

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Sciences Biologiques de l'Environnement
Filière: Sciences Biologiques
Option: Taxo-génétique végétale et évolution



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

MASTER

Thème

Analyse cytogénétique du complexe *Medicago intertexta-Medicago ciliaris* avec accent sur la méiose et ses anomalies.

Présenté par:

Mr AYAD Noureddine

Soutenu le : **22 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mr BENADJAUD A.
Mme BENMOUHOU B. H.
Mr SAHNOUNE M.

M.C.B. UAMB
M.A.A UAMB
Pr.UAMB

Président
Encadreur
Examineur

Année universitaire: 2016/2017

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A Mon cher père qui m'a beaucoup aidé avec son soutien tout au long de mes études.

A Ma chère mère qui m'a entouré avec sa tendresse et qui n'a cessé de prier pour moi.

A Mes frères et Mes sœurs qui m'ont toujours aidé et soutenu.

A tous mes amis (es) et tous ceux qui me connaissent.

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant sans qui rien n'est possible. Je tiens à remercier vivement :

Melle BENMOUHOUH Hassina (M.A.A), ma promotrice pour avoir proposé et dirigé ce travail.

Mes incères remerciements vont aussi :

A Mr BENADJAOUH Ali (M.C.B), Président du jury, pour avoir accepté de présider le jury.

A Mr SAHNOUNE Mohamed (Professeur), Examineur, d'avoir accepté de juger mon modeste travail et pour son aide précieuse.

Je tiens à remercier Melle Zemouri T, Mme Belkacem farida et les ingénieurs du Laboratoire d'Ecologie et Environnement, pour leurs encouragements et leurs aides inconditionnelles aux étudiants. Sans votre aide, mon travail n'aurait pas vu le jour.

Je tiens enfin remercier tous ceux et celles qui m'a aidé de près ou de loin dans l'élaboration de ce modeste travail, nous disons mille mercis.

LISTE DES FIGURES

Figures	Figures	Page
Fig. 1	Systématique du genre <i>Medicago</i> L. d'après Lesins et Lesins (1979) in Prosperi <i>et al.</i> (1995).	3
Fig. 2	<i>Medicago intertexta</i> (L.) Mill. (Small, 1989 et Bena, 2001).	5
Fig. 3	<i>Medicago ciliaris</i> (L.) Krock. (Small, 1989 et Bena, 2001)	5
Fig. 4	Distribution et habitat des espèces de la section des Intertextae (d'après Heyn, 1963; Lesins & Lesins, 1979 et Smail <i>et al.</i> , 1999), c: <i>M. ciliaris</i> , g: <i>M. gramadensis</i> , i: <i>M. intertexta</i> , m: <i>M. muricoleptis</i> . Le Golfe de Béjaïa se localise sur cette carte sur une latitude de 37° N et une longitude de 5.5 E.	6
Fig. 5	Les Différents stades de la méiose : A: leptotène .B :zygotène. C : pachytène. D :diplotène. E :diacinèse. F : métaphase I. G : anaphase I. H : métaphase 2. I : anaphase 2. J : télophase II (Deysson, 1976).	12
Fig. 6	Métaphase I de la méiose pollinique de <i>M. intertexta</i> et de <i>M. ciliaris</i> Bejaïa avec 8 bivalents. <i>M. intertexta</i> : Population Targa Ouzammour (a, d); population Aboudaou (b, e). <i>M. ciliaris</i> : Population Afergane (i, h) ; population Aboudaou (g, f, c).	18
Fig 7	Les différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques de <i>M. intertexta</i> de Targa Ouzammour et Aboudaou. a : Prophase, b : Diacinèse c : Métaphase I, d : Anaphase I, e : Métaphase II, f : Anaphase II, g : Télophase II, h : fin de Télophase II, i : Tétrade.	19
Fig. 8	: Les différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques de <i>M. ciliaris</i> Aboudaou et Afergane ; a : Prophase I, b : Diacinèse, c : Métaphase I, d : Anaphase I, e : Métaphase II, f : Anaphase II, g : Télophase II, h : fin de Télophase II. i :tétrade	20
Fig. 9	Les anomalies associées aux méioses polliniques chez la population d'Aboudaou de <i>M. intertexta</i> : a , c : la migration anormale des chromosomes aux pôles. b , d : cytomixie; e : division asynchrone; f , g , h : chromosomes retardataires; i :cellule vide; j : triade; k : tétrade avec micronoyau; l : pentade; m : triade; n : triade avec deux micronoyaux; o : octade; p : hexade.	21
Fig. 10	Les anomalies associées aux méioses polliniques chez la population de Targa Ouzammour de <i>M. intertexta</i> : a : Cellules vides; b : Télophase II avec trois noyaux; c : Cytomixie et élimination d'une partie de chromatine par une poche de cytoplasme; d : la migration anormale de chromosomes aux pôles ; e : f : chromosomes agglutinés.	22
Fig. 11	Les anomalies associées aux méioses polliniques chez <i>M. ciliaris</i> Afergane. a , b : Cellule montrant une division asynchrone ; c : cellules fusionnées en télophase II; e,f : Cellules en anaphase II avec un, deux et plusieurs chromosomes retardataires respectivement. d : Cytomixie en Anaphase I ; g : Cytomixie en triade ; h : Triade; i : Cytomixie et cellules fusionnées en Anaphase I.	24

Fig. 12	Les anomalies associées aux méioses polliniques de <i>M. ciliaris</i> d'Aboudaw: a, g : Cellules en anaphase II avec un, deux et plusieurs chromosomes retardataires respectivement ; b : Cytomixie entre sept cellules en Métaphase I ; c : Cellule montrant une division asynchrone. d : Cellules fusionnées et cytomixie en Prophase. e : Elimination d'une partie de chromatine par une poche de cytoplasme; et un pont chromatique ; i, f : la migration anormale des chromosomes aux pôles	26
Fig.13	Taux des anomalies par population.	28
Fig. 14	Taux des anomalies par espèce	28
Fig. 15	Taux totaux d'anomalies par population. Les barres portant différentes lettres majuscules sont très significativement différentes (Test exact de Fisher, $P < 0.01$)	29
Fig. 16	Taux totaux d'anomalies par espèce. Les barres portant différentes lettres majuscules sont très significativement différentes (Test exact de Fisher, $P < 0.01$).	29

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titres	Pages
Tab. 1	Caractères morphologiques des espèces de la section des <i>Intertextae</i> (Schlarbaum <i>et al.</i> , 1983)	4
Tab. 2	Matériel végétal utilisé et les stations de récolte	16
Tab. 3	Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population d'Aboudaou de <i>M. intretaxta</i> .	22
Tab. 4	Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population de <i>M. intretaxta</i> échantillonnée dans la station de Targa Ouzemmour.	23
Tab. 5	Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population de <i>M. ciliaris</i> échantillonnée dans la station d'Afergane.	25
Tab. 6	Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population d'Aboudaou de <i>M. ciliaris</i> .	27
Tab. 7	Tableau récapitulatif des taux d'anomalies méiotiques pour <i>M. intertexta</i> et <i>M. ciliaris</i> .	27

SOMMAIRE

Sommaire

Dédicace

Remerciement

Liste des Tableaux

Listes des figures

Introduction	01
I/ Partie bibliographique	02
I.1/ Le genre <i>Medicago</i> L.	02
I.1.1/ Morphologie du genre <i>Medicago</i> L.	02
I.1.2/ Distribution géographique du genre <i>Medicago</i>	02
I.1.3/ Classification du genre <i>Medicago</i> selon Lesins et Lesins (1979)	03
I.2/ La section des <i>Intertextae</i>	04
I.2.1/ Caractéristiques morphologiques de la section des <i>Intertextae</i>	04
I.2.2/ Distribution et habitat des espèces de la section des <i>Intertextae</i>	05
I.2.3/ Classification des espèces de la section des <i>Intertextae</i>	07
I.2.4/ Nombres chromosomiques de la section des <i>Intertextae</i>	07
I.2.5/ Autres résultats de recherche sur le complexe <i>M. intertexta</i> <i>M. ciliaris</i>	08
I.3/ La méiose	10
I.4/ Les anomalies de la méiose	12
I.4.1/ Cytomixie	12
I.4.2/ Cellules fusionnées	13
I.4.3/ Pont chromosomique	13
I.4.4/ La ségrégation chromosomique irrégulière	13
I.4.5/ La viscosité des chromosomes	13
I.4.6/ La formation de syncytes	14
I.4.7/ Orientation anormale	14
I.4.8/ Chromosomes retardataires	14
I.4.9/ Micronoyaux	15
II/ Matériel et méthodes	16
II.1/ Matériel végétal utilisé et stations d'études	16
II.2/ Etude des Méioses polliniques	16
II.2.1/ Préparation des solutions	16
II.2.2/ Les principales étapes de l'analyse de la méiose	17
III/ Résultats et discussion	18
III.1/ Dénombrements chromosomiques	18

III.2/ Analyse des étapes de la méiose pollinique	19
III.3- Les anomalies associées aux méioses polliniques	21
III.3.1/ Population d'Aboudaou de <i>M. intertexta</i>	21
III.3.2/ Population Targa Ouzemmour de <i>M. intertexta</i>	22
III.3.3/ Population Afergane de <i>M. ciliaris</i>	24
III.3.4/ Population d'Aboudaou de <i>M. ciliaris</i>	26
III.4/ Discussions	30
Conclusion	32
Références bibliographiques	2
Résumé	

INTRODUCTION

Introduction

Le genre *Medicago* L. appartient à la famille des Fabaceae. Il comprend des espèces annuelles et des espèces pérennes, herbacées ou arbustives. La section des *Intertextae* du genre *Medicago* comprend quatre espèces : *M. intertexta*, *M. ciliaris*, *M. muricoleptis* et *M. granadensis*. Les espèces de la section sont diploïdes, autogames et à $2n = 2x = 16$ (Lesins et Lesins, 1979; Schlarbum *et al.*, 1984; Abdelgherfi *et al.*, 1988). Les différents critères utilisés dans la classifications du genre *Medicago* qu'ils soient morphologiques (Small *et al.*, 1982), biochimiques (Small *et al.*, 1999) ou moléculaires (Rose *et al.*, 1987 et Bena *et al.*, 1998) ont montré que la section des *Intertextae* forme un groupe monophylétique. D'après Rose *et al.* (1987), *M. intertexta* et *M. ciliaris* auraient évoluée à partir d'une lignée commune.

En Algérie seuls *M. interexta* et *M. ciliaris* sont présents (Quézel et Santa, 1962 ; Lesins et Lesins, 1979. Pour les populations de *M. intertexta* et *M. ciliaris* de Béjaïa les nombres comptés jusqu'ici sont de $2n = 16$ (Messaoudi, 2002; Benmouhoub, 2007 et Aberbour et Kétir, 2008) avec une plaque de $2n = 32$ pour *M. ciliaris* (Messaoudi, 2002).

De façon générale, la section des *Intertextae* est bien étudiée du point de vue morphologique, écologique, génétique, cytogénétique et phylogénétique comme l'indique la littérature citée plus haut, cependant les études cytogénétiques se sont plus intéressées à la phase diploïde (mitose) et très peu a été fait concernant la phase haploïde (méiose). Certes, Benmouhoub (2007) et Aberbour et kétir (2008) ont réalisé des comptages chromosomiques sur les méioses, observé le déroulement de la méiose et signalé par ci par là quelques anomalies, notamment la cytomixie et l'infertilité pollinique. Cependant aucune étude statistique n'a été dédiée, en Algérie ou ailleurs, aux anomalies de la méiose chez *M. intertexta* et *M. ciliaris*.

Le but de ce travail est de réaliser une étude statistique préliminaire de la distribution des fréquences des différentes anomalies liées à la méiose chez *M. intertexta* et *M. ciliaris*.

Le présent mémoire comporte une introduction générale où est présente l'état de la question et l'objectif principal du travail. Ensuite, le premier chapitre est consacré à la revue bibliographique où on définit les espèces, leur morphologie, classification etc. Le deuxième chapitre qu'est matériel et méthode présente l'échantillonnage du matériel végétal et les méthodes d'analyse utilisées. Dans le troisième chapitre sont présentés les résultats et discussion, pour enfin terminer par une conclusion générale, suivie d'une liste des références citées.

1/ SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I/ Synthèse bibliographique

I.1/ Le genre *Medicago* L.

Selon Fournier (1961), le terme "*Medicago*" vient du mot latin "Medica" ou "herbes de médic", il a été modifié par la suite et devient : *Medicago*. Le nom américain donné à la luzerne "alfalfa" proviendrait de l'Arabe.

I.1.1/ Morphologie du genre *Medicago* L.

Les plantes du genre *Medicago* sont annuelles ou pérennes, herbacées ou arbustives. Leurs caractères morphologiques sont les suivants (Lesins, 1979; Chakravatry, 1976 et Prosperi *et al.*, 1995) :

- Les feuilles sont trifoliées pétiolées et non terminées par une vrille et leurs folioles sont dentées sur la partie distale.
- Deux stipules collées aux pétioles.
- Une corolle papilionacée, caduque, constituée d'un étendard, de deux ailes libres et d'une carène formée par deux pétales inférieurs soudés.
- Androcée diadèlphe (9+1) : neuf étamines soudées, formant la colonne staminale, plus une dixième étamine libre.
- Le calice est formé de cinq sépales soudés.
- Les inflorescences pédonculées portent jusqu'à 30 fleurs libres.
- La gousse est soit courbée, soit tordue, soit roulée en hélice, épineuse ou non, indéhiscence ou presque.
- Le port est généralement dressé peut être prostré (collé au sol), les tiges peuvent être poilues.
- La graine plus ou moins réniforme est longue d'environ 10 mm.
- La fécondation est allogame chez les espèces vivaces ; et autogame chez les espèces annuelles.

I.1.2/ Distribution géographique du genre *Medicago*

L'origine des espèces du genre *Medicago* ne fait pas l'unanimité selon les auteurs. En effet, pour Lapeyronie (1982), elles sont distribuées dans le bassin méditerranéen (le sud de l'Europe, l'Afrique du Nord, le proche Orient), certaines ont été introduites en Amérique du Nord, en Australie et en Europe du Nord. D'après Derek et Ernest (1997), elles sont originaires d'Europe, d'Asie et d'Afrique et se sont répandues dans d'autres continents sous

forme de mauvaises herbes. Les travaux de Mathieu (2003) et Hirèche (2006) affirment qu'au cours du XIX siècle, les luzernes ont conquis l'ensemble de la zone méditerranéenne, ensuite elles ont envahi d'autres parties du monde, en particulier les continents américain et australien à l'occasion des différents courants de colonisation humaine. Les luzernes s'accoutument des sécheresses périodiques, elles sont adaptées à tous les types de sol qui ne sont pas trop humides (Lapeyronie, 1982).

I.1.3/ Classification du genre *Medicago* selon Lesins et Lesins (1979)

Lesins et lesins (1979) recensent 55 espèces dont une arbustive (*M .arborea*), 20 espèces herbacées pérennes et 34 espèces herbacées annuelles. Cette dernière catégorie inclut des espèces présentant une variabilité pour la pérennité, notamment *Medicago lupulina* dont certaines populations sont pluriannuelles. Les *Medicago* annuelles ou Médics sont présentes dans les sous-genres *Lupularia*, *Orbicularia* et *Spirocarpos*, alors que les pérennes le sont dans les sous-genres *Orbicularia* et *Medicago*. Ces auteurs divisent le genre en 4 sous-genres (*Lupularia*, *Orbicularia*, *Medicago* et *Spirocarpos*) et quatorze sections (Fig. 1).

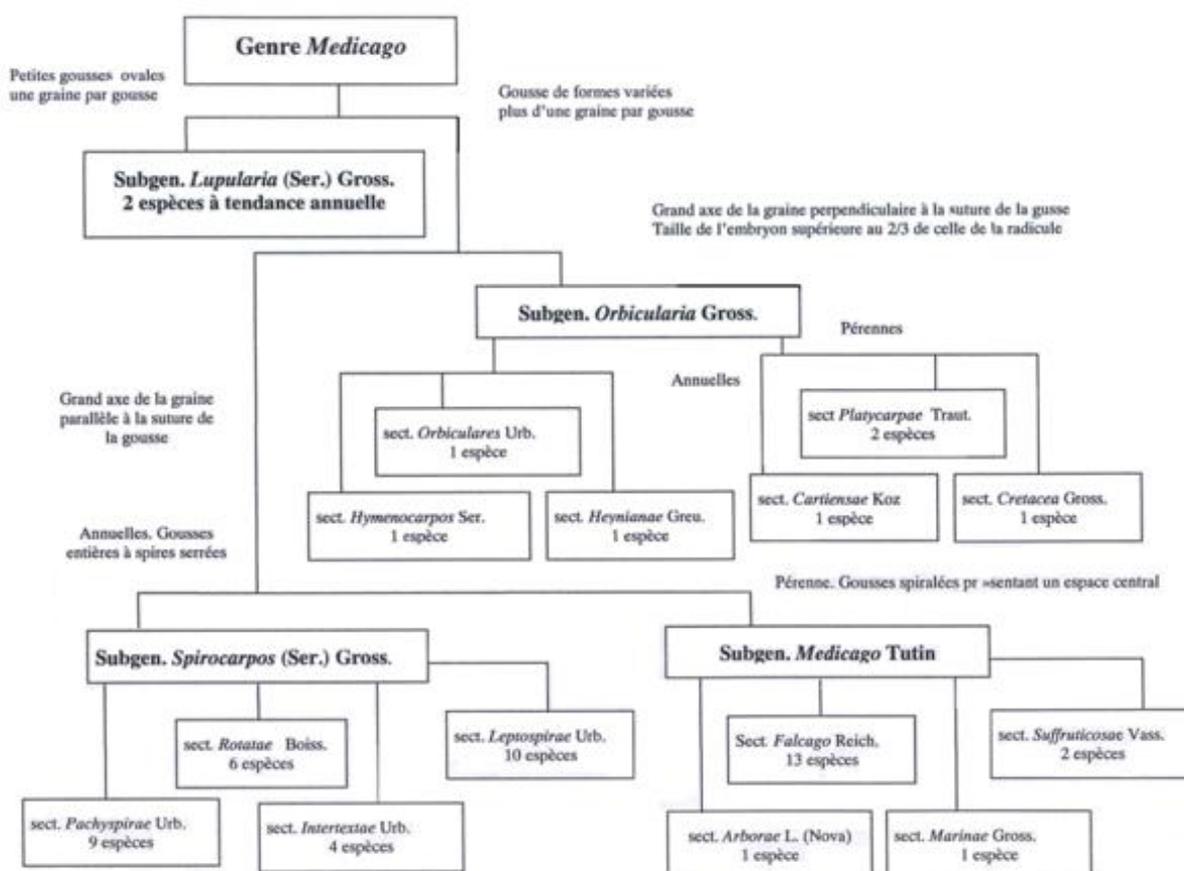


Fig.1 : Systématique du genre *Medicago* L. d'après Lesins et Lesins (1979) in Prosperi *et al.* (1995).

I.2/ La section des *Intertextae*

I.2.1/ Caractéristiques morphologiques de la section des *Intretaxtae*

La section des *Intertextae* appartient au sous genre *Spirocarpos* contient 4 espèces : *M. intretaxta* (L.) Mill., (Fig.2) *M. ciliaris* (L.) Krock. (Fig.3), *M. muricoleptis* Tin. et *M. granadensis* Willd. Les caractéristiques principales des espèces de la section des *Intretaxtae* sont :

Gousses enroulées en hélice, épineuses. Les spires sont orientées, en allant de la base vers l'apex de la gousse, dans le sens des aiguilles d'une montre (Lesins et Lesins, 1979 ; Heyn, 1963). Pas de nervures latérales différenciées, mais la face des spires montre des nervures radiales anastomosées très saillantes. Les nervures périphériques se détachent de la face en formant une aile, et rejoignent latéralement la marge d'une épine. Les graines sont brun-rouge ou brun-noir à maturité (Tab.1) (Jauzein, 1995 ; Small *et al.*, 1989).

Tab. 1: Caractères morphologiques des espèces de la section des *Intertextae* (Schlarbaum *et al.*, 1983)

Caractères morphologiques	<i>M. intretaxta</i>	<i>M. ciliaris</i>	<i>M. granadensis</i>	<i>M. muricoleptis</i>
Longueur du fruit (mm)	16.3	14.3	5.7	7.4
Largeur du fruit (mm)	12.5	11.8	8.8	10.6
Nombre du fruit	7.4	6.7	5.0	5.0
Longueur des épines (mm)	4.7	2.5	2.0	2.0
Nombre des épines	19	18	21	25
Longueur des feuilles (mm)	15.9	15.8	14.1	10.4
Présence des Anthocyanines dans les feuilles (1 : non, 2 : oui, 3 : parfois)	3	2	2	1
Longueur de la fleur (mm)	7	7.0	4.5	6.0
Taille de la plante (mm)	400	400	250	230



Fig. 2: *Medicago intertexta* (L.) Mill. (http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot070/Medicago_intertexta)



Fig. 3: *Medicago ciliaris* (L.) Krock.

(<http://luirig.altervista.org/cpm/albums/botanica2010/Medicago-ciliaris>)

I.2.2/ Distribution et habitat des espèces de la section des *Intertextae*

La répartition éco-géographique des espèces de la section des *Intertextae* est liée principalement à la pluviométrie (annuelle et saisonnière), aux températures, au calcaire total, à l'altitude et aux profils écologiques des étages bioclimatiques (Fig. 2). De tout cela, il en résulte que :

M. intertexta est ouest méditerranéenne : Portugal, France, Italie, Maroc, Algérie et Îles canaries (Heyn, 1963; Lesins et Lesins, 1979 et Small et Jomphe, 1989). Elle préfère les sols lourds humides et les sols faiblement basiques à neutres de texture fine à très fine. Elle se localise dans les zones de pluviométrie annuelle supérieure à 550 mm et à des altitudes comprises entre 30 et 800 m (Abdelguerfi *et al.*, 1988a, 1988c).

M. ciliaris est une espèce omni-méditerranéenne : son aire de répartition va des Îles canaries jusqu'à la Mer Caspienne (Lesins et Lesins, 1979 ; Small et Jomphe, 1989 ; Small *et al.*, 1999). Elle pousse principalement sur des sols humides et lourds. Elle pousse sur des sols de texture fine à très fine et faiblement basiques et neutres et se localise dans des zones à pluviométrie variable à des altitudes plus fréquemment inférieures à 630 m (Abdelguerfi, 1988a et Abdelguerfi *et al.*, 1999).

M. muricoleptis est une espèce endémique du sud de l'Italie, de la Sicile et de la France (Lesins et Lesins, 1979, Schlarbaum *et al.* 1984 et Small et Jomphe, 1989).

M. granadensis se rencontre dans les régions de L'Est de la Méditerranée : Turquie, Syrie, Palestine et Egypte (Lesins et Lesins, 1979, Schlarbaum *et al.* 1984 et Small et Jomphe, 1989). Elle se développe sur des sols humides, les jachères et les champs (Heyn, 1963 ; Lesins et Lesins *et al.*, 1979).

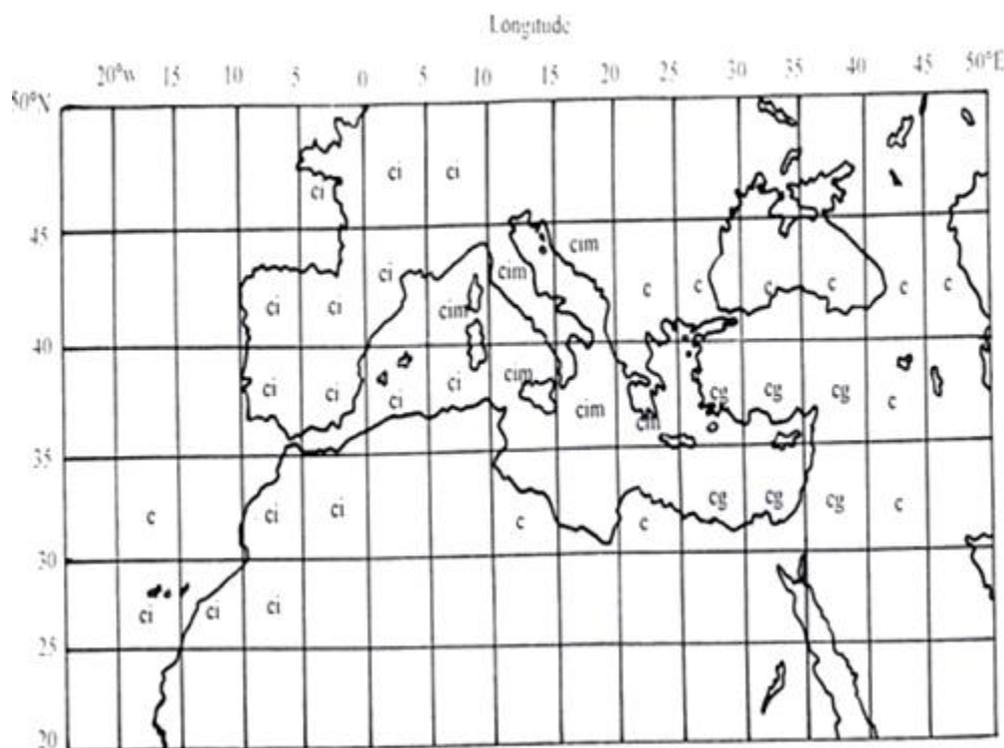


Fig.4: Distribution et habitat des espèces de la section des Intertextae (d'après Heyn, 1963; Lesins &

Lesins, 1979 et Smail *et al.*, 1999), c: *M. ciliaris*, g: *M. gramadensis*, i : *M. intertexta*, m: *M. muricoleptis*. Le Golfe de Béjaïa se localise sur cette carte sur une latitude de 37° N et une longitude de 5.5 E.

I.2.3/ Classification des espèces de la section des *Intertextae*

Les ressemblances morphologiques entre les espèces de cette section, rend un peu difficile leur classification, surtout entre *M. intertexta* et *M. ciliaris* (Small et Jomphe, 1989; Small *et al.*, 1999).

Heyn (1963) considère *M. ciliaris* comme une variété de *M. intertexta* et subdivise la section des *Intertextae* en 3 espèces et 2 variétés :

- *M. intertexta* (L.) Mill. var. *intertexta* (= *M. echinus* Urb.)
- M. intertexta* (L.) Mill. var. *decandollei* (Tin.) Urb. Verh.
- M. intertexta* (L.) Mill. var. *ciliaris* (L.) Comb. Nov.
- *M. muricoleptis* Tin.
- *M. grannadensis* Willd.

Selon Lesins et Lesins (1979), *M. intertexta* var. *intertexta* et *M. intertexta* var. *ciliaris* ont été placées au rang d'espèces et subdivisent la section en 4 espèces : *M. intertexta* (L.) Mill., *M. ciliaris* (L.) Krock., *M. muricoleptis* Tin. et *M. grannadensis* Willd. Cette conception s'appuie sur les essais d'hybridations réalisés par Lesins *et al.* (1971). Ces auteurs considèrent *M. intertexta* et *M. ciliaris* comme des espèces car leurs hybridations sont partiellement stériles (40% de pollen viable à la génération F₁).

Jauzein (1995) suggère que *M. intertexta* est une sous-espèce de *M. ciliaris* du fait que la pilosité du fruit n'est liée chez *M. ciliaris* qu'à un seul gène.

Cette difficulté d'identification est renforcée par l'existence de lien de parenté étroit entre elles; ces deux espèces auraient évolué à partir d'une lignée commune, et plus tard, *M. muricoleptis* et *M. grannadensis* auraient dérivé de *M. intertexta*, par une évolution indépendante (Rose *et al.*, 1987).

I.2.4/ Nombres chromosomiques de la section des *Intertextae*

Selon Heyn (1963), les nombres chromosomiques sont de $2n = 18$ pour *M. intertexta* var. *ciliaris*, de $2n = 16$ pour *M. intertexta* var. *intertexta* et *M. intertexta* var. *decandollei*, de

$2n = 16, 17, 18$ pour *M. granadensis*. L'auteur n'a pas signalé le nombre chromosomique de *M. muricoleptis*.

Fruyer (1930) et Senn (1938) cités par Schlarbaum *et al.* (1984) et Jauzein (1995) ont signalé un nombre chromosomique de $2n = 32$ pour quelques populations de *M. intertextata*. Pour Lesins et Lesins (1979) aussi le nombre chromosomique de ces deux taxa est de $2n = 16$ avec absence au $2n = 32$. Jauzein (1995) a mentionné un nombre chromosomique de $2n = 16$ pour *M. ciliaris* et $2n = 32$ pour *M. intertextata*. Abdelgurfî *et al.* (1988b) ont signalé un nombre chromosomique de $2n = 16$ pour des populations algériennes de *M. intertextata* et *M. ciliaris* (Messaoudi, 2002, Benmouhoub, 2007; Aberbour et Kétir, 2008 et Belloul, 2016).

I.2.5/ Autres résultats de recherche sur le complexe *M. intertextata* *M. ciliaris*.

Chérifi *et al.* (1993) ont étudié les populations tunisiennes de *M. intertextata* et *M. ciliaris*. Ils ont trouvé qu'une population de *M. intertextata* s'est isolée de son groupe d'origine et de celui de *M. ciliaris* en se singularisant par sa position intermédiaire entre les deux groupes. En effet, la population intermédiaire présente un taux de viabilité des grains de pollen relativement faible (75%). Elle manifeste également une baisse du nombre de gousses formées par grappe. Ce qui suggère l'éventualité d'une hybridation entre ces deux espèces. Certains caractères de la biologie florale semblent en faveur de cette hypothèse. Toutefois, la population de *M. intertextata* semble présenter des similarités morphologiques avec celle de *M. ciliaris*. Cette situation particulière traduirait la possibilité d'hybridations introgressives entre ces deux espèces. Les hybrides ont tendance à être pollinisés d'avantage par le pollen de l'un des deux parents que par leur propre pollen, d'où il s'ensuit une production d'hybrides introgressifs.

Cherifi (1996) a montré que la population intermédiaire présente une similitude enzymatique importante avec les populations de *M. ciliaris* et occupe ainsi une position intermédiaire. Cette situation appuie l'hypothèse de la présence d'un flux génique entre *M. ciliaris* et *M. intertextata*.

Selon Small *et al.* (1999), *M. intertextata* est l'espèce la plus polymorphe des intertextae. Elle possède un grand nombre de loci polymorphes et une grande diversité allélique. Ainsi l'hétérozygotie est plus élevée chez *M. intertextata* que chez *M. ciliaris*, aucun hétérozygote n'a été observé chez *M. granadenis* et très peu chez *M. muricoleptis*. Les fleurs de *M. intertextata*

sont parmi les plus grandes des espèces annuelles du genre *Medicago*, la taille de la fleur est un caractère indicateur du degré d'interfertilité dans le genre, ce qui explique l'hétérozygotie élevée chez *M. intertexta* par rapport aux espèces annuelles et l'existence d'un flux de gène de *M. ciliaris* vers *M. intertexta*.

L'Algérie est l'un des pays méditerranéens, si ce n'est le seul, qui présente les fréquences de présence (par rapport au nombre de sites prospectés) de *M. ciliaris* et *M. intertexta* les plus élevées. En effet, la fréquence de *M. intertexta* est assez élevée (38%) comparée aux autres régions de la Méditerranée occidentale dont les fréquences varient entre 0 et 6% (Prosperi *et al.*, 1991); *M. ciliaris* est aussi considéré comme fréquent en Algérie (39.6%) (Abdelguerfi, 1978; Abdelguerfi *et al.*, 1988a et 1988b).

L'étude de la relation entre les caractères biologiques et les facteurs du milieu du complexe d'espèces *M. ciliaris* - *M. intertexta* a été effectuée par Laouar et Abdelguerfi (1999b). Elle a pour objectif de comparer, d'une part, l'influence du milieu d'origine sur le comportement et, d'autre part, la relation entre l'ensemble des caractères biologiques (phénologiques et morphologiques) des deux taxa. Des relations similaires et d'autres différentes ont été remarquées pour les deux taxa.

Abdelguerfi et Laouar (2000a) ont effectué une recherche sur la caractérisation des différents types d'infrutescences chez le complexe d'espèce *M. ciliaris* - *M. intertexta*. Les résultats montrent que plus le nombre de gousses/infrutescence augmente plus le poids des gousses, le nombre de graines/gousse et le poids des graines diminuent chez *M. ciliaris*. Par contre chez *M. intertexta*, les plants produisant surtout des infrutescences à trois gousses. Abdelguerfi et Laouar (2000), ont étudié l'effet des conditions bioclimatiques d'origine sur le comportement et la floraison des 63 populations de *Medicago ciliaris* (L.) Krock. Les résultats montrent que le gradient de précocité de la floraison des populations de *M. ciliaris* est en relation avec les étages bioclimatiques (Semi-aride, Sub-humide et Humide). Laouar *et al.* (2001) ont effectué un travail sur l'effet du stress hydrique sur le comportement physiologique de dix populations de *M. intertexta*. Les résultats ont montré une grande variabilité entre les différentes populations. Pour l'ensemble des populations, le stress hydrique a causé une réduction significative de la quantité de matière sèche.

Les taxons *M. ciliaris* et *M. intertexta* ont fait l'objet d'études réalisées par Abdelguerfi-Laouar *et al.* (2003) sur leur écologie et leur répartition en Algérie. Les résultats

montrent que *M. ciliaris* se développe généralement sur des sols lourds et très riches en sodium, il a une dispersion plus large et présente des exigences climatiques moins strictes que celles de *M. intertexta*. Par ailleurs, la répartition géographique de *M. intertexta* est limitée au nord-est de l'Algérie, sous bioclimat sub-humide à humide, sur des sols pauvres en calcium et à moins de 250 m d'altitude en moyenne.

I.3/ La méiose

La méiose est un mode de division cellulaire particulier qui constitue la contre partie nécessaire de la fécondation : à la suite de deux divisions successives, une cellule diploïde ($2n$ chromosomes) donne naissance à un groupe de quatre cellules filles (tétrade) haploïdes (n chromosomes) (Fig. 3). Cette réduction chromosomique 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. Au point de vue cytologique, la méiose consiste en la succession de deux mitoses :

- **Division hétérotypique ou réductionnelle (mitose I)**: C'est une mitose 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'accolent. D'autre part, la télophase peut n'être qu'ébauchée ou même totalement absente (Deysson, 1976).

Prophase I: Cette phase est divisée en cinq stades successifs :

a/ Le stade leptotène : dans le noyau un peu gonflé apparaissent des chromosomes grêles, à peine spiralés et ne présentant pas de clivage longitudinal visible. Souvent, ces chromosomes convergent vers un pôle du noyau (disposition dite en bouquet) (Fig.5 A);

b/ Le stade zygotène : il y a d'abord étirement des chromonèmes puis les chromosomes homologues s'alignent directement l'un en face de l'autre et se tiennent ensemble en plusieurs points sur leur longueur (synapsis) (Fig.5 B) ;

c/ Le stade Pachytène : Les chromosomes homologues de chaque paire deviennent très enroulés, plus courts et plus épais. La fin de ce stade est souvent appelée strepsitène où les chromosomes commencent à se cliver (Fig.5 C);

d/ Le stade diplotène : les chromosomes recombinants homologues commencent à se séparer mais restent joints aux points où le croisement a eu lieu, ils restent attachés en des

endroits où on a une structure en forme de croix appelée chiasma, formée par un phénomène particulier nommé crossing-over (Fig.5 D).

e/ Le stade diacinèse : Séparation des chromosomes homologues. Les chromosomes peuvent être condensés au maximum, ils deviennent très courts et donc plus maniables pour la suite des mouvements qu'ils vont subir (Fig.5 E). Au cours de ce stade, le nucléole puis la membrane nucléaire disparaissent et le fuseau se forme.

Métaphase I : Les paires de chromosomes homologues s'alignent à la plaque équatoriale, guidés par les microtubules du fuseau. C'est le hasard qui détermine lequel des deux homologues se place d'un côté ou de l'autre de la plaque (Fig.5 F).

Anaphase I : Les chromosomes homologues migrent vers les pôles du fuseau (Fig.5 G).

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 cytotélerèse se produit parfois.

- **Division équationnelle ou mitose homéotypique (mitose II):** c'est une mitose qui suit immédiatement la division réductionnelle et maintient le nombre haploïde des chromosomes.

Prophase II : Cette phase est courte. Les filaments de chromatine formant les chromatides sœurs d'un chromosome se condensent.

Métaphase II : Les chromosomes sont à l'équateur de la cellule. Les chromatides sœurs ne sont pas collées sur toute leur longueur contrairement à ce qu'on observe à la mitose (Fig.5 H).

Anaphase II : Les centromères se divisent et les chromatides sœurs se séparent et migrent vers les pôles opposés (Fig.5 I).

Télophase II : Les chromatides se décondensent pour former quatre tétraspores (Fig.5 J).

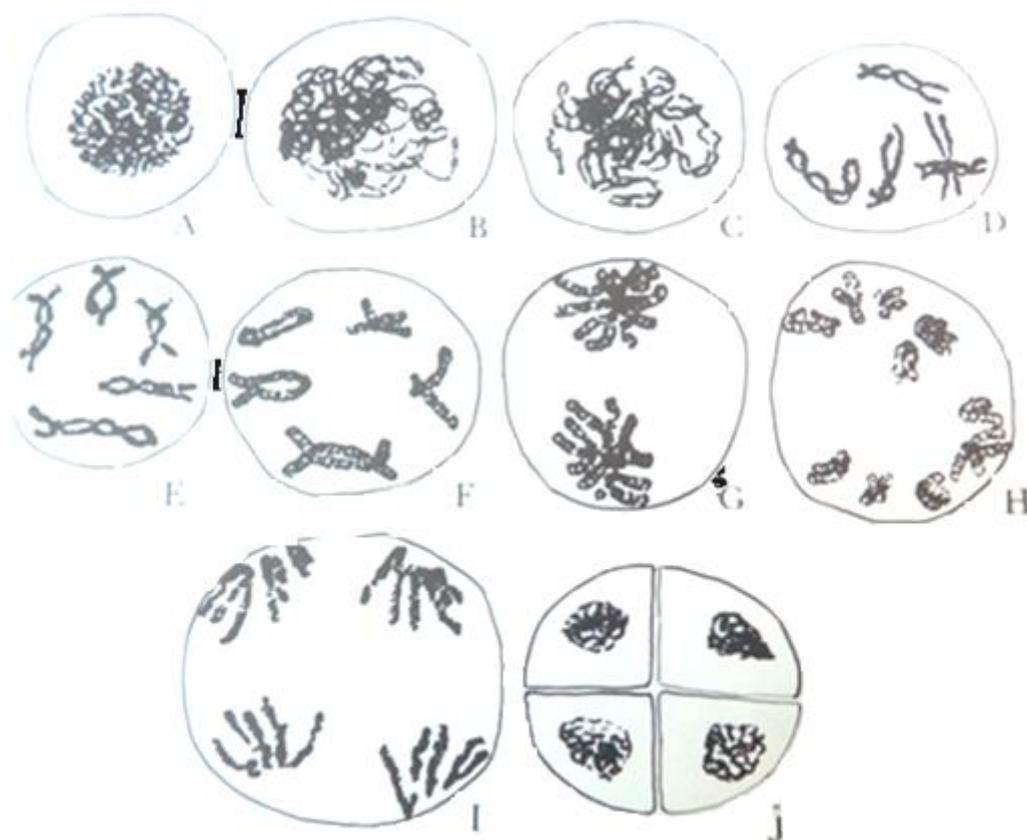


Fig. 5 : Les Différents stades de la méiose : A: leptotène .B :zygotène. C : pachytène. D :diplotène. E :diacynèse. F : métaphase 1. G : anaphase 1. H : métaphase 2. I : anaphase 2. J : télaphase II (Deysson, 1976).

I.4/ Les anomalies de la méiose

I.4.1/ Cytomixie

La cytomixie est définie comme la migration de la chromatine entre cellules adjacentes par des canaux de connexion cytoplasmiques ; elle a été observée pour la première fois par Körnicke (1901) dans des cellules mères de pollen (PMC) de *Crocus sativus*. Il se produit dans un grand nombre d'espèces (Cheng *et al.* 1975; Gottschalk 1970; Omara 1976) et a surtout été observé dans les PMC, mais aussi dans les cellules tapétales (Cooper 1952) et dans les cellules ovariennes de diverses plantes (Koul, 1990). La cytomixie est très probablement un phénomène naturel sous contrôle génétique direct, comme proposé par Mantu et Sharma (1983), bien que des facteurs physiologiques influencent certainement sa manifestation (Bellucci *et al.*, 2003).

I.4.2/ Cellules fusionnées

La fusion cellulaire est un phénomène décrit pour certaines espèces de plantes (Price, 1956; Kamra, 1960a, b) qui peut donner naissance à des syncytes. Selon Nirmala et Rao (1996), un syncyte est une masse périplasmodique contenant plus d'un noyau. Les noyaux se produisent individuellement ou se coalescent, formant un noyau polyploïde. En général, les syncytes conduisent à la formation de grains de pollen anormaux. Les fusions cellulaires sont observées depuis les premiers stades de la méiose. La fusion cellulaire et la dégénérescence de la chromatine peuvent être causées à la fois par des facteurs environnementaux et génétiques (Nirmala et Rao, 1996).

I. 4.3/ Pont chromosomique

Le pont chromosomique dans les lignes PMC consanguines provoquées par des réarrangements chromosomiques ou par collage chromosomique a été reporté par Defani-scoarize *et al* (1995a-b1996). Ces ponts sont principalement causés par des inversions paracentriques hétérozygotes (Brandham 1969b), ou sont également causés par la rupture et la fusion des chromatides (Newman, 1966). Wang *et al.* (2010) ont mentionné que les irrégularités dans l'appariement chromosomique contribuent à la production de chromosomes et de micronoyaux retardataires (Defani *et al.*, 1995).

I.4.4/ La ségrégation chromosomique irrégulière

Elle est caractérisée par la migration précoce des chromosomes vers les pôles pendant la métaphase et des chromosomes retardataires pendant l'anaphase. Ces anomalies peuvent mener à la formation de micronoyaux, qui sont dus à la présence de chromosomes univalents pendant la diakinèse ou en métaphase, à partir des chiasmés incomplets (terminaison précoce de chiasme), ou par la présence de gènes désynaptiques et asynaptiques durant la prophase I. Cette ségrégation irrégulière se manifeste chez les hybrides (Pagliarini, 2000 et Mendes-Bonato *et al.*, 2001).

I.4.5/ La viscosité des chromosomes

Cette anomalie peut être présente dans toutes les phases du cycle cellulaire, et même le nombre de chromosomes impliqués dans la viscosité est variable. Elle est induite par des facteurs génétiques et environnementaux. Lorsque cette anomalie se produit elle conduit toujours à la dégénérescence du noyau (pyncose) par une restriction extrême irréversible des

chromosomes, puis la mort de la cellule (Bione *et al.*, 2000 ; Mendes-Bonato *et al.*, 2001 & Sheidai et Fadaei, 2005).

I.4.6/ La formation de syncytes

Il s'agit d'une fusion de deux ou plusieurs cellules qui se trouvent généralement dans la même phase de la méiose (Mendes-Bonato *et al.*, 2001). Le syncyte peut se former soit par la suppression de la formation de la paroi lors de la mitose préméiotique, soit par fusion de cellules mères polliniques, provoquée par la dissolution de la paroi cellulaire pendant la prophase de la méiose (Mendes-Bonato *et al.*, 2001 & Mendes-Bonato *et al.*, 2006).

I.4.7/ Orientation anormale

Les résultats ont suggéré que cette anomalie était causée par le stress environnemental qui affectait les plantes au cours de la période de floraison. L'appareil de la broche est normalement bipolaire et agit comme une unité unique, joue un rôle crucial dans l'alignement des chromosomes de la métaphase et leur mouvement vers le pôle pendant l'anaphase (Nirmala et Rao, 1996). La distorsion dans les broches méiotiques peut être responsable de la formation de gamètes non réduits. Des fusées aberrantes lors de la deuxième division entraînant la reprise des produits de la première division ont été largement signalées dans les pommes de terre. Trois des types de broches aberrantes ont été trouvés dans cette espèce: (i) broches de deuxième division allongées à côté de l'autre (Mok & Peloquin, 1975); (ii) Broches tripolaires (Veilleux *et al.*, 1982).

I.4.8/ Chromosomes retardataires

Un chromosome est marqué comme un retardataire s'il était localisé à une anaphase tardive assez loin derrière les chromosomes correctement séparés qu'il ne chevauche pas avec eux. Il est important de noter qu'il n'y a pas une définition standardisée de l'anaphase. Certains considèrent qu'un chromosome est un retardataire seulement s'il reste immobilisé dans l'interzone, non inclus dans le noyau de la fille, devenant un micronoyau. D'autres, définissent un retard par sa position anaphase par rapport aux chromosomes non-lâches, indépendamment de son destin ultime, des retardataires qui sont devenus des micronoyaux, la majorité inhibait la cytokinésie et donc conduisait probablement à la production de cellules avec des compléments chromosomiques diploïdes plutôt que des cellules aneuploïdes (Marie *et al.*, 2007).

I.4.9/ Micronoyau

Un micronoyau est un petit noyau qui se forme à partir d'un chromosome retardataire ou d'un fragment de chromosome qui ne s'intègre pas dans le noyau principal. Lorsque les chromatides sœurs séparées se condensent et que l'enveloppe nucléaire se forme de nouveau dans la télophase (dernier stade de la mitose), les chromosomes isolés dans l'espace où les fragments de chromosomes se condensent également, formant un petit noyau rond entouré par sa propre membrane nucléaire. Les micronoyaux peuvent être considérés comme une empreinte de la déségrégation chromosomique qui persiste après la sortie mitotique et peut être visualisée dans les cellules interphasées. Il a été rapporté que la cytokinèse peut générer directement certaines perturbations structurelles (rupture du chromosome, rupture de l'enveloppe nucléaire) en raison du piégeage de la chromatine à partir des chromosomes retardataires ou des ponts chromosomiques dans le sillon du clivage (Tamara et Gary, 2017).

2/ MATERIEL ET METHODES

II/ Matériel et méthodes

II.1/ Matériel végétal utilisé et stations d'études

Ce travail a été effectué sur des boutons floraux pour l'analyse des méioses des différentes populations étudiées (Tab.2). Notre expérimentation a eu lieu au niveau du laboratoire de Recherche Laboratoire d'Ecologie et Environnement.

Tab.2 : Matériel végétal utilisé et les stations de récolte

Stations de récolte	Matériel végétal et dates de récolte	
	<i>M. intretaxta</i>	<i>M. ciliaris</i>
Campus universitaire de Targa Ouzemmour (Béjaïa)	Saison 2015 20-03-2017	
Campus universitaire d'Aboudaou (Béjaïa)	04-04-2017	04-04-2017
Afergane (Ighzer Amokrane)	/	05-03-2017

II.2/ Etude des Méioses polliniques

II.2.1/Préparation des solutions

Le Fixateur

Le fixateur assure un arrêt rapide des divisions cellulaires sans détruire la structure chromosomique, et une bonne conservation du matériel végétal par son rôle aseptisant, et il assure une meilleure conservation pour la disponibilité du matériel végétal pendant une longue période lorsqu'il est conservé à l'obscurité à 4°C (**Jahier et al., 1992**).

Le fixateur utilisé est celui du carnoy II composé de : 6 volumes d'éthanol, 3 volumes de chloroforme, 1 volume d'acide acétique glacial

Le colorant

Le colorant utilisé est à base d'orcéine lactopropionique préparé selon Dyer (1963) modifié selon Love et Love (1975). Dans un grand erlenmayer, dissoudre 2g d'orcéine dans 23 ml d'acide propionique et 23 ml d'acide lactique, ensuite ajouter de l'eau distillée jusqu'à 100 ml et bien agiter la solution puis filtrer. La solution d'orcéine ainsi obtenue se conserve longtemps dans un flacon en verre fumé.

II.2.2/ Les principales étapes de l'analyse de la méiose

Fixation

Durant la période de floraison, sous des conditions de température douce et d'humidité optimale, les boutons floraux sont prélevés très jeunes et mis immédiatement dans des tubes à

essai contenant du fixateur Carnoy II (3 volumes d'Ethanol et 1 volume d'acide acétique glacial), Ce fixateur assure un arrêt rapide des divisions cellulaires.

Récupération des anthères des boutons floraux

Sur une lame de microscope, les boutons floraux fixés sont disséqués un par un sous loupe en usant d'aiguilles et pinces fines afin de récupérer les jeunes anthères qu'ils contiennent (10/bouton floral).

Coloration

Cette étape consiste à mettre une goutte du colorant sur une lame de microscope qui contient des anthères récupérées des boutons floraux, puis recouvrir d'une lamelle en mettant du papier filtre sur la lamelle pour éliminer l'excès du colorant en exerçant une légère pression avec le pousse pour étaler les anthères et libérer les cellules mères polliniques.

Observation au microscope photonique et photographie

Après la coloration, passer la préparation au microscope optique pour observer les cellules en méiose à l'aide d'un objectif de faible grossissement (X 10) puis grossissement (X 40) pour une bonne visualisation de l'image. Le dernier grossissement est celui de l'objectif (X 100) à immersion. Les préparations réussies sont photographiées à l'aide d'un microscope OPTIKA 305 sur lequel est montée une caméra numérique. Les lames sont conservées pendant quelques jours en lutant les lamelles avec du vernis à ongles transparent.

Comptage des cellules en division et leurs anomalies

Les préparations d'anthères sont observées de bout en bout afin de repérer les cellules en division. Les cellules à différents stades de divisions sont systématiquement comptées de mêmes les anomalies. Pour chaque bouton floral de chaque population de chaque espèce le nombre de cellules normales et le nombre des différentes anomalies sont notés.

II.3/ Analyse statistique

Les graphiques ont été construits en utilisant Excel. Les proportions ont été comparées en utilisant le test exact de Fisher tel qu'il est implémenté par le logiciel statistica 8.0 (Statsoft, 2007).

III/ RESULTATS ET DISCUSSIONS

III/ Résultats et discussion

III.1/ Dénombrements chromosomiques

Les dénombrements chromosomiques sont effectués au stade métaphase I des cellules mères polliniques. Les résultats obtenus montrent une ségrégation normale à 8 bivalents ($2n = 2x = 16$) chez les quatre populations de *M. intretaxta* (Targa Ouzemmour et Aboudaou) et de *M. ciliaris* (Aboudaou et Afergane) (Fig.6).

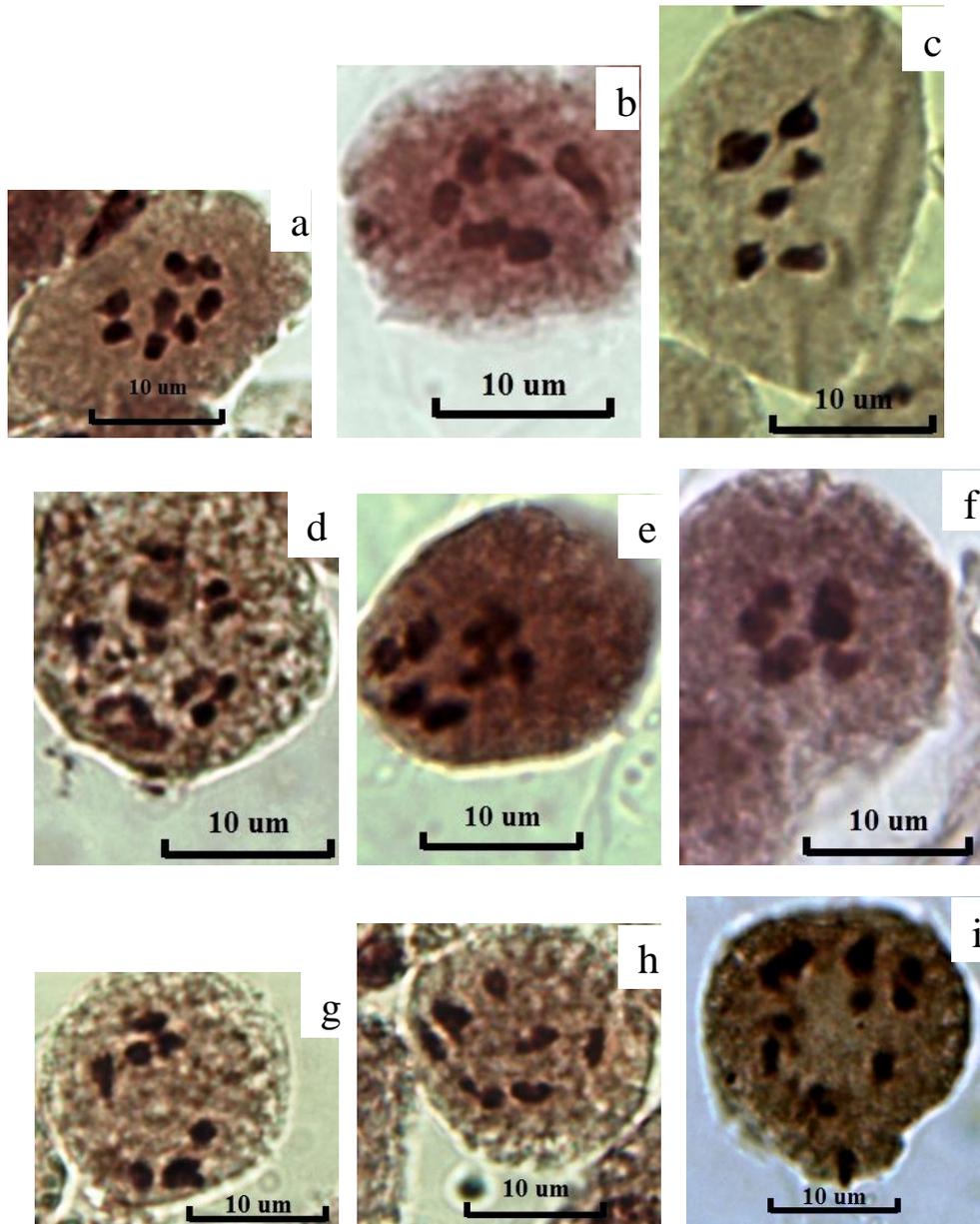


Fig. 6: Métaphase I de la méiose pollinique de *M. intretaxta* et de *M. ciliaris* Bejaïa avec 8 bivalents. *M. intretaxta*: Population Targa Ouzemmour (a, d); population Aboudaou (b, e). *M. ciliaris*: Population Afergane (i, h) ; population Aboudaou (g, f, c).

III.2/ Analyse des étapes de la méiose pollinique

La figure ci-dessous (Fig.7) montre les principales phases de la méiose observées pour *M. intertexta* pour les deux populations Targa Ouzemmour et Aboudaou.

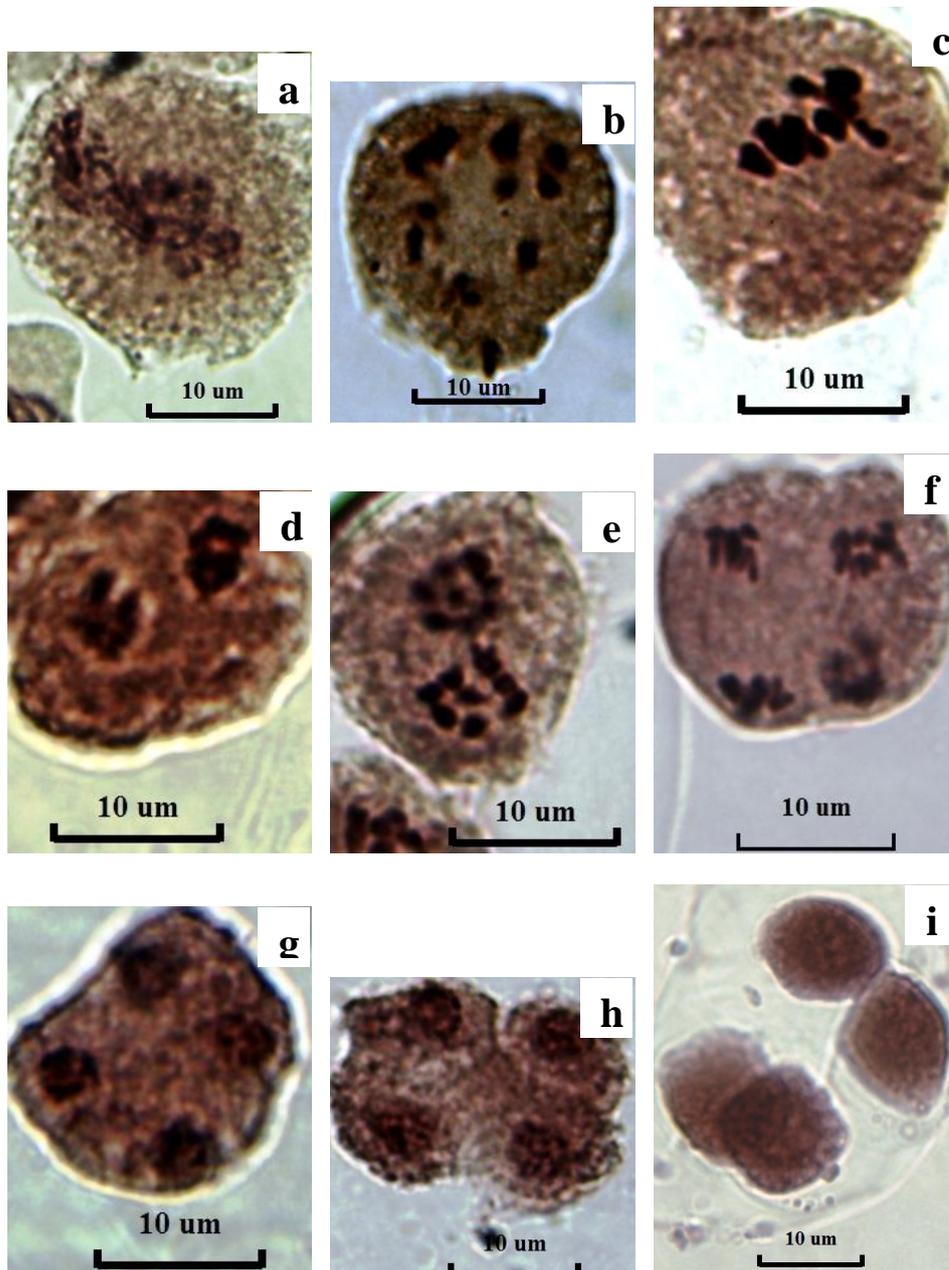


Fig. 7: Les différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques de *M. intertexta* de Targa Ouzemmour et Aboudaou. **a:** Prophase, **b:** Diacytèse **c:** Métaphase I, **d:** Anaphase I, **e:** Métaphase II, **f:** Anaphase II, **g:** Télaphase II, **h:** fin de Télaphase II, **i:** Tétrade.

La figure ci-dessous montre les principales phases de la méiose observées pour *M. ciliaris* pour les deux populations Aboudaou et Afergane (Fig.8).

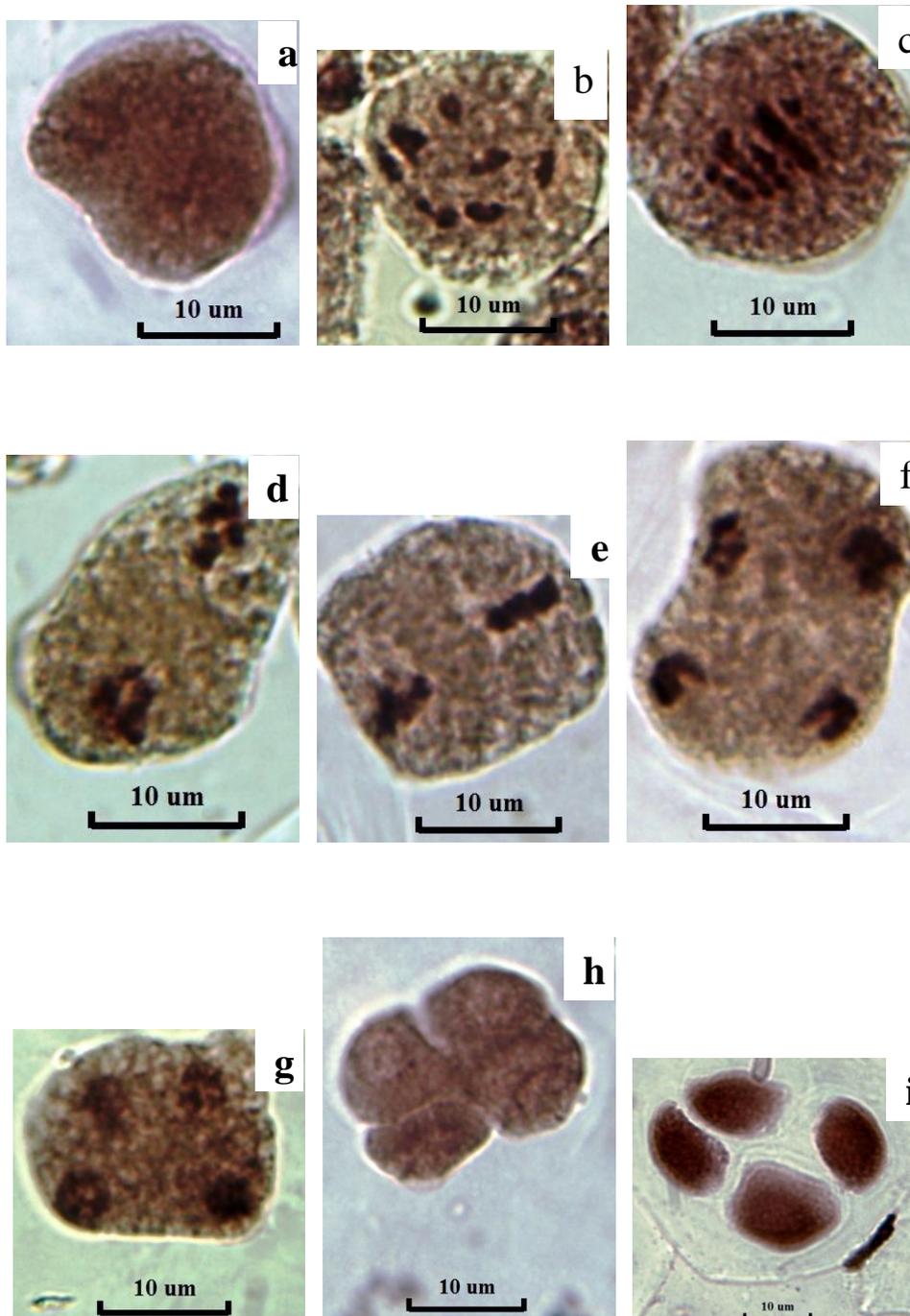


Fig. 8 : Les différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques de *M. ciliaris* Aboudaou et Afergane ; **a**: Prophase I, **b**: Diacynèse, **c**: Métaphase I, **d**: Anaphase I, **e**: Métaphase II, **f**: Anaphase II, **g**: Téléphase II, **h** :fin de Téléphase II, **i** : Tétrade.

III.3- Les anomalies associées aux méioses polliniques

III.3.1/ Population d'Aboudaou de *M. intertexta*

Les différentes anomalies méiotiques observées chez population d'Aboudaou de *M. intertexta* sont illustrées dans la figure 9.

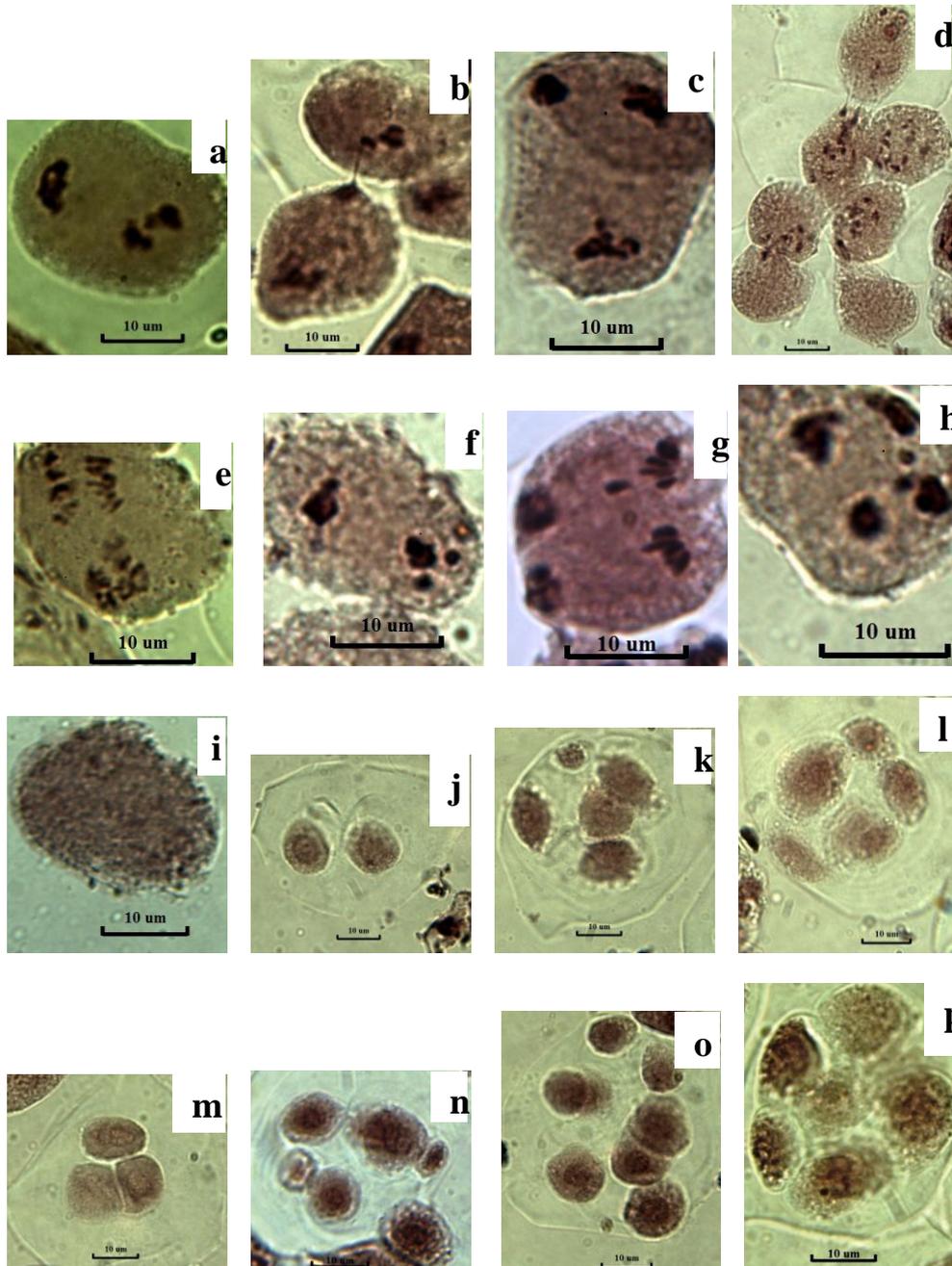


Fig. 9: Les anomalies associées aux méioses polliniques chez la population d'Aboudaou de *M. intertexta*: **a, c**: la migration anormale des chromosomes aux pôles. **b, d**: cytomixie; **e**: division asynchrone; **f, g, h**: chromosomes retardataires; **i**: cellule vide; **j**: dyade; **k**: tétrade avec micronoyau; **l**: pentade; **m**: triade; **n**: triade avec deux micronoyaux; **o**: octade; **p**: hexade.

Tab. 3. : Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population d'Aboudaou de *M. intertexta*.

Types d'anomalies	Nombre	Fréquences
Cellules mères analysées	2800	100%
Cellules présentant des divisions asynchrones	15	0,54%
Cellules présentant la cytomixie	70	2,5%
Cellules présentant des chromosomes retardataires	8	0,29%
Cellules présentant des micronoyaux	12	0,43%
Octades	1	0,04%
Hexades	7	0,25%
Pentades	5	0,18%
Triades	230	8,21%
Cellules fusionnées	65	2,32%
Migration anormale des chromosomes aux pôles	20	0,71%
Total des anomalies	433	15,47%

III.3.2/ Population Targa Ouzemmour de *M. intertexta*

Les différentes anomalies méiotiques observées chez la population de Targa Ouzemmour de *M. intertexta* sont illustrées dans la figure 10.

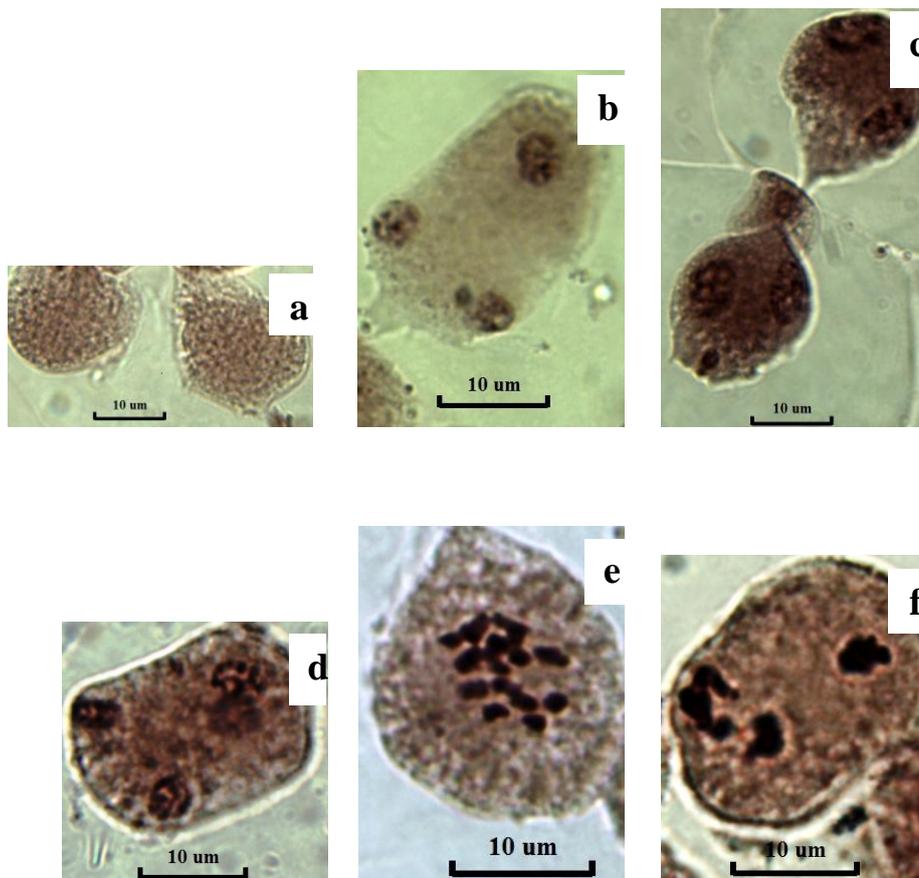


Fig. 10: Les anomalies associées aux méioses polliniques chez la population de Targa Ouzemmour de *M. intertexta* : a: Cellules vides; b: Télaphase II avec trois noyaux; c: Cytomixie et élimination d'une partie de chromatine par une poche de cytoplasme; d: la migration anormale de chromosomes aux pôles ; e: f: chromosomes agglutinés.

Tab.4 : Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population de *M. intretaxta* échantillonnée dans la station de Targa Ouzemmour.

Types d'anomalies	Nombre	Fréquence
Cellules mères analysées	1855	100%
Cellules présentant des divisions asynchrones	13	0,70%
Cellules présentant la cytomixie	42	2,26%
Cellules présentant des chromosomes retardataires	5	0,27%
Migration anormale des chromosomes aux pôles	20	1,08%
Cellules fusionnées	23	1,24%
Triades	33	1,78%
Total des anomalies	136	7.33%

III.3.3/ Population Afergane de *M. ciliaris*

La figure 11 montre les différentes anomalies observées chez la population Afergane de *M. ciliaris*.

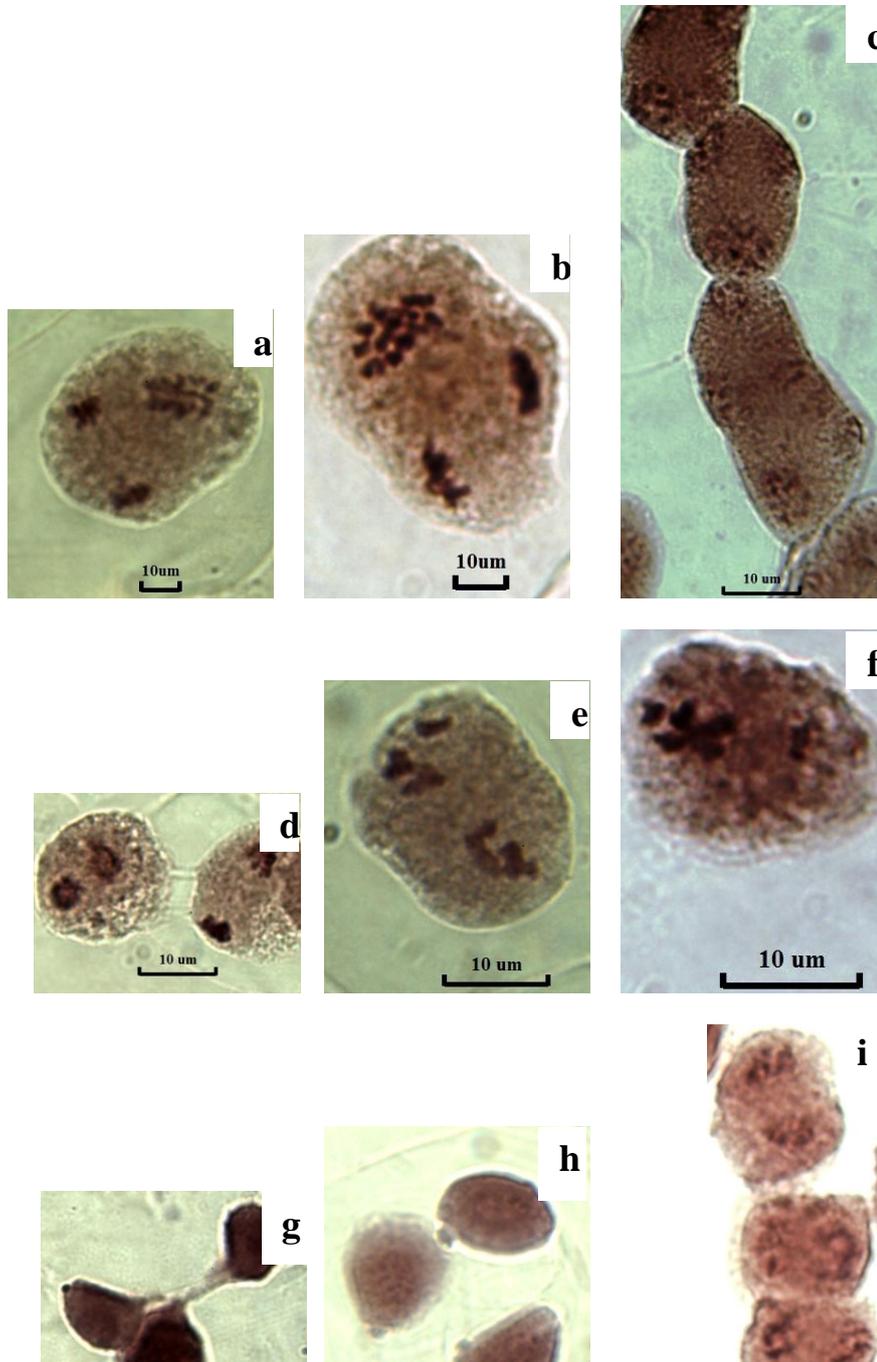


Fig. 11: Les anomalies associées aux méioses polliniques chez *M. ciliaris* Afergane. **a, b:** Cellule montrant une division asynchrone ; **c:** cellules fusionnées en télophase II ; **e,f:** Cellules en anaphase II avec un, deux et plusieurs chromosomes retardataires respectivement. **d:** Cytomixie en Anaphase I ; **g:** Cytomixie en triade ; **h:** Triade; **i:** Cytomixie et cellules fusionnées en Anaphase I.

Tab. 5 : Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population de *M. ciliaris* échantillonnée dans la station d'Afergane.

Types d'anomalies	Nombre	fréquence
Cellules mères analysées	3250	100%
Cellules présentant des micronoyaux	10	0,31%
Cellules présentant la cytomixie	35	1,07%
Cellules présentant des divisions asynchrones	9	0,28%
Migration anormale des chromosomes aux pôles	30	0,92%
Cellules fusionnées	20	0,61%
Triades	35	1,07%
Cellules présentant des chromosomes retardataires	6	0,18%
Total des anomalies	145	4,46%

III.3.4/ Population d'Aboudaou de *M. ciliaris*

Les différentes anomalies méiotiques observées chez la population d'Aboudaou de *M. ciliaris* sont illustrées dans la figure 12.

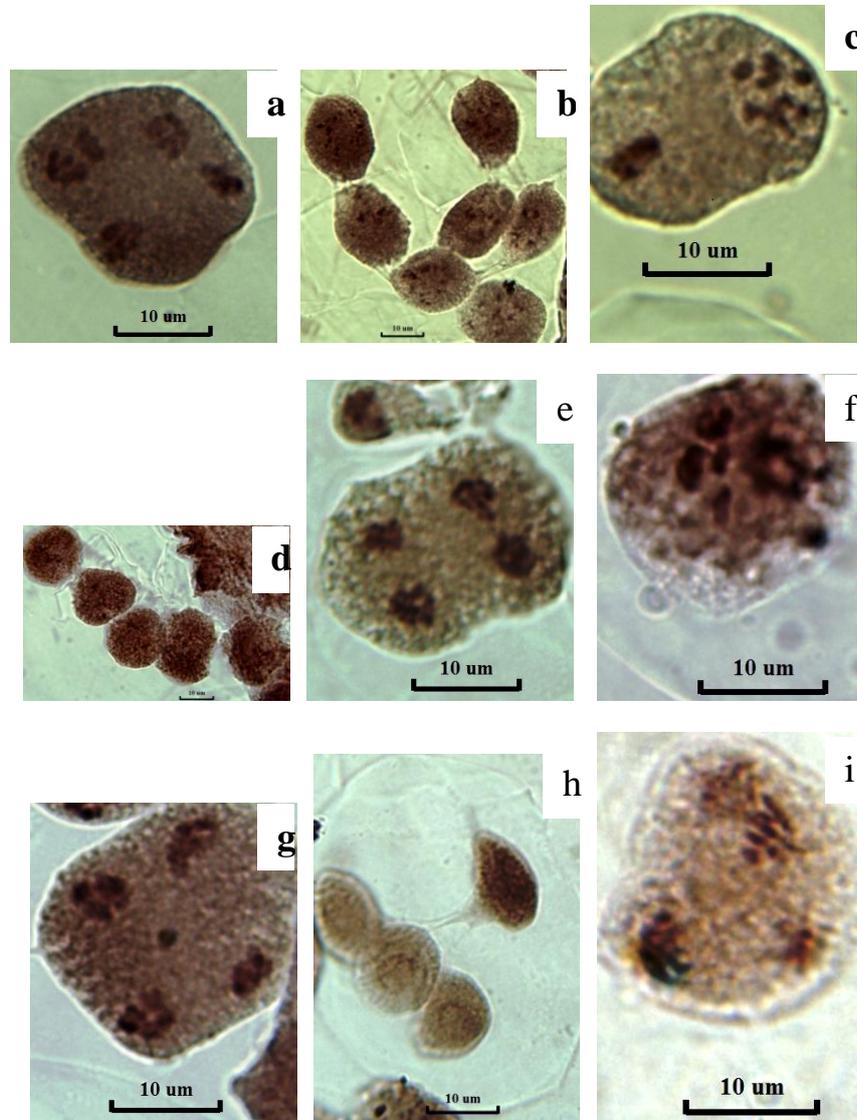


Fig. 12: Les anomalies associées aux méioses polliniques de *M. ciliaris* d'Aboudaw: **a, g:** Cellules en anaphase II avec un, deux et plusieurs chromosomes retardataires respectivement ; **b:** Cytomixie entre sept cellules en Métaphase I ; **c:** Cellule montrant une division asynchrone. **d:** Cellules fusionnées et cytomixie en Prophase. **e:** Elimination d'une partie de chromatine par une poche de cytoplasme; et un pont chromatique ; **i, f:** la migration anormale des chromosomes aux pôles.

Tab. 6 : Taux d'anomalies méiotiques calculés pour la population d'Aboudaou de *M. ciliaris*.

Types d'anomalies	Nombre	Fréquence
Cellules mères analysées	3580	100%
Cellules présentant des micronoyaux	10	0,28%
Cellules présentant la cytomixie	120	3,35%
Cellules présentant des ponts chromosomiques	3	0,08%
Migration anormale des chromosomes aux pôles	12	0,33%
Fusion	25	0,70%
Triades	190	5,31%
Total des anomalies	360	10,05%

Tab. 7 : Tableau récapitulatif des taux d'anomalies méiotiques pour *M. intertexta* et *M. ciliaris*.

Types d'anomalies	<i>M. intertexta</i> (n = 16)	<i>M. ciliaris</i> (n = 16)
Cellules mères analysées	100%	100%
Cellules présentant des divisions asynchrones	0,602%	0,132%
Cellules présentant la cytomixie	2,406%	2,269%
Cellules présentant des chromosomes retardataires	0,279%	0,088%
Cellules présentant des micronoyaux	0,258%	0,293%
Octades	0,021%	0,000%
Hexades	0,150%	0,000%
Pentades	0,107%	0,000%
Triades	5,650%	3,294%
Cellules fusionnées	1,890%	0,659%
Migration anormal des chromosomes aux pôles	0,859%	0,615%
Cellules présentant des ponts chromosomiques	0,000%	0,044%
Total des anomalies	12,223%	7,394%

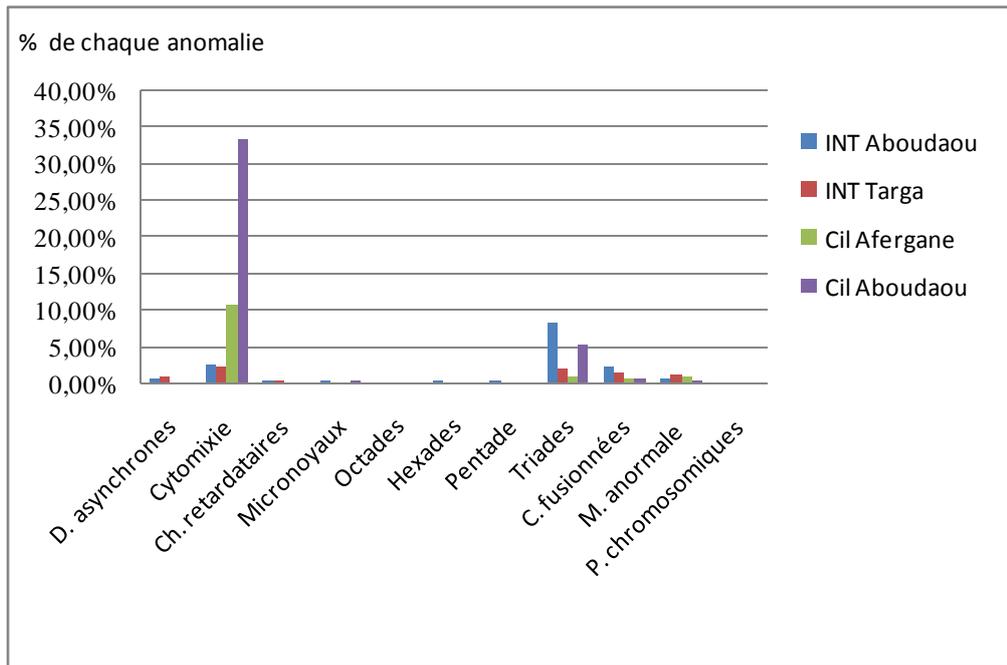


Fig. 13: Taux des anomalies par population.

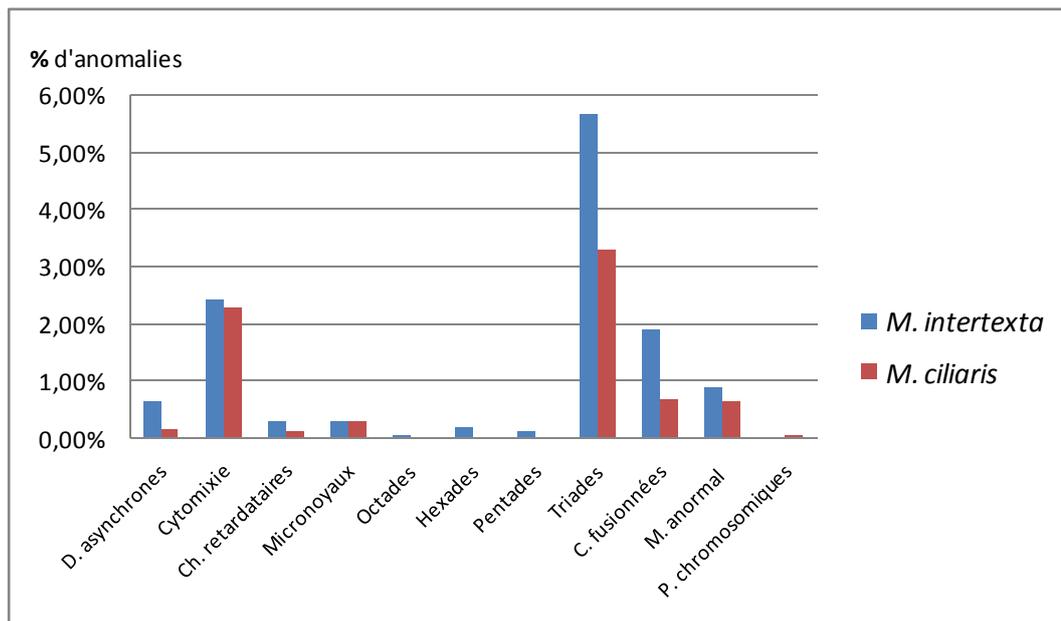


Fig. 14 : Taux des anomalies par espèce.

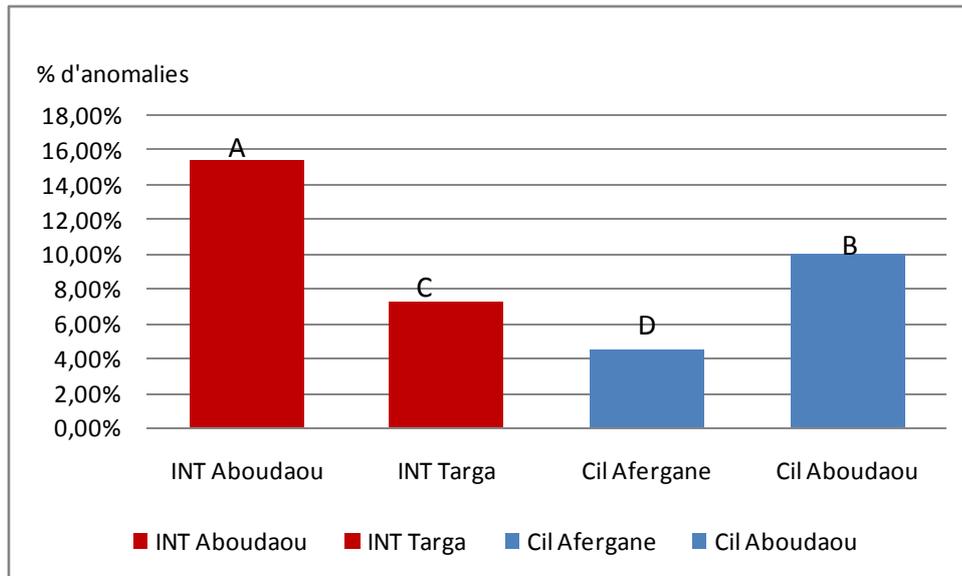


Fig. 15 : Taux totaux d’anomalies par population. Les barres portant différentes lettres majuscules sont très significativement différentes (Test exact de Fisher, $P < 0.01$).

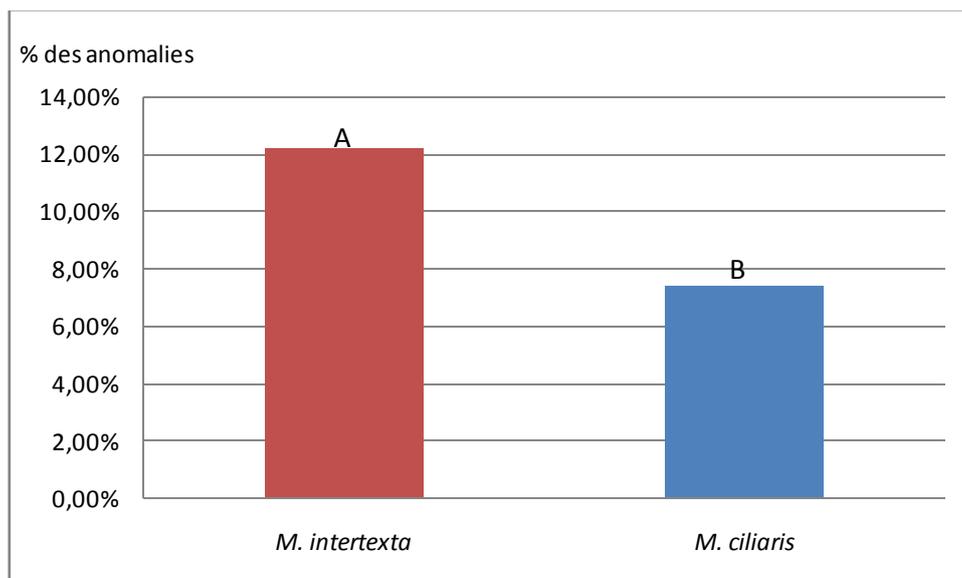


Fig. 16 : Taux totaux d’anomalies par espèce. Les barres portant différentes lettres majuscules sont très significativement différentes (Test exact de Fisher, $P < 0.01$).

III.4/ Discussions

La méiose est une étape essentielle de la reproduction sexuée des organismes. Les différentes étapes méiotiques sont communes pour la plupart des organismes diploïdes. Dans cette étude, le déroulement de la méiose a été suivi pour le complexe *M. intertexta*, *M. ciliaris* de Béjaïa (populations d'Aboudaw, Targa Ouzemmour pour *M. intretaxta* et populations d'Aboudaw et Afergane pour *M. ciliaris*.) afin d'observer les étapes de celle-ci et de compter les nombres chromosomiques. Dans tous les comptages chromosomiques réalisés sur les plaques métaphasiques I, l'appariement est normal avec 8 bivalents pour les quatre populations (Fig. 6), d'où $2n = 2x = 16$ avec $x = 8$. Ce nombre chromosomique est le même que celui rapporté par Fernandes *et al.* (1977), Lesins et Lesins (1979), Schlabaum *et al.* (1984) et Abdelguerfi *et al.* (1988b) et Benmouhoub (2007).

L'analyse des cellules mères polliniques pour les différentes populations de *M. intertexta* et *M. ciliaris* à différents stades de la méiose pour les deux espèces a donné des résultats nettement différents en moyennes pour les deux espèces (Figs. 14-17). Les différentes anomalies observées pour *M. intretaxta* sont la présence des cellules mères polliniques métaphasiques montrant la cytomixie, division asynchrone en Anaphase II, des chromosomes retardataires en Anaphases I et II, des micronoyaux en tétrades, des triades, des pentades, des hexades et des octades, avec les cytomixies et triades étant les plus fréquentes (Figs. 14 et 15). Ces anomalies ont été signalé dans un grand nombre de plantes (**Cheng *et al.*, 1975; Gattschalk, 1970; Omara, 1976**).

Pour la population de *M. intertexta*, il a été observé une migration anormale de chromosome aux pôles et présence de trois noyaux en Télaphase I, élimination d'une partie de chromatine par une poche de cytoplasme en Anaphase I, des chromosomes agglutinés en Télaphase II.

Pour *M. ciliaris*, les mêmes types d'anomalies ont été observés, la différence par rapport à *M. intertexta* réside dans les proportions de ces anomalies. Le taux total d'anomalies pour *M. intertexta* est de 12,8% et celui de *M. ciliaris* est de 7,4%. Pour tenter d'expliquer cette différence entre les deux espèces il faut prendre en considération leurs modes de reproduction. *M. intertexta* est plus allogame que *M. ciliaris* qui est plutôt hautement autogame. Or, qui dit allogame dit hybridations entre différents génotypes de *M. intertexta* et de *M. intertexta* avec *M. ciliaris* et les hybrides notamment interspécifiques sont connus pour présenter de plus forts taux d'anomalies, phénomène lié à l'instabilité du caryotype chez les hybrides inter-génomes

différents. De plus, certains facteurs du milieu comme les basses ou hautes températures, stress hydriques, attaques parasitaires, peuvent induire des anomalies de la méiose. Ainsi on pourrait comprendre que le plus fort taux d'anomalies (12.8%) de *M. intertexta* serait probablement dû en partie à l'état plus ou moins hybride des populations de *M. intertexta* et en partie aux conditions du milieu. Quant au taux d'anomalies (7,4%) de *M. ciliaris* qui est très significativement inférieur ($P < 0.01$) à celui de *M. intertexta*, il est plus à attribuer aux facteurs du milieu qu'à l'état hybride des populations de *M. ciliaris*.

Parmi les anomalies de la méiose, la plus importante est la cytomixie. Selon Bellicci *et al.* (2003), celle-ci peut avoir des conséquences génétiques. Les causes possibles suggérées sont abiotiques telles la pollution, la température élevée, les différences de pression. D'autres anomalies pourraient être un phénomène normal commandé par des facteurs génétiques comme il a été proposé par différents travaux (Omara, 1976; et Sharma, 1983; Singhal et Gill, 1985; Haroum, 1995; Bellucci *et al.*, 2003; Ghanima et Talaat, 2003; Lattoo *et al.*, 2006; Singhal *et al.*, 2007; 2010; Singhal et Kumar, 2008; Kumar *et al.*, 2008; 2011; 2012 ; Guan *et al.*, 2012) in Kaur et Singhel (2014).

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Le but de cette présente étude est d'analyser la méiose pollinique et les proportions de ses anomalies chez deux espèces proches *Medicago intertexta* et *M. ciliaris* de la région de Béjaïa. En tout 4 populations ont été analysées : Aboudaou, Targa Ouzammour (*M. intertexta*), Afergane et Aboudaou (*M. ciliaris*). Des anthères issues de boutons floraux fixés in situ dans du Carnoy 2 (Alcool-chloroforme-Acide acétique 6 :3 :1) et colorées à l'orcéine lacto-propionique ont été utilisées.

Les deux espèces ont montré un même déroulement de la méiose et en métaphase I, 8 bivalents ont pu être comptés sur certaines cellules d'où le nombre de chromosomes $2n = 2x = 16$, qui est celui généralement signalé pour ces deux espèces.

Les mêmes types d'anomalies ont été observés pour les deux espèces (cytomixie, divisions asynchrones, triades, hexades, pentades, octades, ponts chromatiques, chromosomes agglutinés, micronoyaux). Les plus fréquents sont la cytomixie qui représente jusqu'à 32 % des anomalies en deuxième position vient la présence de triades (8%), les autres anomalies sont plutôt rares.

La différence entre *M. intertexta* et *M. ciliaris* réside dans la proportion totale des anomalies par rapport à l'ensemble des cellules analysées : elle est de 12,4% pour *M. intertexta* et 7,2% pour *M. ciliaris*. Cette différence est due au caractère relativement plus fortement allogame de *M. intertexta* favorisant l'apparition d'hybrides connus pour présenter de fréquentes cytomixies. *M. ciliaris* est plutôt une espèce très fortement autogame et ses anomalies seraient à attribuer plus aux de l'environnement (Stress hydrique, thermique, parasites...) connus aussi pour jouer un rôle dans l'induction de perturbations de la méiose chez les végétaux.

En perspective, il serait intéressant d'élargir l'étude à un plus grand nombre de populations, d'inclure des hybrides interspécifiques, d'analyser l'évolution du taux d'anomalies au court du temps, d'analyser le taux d'anomalies en conditions contrôlées pour bien mettre en évidence l'influence des facteurs du milieu dans l'induction de la perturbation de la méiose.

REFERENCES BIBIOPGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abdelguerfi, A. et Abdelguerfi-Berriki, R. (1988a).** Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Medicago* L. en Algérie. II. Caractérisation des gousses et des graines de *M. orbicularis*(L.) Bart. Relation avec les conditions du milieu d'origine. Annales de l'institut National Agronomique. El-Harrach, 12 (1) : 329-341.
- Abdelguerfi, A. et Abdelguerfi-Berriki, R., and Guitonneau, G. (1988b).** Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Medicago* L. en Algérie. III. Dénombrement chromosomique chez 35 populations de 17 espèces. Annales de l'institut National Agronomique. El-Harrach, 12 (1) : 342-354.
- Abdelguerfi, A., Chapot, J. Y., Conesa, A. P. et Roseau, R. (1988c).** Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Medicago* L. en Algérie. Répartition des espèces en fonction des facteurs du milieu. Annales de l'institut National Agronomique. El-Harrach, 12 (1) : 304- 326.
- Abdelguerfi, A., Laouar M. (2000a).** Etude de complexe d'espèces *Medicago ciliaris*- *M. intertexta*: caractérisation des différents types d'infructescences. Options méditerranéennes. Pp 39- 42.
- Abdelkefi, A., Boussaid .M. et Marrakchi M. (2001).** Complexe d'espèces et régime de reproduction dans la section des *Intertextae*, *Medicago ciliaris*, *Medicago intertexta*. Ciheam, 45 :107-110. agricole. p 11-16.
- Aberbour, A. et ketir, S. (2008).** Caractérisation morphologique et nombres chromosomiques de la variété aux stipules foliacées de *Medicago intertexta* (L.) Miller. Mémoire de DES en biologie et physiologie végétales, option amélioration des plantes. Dpt BOP FSNV Université de Béjaïa, p. 65.
- Belloul, K. (2016).** Étude cytogénétique de *Medicago intertexta* (L.) Miller du Golfe de Béjaïa. Mémoire de mastre, option Génétique Appliquée, Dpt BPC FSNV Université de Béjaïa, p.28.
- Bellucci, M., Roscini, C. et Mariani, A. (2003).** Cytomixis in Pollen Mother Cells of *Medicago sativa* L., from the Institute of Plant Genetics – Research Division of Perugia, CNR, via della Madonna Alta, 130,06128 Perugia, Italy.
- 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.
- Boldrini, K.R., Pagliarini, M.S. et Valle C.B. do. 2006.** Cell fusion and cytomixis during microsporogenesis in *Brachiaria humidicola* (Poaceae). *South African Journal of Botany*, 72:478–481.

- Caetano-Pereira¹, C. M., Suely Pagliarini², M. et E Madureira, Brasil³.** Cell fusion and chromatin degeneration in an inbred line of maize. Print version ISSN 1415-4757 Online version ISSN 1678-4685.
- Chakravatry, H. L. (1976).** Plant Wealth of Iraq. Ed. A dictionary of economic plant, 1:505.
- Cheng, K. C., Nich, H. W., Yang, C. L., Wang, I.M., Chou, I.S., Chen, J. S., (1975).** Cheng, K. C., Nich, H. W., Yang, C. L., Wang, I.M., Chou, I.S., Chen, J. S., (1975) Light and electron microscopical observations on cytomixis and the study of its relation to evolution. Acta Botanica Sinica, 17, 60-69.
- Defani-Scoarize, M. A., Pagliarinis, M. S. et Aguiar, G. (1995a).** Evaluation of meiotic behavior in double crous maize hybrids and thier parents. Maydica 40 :319-324).
- Deysson G. (1976).** La cellule végétale structure et fonctionnement. Tome 1. 3ème édition 296 p.
- Ernest, S., Stephen ,R. D., Deborah, S., Erica ,J. and Heidi, L. Z.(1998).**Multiple independent losses of the plastid rpoC1 intron in Medicago (Fabaceae) as inferred from phylogenetic
- Fourmier, P. (1961).** Les quatre jlores de France, Ed. P. Lechevalier, Paris, p 577.
- Fryer, J.R. (1930).**Cytological studies in Medicago,Melotus and Trigonella.Can.J.Res, 3:3-50.
- Heyn, C. C. 1963.** The annual species of MedicagoJerusalem: Magnes Press, the Hebrew university: Vol. XII. 154 p.
- Hireche, Y. (2006).** Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Université al hadj lakhdar. Thèse de internal transcribed spacer sequences. Can. J. Bot. 76(5): 791–803.
- Benmouhoub, H. (2007).** Analyse d'hybrides F1 et F2 intra- et/ou interspécifiques chez *Medicago polymorpha*L., *M. intertexta* (L.) Miller, *M. ciliaris* (L.) Krockner, *M. arabica* (L.) Hudson., *M. orbicularis* (L.) Bartal. et *M. minima* (L.) Bartal. Interprétation taxogénétique. Magister en Biologie de la Conservation et Ecodéveloppement. Univ. A. MIRA de Béjaïa.P.93.
- Jauzein,p.(1995).** flordes champs cultivés INRA,paris ,828p. Références bibliographiques 35.
- Jill Harrison C., Elizabeth A. et Henderson I. R., (2010).** Meiosis in flowering plants and other green organisms. Journal of Experimental Botany, Vol. 61, No. 11, pp. 2863–2875, 2010).
- Laouar M., Abdelguerfi A. (1999b).** Etude du complexe d'espèces *Medicago ciliaris*- *M. intertexta*.Relations entre les caractères biologiques et les facteurs du milieu. INA. Vol 20. Pp 40-52.
- Laouar M., Abdelguerfi A., 2003 :** variabilité morphologique et phénologique chez deuxtata très proches : *Medicago ciliaris* et *Medicago intertexta*. INRAA. Pp 263- 264.

- Laouar, M., Kies N., Abdellaoui, K., Bennour, A., Bettahar, N., Kadi, S., Bouzza L., Abdelguerfi, A. (2001)** : Effet du stress hydrique sur le comportement de 10 populations de *M.intertexta*. Options Méditerranéennes. N 45 : 167-171.
- Lapeyronie, A. (1982)**. Les productions fourragères méditerranéennes - technique agricole et production méditerranéenne. Maison neuve et Larose. Paris. 307-315.
- Lesins, K. A, Lesins I and Gillies C. B.(1970)**. *Medicago murex* with $2n = 16$ and $2n = 14$ chromosome complements. *Chromosoma*, 30: 109-122.
- Lesins, K. A., Lesins I. (1979)**. Genus *Medicago* (Leguminosae). a taxogenetic study. *Plant ecology*, 50 (2): 228- 229.
- Marie, A. J., Loren L., Rudolf O., et James R. 2007**. Chromosome Malorientations after Meiosis II Arrest Cause Non disjunction. *Mol Biol Cell*. 2007 May; 18(5): 1645–1656.
- Potapova1, T. et Gary, J. G. 2017**. The Consequences of Chromosome Segregation Errors in Mitosis and Meiosis. *Biology (Basel)*. 2017 Mar; 6(1): 12 J. Richard McIntosh, Academic Editor).
- Mathieu, M. (2003)**. Luzerne: culture, récolte, conservation, utilisation. *France agricole*. p 11-16.
- 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.
- Mendes-Bonato, A. B., Pagliarini, M. S., da Silva, N. et Borges do Valle, C. (2001)**. Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae) . *Acta Scientiarum Maringá*, 23 (2): 619-625.
- Messaoudi, B. (2002)**.Le genre *Medicago* L. sect. *Intertextae* (Fabaceae) dans la région de Béjaïa : Analyse phénétique de la morphologie, Caryologie, statuts taxonomiques et théorie d'évolution. Mémoire de magister de l'université de Béjaïa. 129 p. Références bibliographiques 36.
- Nirmala, A. et Rao, P.N. (1996)**. Genesis of chromosome numerical mosaicism in higher plants. *Nucleus* 39: 151-175.).
- 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.
- Prosperi, J. M., G. C. Auricht, G. Genier, R. C. Johnson. (2000)**. The genitive diversity of legumes species in the mediterranean : *Medicago*. In the plant genetic resource of legumes in the mediterranean maxted N. and bennett S. eds kluwer academic publishers. 346p.
- Rose, R. J., Schlarbaum, S. E. et Small, E. (1987)**. Chloroplast genomic variation and phylogeny in *Medicago* section *Intertextae*. *Canadian Journal of Botany*. 66: 1352-1358.

Schlarbaum, S. E., Small, E. et Johnson, L. Johnson, B. Johnson. (1984). Karyotypic evolution, morphological variability and phylogeny in *Medicago* sect. *Intertextae*. Plant Systematic and Evolution. 145: 203- 222.

Senn, H. A. (1938). chromosome number relationships in the Leguminosae. Bibliog. Gentica, 12:175-336.

Small, E., Jomphe, M. (1989). A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae). Canad. J. university: Vol. XII. 154 p.

Site web:

http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot_070/Medicago_intertexta.

<http://luirig.altervista.org/cpm/albums/botanica2010/Medicago-ciliaris>.

**Analyse cytogénétique du complexe *Medicago intertexta*-*Medicago ciliaris*
Avec accent sur la méiose et ses anomalies.**

Résumé : Une étude cytogénétique détaillée de quatre populations dont deux de *M. intertexta* et deux de *M. ciliaris* de Béjaïa a été réalisée à l'aide de techniques (coloration à l'orcéine lacto-propionique, analyse des méioses). Les résultats confirment le niveau diploïde de ces deux espèces avec $2n = 2x = 16$ chromosomes et un nombre de base $x = 8$ pour toutes les deux. Nous avons trouvé une grande similitude dans les étapes de la méiose entre les deux espèces. Concernant les anomalies liées à la méiose, leur proportion est en moyenne plus élevée chez *M. intertexta* (12,22%) que *M. ciliaris* (7,4%). *M. intertexta* présente un fort taux d'allogamie conduisant à une grande proportion d'individus d'origine hybride dans ses populations. *M. ciliaris* est plutôt une espèce hautement autogame impliquant moins d'individus d'origine hybride dans ses populations. La faible proportion d'anomalies (7,4%) chez *M. ciliaris* est donc à attribuer en grande partie à des facteurs environnementaux (Froid, sécheresse, attaques parasitaires...) et celle de *M. intertexta* (12,22%) serait due à la fois à des facteurs génétiques (hybridations) et des facteurs environnementaux. Les anomalies observées pour ces deux taxons sont les divisions asynchrones, cytomixies, chromosomes retardataires, ponts chromosomiques, micronoyaux et tétrades anormales (diades, triades, pentades, hexades).

Mots-clés : *Medicago intertexta*, *M. ciliaris*, méiose, anomalies, Algérie.

**Cytogenetic analysis of the complex *Medicago intertexta*-*Medicago ciliaris*
with emphasis on the meiosis and its anomalies.**

Abstract: A detailed cytogenetic study of four populations including two of *M. intertexta* and two of *M. ciliaris* of Béjaïa was conducted using classical techniques (flower buds stained with lacto-propionic orcein). The results confirmed the diploid level of these two species with $2n = 2x = 16$ chromosomes and a base number of $x = 8$ for all both of them. We found a great similarity between the two in the steps of meiosis division. Concerning the anomalies related to meiosis, their proportion is in average higher in *M. intertexta* (12.22%), as expected, than in *M. ciliaris* (7.4%). This is because *M. intertexta* presents a strong outcrossing rate resulting in a higher proportion of individuals of hybrid origin in its populations. *M. ciliaris* is rather a highly autogamous species implying less individuals of hybrid origin in its populations. The low proportion of anomalies (7.4%) in *M. ciliaris* is therefore to assign in large part to environmental factors (cold, drought, parasitic attacks...). The proportion of 12.22% of abnormalities in *M. intertexta* is to be linked to genetic factors (hybridizations) and environmental factors. The observed anomalies for these two taxa are the asynchronous divisions, cytomixes, lagging chromosomes, chromosome bridges, micronuclei and abnormal tetrads (dyads, triads, pentads, hexads).

keywords : *Medicago intertexta*, *M. ciliaris*, meiosis, anomalies, Algeria.

التحليل الوراثي الخلوي لمركب *Medicago intertexta*-*Medicago ciliaris* مع التركيز على الانقسام
الاختزالي والحالات الشاذة لها.

الخلاصة: أجريت دراسة خلوية تحليلية لأربعة فئات بما في ذلك اثنتين من نوع *M. intertexta* واثنتين من *M. ciliaris* من مناطق مختلفة من بجاية باستخدام التقنيات الكلاسيكية (التلوين لأكثوبروبيونيك اورسين وتحويل الانقسام الاختزالي). وأكدت النتائج مستوى مضاعفا من هذين النوعين ان عدد الصبغيات $2n = 2x = 16$ و عدد قاعدي $x = 8$ بالنسبة لجميع الأنواع. لقد وجدنا تشابها كبيرا بين مراحل الانقسام الاختزالي في كلا النوعين. أما بالنسبة للحالات الشاذة المتعلقة بالانقسام الاختزالي، فنسبتها مرتفعة في نوع *M. intertexta* بنسبة 12,22% مقارنة بـ *M. ciliaris* بنسبة 7,4%. *M. intertexta* يحتوي على نسبة عالية التهجين مما أدى إلى نسبة كبيرة من الأفراد من أصل الهجين في مجتمعاتها. *M. ciliaris* هو بدلا من الأنواع عالية التلقيح الذاتي التي تنطوي على عدد أقل من الأفراد من أصل الهجين في مجتمعاتها. ولذلك يعزى انخفاض نسبة الاختلال (7.4%) في *M. ciliaris* إلى حد كبير إلى العوامل البيئية (البرودة والجفاف والآفات الأخرى كالتلوث). و بالنسبة لـ *M. intertexta* (12,22%) من العوامل الوراثية (الهجينة) والعوامل البيئية. الحالات الشاذة التي لوحظت هذه الأنواع هي الانقسامات غير الغير المتزامنة، الكروموسومات المتخلفة والجسور كروموسومية، النويات الدقيقة والجسور كروموسومية، النويات الدقيقة، ورباعيات غير عادية (ثنائيات، ثلاثيات، خماسيات، سداسيات وثمانيات النوا).
الكلمات المفتاحية: الجزائر، الحالات الشاذة، الانقسام الاختزالي، *Medicago intertexta*, *M. ciliaris*.