

Réf :

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

MASTER

Thème

**Etude du pollen d'une espèce parente (B)
dans le clade des Fabides (Angiospermes)
dans la région de Bejaia**

Présenté par :

Kekouche Fares & Kerrache Tinhinan

Soutenu le : 14 septembre 2022

Devant le jury composé de :

M. BALLA. El Hacéne	Professeur	Président
Mme. DJAFRI-BOUALLAG. Lynda	MAA	Encadreur
M. Hamlat. Mourad	MAA	Examineur

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Avant tout, On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné santé, volonté, Force et courage d'entamer et de continuer ce travail jusqu'à la fin.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre promotrice, Madame **DJAFRI-BOUALLAG Lynda**. On la remercie de nous avoir encadrés, orienté, aidé et conseillé.

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

Toute notre reconnaissance et nos sincères remerciements à Mr **HAMLAT Mourad** qui nous a fait l'honneur d'être examinateur et bien voulu accepter d'examiner ce travail.

Nos sincères remerciements s'adressent également à **Mlle OURRARI Malika** pour son aide et apport durant toutes les différentes étapes de la réalisation de ce travail

On tient à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de notre stage dont **Mr RAMDANI Nacer** et **Mme MESSAOUDANE Fouzia**

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

A mes chers parents, ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années, et aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous.

A ma chère sœur **FARIZA** ainsi que son mari **FODIL**, ils m'ont chaleureusement encouragé tout au long de mon parcours.

A ma petite sœur **THANINA** à qui je souhaite plus de succès et à mon frère **ILYES** pour son encouragement.

A mon frère **FERHAT** et sa femme **AHLAM** qui me donnent de l'amour et de la vivacité.

A mon fiancé **FOUAD** pour son soutien, je le remercie infiniment ainsi que toute sa famille.

A mes chères adorables copines **SAMIRA**, **SIHAM**, **ROMAÏSSA** et **THILELI**, merci d'être toujours là pour moi.

A mon cher binôme qui a partagé avec moi et bons et les mauvais moments tout au long de mon parcours universitaire ainsi à toute sa famille.

Tinhinan.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

A mes chers parents, rien au monde ne vaut vos efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A ma sœur **WASSIMA** et à mon frère **KAMIL** spécialement qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.

A mes amis **RAOUF, Manel, Lysa, Lounis** ainsi que toute l'équipe pour leurs aides, soutiens et encouragements.

A la mémoire de mon ami et frère **FATEH** que le bon dieu garde son âme dans son vaste paradis, t'étais un frère et tu le resteras à jamais, j'espère bien te revoir un jour inchalah.

A la mémoire de ma grande mère maternelle que le dieu tout puissant lui accorde sa miséricorde pour tout son soutien moral et financier durant mon parcours universitaire.

A mon binôme avec qui j'ai partagé durant ces dernières années tous les bons et mauvais moments. I wish you all the best in your future life and thank you for everything.

Fares.

Liste des figures :

Figure	Titre	Page
1	Phylogénie simplifiée des Angiospermes (APG IV, 2016)	3
2	Phylogénie simplifiée des Eu-angiospermes (APG IV, 2016)	4
3	Phylogénie simplifiée des Eudicotylédones selon APGIV (2016)	5
4	Les différentes étapes de la formation du pollen (Richard et al, 2012).	7
5	Détails de la paroi du grain de pollen (Prieu, 2015).	9
6	Diversité des types aperturax chez les Angiospermes	10
7	Schéma représentant le principe de l'autopollinisation	11
8	Schéma représentant le principe de la pollinisation croisée.	11
9	La reproduction chez les plantes à fleurs et la double fécondation.	13
10	Photographies du matériel utilisé. a : Microscope optique (OPTIKA B-350), b : Loupe binoculaire.	16
11	Technique de coloration des grains de pollen. a : choix d'une fleur mature, b : dissection des anthères, c : coloration au bleu de coton dans le lactophénol.	18
12	Forme des grains de pollen des deux espèces étudiées du clade des Fabides.	20
13	Variation de nombre de grains de pollen produit chez les deux espèces étudiées du clade des Fabides.	22
14	Variation de nombre de grains de pollen produit par fleur chez l'espèce parente B du clade des Fabides.	23
15	Variation de nombre de grains de pollen produit par fleur chez l'espèce hybride AB du clade des Fabides.	23
16	Variation de nombre de grains de pollen produit par étamine au niveau des 15 fleurs de l'espèce parente B du clade des Fabides.	25
17	Variation de nombre de grains de pollen produit par étamine au niveau des 7 fleurs de l'espèce hybride AB du clade des Fabides.	26
18	Photographie d'une préparation montrant des grains de pollen viable et non viable après coloration au bleu de coton.	27
19	Variation du taux de viabilité pollinique chez les deux espèces étudiées du clade des Fabides.	29

20	Variation du taux de viabilité pollinique par fleur chez l'espèce parente B du clade des Fabides.	30
21	Variation du taux de viabilité pollinique par fleur chez l'espèce hybride AB du clade des Fabides.	30
22	Variation du taux de viabilité pollinique par étamine au niveau des 15 fleurs de l'espèce parente B du clade des Fabides.	31
23	Variation du taux de viabilité pollinique par étamine au niveau des 7 fleurs de l'espèce hybride AB du clade des Fabides.	32
24	Variation de la surface cellulaire des grains de pollen chez les deux espèces étudiées du clade des Fabides	36
25	Variation de la surface cellulaire des grains de pollen par fleur chez l'espèce parente B du clade des Fabides.	37
26	Variation de la surface cellulaire des grains de pollen par fleur chez l'espèce hybride AB du clade des Fabides	37
27	Variation de la surface cellulaire des grains de pollen par étamine au niveau des 15 fleurs de l'espèce parente B du clade des Fabides	38
28	Variation de la surface cellulaire des grains de pollen par étamine au niveau des 07 fleurs de l'espèce hybride AB du clade des Fabides	39

Liste des tableaux :

Tableau	Titre	Page
1	Paramètres statistiques relatifs à l'étude de la production du pollen estimés pour les deux espèces étudiées du clade des Fabides	21
2	Résultats de l'Anova réalisée sur la production de grains de pollen chez les deux espèces analysées du clade des Fabides	22
3	Paramètres statistiques relatifs à l'étude de la viabilité pollinique estimés pour les deux espèces étudiées du clade des Fabides.	28
4	Résultats de l'Anova réalisée sur la viabilité pollinique des deux espèces analysées du clade des Fabides	28
5	Paramètres statistiques relatifs à l'étude de la taille des grains de pollen estimés pour les deux espèces étudiées du clade des Fabides.	33
6	Résultats de l'Anova réalisée sur la taille des grains de pollen des deux espèces analysées du clade des Fabides.	34

Sommaire

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

Synthèse bibliographique

1. Les Angiospermes	3
1.1. Les Eudicotylédones ou Eudicots	4
1.2. Les Superrosidées.....	5
1.2.1. Fabids	5
2. Le pollen.....	6
2.1. Définition	6
2.2. Formation de pollen	7
2.3. Taille des grains de pollen.....	8
2.4. Forme des grains de pollen.....	8
2.5. Morphologie	8
2.6. Les apertures	9
3. La reproduction chez les angiospermes.....	10
3.1. La pollinisation.....	11
3.2. La fécondation.....	12
4. Conservation du pollen.....	14
4.1. Séchage.....	14
4.2. Congélation	14
4.3. Stockage	14
4.4. Viabilité du pollen.....	15

Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes.....	16
1.1 Matériel de laboratoire	16
1.2. Lieu de travail effectué.....	16
1.3. Le matériel végétal	17
1.4. Méthode d'étude.....	17

Résultats et Discussions :

1. Résultats	20
1.1. La morphologie du pollen	20
1.2. Evaluation de la production de pollen.....	21
1.3. Evaluation de la viabilité pollinique.....	27
1.4. Evaluation de la taille des grains de pollen	33
2. Discussions.....	39
Conclusion.....	41
Liste des références	

INTRODUCTION

Les Angiospermes sont des plantes à ovaire, apparues il y a plus de 400 millions d'années. Sur les 374 000 espèces végétales répertoriées (environ), 85% seraient des Angiospermes. Elles constituent l'élément végétal dominant dans les forêts de feuillus, tropicales, étendues couvertes d'arbustes et les déserts. Elles représentent la quasi-totalité des végétaux cultivés par l'homme, pour leurs divers biens faits (graines et fruits) (Christenhusz et al., 2016).

Le pollen est le gamétophyte mâle des plantes à ovules, c'est-à-dire la structure qui produit et contient les deux gamètes mâles. A cause de l'immobilité de presque tous les végétaux, c'est le pollen lui-même qui est acheminé jusqu'à la partie femelle pour la fécondation lors de la pollinisation au moyen de différents vecteurs. La science qui a pour objet l'étude du pollen est la palynologie (Alhamidi, 2017). Le pollen des Angiospermes est composé de deux cellules entourées d'une paroi épaisse (l'exine), cette dernière est amincie dans des régions disperser appelées apertures, permettant les échanges entre le pollen et le milieu extérieur, la germination et la formation du tube pollinique et limitant les risques de rupture de la paroi (Bousmid, 2019). Il joue un rôle important dans le cycle de vie des Angiospermes, et agit non seulement comme un protecteur biologique des spermatozoïdes mâles mais aussi comme un communicateur entre les organes reproducteurs mâles et femelles pour faciliter la pollinisation et la fécondation.

Les Angiospermes présentent une très grande diversité dans le nombre et la disposition des apertures. On observe deux ensembles morphologiques distincts : le pollen mono-aperture qui est observé chez le Monocotylédones et le pollen triapertures qui est observé chez les Eudicotylédones (Erdtman, 1952).

De nombreuses études scientifiques ont eu pour objet de quantifier la fertilité ou la viabilité pollinique de diverses espèces. Le pollen viable est important pour la dispersion, la forme physique et la survie des espèces de la prochaine génération de plantes. Il est également essentiel pour la sélection végétale dirigée et l'amélioration des cultures.

Notre étude porte sur l'étude de la viabilité, la production et la taille du pollen des deux espèces du clade des Fabides (espèce B parente et espèce AB hybride) de la région de Bejaïa.

Le premier chapitre traite de l'état actuel des connaissances sur les Angiospermes en général, les Eudicots et sur les Fabids. Le sujet principal de l'étude est le pollen (taille, forme,

INTRODUCTION

formation...) et en ensuite l'analyse des phases de la transformation de la fleur en fruit (pollinisation, fécondation, maturation).

Le deuxième chapitre comprend l'expérimentation qui a été réalisée conjointement au laboratoire de Physiologie Végétale et au laboratoire de Pédologie, et les techniques utilisées dans cette étude.

Dans le troisième chapitre sont présentés les résultats obtenus et leur discussion et suivi d'une conclusion.

1. Les Angiospermes

Dans le monde végétal, le nombre d'espèces actuellement connues, décrites et acceptées à environ 374 000, dont environ 308 312 sont des plantes vasculaires, avec 295 383 plantes à fleurs (Angiospermes ; Monocotylédones : 74 273 espèces ; Eudicots : 210 008 espèces) (Christenhusz et al., 2016).

Les Angiospermes constituent avec les Gymnospermes (représentées essentiellement par les Conifères) le clade (groupe monophylétique) des plantes à ovules.

Les Angiospermes, aussi appelées plantes à fleurs, sont des plantes vasculaires porteuses de graines issues d'une double fécondation et qui constituent un groupe très diversifié en termes de forme et de couleur de leurs fleurs. Cette diversité est connue dans la grande majorité chez les Monocotylédones et chez les Eudicots. Les monocotylédones sont un grand groupe, contenant environ 22% de toutes les Angiospermes. Les Eudicots constituent un groupe très important, comprenant environ 75 % de toutes les Angiospermes (Simpson, 2010).

Les Angiospermes sont cosmopolites, et ont colonisé tous types de milieux. On les retrouve aussi bien dans les écosystèmes terrestres, mais également en milieu aquatique (eau douce, milieu marin), dans les milieux arides (déserts chauds et froids, rochers...), et même sur d'autres plantes pour les espèces épiphytes (Priou, 2015).

La classification phylogénétique repositionne les différents groupes des Angiospermes selon le gène *rbcL* qui code la grande sous-unité de la protéine RUBISCO (protéine ayant un rôle dans la photosynthèse) (Fig. 1 ; 2 ; 3).

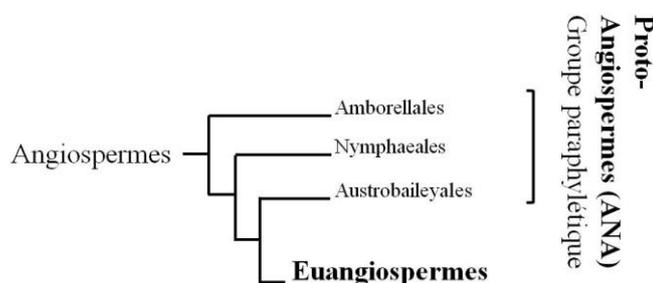


Figure 1 : Phylogénie simplifiée des Angiospermes (APG IV, 2016)

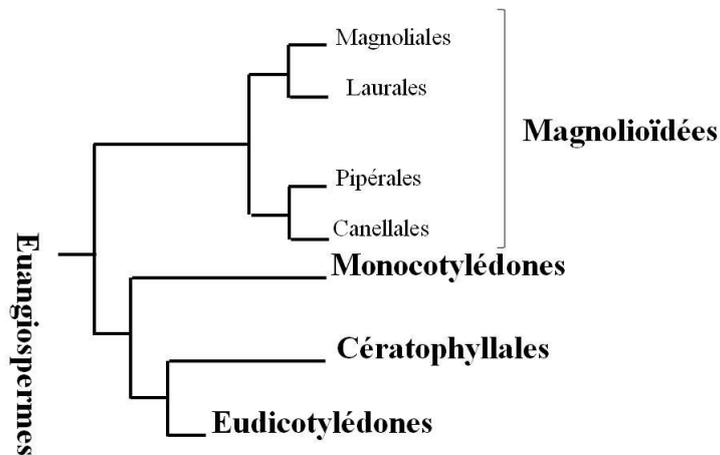


Figure 2 : Phylogénie simplifiée des Eu-angiospermes (APG IV, 2016)

1.1. Les Eudicotylédones ou Eudicots

Les Eudicots forment la majorité des Angiospermes dans le monde aujourd'hui. Elles représentent le plus grand nombre de plantes à fleurs, comprenant environ 210 000 espèces décrites, soit environ 75% de toutes les Angiospermes. Les Eudicots sont un groupe de plantes très réussi, occupant presque tous les habitats sur terre (Simpson, 2010).

L'une des caractéristiques morphologiques les plus importantes définissant les Eudicots est la présence de grains de pollen ayant trois ouvertures ou apertures longues et rainurées. Pour cela, elles sont également appelées « tricolpates ». (Kenneth, 1972).

Cette classification phylogénétique subdivise les Eudicots selon la figure x4 :

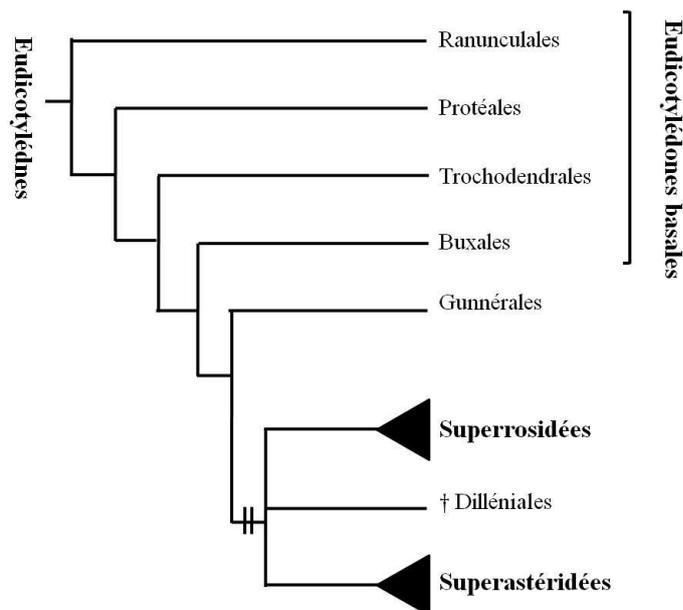


Figure 3 : Phylogénie simplifiée des Eudicotylédones selon APGIV (2016)

1.2. Les Superrosidées

Les Rosids comprennent un très large groupe d'Eudicots. Ils sont délimités en 16 ordres, qui se répartissent entre les Fabides, connus auparavant sous le nom d'Eurosids I, et les Malvides, connus auparavant sous le nom d'Eurosides II (Simpson, 2019).

1.2.1. Fabids

Les Fabides ou Eurosides I, également connu sous le nom scientifique de Fabidae, est une grande unité taxonomique au sein du clade des Angiospermes, non présente dans le système Cronquist. Elle a été introduite avec la classification APG la plus moderne. Ce sous-groupe de Rosids contient 5 ordres (ordre des Cucurbitales, Fabales, Fagales, Rosales ordre Zygophyllales), plus 3 clades COM (ordre Celastrales, ordre Malpighiales, ordre Oxalidales) (Simpson, 2019).

Le regroupement des Fabidae comprend environ 33 000 espèces végétales, qui sont divisées, selon la classification APG IV, en 5 ordres pour un total de 30 familles (les com clades ne sont pas pris en compte) (Christenhusz et al., 2016).

Certains Fabides sont des taxons d'une grande importance agricole, tels que les membres des Cucurbitacées (famille des courges), les Fabacées (haricot), les Rosaceae (famille des roses) et les Euphorbiaceae (euphorbe famille). D'autres ont une grande importance écologique ou industrielle, comme les chênes (Fagaceae) (Simpson, 2010).

Les trois sous clades des Fabides sont : un clade fixateur d'azote de Rosales, Cucurbitales, Fagales et Fabales, un « clade COM » de Celastrales, Oxalidales et Malpighiales, et un petit clade basal de Zygophyllaceae. L'ancêtre commun des Fabids a la capacité de fixer l'azote. Cela a été retenu dans au moins dix familles (quatre à Rosales, trois à Fagales, deux à Cucurbitales et Leguminosae) (Ronse, 2022).

Les 3 com clades précédemment indiqués font l'objet d'une grande question, font-ils partie aux Fabides ou aux Malvides ? Des analyses phylogénétiques basées sur les gènes des chloroplastes placent le clade avec les Fabids, tandis que les analyses des gènes nucléaires et mitochondriaux soutiennent une position avec les Malvids ce qui pose une contradiction sur la position du clade COM. Les données morphologiques tendent à soutenir un lien plus étroit avec les malvidées, comme une tendance à une augmentation secondaire des étamines et des carpelles et des pétales déformés (Ronse, 2022).

2. Le pollen

2.1. Définition

Le pollen est le gamétophyte mâle, donc le producteur de gamètes mâles, contenus dans les sacs polliniques de l'anthere des étamines.

Le terme « pollen » vient du grec "palê" qui désigne la farine ainsi que la poussière pollinique. Le mot "palynologie », qui est issu de la même racine, signifie l'étude scientifique du pollen (Donadieu, 1982 ; Dutau, 2008).

Chaque grain de pollen comporte 2 cellules : une cellule végétative et une reproductrice. On distingue le pollen transporté par le vent, dit anémophile, ce sont eux qui sont responsables des allergies saisonnières (rhume des foins) et le pollen entomophile, transporté par les insectes, et en grande partie par les abeilles. Ce dernier type n'est pas allergisant (Priou, 2015).

Le pollen contient une forte proportion de protéines contenant tous les acides aminés connus (Nicolson et al., 2011). Le pollen est le principal aliment des larves et des abeilles.

Ces dernières transforment le pollen en pelotes auxquelles elle mélange des enzymes qui vont permettre de dissoudre la solide enveloppe qui enferme les éléments nutritifs à l'intérieur de chaque minuscule grain de pollen (Jabrani et al., 2016).

2.2. Formation de pollen

La gamétogenèse mâle se déroule dans les anthères où le pollen va subir différentes étapes de transformations. Elle démarre par une méiose de la cellule mère pour aboutir ensuite à la formation d'une forme appelée tétrade. Sous l'action conjointe d'enzymes comme des pectines méthylestérases (Francis et al., 2006), des glucanases (Hird et al., 1993) issues du tapis staminal, les microspores sont libérées après la dégradation de la tétrade. La microspore subit ensuite une première mitose (mitose asymétrique) qui dépend du réseau de microtubules qui aboutit à la formation de la cellule génératrice qui formera les deux gamètes mâles après la mitose 2 (Twell, 2011). Cette dernière se déroule soit dans les anthères (donc avant la pollinisation), soit après la pollinisation (dans les tissus femelles) (Flavien, 2019 ; Bedinger, 1992). Après ces deux divisions, le tapis staminal dégénère en déposant ensuite son contenu sur la paroi externe du pollen (exine) (Piffanelli et al., 1998). Il y a aussi l'intine qui représente la paroi interne du pollen. Parallèlement, le grain de pollen se déshydrate afin de ralentir son métabolisme (Flavien, 2019) ; Bedinger, 1992).

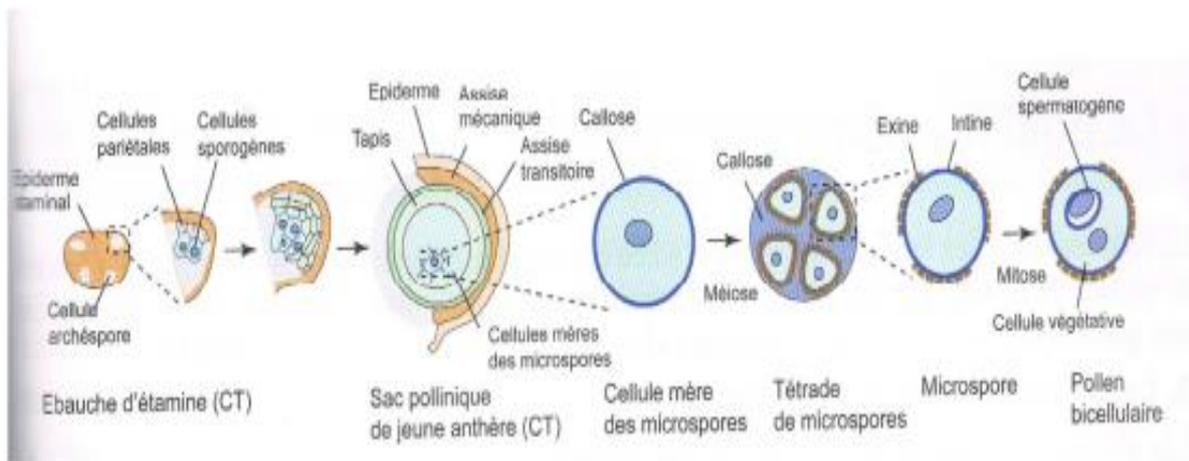


Figure 4 : Les différentes étapes de la formation du pollen (Richard et al., 2012).

2.3. Taille des grains de pollen

Un grain de pollen est spécifique d'un groupe végétal, parfois même de l'espèce, ce qui permet d'identifier les plantes émettrices (Dutau, 2008). Les grains de pollens se différencient par leurs tailles, allant de 7 μm pour le myosotis à plus de 100 μm pour les malvacées et jusqu'à 150 μm (ceux de la courge). Certains pollens peuvent avoir une taille nettement supérieure à 150 μm pour certaines gymnospermes (Laaidi et al., 1997).

2.4. Forme des grains de pollen : La forme est un élément important pour déterminer les grains de pollen. Les grains peuvent être sphériques ou allongés : Lorsqu'ils sont allongés selon son axe polaire, ils sont dits longiaxes. Et lorsqu'ils sont aplatis selon cet axe polaire, ils sont dits bréviaxes (Jabrani et al., 2016). Le pollen peut être composé d'un grain isolé ou de grains multiples.

2.5. Morphologie

Le grain de pollen mûr est composé de deux cellules haploïdes : une grande cellule végétative et une cellule spermatogène, incluse dans la cellule végétative.

Chaque grain de pollen comporte deux couches protectrices. L'enveloppe externe, appelée exine, définit la forme du grain, se compose de deux couches : l'endexine interne et l'ectexine externe. Elle est indestructible, sinon par l'oxydation. Cette propriété nous permet de retrouver des grains de pollen fossilisés datant de millions d'années (Bondallaz et al., 2021). L'enveloppe interne, l'intine est de nature pecto-cellulosique, et est plus souple que l'exine. Souvent, elle se compose de deux à trois couches, la plus externe (exospore) ayant une teneur élevée en pectine (Richard et al., 2012 ; Bousmid, 2019). L'exine s'amincit en plusieurs endroits formant des pores, ou apertures. Plus il y a d'apertures, plus la germination du pollen est rapide, et ceci en particulier en conditions humides. À l'opposé, un petit nombre d'apertures signifie un grain plus résistant, ce qui est un avantage en milieu sec avec peu d'insectes pollinisateurs (Bondallaz et al., 2021). De plus ces grains peuvent être sans apertures (inaperturés), porés, ou colporés (Prieu, 2015).

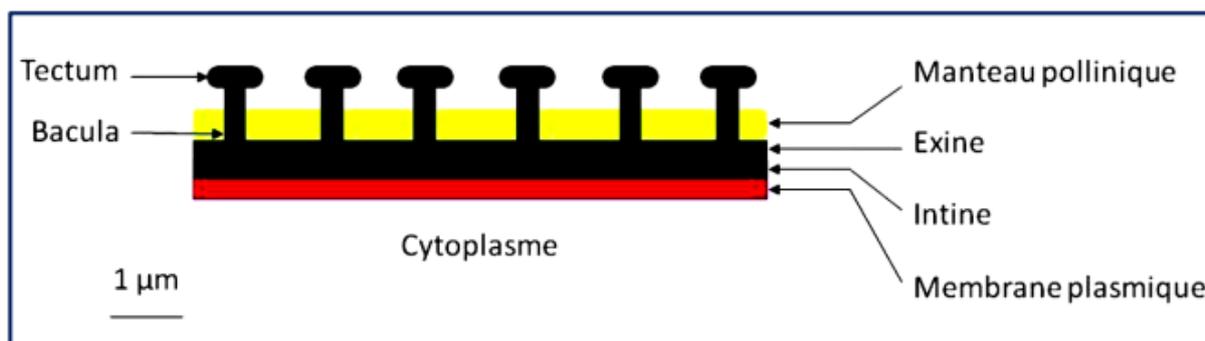


Figure 5 : Détail de la paroi du grain de pollen (Prieu, 2015).

2.6. Les ouvertures

Les grains de pollen sont pourvus ou non d'ouvertures : ce sont des ouvertures dans l'exine par où sort le tube pollinique au moment de la germination. Ces ouvertures permettent également la régulation du volume des grains de pollen en fonction de l'humidité ambiante, ainsi que les échanges avec l'extérieur (échanges hydriques et respiration notamment ; Heslop-Harrison, 1979 ; Edlund et al., 2004). Quand les ouvertures sont arrondies, ce sont des pores, quand elles sont allongées, ce sont des sillons ou colpi. Ces ouvertures sont situées au pôle quand le grain n'a qu'un seul pore ou qu'un seul sillon, elles sont sur toute la surface du grain quand celui-ci est polyporé ou polycolpé. Dans la majorité des cas, les ouvertures sont régulièrement réparties au niveau de l'équateur et sont au nombre de trois. Le type d'ouverture le plus courant est la superposition d'un sillon et d'un pore : le pollen est colpore (Charpin, 1986 ; Alhamidi, 2017).

Les microspores peuvent être divisées en groupes selon le nombre, la position et le type d'ouvertures. Cette classification est simple et cohérente. Le nombre d'ouvertures est indiqué par les préfixes mono-, di-, tri- tétra-, penta-, hexa- et poly- avec les termes ci-dessus porate, colpate ou colpore. Habituellement, trois pores et / ou colpi sont présents qui sont régulièrement espacés autour du bord ou de l'équateur du grain de pollen. Si plus de trois ouvertures sont présentes, elles peuvent être soit régulièrement espacées autour du bord, respectivement de l'équateur (zonoporate/zonocolpate), soit sur toute la surface (pantoporate/pantocolpate) (Hoen, 2003). La figure 6 ci-dessous illustre une partie de la diversité des ouvertures observées chez les Angiospermes. Nous voyons que le nombre, la forme, mais aussi la disposition des ouvertures sont variables : par exemple, chez les espèces tricolpées (figure 6 D), tricolporées (figure 6 E) et polycolporées (figure 6 F), les ouvertures sont équatoriales (non

visible sur des pollens isolés, mais visible dans la tétrade), tandis qu'elles sont réparties sur toute la surface du grain de pollen chez les espèces pantocolpées et pantoporées (figure 6 G et 6H) (Prieu, 2015).

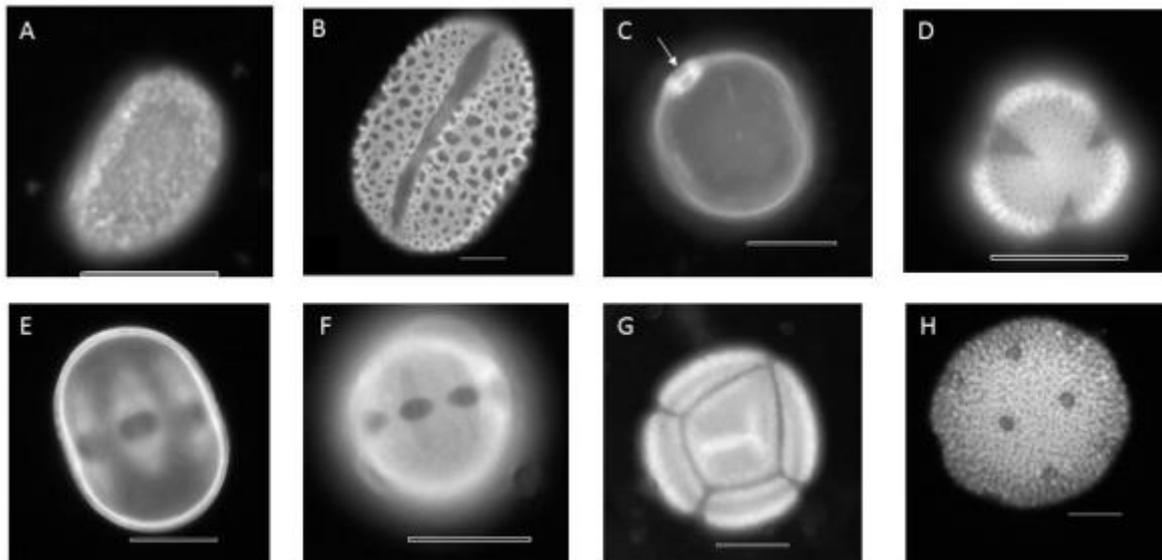


Figure 6 : Diversité des types aperturaux chez les Angiospermes

A : pollen inaperturé, B : pollen monosulqué, C : pollen monoporé, D : pollen tricolpé ; E : pollen tricolporé, F : pollen polycolporé ; G : pollen pantocolpé, H : pollen pantoporé (très réduites en diamètre), Barre d'échelle : 10 μm . (Prieu, 2015).

3. La reproduction chez les Angiospermes

Les Angiospermes présentent le système reproductif le plus évolué des végétaux. Ils ont deux modalités de reproduction : la reproduction sexuée et la reproduction asexuée ou multiplication végétative. La majorité des espèces est à reproduction sexuée, avec quelques cas de parthénogenèse (Bernard et al., 2004).

La reproduction sexuée chez les Angiospermes est permise par le déplacement passif du gamétophyte mâle (grain de pollen) qui est déposé sur le stigmate, sa germination permet ensuite la fécondation du gamétophyte femelle (sac embryonnaire) situé dans l'ovule, lui-même situé dans un ovaire (Potts, 2016). La graine qui dérive de l'ovule fécondé (l'ovaire donnant le fruit) permettra la dissémination de l'espèce et subira une germination (= libération et début de croissance d'une jeune plantule).

3.1. La pollinisation

La pollinisation constitue le mode de reproduction des espèces de plantes à fleurs, et désigne ainsi le processus par lequel le pollen est déplacé depuis les anthères jusqu'aux stigmates des fleurs afin de permettre la fertilisation et la reproduction (Potts, 2016). Il existe deux types de pollinisation :

- L'autopollinisation correspond à la pollinisation entre deux organes reproducteurs d'une même plante (cas d'une fleur hermaphrodite et de plantes monoïques) (Bousmid, 2019).

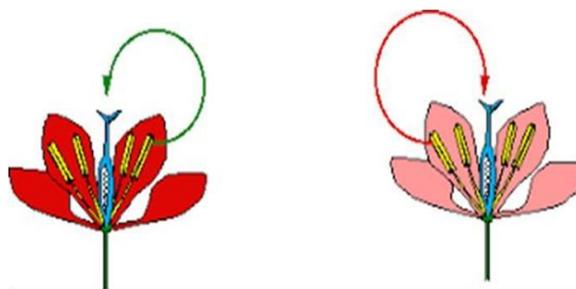


Figure 7 : Schéma représentant le principe de l'autopollinisation (Raven et al., 2007).

- La pollinisation croisée (allopollinisation), quant à elle, correspond au transfert de pollen de l'anthère d'une plante au stigmate d'une autre plante. Dans ce cas, le transfert de pollen nécessite l'intervention d'un vecteur (Bousmid, 2019). En fonction de ces vecteurs, il existe trois modes de pollinisation.

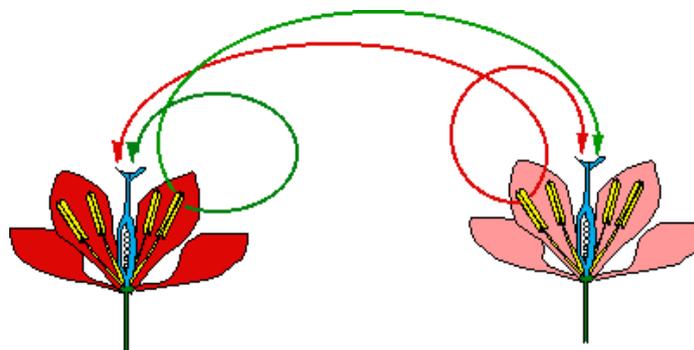


Figure 8 : Schéma représentant le principe de la pollinisation croisée (Raven et al., 2007).

Le plus courant est la zoogamie, qui désigne le transport du pollen par les animaux. En effet, 80 % des espèces de plantes à fleurs sont pollinisées par des animaux (Potts et al., 2016), majoritairement par des insectes qui sont très nombreux à jouer un rôle dans la pollinisation (Demers, 2013). L'anémogamie et l'hydrogamie, qui correspondent respectivement au transport du pollen par le vent et par l'eau, constituent les deux autres modes de pollinisation (Beyou et al., 2016).

3.2. La fécondation

La fécondation est l'étape qui suit immédiatement la pollinisation. Elle est nécessaire pour l'obtention ultérieure des fruits. La fleur des Angiospermes est, dans la plupart des cas, hermaphrodites. C'est-à-dire qu'elle réunit l'organe mâle (les étamines qui portent le pollen) et l'organe femelle (le pistil et ses stigmates qui captent le pollen ainsi que le carpelle qui contient les ovules) (Martin, 2020).

Il existe principalement deux hypothèses de fécondation :

- La fleur est fécondable par son propre pollen ou par le pollen d'une autre fleur. C'est l'autopollinisation, et la plante est dite auto-fécondable, autofertile, autogame (Bousmid, 2019).
- La fleur n'est pas fécondable par son propre pollen à cause d'une auto-incompatibilité d'ordre génétique ou physiologique et la plante est dite autostérile, allogame (Bousmid, 2019).

Lorsqu'un grain de pollen se dépose sur la partie terminale du pistil, le stigmate, il germe et forme un long tube pollinique dans lequel se forment deux gamètes mâles. Quand l'extrémité du tube pollinique arrive au contact de l'ovule, les gamètes mâles pénètrent à l'intérieur, pour atteindre le sac embryonnaire, gamétophyte femelle contenant huit cellules (noyaux), dont l'une est l'oosphère (gamète femelle, homologue de l'ovule des animaux) (Cheung, 1995). L'ensemble des étapes ont lieu uniquement dans le cas de pollinisations compatibles. Dans le cas de pollinisations incompatibles, différents mécanismes empêchent le développement du pollen afin d'éviter l'autofécondation ou le développement de pollen d'espèce différente par exemple.

Le mécanisme de reproduction chez les plantes supérieures (plantes à fleurs) est singulier, puisqu'il fait appel à la double fécondation pour donner naissance à la graine. En effet, une fois le grain de pollen posé sur son stigmate, un tube pollinique va germer afin d'acheminer ses deux noyaux dans le sac embryonnaire. L'un d'eux fécondera l'oosphère et

donnera l'embryon. L'autre fusionnera avec les noyaux libres restant pour donner l'albumen (Martin, 2020), qui servira de réserves nutritives pour le développement de l'embryon (Bondallaz et al., 2021).

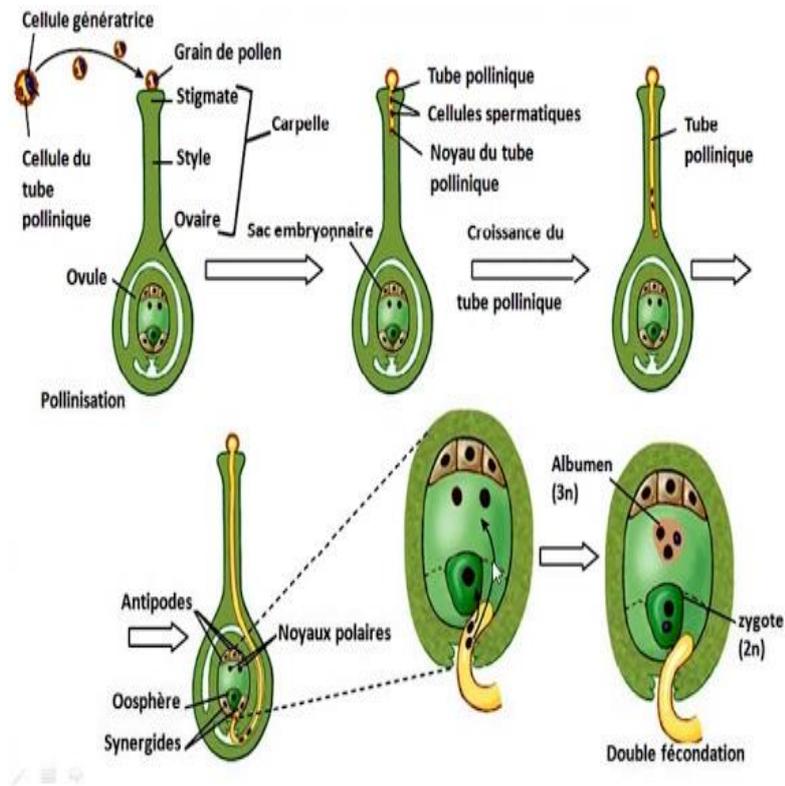


Figure 9 : La reproduction chez les plantes à fleurs et la double fécondation (Dumas, 2000).

4. Conservation

La conservation du pollen est indispensable à la bonne exécution des programmes d'amélioration génétique. Elle rend possible l'autofécondation et permet par ailleurs de croiser des arbres qui ne fleurissent pas au même moment ou qui sont éloignés les uns des autres (Bénard, 1973).

4.1. Séchage

La teneur en eau du pollen varie avec le climat, le type de la fleur et de l'heure de sa récolte (Younsi et Lazizi, 2016). Le séchage du pollen est difficile car il faut non seulement sécher l'extérieur mais également l'intérieur des grains, qui n'est accessible que par les pores. Il ne peut pas être trop rapide car il faut laisser le temps à un équilibre hydrique de se mettre en place dans tout le pollen. Il faut entre 3.5 et 4.5 heures de séchage à des températures 42-45 C° pour faire perdre au pollen de 13 à 16 % d'eau (Younsi et Lazizi, 2016). Notons que durant le séchage, il faut éviter de dépasser une température de 48°C, car elle peut changer la constitution du pollen en détruisant certains composants (Philippe, 1988).

4.2. Congélation

Elle doit se faire à une température inférieure ou égale à 18C. Le pollen récolté devra être mis le plus rapidement possible en surgélation. Le pollen peut être recongelé (si la teneur en eau est en voisinage de 8%), car la congélation ne provoque aucun éclatement cellulaire, et aucune fuite de cytoplasme n'est observée lors de décongélation évitant ainsi la prolifération de germes (Younsi et Lazizi, 2016).

4.3. Stockage

Le stockage du pollen sec doit se faire dans un endroit sec et frais à l'abri de la lumière. Le pollen sec et propre se loge dans des seaux à miel, des sacs en matière plastique ou des estagnons. L'emballage sous vide est conseillé. Comme entre pot, un local sec et froid (en dessous de 15°C) est ainsi indiqué (Prost, 2005). Deux facteurs déterminants justifient le choix d'un procédé de conservation :

- la nature de l'échantillon collecté : graines, organes végétatifs (tubercules, greffons, etc.), pollen, plante entière.

- le mode de reproduction de la plante : végétative, sexuée par autogamie ou allogamie (Marchenay, 1987).

4.4. Viabilité du pollen

Mesurer la qualité du pollen est essentiel dans les processus de création variétale et de production de semences car les grains de pollen viables et fonctionnels sont essentiels à la production commerciale de semences à la reproduction sexuée des plantes, et au maintien de la diversité génétique (Harrison, 1992). Après leur libération des anthères, les grains de pollen restent vivants pendant un temps plus ou moins long selon les espèces.

Selon les espèces, les grains de pollen restent vivants pendant un temps plus au moins long après leur libération. On peut déterminer la qualité du pollen par des méthodes classiques, comme les techniques de coloration ou la germination du pollen *in vitro*, chacune ayant des inconvénients en termes de fiabilité, de vitesse d'analyse et de dépendance à l'espèce (Heidmann, 2016).

1. Matériels et méthodes :

1.1. Matériels de laboratoire

Le matériel utilisé dans cette étude est :

- Microscope optique (OPTIKA B-350) (Fig.10a),
- Loupe binoculaire (Fig.10b),
- Pince et aiguilles,
- Lame et lamelle,
- Colorant (bleu de coton).

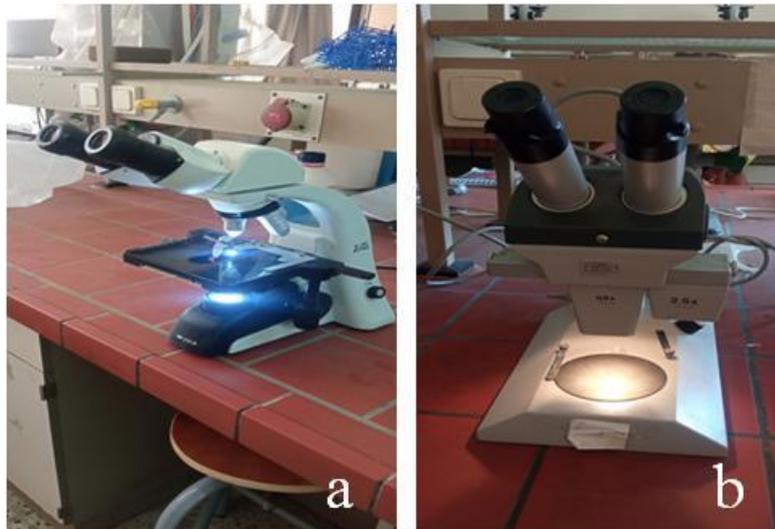


Fig. 10 : photographies du matériel utilisé. a : Microscope optique (OPTIKA B-350),
b : Loupe binoculaire. (Laboratoire de pédologie).

1.2. Lieu de travail effectué

Notre travail a été effectué au niveau des laboratoires pédagogiques de Pédologie et Biologie et Physiologie Végétale de la Faculté SNV à l'Université Abderrahmane Mira de Bejaïa.

1.3. Le matériel végétal

Cette étude porte sur deux espèces naturelles du clade des Fabides, une espèce parente nommée espèce B et une espèce hybride nommée espèce AB. L'échantillonnage a été effectué par Mme OURARI M. durant la période de floraison.

Le matériel végétal utilisé consiste en des fleurs matures récoltés au stade juste avant anthèse puis fixés et conservés dans des flacons en verre fumé contenant du Carnoy à 4 °C au réfrigérateur.

L'étude a porté sur 15 fleurs de l'espèce B et 7 fleurs de l'espèce AB.

1.4. Méthode d'étude

Les espèces échantillonnées ont fait l'objet d'une analyse du taux de viabilité pollinique, de la production de pollen, et d'une mesure de la taille du pollen.

Pour ce faire, nous avons procédé comme suit :

- Fixation et conservation

Les fleurs matures au stade avant anthèse sont fixées *in situ* dans du Carnoy. Le fixateur permet de figer tous les constituants cellulaires sans les altérer. La solution fixatrice est composée de 60% d'éthanol, 30% de chloroforme et 10% d'acide acétique. Le matériel végétal est conservé dans le fixateur jusqu'à utilisation.

- La coloration

Pour déterminer le taux de viabilité pollinique, nous avons suivi le Protocole de Mertens et Hammersmith (1998) qui consiste en une coloration au bleu de coton dans le lactophénol.

Sous une loupe binoculaire, les anthères sont déposés sur une lame porte objet, dans une goutte d'eau, puis disséqués à l'aide d'une aiguille fine, afin de libérer les grains de pollen. Ces derniers sont ensuite colorés dans une goutte de bleu de coton dans le lactophénol (Fig. 11).

L'observation au microscope optique s'effectue après une durée de 30 minutes, au grossissement x10.

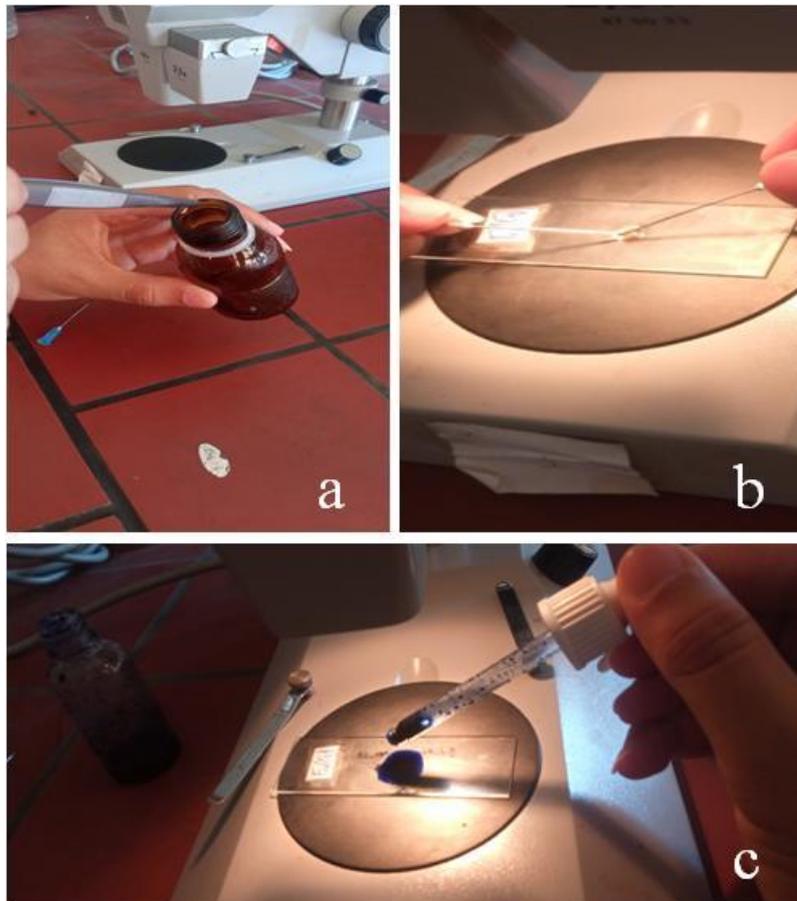


Fig. 11 : Technique de coloration des grains de pollen. a: choix d'une fleur mature, b : dissection des anthères, c : coloration au bleu de coton dans le lactophénol.

- Observation et dénombrement des grains de pollen

Le pollen ainsi préparé est observé au microscope optique d'abord au grossissement (x 3.4) puis au grossissement (x10).

Après une première inspection générale pour vérifier la lisibilité de la lame, le comptage commence au niveau de l'extrémité gauche ou droite de la lame, en suivant un chemin vertical du haut jusqu'en bas de la lamelle pour déterminer le nombre total des grains de pollen.

Le pollen est jugé viable (fertile) si son apparence est normale à savoir bien colorée et avec ouvertures, et non viable (stérile) si au contraire il est peu coloré (claire par rapport au fertile) ou complètement non coloré.

Les grains de pollen sont ensuite photographiés avec un téléphone portable qui possède une caméra à résolution 13 mégapixels (chaque étamine est prise en photo dans plusieurs zones jusqu'à atteindre 100 grains de pollens au minimum).

Le taux de viabilité pollinique est calculé selon l'équation suivante :

$$TV = (V/V+NV) * 100$$

TV : Taux de viabilité pollinique

V : Nombre de grains de pollen viable

NV : Nombre de grains de pollen non viable

- Détermination de la taille des grains de pollen

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

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

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

- Analyse statistique

Les résultats quantitatifs obtenus sont analysés à l'aide des logiciels statistiques (XLstat 2014, Statistica version 13.2, R version 3.6.2 (2019-12-12)).

Les tests statistiques utilisés sont :

- Tests d'association pour variables nominales ou tests sur tableaux de contingences,
- Coefficient de variation,
- Analyse de la variance (ANOVA) et test de comparaisons multiples.

1. Résultats

Ce chapitre regroupe les résultats de l'étude du pollen de deux espèces : une espèce parente B et un hybride interspécifique AB du clade des Fabides.

Dans un premier lieu, l'analyse pollinique consiste à déterminer pour les deux espèces :

- La morphologie des grains de pollen ;
- La production de grains de pollen par étamine et par fleur ;
- La viabilité pollinique par étamine et par fleur ;
- Et enfin la taille (surface) des grains de pollen.

Dans un second lieu, une comparaison est faite entre le parent et l'hybride pour les différents paramètres analysés.

1.1. La morphologie du pollen

La morphologie du pollen est déterminée par simple observation au microscope optique des grains de pollen colorés au bleu de coton dans le lactophérol.

L'espèce parente B présente un pollen sous forme pyramidale triangulaire et tricolpé (Fig. 12 a).

L'espèce hybride AB présente un pollen sous deux formes : une forme pyramidale triangulaire et tricolpé (forme dominante) et une forme tétragonale bisphénoïde et tétracolpé (forme rare) (Fig. 12 b).

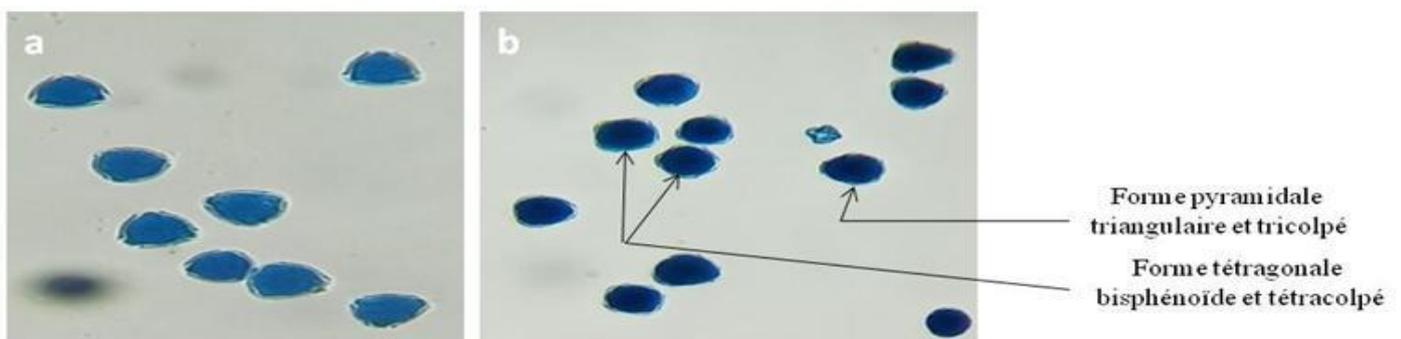


Fig. 12 : Forme des grains de pollen des deux espèces étudiées du clade des Fabides.

a: espèce parente B, forme pyramidale triangulaire et tricolpé ; b : espèce hybride AB, forme pyramidale triangulaire et tricolpé et forme tétragonale bisphénoïde et tétracolpé

1.2. Evaluation de la production de pollen

La production de pollen correspond au nombre total de grain de pollen (viable et non viable) produit par étamine ou par fleur.

Dans cette étude nous avons estimé la production de pollen chez les deux espèces : une parente B et une hybride AB. Afin d'évaluer la production inter fleur, la production est estimée pour 15 fleurs prises au hasard de l'espèce B et 7 fleurs également prises au hasard de l'espèce AB. Pour évaluer la variation intra fleur, la production de pollen est estimée pour 5 étamines de chaque fleur. Par la suite une comparaison est faite entre les deux espèces.

Les résultats obtenus sont représentés dans les figures **13-17**.

Au cours de cette analyse nous avons constaté que c'est l'espèce hybride AB qui produit plus de grains pollen par fleurs (étamine) par rapport à l'espèce parente B. en effet l'espèce hybride AB produit en moyenne 15346 grains de pollen/fleur (soit 3069,2 grains de pollen/étamine) contre 9730,40 grains de pollen/fleur (soit 1735,81 grains de pollen/étamine) produits par l'espèce parente B (**Tab. 1**).

Tableau 1 : Paramètres statistiques relatifs à l'étude de la production du pollen estimés pour les deux espèces étudiées du clade des Fabides. SD : Erreur standard, CV : Coefficient de variation.

Espèce		Nombre de grains de pollen produits			
		Minimum	Maximum	Moyenne \pm SD	CV(%)
B	Production par fleur	6750	17095	9730,40 \pm 2789,77	28,67
	Production par étamine	776	3547	1735,81 \pm 655,35	37,75
AB	Production par fleur	11117	20841	15346 \pm 3786,49	24,67
	Production par étamine	1118	5895	3069,2 \pm 948,62	30,91

L'analyse de la variance montre une différence hautement significative dans la production de pollen chez les deux espèces (**Tab.2, Fig.13**).

Tableau 2. Résultats de l’Anova réalisée sur la production de grains de pollen chez les deux espèces analysées du clade des Fabides. SS : Somme des carrés, DDL : degré de liberté, MS : Moyenne des carrés, F : rapport de Fisher, Pr : probabilité associée à F..

Source de variation	SS	DDL	MS	F	p
Production par fleur					
Intercept	271,3880	1	271,3880	271,3880	0,000000
Espèce	1,5233	1	1,5233	1,5233	0,231429
Error	20,0000	20	1,0000		
Production par étamine					
Intercept	826,2317	1	826,2317	826,2317	0,000000
Espèce	8,2161	1	8,2161	8,2161	0,004992
Error	108,0000	108	1,0000		

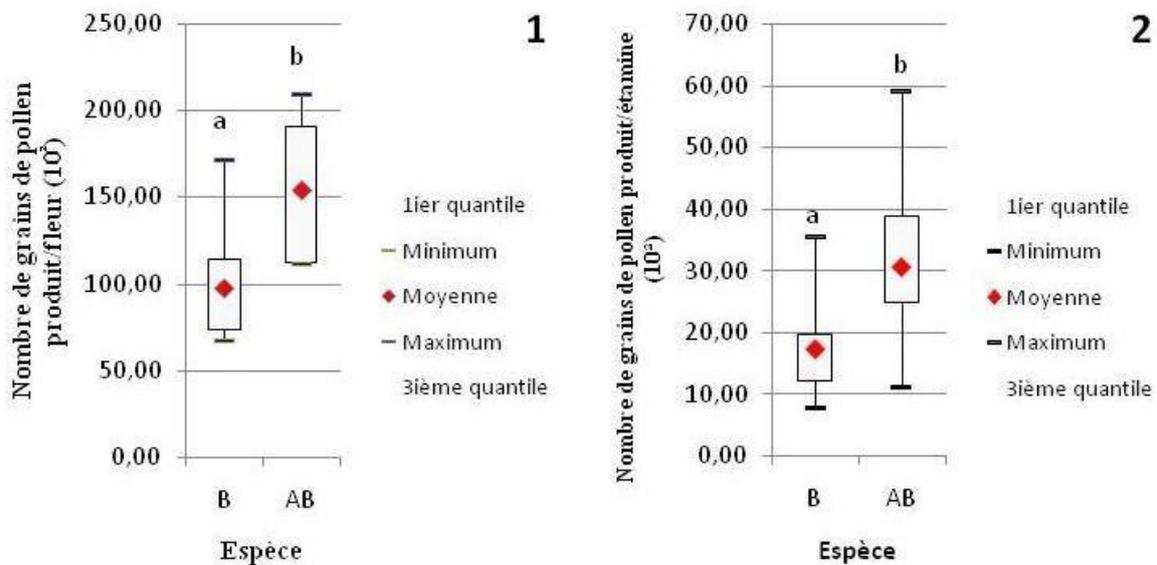


Fig. 13 : Variation de nombre de grains de pollen produit chez les deux espèces étudiées du clade des Fabides. 1 : nombre de grains de pollen produit par fleurs, 2 : nombre de grains de pollen produit par étamine, B : l’espèce parente, AB : l’espèce hybride Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test de Tukey (P = 0.05).

Au cours de cette étude, nous avons constaté que la production des grains de pollen par fleur est très hétérogène chez les deux espèces analysées (CV= 28,67 pour l'espèce B et CV=24,67 pour l'espèce AB) (**Tab.1**). Chez l'espèce parente B la production varie de 6750 grains de pollen pour la fleur 13 à 17095 grains de pollen pour la fleur 1(**Fig.14**). Les fleurs de l'espèce AB produisent de 11117 (fleur 3) à 20841 grains de pollen (fleur 1) (**Fig.15**)

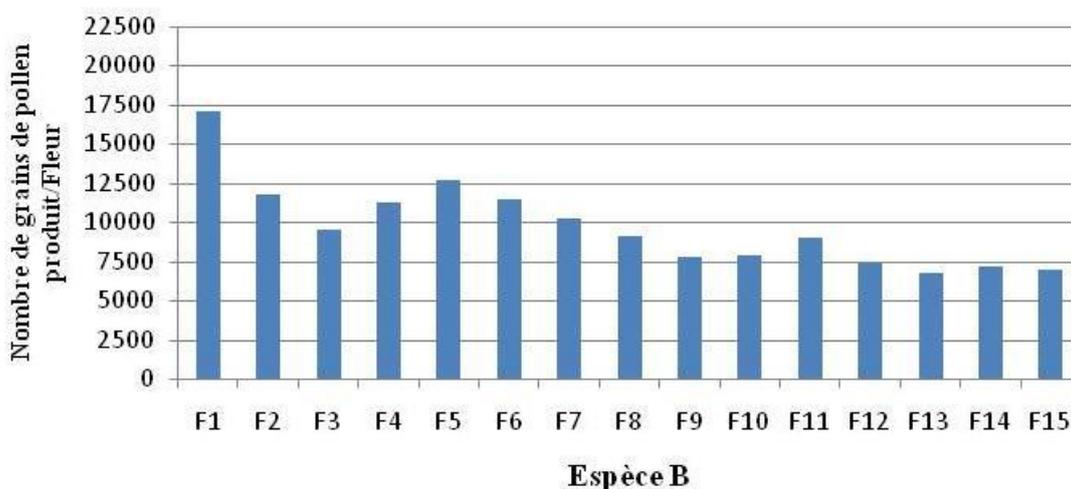


Fig.14 : Variation de nombre de grains de pollen produit par fleur chez l'espèce parente B du clade des Fabides.

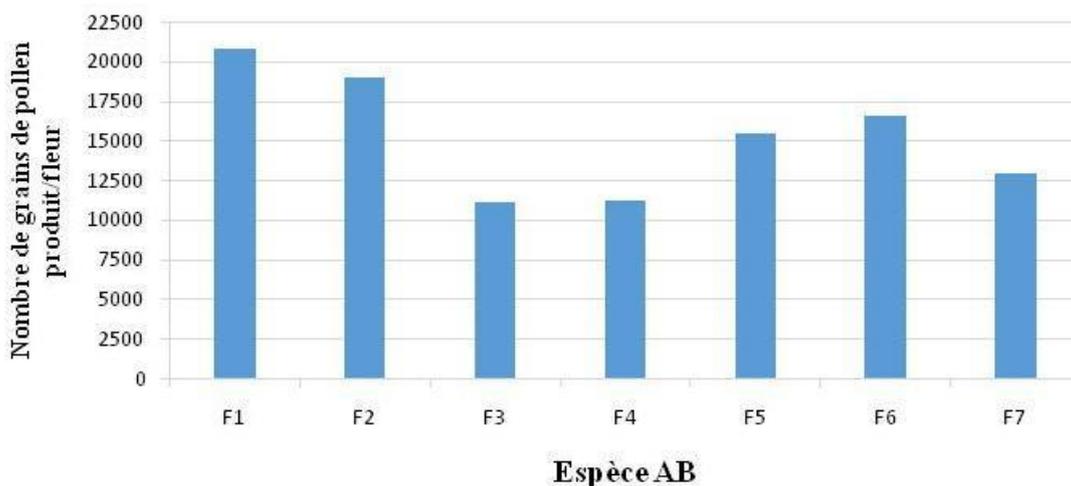


Fig.15 : Variation de nombre de grains de pollen produit par fleur chez l'espèce hybride AB du clade des Fabides.

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

Chez l'espèce parente B, au niveau de la fleur 7, la production varie de 1362 à 3063 grains de pollen/étamine. Par contre la fleur 14 produit entre 1309 et 1610 grains de pollen/étamine (**Fig.16**).

Le même constat est observé chez l'espèce hybride où la production par étamine varie de 3236 à 5895 au niveau de la fleur 1, et de 2113 à 2940 au niveau de la fleur 7 (**Fig.17**).

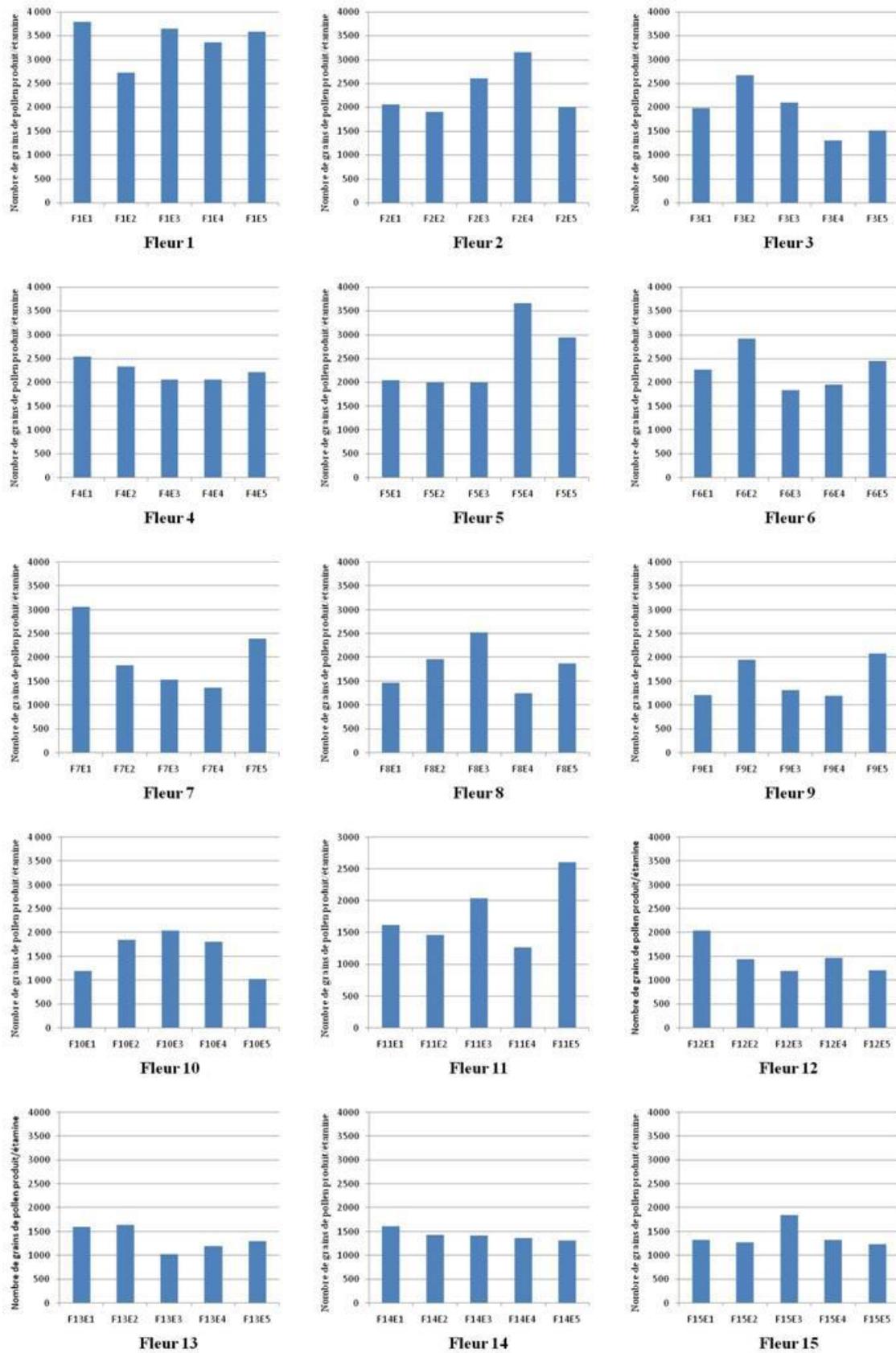


Fig. 16 : Variation de nombre de grains de pollen produit par étamine au niveau des 15 fleurs de l'espèce parente B du clade des Faboides.

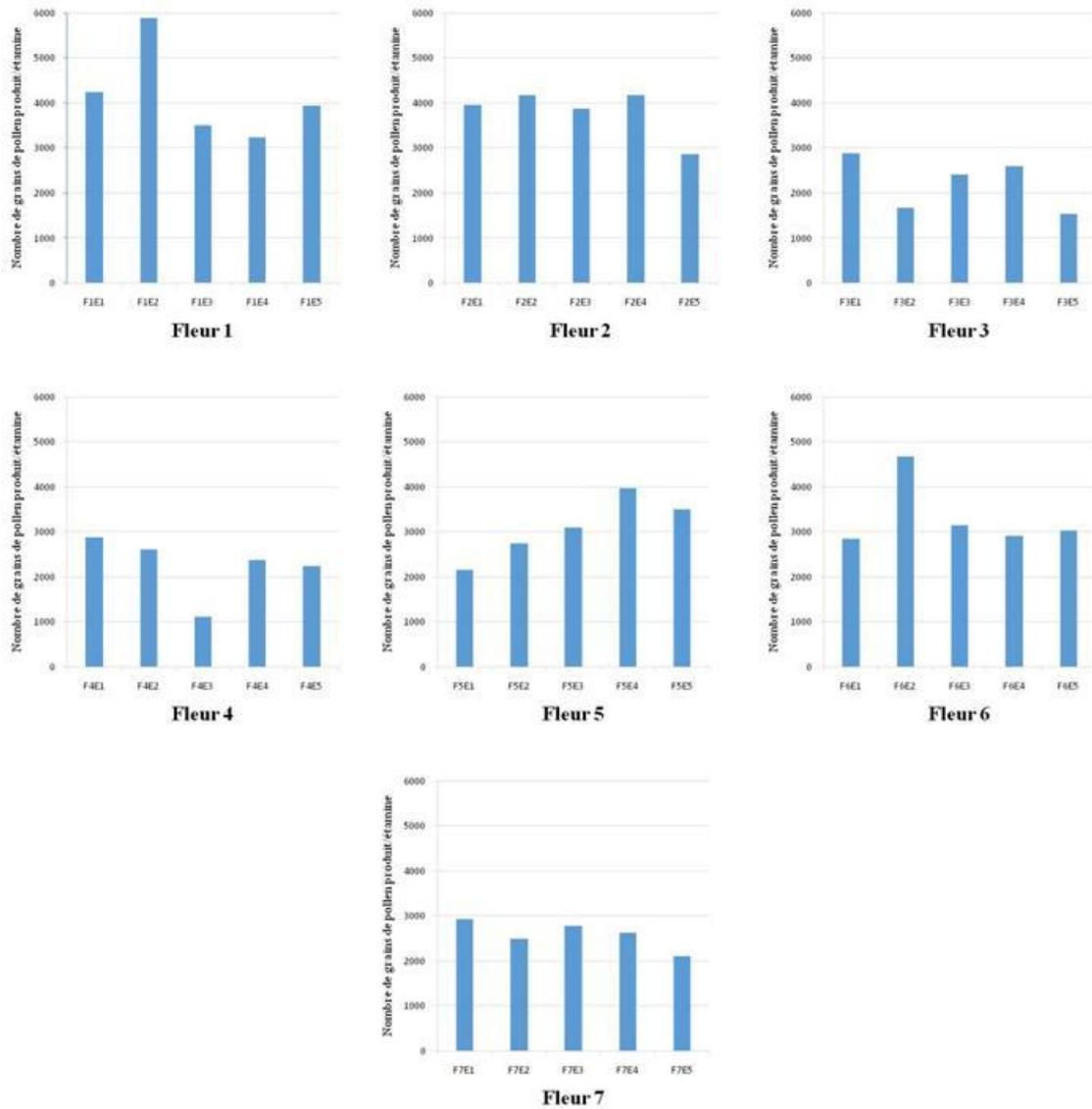


Fig. 17 : Variation de nombre de grains de pollen produit par étamine au niveau des 7 fleurs de l'espèce hybride AB du clade des Fabides.

1.3. Evaluation de la viabilité pollinique

La viabilité pollinique est exprimée en pourcentage, c'est le rapport du nombre de grains de pollen viables au nombre total de grains de pollen produits. Sont considérés viables tous les grains de pollen de forme régulière et bien coloré au bleu de coton. Les grains non viables sont de forme irrégulière, plasmolysés, non colorés au bleu de coton (**Fig.18**).

Le taux de viabilité pollinique est estimé pour 15 fleurs de l'espèce B et 07 fleurs de l'espèce AB à raison de 05 étamines par fleur. Les résultats obtenus sont reportés dans les figures **19 -23**.

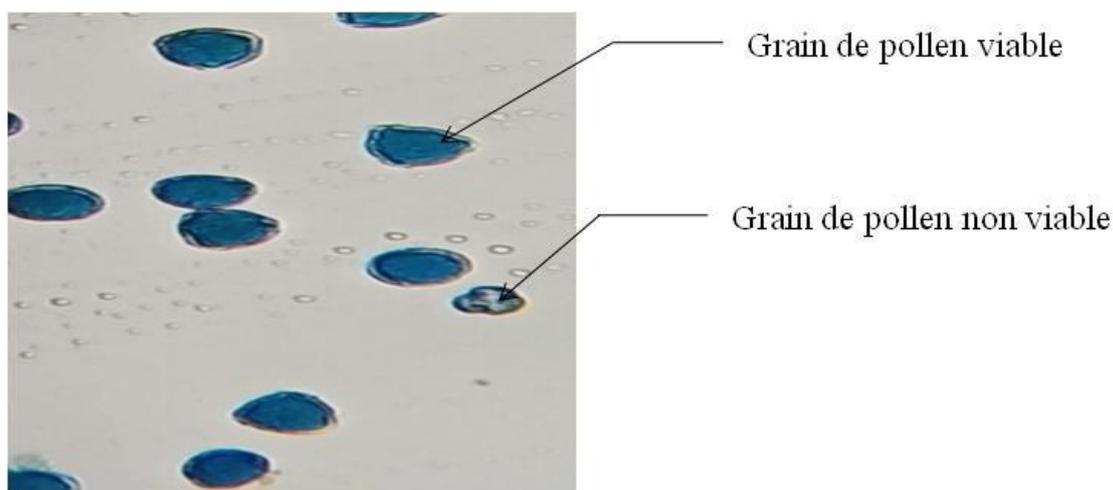


Fig. 18 : Photographie d'une préparation montrant des grains de pollen viable et non viable après coloration au bleu de coton.

Les espèces analysées montrent des taux de viabilité pollinique relativement élevés pour toutes les fleurs et toutes les étamines avec des coefficients de variation très faibles (de 3,28 à 7,17). Cependant c'est l'espèce hybride AB qui présente le taux moyen le plus élevé : $91,39 \pm 3,00\%$ par fleur (soit $91,48 \pm 5,68\%$ par étamine) contre $88,87 \pm 4,58\%$ par fleur (soit $88,81 \pm 6,37$ par étamine) chez l'espèce B (**Tab. 3**).

Tableau 3 : Paramètres statistiques relatifs à l'étude de la viabilité pollinique estimés pour les deux espèces étudiées du clade des Fabides. SD : Erreur standard, CV : Coefficient de variation.

Espèce		Taux de viabilité pollinique (%)			
		Minimum	Maximum	Moyenne \pm SD	CV(%)
B	Taux par fleur	76,98	93,83	88,87 \pm 4,58	5,15
	Taux par étamine	57,10	98,05	88,81 \pm 6,37	7,17
AB	Taux par fleur	86,54	95,10	91,39 \pm 3,00	3,28
	Taux par étamine	70,44	98,84	91,48 \pm 5,68	6,21

L'analyse de la variance montre une différence hautement significative dans les taux de viabilité pollinique chez les deux espèces (**Tab.4, Fig.19**).

Tableau 4 : Résultats de l'Anova réalisée sur la viabilité pollinique des deux espèces analysées du clade des Fabides. SS : Somme des carrés, DDL : degré de liberté, MS : Moyenne des carrés, F : rapport de Fisher, Pr : probabilité associée à F.

Source de variation	SS	DDL	MS	F	p
Viabilité par fleur					
Intercept	21545,9229	1	21545,9229	21545,9229	0,00
Espèce	111,5935925	1	111,5935925	111,5935925	0,00
Error		108	108	1	
Viabilité par étamine					
Intercept	11864,10825	1	11864,10825	11864,10825	0,00
Espèce	582,1931543	1	582,1931543	582,1931543	3,33067E-16
Error		20	20	1	

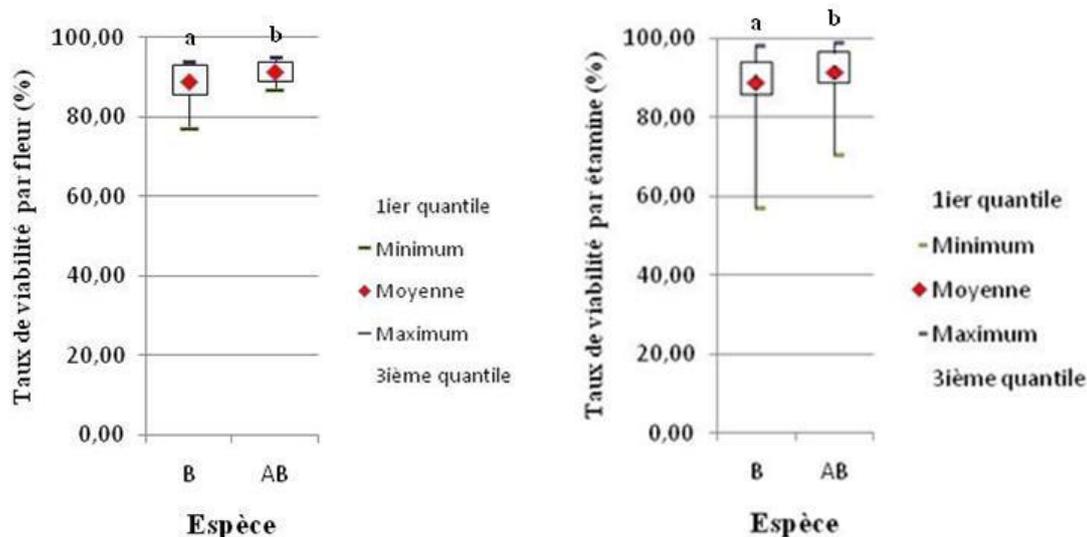


Fig. 19 : Variation du taux de viabilité pollinique chez les deux espèces étudiées du clade des Fabides. 1 : Taux de viabilité pollinique par fleurs, 2 : Taux de viabilité pollinique par étamine, B : l'espèce parente, AB : l'espèce hybride. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test de Tukey ($P = 0.05$).

L'analyse statistique montre des différences significatives dans les taux de viabilité pollinique chez les différentes fleurs analysées des deux espèces (Fig. R9 et R10).

Une variation significative est également observée pour les étamines d'une même fleur et cela pour les deux espèces B et AB (**Fig. 22 et 23**).

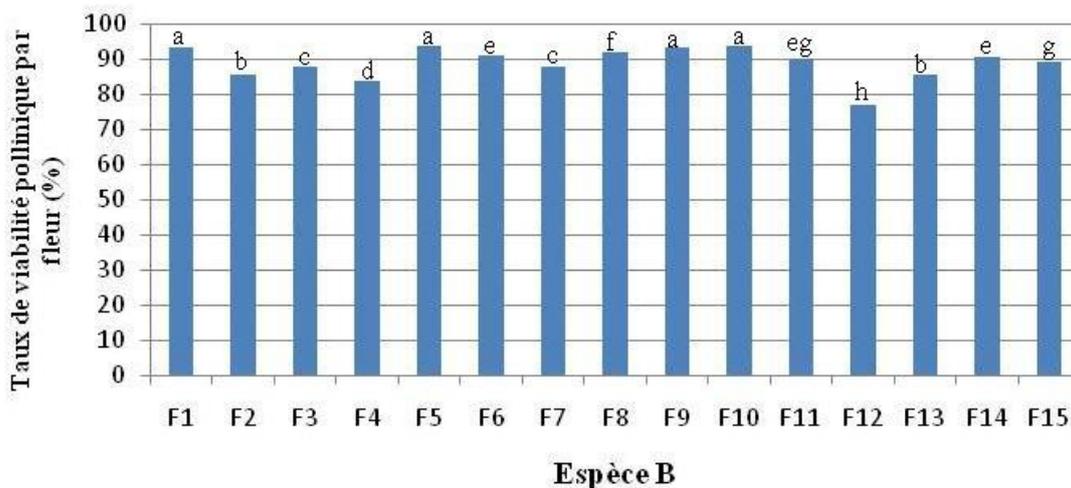


Fig. 20 : Variation du taux de viabilité pollinique par fleur chez l'espèce parente B du clade des Fabides. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test Exact de Fisher ($P = 0.05$).

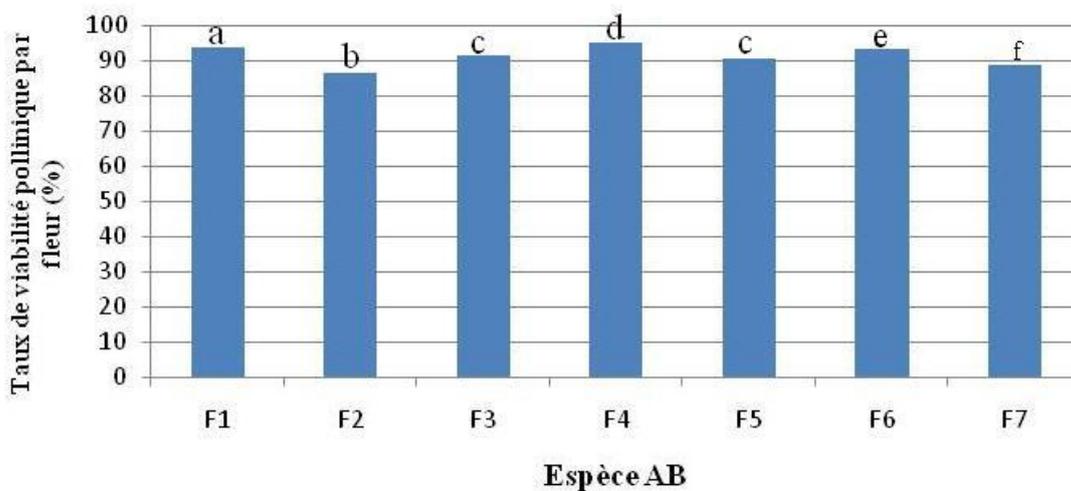


Fig. 21 : Variation du taux de viabilité pollinique par fleur chez l'espèce hybride AB du clade des Fabides. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test Exact de Fisher ($P = 0.05$).

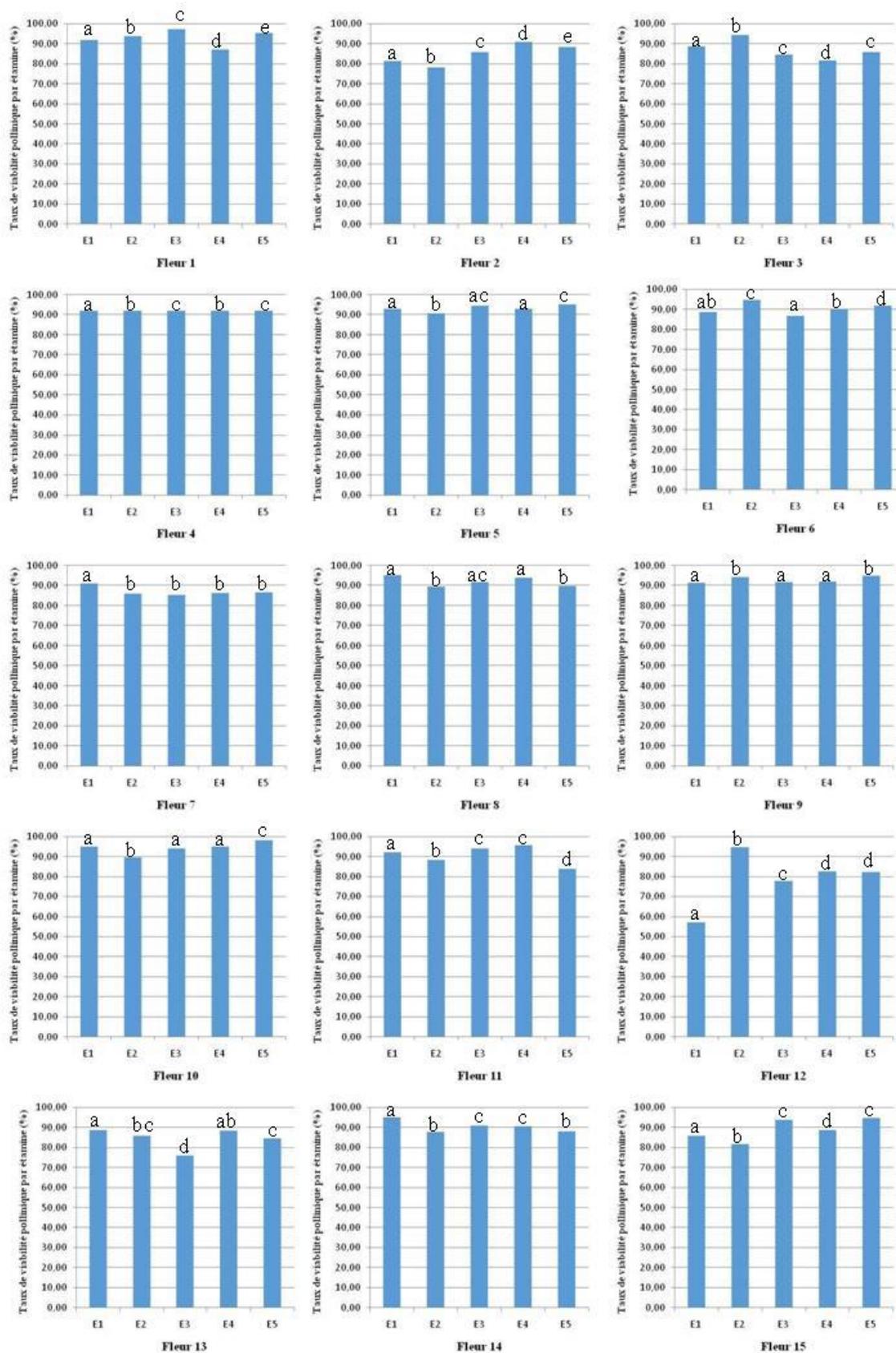


Fig. 22 : Variation du taux de viabilité pollinique par étamine au niveau des 15 fleurs de l'espèce parente B du clade des Fabides. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test Exact de Fisher ($P = 0.05$).

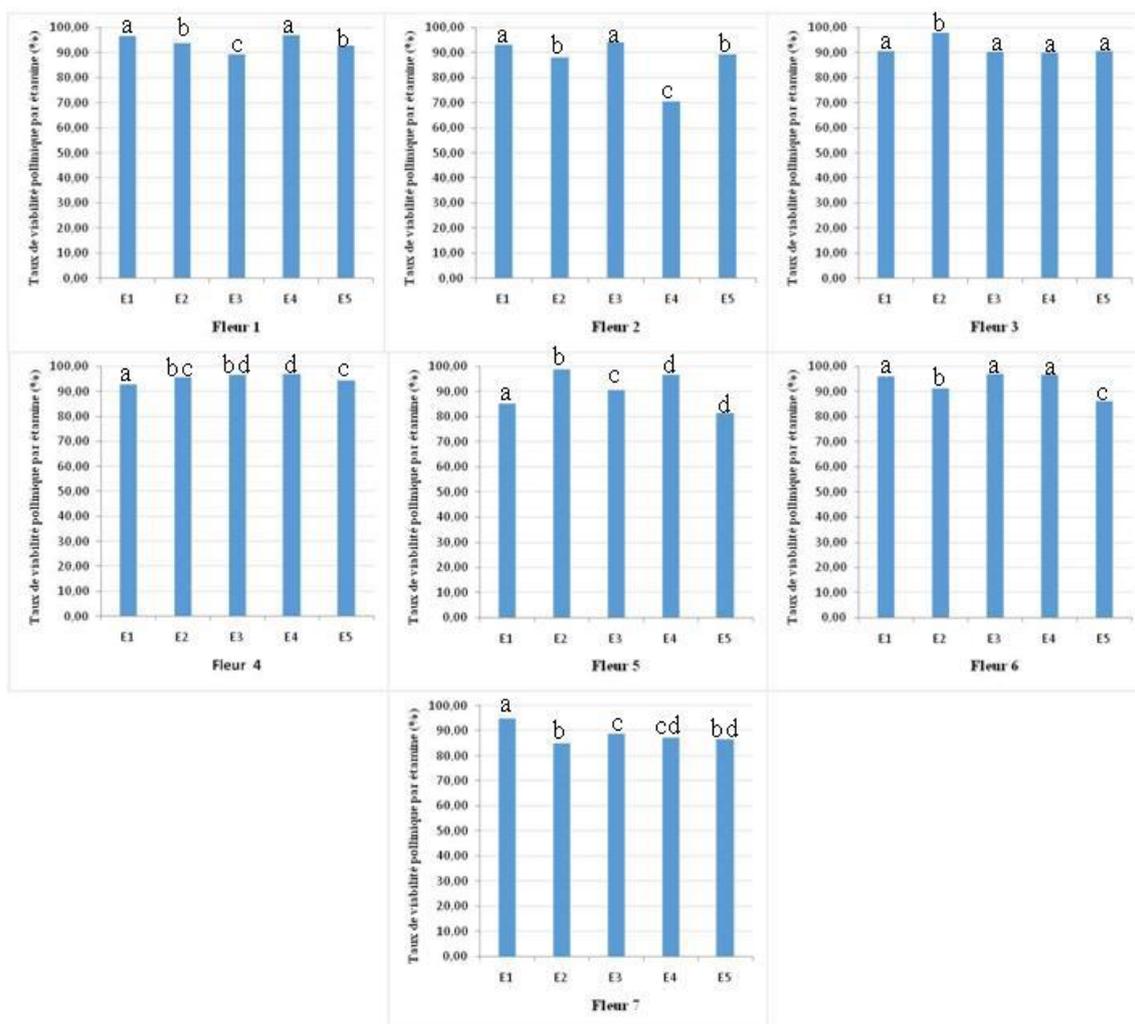


Fig. 23 : Variation du taux de viabilité pollinique par étamine au niveau des 7 fleurs de l’espèce hybride AB du clade des Fabides. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test Exact de Fisher (P = 0.05).

1.4. Evaluation de la taille des grains de pollen

Les mesures sont réalisées sur des photographies de grains de pollen viables à l'aide du logiciel ImageJ après élimination de tous les artefacts avec le logiciel Photoshop.

La taille d'environ 100 grains de pollen par étamine est estimée, les résultats pour chaque espèce, fleurs et étamine sont données dans les figures **24-28**.

Cette étude montre que c'est l'espèce hybride AB qui présente le pollen le plus gros. Sa taille varie de 265,54 μm^2 à 1675,03 μm^2 avec une moyenne de 691,74 μm^2 . La taille du pollen de l'espèce B varie de 218,28 μm^2 à 1145,44 μm^2 avec une moyenne de 527,96 μm^2 (**Tab. 4, Fig.24**). De plus l'espèce B présente un pollen de taille Homogène (CV= 16,76%), alors que l'espèce AB présente un pollen de taille hétérogène (CV= 21,67%).

Tableau 5 : Paramètres statistiques relatifs à l'étude de la taille des grains de pollen estimés pour les deux espèces étudiées du clade des Fabides. SD : Erreur standard, CV : Coefficient de variation.

Espèce	Taille des grains de pollen (μm^2)			
	Minimum	Maximum	Moyenne \pm SD	CV(%)
B	218,28	1145,44	527,96 \pm 88,47	16,76
AB	265,54	1675,03	691,74 \pm 149,98	21,67

L'analyse de la variance montre une différence hautement significative dans la taille des grains de pollen chez les deux espèces (**Tab. 6, Fig. 24**).

Tableau 6 : Résultats de l'Anova réalisée sur la taille des grains de pollen des deux espèces analysées du clade des Fabides. SS : Somme des carrés, DDL : degré de liberté, MS : Moyenne des carrés, F : rapport de Fisher, Pr : probabilité associée à F.

		Source de variation	SS	DDL	MS	F	p		
		Espèce B et AB							
Inter spécifique		Espèce	2511.2	2	1255.6	964.19	0,00		
		Error	20685.6	15885	1.3				
		Total corrigé	23196.8	15887					
		15 Fleurs							
Inter-fleurs	Espèce B	Fleur	6311,7	14	450,8	450,8	0,00		
		Error	8314,0	8314	1,0				
		Total corrigé	14625.7	8328					
		07 Fleurs							
Inter-fleurs	Espèce AB	Fleur	937,64	6	156,27	156,27	0,00		
		Error	3849,00	3849	1,00				
		Total corrigé	4786.64	3855					
		Fleur 1							
Intra-fleurs	Espèce AB	Etamine	135,88	4	33,97	33,97	0,00		
		Error	510,03	510	1,00				
		Total corrigé	645.91	514					
				Fleur 2					
		Etamine	49,38	4	12,35	12,34	0,000000		
		Error	517,03	517	1,00				
		Total corrigé	566.41	521					
				Fleur 3					
		Etamine	271,063	4	67,766	67,766	0,00		
		Error	504,000	504	1,000				
		Total corrigé	775.063	508					
				Fleur 4					
		Etamine	63,18	4	15,80	15,80	0,000000		
		Error	508,00	508	1,00				
		Total corrigé	571.18	512					
				Fleur 5					
		Etamine	709,15	4	177,29	177,29	0,00		
		Error	575,00	575	1,00				
		Total corrigé	1284.15	579					
				Fleur 6					
		Etamine	416,87	4	104,22	108,55	0,00		
Error	622,13	648	0,96						
Total corrigé	1039	652							
		Fleur 7							
Etamine	609,85	4	152,46	152,46	0,00				
Error	559,00	559	1,00						
Total corrigé	1168.85	563							

Tableau 6 : Résultats de l'Anova réalisée sur la taille des grains de pollen des deux espèces analysées du clade des Fabides. SS : Somme des carrés, DDL : degré de liberté, MS : Moyenne des carrés, F : rapport de Fisher, Pr : probabilité associée à F.

Source de variation		SS	DDL	MS	F	P	
Intra-fleurs	Espèce B	Fleur 1					
		Etamine	355,85	4	88,96	88,96	0,00
		Error	526,00	526	1,00		
		Total corrigé	881,85	530			
		Fleur 2					
		Etamine	302,20	4	75,55	75,55	0,00
		Error	534,00	534	1,00		
		Total corrigé	836,20	538			
		Fleur 3					
		Etamine	263,90	4	65,97	65,97	0,00
		Error	522,00	522	1,00		
		Total corrigé	785,90	526			
		Fleur 4					
		Etamine	846,63	4	211,66	211,66	0,00
		Error	545,00	545	1,00		
Total corrigé	1391,63	549					
Fleur 5							
Etamine	391,00	4	97,75	97,75	0,00		
Error	538,00	538	1,00				
Total corrigé	929	542					
Fleur 6							
Etamine	2041,43	4	510,36	510,36	0,00		
Error	556,00	556	1,00				
Total corrigé	2597,43	560					
Fleur 7							
Etamine	120,76	4	30,19	30,19	0,00		
Error	592,00	592	1,00				
Total corrigé	712,76	596					
Fleur 8							
Etamine	1318,72	4	329,68	329,68	0,00		
Error	646,00	646	1,00				
Total corrigé	1964,72	650					
Fleur 9							
Etamine	510,08	4	127,52	127,52	0,00		
Error	522,00	522	1,00				
Total corrigé	1032,08	526					
Fleur 10							
Etamine	296,63	4	74,16	74,16	0,00		
Error	620,00	620	1,00				
Total corrigé	916,63	624					
Fleur 11							
Etamine	730,06	4	182,52	182,52	0,00		
Error	549,00	549	1,00				
Total corrigé	1279,06	553					
Fleur 12							
Etamine	145,68	4	36,42	36,42	0,00		
Error	547,00	547	1,00				
Total corrigé	692,68	551					
Fleur 13							
Etamine	949,94	4	237,48	237,48	0,00		
Error	517,00	517	1,00				
Total corrigé	1466,94	521					
Fleur 14							
Etamine	1211,81	4	302,95	302,95	0,00		
Error	505,00	505	1,00				
Total corrigé	1716,81	509					
Fleur 15							
Etamine	1250,09	4	312,52	312,52	0,00		
Error	535,00	535	1,00				
Total corrigé	1785,09	539					

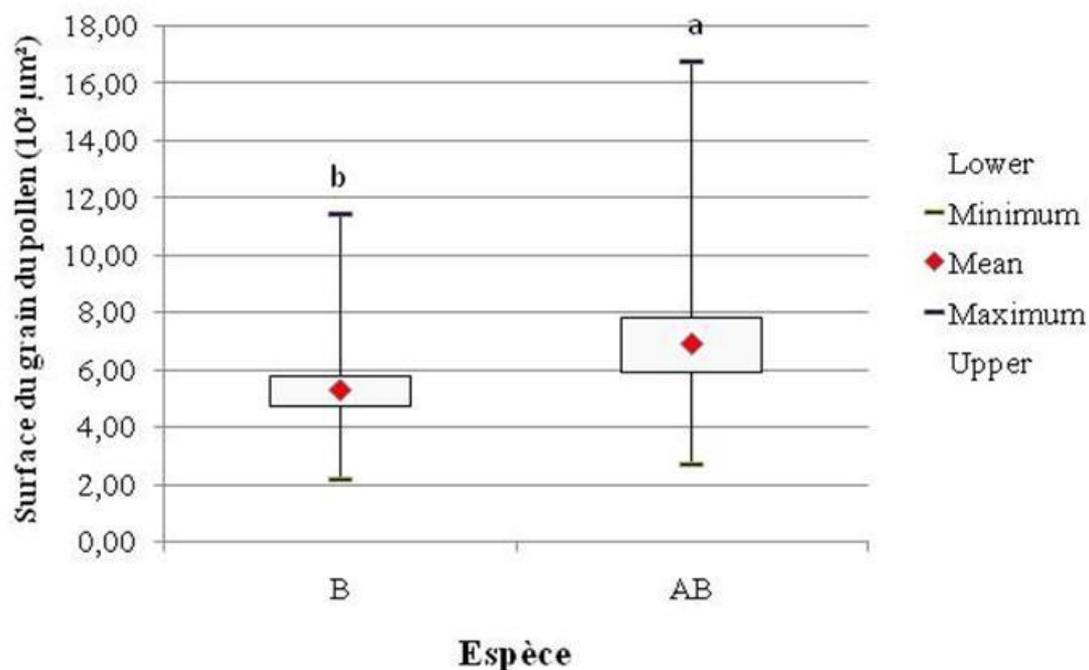


Fig. 24 : Variation de la surface cellulaire des grains de pollen chez les deux espèces étudiées du clade des Fabides. B : l'espèce parente, AB : l'espèce hybride. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test de Tukey ($P = 0.05$).

L'analyse statistique montre des différences significatives dans la taille des grains de pollen chez les différentes fleurs analysées des deux espèces (**Fig. 25 et 26**).

Une variation significative est également observée pour les étamines d'une même fleur et cela pour les deux espèces B et AB (**Fig. 27 et 28**).

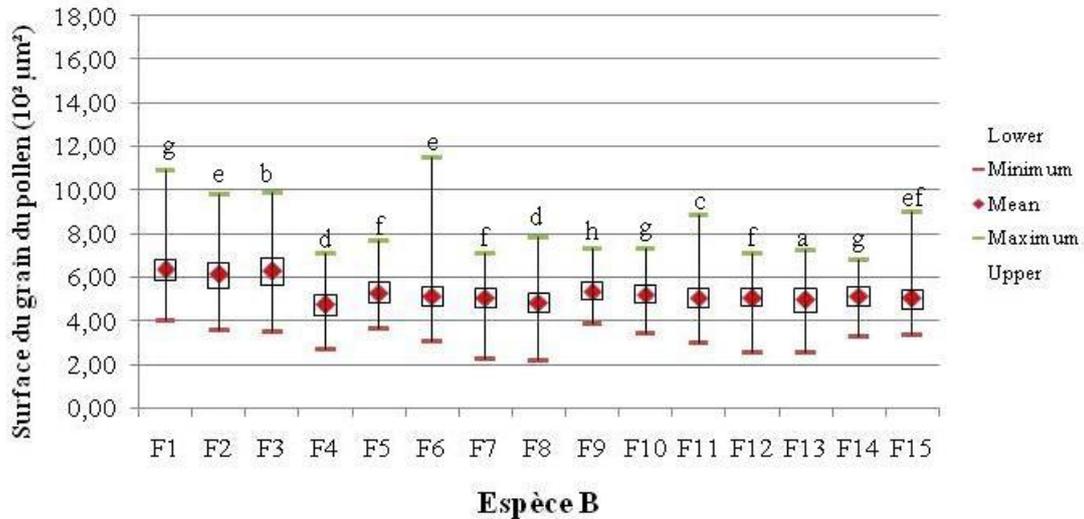


Fig. 25 : Variation de la surface cellulaire des grains de pollen par fleur chez l'espèce parente B du clade des Fabides. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test de Tukey (P = 0.05).

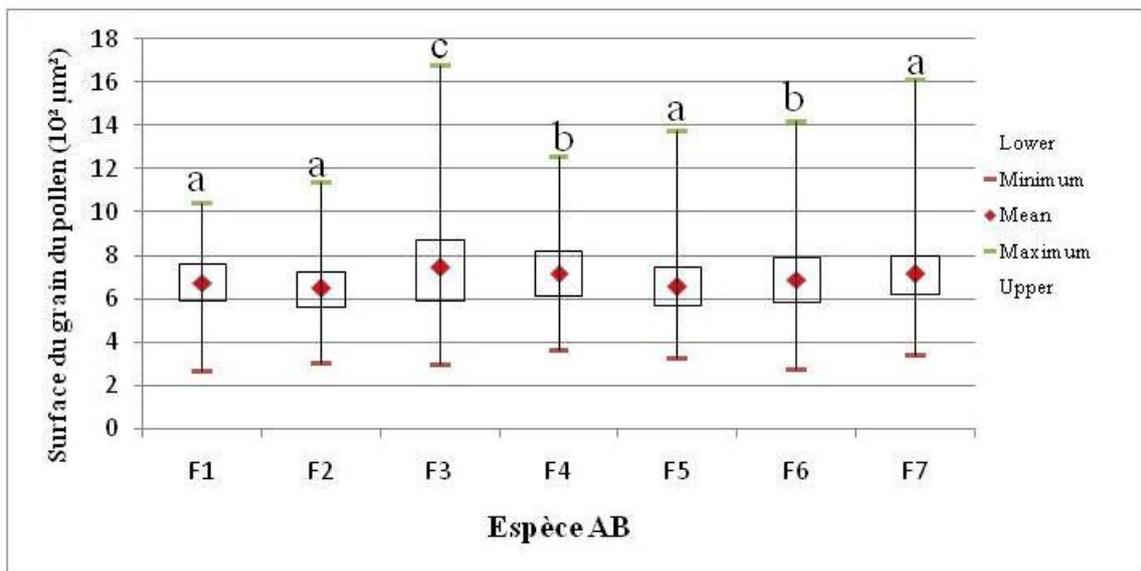


Fig. 26 : Variation de la surface cellulaire des grains de pollen par fleur chez l'espèce hybride AB du clade des Fabides. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test de Tukey (P = 0.05).

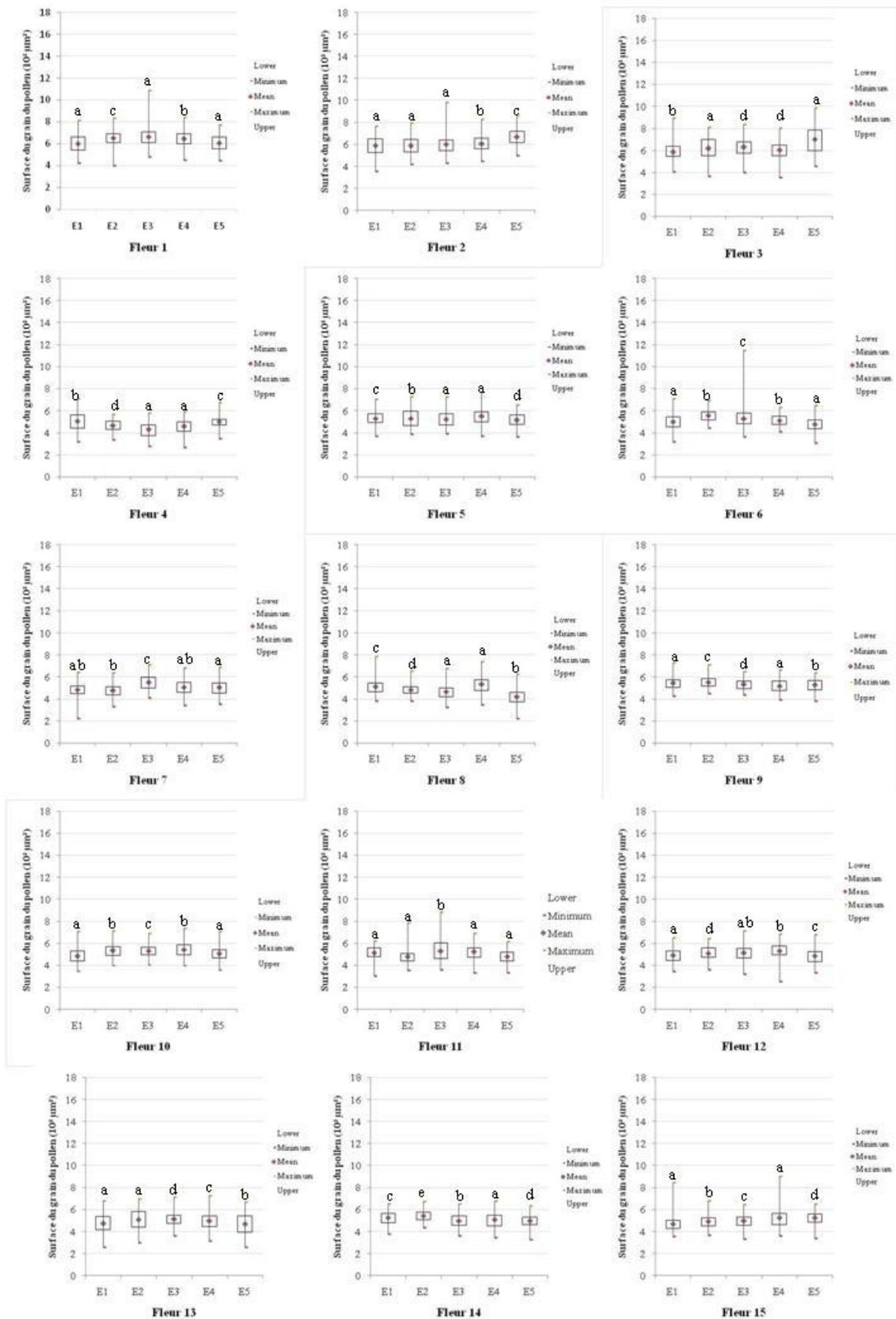


Fig. 27 : Variation de la surface cellulaire des grains de pollen par étamine au niveau des 15 fleurs de l'espèce parente B du clade des Fabides. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test de Tukey (P = 0.05)

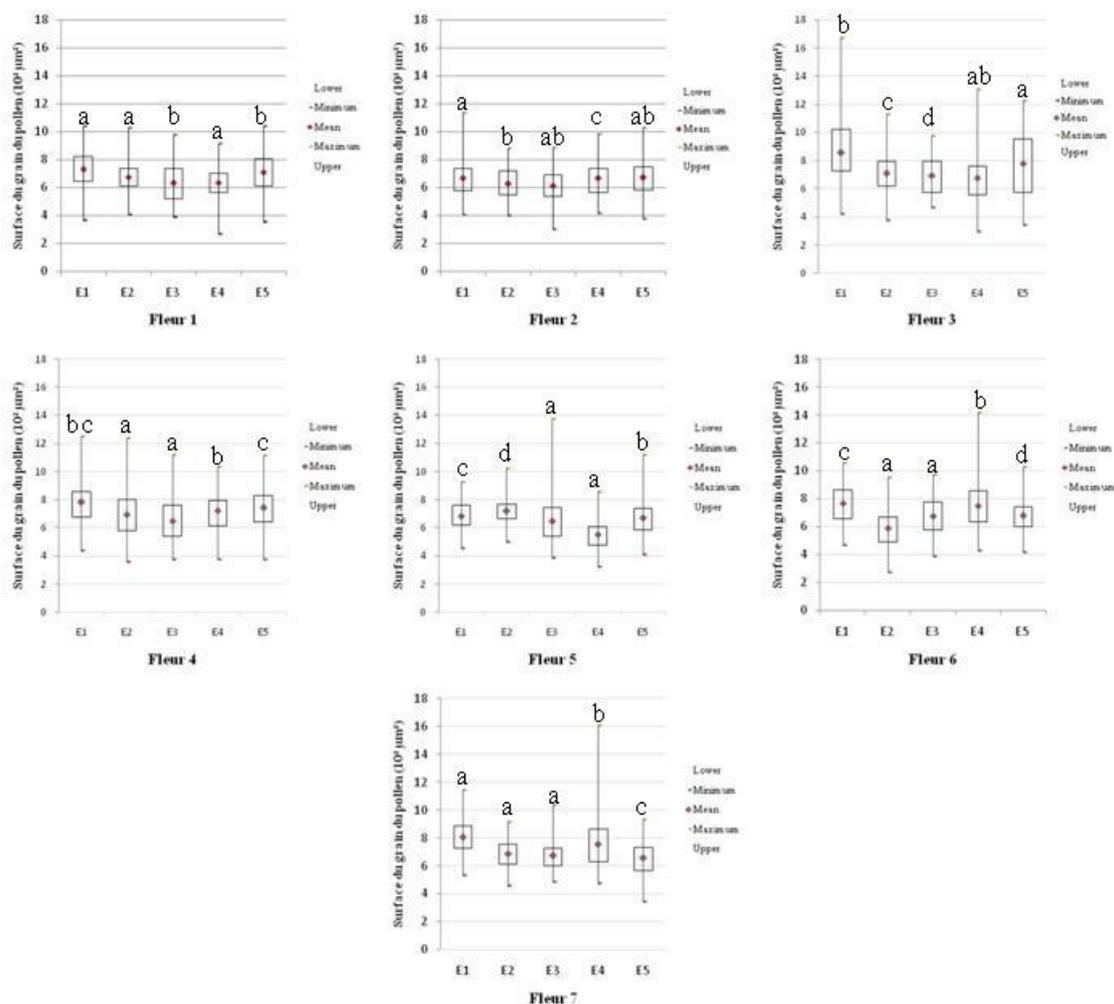


Fig. 28 : Variation de la surface cellulaire des grains de pollen par étamine au niveau des 07 fleurs de l'espèce hybride AB du clade des Fabides. Les différentes lettres en minuscules sur les barres montrent des résultats significativement différents tel que révélé par le Test de Tukey ($P = 0.05$)

2. Discussions

Le présent travail porte sur une étude du pollen de deux espèces : une espèce parente B et un hybride interspécifique AB du clade des Fabides. Nous nous sommes intéressés à l'analyse des aspects suivants :

- La morphologie des grains de pollen ;
- La production de grains de pollen par étamine et par fleur ;
- La viabilité pollinique par étamine et par fleur ;
- Et enfin la taille (surface) des grains de pollen.

L'espèce parente B présente un seul type de grains de pollen de forme pyramidale triangulaire et tricolpé alors que l'espèce hybride AB présente deux types morphologiques différents : un pollen pyramidale triangulaire et tricolpé (forme dominante) et une forme tétragonale bisphénoïde et tétracolpé (forme rare). La présence de ces deux formes chez l'espèce AB serait due à son origine hybride. La forme pyramidale triangulaire et tricolpé est hérité du parent B la second tétragonale bisphénoïde et tétracolpé serait hérité du parent A.

Nous avons constaté une certaine fluctuation dans les quantités de graines de pollen produites par fleur et par étamine et également dans les taux de viabilité pollinique chez les deux espèces avec une production et un taux de viabilité plus importants chez l'espèce AB. Ces résultats indiquent la méiose chez cet hybride est très régulière ce qui donne une grande quantité de pollen viable. Ce phénomène a été observé par Lesins et Lesins (1979) chez les trois espèces du genre *Medicago* : *M. truncatula*-*M. littoralis*- *M. tornata* où les trois espèces avec leurs hybrides forme un complexe interspécifique très fertile au point on arrive plus à retrouver les formes pures de ces trois espèces. Dans certaine condition l'hybride est mieux adapté à un mieux car il cumule le génome de deux espèces différentes ce qui le rend plus producteur et plus fertile (vigueur hybride) (Jahier et al, 1992, Gallais, 2009).

Concernant la taille des grains de pollen cette étude a révélé que l'espèce AB présente un pollen plus gros comparé au pollen de l'espèce B ce phénomène est appelé hétérosis et qui correspond à la supériorité de l'hybride par rapport au meilleur parent. Ce phénomène est très recherché en agriculture (Gallais, 2009). L'hétérogénéité de la taille du pollen a été observée chez d'autres espèces hybrides telles que le *Medicago truncatula* (Djafri-Bouallag et al, 2019).

CONCLUSION

Notre travail pratique a été effectué aux laboratoires de Pédologie et Biologie et Physiologie Végétales l'université A. Mira de Bejaïa.

L'étude porte sur l'analyse du pollen de deux espèces, une espèce parentale B, et une espèce hybride AB du clade des Fabides des Angiospermes. Afin d'évaluer la variabilité interspécifique, inter-fleur et intra-fleur, trois paramètres sont mesurés : la production de pollen, la viabilité du pollen et enfin la taille (surface cellulaire) du grain de pollen.

Après coloration au bleu de coton, les grains de pollen de l'espèce parente B présente une forme pyramidale triangulaire et tricolpé, par contre l'espèce hybride AB présente un pollen sous deux formes : une forme pyramidale triangulaire et tricolpé (forme dominante) et une forme tétragonale bisphénoïde et tétracolpé (forme rare).

L'espèce B produit en moyenne 9730,40 grains de pollen/fleur (soit 1735,81 grains de pollen/étamine) avec un taux de viabilité pollinique de $88,87 \pm 4,58\%$ par fleur (soit $88,81 \pm 6,37$ par étamine). Le pollen de cette espèce est homogène avec une surface cellulaire allant de $218,28 \mu\text{m}^2$ à $1145,44 \mu\text{m}^2$ avec une moyenne de $527,96 \mu\text{m}^2$.

L'espèce AB produit en moyenne 15346 grains de pollen/fleur (soit 3069,2 grains de pollen/étamine) avec un taux de viabilité pollinique de $91,39 \pm 3,00\%$ par fleur (soit $91,48 \pm 5,68\%$ par étamine). Le pollen de l'espèce hybride AB est hétérogène et sa taille varie de $265,54 \mu\text{m}^2$ à $1675,03 \mu\text{m}^2$ avec une moyenne de $691,74 \mu\text{m}^2$.

L'étude a révélé une différence significative entre l'espèce parente B et son hybride AB pour tous les paramètres analysés. L'hybride est beaucoup plus vigoureux et plus fertile (phénomène d'hétérosis).

L'étude a révélé une variation intra et inter fleur très importante pour les trois paramètres chez les deux espèces.

En perspective, il serait intéressant d'élargir l'étude au deuxième parent A tout en analysant les méioses des trois espèces.

Liste des références

A

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

B

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

Bénard G., 1973. Quelques aspects de la lyophilisation du pollen de cocotier, oléagineux, 28eme année, n° 10, 447-451 P.

Bernard A, 2004. Magnoliophyta - Définition et Explications, *Techno-Science.net*.

Beyou W, Darses O, Puydarrieux P, Lispinasse S.T, Hubert S, 2016. EFESE, Le service de pollinisation. Service de l'économie, de l'évaluation et de l'intégration du développement durable, 46 p.

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

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

C

Charpin J, 1986. Allergologie. 2^{ème} Ed, *paris Flammarion médecine France*, 1034p.

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

D

Demers I., 2013. État des connaissances sur le pollen et les allergies : les assises pour une gestion efficace, institut national de santé république Québec, 111 P.

Djafri-Bouallag L., Ourari M., Sahnoune M. 2019: A cytogenetic and pollen study of annual *Medicago* species from Soummam Valley (Northeastern of Algeria). *Acta Bot. Croat.* 78 (1), 82–90.

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

Dumas V. R, 2000.Pollen. In technique de cytogénétique végétale. *Ed : INRA*, Paris, 119 p.

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

E

Edlund A.F., Swanson R., Preuss D., 2004. Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination. *The Plant Cell*, Vol. 16, 97p.

Erdtman G, 1952. Pollen morphology and plant taxonomy : Angiosperms (an introduction to palynology). *Ed : Almqvist and Wiksell*, Stockholm, 539p.

F

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

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

G

Gallais, A. 2009 : Hétérosis et variétés hybrides en amélioration des plantes. *Ed. Quæ*, Paris, 353 p.

H

Harrison J.S., 1992. Techniques cytologiques pour évaluer la qualité du pollen. Dans: *Reproduction sexuée des plantes: Springer Berlin, Heidelberg.* 41–48 p.

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

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

Hoën P, 2003. Types of apertures in microspores, Laboratory of Palaeobotany and Palynology, Universität Utrecht, 7 P.

J

Jabrani R, Oulmene Y, 2016. Caractérisation de deux types de pollen de trappe « mono et multi floral » de la région de Tizi-Ouzou et essai de formulation d'un yaourt diététique à base de pollen, *mémoire master*, Génie des Procédés, Université M'hamed Bougara Boumerdes, 81p.

Jahier J., Chèvre A.M., Eber F., Delourme R., Tanguy A.M., 1992 : Techniques de cytogénétique végétale. *Ed. INRA.*, Paris, 181p.

K

Kenneth R, 1972. "Quelques observations sur l'évolution des types de pollen dans les dicotylédones », *Nouveau phytologue*, doi :10.1111 / j.1469-8137. 1972.tb04826.x ,185p.

L

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

Lesins K., Lesins I., 1979: Genus *Medicago* (Leguminosae). A taxogenetic study. Dr. W. Junk bv Publishers. The Hague Boston London.

M

Marchenay P., Lagarde M.F, Cauderon A., Mangenot F., 1987. A la recherche des variétés locales de plantes cultivées, concours financier de l'Etat et de la région Provence - Alpes - Côte d'Azur, 215p.

Martin C, 2020. Fleurs d'Angiospermes, École normale supérieure de Lyon, Institut français de l'Éducation.

Millet B, 1998. Biologie et physiologie de la plante. Ed : *Lavoisier*, Paris, 2264p.

N

Nicolson S.W, 2011. Bee food: the chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two. *African zoology*. 204p.

P

Philippe J.M., 1988. Le guide de l'apiculture. *Edi sud.* Paris. 272 p.

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

Potts S.G, Fonseca V, Hien T, Biesmeijer j.c, Hill, Garibaldi A.L, 2016. Rapport d'évaluation sur les pollinisateurs, la pollinisation et la production alimentaire, La Plateforme intergouvernementales scientifique et politique sur la biodiversité et les services écosystémiques (IPBES) 2016, 21p.

Prieu C, 2015. Évolution et développement des grains de pollen chez les angiospermes, *Biologie/Sciences du Végétal*, université paris-Saclay, 65 p.

Prost P.J, 2005. L'apiculture. 7^{ème} édition. *Lavoisier*, paris, 728 p.

R

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

Ronse L.P., 2022. Rosids: The Diplostemnous alliance, *Floral Diagrams: An Aid to Understanding Flower Morphology and Evolution*, *Cambridge University Press*, second Edition, 243 p.

Raven P.H, Evert R.F, Eichhan S.E, 2007. *Biologie végétale*. 7^{Ed} : *De Boeck*, Paris, 852 p.

S

Simpson M.G, 2010. *Diversity and Classification of Flowering Plants*, *Plant Systematics* (Second Edition), New York, 313 p.

Simpson M.G, 2019. *Evolution and Diversity of Plants*, *Plant Systematics* (third Edition), New York, 339 p.

T

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

Y

Younsi D., Lazizi N., 2016. Etude des caractéristiques physico-chimiques du pollen d'abeille de la région de Naciria (W. Boumerdes). *Mémoire de master II*, Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 81p.

Résumé :

L'étude réalisée au laboratoire de pédologie et de physiologie végétale est menée sur deux espèces du clade des Fabides des angiospermes. Elle se porte particulièrement à l'étude de leurs pollens, leurs viabilités, productions et surfaces. Après prélèvement et préparation des échantillons à étudier, une coloration a été faite par le bleu de coton au niveau de toutes les fleurs. Les observations sont effectuées après 30 minutes au moins de la coloration, et se porte premièrement sur la morphologie de ces grains et leurs apertures pour ensuite procéder au comptage des grains de pollens viables et non viables au niveau de chaque étamine des deux espèces. Les résultats obtenus sont organisés et ensuite traités par certains logiciels (Excel, image j, statistica). Les résultats obtenus dégagent une certaine variabilité au sein des trois paramètres étudiés, les test d'Anova, coefficient de variation et de Tukey HSD démontrent cette variabilité existante entre les étamines et fleurs de la même espèce, mais aussi avec celles de l'autre espèce en terme de quantité de pollen produit ainsi que dans le taux de viabilité. Le troisième paramètre ne diffère pas des deux premiers car cette variabilité existe aussi. La comparaison faite entre les deux espèces sur les paramètres étudiés à démontrer que la variabilité existe et tout cela peut être dû au divers facteurs d'ordre environnementale et génétique.

Abstract :

The study carried out in the pedology and plant physiology laboratory is carried out on two species of the Fabides clade of angiosperms. It is particularly focused on the study of their pollens, their viabilities, productions and surfaces. After sampling and preparation of the samples to be studied, coloring was done with cotton blue on all the flowers. Observations are made after at least 30 minutes of staining, and focuses first on the morphology of these grains and their apertures and then counts the viable and non-viable pollen grains at the level of each stamen of the two species. The results obtained are organized and then processed by certain software (Excel, image j, statistica). The results obtained show a certain variability within the three parameters studied, the Anova test, coefficient of variation and Tukey HSD demonstrate this existing variability between the stamens and flowers of the same species, but also with those of the other species. in terms of the quantity of pollen produced as well as in the rate of viability. The third parameter does not differ from the first two because this variability also exists. The comparison made between the two species on the parameters studied to demonstrate that the variability exists and all this can be due to various environmental and genetic factors.