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

جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie

Réf :.....

Mémoire

Présenté par

SALHI Nouara - YAHIAOUI Miassa

Pour l'obtention du diplôme de

Master Académique

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

Caryotypes et caryogramme de la variété n°01 de l'orge cultivée

Soutenu le : 19/09/2024 Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
M. BENKHENOUCHE N.	**MAA**	Président
M^me^ OURARI M.	**MCA**	Encadrant
M^me^ FARHI B.	**MCB**	Examinateur

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, on voudrait exprimer notre profonde gratitude envers Allah, pour Sa grâce et Sa guidance tout au long de ce projet, et tout au long de nos années universitaires et plus.

الحمد لله

On tient à remercier énormément madame OURARI Malika, notre encadrant de mémoire, enseignante à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, pour nous avoir orientées, dirigées, encadrées lors de ce travail et également pour tous ses conseils dans l'élaboration et la conception de ce mémoire.

Nous présentons également nos vifs remerciements aux membres du jury, pour avoir accepté d'évaluer notre travail et de siéger à notre soutenance de master et de l'enrichir par leurs propositions.

- Monsieur BENKHENNOUCHE N. (MAA Béjaia)

- Madame FARHI B. (MCB Béjaia).

Nous exprimons notre reconnaissance et remercions chaleureusement madame DJAFRI-BOUALLAG Linda, pour son aide, sa rigueur et ses connaissances qui nous ont permis d'accomplir ce travail ainsi que pour sa patience avec nous.

Nous présentons nos remerciements et notre gratitude à tous les enseignants qui nous ont encadrées lors de notre cycle universitaire, ainsi que toutes les personnes avec qui on a pu interagir au laboratoire de Biologie et Physiologie Végétales pour leur disponibilité et leur aide multiforme, M. HAMLAT M., M. BAKOURI Y. et Mme BENHAMICHE S.

Nous remercions vivement nos camarades de promotion, nos amis, nos proches et surtout nos familles, qui ont toujours su nous soutenir invariablement et nous encourager constamment.

Merci également à tous ceux qui ont fait partie de cette expérience enrichissante, ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce Projet de Fin d'Études, leurs conseils précieux et leur soutien ont été d'une importance capitale.

Dédicaces

Dédié à mes chers parents,

Que je ne remercierai jamais assez.

À travers les hauts et les bas, votre soutien constant et indéfectible a été ma force et ma lumière dans cette aventure académique.

Ce mémoire est le fruit de vos encouragements persévérants, vos sacrifices, votre amour et votre dévouement.

En reconnaissance et en hommage de votre foi inébranlable en moi, et votre soutien inconditionnel, je vous offre ce travail avec toute ma gratitude infinie et tout mon amour profond,

Et puis,

Je tiens aussi à présenter ma gratitude et exprimer ma reconnaissance envers mes chère amies Yasmina HABIBECHE, Tassadit DJERMANI pour leurs présences et leur soutien au quotidien.

Je remercie également énormément mon cousin Djamal YAHIAOUI pour tout son soutien durant toute ma scolarité sans lequel je ne serais pas arrivée là, et je lui dédie ce travail.

[Miassa YAHIAOUI]

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail,

A

La bougie de ma vie « mon père »,

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A

Ma très chère mère,

Qui m'a soutenue et encouragée durant ces années d'études.

A

Ma sœur Asma, notre fierté,

Qu'ALLAH l'augmente en science et en piété.

A

Mes très chers frères Fares et Zinedine

A

Tous mes amis,

Qui m'accompagnent dans les péripéties de ma vie,

[Nouara SALHI]

Liste des Figures

Figure N°	Titre	Page
01	Comparaison de la tolérance au sel chez diverses espèces (**Munns et Tester, 2008**).	10
02	Organisation d'un chromosome métaphasique (**Dupont, 2008**)	14
03	Représentation des différents stades de la mitose **(Denoulet et Prat, 2010)**	21
04	Différentes solutions utilisées pour la coloration des chromosomes.	24
05	Illustration photographique de la mise en germination des caryopses de la variété « Saïda ».	25
06	Illustration photographique de la coloration des racines au carmin acétique.	27
07	Montage au microscope optique de la lame portant la racine colorée et écrasée.	29
08	Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade prophase.	33
09	Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade métaphase	33
10	Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade anaphase.	34
11	Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade télophase.	35
12	Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade interphase.	36
13	Photographie de la plaque métaphasique de *H. vulgare* L., et son caryotype.	37
14	Photographie de la plaque métaphasique 02, et son caryotype.	40
15	Photographie de la plaque métaphasique 03, et son caryotype.	43
16	Photographie de la plaque métaphasique 04 et son caryotype.	46
17	Représentation schématisée du caryogramme établi à partir des quatre caryotypes de la variété étudiée.	50

Liste des Tableaux

Tableau N°	Titre	Page
I	Nomenclature chromosomique proposée par (**Levan et al., 1964**).	16
II	Mesures et formules des paramètres chromosomiques et indices d'asymétrie du caryotype utilisés dans le programme IdeoKar 1.3 (**Mirzaghaderi, 2015**).	30
III	Paramètres statistiques des chromosomes du caryotype de la plaque métaphasique n°1.	38
IV	Paramètres statistiques des chromosomes du caryotype de la plaque métaphasique 02.	41
V	Paramètres statistiques des chromosomes du caryotype de la plaque métaphasique 03.	44
VI	Paramètres statistiques des chromosomes du caryotype de la plaque métaphasique 04.	47
VII	Paramètres statistiques des chromosomes du caryogramme de la variété « Saïda » de *Hordeum vulgare* L.	49

Table des matières

Remerciements
Dédicaces

Liste des figures

Liste de tableaux

Introduction 01

Chapitre 01 : Revue Bibliographique

1. Description de l'orge cultivée 05

2. Origine de l'orge cultivée 06

3. Classification du genre *Hordeum* L. 07

4. Caractéristiques de *H. vulgare* 07

4.1. Caractéristiques génétiques 07
4.2. Caractéristiques agronomiques 08
4.3. Tolérance à la sécheresse 08
4.4. La tolérance à la salinité 10

5. La variété 'Saïda' 10

5.1. Monographie de la variété 10
5.2. Caractères morphologiques 10
5.3. Paramètres physiologiques 10
5.4. Rendement 10
5.5. Composition chimique 10

5.6. Tolérance au déficit hydrique 11

6. La cytogénétique 12

6.1. Définition de la Cytogénétique 12
6.2. Les Chromosomes 12
6.3. La Chromatine 13
6.4. Les Gènes 13
6.5. Le Génome 13
6.6. Le Chromosome métaphasique 13

6.7. Le cycle cellulaire 16
6.8. La mitose 17

Chapitre 02 : Matériels et méthodes

1. Matériels 23
2. Méthodes 25
   2.1. Lancement des germinations 25
   2.2. Le prélèvement 26
   2.3. Le prétraitement 26
   2.4. La fixation 26
   2.5. La coloration de Feulgen 26
   2.6. Ecrasement et Montage 28
   2.7. L'observation et photographie 28
   2.8. L'échelle 29
   2.9. Caryogramme 29

Chapitre 03 : Résultats et Discussion

1. Les différents stades de la mitose 32
2. Le dénombrement chromosomique 36
3. Etablissement des caryotypes 37
4. Caryogramme 49

Conclusion 52

Références Bibliographiques 54

Résumé 63

I N T R O D U C T I O N

Introduction

Les céréales sont les premières plantes cultivées à être domestiquées. Elles constituent l'alimentation de base d'une grande partie de la population du globe. Elles représentent dans les pays pauvres environ 75% des calories nécessaires par personne **(Saulnier, 2012).**

Au niveau mondial, les céréales occupent une superficie de 148.6 millions d'hectares et donnent une production de 2050,90 millions de tonnes par an (**Statista, 2017**).

L'orge qui est l'une des céréales les plus anciennement cultivées occupe la quatrième place après le blé, le riz et le maïs (**Rosemary K et al., 2008**).

Au début du XIXe siècle, l'orge venait en tête des cultures par son importance. Elle était destinée à l'autoconsommation humaine et servait de complément fourrager aux troupeaux entretenus **(Hakimi, 1993)**.

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (**Djermoun, 2009**). Les céréales sont cultivées dans pratiquement toutes les régions des hauts plateaux situées dans les zones semi-arides et subhumides, et des grandes plaines intérieures littorales et sublittorales **(Chehat, 2007).**

L'orge cultivée (*Hordeum vulgare* L.) est une espèce importante qui joue un rôle vital dans l'agriculture algérienne, ainsi que dans l'alimentation humaine et animale **(Chehat, 2007).**

Aujourd'hui, une grande partie de l'orge produite en Algérie est utilisée comme aliment pour le bétail. C'est une source importante de fourrage pour les animaux d'élevage, notamment dans les régions pastorales. Elle est également utilisée pour la consommation humaine une fois transformée en farine pour la fabrication de pain traditionnel et d'autres produits alimentaires. Elle est également utilisée dans certaines industries, par exemple pour la production de bière et d'autres boissons fermentées **(Chehat, 2007).**

La productivité de l'orge en Algérie est influencée par sa confrontation à des conditions climatiques difficiles, notamment à des périodes de sécheresse fréquentes, à une variabilité des précipitations, à la dégradation des sols due à l'érosion. Le manque de mécanisation, l'accès limité aux technologies modernes de culture et de gestion des sols réduisent considérablement sa culture **(Chehat, 2007).**

Pour sa résistance à la sècheresse, l'orge, est souvent reléguée à des zones où les conditions sont moins favorables pour d'autres cultures céréalières comme le blé.

L'insuffisance et les fluctuations des rendements de la culture contraignent l'Algérie à importer chaque année des quantités non négligeables d'orge **(Chehat, 2007)**.

L'amélioration de la production de l'orge par le biais de la recherche, de la formation et de l'adoption de pratiques agricoles modernes est essentielle pour garantir la sécurité alimentaire et la durabilité des systèmes agricoles en Algérie.

Pour cela, mener des études cytogénétiques sur la variété 'Saïda' de l'orge largement cultivée en Algérie présente plusieurs intérêts, tant sur le plan scientifique que pour les applications agricoles et industrielles.

En première place, cette étude peut contribuer à la conservation de la diversité génétique en identifiant et en caractérisant les différentes variétés d'orge cultivée, à maintenir une base génétique large pour répondre aux variations fréquentes de l'environnement.

Elle aide également à comprendre la structure et le comportement des chromosomes de cette variété. Comme elle peut contribuer à l'identification des variations génétiques entre les différentes variétés et à la sélection des traits d'intérêt, tels que la résistance aux maladies, la tolérance au stress environnemental etc.

Elle prend également part à la compréhension fondamentale de la génétique et de l'évolution chromosomique de cette espèce, ce qui facilite la compréhension de l'histoire évolutive de l'orge cultivée et ses relations avec les espèces sauvages apparentées. De plus, elle permet la détection des irrégularités chromosomiques toujours à l'origine de la variabilité génétique.

Ce travail se compose de trois chapitres :

- Le premier chapitre, comprend la description et l'origine de l'espèce étudiée (*Hordeum vulgare* L.), la classification phylogénétique du genre *Hordeum* L., certaines caractéristiques de l'espèce et de la variété étudiée, avec un bref aperçu sur quelques concepts importants de la cytogénétique.

- Le deuxième chapitre consiste à décrire les différents matériels et réactifs employés, ainsi que les méthodes et protocoles suivis.

- Dans le troisième chapitre, nous présentons et nous interprétons les résultats que nous avons obtenus dans notre étude.

- Et enfin, nous apportons une conclusion récapitulative des connaissances et informations recueillies lors de ce travail.

Chapitre I

R e v u e

B i b l i o g r a p h i q u e

Revue bibliographique

1. Description de l'orge cultivée

Un plant d'orge est constitué de racines fasciculées, de tiges cylindriques et creuses appelées chaumes articulés de 5 à 7 entre-nœuds, et de feuilles alternes au limbe linéaire-lancéolé **(Gallais et Bannerot, 1992).** L'inflorescence est un épi terminal au sommet de la tige et qui est composé d'épillets simples entouré chacun de deux petites glumes étroites. Trois épillets sessiles sont attachés à chaque nœud sur un rachis en zigzag et plat. Le fruit est un caryopse comme chez toutes les céréales ; il est de forme ellipsoïde **(James & Duke, 1983)**. L'orge est une plante herbacée, annuelle, à tige dressée, robustes, poussant en touffes et pouvant atteindre de 60 à 120 cm de hauteur. Les feuilles sont supérieures et très proches de l'épi, alternes au limbe linéaire-lancéolés. Le limbe foliaire peut atteindre 25 cm de long sur environ 1,5 cm de large. La gaine est lisse, striée, avec une ligule courte et membraneuse **(James & Duke, 1983)**.

L'orge est classée selon sa sensibilité au froid, la fertilité des épillets latéraux, la densité de l'épi et la présence ou l'absence des barbes **(Rasmusson, 1992).**

D'après **Linné, (1755)** *in* **Grillot (1959),** les orges se classent selon le degré de fertilité des épillets et la compacité de l'épi en deux groupes :

- Groupe des orges à six rangs : les épillets médians et latéraux sont fertiles et qui se subdivise selon le degré de compacité de l'épi en *Hordeum hexastichum* L. avec un épi compact composé sur chaque axe du rachis de 3 épillets fertiles et en *Hordeum tétrastichum* L. avec un épi lâche composé sur chaque axe du rachis de 2 épillets fertiles.

- Groupe des orges à deux rangs : *Hordeum distichum* L. où seuls les épillets médians sont fertiles. L'épi est aplati et lâche composé de deux rangées d'épillets fertiles, sur chaque axe du rachis, entouré de 4 épillets stériles.

Soltner (2005) distingue trois classes d'orge selon les saisons :

- Les orges d'hiver ont un cycle de développement qui varie de 240 à 265 jours et s'implantent en automne. Ces orges ont besoin pour assurer leur montaison, de température de vernalisation plus au moins élevée du froid hivernal.

- Les orges de printemps ont un cycle de développement très court (environ 120 à 150 jours), s'implantent au printemps. Ces orges n'ont aucun besoin de vernalisation pour assurer leur montaison.

- Les orges alternatives qui sont intermédiaires au plan tolérance au froid, entre les orges d'hiver et celles de printemps.

Des caractéristiques morphologiques, anatomiques, physiologiques, ainsi que de productivité agricole sont également considérées dans la distinction des orges **(Boufenar-Zaghouane, 2006).** Par exemple, la longueur de la paille et de la résistance à la verse, les composantes du rendement, la réponse à diverses maladies, la photosynthèse, le temps et la quantité des besoins en eau, les engrais et les pesticides appliqués et les effets des stress environnementaux tels que la sécheresse, les carences du sol et la toxicité sont tous liés en partie à l'anatomie végétale et la morphologie de la plante **(Soltner, 2005).**

2. Origine de l'orge cultivée

L'orge dénommé *Hordeum vulgare* par Linné est une espèce annuelle de la famille des Poacées (ou Graminées). Le genre *Hordeum* comprend 31 espèces et seule *Hordeum vulgare* L. est cultivée.

Les origines de l'orge remontrent à celles de l'agriculture elle-même. L'orge à 2 rangs, datant du néolithique, 10000 ans avant Jésus Christ, a été découverte dans le croissant fertile, au Moyen Orient **(Taibi, 2014).**

Hordeum spontaneum (forme sauvage de l'orge à 2 rangs) est reconnue comme étant la forme ancestrale de l'orge cultivée **(Jestin, 1992)**.

3. Classification du genre *Hordeum* L.

Le genre *Hordeum* fait partie de la sous-famille des **Triticeae**, et de la famille des **Poaceae** (Graminées) appartenant au Clade des **Angiospermes**. Il comprend 267 noms de plantes scientifiques du classement des espèces. Il contient environ 33 espèces, annuelles et vivaces. Comme certaines d'entre elles sont repartis en plusieurs sous-espèces, ce genre comprend 45 taxon différents qui sont distribués dans les régions tempérées et arides de tous les continents sauf l'Australie **(Brassac and Blattner, 2015).**

Classification phylogénétique **(APG IV, 2016)**:

- **Domaine :** Eucaryota.
- **Règne :** Plantae.
- **Sous-règne :** Viridiplantae.
- **Division :** Tracheophta.
- **Sous-division :** Spermatophytina.
- **Clade :** Magnoliopsida (Angiospermes)
- **Classe :** Liliopsia (Monocotylédones).
- **Ordre :** Poales.
- **Famille :** Poaceae (Graminées).
- **Sous-famille :** Pooideae.
- **Genre :** *Hordeum* L.

4. Caractéristiques de *H. vulgare* L.

4. 1. Caractéristiques génétiques

Le génome de *Hordeum vulgare* se compose de sept paires de chromosomes nucléaires, d'un génome mitochondrial et d'un génome chloroplastique, dont un total de 5000 Mpb **(NCBI).**

4. 2. Caractéristiques agronomiques

L'orge est un aliment important pour les populations humaines dans plusieurs régions du monde telles que l'Afrique du Nord, le proche Orient et l'Asie. La consommation moyenne annuelle par personne dans ces régions varie entre 2 à 36 kg **(El haramein et Grando, 2010)**. Elle joue également un rôle primordial dans l'alimentation de bétail en période hivernale lorsque le déficit fourrager est grand. L'orge offre l'avantage de pouvoir être menée en double exploitation en première récolte en vert (pâturage ou fauche) suivie d'une récolte en grain **(Khaldoun, 1989).**

En Algérie, la production et les rendements de cette culture sont fortement liés aux conditions climatiques. L'augmentation des rendements de l'orge peut se faire par des techniques culturales appropriées (travail du sol, fertilisation et traitements phytosanitaires), mais aussi par la recherche de nouvelles variétés très performantes et adaptées aux différents milieux de culture **(Hanifi, 1999).**

4. 3. Tolérance à la sécheresse

L'orge est largement cultivée dans les régions méditerranéennes, qui sont caractérisées par des précipitations souvent faibles (**Baum et al., 2007**). En Afrique du Nord, l'orge est une culture typique des zones marginales. Elle est souvent soumise à des conditions de sécheresse extrême qui affecte de manière significative sa production **(Ceccarelli, 1994; Ceccarelli et al., 2007).** Après une évolution durant des milliers d'années, les variétés locales ont développé des différents modèles de variabilité qui leurs permettent de s'adapter à ce large environnement. Elles représentent un réservoir de gènes utiles pour l'adaptation aux contraintes biotiques et abiotiques **(Brosse, 1995 in Marok, 2014).** Cette adaptation au manque d'eau est réalisée aux niveaux moléculaires, biochimiques, physiologiques et anatomiques. Et cette tolérance à la sécheresse est le résultat de nombreux mécanismes complexes. De nombreuses études ont démontré que des mécanismes liés à la conductance stomatique, à l'absorption des nutriments, aux hormones, aux osmolytes et aux antioxydants jouent un rôle important dans la tolérance des plantes à la sécheresse **(Ingram et Bartels, 1996 ; Tardieu, 2005).**

4. 4. La tolérance à la salinité

L'orge (*Hordeum vulgare*) est plus tolérante à la salinité que le riz (*Oryza sativa*), le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*) **(Munns et Tester, 2008),** (Fig. 1)**.**

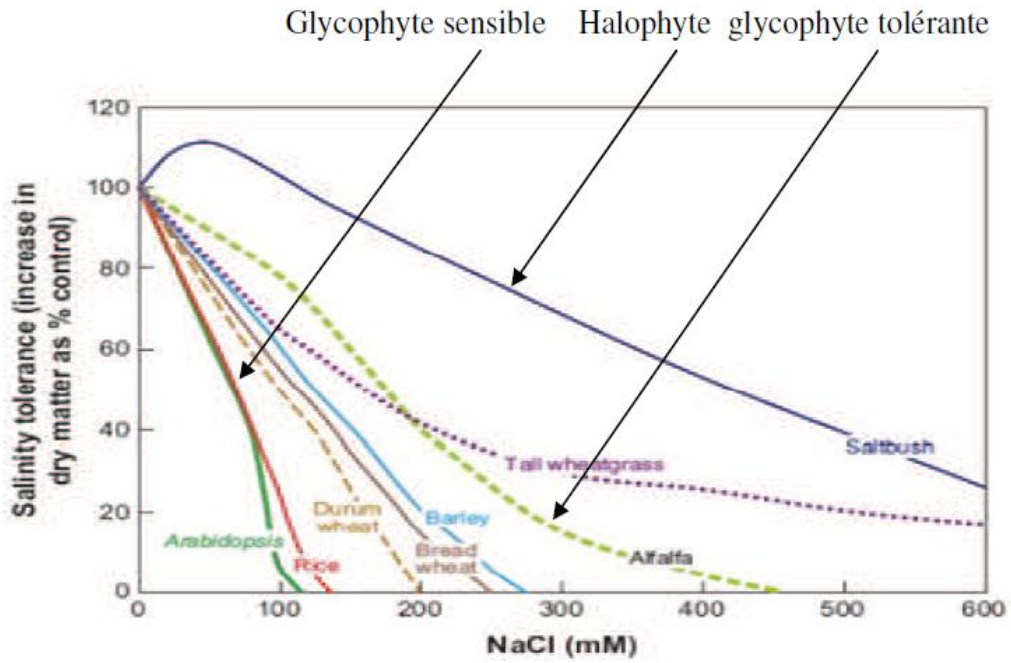

Fig. 1. Comparaison de la tolérance au sel chez diverses espèces (**Munns et Tester, 2008**).

5. La variété ‘Saïda’

5. 1. Monographie de la variété

La variété Saida est une variété locale algérienne de la wilaya de Saïda qui occupe une position centrale dans l'Ouest algérien. Le climat est continental, semi-aride, chaud et sec l’été, et froid en hiver avec des gelées.

Cette wilaya est riche en eau souterraines et en oueds. C’est une région agropastorale et propice à la culture traditionnelle des céréales **(Direction du Commerce de la Wilaya de Saïda 2013-2016).**

5. 2. Caractères morphologiques

La variété « Saïda » présente un épi de 6 rangs, lâche à barbes non pigmentées et longues. Le chaume est de taille moyenne. Le caryopse est blanc, long, étroit et peu ridé. Le cycle végétatif est semi précoce avec un tallage moyen (**Zerroumda, 2012**).

La variété « Saida » présente des feuilles très grandes qui forment un groupe homogène, un chaume d’une hauteur de 117.82 cm, un col d’épi de 24.75 cm, un épi de 5.70 cm, une barbe plutôt courte de 9.02 cm (**Naidji et Djellal, 2016**).

5. 3. Paramètres physiologiques

Cette variété a une très faible teneur relative en eau de 48.29 %, et présente un taux de cire de 0.015 mg/mm² (**Naidji et Djellal, 2016**).

5. 4. Rendement

La variété « Saida » présente une densité d’épi de 439.5 épi/m², et un nombre de 44.325 de graines par épi. Avec un PMG (poids de mille graines) de 52.73g très élevé par rapport aux autres variétés, comme « EL BAHIA » avec un PMG de 48.71g, « TISSA » avec un PMG de 42.84g et variété « EXPRESS » avec un PMG de 39.27g (**Naidji et Djellal, 2016**).

5. 5. Composition chimique

Elle présente une teneur protéique de 12 %, une teneur en amidon de 55%, des sucres éthanolosolubles peu importants de 2.12%, des facteurs antitrypsiques de 1,09 TUI/mg M.S). Elle renferme une teneur en cellulose brute de 4,576% **(Boudouma, 1990).**

5.6. Tolérance au déficit hydrique

Des essais ont montré que la variété locale algérienne « Saïda » présente une stabilité de rendement même lors de périodes de déficit hydrique intense **(Bouzerzour et Monneveux, 1993; Arnau et al., 1997).**

Marok, (2014) a mené une étude comparative entre la variété algérienne « Saïda » et une variété française (Express) et a conclu ce qui suit :

- Dans des conditions optimales d'arrosage, les plantes des deux variétés « Saïda » et « Express » affichent un développement et une croissance très similaire avec un CRE foliaire de l'ordre de 98%.
- Après 8 jours sans arrosage, la variété « Express » présente beaucoup plus de feuilles endommagées par rapport à celle « Saïda ».
- Après 8 jours sans arrosage, une diminution du CRE foliaire est beaucoup plus marquée chez la variété « Express » en comparaison à « Saïda ». Les valeurs de CRE sont respectivement de 32% et 43% pour « Express » et « Saïda ».
- Après un ré-arrosage, au bout de 3 jours, les deux cultivars retrouvent la turgescence et affichent des valeurs de CRE foliaires très proches de celles mesurées dans les plantes témoins.
- Par conséquent, une différence phénotypique persiste entre les deux variétés après le ré-arrosage, qui se situe au niveau du nombre des feuilles entièrement ou partiellement nécrosées et mortifiées qui sont présentes en nombre plus élevé chez la variété « Express » avec une moyenne de 2.8 contre 1.9 pour « Saïda ».

Cela montre clairement plus de dommages chez la variété « Express », que chez « Saïda », lorsque ces deux génotypes sont soumis à des conditions similaires de déficit hydrique **(Marok, 2014).**

6. La Cytogénétique

6. 1. Définition de la cytogénétique

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19e siècle. Elle a activement contribué à la compréhension des mécanismes héréditaires et la nouvelle classification du monde végétal (taxonomie et phylogénie). Elle participe à la connaissance du nombre de chromosomes du matériel végétal utilisé, l'établissement des cartes génétiques, l'exploitation de la variabilité intraspécifique, interspécifique ou induite et à l'amélioration des plantes **(Jahier et al., 1992).**

6. 2. Les chromosomes

Un chromosome est formé d'un très long brin d'ADN et contient de nombreux gènes (des centaines à des milliers). Les gènes sont disposés sur chaque chromosome suivant une séquence spécifique et chaque gène occupe un emplacement qui lui est propre sur le chromosome (il s'agit de son locus). La forme du gène qui occupe le même locus sur chaque chromosome d'une paire (l'un hérité de la mère et l'autre du père) est appelée allèle. Outre l'ADN, les chromosomes contiennent d'autres composants chimiques qui influencent la fonction des gènes (**Quasar et Padiath, 2023**).

Ceux sont des structures en forme de bâtonnets faites de chromatine (matériel génétique) nucléaire, visibles pendant la division cellulaire. Sur chaque chromosome sont alignés les gènes dans un ordre fixe. Chaque chromosome porte une zone de constriction primaire dénommée centromère ; c'est le point de liaison des deux chromatides sœurs. Les segments chromosomiques situés de part et d'autre du centromère constituent les deux bras du chromosome.

La position du centromère permet de distinguer un bras court ou proximal (bras p) et un bras long ou distal (bras q) **(Anthony et al., 2002).** Les deux chromatides d'un même chromosome reliées par un centromère apparaissent au moment de la division cellulaire. Chaque chromosome est formé d'une molécule d'Acide Désoxyribonucléique (ADN) et de protéines **(Malan et al., 2012)**.

6. 3. La chromatine

En dehors des divisions cellulaires, l'acide désoxyribonucléique ADN est sous la forme de chromatine interphasique. A l'aide de colorants, on peut révéler sur les chromosomes, des zones de coloration plus ou moins intenses reflétant le degré de condensation de la chromatine. On distingue : l'euchromatine et l'hétérochromatine. **(Harry, 2008).**

6. 4. Les gènes

Un gène est le segment d'ADN qui correspond à la synthèse d'une protéine. D'après cette définition, un chromosome est un ensemble de gènes, placés à la suite l'un de l'autre dans un ordre déterminé. L'emplacement du gène dans la fibre chromosomique est dit « *locus* ». La fibre chromosomique est constituée d'une suite de *loci*, chacun étant le siège d'un gène spécifique. Les altérations à l'intérieur du gène peuvent causer des perturbations qui par conséquent vont influencer la nature de la protéine produite par le gène en question **(Laguarigue, 1969).**

6. 5. Le génome

Le génome est l'ensemble des gènes des chromosomes. C'est le patrimoine génétique d'un individu. Le mot génome est la combinaison des mots « gène » et « chromosome ». Il désigne l'ensemble de l'information génétique d'un organisme contenu dans chacune de ses cellules sous forme de chromosomes (**Cheney**, **2013**). Le support matériel du génome est l'ADN.

6. 6. Chromosome métaphasique

Les chromosomes métaphasiques, comportent une zone de constriction primaire dénommée centromère qui est un point de liaison des deux chromatides sœurs, qui contient le kinétochore, centre d'organisation des microtubules et responsable de la fixation des chromosomes au fuseau mitotique lors de la mitose. Le caryotype ainsi que l'idiogramme s'établissent à partir de chromosomes métaphasiques en division mitotique (**Dupont, 2008**).

La position du centromère permet de distinguer un bras court (p) et un bras long (q) (**Fig. 2**).

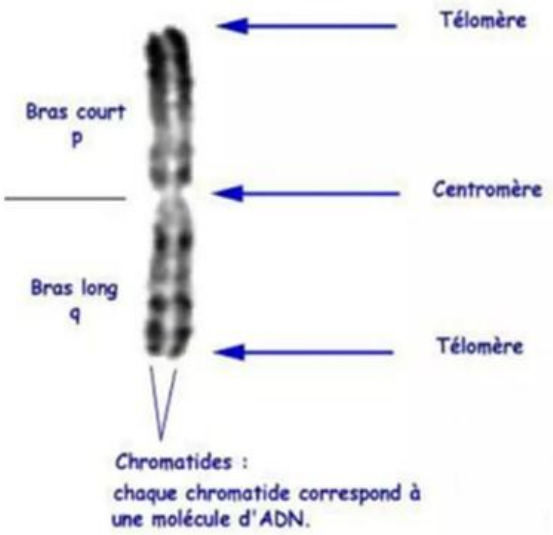

Fig. 2. Organisation d'un chromosome métaphasique (**Dupont, 2008**)

Les chromosomes satellites ou **SAT-chromosomes** sont des chromosomes qui contiennent des constructions secondaires qui servent d'identification. Ils sont observés dans les chromosomes acrocentriques. En plus du centromère, une ou plusieurs constrictions secondaires peuvent être observées dans certains chromosomes en métaphase.

Le premier niveau d'étude de la structure physique d'un génome est l'observation au microscope. Elle est réalisée à des stades du cycle cellulaire où les chromosomes sont bien individualisés et présentent la meilleure morphologie (plaque métaphasique des noyaux en mitose) ou décondensés (stades pachytènes et diplotènes de la première division méiotique). On peut alors dénombrer les chromosomes et observer leur morphologie **(Morot-Gaudry et Briat, 2004)**.

Différents paramètres interviennent dans la description de la morphologie des chromosomes tel que : la taille, la position du centromère, la présence de satellites et les constrictions secondaires.

D'autres caractères sont également utilisés pour l'étude des caryotypes ; la longueur totale des chromosomes, la longueur relative des chromosomes, l'asymétrie du caryotype mesurée par l'indice d'asymétrie (IAs %), le rapport de la plus longue paire de chromosomes sur la paire de chromosomes la plus courte **(Amrane, 2022).**

Différentes méthodes ont été employées pour localiser le centromère, ce qui a engendré l'apparition de diverses nomenclatures de morphologie chromosomique. Cependant la nomenclature du caryotype la plus consensuelle est celle de **Levan et al. (1964)** (**Tab**.**1**).

Selon la position du centromère on distingue quatre types de chromosomes :

- Chromosomes métacentriques : le centromère est en position centrale (position médiane) et les bras ont des longueurs approximativement égales.

- Chromosomes sub-métacentriques : le centromère est presque en position centrale; les chromatides de ce chromosome présentent des bras de longueur inégale (un bras court et un bras long).

- Chromosomes acrocentriques : le centromère est plus proche de l'une des deux extrémités (télomères), le bras court est très bref.

- Chromosome télocentrique : présente un centromère très proche de ses télomères, en cas de perte du centromère (anomalie), le chromosome est dit acentrique **(Lemonde et Clement, 1983).**

Tab. I. Nomenclature chromosomique proposée par **(Levan et al., 1964).**

BL : Bras long. **BC :** Bras court. **D :** BL - BC (différence entre les longueurs des bras). **R :** BL / BC (rapport des longueurs des bras). **IC :** BC / LT x 100 (indice centromérique). **LT :** Longueur total du chromosome.

Nomenclature	Position du centromère	D (µm)	R	I.C
M	**Point médiane**	0.00	1.00	50.00
m	**Région médiane**	0.00-2.50	1.0-1.70	50.00-37.50
sm	**Région Sub-Médiane**	2.50-5.00	1.70-3.00	37.00-25.00
st	**Région Sub-Terminale**	5.00-7.50	3.00-7.00	25.00-12.50
t	**Région terminale**	7.50-10.00	7.00-∞	12.50-0.00
T	**Point terminale**	10.00	∞	0.00

Un caryotype est une photographie des chromosomes prise au moment où ils sont visibles c'est-à-dire en métaphase **(Caquet, 2010).** Un caryogramme ou un idiogramme est une représentation schématique d'un caryotype moyen (lot haploïde).

6. 7. Cycle cellulaire

C'est l'ensemble de modifications que subit la cellule lors du processus de sa formation. Tous les eucaryotes possèdent un cycle cellulaire bien défini avec une durée habituellement comprise entre une heure à 4 heures **(Turner et al., 2000).**

Avant la division, la cellule passe par une phase de réplication d'ADN dénommée '**interphase**'. Cette période représente 90% du cycle cellulaire comprise entre la fin d'une division et le début de la division suivante, elle regroupe les phases G1, S. G2

La phase G1 est la phase du cycle cellulaire dont la durée est la plus longue durant laquelle les cellules sont préparées à la réplication de l'ADN.

La phase S est une partie de l'interphase au cours de laquelle se déroule la réplication de l'ADN. Cette phase est caractérisée par la duplication de l'ADN et La synthèse des histones.

La phase G2 est la deuxième phase de croissance cellulaire, c'est une phase courte et brève **(Turner et al., 2000).**

6. 8. La mitose

Le mot "**mitose**" provient du grec ancien "***mitos***", qui signifie "**filament**". Ce terme a été choisi en référence à l'apparence filamenteuse des chromosomes au microscope optique.
C'est un processus de division cellulaire chez les eucaryotes par lequel une cellule mère à 2n chromosomes se divise pour donner naissance à deux cellules filles génétiquement identiques. Elle assure la répartition égale des chromosomes entre les cellules filles, garantissant ainsi la stabilité génétique de l'organisme. Ce processus assure la transmission fidèle de l'information génétique d'une génération de cellules à la suivante, il est essentiel pour la croissance des organismes, le développement et la réparation et le renouvellement des tissus endommagés, et le remplacement des cellules mortes, jouant ainsi un rôle crucial dans le maintien de l'intégrité des organismes vivants.

C'est un processus de multiplication des cellules par disjonction des chromatides sœurs, aboutissant à la formation de deux cellules diploïdes et ainsi à la transmission intégrale et égale du matériel génétique. Ce partage rigoureux est traduit sous le terme de **mitose équationnelle**. L'évolution morphologique des constituants cellulaires conduit à subdiviser la mitose en 4 étapes successives s'enchainant les unes aux autres **(Gantet et al., 2000).**

La mitose fait partie du cycle cellulaire, qui comprend également l'interphase, et elle se déroule en plusieurs phases successives : prophase, métaphase, anaphase, et télophase, suivies de la cytokinèse (**Fig. 3**).

La prophase

La prophase est la première phase de la mitose. Elle marque le début du processus de division cellulaire, où la chromatine commence à ce compacté. C'est une étape cruciale pour préparer la cellule aux étapes ultérieures de la division, en assurant que les chromosomes sont correctement condensés et attachés au fuseau mitotique. Durant cette phase, une deuxième copie complète et identique de l'ADN est synthétisée lors de la réplication d'ADN en interphase. La chromatine qui est diffuse, commence à se condenser et à devenir visibles en structures compactes et distinctes (ADN avec Histones). Il y a formation des chromosomes en associant deux chromatides sœurs identiques attachées par un centromère. Les centrosomes sont répliqués pendant l'interphase se séparent, et commencent à migrer vers les pôles opposés de la cellule. Chacun des centrosomes forme un noyau d'un arrangement de microtubules **(Antonin et Neumann, 2016 ; Onn et al., 2008 ; Watanabe, 2005).**

Le fuseau mitotique commence à se former à partir des microtubules du cytosquelette par l'initiation des kinétochores (étant donné que la cellule végétale n'a pas de centrosome). La membrane nucléaire commence à se désorganiser libérant les chromosomes condensés dans le cytoplasme, pour les rendre plus accessibles au fuseau mitotique. Au niveau des centromères de chaque chromosome, se forment des complexes de protéines appelés kinétochores qui serviront de points d'attache aux microtubules du fuseau mitotique, ce qui facilitera ainsi la séparation des chromatides. Ces événements permettent à la cellule de se préparer efficacement pour la métaphase **(McIntosh, 2016)**

La métaphase

C'est la deuxième phase de la mitose. Elle est une étape où les chromosomes s'alignent au centre de la cellule, en se préparant à leur séparation en chromatides sœurs. Cette étape est cruciale pour garantir que chaque cellule fille recevra un ensemble complet et identique de chromosomes. L'alignement précis des chromosomes et l'attachement correct des kinétochores aux microtubules sont essentiels pour assurer une division cellulaire correcte.

Les chromosomes bien condensés et visibles, s'alignent sur la plaque métaphasique, également appelée plaque équatoriale, au centre de la cellule. Les chromosomes s'attachent aux microtubules du fuseau mitotique par les kinétochores au niveau des centromères, ce qui assure une tension égale et permet un alignement précis.

Anaphase

C’est la troisième phase de la mitose, où les chromatides sœurs qui ont été alignées en métaphase, sont séparées et tirées vers les pôles opposés de la cellule. En fin d’anaphase, la séparation correcte des chromatides sœurs est essentielle pour maintenir la stabilité génétique et prévenir les anomalies chromosomiques.

Les protéines cohésines qui maintiennent les chromatides sœurs ensemble au niveau des centromères sont dégradées. Les chromatides sœurs sont libérées. Les microtubules du fuseau mitotique tirent les chromatides séparées vers les pôles opposés de la cellule en se raccourcissant. Les microtubules polaires détachés des kinétochores s'allongent, contribuant à l'élongation de la cellule.

La télophase

Elle est la quatrième phase de la mitose, où les chromosomes séparés atteignent les pôles opposés de la cellule et de nouvelles membranes nucléaires se forment autour de chacun des deux ensembles de chromosomes, préparant ainsi la cellule pour sa division finale. La télophase est cruciale pour restaurer l'intégrité nucléaire après la séparation des chromatides, assurant ainsi que les deux cellules filles auront des noyaux fonctionnels et identiques. Les chromatides sœurs, devenues désormais des chromosomes individuels, atteignent les pôles opposés de la cellule.

Une nouvelle membrane nucléaire se forme autour de chaque ensemble de chromosomes, les enfermant dans deux noyaux distincts. Ces chromosomes commencent à se décondenser, redevenant moins visibles au microscope. Puis il y a réapparition des nucléoles à l'intérieur de ces nouveaux noyaux. Les fibres du fuseau mitotique disparaissent progressivement. La cellule recycle les microtubules et se prépare pour la division du cytoplasme.

La cytokinèse

La cytokinèse est la dernière étape de la division cellulaire, c'est le processus par lequel le cytoplasme de la cellule mère se divise pour former deux cellules filles distinctes, chacune avec son propre noyau et un ensemble complet d'organites. Elle garantit ainsi la continuité de la vie cellulaire et la capacité des cellules à croître, à se différencier et à se diviser à nouveau (**Bettayeb, 2017**).

Les vésicules de l'appareil de Golgi se rassemblent au centre de la cellule, à l'endroit où se trouvait la plaque équatoriale. Ces vésicules fusionnent pour former la plaque cellulaire, une nouvelle structure qui s'étend progressivement vers les bords de la cellule.

La plaque cellulaire continue de s'agrandir et fusionne avec la membrane plasmique existante, divisant ainsi le cytoplasme en deux. Des matériaux de paroi cellulaire, tels que la cellulose, sont déposés dans la plaque cellulaire, formant une nouvelle paroi cellulaire entre les deux cellules filles.

Une nouvelle membrane plasmique se forme de part et d'autre de la plaque cellulaire, complétant ainsi la séparation des deux cellules filles. Dans les cellules végétales, une plaque cellulaire se forme le long de la ligne médiane de la cellule mère, se développant vers l'extérieur pour séparer les deux nouvelles cellules.

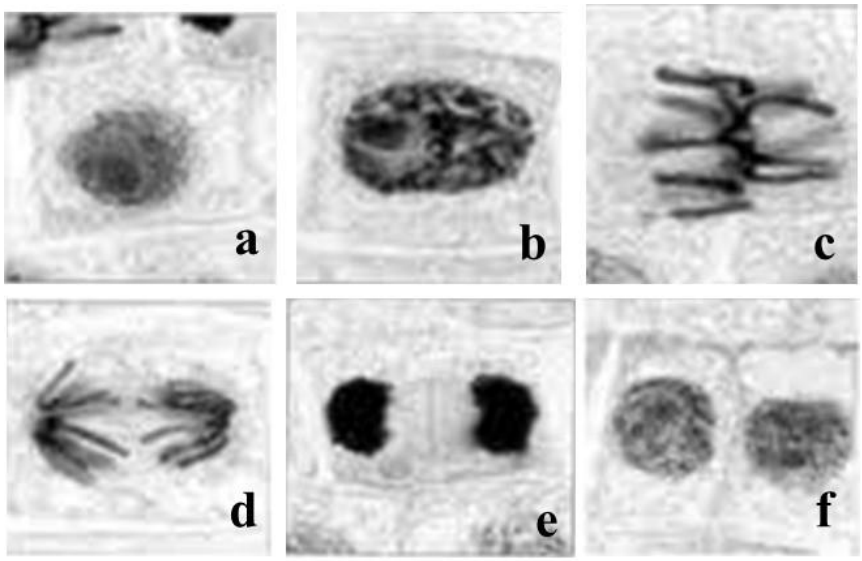

Fig. 3. Représentation des différents stades de la mitose **(Denoulet et Prat, 2010)**

a : Noyau interphasique.

b : Prophase.

c : Métaphase.

d : Anaphase.

e : Fin de la télophase.

f : Diacinèse.

Chapitre II

Matériels et Méthodes

1. Matériels

Une double coloration au Feulgen et au carmin acétique sur des pointes racinaires de la variété analysée est adoptée selon le protocole de **Feulgen et Rosenbeck, (1924)** *in* **Darlington et La Cour (1970)** et celui de **Löve and Löve (1976)**.

- **Le matériel végétal :** Des caryopses d'orge, germées, de la variété algérienne « Saïda ».
- **L'α-Bromonaphthalene** : Un composé organique, de la famille des hydrocarbures aromatiques halogénés, avec la formule chimique C10H7Br. Il est préparé par le traitement du naphtalène au brome (**Clarke et Brethen, 2014**).
- **La solution saturée à l'α-Bromonaphthalene** : Préparée en mettant une goutte de l'α-Bromonaphtalène, dans un litre d'eau distillée. Cette solution ne reste valable et efficace que pendant une semaine. Elle est utilisée pour bloquer la formation du fuseau achromatique et les chromosomes restent au niveau de la plaque équatoriale.
- **Le fixateur** : Ethanol à 70%.
- **L'eau de Javel** : Utilisée à des fins de désinfection.
- **L'HCl (1N)** : Solution aqueuse d'HCl (1N) utilisée pour l'hydrolyse acide.
- **La fuchsine basique** (Réactif de Schiff) : avec la formule chimique brute C20H20N3Cl. C'est de la fuchsine décolorée par le dioxyde de soufre (SO_2) qui va interagir avec les aldéhydes libres, et former un produit de condensation de couleur rouge violacé (**Schiff et Liebig, 1866**).
- **Le carmin acétique** : Le carmin acétique est un colorant utilisé en microscopie pour mettre en évidence les noyaux et la chromatine. Il présente l'avantage à la fois de colorer et de fixer simultanément l'échantillon. Il est préparé à partir du carmin rouge qui provient d'une cochenille femelle, dissous dans de l'acide acétique à 45% (**Fig.4**).
- **L'eau distillée** : utilisée pour la préparation des solutions et les rinçages.

Au long des manipulations, on a utilisé différents ustensiles et verreries tels que des boites de Petri, Béchers, Verres de montre, Tubes à essai, Tubes à Eppendorf, Scalpels, Pinces et papier filtre.

On s'est servi également d'appareils tels qu'un Bain-marie, Plaque chauffante, Loupe binoculaire et un microscope optique.

Fig.4. Différentes solutions utilisées pour la coloration des chromosomes.

2. Méthodes

2.1. Lancement des germinations

Des caryopses d'orge sont déposés dans des boites Petri étiquetées, tapissées de papier filtre, humidifié à l'eau avec quelques gouttes d'eau de Javel, pour éviter toute sorte de contamination et développement des champignons.

Les boites sont gardées à température ambiante pendant 3 à 5 jours, avec des arrosages si nécessaires, jusqu'à la germination et développement des radicules en jeunes racines (**Fig. 5**).

Fig.5. Illustration photographique de la mise en germination des caryopses de la variété d'orge « Saïda ».

2.2. Le prélèvement

Après germination, de jeunes racines de longueur entre 0.5 et 1cm sont prélevées. Les racines doivent être en croissance active pour assurer un nombre suffisant de cellules en division soit un indice mitotique élevé.

2.3 Le prétraitement

Afin de bloquer les divisions cellulaires des méristèmes racinaires au stade métaphasique, on a prétraité les racines de trois manières différentes qui ont abouti aux mêmes résultats.

Le premier essai a consisté à mettre les racines dans de l'eau glacée pendant 24 heures, puis transférées dans un tube contenant une solution saturée de l'α-Bromonaphtalène pendant 2 heures à température ambiante.

Le deuxième essai a consisté à mettre les racines directement dans la solution saturée à l'α-Bromonaphtalène, pendant 24 heures au réfrigérateur.

Le troisième essai consiste à plonger les racines plongées dans la solution saturée à l'α-Bromonaphtalène pendant 3 heures, à température ambiante cette fois-ci.

2.4. La fixation

Pour fixer les racines prélevées, on a utilisé de l'éthanol à 70%, ou de l'alcool pur, qui grâce à leurs effets biocide fixent les cellules du prélèvement, et assure leur conservation. On met donc les racines dans un tube à essai et on introduit environ 5mL du fixateur. L'échantillon doit être fixé pendant une semaine avant son utilisation.

2.5. La coloration de Feulgen (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970)

Cette technique a été décrite pour la première fois en 1924 par le chimiste allemand Robert Feulgen. Elle permet la visualisation des chromosomes et leur observation au microscope photonique

La méthode repose sur la dissociation des deux brins d'ADN à l'aide d'une hydrolyse effectuée avec de l'acide chlorhydrique (HCl). Pour la formation du groupement réducteur en séparant les deux bases puriques de l'ADN : Adénine, Guanine, libérant les fonctions hémiacétaliques des désoxyriboses.

Cela vise à rendre les désoxyriboses accessibles, ce qui permet à la fuschine (réactif de Schiff) de réagir avec les groupements aldéhydes. Le réactif de Schiff réagit alors avec les fonctions réductrices, ce qui entraîne la formation d'un précipité rouge. Ainsi l'ADN est coloré en rose rouge. Cette coloration est plus ou moins intense en fonction du degré de spiralisation de la chromatine. Cette méthode passe par plusieurs étapes :

L'hydrolyse

La procédure d'hydrolyse en cytogénétique végétale est un protocole standard. Dans un tube à Eppendorf, on plonge les racines dans de d'HCl (1N) préparée. On met l'échantillon au Bain-marie à 60°C. Le temps d'hydrolyse est compris entre 10 et 13 minutes. Après l'hydrolyse on rince les racines à l'eau distillée.

La double coloration

On a réalisé une double coloration. La première à la fuchsine basique (réactif de Schiff) et la seconde au carmin acétique **(Löve and Löve, 1976).** Les racines sont mises dans des tubes remplient de fuchsine basique, et placé à l'abri de la lumière (obscurité totale) et de l'oxygène pendant 02 heures. Après le temps d'incubation, les racines sont retirées de la fuchsine, rincées, puis placées instantanément dans un verre de montre avec quelques gouttes de carmin acétique, afin de ne pas délaisser les racines se dessécher (**Fig. 6**).

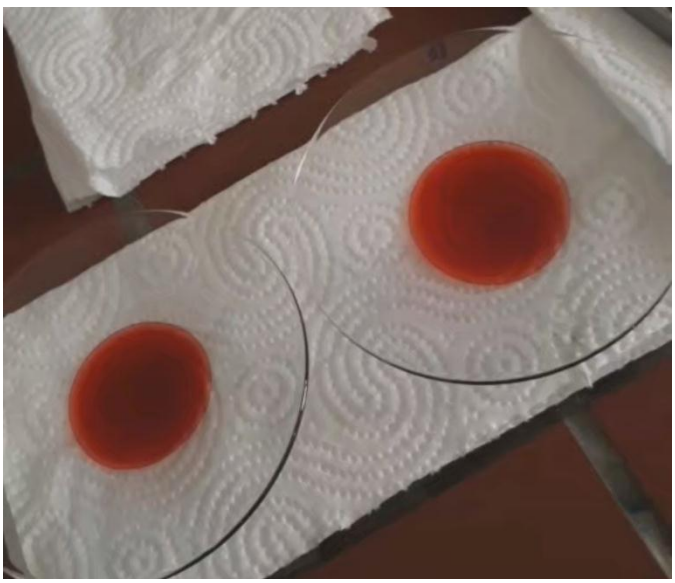

Fig. 6. Illustration photographique de la coloration des racines au carmin acétique.

2.6. Ecrasement et Montage

Sur une lame porte objet, on dépose la racine puis sous loupe binoculaire on coupe la pointe racinaire.

On garde l'apex, siège des divisions intenses sur la lame, et on élimine l'autre segment. Et on ajoute instantanément une goute du carmin acétique à la pointe racinaire à fin d'éviter son desséchement.

On recouvre de lamelle, puis on effectue un écrasement délicat à l'aide d'une gomme ou d'un joint d'une seringue, tout en étant prudent de ne pas bouger la lamelle, à fin d'éviter l'enroulement des cellules sur elles-mêmes.

Cet écrasement a pour objet de garantir un bon étalement et une bonne dissociation des cellules, ainsi que des chromosomes dispersés et bien éparpillés.

2.7. L'observation et photographie

Une fois la lame préparée, on a passe à l'observation au microscope optique. On observe au grossissement (8x40) (**Fig. 7**).

On vérifie d'abord si la coloration est réussie, puis on repère les cellules en division, pour ensuite rechercher les stades métaphasiques.

Une fois les cellules avec les plaques métaphasiques au nombre complet de chromosomes, bien colorés et bien éparpillés sont trouvées, on les photographie.

On a également photographié les autres stades de la mitose qu'on a pu observer.

Fig. 7. Montage au microscope optique de la lame portant la racine colorée et écrasée

2. 8. L'échelle

On a utilisé une lame micrométrique, prise en photo sous un microscope optique au même grossissement que l'échantillon (8x40).

Une graduation de l'échelle utilisée correspond à 10µM.

2.9. Réalisation des caryotypes et du caryogramme

Les caryotypes sont réalisés à partir des plaques métaphasiques où les chromosomes sont bien individualisés à l'aide du logiciel IdeoKar 1.3. Le logiciel calcule des paramètres chromosomiques et caryotypiques pour générer des caryotypes et ensuite réaliser un caryogramme. Les différentes mesures et formules des paramètres chromosomiques et des indices d'asymétrie du caryotype calculés par le logiciel IdeoKar 1.3 sont résumés dans le tableau II.

Tab. II : Mesures et formules des paramètres chromosomiques et indices d'asymétrie du caryotype utilisés dans le programme IdeoKar 1.3 (**Mirzaghaderi, 2015**).

Abréviation	Signification	Formule	Référence
L	Longueur du bras long		Levan et al. (1964)
S	Longueur du bras court		Levan et al. (1964)
CL	Longueur totale du chromosome	CL = L + S	Levan et al. (1964)
AR	Arm ratio	AR = L/S	Levan et al. (1964)
r_value		S/L	Levan et al. (1964)
RL%	Longueur relative du chromosome	RL% = (CL/∑CL) × 100	Levan et al. (1964)
F%	Forme pourcentage de chromosome	F% = (S/ ∑CL) × 100	Levan et al. (1964)
Ci	Indice centromique	Ci = S/CL	Levan et al. (1964)
HCL	Longueur totale des chromosomes du complément haploïde	HCL= $\sum(CL)$	Levan et al. (1964)
TF%	Total form pourcentage	TF% = $(\sum S/\sum CL)$×100	Huziwara, (1962)
AsK%	Indice d'Arano d'asymétrie du caryotype	AsK% = $(\sum L/\sum CL)$ × 100	Arano (1981)
S%	Indice de symétrie	S% = (CLmin /CLmax) ×100	Stebbins (1971)
Xci	Indice centromérique moyen	Xci= $\sum CL/n$	Paszko, (2006)
A	Degré d'asymétrie du caryotype	A= $[\sum_{i=1}^{n} (Li - Si)/(Li + Si)]/n$	Watanabe et al. (1999)
XcA	Asymétrie centromérique moyenne	XcA = A×100	Paszko, (2006)
CVcl	Coefficient de variation de la longueur des chromosomes	CV_{CL} = (SCL/XCL) ×100 = A2×100	Paszko (2006)
CVci	Coefficient de variation de l'indice centromérique	CVCI = (SCI/XCI) × 100	Paszko (2006)
AI	Indice d'asymétrie	AI = (CVCL × CVCL) /100	Paszko (2006)
A1	Indice d'asymétrie intrachromosomique	A_1= [$\sum_{i=1}^{n}(\frac{Si}{Li})/n$]	Romero-Zarco (1986)
A2	Indice d'asymétrie interchromosomique	A_2 = SCL/XCL	Romero-Zarco (1986)

L : longueur du bras long ; **S** : longueur du bras court ; **i** : numéro de groupe homologue ; **s** : écart type ; **x** : moyenne ; **n** : numéro de chromosome haploïde d'un individu ou d'un taxon **Classe S.** : catégorie d'asymétrie de Stebbins.

Chapitre III
Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

1. Les différents stades de la mitose

Des pointes racinaires fixées sont colorées par la technique de Feulgen et Rosenbeck (1924) in Darlington et La Cour (1970) et celle de Löve and Löve (1975). Une fois écrasées entre lame et lamelle, elles mettent en évidence les différents stades de la division mitotique.

En **prophase (Fig. 8)**, la chromatine commence à se condenser pour former deux chromatides sœurs attachées par leur centromère. L'enveloppe nucléaire se fragmente en petites vésicules suite à la dépolymérisation des lamines après leur phosphorylation. Les microtubules du cytosquelette s'organisent pour former le fuseau achromatique. Les filaments de la lamina sont dépolymérisés, les pores nucléaires dissociés et les lamines et les nucléoporines dispersées à l'état soluble dans le cytoplasme. Les membranes de l'enveloppe nucléaire sont dispersées, exclues du fuseau mitotique, et perdent ainsi tout contact avec les chromosomes (**Courvalin et Rabouille, 2002**).

Les lamines associées à l'enveloppe nucléaire permettaient de la structurer. Leur phosphorylation au début de la mitose provoque leur dépolymérisation, qui a pour effet de désorganiser l'enveloppe nucléaire qui se disperse en petites vésicules. Les lamines ont des séquences de liaison aux chromosomes, ce qui facilite la reformation de l'enveloppe nucléaire autour de ceux-ci en fin de mitose (**Furelaud, 2014**).

Le début de la prophase mitotique est indiqué par les microtubules périphériques qui se concentrent pour constituer une **bande préprophasique**. Puis le noyau est entraîné par les filaments d'actine qui le relient au plasmalemme, et se positionne au centre de la bande préprophasique. Pendant la prophase, les microtubules se disposent longitudinalement dans la cellule. Ils formeront bientôt, après réorganisation, le "**fuseau achromatique**".

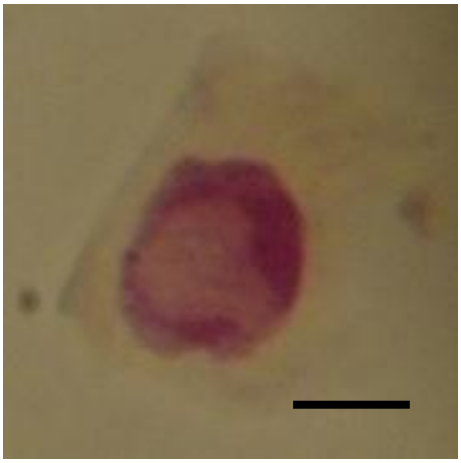

Fig. 8. Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade prophase, observés sous microscope optique au grossissement (8x40), après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle =10µm

En **métaphase**, le fuseau achromatique atteint sa maturité. Les chromosomes sont attachés par leurs centromères au fuseau achromatique par des microtubules kinétochoriens, tout en s'alignant sur la plaque équatoriale (**Fig. 9**).

Fig. 9. Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade métaphase, après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle =10µm

Au stade **anaphase**, les chromatides sœurs se séparent suite au clivage du centromère. Sous les faits des forces d'attraction du fuseau achromatique, elles commencent à migrer vers les pôles opposés (**Fig. 10**).

Fig. 10. Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade anaphase, après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle =10µm

En anaphase, les microtubules du fuseau se désorganisent, puis regagneront graduellement la périphérie des cellules filles.

Dès le début de l'anaphase, les contacts entre les chromosomes et les membranes sont rétablis (**Ellenberg et al., 1997 ; Chaudhary et Courvalin, 1993**). La reconstitution de l'enveloppe nucléaire après la métaphase est due à une déphosphorylation de différentes protéines par des phosphatases, la mieux identifiée étant la phosphatase P1, dont la lamine B est un substrat (**Steen et al., 2000**).

Pendant cette phase, il y a dégradation de sécurine qui est une protéase liée à la séparase. La libération de la séparase clive les sous unités du complexe cohésine et permet ainsi la séparation des chromatides sœurs.

Au stade **télophase**, les chromatides sœurs arrivent chacune à un des pôles. La chromatine commence à se décondenser pour redevenir à son état interphasique (**Fig. 11**).

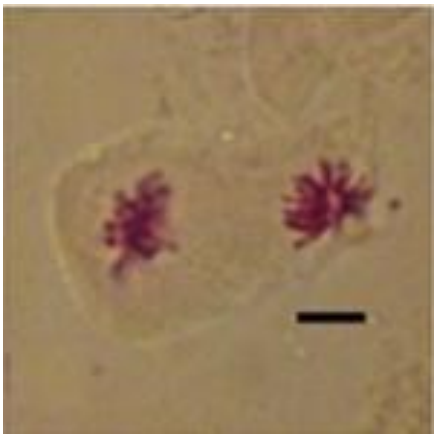

Fig. 11. Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade télophase, après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 in Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle =10µm

Après la télophase il y a formation de la plaque cellulaire. C'est un processus spécifique aux cellules végétales appelé '**cytokinèse**' (**Fig. 12**). Elle se forme à partir des vésicules de la membrane plasmique, et de nombreuses vésicules gorgées de pectine synthétisée par l'appareil Golgi. Par la suite elle se transforme en paroi cellulaire qui sépare les deux cellules filles, constitué d'un ensemble de pectine limitée extérieurement par une membrane **phospho-lipidique,** renforcée par des polysaccharides et protéines. Des extensions de réticulum endoplasmique ménagent les interruptions ou coupure de cette lamelle pectique, formant les **plasmodesmes**. La séparation de la cellule-mère en deux cellules-filles est matérialisée par la formation de la lamelle mitoyenne de nature pectique. En interphase, les microtubules, sont uniformément répartis à la périphérie, sous le plasmalemme.

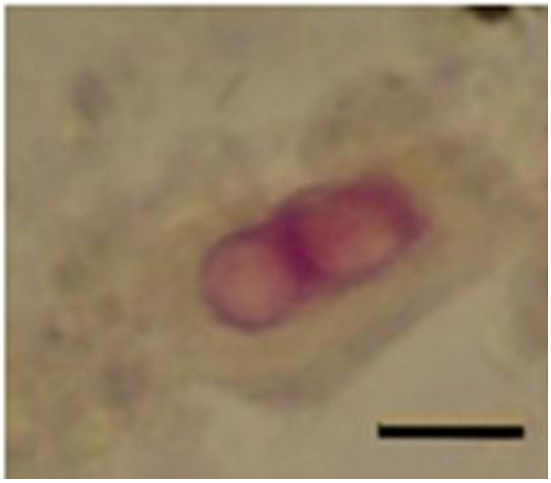

Fig. 12. Photographie d'une cellule de *H. vulgare* en division mitotique au stade interphase observée au microscope optique après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle =10µm

2. Le dénombrement chromosomique

Les dénombrements chromosomiques sont effectués sur des cellules des méristèmes racinaires de *Hordeum vulgare* L. (var. *Saïda*) en division mitotique, en utilisant une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975).

L'observation des différentes plaques métaphasiques a montré que le nombre chromosomique de l'espèce *Hordeum vulgare* L. est de $2n = 2x = 14$ chromosomes. Ce nombre correspond à la forme diploïde (**Fig. 13-16)**.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Kasha et Sadasivaiah (1971)**, qui ont découvert que *Hordeum vulgare* L. possède un nombre chromosomique de $2n = 2x = 14$ chromosomes.

3. Etablissement des caryotypes

Caryotype de l'orge cultivée, variété « Saïda » présente 7 paires de chromosomes.

Les mesures sont réalisées sur quatre plaques métaphasiques, où les chromosomes sont bien individualisés et mesurés à l'aide du logiciel d'analyse de caryotype **IdeoKar** 1.3.

Plaque métaphasique N°01 :

La figure 13 correspond à la plaque métaphasique n°1 avec son caryotype correspondant. Les paramètres ayant servi à la réalisation du caryotype sont donnés dans les tableaux III.

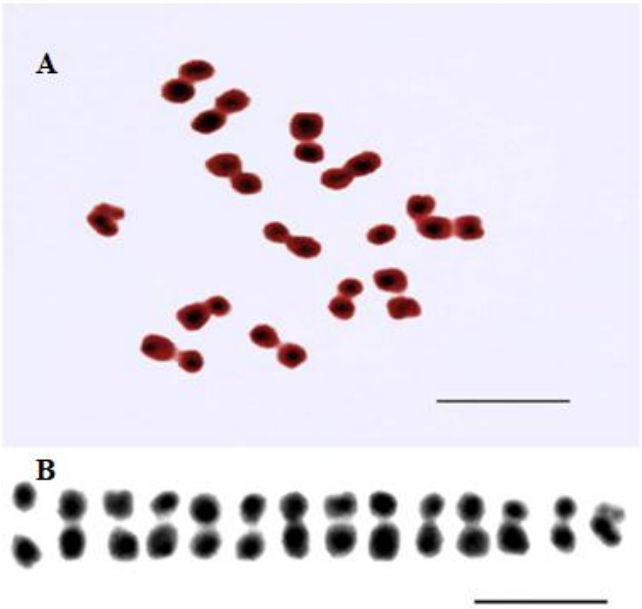

Fig. 13. Photographie de la plaque métaphasique 01 (A) de *H. vulgare* L. sous microscope optique au grossissement (10x40), et son caryotype (B), après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle =10µm.

Tab. **III** : Paramètres statistiques des chromosomes du caryotype de la plaque métaphasique n°1.

L=Longueur du bras long, S=Longueur du bras court, CL=Longueur totale du chromosome, RL%= longueur relative du chromosome, AR=Arm ratio (L/S), r_value= S/L, CI=Indice centromérique, R=indice de symétrie (CL_{max}/CL_{min}), Ias=indice d'Arano d'asymétrie du caryotype (Ias = (∑L/∑CL) x 100).

Chromosome	L (µm)	S (µm)	CL (µm)	RL%	AR	r-Value	CI	Chromosome Type
1	3,92	2,66	6,58	9,70	1,48	0,68	0,40	m
2	2,91	2,53	5,44	8,02	1,15	0,87	0,47	m
3	2,78	2,53	5,32	7,84	1,10	0,91	0,48	m
4	2,78	2,40	5,19	7,65	1,16	0,86	0,46	m
5	2,66	2,40	5,06	7,46	1,11	0,90	0,48	m
6	2,91	2,15	5,06	7,46	1,35	0,74	0,43	m
7	3,04	2,03	5,06	7,46	1,50	0,67	0,40	m
8	2,53	2,28	4,81	7,09	1,11	0,90	0,47	m
9	3,16	1,65	4,81	7,09	1,92	0,52	0,34	sm
10	3,04	1,65	4,68	6,90	1,85	0,54	0,35	sm
11	2,15	2,15	4,30	6,34	1,00	1,00	0,50	M
12	2,40	1,65	4,05	5,97	1,46	0,68	0,41	m
13	2,15	1,77	3,92	5,78	1,21	0,82	0,45	m
14	2,03	1,52	3,54	5,22	1,33	0,75	0,43	m
∑	38,48	29,36	67,84					
						R=1,86		**Ias =56,72**

La formule du caryotype est de **2*n* = 2*x* = 11m+2sm+1M**. Nous avons identifié :

- Cinq paires de chromosomes métacentriques '*région médiane*' (m) : (1, 2), (3, 4), (5, 6), (7, 8) et (13, 14) avec 0,37≤IC≤0,475, 1,05<AR <1,67 et 0,6<r-value<0,95. La longueur totale de ces chromosomes (LC) varie de 3,54µm à 6,58 µm

- Une paire de chromosomes submétacentriques '*région submédiane*' (sm) (9,10) ; dont 0,25<IC<0,37, 1,67 <AR <3 et 0,33<r-value<0,6. La longueur totale de ces chromosomes (LC) varie de 4,68µm à 4,81µm.

- Une paire de chromosomes non homologue (11,12) : constitué d'un chromosome métacentrique (M) '*point médiane*' avec IC=0,5, AR=1 et r-value=1 et dont La longueur totale (LC) est de 4,30 µm et un autre métacentrique (m) '*région médiane*' avec 0,37≤IC≤0,475, 1,05<AR <1,67 et 0,6<r-value<0,95 sa longueur totale (LC) est de 4,05 µm.

La taille totale du génome est de 67,84µm, l'indice de symétrie de ce caryotype est de R=1,86 (**Tab. III**).

Le caryotype de cette cellule est symétrique au sens de Stebbins (1971) puisqu'il est constitué de chromosomes métacentriques et submétacentriques.

Plaque métaphasique 02 :

La figure n°14 correspond à la plaque métaphasique n°2 avec son caryotype correspondant. Les paramètres ayant servi à la réalisation du caryotype sont donnés dans les tableaux IV.

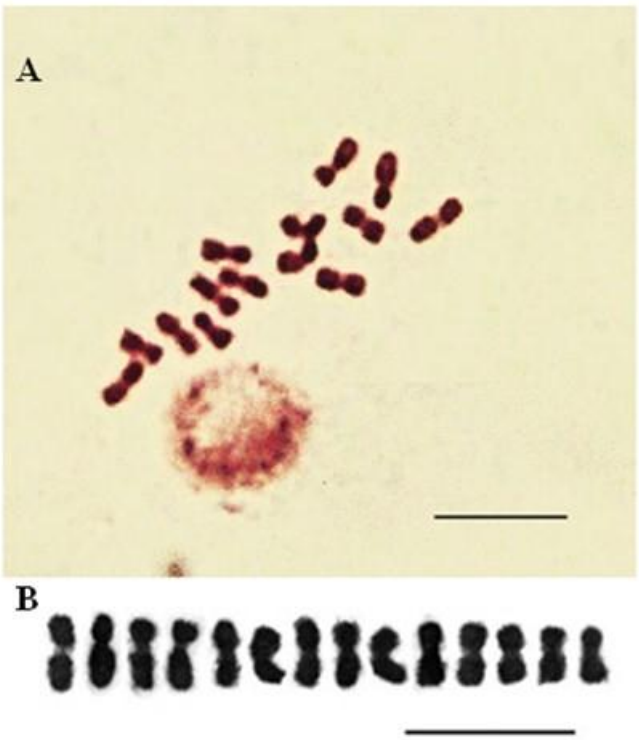

Fig. 14 : Photographie de la plaque métaphasique 02 (A) observée sous microscope optique au grossissement (8x40), et son caryotype (B), après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle =10µm.

Tab. IV : Paramètres statistiques des chromosomes du caryotype de la plaque métaphasique 02.

L=Longueur du bras long, S=Longueur du bras court, CL=Longueur totale du chromosome, RL%= longueur relative du chromosome, AR=Arm ratio (L/S), r_value= S/L, CI=Indice centromérique, R=indice de symétrie (CL_{max}/CL_{min}), Ias=indice d'Arano d'asymétrie du caryotype (Ias=(∑L/∑CL)x100).

Chromosome	L (µm)	S (µm)	CL (µm)	RL %	AR	r-Value	CI	Chromosome Type
1	2,31	2,05	4,36	8,08	1,13	0,89	0,47	m
2	2,69	1,67	4,36	8,08	1,62	0,62	0,38	m
3	2,18	2,05	4,23	7,84	1,06	0,94	0,48	m
4	2,44	1,79	4,23	7,84	1,36	0,74	0,42	m
5	2,05	2,05	4,10	7,60	1,00	1,00	0,50	M
6	2,05	2,05	4,10	7,60	1,00	1,00	0,50	M
7	2,18	1,79	3,97	7,36	1,21	0,82	0,45	m
8	2,18	1,79	3,97	7,36	1,21	0,82	0,45	m
9	1,92	1,79	3,72	6,89	1,07	0,93	0,48	m
10	2,05	1,67	3,72	6,89	1,23	0,81	0,45	m
11	1,92	1,67	3,59	6,65	1,15	0,87	0,46	m
12	2,05	1,41	3,46	6,41	1,45	0,69	0,41	m
13	1,79	1,28	3,08	5,70	1,40	0,71	0,42	m
14	1,79	1,28	3,08	5,70	1,40	0,71	0,42	m
∑	29,62	24,36	53,97					
						R=1,42		**Ias =54,88**

La formule du caryotype est de **2*n* = 2*x* = 12m+2M**. Nous avons identifié :

- Six paires de chromosomes métacentriques '*région médiane*' (m) : (1, 2), (3, 4), (7, 8), (9, 10), (11, 12) et (13, 14) avec 0,37≤IC≤0,475, 1,05<AR <1,67 et 0,6<r-value<0,95. La longueur totale de ces chromosomes (LC) varie de 3,08µm à 4,36µm.

- Une paire de chromosomes métacentrique '*point médiane*' (M): (5, 6) avec IC=0,5, AR=1 et r-value=1. La longueur totale de ces chromosomes (CL) est de 4,10µm.

La taille totale du génome est de 53,97µm, l'indice de symétrie de ce caryotype est de R=1,42 (**Tab. IV**).

Le caryotype de cette cellule est symétrique au sens de Stebbins (1971) puisqu'il est constitué de chromosomes métacentriques.

Plaque métaphasique 03 :

La figure n°15 correspond à au caryotype de la plaque métaphasique n°3. Les paramètres ayant servi à la réalisation du caryotype sont donnés dans le tableau V.

Fig. 15. Photographie de la plaque métaphasique 03 (A) observée sous microscope optique au grossissement (8x40), et son caryotype (B), après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle =10µm.

Tab. V : Paramètres statistiques des chromosomes du caryotype de la plaque métaphasique 03.

L=Longueur du bras long, S=Longueur du bras court, CL=Longueur totale du chromosome, RL%= longueur relative du chromosome, AR=Arm ratio (L/S), r_value= S/L, CI=Indice centromérique, R=indice de symétrie (CL_{max}/CL_{min}), Ias=indice d'Arano d'asymétrie du caryotype (Ias=(∑L/∑CL)x100)..

Chromosome	L (µm)	S (µm)	CL (µm)	RL %	AR	r-Value	CI	Chromosome Type
1	2,40	1,99	4,39	8,28	1,20	0,83	0,45	m
2	2,13	2,09	4,22	7,96	1,02	0,98	0,50	m
3	2,23	1,89	4,12	7,77	1,18	0,85	0,46	m
4	2,20	1,89	4,09	7,71	1,16	0,86	0,46	m
5	2,23	1,86	4,09	7,71	1,20	0,83	0,45	m
6	2,33	1,59	3,92	7,39	1,47	0,68	0,41	m
7	2,20	1,55	3,75	7,07	1,41	0,71	0,41	m
8	2,23	1,49	3,72	7,01	1,50	0,67	0,40	m
9	1,93	1,66	3,58	6,75	1,16	0,86	0,46	m
10	2,30	1,25	3,55	6,69	1,84	0,54	0,35	sm
11	1,93	1,59	3,51	6,62	1,21	0,82	0,45	m
12	1,93	1,52	3,45	6,50	1,27	0,79	0,44	m
13	1,86	1,52	3,38	6,37	1,22	0,82	0,45	m
14	1,93	1,35	3,28	6,18	1,43	0,70	0,41	m
∑	29,79	23,24	53,04					
						R=1,34		**Ias =56,16**

La formule du caryotype est de 2*n* = 2*x* = 13m+1sm. Sur cette plaque, nous avons pu distinguer :

- Six paires de chromosomes de type métacentrique '*région médiane'*: (m) (1,2), (3,4), (5, 6), (7, 8), (11,12) et (13, 14) avec 0,37≤IC≤0,475, 1,05<AR <1,67 et 0,6<r-value<0,95. La longueur totale de ces chromosomes (LC) varie de 3,28µm à 4,39µm.

- Une paire de chromosomes non homologues (9, 10). Le chromosome n°9 est métacentrique '*région médiane'*: (m) avec 0,37≤IC≤0,475, 1,05<AR <1,67 et 0,6<r-value<0,95. et dont La longueur totale (LC) est de 3,58 µm et le n°10 submétacentrique '*région submédiane*': (sm) avec 0,25<IC<0,37, 1,67 <AR <3 et 0,33<r-value<0,6. La longueur totale de ce chromosome (LC) est de 3,55 µm.

La taille totale du génome est de 53,04µm, l'indice de symétrie de ce caryotype est de R=1,34 (**Tab. V**).

Le caryotype de cette cellule est symétrique au sens de Stebbins (1971) puisqu'il est constitué de chromosomes métacentriques et submétacentriques.

Plaque métaphasique 4 :

La figure n°16 correspond à au caryotype de la plaque métaphasique n°4. Les paramètres ayant servi à la réalisation du caryotype sont donnés dans le tableau VI.

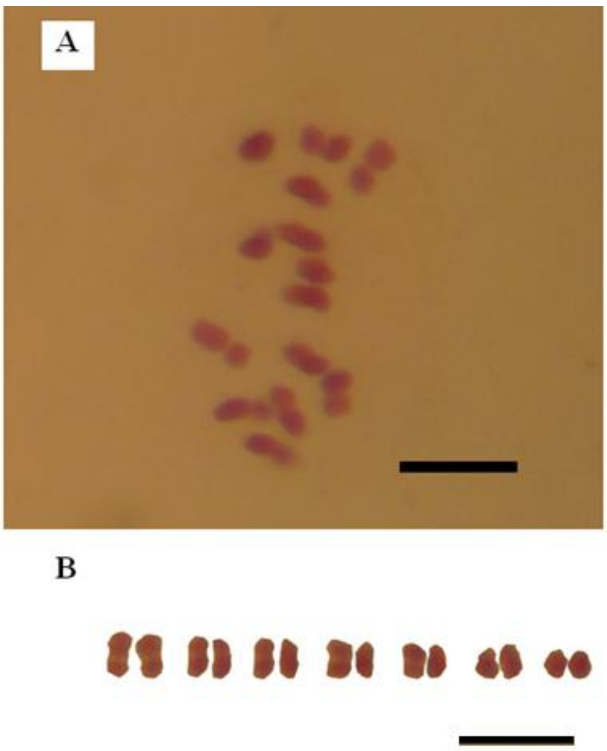

Fig.16 : Photographie de la plaque métaphasique 04 (A) observée sous microscope optique au grossissement (8x40) et son caryotype (B), après une double coloration au Feulgen et au carmin acétique (Feulgen et Rosenbeck, 1924 *in* Darlington et La Cour, 1970 ; Löve and Löve, 1975). Barre d'échelle correspond à 10µm.

Tab. VI : Paramètres statistiques des chromosomes du caryotype de la plaque métaphasique 04.

L=Longueur du bras long, S=Longueur du bras court, CL=Longueur totale du chromosome, RL%= longueur relative du chromosome, AR=Arm ratio (L/S), r_value= S/L, CI=Indice centromérique, R=indice de symétrie (CL_{max}/CL_{min}), Ias=indice d'Arano d'asymétrie du caryotype (Ias=(∑L/∑CL)x100).

Chromosome	L (µm)	S (µm)	CL (µm)	RL %	AR	r-Value	CI	Chromosome Type
1	2,12	1,26	3,38	8,92	1,69	0,59	0,37	m
2	1,69	1,51	3,20	8,44	1,12	0,89	0,47	m
3	1,55	1,47	**3,02**	**7,97**	**1,05**	0,95	0,49	m
4	1,94	1,08	3,02	7,97	1,80	0,56	0,36	sm
5	1,73	1,26	2,99	7,87	1,37	0,73	0,42	m
6	1,83	1,15	2,99	7,87	1,59	0,63	0,39	m
7	1,44	1,40	2,84	7,50	1,03	0,98	0,49	m
8	1,37	1,33	2,70	7,12	1,03	0,97	0,49	m
9	1,51	1,04	2,55	6,74	1,45	0,69	0,41	m
10	1,58	0,83	2,41	6,36	1,91	0,52	0,34	sm
11	1,58	0,79	2,37	6,26	2,00	0,50	0,33	sm
12	1,44	0,86	2,30	6,07	1,67	0,60	0,37	m
13	1,47	0,68	2,16	5,69	2,16	0,46	0,32	sm
14	**1,55**	**0,43**	**1,98**	**5,22**	**3,58**	**0,28**	**0,22**	**st**
∑	22,81	15,11	37,91					
							R=1,71	**Ias =60,17**

La formule du caryotype est de $2n = 2x$ = 9m+4sm+1st. Sur cette plaque, nous avons pu distinguer :

- Trois paires de chromosomes de type métacentrique '*région médiane'*: (m) (1,2), (5, 6) et (7, 8) ;

- Trois paires de chromosomes non homologues (3, 4), (9, 10). (11, 12) avec des chromosomes métacentrique '*région médiane'*: (m) 3, 9 et 12 et des chromosomes submétacentrique '*région submédiane*': (sm) 4, 10 et 11.

- Une paire de chromosomes non homologues (13, 14) avec le chromosome 13 submétacentrique '*région submédiane*': (sm) et le chromosome 14 subtélocentrique '*région subtérminale*' (st) présentant une constriction secondaire.

La taille totale du génome est de 37,91µm, l'indice de symétrie de ce caryotype est de R=1,71 (**Tab. VI**).

Le caryotype de cette cellule est symétrique au sens de Stebbins (1971) puisque la plupart des chromosomes sont métacentriques et submétacentriques.

4. Caryogramme

L'étude des quatre caryotypes a permis de construire un caryogramme pour la variété « Saïda » de *Hordeum vulgare* L. (**Fig. 17**). Les données morphométriques moyennes relevées sur ces quatre plaques métaphasiques sont reportées dans le tableau VII. Ces données montrent que l'ensemble des chromosomes se rangent en un seul type morphologique : métacentrique '*région médiane'*: (m) à IC allant de 0,39 à 0,45, AR allant de 1,23 à 1,72 et r-value allant de 0,66 à 0,83. La longueur moyenne des chromosomes (CL) varie de 3,05±0,67 à 4,49±1,09. La taille moyenne du complément haploïde est de 26,60±6,12.

Le caryogramme de cette variété est symétrique au sens de **Stebbins (1971)** puisque les chromosomes sont métacentriques.

Tab. VII : Paramètres statistiques des chromosomes du caryogramme de la variété « Saïda » de *Hordeum vulgare* L.

L=Longueur du bras long, S=Longueur du bras court, CL=Longueur totale du chromosome, RL%= longueur relative du chromosome, AR=Arm ratio (L/S), r_value= S/L, CI=Indice centromérique, R=indice de symétrie (CL_{max}/CL_{min}), Ias=indice d'Arano d'asymétrie du caryotype (Ias=(∑L/∑CL)x100).

Chromosome	L	S	CL	RL%	AR	r-Value	CI	Chromosome Type
1	2,52±0,68	1,97±0,48	4,49±1,09	16,87±1,2	1,30±0,25	0,79±0,14	0,44±0,05	m
2	2,26±0,41	1,89±0,47	4,15±0,85	15,64±0,23	1,23±0,25	0,83±0,13	0,45±0,04	m
3	2,22±0,40	1,81±0,44	4,04±0,79	15,24±0,37	1,26±0,22	0,81±0,14	0,45±0,04	m
4	2,14±0,54	1,71±0,33	3,85±0,83	14,49±0,39	1,25±0,20	0,82±0,13	0,45±0,04	m
5	2,19±0,62	1,44±0,35	3,63±0,86	13,58±0,43	1,55±0,36	0,68±0,17	0,40±0,06	m
6	1,93±0,31	1,45±0,44	3,38±0,71	12,71±0,49	1,40±0,32	0,74±0,16	0,42±0,05	m
7	1,82±0,23	1,23±0,45	3,05±0,67	11,47±0,80	1,72±0,81	0,66±0,19	0,39±0,08	m
∑	15,09±3,21	11,51±2,95	26,60±6,12					
						R=1,47		**Ias =56,73**

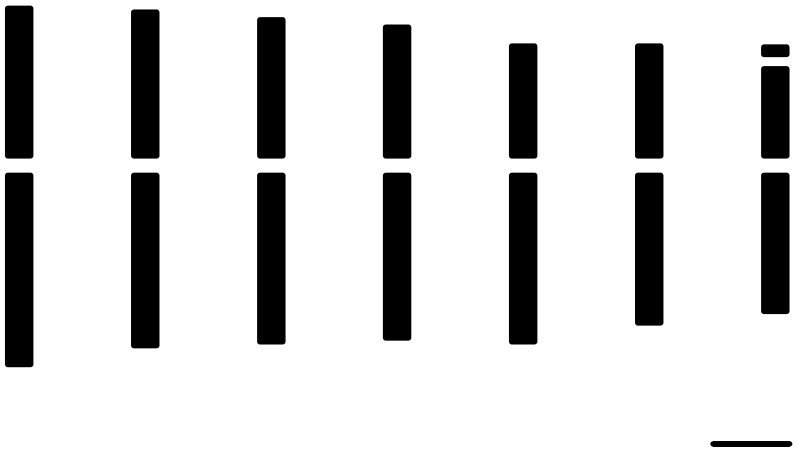

Fig. 17 : Représentation schématisée du caryogramme établi à partir des quatre caryotypes de la variété étudiée. La barre de l'échelle représente 1µm.

Certaines des cellules analysées montrent des paires de chromosomes non homologues : ces paires auraient subi des restructurations chromosomiques telles que : l'insertion, la délétion ou l'inversion. L'insertion entraine une augmentation de la taille d'un des chromosomes, la délétion entraine une diminution de la taille d'un des chromosomes, l'inversion quant à elle entraine un changement de la position du centromère.

La présence de paires de chromosomes non homologues a été déjà signalée par **Sadasivaiah et Kasha (1971)** chez *Hordeum vulgare*.

Le génome montre un caryogramme composé de sept paires de chromosomes, numérotées de 1 à 7 selon l'ordre décroissant de leurs longueurs totales qui varient de 3,05 µm à 4,49 µm. Cependant, l'analyse caryologique réalisée par **Touahri (2022)** sur une autre variété d'orge cultivée montre une taille des chromosomes variant entre 4,47 µm et 6,56 µm. Cet écart dans la taille des chromosomes peut s'expliquer soit par le degré de condensation de la chromatine soit par des remaniements éventuels des chromosomiques.

Selon **Stebbine (1971)**, les caryogrammes se classifient suivant leur degré d'asymétrie. Les chromosomes de *Hordeum vulgare* L. (var. Saida) sont symétriques avec un indice d'asymétrie IAs de 59,38%. La valeur de l'indice d'asymétrie du caryotype calculée par **Touahri (2022)** est de I As % = 54,37 %.

Nos caryotypes ne montrent qu'une seule paire de chromosomes à satellites. L'analyse de **Touahri (2022)** montre un caryotype composé de 7 paires de chromosomes métacentriques (m), dont deux (02) paires ayant des satellites. Notons seulement que ces constrictions secondaires ne sont pas toujours visibles spécialement en métaphase où les chromosomes sont très contractés comme l'ont souligné **Booth et Richards (1976**). Des discordances dans le nombre de constructions secondaires sont rapportées chez d'autres taxons telles que *Bromus* et *Pennisetum* (**Ainouche, 1993 ; Khalfallah et al. , 1993**).

CONCLUSION

CONCLUSION

En conclusion, l'analyse des cellules du méristème racinaire en mitose de la variété « Saida » de l'orge cultivée, a permis de dénombrer les chromosomes de cette plante et exploré le comportement mitotique pendant la division cellulaire.

Le dénombrement chromosomique réalisé a confirmé le nombre diploïde typique de l'orge, soit 2n = 14 chromosomes

L'ensemble des chromosomes se rangent en un seul type morphologique : métacentrique '*région médiane'*: (m) à IC allant de 0,39 à 0,45, AR allant de 1,23 à 1,72 et r-value allant de 0,66 à 0,83. La longueur moyenne des chromosomes (CL) varie de 3,05±0,67 à 4,49±1,09. La taille moyenne du complément haploïde est de 26,60±6,12.

Le caryogramme de cette variété est symétrique au sens de Stebbins (1971) puisqu'il ne montre que des chromosomes métacentriques.

Des variations dans les longueurs des chromosomiques soit dans les bras courts soit dans les bras longs sont montrées. Ces différences peuvent s'expliquer par des remaniements chromosomiques.

Nos caryotypes ne montrent qu'une seule paire de chromosomes à satellites.

Ces résultats sont cruciaux pour comprendre la diversité génétique au sein des variétés d'orge cultivées et pour explorer les mécanismes de transmission héréditaire des traits agronomiques clés. Ils offrent également des perspectives importantes pour l'amélioration génétique de l'orge, notamment en identifiant des marqueurs chromosomiques associés à des caractères d'intérêt comme la résistance aux maladies, la tolérance aux stress environnementaux et la productivité accrue. Et elles peuvent aider aussi à l'identification des anomalies chromosomiques.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- **AINOUCHE M.,** 1993. Contribution à l'étude biosystématique de bromes annuels (genre *Bromus* L., sect. *Bromus* Sm.) principalement en Algérie. Thèse Doct. 3e cycle. Inst., U. S. T. H.B., Alger, 213p.

- **AMRANE A.,** 2022. Caryotypes et évolution chromosomique chez les plantes. Éditions Universitaires Européennes.

- **ANTHONY GRIFFITHS J. F., DAVID SUZUKI T., CHRYSTELLE S.,** 2002. Introduction à l'analyse génétique. De Boeck Université. Paris. P 87.

- **ANTONIN W & NEUMANN H.,** 2016. Chromosome condensation and decondensation during mitosis. *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 40, p. 15–22. DOI 10.1016/j.ceb.2016.01.013.

- **ARANO H.,** 1981. Karyotype analysis in some species of Compositae. La Kromosomo 2 : 471-480.

- **ARNAU G., MONNEVEUX P., THIS D., ALEGRE L**., 1997. Photosynthesis of six barley genotypes as affected by water stress. *Photosynthetica*, 14:67-76.

- **BAUM M., VON KORFF M., GUO P., LAKEW B., UDUPA SM., SAYED H., CHOUMANE W, GRANDO S., CECCARELLI S.,** 2007. Molecular approaches and breeding strategies for drought tolerance in barley. In: *Varshney R, Tuberosa r, eds. Genomic assisted crop improvement: vol. 2: genomics applications in crops. The Netherlands: Springer*, 51–79.

- **BENZERZOUR H., MONNEVEUX P**., 1993. Analyse des facteurs de stabilité du rendement de l'orge dans les conditions des hauts plateaux de l'Algérie, Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne, Diversité génétique et amélioration variétale, P.Monneveux,M. Ben salem, Eds, Inra editions, France, pp 139-158.

- **BOOTH TA & RICHARDS AJ.,** 1976. Studies in the *Hordeum murinum* aggregate 1. *Morphology*. J. Linn. Soc., Bot. 72(2): 149–159.

- **BETTAYEB K.,** 2017. Division cellulaire. Le moment clé révélé. *Science & vie*. p. 71.

- **BOUDOUMA D**., 1990. Valeur nutritive de la feverole Sidi Aïch (*Vicia faba Minor*) et de l'orge Saïda Est (*Hordeum vulgare*) chez *Gallus gallus*. Institut National Agronomique El-Harrach Alger, Vol .14, N° 1-2, pp. 21 - 32.

- **BOUFENAR Z.F., ZAGHOUANE O**., 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). Institut Technique des Grandes Cultures, El-Harrach, Alger, 1ère Edition. p 152.

- **BRASSAC J., BLATTNER FR**., 2015. Species level phylogeny and polyploid relationships in *Hordeum* (Poaceae) inferred by next-generation sequencing and in silico cloning of multiple nuclear loci. *Systematic Biology by Oxford University Press*. 64:792–808.

- **CAQUET R.**, 2010. 250 examens de laboratoire. 11éme édition 2010. P 80-82.

- **CECCARELLI S.,** 1994. Specific adaptation and breeding for marginal conditions. *Euphytica*, **77**:205-219.

- **CECCARELLI S., GRANDO S., BAUM M.,** 2007. Participatory plant breeding in water-limited environments. *Experimental Agriculture*, **43**:411-435.

- Centre national de la recherche scientifique (CNRS). *http://www2.cnrs.fr/sites/communique/fichier/8_genome_humain.pdf*

- **CHAUDHARY N., COURVALIN J C.,** 1993. Stepwise reassembly of the nuclear envelope at the end of mitosis. *The Journal of cell biology*, *122*(2), 295-306.

- **CHEHAT F**., 2007. Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet PAMLIM. Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation. Alger : 7-9 avril 2007

- **CHENEY D**., 2013. Centre Léon Bérard, Direction de la Recherche. Synergie Lyon Cancer.

- **CLARKE HT,. BRETHEN MR., 2014.** α-BROMONAPHTHALENE [Naphthalene, 1-bromo-]. *Organic Syntheses*, Coll. Vol. 1, p. 121 (1941); Vol. 1, p.35 (1921). *http://www.orgsyn.org/demo.aspx?prep=CV1P0121*

- **COURVALIN J.-C., RABOUILLE C.,** 2002. Réorganisation des compartiments intracellulaires membranaires pendant la mitose. *Médecine/Sciences*, vol. 18(10), p1021.

- **DARLINGTON C.D., LACOUR L.F.,** 1970. Handling of chromosomes. George Allen et Unwin Ltd. 5 Ed. London. 272p.

- **DENOULET P & PRAT R., 2010.** La mitose. *Ressources Numériques en Biologie*, Sorbonne Université – Campus Pierre et Marie Curie. Paris.

- Direction du Commerce de la Wilaya de Saïda., 2013-2016. *https://www.dcw- saida.dz/fr/index.php/wil21/monographie*

- **DJERMOUN A.,** 2009. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Université de Hassiba Benbouali de Chlef.

- **DUPONT JM.,** 2008. Ultrastructure du chromosome. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. *http://atlasgeneticsoncology.org/teaching/209075/ultrastructure-du-chromosome*

- **EL HARAMEIN FJ., GRANDO S.,** 2010. Determination of iron and zinc content in food barley. In: Ceccarelli Sand.

- **ELLENBERG J., SIGGIA ED., MOREIRA JE., SMITH CL., PRESLEY JF., WORMAN HJ., LIPPINCOTT-SCHWARTZ J.,** 1997. Nuclear membrane dynamics and reassembly in living cells: targeting of an inner nuclear membrane protein in interphase and mitosis. *Journal of Cell Biology*; 138:1193–1206.

- **FEULGEN R., ROSSENBECK H.,** 1924. Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus des Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive.

- **FIRKET H.,** 1972. Que sais-je ? n°989, p.77.

- **GALLAIS A., BANNEROT H.,** 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées. Edition Quae. Paris. P 271.

- **GANTET P., ALAIN V., TANDART VINCENT.,** 2000. Processus - Développement [Module : Biologie et physiologie végétale]. CERIMES, Ministère de l'Éducation nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche.

- **GILLES F.,** 2014. Dépolymérisation des lamines et désorganisation de l'enveloppe nucléaire. L'École normale supérieure – PSL.

- **GRILLOT**., 1959 : La classification des orges cultivées. *Au. Am. Plantes,* 4 :446-486.

- **HAKIMI M.,** 1993. L'évolution de la culture de l'orge : le calendrier climatique tradi tionnel et les données agro météorolo giques modernes. In the agrometeorology of rainfed barley-based farming systems. Proceeding of an International symposium (6 - 10 march 1989, Tunis). Ed. Jones M., Marthys G., Rijks D. PP157 - 166.

- **HANIFI L.,** 1999. Contribution à l'étude de l'hétérosis et de l'intérêt des F1, F2 et lignées Haploïdes doubles chez l'orge. Thèse de doctorat d'Etat. Univ. Des sciences et technologies de Lille. 177 p.

- **HARRY M.,** 2008. Génétique moléculaire et évolutive. *Maloine,* Seconde édition, Paris. p465.

- **HUZIWARA Y.,** 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositae. *Kromosomo 2* : 471-480.

- **INGRAM J., BARTELS D.,** 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 47:377-403. Doi: 10.1146/annurev.arplant.47.1.377

- **JAHIER J., CHEVER A.M., EBER F., DELOURNE R., TANGUY A.M.,** 1992 - Techniques de la cytogénétique végétale. Ed. INRA, Paris. 183.

- **JAMES A. DUKE.,** 1983. Handbook of Energy Crops. Unpublished.

- **JESTIN L.,** 1992. L'orge. In : Gallais A.et Bannerot H. (Eds.), Amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et critères de sélection, INRA, Paris. 55-74.

- **KASHA KJ., SADASIVAIAH RS.,** 1971. Genome relationships between Hordeum vulgare L. and H. bulbosum L. *Chromosoma*, *35*(3), 264-287. https://doi.org/10.1007/bf00326278.

- **KHALDOUN A.,** 1989. Etude du comportement de l'orge exploitée à double fin. *Fourrages*, 117, 77-88.

- **KHALFALLAH N. SARR A. SILJAK-YAKOVLEV S.,** 1993. Karyological study of some cultivated and wild stocks of pearl millet from Africa (*Pennisetum typhoides* Stapf et Hubb. and *P. violaceum* (Lam.) L. Rich.). *Caryologia* 46(2-3):127-138

- **LAGUARIGUE J.,** 1969. Eléments de génétique rationnelle. Ed. *Dunod*. Paris. 134 p.

- **LEMONDE A., CLEMENT D.,** 1983. Biologie cellulaire et moléculaire. Presses Université Laval. Paris. Pp 396-398.

- **LEVAN A., FREDA K., SCANDBERG A.,** 1964. Secondary association between genetically equivalent bivalents. *Heriditas*. 52 : 201-220.

- **LÖVE A., LÖVE D.,** 1975. Plant chromosomes. Éd. CRAMER. 184p.

- **MALAN V., Vekemans M., Turleau C., De Blois M. C.,** 2012. Génétique médicale. *Elsevier Masson.*

- **MAROK M.,** 2014. Implication des mécanismes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques dans la tolérance au stress hydrique chez deux variétés d'orge, Saïda et Express. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique ENSA/Alger.

- **MCINTOSH R.,** 2016. Mitosis. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology.vol. 8, no 9, DOI 10.1101/cshperspect.a023218

- **MIRZAGHAADERI G.,** 2015. IdeoKar: an ideogram constructing and karyotype analyzing software. *Caryologia*, 68(1), 31-35. DOI 10.1080/00087114.2014.998526

- **MOROT GAUDRY J.,** 2004. La génomique en biologie végétale INRAA 2004. p 582.

- **MUNNS R., TESTER D.,** 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology. 2008. 59 :651–81.

- **NAIDJI M., DJELLAL A**., 2016. Étude des caractères de production et d'adaptation de quelques variétés d'orge (Hordeum vulgare. L) Sélectionnées en zone semi-aride, cas de la région de Sétif. Mémoire de Master Académique. Université Mohamed Boudiaf de M'sila.

- **ONN I, JILL M. HEIDINGER-PAULI, GUACCI V & ÜNAL E.,** 2008. Sister Chromatid Cohesion: A Simple Concept with a Complex Reality. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, vol. 24, n° 1, 1er , p. 105–129. DOI 10.1146/annurev.cellbio.24.110707.175350.

- **PASZKO B.,** 2006. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. *Plant Systematics and Evolution* 258 : 39-48.

- **QUASAR S. PADIATH.,** 2023. Génes et chromosomes. University of Pittsburgh. Le Manuel MSD Version pour le grand public. *https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/fondamentaux/g%C3%A9n%C3%A9tique/g%C3%A8nes-et-chromosomes*

- **RASMUSSON DC.,** 1992. Barley breeding at present and in the future. In Munck L (ed.): Barley Genetics VI, vol. II,. Munksgaard Int. Publ. Ltd., Copenhagen. 865-877.

- **ROMERO-ZARCO C.,** 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35 : 526- 530.

- **ROSEMARY K., NEWMAN C., WALTER N.,** 2008, Barley for Food and Health: Science, Technology, and Products. *Wiley Blackwell Edition*, p262.

- **SADASIVAIAH, R.S., KASHA, K.J.,** 1971 Meiosis in haploid barley. An interpretation of non-homologous chromosome associations. *Chromosoma*. 247–263. https://doi.org/10.1007/BF00326277

- **SAULNIER L.,** 2012. Les grains de céréales : diversité et compositions nutritionnelles. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* Vol. 47. P : S4-S15.

- **SCHIFF H., LIEBIG J.,** 1866. Eine neue Reihe organischen Diaminen. *Liebigs Annalen der Chemie*. vol. 140., p. 92-13.

- **SCHUBERT V., Ruban A., Houben A.,** 2016. Chromatin Ring Formation at Plant Centromeres. *Frontiers in Plant Science,* 7.

- **SOLTNER D.,** 2005. Les grandes productions végétales, 20éme édition, collection des sciences et techniques agricoles. 245p.

- **STEEN RL., MARTINS SB., TASKEN K., COLLAS P.,** 2000 Recruitment of protein phosphatase 1 to the nuclear envelope by A kinase anchoring protein AKAP149 is a prerequisite for nuclear lamina assembly. *Journal of Cell Biololy*; 150 : 1251-62.

- **STEBBINS GL.,** 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Ed. *Edward Arnold,* London. 220p.

- **TAIBI W.,** 2014. Contribution à l'analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d'orge et l'influence de l'environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tlemcen. Mémoire de Magister en agronomie option : Amélioration de la Production Végétales et Biodiversité. Université Abou Beker Belkaide-Tlemcen, 93p.

- **TARDIEU F.,** 2005**.** Plant tolerance to water deficit: physical limits and possibilities for progress. *Comptes Rendus Geoscience,* 33**7**:57-67.

- **TOUAHRI L.,** 2022. Caryotypes et caryogramme de Hordeum vulgare L. Mémoire Génétique Fondamentale et Appliquée. Université A. MIRA – Béjaia, 32p.

- **TURNER PC., MCLENNAN AG.,** 2000. L'essentiel en biologie moléculaire. Port Royal Livre. BERTI Edition. Pagination multiple. ISBN : 9-7822-5720-433-2.

- **WATANABE Y.,** 2005. Sister chromatid cohesion along arms and at centromeres. *Trends in Genetics*. vol. 21, nº 7, p. 405–412. DOI 10.1016/j.tig.2005.05.009.

- **WATANABE K., YAHARA T., DENDA T., KOSUGE K.,** 1999. Chromosomal evolution in the genus *Brachyscome* (Asteraceae, Astereae): statistical tests regarding correlation between changes in karyotype and habit using phylogenetic information. *Journal of Plant Ressearch*. 112(2): 145–161.

- **ZERROUMDA ME.,** 2012. Approches physiologiques et métaboliques pour la sélection de variétés d'orge tolérantes vis-à-vis d'une contrainte saline. Mémoire de Magister. École Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger.

Site Internet : https://fr.statista.com/statistiques/570924/production-d-orge-dans-le-monde-2008-2009/

RÉSUMÉ

Ce travail porte sur une étude cytogénétique de la variété n°01 « Saïda » de l'orge cultivée *Hordeum vulgare* L..

Nous avons coloré des racines jeunes, prétraités, prélevé à partir des graines germées de la variété étudiée, suivant la technique de coloration classique de Feulgen, pour rendre les chromosomes condensés visible au microscope optique, afin de les dénombrer et établir leurs caryotypes et caryogramme.

Les caryotypes réalisés montrent que cette espèce *Hordeum vulgare* L. est diploïde (2*n*= 2*x*), et compte un nombre chromosomique de 14 chromosomes, regroupés en sept paires chromosomiques dont des Métacentrique, submétacentriques et des chromosomes SAT.

Suivant le degré d'asymétrie, le caryogramme de cette variété d' *Hordeum vulgare* L. se classifie symétrique, avec un indice d'asymétrie IAs de 59,38%.

Mots clés : *Hordeum vulgare* L. ; Variété « Saïda » ; Coloration de Feulgen ; Mitose ; Caryotype; Caryogramme ; Caryogramme Symétrique.

Abstract

This work concerns a cytogenetic study of variety n°01 « Saïda » of barley *Hordeum vulgare* L. We colored young pretreated roots, taken from the germinated seeds of the studied variety, following the technique of Feulgen, for the purpose of making the condensed chromosomes visible under the optical microscope, to count them and establish their karyotypes and Idiogram.

The performed karyotypes show that this species *Hordeum vulgare* L. is diploid (2*n*= 2*x*), with a chromosomal number of 14 chromosomes, which are grouped in seven chromosomal pairs including Metacentric, submetacentric and SAT chromosomes.

According to the degree of asymmetry, the karyogram of this variety of *Hordeum vulgare* L. is classified symmetrically, with an asymmetry index IAs of 59.38%.

According to the asymmetry degree, the Idiogram of *Hordeum vulgare* L. is classified as symmetrical with an asymmetry index IAs of 59,38%.

Keywords: *Hordeum vulgare* L. ; "Saïda" Variety ; Feulgen stain ; Mitosis; Karyotype ; Karyogram ; Symmetrical Idiogram.