taille des grains de pollen, cette étude a révélé que l'échantillon des Fabids présente un pollen avec une surface différente d'une fleur à une autre. La fleur 15 présente la surface la plus petite ; sa taille varie de 245,6380 à 473,4620 μm avec une moyenne de 339,8044 (CV=12,91852). La fleur 4 présente la surface la plus grande ; sa taille varie de 202,204 à 613,1310 μm avec une moyenne de 361,7144 (CV=18,74680). Les fleurs 1,2,3,4,5,6,8,9,10,11,13 et la fleur 14 présentent un pollen hétérogène avec un CV supérieur à 15. Les fleurs 7,12 et la fleur 15 présentent un pollen homogène avec un CV inférieur à 15.

Conclusion

Dans ce travail, une étude cytogénétique et du pollen est menée sur une population du clade des Fabids (Angiospermes). L'échantillon analysé est récolté dans la station d'Adékar dans la région de Béjaïa. L'étude cytogénétique est réalisée sur des cellules mères de pollen en division.

La méthode de cytogénétique classique 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. La population analysée présente un pollen de forme sphérique avec un certain nombre de forme ovale. Le pollen est tripore. L'étude des cellules mère de pollen de la population montre un déroulement de la méiose, avec un très petit nombre d'anomalies. Parmi les aberrations rencontrées, nous citons des cellules multipolaires.

L'analyse de la viabilité pollinique portée sur des boutons floraux a donné un taux de viabilité pollinique variant de 60,15 à 93,62 % avec un moyenne de 77,52%. On observe également une grande viabilité de la forme et de la taille des grains de pollen.

A

Alhamidi N.A, 2017. Etude du pollen de quelques espèces allergisantes de la région de Tlemcen, *thèse de doctorat*, faculté de médecine, université de Abou Baker Belkaid Tlemcen, 97 P.

B

Bedinger P, 1992. The remarkable biology of pollen. *Plant Cell*, vol 4, North Carolina, 887 p.

Bione, N. C.P., Pagliarini, M.S. et De Toledo, J. F.F. (2000). Meiotic behavior of several Brazilian Soybean varieties. *Meiotic Genetics and Molecular Biology*, 23 (3): 623-63. Kulg W., Cummings M., Spencer C., 2006. *Génétique*. 8ème édition. P.E.F, Paris, 704p.

Bondallaz M, Bartschi D, Boder S, Buriggiman J, Zouaoui I, Gardiol M, 2021. Le pollen Poudre de vie, la libellule janvier 2021, bulletin 30, 11 p.

Bousmid A, 2019. Biologie florale et diversité pollinique chez certaines Angiospermes d'intérêt économique, *thèse de doctorat*, Faculté des sciences de la nature et de la vie Département de Biologie et Ecologie végétales, université des frères mentouri Constantine, 199 p.

C

Chaker M., Djenadi C. (1995) : Caractéristique d'hybrides F1 de blé dur (*triticum durum dsef*) et de leur parents. Thèse d'Ingénieur d'Etat en Agronomie. INRA-EL-Harach. PP : 10-15.

Charlotte P. 2018. Portrait de la fleur de l'ancêtre des Angiospermes. Planet vie.

Christenhusz M., Byng W.J., 2016. Le nombre d'espèces végétales connues dans le monde et son augmentation annuelle vol 3, *Magnolia Press*, 201-217 P

D

Demarly Y., 1977. Génétique et amélioration des plants. Vol 4. 287P

Donadieu Y., 1982. Le Pollen. Éd. 5 Maloine. 55p.

Dutau G., 2008. France and pollens, *La Lettre du Pneumologue* • Vol. XI - n° 3, 111p

F

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.

Flavien D., 2011. Étude des mécanismes d'adhésion des tubes polliniques d'*Arabidopsis thaliana* par une approche de génétique chimique, *thèse de doctorat*, Biologie Intégrative, université de Rouen, 172 p.

Francis K.E., Lam S.Y., Copenhaver G.P., 2006. Separation of *Arabidopsis* pollen tetrads is regulated by quarter 1, a pectin méthylestérases gene. vol 142, Isu 4, 1013p.

H

Heidmann I, Kampmann G.S, Lambalk J, Ottiger M, 2016. Impedance Flow Cytometry: A Novel Technique in Pollen Analysis. *PLOS ONE* 11p.

Hird D.L, Worrall D, Hodge R, 1993. The antherspecific protein encoded by the *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana* A6 gene displays similarity to beta-1,3-glucanases. *The Plant J* 4, 1033p

J

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

K

Kaur M, and Singhal K. V., First report of cytotoxicity and meiotic abnormalities in *Nepeta gouaniana* from Solang valley, Kullu District, Himachal Pradesh; Department of Botany, Punjabi University, Patiala-14002, Punjab, India; 2014 the Japan Mendel Society *Cytologia* 79(2) : pp 227- 233.

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 serrata-digitata* L. (*PASSIFLORACEAE*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v.41, n.6, p.1018-1023.

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.

L

DJAFRI-BOUALLAG L, OURARI M, SAHNOUNE M. (2019) A cytogenetic and pollen study of annual *Medicago* species from Soummam valley (Northeastern of Algeria).

Laaidi K., Laaidi M., Besancenot J.P, 1997. Pollens, pollinoses et météorologie. La Météorologie 8e série. N° 20, 42p.

M

Mendes-Bonato, A. B., Pagliarini M. S., da Silva N. & Borges do Valle C. (2001) Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae). *Acta Scientiarum Maringá*, 23 (2): 619-625.

N

Nirmala, A. et Rao, P.N. (1996). Genesis of chromosome numerical mosaicism in higher plants. *Nucleus* 39: 151-175.):

P

Peter H. Raven (Biologiste), Georges B, Johnson, Kenneth A. 2011. Biologie, edd de Boeck Supérieur Amazon France, p 1406

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.

Piffanelli P., Ross J., Murphy D., 1998. Biogenesis and function of the lipidic structures of pollen grains. *Sex Plant Reprod* 11, 80p.

R

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).

Richard D, 2012. Biologie, Ed. 2, *Edition français*, Toulouse, 768p.

S

Sidrchuk Y, Novikovskaya A. A et Deineko E. V. (2015). Cytomixis in the cereal (Gramineae) microsporogenesis. *Protoplasma*. 253, p. 291-298

Singhal V. K and Kumara P. 2008 Impact of cytomixis on meiosis, pollen viability and size in wild populations of Himalaya poppy (*Meconopsis aculeate* Royal), *J. Biosci.* 33 371-380

T

Twell D, 2011. Male gametogenesis and germline specification in flowering plants. *Sex Plant Reprod* 24 :160 p.

Résumé

Une étude cytogénétique sur une population du clade des Fabids (Angiospermes) de la station d'Adékar dans la région de Béjaïa est réalisée. L'étude est effectuée au laboratoire de Biologie et de Physiologie Végétale. Cette étude porte sur de très jeunes boutons floraux des cellules mères de pollen en division méiotique et une évaluation de la viabilité pollinique sur quinze fleurs avant l'anthèse. Une coloration à l'orcéine est utilisée pour l'étude de la méiose. La coloration adoptée pour le pollen est celle au bleu de coton. La morphologie, la production et la viabilité des grains de pollen au niveau de chaque fleur sont examinées.

Différents stades de la méiose I (prophase I, métaphase I, anaphase I) et différentes phases de la méiose II (prophase II, métaphase II, anaphase II) sont observés. Quelques anomalies sont mises en évidence mais avec un très faible taux. Parmi ces anomalies nous retrouvons des cellules multipolaires (tétrade, triade). Le taux de viabilité pollinique calculé pour cette population varie de 60.15% à 93.62% avec une moyenne de 77.52%. Ce fort taux de viabilité pollinique peut s'expliquer par la régularité de la méiose.

Mots clés : Cytogénétique, clade des Fabids, méiose, anomalies méiotiques, pollen.

Abstract

A cytogenetic study on a population of the Fabids clade (Angiosperms) from the Adékar station in the Béjaïa region is carried out. The study is carried out in the Biology and Plant Physiology laboratory. This study focuses on very young flower buds of pollen mother cells in meiotic division and an evaluation of pollen viability on fifteen flowers before anthesis. Orcein staining is used for the study of meiosis. The coloring adopted for the pollen is that of cotton blue. The morphology, production and viability of pollen grains at the level of each flower are examined.

Different stages of meiosis I (prophase I, metaphase I, anaphase I) and different phases of meiosis II (prophase II, metaphase II, anaphase II) are observed. Some anomalies are highlighted but with a very low rate. Among these anomalies, we find multipolar cells (tetrad, triad). The calculated pollen viability rate for this population varies from 60.15% to 93.62% with an average of 77.52%. This high rate of pollen viability can be explained by the regularity of meiosis.

Key word: Cytogenetics, Fabids clade, meiosis, meiotic abnormalities, pollen.