

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement
Spécialité : Biodiversité et Sécurité Alimentaire



Ré :

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

Etude cytogénétique des espèces du genre
***Hyoseris L.* (Astéracées) de la région de Béjaïa**

Présenté par : Haddad Zahra & Aoudia Nicette

Soutenu le : 21 juin 2023

Devant le jury composé de :

M. Benadjaoud Ali	MCA	Président
M. Sahnoune Mohamed	Professeur	Promoteur
Melle. Benmouhoub Hassina	MAA	Co-promotrice
Melle. Mesbah Melilia	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2022 / 2023

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont rendu possible la réalisation de ce mémoire. Tout d'abord, nous tenons à remercier nos professeurs pour leur soutien et leur inspiration tout au long de nos études. Vos encouragements et vos conseils ont été essentiels pour nous.

Nous tenons à exprimer notre plus profonde gratitude à notre promoteur M. SAHNOUNE M. pour la confiance qu'il nous accordée, les conseils et son orientation tout au long de ce travail et l'élaboration des sorties pédagogiques ainsi que sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce projet de fin d'étude.

Nous voudrions remercier spécialement Mlle BENMOUHOU, notre Co-promotrice qui a été un mentor et un guide pour nous tout au long de notre stage. Merci d'avoir pris le temps de nous écouter, de nous conseiller et de nous encourager. Et on ne pourrait jamais assez vous remercier.

Nous sommes reconnaissantes envers les membres de notre jury pour leur temps, leur expertise et leurs commentaires constructifs qui ont permis d'améliorer notre travail.

Nous remercions énormément Mlle Zemouri Tassadit et Mme Belkacem Farida pour leur enthousiasme, soutien moral et encouragements ainsi que leurs conseils avisés tout au long de la période du stage.

Merci à toute personne travaillant au niveau du Laboratoire de Recherche d'Écologie et d'Environnement, nous avons été honorées de faire partie de cette famille.

Ce mémoire est le fruit de l'effort collectif de nombreuses personnes, et nous sommes honorées d'avoir pu travailler avec vous tous. Nous sommes impatientes de voir ce que l'avenir nous réserve, et nous savons que nos études nous seront utiles pour le reste de notre vie. Merci à tous.

Dédicace

C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie mon travail
à mes chers et respectables

Parents, qui ont toujours été mes plus grands soutiens et m'ont encouragée à poursuivre mes rêves. Vous m'avez appris l'importance de la famille, de la loyauté et de l'amour. Votre amour inconditionnel et votre soutien ont été la force qui m'a permis d'arriver là où je suis aujourd'hui. Je vous suis éternellement reconnaissante, Ce mémoire est dédié à vous.

À mon unique frère JUBA, à mes sœurs CYLIA, SIHAM, ANAIS et ma belle-sœur MERYEM qui ont été mes compagnons de vie depuis le début et mes plus grands confidents et mes meilleurs amis. Vous avez partagé avec moi les moments forts et les moments faibles, et votre amour inconditionnel m'a aidée à surmonter les obstacles. Merci d'avoir été là pour moi, de m'avoir soutenue et encouragée à poursuivre mes rêves et les réaliser. J'ai de la chance d'avoir comme famille. Je vous aime tous.

À mon adorable neveu AMINE et mes nièces MEAVA, ALINE et INAYA, je vous aime.

À ma binôme NICETTE, qui a été une source de soutien et d'encouragement tout au long de notre collaboration. Votre dévouement, votre travail acharné et votre amitié ont été une source de motivation et d'inspiration pour moi. Merci d'avoir travaillé si dur avec moi, de m'avoir soutenue et encouragée. Je suis reconnaissante de vous avoir comme binôme et je ne pourrai jamais assez vous remercier.

À mes amis, je voudrais vous dire à quel point je suis reconnaissante d'avoir des amis comme vous dans ma vie. Votre amitié, votre soutien et votre présence ont été une source de bonheur et de réconfort pour moi. Merci d'avoir partagé tant de bons moments avec moi et d'avoir été là pour moi dans les moments difficiles. Vous êtes des personnes incroyables et je suis tellement chanceuse de vous avoir comme amis.

ZAHRA

Dédicace

Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui ont eu un impact sur ma vie.

À ma grand-mère, qui a été une source de réconfort et de soutien tout au long de ma vie.

Ton amour inconditionnel et ta sagesse ont été une source d'inspiration pour moi. Merci d'avoir été là pour moi, de m'avoir soutenue et encouragée. Tu me manques beaucoup, mais je sais que tu es toujours avec moi en esprit.

À mes parents, qui ont été mes plus grands supporters et mes meilleurs amis tout au long de ma vie. Votre amour inconditionnel, votre dévouement et votre soutien ont été une source de

force et d'inspiration pour moi. Merci d'avoir été là pour moi, de m'avoir soutenue et encouragée. Je suis reconnaissante de tout ce que vous avez fait pour moi et je ne pourrai jamais assez vous remercier.

"À mon frère Yanis et mes sœurs Souad et Chaima, qui ont été mes compagnons de vie et mes meilleurs amis. Votre amour, votre soutien et votre humour ont été une source de joie et de réconfort pour moi. Merci d'avoir partagé tant de moments précieux avec moi, de m'avoir soutenue et encouragée. Je suis reconnaissante de vous avoir dans ma vie, je vous aime.

À mes cousines Nadine, Emilia, Amel, Lisa, et mes tantes, qui ont été une source de plaisir et de compagnie tout au long de ma vie. Votre amour, votre soutien et votre amitié ont été une source de joie et de réconfort pour moi. Merci d'avoir partagé tant de souvenirs avec moi, de m'avoir soutenue et encouragée. Je suis reconnaissante de vous avoir dans ma vie."

Sans oublier ma chère binôme et copine ZAHRA pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet, merci de m'avoir supportée et d'avoir toujours été là dans les moments difficiles, me soutenant et partageant avec moi les moments de joie. Merci d'avoir été une source de soutien inépuisable et merci d'être la meilleure des binômes et des copines.

À mes amis, qui ont illuminé ma vie de leur présence et de leur amitié. Ce mémoire est aussi la vôtre.

NICETTE

Table des matières

Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Introduction	01
I. Revue bibliographique	02
I.1. Historique et présentation	02
I.1.1. La famille des Asteraceae	02
I.1.2. Le genre <i>Hyoseris</i> L.	03
I.1.2.1. Description du genre <i>Hyoseris</i> L. 1753.	03
I.1.2.2. Description de quelques espèces du genre <i>Hyoseris</i> L.	03
I.1.2.3. Distribution et écologie du genre <i>Hyoseris</i>	05
I.1.2.4. La position systématique du genre <i>Hyoseris</i> L.	06
I.1.2.5. Histoire de la taxonomie du genre <i>Hyoseris</i> L.	06
I.1.2.6. Phylogénie du genre <i>Hyoseris</i>	07
I.2. La cytogénétique végétale.....	09
I.2.1. Définition et intérêt	09
I.2.2. Le cycle cellulaire	09
I.2.3. La polyploïdie chez les plantes	09
I.3. Données cytogénétiques sur quelques espèces du genre <i>Hyoseris</i> L.	10
II. Matériel et méthodes	13
II.1. Matériel végétal utilisé	13
II.1. 1. Les sites d'échantillonnage.....	13
II.1. 2. Mise en culture des plantules au laboratoire	16
II.1. 3. Récolte de boutons floraux pour l'analyse des méioses	17
II.1. 4. Réalisation d'un herbier.....	17
II.2. Étude caryologique	18
II.2.1. Rôle et préparations des solutions	18
II.2.2. Les différentes étapes de l'analyse de la méiose	19
II.2.3. Technique de préparation de lames pour la fertilité pollinique	20

II.2.4. Évaluation du taux de fertilité pollinique	20
II.2.5. Taille des grains de pollen	21
II.2.7. Test de germination des grains de pollen	21
II.2.6. Test de cléistogamie	21
III.1. Résultats	22
III.1.1 Dénombrements chromosomiques	22
III.1.2. Les étapes de la méiose du genre <i>Hyoseris</i> L.	24
III.1. 3. Types d'appariements observés en méiose I chez le genre <i>Hyoseris</i> L	26
III.1.4. Les anomalies de la méiose observées chez <i>Hyoseris</i> L	31
III.1.5. Analyse de la fertilité pollinique	31
III.1.6. Taille des grains de pollen.....	32
III.2. Autres résultats	36
III.2.1. Cléistogamie chez l' <i>Hyoseris</i>	36
III.2.2. Cellules du tapetum	36
III.2.3. Test de germination des grains de pollen	37
IV. Discussion	38
IV.1. Dénombrement chromosomique	38
IV.2. L'origine tétraploïde du cytotype observé chez <i>Hyoseris</i> L	38
IV.3. La fertilité pollinique.....	39
IV.4. La taille du pollen	40
IV.5. La Cleistogamie	40
Conclusion.....	41
Perspectives.....	42
Référence bibliographie	42
Résumé	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1.	Limites approximatives de l'aire de distribution du genre <i>Hyoseris</i> (Sahnoune, 1995)	05
2.	Schéma de la phylogénie moléculaire des Cichorieae basé sur la région nucléaire ITS (Kilian et al., 2007)	08
3.	Plaque métaphasique et idiogramme d' <i>Hyoseris scabra</i> . Barre d'échelle de 5µm (Peruzzi et Vangelisti, 2010)	11
4.	Caryogramme de <i>Hyoseris radiata</i> étudiés par Tzanoudakis et Kyriotakis, 1987).	11
5.	Plaque métaphasique du genre <i>Hyoseris</i> . 1a: <i>H. radiata</i> 2a: <i>H. lucida</i> 3a: <i>H. scabra</i> (Klein, 1997)	12
6.	Les idiogrammes du genre <i>Hyoseris</i> L. avec des bandes chromomycine A positives. Barre d'échelle de 10 µm. 1c : <i>H. radiata</i> 2b : <i>H. lucida</i> 3c : <i>H. scabra</i> (Klein et al., 1997).	12
7.	Photographie des espèces. A : <i>Hyoseris lucida</i> (station Tighramet) ; B : population intermédiaire (station route de Boulimate).	14
8.	Photographie de l'espèce <i>Hyoseris lucida</i> . A: Station Aokas; B: Station Melbou.	15
9.	Photographie de l'espèce <i>Hyoseris radiata</i> (station Gouraya)	16
10.	Vues de plantes scannées. A: <i>Hyoseris lucida</i> (Melbou); B: <i>H. scabra</i> (Helouane); C: population Intermédiaire (Route de Boulimate); D: <i>H. radiata</i> (Gouraya).	17
11.	Dénombrements chromosomiques chez <i>H. radiata</i> L. A-B-C: population Sidi Sahouane; D-E-F: Population Gouraya; G-H-I: population Amtik; J-K-L: population Akbou. Métaphase I A-B-C-G-I-J-K-L; Métaphase II D-E-F-H (n = 8). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	22
12.	Dénombrements chromosomiques chez <i>H. lucida</i> . A-B-C : Population d'Aokas; D-E-F: population de Cap Carbon; G-H-I: population de Melbou; J-K: population de Tighremt; L: Cellule mère pollinique en mitose a 2n =16 (population de Cap Carbon). Métaphase I: A-B-C-D-F-G-H-I-J-K (n=8); Métaphase E (n=8); Métaphase mitotique: L (2n=16). Barre d'échelle de 10 µm.	23
13.	Dénombrements chromosomiques chez <i>H. scabra</i> (population de Helouane). Chromosomes en métaphase I pour toutes les 3 plaques (n=8). Barre d'échelle de 10 µm.	23

14.	Dénombrements chromosomiques dans la population intermédiaire entre <i>Hyoseris lucida</i> et <i>H. radiata</i> (Route de Boulimate). Métaphase I: A et B; Métaphase II: C (n=8). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	24
15.	Étapes de la méiose chez <i>Hyoseris radiata</i> . A: prophase I (population d'Akbou); B: métaphase I (population Amtik); C: anaphase I (population d'Akbou); D: prophase II (population d'Adekar); E: métaphase II (population d'Amtik); F: anaphase II (population de Gouraya); G: télophase II (population de Sidi Sahnoune); H: tétrade (population de Gouraya). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	24
16.	Étapes de la méiose chez <i>H. lucida</i> . A : prophase I (population de Melbou); B: métaphase I (population de Tighremt); C: anaphase I (population de Cap Carbon); D: prophase II (population Melbou); E: métaphase II (population de Cap Carbon); F : anaphase II (population d'Aokas); G : télophase II (population d'Aokas); H: tétrade (population d'Aokas). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	25
17.	Les Étapes de la méiose chez <i>H. scabra</i> (population de Helouane). A: prophase I; B: métaphase I; C: anaphase I; D prophase II; E: télophase II. La barre d'échelle correspond à 10 µm.	25
18.	Étapes de la méiose chez la population intermédiaire de Route de Boulimat. A: prophase I; B: métaphase I; C: anaphase I; D: prophase II; E: métaphase II; F: anaphase II; G: télophase II; H: tétrade. La barre d'échelle correspond à 10 µm.	26
19.	Cellules mères polliniques en métaphase I chez <i>Hyoseris radiata</i> . A: 8 bivalents (population d'Akbou); B: 6 bivalents et 1 tétravalent (population Akbou); C: 4 bivalents et 2 tétravalents (population Gouraya); D: 2 bivalents et 3 tétravalents (population d'Amtik); E: 4 tétravalents (population de Sidi Sahnoune); F: 4 cellules en métaphase I (population Amtik). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	26
20.	Cellules mères polliniques en métaphase I chez <i>Hyoseris lucida</i> . A: 8 bivalents (population de Cap Carbon); B: 6 bivalents et 1 tétravalent (population de Tighremt); C: 4 bivalents et 2 tétravalents (population de Melbou); D: 2 bivalents et 3 tétravalents (population d'Aokas); E: 4 tétravalents (population Cap Carbon). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	27
21.	Cellules mères polliniques en métaphase I chez <i>Hyoseris scabra</i> (population Helouane). A: 8 bivalents; B: 6 bivalents et 1 tétravalent; C: 4 bivalents et 2 tétravalents; D: 2 bivalents et 3 tétravalents ; E : 4 tétravalents. La barre d'échelle correspond à 10 µm.	27
22.	Cellules mères polliniques en métaphase I chez la population. Intermédiaire de la Route de Boulimat. A: 8 bivalents; B: 6 bivalents et 1 tétravalent; C: 4 bivalents et 2 tétravalents; D: 2 bivalents et 3 tétravalents; E : 4 Tétravalents. La barre d'échelle correspond à 10 µm.	28
23.	Cellules mères polliniques en métaphase II chez <i>Hyoseris</i> A : <i>H. radaita</i> (population Amtik); B: <i>H. radiata</i> (population gouraya); C-D : population intermédiaire (rout de boulimat) La barre d'échelle correspond à 10 µm.	30
24.	Les anomalies méiotiques observées chez le genre <i>Hyoseris</i> A : Chromosomes agglutinées chez <i>H. radiata</i> (population de Gouraya); B-D: Ponts chromosomiques chez la population intermédiaire de la route de Boulimat; C : chromosome retardataire chez <i>H. scabra</i> (population de Helouane; E : Cytomixie chez <i>H. lucida</i> (population de Cap Carbon); F: Pont chromosomique chez <i>H. radiata</i> (population de Sidi Sahnoune). La barre d'échelle correspond à 10 µm,	31
25.	Photographies des grains de pollen fertiles (Bleu foncé) et stériles (Bleu clair) du genre <i>Hyoseris</i> L. Coloration au bleu de coton. A: fertile; B: stérile; C: Stérile (à gauche) et fertile (à droite).	31

26.	Nuage de points ACP comparant les grains de pollen des différents taxons d' <i>Hyoseris</i> , Axe 1 est défini par les variables P (axe polaire) et E (axe équatoriale) avec respectivement $R = 0,90$ et $R = 0,86$; Axe 2 est défini par P/E (rapport de P sur E) avec $R = 0,99$, Les pourcentages entre parenthèses correspondent aux valeurs propres des axes,	35
27.	Photographies de stigmates couverts de pollen chez <i>Hyoseris lucida</i> (Population de Melbou fontaine)	36
28.	Les différentes cellules du tapetum observées chez les espèces <i>Hyoseris</i> . A : Cellule en endomitose ; B : Cellule à 2 noyaux géants ; C : Cellules tétranuclées ; D : Cellule à 4 noyaux géants ; E : Cellule en endomitose. La barre d'échelle correspond à 10 μm .	37

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Résultats de la coloration à la chromomycine A et nombre de nucléoles de trois taxons du genre <i>Hyoseris</i> (Klein et al.,1997)	12
II	Origine géographique et dates de récolte des échantillons du genre <i>Hyoseris</i> L	13
III	Comptage des tétravalents en métaphase I chez le genre <i>Hyoseris</i> L. B : bivalent; T: tétravalent.	29
IV	Comptage des plaque métaphase II avec 8 chromosomes chez le genre <i>Hyoseris</i> L.	30
V	Taux de fertilité pollinique chez les populations de <i>Hyoseris</i> L. étudiées.	32
VI	Comparaison de l'axe polaire (P) et l'axe équatoriale (E) et leur rapport (P/E)	34

Introduction

Introduction

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité floristique méditerranéenne, saharienne et paléo-tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (Quézel et Santa, 1962-1963). Et grâce à sa position géographique, l'Algérie possède d'importantes ressources phytogénétiques représentées dans sa diversité en espèces spontanées et subspontanées. Cette richesse floristique est principalement localisée dans les régions telliennes et les secteurs humides et subhumides (Quézel et Santa, 1962-1963 ; Véla et Benhouhou, 2007 ; Amirouche et Misset. 2009). Cette flore Algérienne reste mal connue, inexploitée et très peu étudiée surtout du point de vue cytogénétique, d'où l'urgence à évaluer ces ressources et mettre au point un plan pour leur sauvegarde et leur préservation.

Dans l'étude présentée dans ce mémoire, nous nous intéressons au genre *hyoseris* L. (famille des astéracées) qui regroupe actuellement des plantes herbacées présentes dans tout le bassin méditerranéen. Il est structuré autour de 2 espèces : *H. scabra* L. et *H. radiata* L. Chez *H. radiata*, la morphologie des feuilles passe d'un état charnu près de la mer à un état non charnu dans les zones continentales. Ainsi, Sell (1976) distingue la sous-espèce côtière *graeca* Halacsy (= *H. lucida* L.) de la sous-espèce *radiata*.

Dans la vallée de la Soummam, en Kabylie, ces plantes sont connues sous le nom amazigh (berbère) *thoughmas temgharin*, littéralement "dents de vieille femme", probablement à cause des lobes pointus de leurs feuilles (Sahnoune, 1995). En arabe algérien populaire, elles sont connues sous le nom de *dhars laadjuz* "dents de vieil homme" ou *senn sbaa* "dents de lion" (Quézel et Santa, 1962-1963).

Beaucoup d'espèces appartenant aux genres *Hyoseris* ont fait l'objet d'études caryologiques où il a été cité $2n = 2x = 16$ (Brullo et al., 1990).

L'objectif de notre étude est de réaliser une étude cytogénétique (mitose, méiose, anomalies méiotiques, fertilité pollinique, taille et forme des grains de pollen) des espèces du genre *Hyoseris* L. *H. scabra* L., *H. radiata* L. et *H. lucida* L. dans le secteur de Béjaïa, la méiose et la fertilité pollinique n'ayant jamais été abordées pour ces espèces.

Dans ce mémoire, nous présentons d'abord une synthèse bibliographique sur les espèces étudiées et sur la cytogénétique. La deuxième partie est consacrée au matériel végétal analysé ainsi que la méthodologie utilisée. Dans la troisième partie nous exposons les résultats obtenus et leurs interprétations. Et enfin, nous terminons avec une conclusion générale et perspectives.

I. Revue bibliographique

I. Revue bibliographique

Le premier chapitre de ce mémoire sera consacré à la synthèse bibliographique où nous présenterons un aperçu sur la famille des Asteraceae, le genre d'*Hyoseris* "*H. scabra* L., *H. radiata* L. et *H. lucida* L. " et quelques généralités sur la cytogénétique et les polyploïdes chez les plantes.

I.1. Historique et présentation

I.1.1. La famille des Asteraceae

Les Asteraceae du latin "aster = étoile" se réfère à la forme de l'inflorescence, un mot créé par le botaniste Ivan Ivanovič Martinov en 1820, anciennement appelée Compositae (Gisek, 1792 ; Cronquist, 1981). Elle est constituée de plus de 1500 genres et 25000 espèces dont 750 endémiques (Funk et al., 2009 ; Rahman et al., 2011).

En Algérie, cette famille est la plus importante, elle renferme 109 genres et 408 espèces (Quézel et Santa, 1962- 1963). Les Asteraceae sont une famille cosmopolite, elles s'acclimatent bien dans les régions semi-arides, tropicales, subtropicales, à la toundra Alpine et Arctique et aux régions tempérées, à l'exception de l'Antarctique (Heywood, 1985 ; Guignard, 1994 ; Funk et al. 2009).

Les Asteraceae ont des formes diverses, principalement des herbes vivaces ou annuelles, des arbustes ou des sous-arbustes, quelques plantes aquatiques ou grimpantes, et même des épiphytes. Par contre, la famille est très homogène dans ses inflorescences très caractéristique : en capitules (Gaussen et al., 1982 ; Funk et al., 2009)

Les feuilles sont le plus souvent alternes, opposées ou verticillées, simples, parfois profondément lobées ou découpées, à nervation généralement pennée ou palmée (Gaussen et al., 1982 ; Funk et al., 2009). Les fleurs qui composent le capitule sont cycliques, hétérochlamydes, gamopétales, hermaphrodites ou unisexuées, parfois stériles, actinomorphes ou zygomorphes. Le calice est absent ou réduit, se développant après fécondation en pappus. Et la corolle peut être soit régulière et pentalobée, soit zygomorphe et bilabiée, soit unilatéralement développée en une longue ligule tri- ou penta-dentée. Le grain de pollen des Astéracées est généralement tricolporé (Spichiger et al., 2004 ; Judd et al., 1999). Le fruit est un akène, sa forme est variable : cylindrique, linéaire, obovale, tétraédrique etc. La surface peut être lisse, côtelée, rugueuse, tuberculée, aiguillonnée, glabre ou poilue etc.

Bien que la morphologie fournisse la source la plus importante de caractéristiques taxonomiques pour les Asteraceae, les nombres chromosomiques et la cryomorphologie sont très importants pour comprendre l'origine évolutive des plantes et clarifier leur taxonomie (Huseyin et al., 2007)

La polyplôidie est très répandue chez les Asteraceae et se produit dans la plupart des clades importants. Les niveaux de ploïdie présents chez les Asteraceae sont : 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x, 12x, 14x, 15x, 16x, 18x, 20x, 22x, 24x, 32x, 36x et 48x (Semple et Watanabe, 2009). Les diploïdes sont les plus fréquents (observés dans 270 genres), suivis par les tétraploïdes, les hexaploïdies et les triploïdes. Chez cette famille, le taux global de la polyplôidie est de 25,64% dans les herbes annuelles, 100% chez les herbes bisannuelles, 46,42% au niveau des herbes vivaces et 50% chez les arbustes (Bala et Chand-Gupta, 2013).

I.1.2. Le genre *Hyoseris* L.

I.1.2.1. Description du genre *Hyoseris* L. 1753.

Le nom d'*Hyoseris* vient du grec *hys* ou *hyos* signifiant porc et *seris* voulant dire chicorée. (Guide illustré de la flore algérienne, 2012). C'est une plante herbacée annuelle ou vivace, en rosette à feuilles régulièrement pennées lobées, lobes ronds à subrhombiques-triangulaires. Les capitules de ces plantes peuvent être peu ou nombreux, et ils ont tous des fleurs ligulées hermaphrodites. L'involucre est constitué de 8 à 20 bractées herbacées étroites, épaissies et rigides à l'apex, renfermant les akènes externes à calices dégénérés. Le Réceptacle est nu. Les akènes sont dimorphes. Les plantes ont des tiges scapiformes et monocéphales naissant dans une rosette de feuilles runcinées ou pinnatiséquées. Les hampes sont nues, creuses, non divisées, et elles peuvent ou non être renflées sous les capitules. Les fleurs de cette plante sont jaunes (Quézel et Santa, 1963).

I.1.2.2. Description de quelques espèces du genre *Hyoseris* L.

***H. scabra* L.**

C'est une petite plante annuelle de 5-12 cm, à racine grêle, glabrescente. Les scapes sont étalés, renflés-claviformes sous le capitule et presque aussi larges que ce dernier à ce niveau. L'involucre est à 8-10 bractées dressées et conniventes après l'anthèse. Les capitules 8-12 flores. L'espèce pousse généralement dans les terrains incultes et les sables (Quézel et Santa, 1963).

***H. radiata* L.**

C'est une plante vivace à grosse racine verticale. Les scapes sont dressés, de 10-30 cm, peu ou pas renflés sous le capitule. L'involucre est à 10-20 bractées s'étalant à maturité. Les capitules sont multiflores. La plante est très polymorphe, on la rencontre dans les rochers, les rocailles et les pâturages (Quézel et Santa, 1963).

***H. lucida* L.**

Est une plante d'hémicryptophyte vivace qui pousse en forme de rosette et dont la hauteur peut varier de 6 à 36 centimètres. Les feuilles sont charnues et peuvent mesurer de 50 à 250 millimètres de longueur, possédant un bord régulier et dentelé. Elles peuvent être soit glabres soit farineuses, et les lobes latéraux des feuilles sont en forme de losange à des degrés divers. La tige de la plante n'est pas particulièrement épaisse. Les bractées de la plante mesurent de 10 à 15 millimètres de long, les bractées internes étant en forme d'étoile et saillantes tout en conservant le potentiel de se replier. Le pappus des fruits extérieurs sont ailés et comprimés, tandis que les fruits intérieurs sont stériles et arrondis. Cette plante fleurit généralement de décembre à mai, bien qu'elle puisse parfois continuer à fleurir jusqu'en novembre (<https://www.gbif.org/fr/species/3134550>)

***Hyoseris taurina* Martinoli**

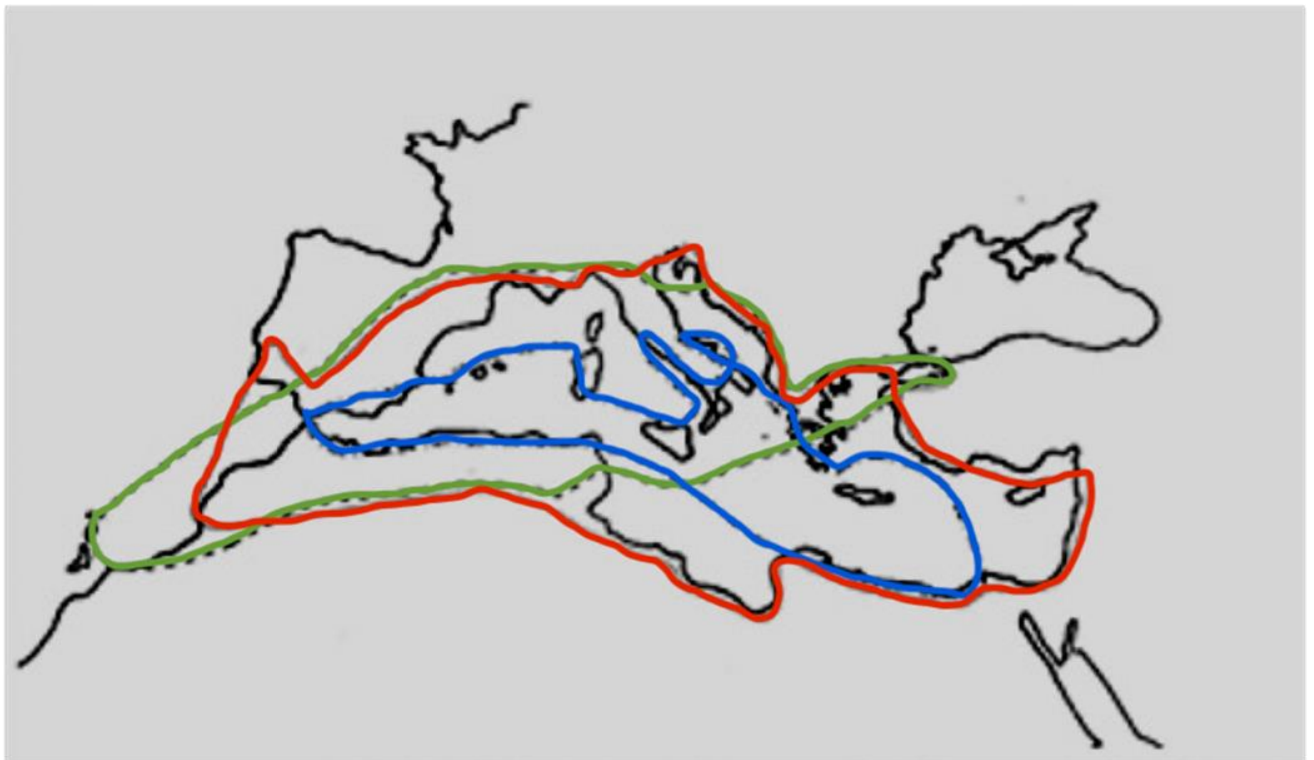
Chamaephyte aux racines ramifiées ligneuses, épaissies et fibreuses de 2 à 3 cm de diamètre et des tiges robustes, ligneuses et ramifiées atteignant 6 cm de long avec des rosettes de feuilles denses à l'extrémité. Les scapes sont nombreux, de 10-40 cm de long, dressés, glabres, fistuleux, plus ou moins épaissis. Capitules solitaire, de 2,5-5 cm de diamètre. Les Bractées involuquées en deux rangées, les externes de 3 à 5 mm de long, étroites ovales, se rétrécissant en une longue pointe ; les internes étroitement ovales-triangulaires à lancéolées, 10-15 mm de long, 3-3,5 mm de large. La partie supérieure du tube de la corolle est poilue, fleurs d'environ 15 mm de long, à poils denses atteignant 1 mm de long dans la partie supérieure du tube de la corolle (Brullo et al., 1997).

***Hyoseris frutescens* Brullo et Pavone**

C'est une plante herbacée vivace persistante, de 5 à 30 cm de haut. Ses feuilles glabres charnues sont adaptées au climat estival chaud et sec, ses lobes aux contours arrondis, sa tige vivace très ramifiée et le pappus des akènes externes est court (0.5-0.7 mm), le pappus des akènes internes (5-7mm) est formé de soies inégales. (Brullo et Pavone, 1988).

I.1.2.3. Distribution et écologie du genre *Hyoseris*

Le genre *Hyoseris* L. est présent dans toute la Méditerranée (Figure 1). *H. scabra* est plus ou moins répandu dans les pelouses sèches du pourtour méditerranéen à des altitudes de 0 à 600 m. Chez *H. lucida* L., on le trouve près de la mer Méditerranée. Il pousse sur un substrat calcaire dans les zones côtières à des altitudes de 0 à 200 m, affectés par les vagues. Le groupe *H. radiata* L. culmine à 2000 m d'altitude, il pousse dans les climats humides à subhumide (sahnoune,1995). En Algérie, il est très présent dans le Tell et pousse généralement sur les rochers, les rocailles, les murs, les terrains arides et les pelouses (Guide illustré de la flore algérienne, 2012).



- *H. radiata* : Dunes, pelouses, clairières des forêts, rochers de 0 à 2000 m, de l'humide au semiaride.
- *H. lucida* : Dunes, rochers et pelouses exposés aux embruns de la méditerranée, de 0 à 200 m.
- *H. scabra* : Dunes et pelouses sérophiles, de 0 à 600 m, de l'étage humide jusqu'à l'aride.

Figure 1 : Limites approximatives de l'aire de distribution du genre *Hyoseris* (Sahnoune,1995).

I.1.2.4. La position systématique du genre *Hyoseris* L.

En accord avec les autres classifications (Leroy, 1982 ; Petit, 1990 ; Mauseth, 1991 ; Bremer, 1994), le genre *Hyoseris* se classe dans la sous tribu Hyoseridinae, la tribu des Lactucées (ou Cichorieae) de la famille des Astéracées, ordre des Astérales, classe des Magnoliopsidées) (dicotylédones), division (équivalent de sous-embranchement) des Magnoliophytes, embranchement des Spermaphytes.

I.1.2.5. Histoire de la taxonomie du genre *Hyoseris*

Voici, selon Sahnoune (1995), l'histoire de la taxonomie du genre *Hyoseris* :

C.A. Linné, 1737, crée le genre *Hyoseris* dans son *Genera plantarum* (in index kewensis)

Chez le genre *Hyoseris*, 9 espèces ont été ainsi décrites :

-Espèces à tiges nues (scapes monocéphales)

- *H. foetida*, des Alpes italiennes et le Nord de la Suisse ;
- *H. radiata* (Linné 1753 1.c.), d'Espagne et Narborne ;
- *H. scabra* (Linné 1753 1.c.), de Sicile ;
- *H. virginica* (Linné 1753 1.c.), de Virginie ;
- *H. minima* (Linné 1753 1.c.), d'Europae arvis apricis ;
- *H. lucida* (Linné 1867, Mantissa plantarum I, p. 103), d'Egypte.

-Espèces à tiges feuillées (scapes polycéphales)

- *H. hedyppnois* (Linné 1753 1.c.), d'Europe australe ;
- *H. rhagadioloides* (Linné 1753 1.c.), d'Europe australe ;
- *H. cretica* (Linné 1753 1.c.), de Crète.

Lamarck, en 1789, il exclut *H. foetida* et *H. minima* du genre *Hyoseris* L., et les place dans le genre *Lapsana*. Par la suite, Lamarck, dans ses « Illustrations » (J L. Poiret, 1813), conserva uniquement dans le genre *Hyoseris* toutes les espèces à feuilles racinaires

D'après la synthèse de l'index kewensis (1885), la grande majorité a été supprimée, ne restent que les suivants : *H. radiata* L., *H. scabra* L., *H. lucida* L., *H. integrifolia* Poiret 1813, *H. foetida* L., *H. nana* Poiret. 1813.

Selon les auteurs modernes, ne sont retenues dans le genre *Hyoseris* que les espèces suivantes : *H. radiata* Linné 1753 ; *H. scabra* Linné 1753 ; *H. lucida* Linné 1867 ; *H. blechnoides* Pomel 1875

- En 1953, Martinoli a introduit une nouvelle espèce appelée *H. taurina* et a suggéré une classification infragénérique :

- Section Euhyseris, akènes internes stériles : *H. radiata* L., *H. scabra* L., *H. lucida* L.

- Section Macrohyoseris, akènes fertiles : *H. taurina* (Pamp.) Mart.
- En 1902, Halacsy avait décrit une subsp. Dans le *H. radiata* et Tutin,
- En 1976, Tutin, dans flora europea a subdivisé le genre *Hyoseris* en trois espèces distinctes.
- Ces trois espèces comprennent :
- ✓ *H. scabra* L., qui est un thérophyte périméditerranéen ;
 - ✓ *H. radiata* L., Cette espèce est scindés en 2 Sous-Espèces : **Subsp. radiata**, feuilles non charnues, poussant dans la région méditerranéenne. **Subsp. graeca** Halacsy (*H. lucida* L.), feuilles charnues, poussant dans la Région Littorale Méditerranéenne.
 - ✓ *H. taurina* (Pamp.) Mart.,
- Brullo et Pavone ont introduit une nouvelle espèce en 1988, nommée *H. frutescens*. Dans leur discussion taxonomique du genre *Hyoseris*, ils l'ont divisé en quatre espèces distinctes : *H. scabra*, *H. radiata*, *H. taurina*, *H. frutescens*.

I.1.1.6. Phylogénie du genre *Hyoseris*

D'après Bremer (1994), les genres phylogénétiquement plus proches du genre *Hyoseris* sont *Hedypnois*, *Leontodon* et *Hypochaeris*.

Kilian et al. (2007) ont montré que la tribu des cichorieae est subdivisée en cinq sous-tribus : *Hyoseridinae*, *Lactucinae*, *Crepidinae*, *Hypochaeridinae* et *Chondrillinae*. Les sous-tribus sont ensuite subdivisées en plusieurs genres, chacun ayant ses propres caractéristiques distinctives. Dans le cladogramme présenté dans la Figure 2, la sous-tribu *Hyoseridinae* est composée de *Sonchus*, *Launaea*, *Reichardia*, *Hyoseris*, *Aposeris* et *Aetheorhiza* (Kilian et al., 2007 ; Kilian et al., 2021).

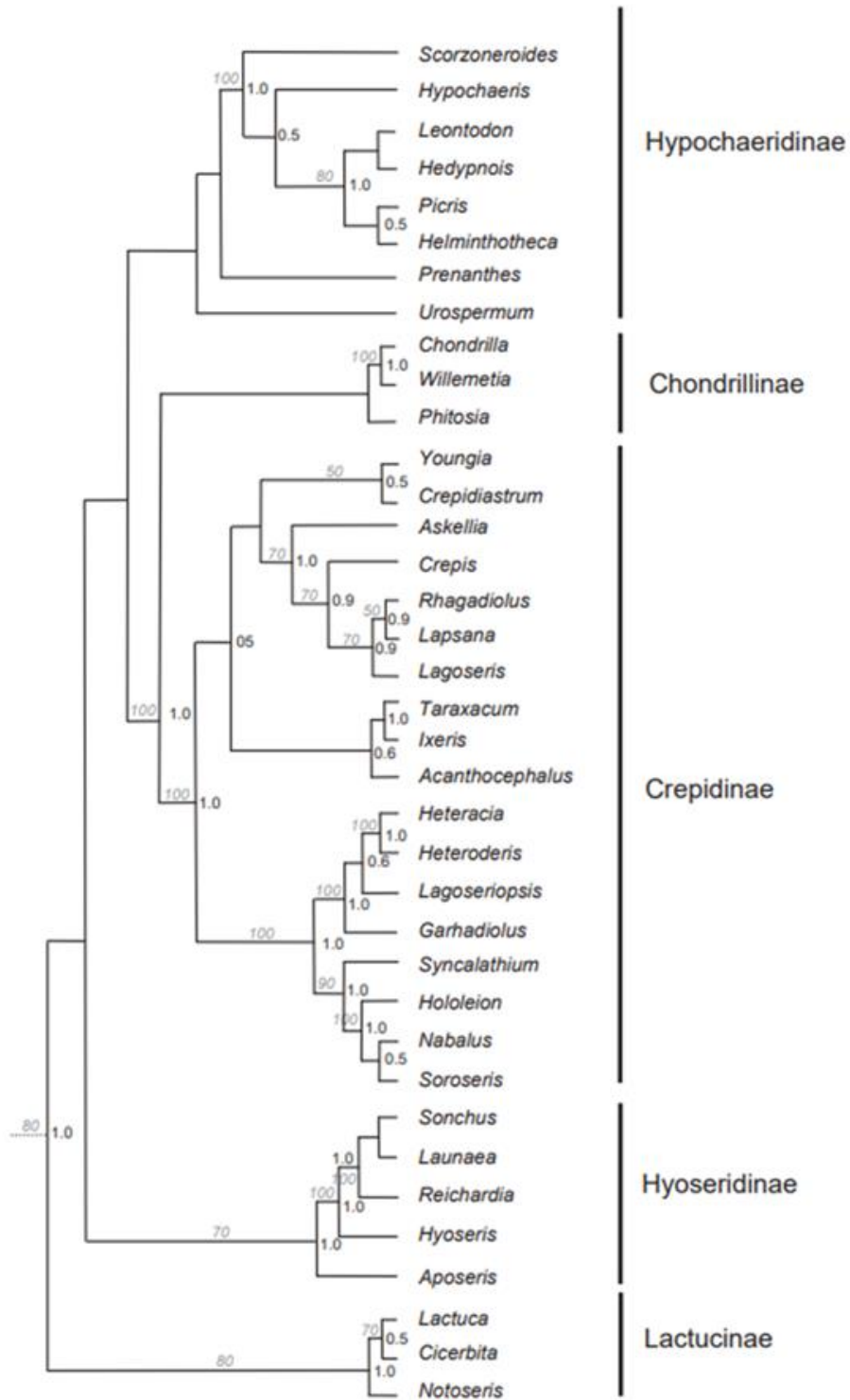


Figure 2 : Schéma de la phylogénie moléculaire des Cichorieae basé sur la région nucléaire ITS (Kilian et al., 2007)

I.2. La cytogénétique végétale

I.2.1. Définition et intérêt

La cytogénétique combine la cytologie et la génétique. C'est une étude des phénomènes génétiques au niveau cellulaire. Bien que les premières études sur les plantes aient commencé à la fin du XIXe siècle, la cytogénétique s'est développée principalement après les années 1920 et n'a cessé de prendre de l'importance depuis. La cytogénétique est avant tout une science d'investigation. Elle a activement contribué à la compréhension des mécanismes génétiques et des nouvelles taxonomies (taxonomie et phylogénie) dans le règne végétal. Elle facilite la connaissance du nombre de chromosomes du matériel végétal utilisé, l'établissement de cartes génétiques, l'exploitation de la variabilité intraspécifique, interspécifique ou induite et l'amélioration des plantes (Jahier et al., 1992).

I.2.2. Le cycle cellulaire

Avant qu'une cellule ne se divise, elle doit d'abord répliquer son contenu, plus particulièrement son ADN, ces phénomènes se produisent pendant l'interphase. L'alternance de cette dernière avec la méiose et mitose constitue le cycle cellulaire (Jorde et al., 2004) qui se définit comme étant l'ensemble des étapes qui composent la durée de vie d'une cellule (Vincent, 2007).

La phase M (mitose)

C'est un processus de division nucléaire aboutissant à la formation de deux cellules filles avec une parfaite parité génétique. Elle se déroule en 4 phases : la prophase, la métaphase, l'anaphase et enfin la télophase (Laberche, 2010).

La méiose

La méiose est un mode de division cellulaire particulier qui constitue la contrepartie 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). Cette réduction chromatique compense exactement le doublement du nombre de chromosomes qui résulte de la fécondation et assure la permanence du stock chromosomique au cours des générations successives. Au point de vue cytologique, la méiose consiste en la succession de deux mitoses (Horlow et Pascale, 2003).

I.2.3. La polyploïdie chez les plantes

Le terme "polyploïdie" a été proposé pour la première fois par Winkler en 1916, en faisant référence à l'existence de plus de deux ensembles de chromosomes haploïdes dans une seule cellule. La formation d'individus polyploïdes est un événement courant dans la nature et ce

processus représente un mécanisme majeur de spéciation des angiospermes (Peer et al., 2009 ; Wood et al., 2009). Otto et Whitton (2000) ont passé en revue trois mécanismes par lesquels les individus polyploïdes peuvent apparaître : l'endomitose, la production de gamètes non réduits et la polyspermie. Bien que le doublement somatique de l'ensemble chromosomique soit possible, il est actuellement reconnu que la principale voie conduisant à la formation d'individus polyploïdes est la production de gamètes non réduits. Les polyploïdes sont principalement divisés en deux catégories selon la source des génomes qui composent les polyploïdes :

- **Autopolyploïdie** : C'est le doublement chromosomique au niveau intraspécifique aboutissant à une cellule à deux copies du même génome. L'appariement de plus de deux chromosomes homologues entraîne souvent la formation de polyvalents, entraînant une hérédité polycaryotique. Selon Le Comber et al. (2010), les substances polyvalentes peuvent entraîner un déséquilibre du nombre de chromosomes dans les gamètes, ce qui peut entraîner des problèmes d'infertilité. Cependant, la méiose peut rapidement se régulariser (diploïdisation cytologique) et devenir disomie.

- **Allopolyploïdie** : c'est lorsque les génomes d'au moins deux espèces ancestrales (Stebbins, 1971) sont combinés dans un même cytotype. Ils sont issus de croisements interspécifiques qui forment ensuite des duplications du génome hybride (Ramsey et Schemske 1998). L'allopolyploïdie segmentaire correspond à la spéciation résultant du croisement de parents avec un segment chromosomique commun (Leitch et Bennett, 1997). Chez les plantes, on estime que plus de 75 % des espèces polyploïdes sont allopolyploïdes (Wood et al., 2009).

I.3. Données cytogénétiques sur quelques espèces du genre *Hyoseris* L.

Comptages des chromosomes :

Le comptage chromosomique est fait pour toutes les espèces du genre *Hyoseris* (Martinoli, 1953 ; Bartolo et al., 1978 ; Sahnoune, 1985 ; Tzanoudakis et Kypriotakis, 1987 ; Brullo et Pavone, 1988 ; et Brullo et al., 1990 ; Klein et al., 1997). Pour toutes les espèces le nombre chromosomique est de $2n=2x=16$ chromosomes.

L'étude réalisée par Peruzzi et Vangelisti, (2010) confirme que *Hyoseris scabra* a la présence constante d'une seule paire chromosomique à satellite intercalaire (Figure 3), caractère qui différencie *H. scabra* des autres congénères qui possèdent une ou deux paires à satellites terminaux

La formule caryotypique, obtenue à partir des mesures effectuées sur la population de Mattavello, (Italie) est $z = 2n = 2x = 16 = 2m + 2sm + 4m + 2msat + 2m$, avec la longueur moyenne des chromosomes est de 2 à 3 μm (Klein et al. (1997).

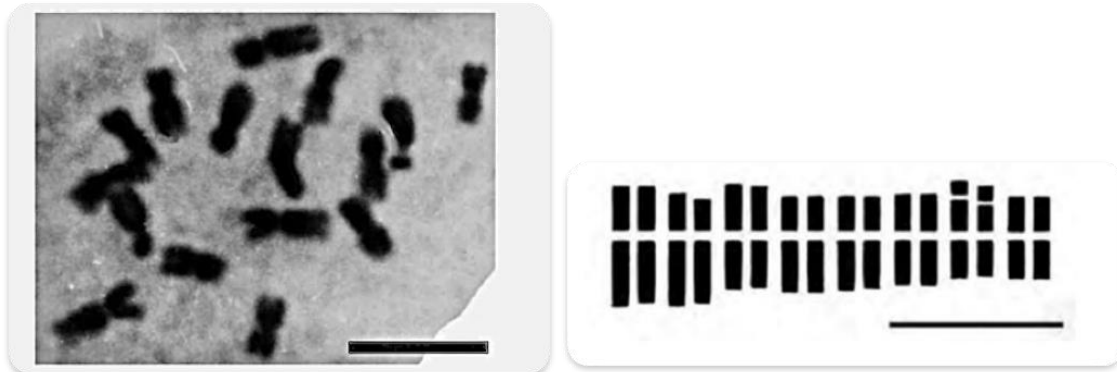


Figure 3 : Plaque métaphasique et idiogramme d'*Hyoseris scabra*. Barre d'échelle de 5 μm (Peruzzi et Vangelisti, 2010)

Tzanoudakis et Kypriotakis (1987) rapportent les chromosomes de *H. radiata* (Grèce) sont plutôt petits, avec la longueur totale du complément haploïde d'environ 20 μm et la taille des chromosomes varie de 2 to 2.7 μm . Cinq des chromosomes du complément haploïde sont métacentriques ($r = 1-1,4$), deux submétacentriques ($r = \text{ca. } 2$) et un subtélocentrique ($r = \text{ca. } 5$). Les chromosomes subtélocentriques et métacentriques sont satellifères (Figure 4 B).

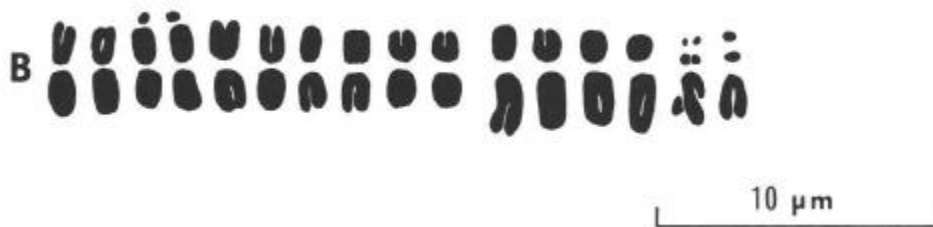


Figure 4 : Caryogramme de *Hyoseris radiata* étudiés par Tzanoudakis et Kypriotakis, 1987).

D'après l'analyse cytogénétique comparée de trois taxons du genre *Hyoseris* L. réalisée par Klein et al. (1997), les caryotypes de *H. radiata* et *H. lucida* semblent très similaires tandis que *Hyoseris scabra* a un caryotype distinct des autres taxons (figure 6) à la fois dans la morphologie des chromosomes et dans l'emplacement des bandes chromomycine A (CMA) (Figure 5.3a). Chez *H. scabra*, l'ensemble du bras court est hétérochromatique et riche en bases GC (Figure 6.3c).

Tableau I : Résultats de la coloration à la chromomycine A et nombre de nucléoles de trois taxons du genre *Hyoseris* (Klein et al.,1997).

espèces	Nombre de			
	bandes télomériques	bandes centromériques	chromocentres interphasiques	nucléoles
<i>H. radiata</i>	4	6	12 et +	2 à 4
<i>H. lucida</i>	4	2	4 gros et 2 à 4 petits	2 à 4
<i>H. scabra</i>	2	2 à 4	1 à 2 gros et 2 petits	1 à 2

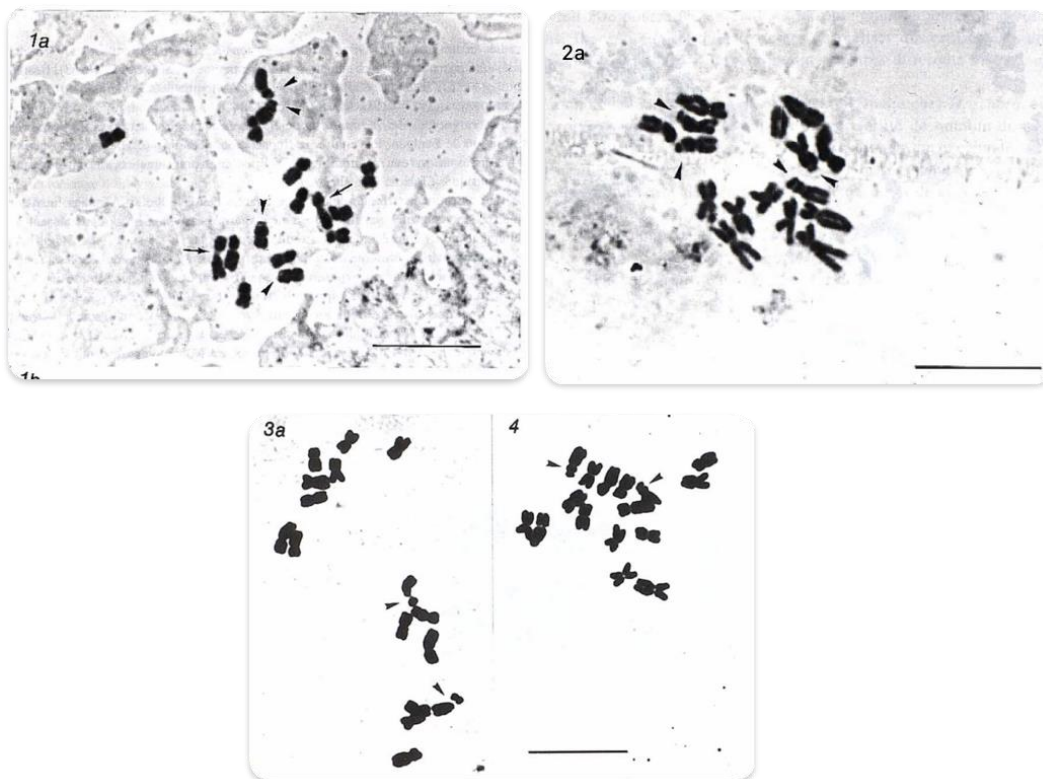


Figure 5 : Plaque métaphasique du genre *Hyoseris*. 1a : *H. radiata* 2a : *H. lucida* 3a : *H. scabra* (Klein et al., 1997).

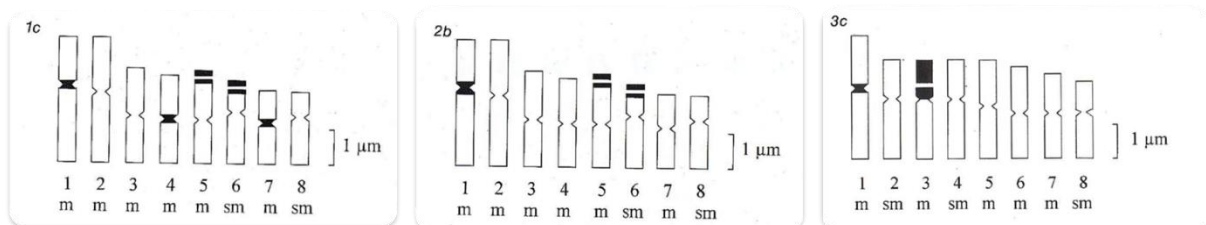


Figure 6 : Les idiogrammes du genre *Hyoseris* L. avec des bandes chromomycine A positives. Barre d'échelle de 10 µm. 1c : *H. radiata* 2b : *H. lucida* 3c : *H. scabra* (Klein et al., 1997).

II. Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal utilisé

II.1. 1. Les sites d'échantillonnage

Pour mener à bien ce travail, nous avons ciblé plusieurs sites que nous avons déjà exploré auparavant. Le tableau I montre l'origine géographique ainsi que les dates de récolte des boutons floraux. L'échantillonnage a été effectué lors d'une journée ensoleillée avec un ciel clair et un sol humide, cela maintient les plantules en bon état (température et humidité optimales). Une dizaine de plantes ont été récoltées. Les figures 3-8 illustrent le matériel végétal récolté au cours de l'échantillonnage. Lors des récoltes, les plantules ont été mises dans de petits sachets et humidifiées afin de mieux les conserver et les ramener au laboratoire.

Tableau II : Origine géographique et dates de récolte des échantillons du genre *Hyoseris* L

Espèces	Localisation des populations	Altitude	Coordonnées GPS	Dates et l'heure de récolte
<i>H. lucida</i>	Melbou	15. 5 m	36°39'04.7"N 5°23'51.8"E	05/03/2023 12H
	Aokas	15. 3 m	36°38'43.4"N 5°13'54.9"E	26/03/2023 13H
	Tighremet	3 m	36°52'14.0"N 4°50'07.0"E	12/03/2023 12H
	Cap Carbon	200 m	36°46'17.5"N 5°06'03.1"E	09/03/2023 12H
<i>H. radiata</i>	Akbou	167 m	36°26'35.0"N 4°32'37.0"E	12 /03 /2023 11H
	Gouraya	658 m	36°46'15.1"N 5°04'51.7"E	25/04/2023 13H30
	Sidi Sahnoune	842 m	36°32'33.0"N 4°33'35.0"E	08/04/2023 8H08
	Adekar	734 m	36°42'42.0"N 4°43'20.0"E	20/02/2023 14H
	Amtik	515.5 m	36°47'19.9"N 4°34'09.8"E	10/05/2023 14H
Population intermédiaire¹	Route de Boulimat	33 m	36°48'51.0"N 4°58'26.0"E	09/03/2023 14H
<i>H. scabra</i>	Heloune	215 m	36°30'18.0"N 4°34'34.0"E	07/04/2023 15H

¹Intermédiaire entre *H. radiata* et *H. lucida*.

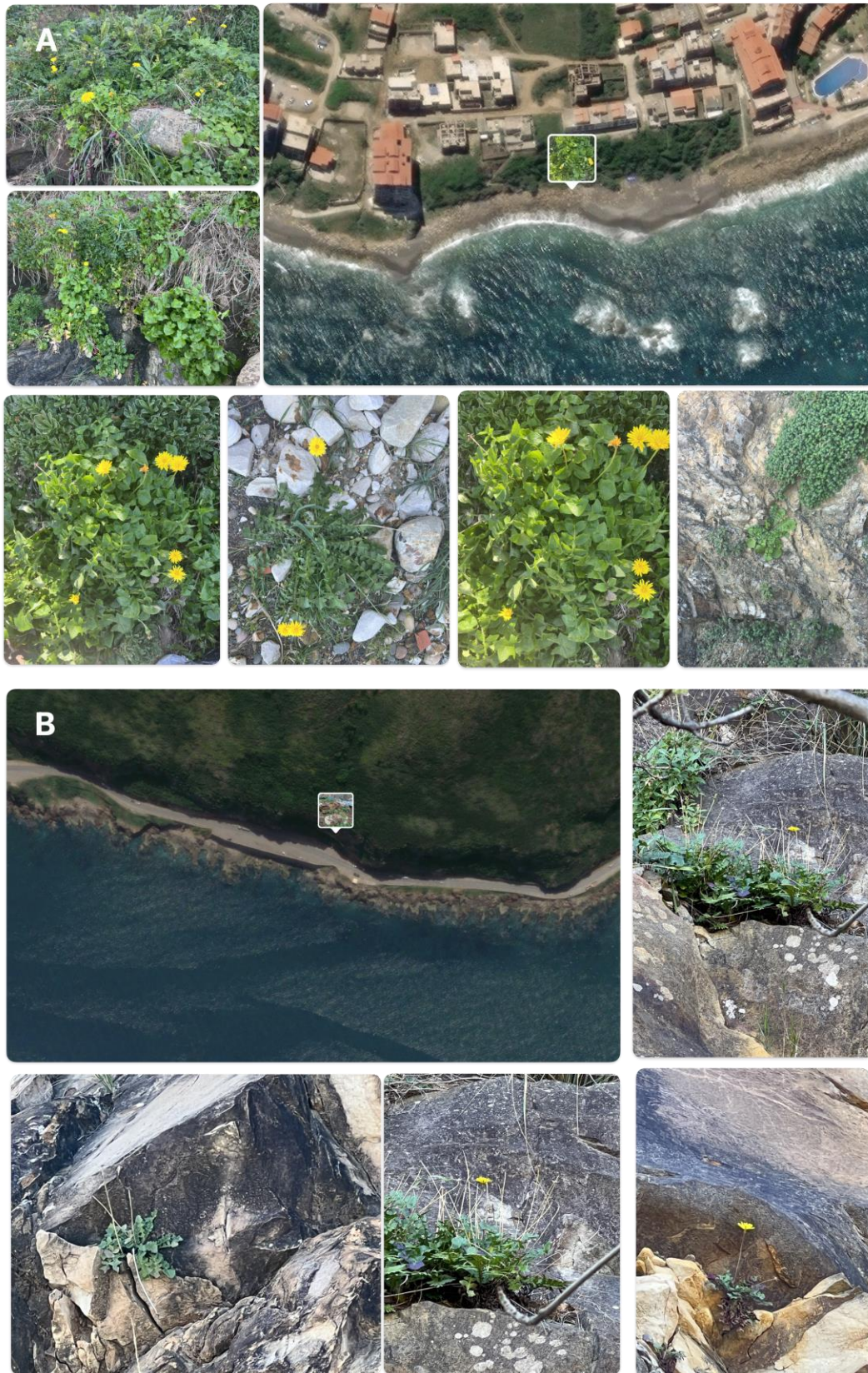


Figure 7 : Photographie des espèces. A : *Hyoseris lucida* (station Tighramet) ; B : population intermédiaire (station Route de Boulimate).

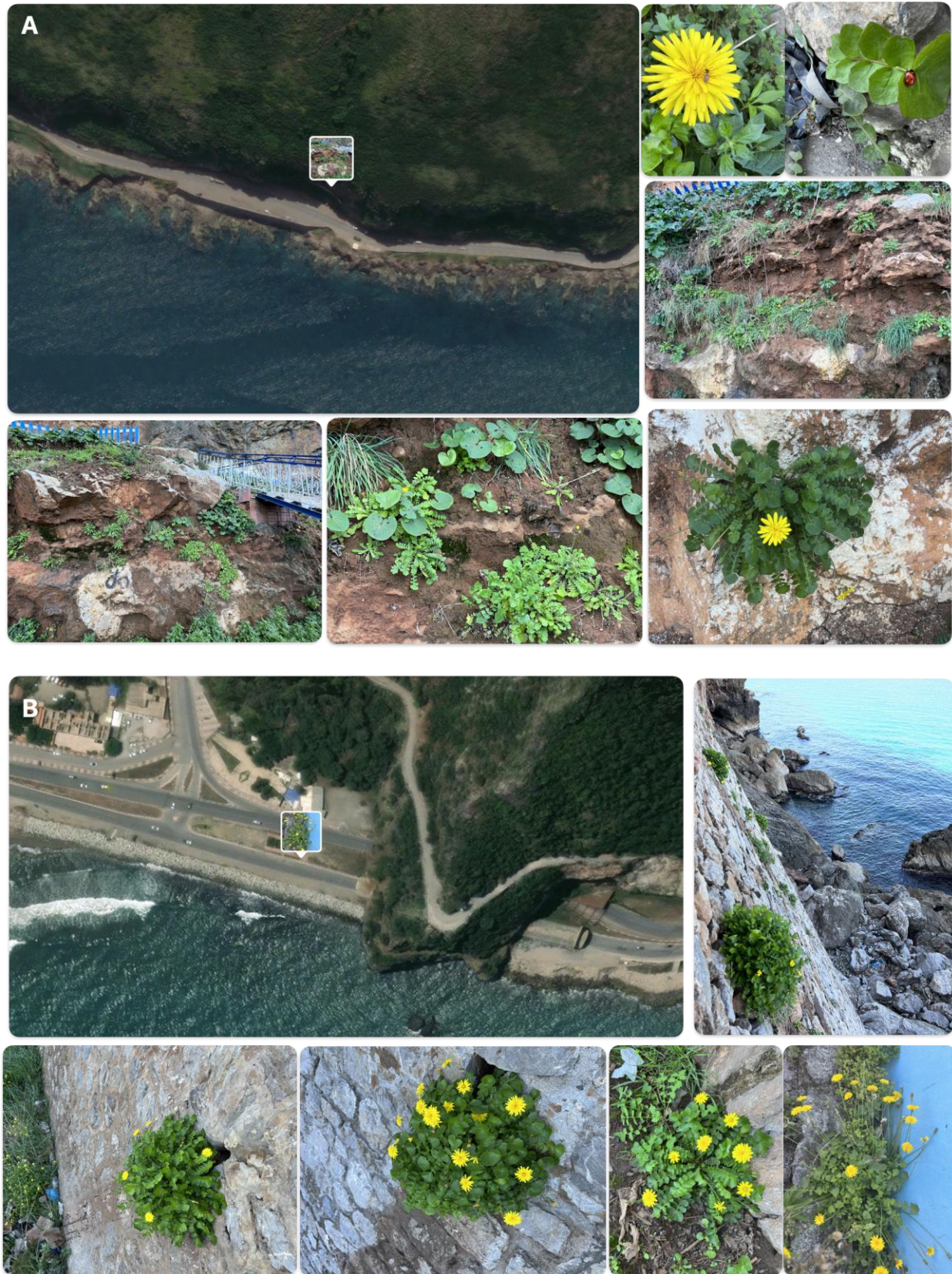


Figure 8 : Photographie de l'espèce *Hyoseris lucida*. A: Station Aokas; B: Station Melbou.



Figure 9 : photographie de l'espèce *Hyoseris radiata* (station Gouraya)

II.1. 2. Mise en culture des plantules au laboratoire

En arrivant au laboratoire, une partie des plantules a été repiquée dans des pots contenant un mélange de sol issu de l'habitat d'origine des plantules et autres. Tandis que l'autre partie a été repiquée dans des bouteilles en plastique préalablement trouées autour afin de permettre aux racines de mieux pousser et ainsi les récupérer.

II.1. 3. Récolte de boutons floraux pour l'analyse des méioses

L'apparition des boutons floraux des espèces du genre *Hyoseris* commence à partir du début du mois de mars. Les boutons floraux sont mis immédiatement, à la cueillette, dans des tubes à essais contenant la solution de Carnoy II (voir plus loin pour la préparation).

II.1. 4. Réalisation d'un herbier

Par définition, un herbier est une collection de plantes séchées posées à plat pour une identification aisée. Une fois les échantillons prélevés, étiquetés et fraîchement scannés, les plantes ont été placées sur du papier journal qui a été remplacé tous les 2 à 3 jours (Figure 10). Chaque plante séchée a été soigneusement transférée sur du papier blanc, fixée avec du ruban adhésif à divers endroits, et placée dessus une étiquette comprenant le nom botanique, la date de récolte, le lieu de récolte et le nom du récolteur. Les spécimens végétaux obtenus sont conservés au laboratoire de recherche Écologie et Environnement.

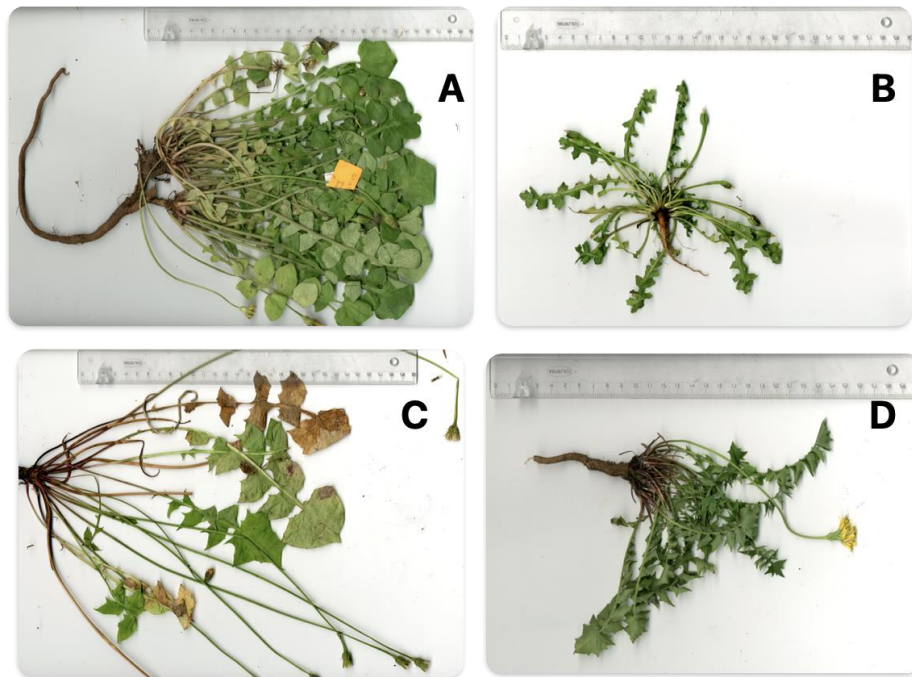


Figure 10 : Vues de plantes scannées. **A** : *H. lucida* (Melbou); **B** : *H. scabra* (Helouane); **C**: population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* (Route de Boulimate) ; **D**: *H. radiata* (Gouraya).

II.2. Étude caryologique

II.2.1. Rôle et préparations des solutions

➤ Le Fixateur

Le but du fixateur est de détruire toute vie cellulaire, bloquer les divisions cellulaires en conservant l'intégrité structurale des chromosomes et protéger les chromosomes de l'action de l'agent mitoclasique de prétraitement (Löve et Löve, 1975 ; Jahier *et al.*, 1992). Le fixateur assure non seulement la fixation mais aussi un mordantage de la préparation. Le fixateur utilisé pour la conservation des boutons floraux est le carnoy II composé de :

- ◆ 6 volumes d'éthanol,
- ◆ 3 Volumes de chloroforme,
- ◆ 1 Volume d'acide acétique.

➤ L'acide chlorhydrique 1 N

L'hydrolyse permet de rompre les liaisons N glucidiques entre les bases puriques et les désoxyriboses et libère les groupements aldéhydes sur lesquels se fixe le colorant. Elle permet également le ramollissement des tissus pour la séparation des cellules et des chromosomes plus facilement (Jahier, 1992).

Pour un volume de 500 ml d'HCL 1N, utiliser 44,5 ml de HCL (35% et $d= 1.17$). Dans un premier temps, verser une bonne partie des 500 ml de l'eau distillée dans une éprouvette puis ajouter de l'acide chlorhydrique fumant et enfin affiner l'ajustement à 500 ml par de l'eau distillée.

➤ Colorants

Coloration des chromosomes : le colorant utilisé est à base d'orcéine, c'est un colorant de couleur rouge violet. C'est une substance utilisée pour colorer et voir les différentes phases des chromosomes dans la division cellulaire. Avec cette technique de coloration, il est possible de voir les chromosomes imprégnés par l'orcéine en violet et pouvoir ainsi observer les différentes étapes de la division cellulaire ; cela facilite la visualisation des étapes du cycle cellulaire. La solution utilisée est à base d'orcéine lactopropionique préparé selon Dyer (1963) modifié selon Löve et Löve (1975).

Dans un grand erlenmeyer, dissoudre 2 g de poudre d'orcéine dans un mélange de 23 ml d'acide propionique et 23 ml d'acide lactique. Ajouter de l'eau distillée jusqu'à 100 ml tout en agitant bien la solution puis passer à la filtration en utilisant du papier filtre. La solution d'orcéine ainsi obtenue se conserve longtemps dans un flacon en verre fumé.

Coloration du pollen : Le bleu de coton au lactophénol selon Mertens et Hamnersmith (1998) a été utilisé pour l'observation microscopique des grains de pollen. La viscosité du colorant limite fortement l'évaporation du milieu de montage et la présence du phénol permet de tuer les micro-organismes éventuellement présents et provoque la désactivation de l'activité lytique des enzymes cellulaires ce qui permet une conservation beaucoup plus longue de la préparation (www.afl-lichenologie.fr).

Préparation : Bien mélanger huit volumes de glycérine, puis quatre volumes d'acide lactique à 85%, avec quatre volumes d'un mélange de cristaux de phénol (1 g de phénol + 4 ml d'eau distillée), Puis deux volumes d'eau distillée, et un volume de bleu d'aniline à 1%.

II.2.2. Les différentes étapes de l'analyse de la méiose

Récupération des anthères : Sous une loupe binoculaire, à l'aide d'une pince et une aiguille, prendre une fleur et la déposer sur une lame. Ajouter une goutte d'eau pour faciliter l'isolement des anthères et les répartir sur la lame.

Hydrolyse à l'acide chlorhydrique normal : une fois les anthères isolées, on ajoute une goutte du HCL (1N). On place la lame pendant 3 min dans un bain-marie à une température de 60°C.

Coloration : Elle consiste à ajouter une goutte du colorant (orcéine lacto-propionique) sur la lame contenant les anthères dans le bain-marie pendant 3-4 min à 60°C.

Observation microscopique : Après coloration, on couvre la lame préparée par une lamelle et on exerce dessus une légère pression avec le pouce dans le but d'étaler les anthères et libérer les cellules mères polliniques. On dépose la préparation sous le microscope photonique afin d'observer les cellules en méiose et de dénombrer les chromosomes au stade métaphasique ou ces derniers sont plus au moins condensés, ce qui facilite leur individualisation. Les cellules mères polliniques sont repérées facilement à l'aide d'un objectif de grossissement (G = 10 ou G = 40). Les meilleures

préparations sont conservées pendant quelques jours en les lutant avec un vernis à ongles transparent. L'observation des chromosomes est faite sous un grossissement supérieur ($G = 100$) en ajoutant une petite goutte d'huile à immersion.

Photographie : Les bonnes préparations sont photographiées à l'aide d'un microscope triloculaire OPTIKA-B350 équipé d'un appareil à photos numérique adapté (Grossissement = 100).

II.2.3. Technique de préparation de lames pour la fertilité pollinique

Poser une goutte d'eau sur une lame de microscope et isoler les anthères de la fleur juste avant anthèse à l'aide de deux aiguilles.

- Bien écraser les anthères pour maximiser la récupération des grains de pollen.
- Éliminer les débris des anthères vides.
- Laisser sécher la gouttelette d'eau contenant les grains de pollen à l'air libre pendant quelques minutes.
- Ajouter une petite goutte de bleu de coton sur la préparation et la couvrir d'une lamelle.
- Laisser agir le colorant pendant quelques minutes.
- Passer à l'observation au microscope photonique.

II.2.4. Évaluation du taux de fertilité pollinique

Après passage à l'observation sous microscope photonique, au moins 500 grains de pollen par fleur ont été comptés après observation au microscope optique. Les grains de pollen qui sont uniformément de couleur bleu foncé sont considérés comme viables et fertiles, tandis que ceux qui sont de forme et de taille anormales et de couleur inégale sont considérés comme non viables et stériles. Le taux de fertilité pollinique est le rapport de la somme des grains de pollen fertiles sur la somme des grains de pollen fertiles et des grains de pollen stériles.

$$\text{La formule : } \mathbf{TF} = \mathbf{F} / (\mathbf{F} + \mathbf{S}) \times \mathbf{100}$$

TF : Taux de fertilité pollinique (en %), **F :** Nombre de grains de pollen fertiles (normaux), **S :** Nombre de grain de pollen stériles (anormaux).

II.2.5. Taille des grains de pollen

Nous avons recherché si la taille des grains de pollen différait entre les différentes populations étudiées. C'est pourquoi nous avons mesuré la taille de 60 grains de pollen par population par observation directe au microscope optique (grossissement x40). L'analyse statistique. Les données sur la taille des grains de pollen ont été analysées par l'ANOVA suivi du test HSD et l'ACP à l'aide du programme Statistica 8.0 (Stat Soft, 2007).

II.2.6. Test de cléistogamie

Nous avons choisi des boutons floraux au stade avant l'anthèse et avons préparé les échantillons en les observant sous une loupe binoculaire. Les anthères ont été écrasées pour libérer le stigmate, puis les débris de la fleur et les anthères ont été éliminés. Après cela, nous avons laissé sécher la goutte d'eau et avons ajouté une petite goutte de bleu de coton et une autre de colorant (orcéine lacto-propionique). Nous avons ensuite recouvert l'échantillon d'une lamelle pour l'observation sous un microscope photonique.

II.2.7. Test de germination des grains de pollen

Le protocole que nous avons utilisé est celui de la goutte suspendue, inspiré de Chérifi (2016). On place du pollen frais sur une lame, puis on ajoute 2 à 3 gouttes d'eau à 10% de sucre. Ensuite, on retourne la lame et on la dépose sur un support pour obtenir la goutte suspendue. L'observation se fait après 20 à 30 mn sous microscope photonique pour vérifier la germination des grains de pollen.

III. Résultats

III.1. Résultats

III.1.1. Dénombrements chromosomiques

Nous avons observé les chromosomes méiotiques des cellules mères polliniques de l'espèce *H. radiata*. Nous avons constaté que le nombre de chromosomes est constant à $n=8$ pour toutes les populations. Les résultats sont observés en métaphase I (Figure 11 A-B-C-G-I-J-K-L). Nous avons aussi compté $n=8$ en métaphase II (Figure 11 D-E-F-H).

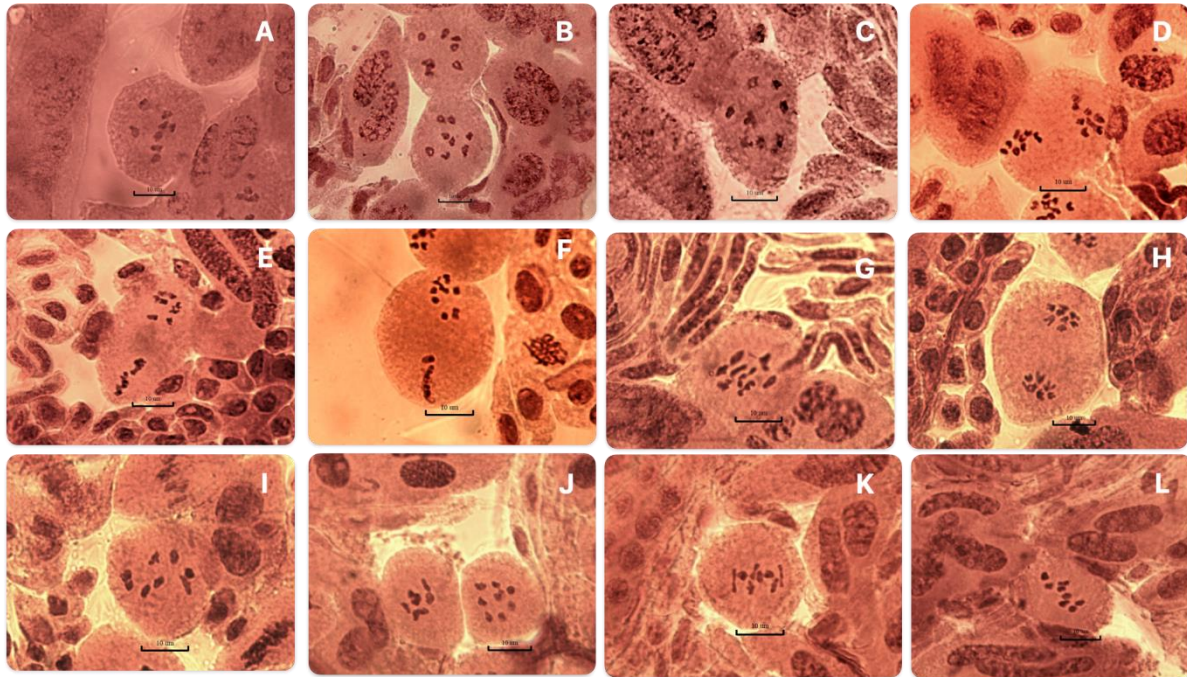


Figure 11: Dénombrements chromosomiques chez *H. radiata* L. **A-B-C:** population Sidi Sahouane; **D-E-F:** Population Gouraya; **G-H-I:** population Amtik; **J-K-L:** population Akbou. Métaphase I A-B-C-G-I-J-K-L; Métaphase II D-E-F-H ($n = 8$). La barre d'échelle correspond à $10 \mu\text{m}$.

Le nombre chromosomique observé sur les cellule méiotiques de l'espèce *H. lucida* correspond à $n=8$ pour toutes les populations. Les résultats ont été observés en métaphase I, (Figure 12 A-B-C-D-F-G-H-I-J-K) et en métaphase II (Figure 12 E). Ce résultat a été confirmé sur une métaphase mitotique où nous avons compté $2n=16$ chromosomes (Figure 12 L).

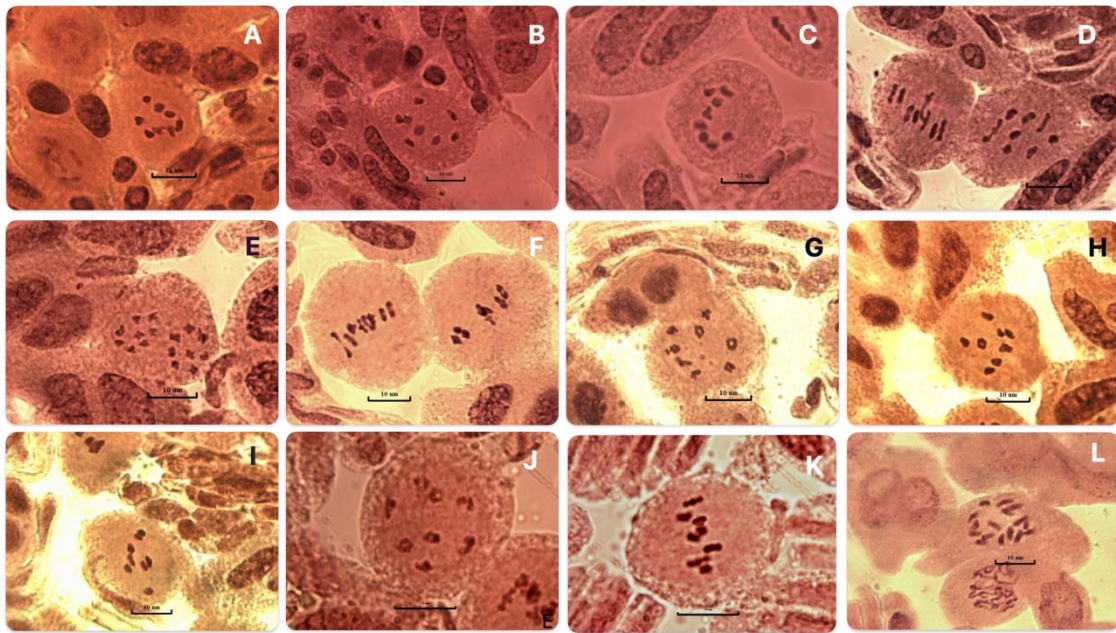


Figure 12: Dénombrements chromosomiques chez *H. lucida*. **A-B-C:** Population Aokas; **D-E-F:** population Cap Carbon; **G-H-I:** population de Melbou; **J-K:** population Tighremt; **L:** Cellule mère pollinique en mitose à $2n=16$ (population de Cap Carbon). Métaphase I: A-B-C-D-F-G-H-I-J-K ($n=8$); Métaphase E ($n=8$); Métaphase mitotique: L ($2n=16$). Barre d'échelle de 10 μm .

Pour les plaques métaphasiques I de la méiose de *H. scabra*, nous avons compté un nombre de chromosomes de $n=8$ (Figure 13 A-B-C).

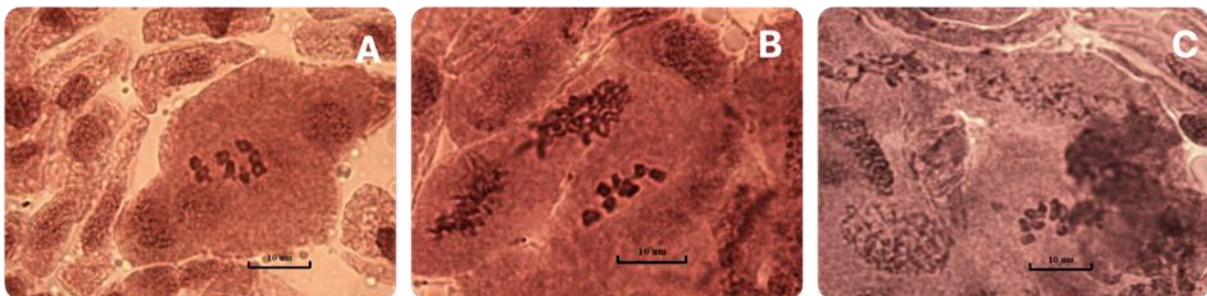


Figure 13: Dénombrements chromosomiques chez *H. scabra* (population de Helouane). Chromosomes en métaphase I pour toutes les 3 plaques ($n=8$). Barre d'échelle de 10 μm .

Nous avons eu l'opportunité d'observer une population présentant des feuilles minces semblables à celles de *H. radiata* mais poussant dans un habitat semblable à celui de *H. lucida*, celui des zones côtières. Ce qui nous a permis de supposer que c'est une population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata*.

Le nombre chromosomique compté sur en métaphases méiotiques chez cette population intermédiaire est de $n=8$. Les chromosomes ont été comptés à la fois en métaphase I (Figure 14 A et B) et en métaphase II (Figure 14 C).

L'appariement des chromosomes homologues en métaphase I peut être linéaire (e.g. Figure 12 F) ou en anneau (e.g. Figure 12 G et J).

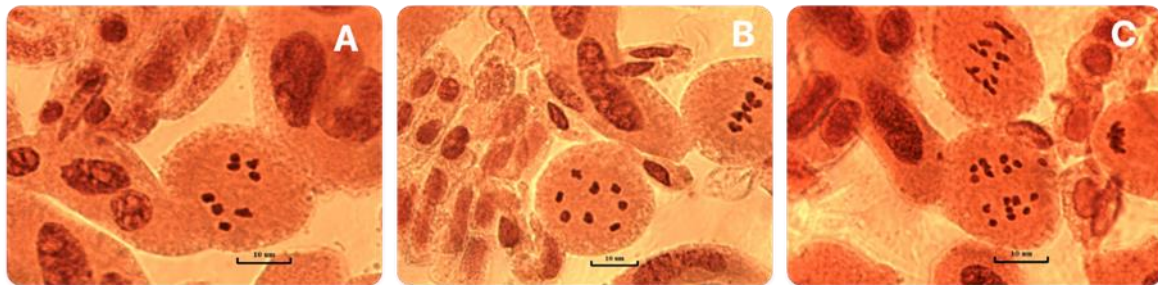


Figure 14: Dénombrements chromosomiques dans la population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* (Route de Boulimate). Métaphase I : A et B ; Métaphase II : C (n=8). La barre d'échelle correspond à 10 µm.

III.1.2. Les étapes de la méiose du genre *Hyoseris* L.

En plus des dénombrements chromosomiques, nous avons observé les différentes phases de la méiose pour le matériel étudié. Les Figures 15-18 ci-dessous présentent les différentes phases de la méiose pour chaque espèce du genre *Hyoseris* L.

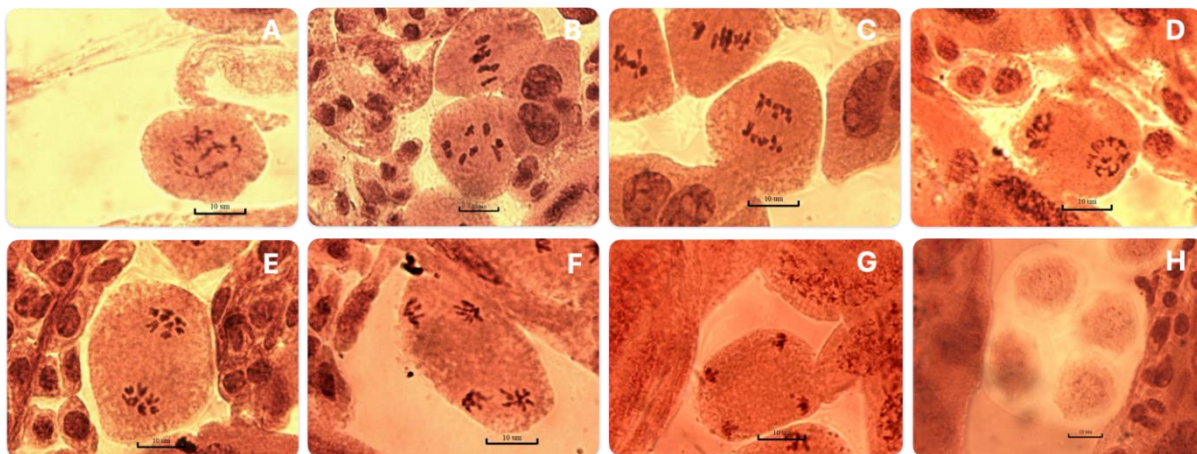


Figure 15: Etapes de la méiose chez *Hyoseris radiata*. **A:** prophase I (population d'Akbou); **B:** métaphase I (population Amtik); **C:** anaphase I (population d'Akbou); **D:** prophase II (population d'Adekar); **E:** métaphase II (population d'Amtik); **F:** anaphase II (population de Gouraya); **G:** télophase II (population de Sidi Sahnoune); **H:** tétrade (population de Gouraya). La barre d'échelle correspond à 10 µm.

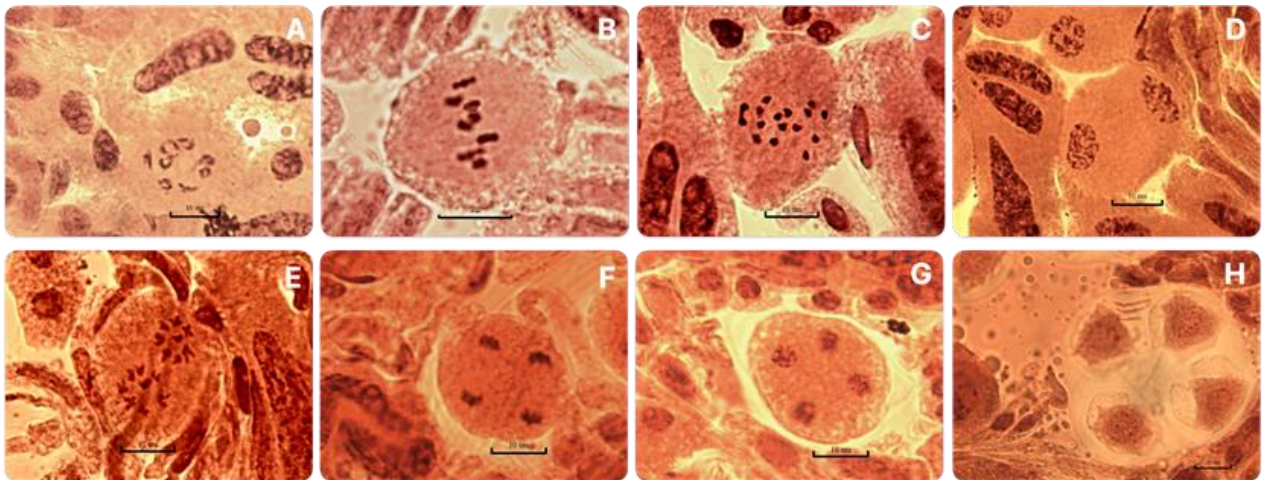


Figure 16: Etapes de la méiose chez *H. lucida*. **A:** prophase I (population de Melbou); **B:** métaphase I (population de Tighrent); **C:** anaphase I (population de Cap Carbon); **D:** prophase II (population Melbou); **E:** métaphase II (population de Cap Carbon); **F:** anaphase II (population d'Aokas); **G:** télophase II (population d'Aokas); **H:** tétrade (population d'Aokas). La barre d'échelle correspond à 10 µm.

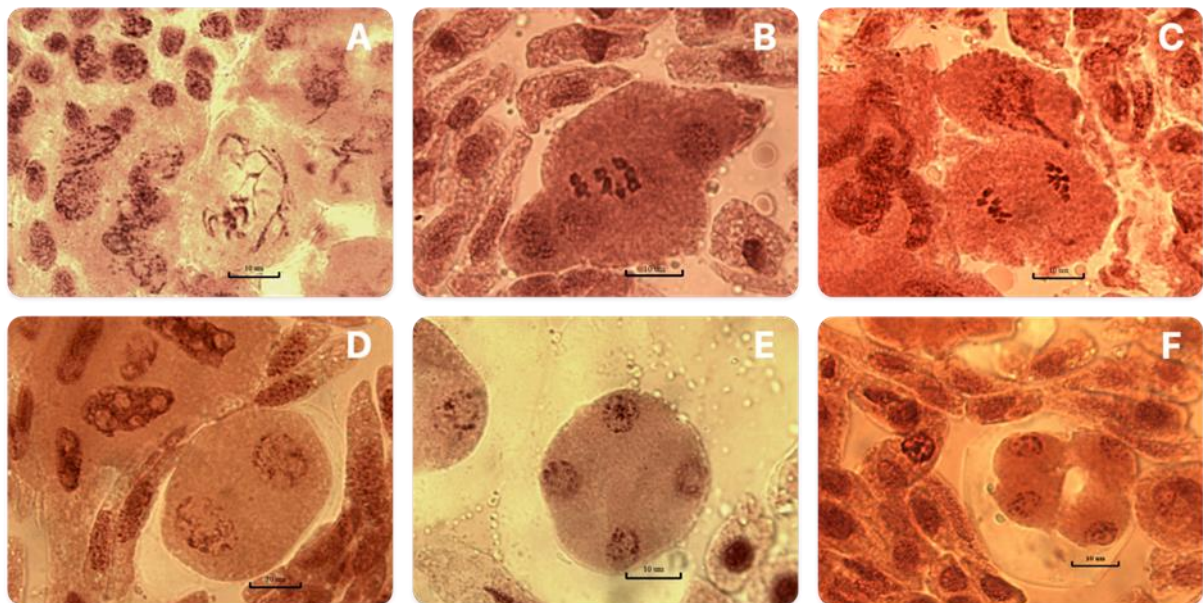


Figure 17: Les Etapes de la méiose chez *H. scabra* (population de Helouane). **A:** prophase I; **B:** métaphase I; **C:** anaphase I; **D:** prophase II; **E:** télophase II. La barre d'échelle correspond à 10 µm.

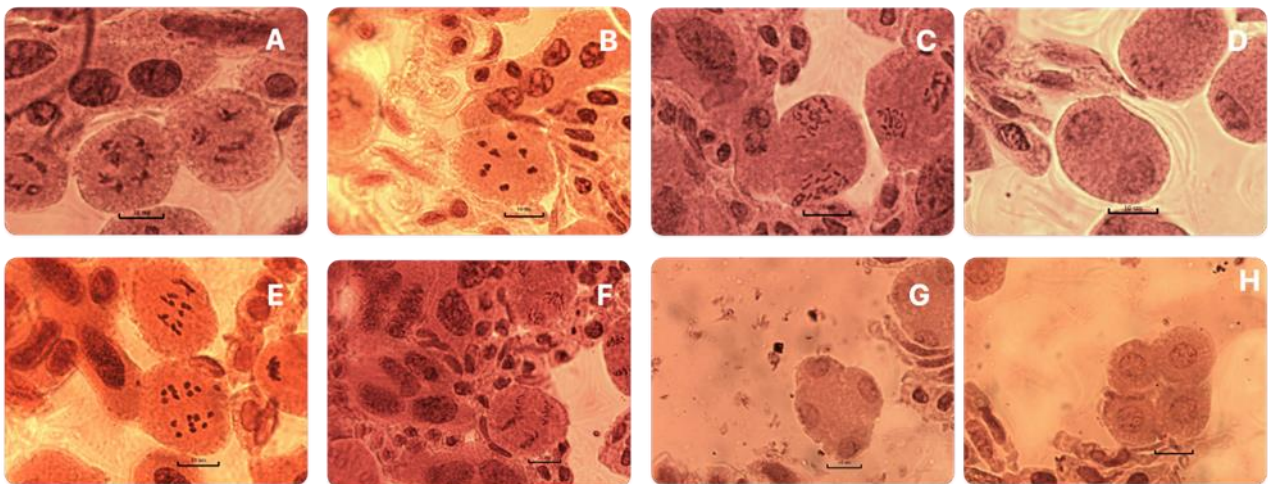


Figure 18: Étapes de la méiose chez la population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* Route de Boulimat. **A:** prophase I; **B:** métaphase I; **C:** anaphase I; **D:** prophase II; **E:** métaphase II; **F:** anaphase II; **G:** télophase II; **H:** tétrade. La barre d'échelle correspond à 10 µm.

III. 2. Types d'appariements observés en méiose I chez le genre *Hyoseris* L.

Pendant la division réductionnelle, les chromosomes homologues appariés deviennent visibles lors de la métaphase I. Nous avons pu observer différents types d'appariements chromosomiques : 8 bivalents, 6 bivalents et 1 tétravalent, 4 bivalents et 2 tétravalents, 2 bivalents et 3 tétravalents, 4 tétravalents, et cela pour toutes les populations étudiées (voir Figures 19-22).

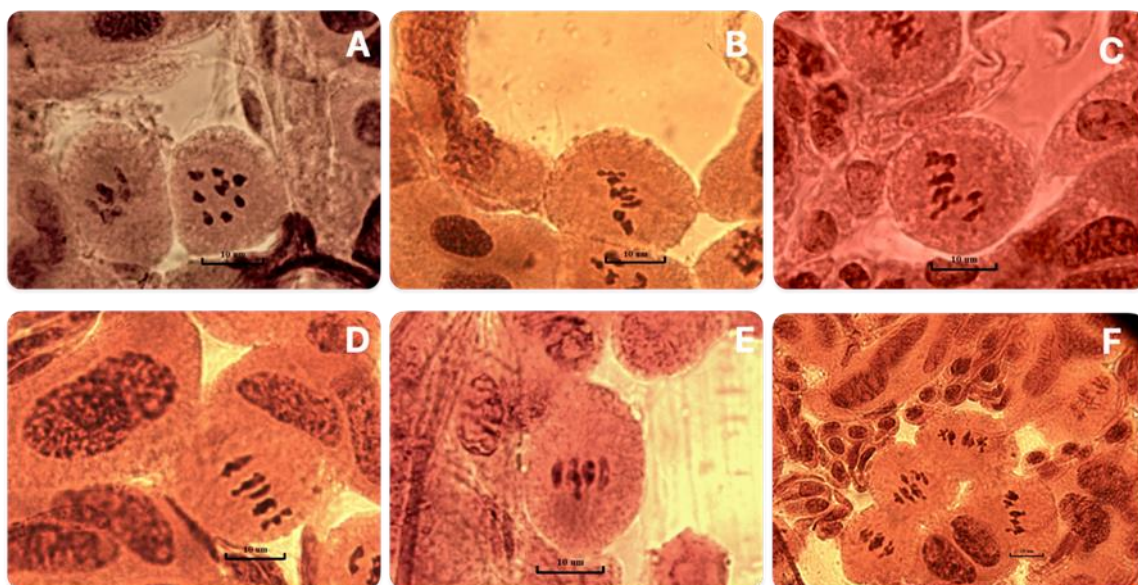


Figure 19: Cellules mères polliniques en métaphase I chez *Hyoseris radiata*. **A:** 8 bivalents (population Akbou); **B:** 6 bivalents et 1 tétravalent (population Akbou); **C:** 4 bivalents et 2 tétravalents (population Gouraya); **D:** 2 bivalents et 3 tétravalents (population Amtik); **E:** 4 tétravalents (population de Sidi Sahnoune); **F:** 4 cellules en métaphase I (population Amtik). La barre d'échelle correspond à 10 µm.

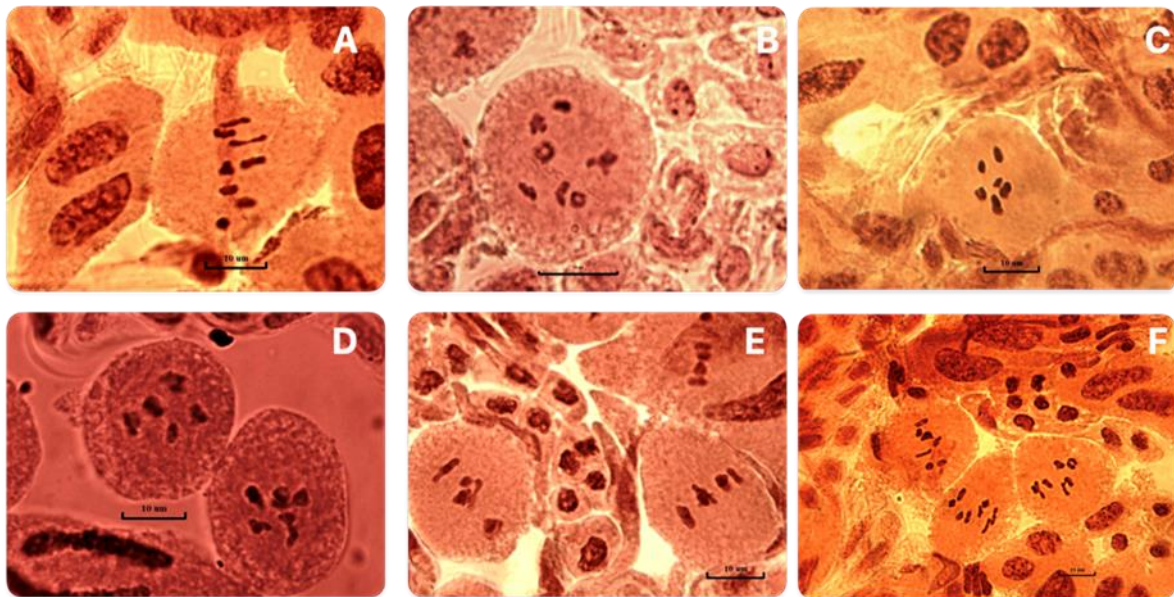


Figure 20: Cellules mères polliniques en métaphase I chez *Hyoseris lucida*. **A:** 8 bivalents (population de Cap Carbon) ; **B:** 6 bivalents et 1 tétravalent (population de Tighremt) ; **C:** 4 bivalents et 2 tétravalents (population de Melbou) ; **D:** 2 bivalents et 3 tétravalents (population d'Aokas) ; **E:** 4 tétravalents (population Cap Carbon). La barre d'échelle correspond à 10 µm.

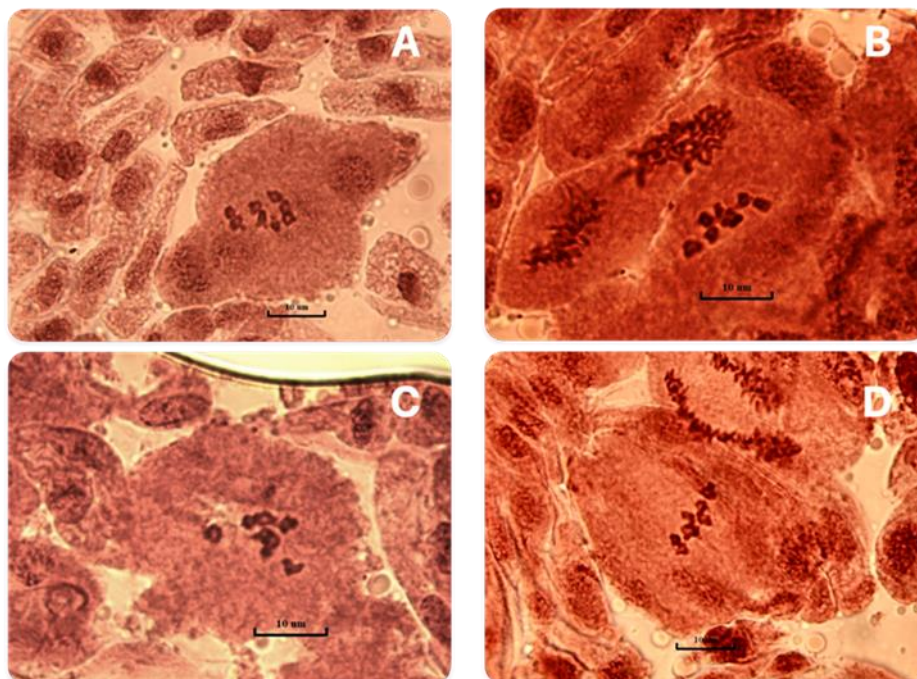


Figure 21: Cellules mères polliniques en métaphase I chez *Hyoseris scabra* (population Helouane). **A:** 8 bivalents ; **B :** 6 bivalents et 1 tétravalent ; **C :** 4 bivalents et 2 tétravalents ; **D :** 2 bivalents et 3 tétravalents ; **E :** 4 tétravalents. La barre d'échelle correspond à 10 µm.

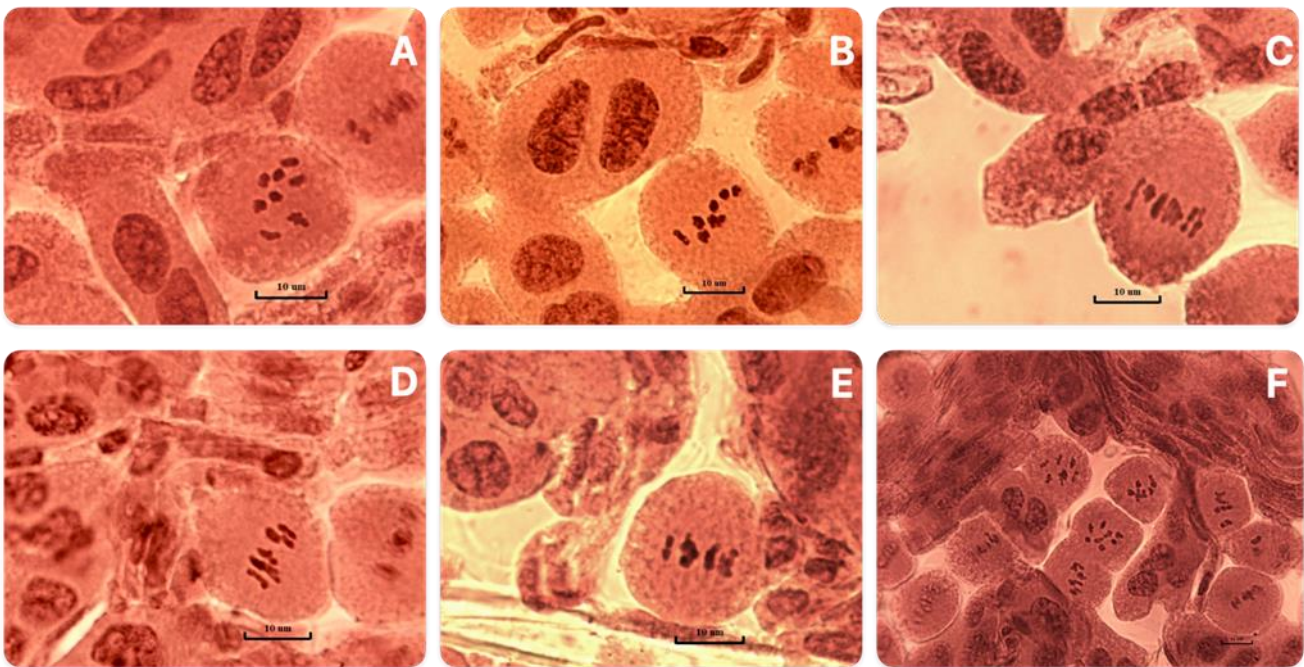


Figure 22 : Cellules mères polliniques en métaphase I chez la population. Intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* de la Route de Boulimat. **A**: 8 bivalents ; **B**: 6 bivalents et 1 tétravalent; **C**: 4 bivalents et 2 tétravalents; **D**: 2 bivalents et 3 tétravalents; **E**: 4 Tétravalents. La barre d'échelle correspond à 10 µm.

Le tableau III présente le décompte des tétravalents en métaphase I. Nous constatons que chez le genre *H. radiata*, le type d'appariement le plus courant est 2 bivalents et 3 tétravalents représente **25.80 %** pour toutes les populations étudiées. Pour le genre *H. lucida*, le type d'appariement le plus courant est 6 bivalents et 1 tétravalent avec une fréquence de 24.27%. Pour l'espèce *H. scabra*, nous avons pu étudié une seule population (Helouane) et le type d'appariement le plus courant est 6 bivalents et 1 tétravalent avec une fréquence de 40%. En revanche, pour la population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata*, malgré le petit nombre de population étudiées, le nombre de cellules tétravalentes est élevé 546 cellules de loin plus grand que ceux trouvés pour les autres populations (20-276 cellules tétravalentes) (tableau III). Pour cette population intermédiaire, Le type d'appariement le plus courant est 4 bivalents et 2 tétravalents avec une fréquence de 32.05%.

Tableau III : Comptage des tétravalents en métaphase I chez le genre *Hyoseris* L. B : bivalent ; T : tétravalent.

Espèce	Population	8B	6B+1T	4B+2T	2B+3T	4T	Nombre de cellules	
<i>H. radiata</i>	Gouraya	/	4	5	3	5		
	Adekar	/	/	/	3	4		
	Amtik	9	14	9	11	14		
	Akbou	4	4	4	6	1		
	Sidi Sahnoune	7	16	20	25	18		
	Σ	20	38	38	48	42		186
	%	10,75	20,43	20,43	25,80	22,58		100
<i>H. lucida</i>	Aokas	9	16	26	23	34		
	Cap Carbon	34	40	23	12	4		
	Malbou	9	6	8	3	1		
	Tighramte	4	5	7	8	4		
	Σ	56	67	64	46	43		276
	%	20,29	24,27	23,19	16,66	15,58		100
<i>H. scabra</i>	Helouane	4	8	3	3	2	20	
	%	20	40	15	15	10	100	
Population intermédiaire entre <i>H. lucida</i> et <i>H. radaita</i>	Route de Boulimate	79	130	175	90	72	546	
	%	14,46	23,80	32,05	16,48	13,18	100	
Ensemble des taxons	Σ	159	243	280	187	159	1028	
	%	15,47	23,64	27,24	18,19	15,47	100	

Le Tableau IV présente le dénombrement des plaques métaphasiques II pour le genre *Hyoseris* afin de déterminer si la régulation méiotique à n=8 est maintenue même en présence de tétravalents au niveau des métaphases I. Nous avons compté un nombre chromosomique de n=8 pour toutes les populations des espèces étudiées (figure 23). Pour *H. lucida*, nous avons compté 40 cellules métaphasiques avec n=8, pour *H. radiata* 89 cellules métaphasiques II, et pour la population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata*, 70 cellules métaphasiques II. Nous n'avons pas pu compter de cellules métaphasiques II pour *H. scabra* car nous n'avons pas étudié plusieurs populations.

Tableau IV : Comptage des plaque métaphase II avec 8 chromosomes chez le genre *Hyoseris* L.

Espèce	Population	Nombre de cellules métaphasique II à n=8	Σ	%
<i>H. lucida</i>	Aokas	11	40	27,5
	Cap carbon	20		50
	Malbou	9		22,5
<i>H. radiata</i>	Adkar	8	89	8,98
	Akbou	32		35,95
	Amtik	33		37,07
	Gouraya	16		17,97
Population intermediaire <i>entre H. lucida et H. radiata</i>	Route boulimate	70	70	100

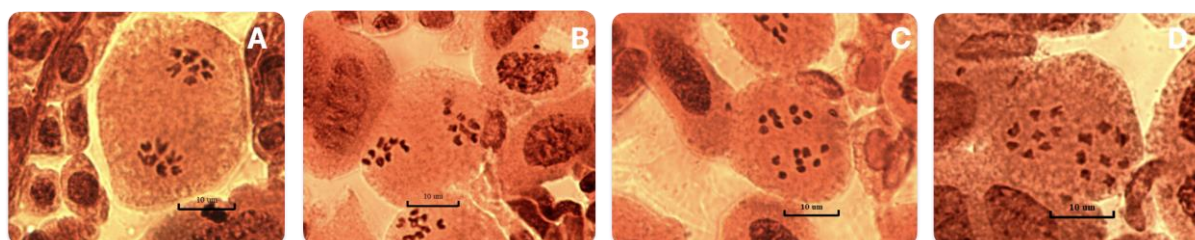


Figure 23: Cellules mères polliniques en métaphase II chez *Hyoseris* **A:** *H. radiata* (population Amtik) ; **B:** *H. radiata* (population Gouraya); **C-D:** population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* (Rout de Boulimat) La barre d'échelle correspond à 10 µm.

III.3. Les anomalies de la méiose observées chez *Hyoseris* L.

Durant les observations de la division méiotique, nous avons observées la présence de quelques anomalies à une faible fréquence : des chromosomes agglutinés (Figure 23 A), des ponts chromosomiques (Figure 23 B-C-D), une cytomixie (Figure 23 E), un chromosome retardataire (Figure 23 F).

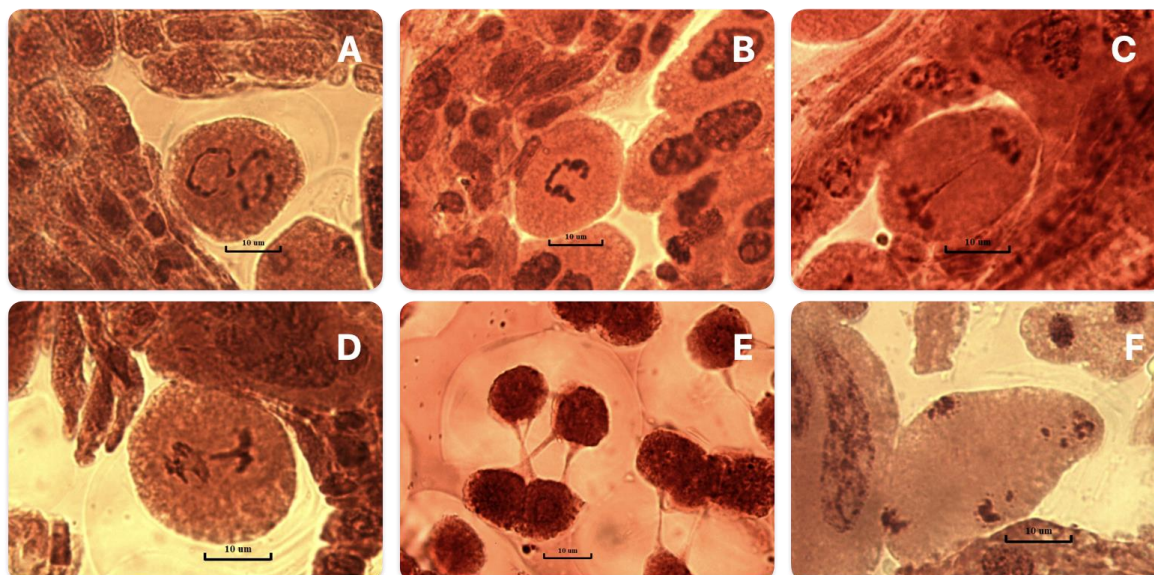


Figure 24: Les anomalies méiotiques observées chez le genre *Hyoseris* A: Chromosomes agglutinées chez *H. radiata* (population de Gouraya); B-C-D: Ponts chromosomiques chez population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* de route de Boulimat; E: Cytomixie chez *H. lucida* (population de Cap Carbon) La barre d'échelle correspond à 10 µm, F: chromosome retardataire *H. scabra* (population Heloune)

III.4. Analyse de la fertilité pollinique

Le taux de la fertilité pollinique a été évalué sur des fleurs issues de 3 capitules sélectionnées au hasard pour chaque population. Les grains uniformément colorés en bleu sont considérés comme fertiles, et les grains non colorés sont considérés comme stériles (Figure 25).

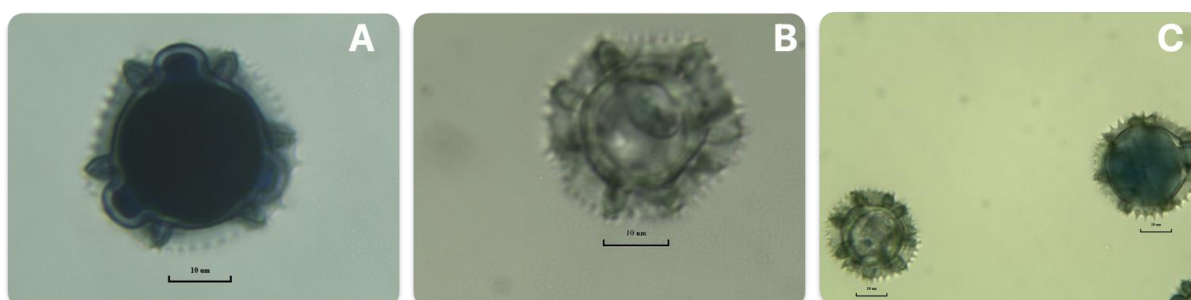


Figure 25 : Photographies des grains de pollen fertiles (Bleu foncé) et stériles (Bleu clair) du genre *Hyoseris* L. Coloration au bleu de coton. A: fertile; B: stérile; C: Stérile (à gauche) et fertile (à droite).

Les populations des quatre espèces étudiées ont des taux de fertilité pollinique élevés, variant entre 80% et 100% (Tableau V). La population de Sidi Sahnoune a la fertilité pollinique moyenne la plus faible ($81,21 \pm 11,62$), tandis que les valeurs les plus élevées se trouvent dans la population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* de Route de Boulimat ($99,66 \pm 0,22$), suivie de celle Akbou ($99,59 \pm 0,46$). Les autres groupes ont des taux de fertilité intermédiaires, comme indiqué dans le Tableau V.

Tableau V: Taux de fertilité pollinique chez les populations de *Hyoseris* L. étudiées.

Espèces	Population	Taux de fertilité (%)						Moyenne \pm écart-type
<i>H. radiata</i>	Gouraya	98,17	99,27	99,33	100	99,45	99,26	$99,2 \pm 0,60$
	Sidi sahnoune	64,66	78,64	89,94	76,83	80	97,11	$81,21 \pm 11,62$
	Akbou	98,78	100	100	99,39	99,81	99,60	$99,59 \pm 0,46$
	Amtik	99,07	99,32	99,04	44,93	85,96	98,68	$85,66 \pm 23,48$
<i>H. lucida</i>	Aokas	100	97,75	98,6	99,56	100	99,59	$99,25 \pm 0,57$
	Cap Carbon	99,60	94,89	94,78	99,79	83,03	83,81	$92,65 \pm 7,48$
	Malbou Falaise	99,18	97,40	99,32	99,02	98,38	98,94	$98,70 \pm 0,72$
	Melbou Fontaine	99,74	97,47	98,60	99,03	99,48	99,30	$99,27 \pm 0,82$
	Tighremt	99,10	98,84	98,7	95,95	99,57	99,40	$98,59 \pm 1,34$
<i>H. scabra</i>	Helouane	98,75	98,52	99,37	97,93	98,87	99,31	$98,79 \pm 0,53$
Population Intermédiaire Entre <i>H. lucida</i> et <i>H. radiata</i>	Route de Boulimat	100	99,85	99,63	99,57	99,56	99,39	$99,66 \pm 0,22$

III.5. Taille des grains de pollen

Les résultats de la comparaison des tailles des grains de pollen sont présentés dans les tableaux VI à VII. Le Tableau VI compare les moyennes des tailles des grains de pollen par population et le tableau VII compare les moyennes par taxon.

D'après les résultats obtenus, les tailles moyennes des grains de pollen présentent une variabilité importante :

En termes de taille des grains de pollen, la population Amtik ($P=35,47\pm 1,36$ et $E=35,57\pm 1,73$) *H. radiata* présente la plus grande taille, suivie par Akbou ($P=33,92\pm 1,98$ et $E=34,14\pm 2,08$),

Par rapport aux autres populations de la même espèce, la population de Sidi Sahnoune a la plus petite taille ($P=30,08\pm 1,94$ et $E=35,44-26,80$). La population de Gouraya présente une taille intermédiaire ($P=31,76\pm 1,98$ et $E=32,24\pm 2,06$),

La taille des grains de pollen des populations de Melbou-Fontaine ($p=34,15\pm 2,25$ et $E=34,23 \pm 2,25$) et celle de la population de Aokas-Falaise ($P=33,90 \pm 2,03$ et $E=34,18 \pm 1,94$) sont statiquement identique et plus grande en comparant avec les populations de Tighremt ($P=33,07 \pm 1,75$ et $E=32,26 \pm 1,88$) et Cap Carbon ($P=32,24 \pm 2,523$ et $E=32,81 \pm 2,33$) qui ont des tailles intermédiaires,

La taille des grains de pollen des population de Helouane de *H. scabra*, la population de Route de Boulimat, la population de Gouraya et celle du Cap Carbon ont des tailles intermédiaires (Tableau VI).

Tableau VI : Comparaison de l'axe polaire (P) et l'axe équatoriale (E) et leur rapport (P/E) chez les populations de *Hyoseris* étudiées, Les valeurs sont exprimées comme Min-Max et Moyenne \pm écart-type, Les valeurs marquées par différentes lettres sont significativement différentes (Test HSD, $\alpha = 0,05$)

Espèce	Population		P (μm)	E (μm)	P/E
<i>H. lucida</i>	1	Melbou Fontaine	37,40-28,45 34,15 \pm 2,25 E	38,87-27,46 34,23 \pm 2,25 D	1,13-0,88 0,99 \pm 0,06 AB
	2	Aokas Falaise	38,52-29,21 33,90 \pm 2,03 E	39,71- 29,20 34,18 \pm 1,94 D	1,13 - 0,88 0,99 \pm 0,06 AB
	3	Tighremt	37,49-29,01 33,07 \pm 1,75 CDE	35,59-27,48 32,26 \pm 1,88 B	1,24-0,89 1,03 \pm 0,07 B
	4	Cap Carbon	38,52-25,28 32,24 \pm 2,52 BCD	38,89-28,14 32,81 \pm 2,33 BC	1,19-0,75 0,98 \pm 0,09 A
<i>H. radiata</i>	5	Akbou	38,41-27,63 33,92 \pm 1,98 E	38,27-28,95 34,14 \pm 2,08 D	1,16- 0,84 1,00 \pm 0,07 AB
	6	Sidi Sahnoune	34,82 -24,75 30,08 \pm 1,94 A	35,44- 26,80 30,80 \pm 1,94 A	1,16- 0,77 0,98 \pm 0,08 A
	7	Gouraya	35,29-25,44 31,76 \pm 1,98 AB	37,01-27,34 32,24 \pm 2,06 B	1,15-0,83 0,99 \pm 0,08 AB
	8	Amtik	39,17-32,67 35,47 \pm 1,36 F	39,84-31,96 35,57 \pm 1,73 E	1,11-0,90 1,00 \pm 0,05 AB
Population Intermédiaire entre <i>H. lucida</i> et <i>H. radiata</i>	9	Route de Boulimat	37,79-28,44 33,36 \pm 2,12 DE	37,79-29,14 33,71 \pm 1,98 CD	1,15-0,84 0,99 \pm 0,06 AB
<i>H. scabra</i>	10	Helouane	37,18-26,53 31,70 \pm 2,65 AB	37,26-25,98 31,59 \pm 2,82 AB	1,17-0,84 1,01 \pm 0,09 AB

Les taille du grains de pollen de *H. lucida* (P = 33,33 \pm 2,27 μm ; E = 33,37 \pm 2,27 μm) et celui de la population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* (P = 33,36 \pm 2,12 μm ; E=33,71 \pm 1,98) sont des taille similaire et plus grands, suivis de *H. radiata* (P = 32,82 \pm 2,74 μm ; E = 33,19 \pm 2,66 μm) avec des tailles intermédiaires, puis de *H. scabra* (P = 31,70 \pm 2,65 μm ; E = 31,59 \pm 2,82 μm) avec des tailles plus petites (Tableau VII),

Les rapports entre l'axe polaire (P) et l'axe équatorial (E) des grains de pollen sont similaires pour toutes les populations et toutes les espèces étudiées, avec une moyenne de $1,01 \pm 0,06$. Le test t pour échantillons appariés induit les moyennes de P ($33,01 \pm 2,52$) et E ($33,20 \pm 2,49$) sont statistiquement égales ($t = -1,94$; $ddf = 580$; $p = 0,053$), dénotant un pollen de forme sphérique.

Tableau VII : Comparaison de l'axe polaire (P) et l'axe équatoriale (E) et leur rapport (P/E)

Espèce	P (µm)	E (µm)	E/P
<i>H. lucida</i>	38,52-25,28	39,71-27,46	1,24 -0,75
	$33,33 \pm 2,27$ B	$33,37 \pm 2,27$ B	$1,00 \pm 0,07$ A
<i>H. radiata</i>	39,17-24,75	39,84-26,80	1,16-0,77
	$32,82 \pm 2,74$ AB	$33,19 \pm 2,66$ B	$0,99 \pm 0,07$ A
Population intermédiaire entre <i>H. lucida</i> et <i>H. radiata</i>	37,79-28,44	37,79-29,14	1,15-0,84
	$33,36 \pm 2,12$ B	$33,71 \pm 1,98$ B	$0,99 \pm 0,06$ A
<i>H. scabra</i>	37,18-26,53	37,26-25,98	1,17-0,84
	$31,70 \pm 2,65$ A	$31,59 \pm 2,82$ A	$1,01 \pm 0,09$ A

L'ACP sur les tailles des grains de pollen ne montre pas de différences en les taxons (Figure, 26),

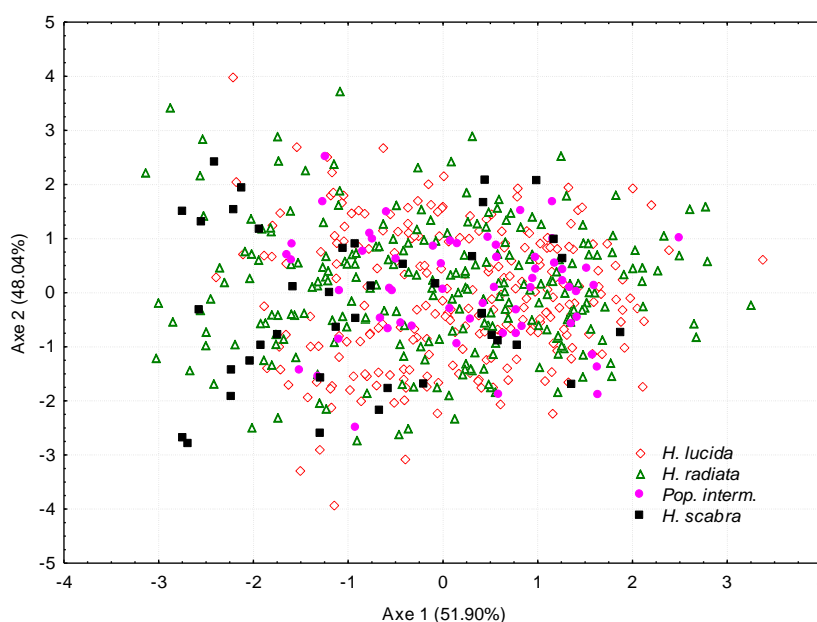


Figure 26: Nuage de points ACP comparant les grains de pollen des différents taxons chez *Hyoseris*, Axe 1 est défini par les variables P (axe polaire) et E (axe équatoriale) avec respectivement $R = 0,90$ et $R = 0,86$; Axe 2 est défini par P/E (rapport de P sur E) avec $R = 0,99$, Les pourcentages entre parenthèses correspondent aux valeurs propres des axes,

III.6. Autres résultats

III.6.1. Cléistogamie chez *Hyoseris*

Nous n'avons pas observé de pollen germé avant anthèse chez le matériel observé. Il n'y a donc pas de cléistogamie. La Figure 27 montre des stigmates couverts de pollen chez *H. lucida* de population Melbou fontaine

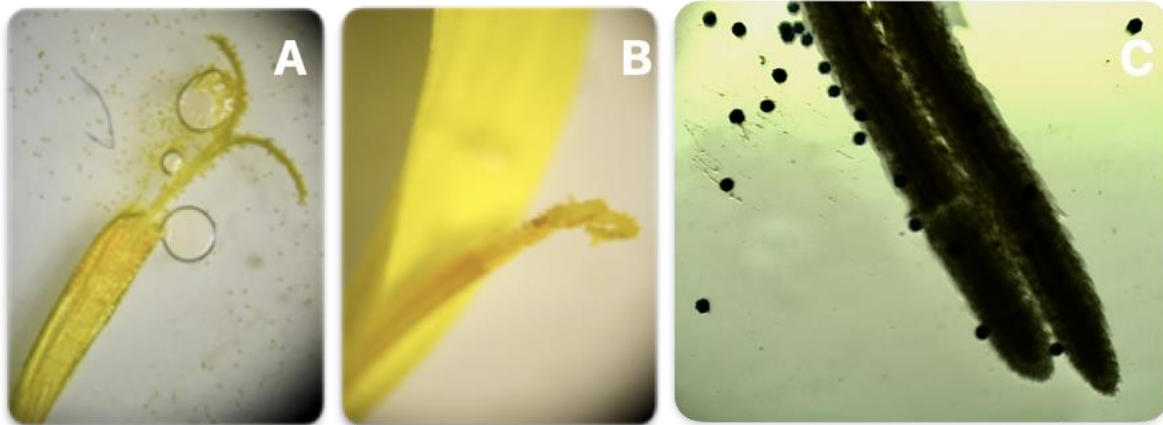


Figure 27 : Photographies de stigmates couverts de pollen chez *Hyoseris lucida* (population de Melbou fontaine)

III.6.2. Cellules du tapetum

D'après Schrauwen et al., (1996), les cellules du tapetum proviennent des mêmes cellules que les gamétophytes mâles, ensuite elles se différencient dans le but d'aider les grains de pollen dans leur développement. La Figure 28 ci-dessous montre les différentes cellules du tapetum que nous avons pu observer durant l'analyse des méioses chez les trois espèces.

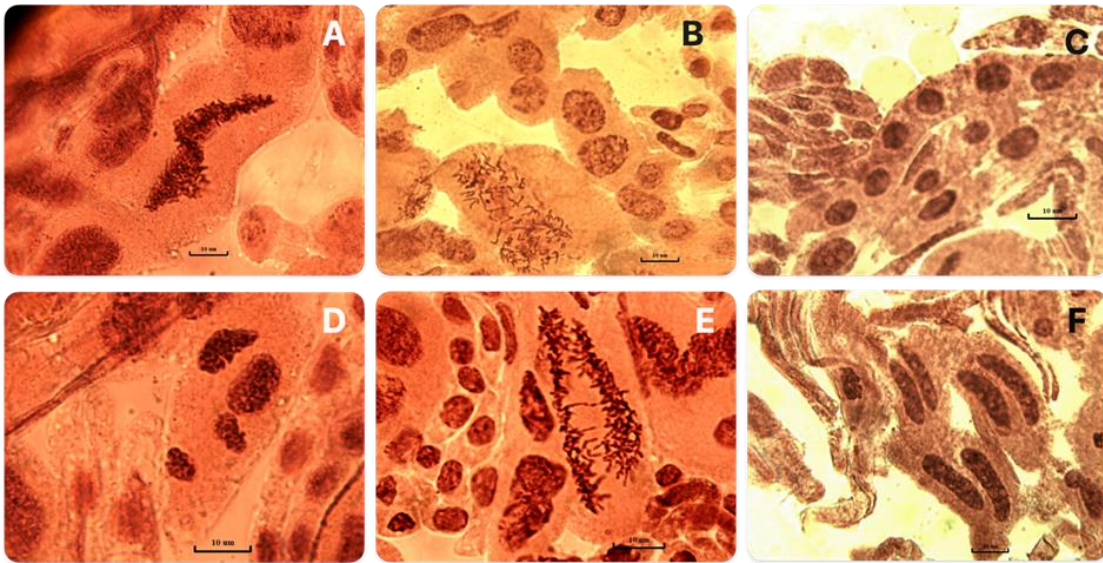


Figure 28: Les différentes cellules du tapetum observées chez les espèces *Hyoseris*. **A:** Cellule en endomitose ; **B** : Cellule à 2 noyaux géants ; **C:** Cellules tétranuclées ; **D** : Cellule à 4 noyaux géants ; **E:** Cellule en endomitose. La barre d'échelle correspond à 10 µm.

III.6.3. Test de germination des grains de pollen

Nous n'avons pas constaté de résultats concluants pour la germination des grains de pollen,

IV. Discussion

IV. Discussion

IV.1. Dénombrement chromosomique

L'étude de la méiose, faite sur les boutons floraux chez *H. radaita*, *H. lucida*, *H. scabra* et population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata*, a permis d'observer plusieurs plaques métaphasiques avec des chromosomes bien séparés. Tous nos comptages sont de $n = 8$ correspondants à $2n = 2x = 16$ avec $x = 8$ comme nombre de base. Notre étude des mitoses faites sur les racines n'a abouti à aucun résultat tandis que nous avons observé une mitose à $2n = 2x = 16$ chez *H. lucida* de la population Cap Carbon sur les jeunes boutons floraux. Le même a été rapporté par Martinoli, (1953), Bartolo et al. (1978), Sahnoune (1985), Tzanoudakis et Kyriotakis (1987), Brullo et Pavone (1988), ; Brullo et al. (1990), Klein et al. (1997).

IV.2. L'origine tétraploïde du cytotype observé chez *Hyoseris* L

Très fréquemment en métaphase I des chromosomes appariés par 4 (tétravalents) ont été observés. Cette observation répétée de tétravalents suggère que les taxons étudiés sont d'origine tétraploïde, c'est-à-dire le cytotype de $2n = 2x = 16$ ($x = 8$) est en fait un $2n = 4x = 16$ ($x = 4$). Malgré cette tétraploïdie, la méiose est régulière au cours de l'anaphase I et métaphase II méiotique, la séparation des chromosomes étant simultanée et équilibrée comme dans les formes diploïdes, de sorte qu'en métaphase II, le nombre de chromosomes compté est toujours de $n = 8$. Cette présence de tétravalents chez ce cytotype indique que son apparition par dédoublement du cytotype ancestral à $2n = 2x = 8$ ($x = 4$) est relativement récente. La ségrégation régulière des chromosomes en anaphase I pour aboutir à des métaphases II à $n = 8$ indique que ce cytotype est en voie de diploïdisation. Une fois la diploïdisation achevée, les chromosomes perdent leur homologie par 4 et acquièrent une homologie par deux et formeront que des bivalents en métaphase I, pas de tétravalents.

Pour estimer le nombre maximum de de métaphases I à tétravalents, nous avons compté les paquets de chromosomes en métaphase I. Ces données sont présentées dans le Tableau III (voir partie Résultats). Nous avons pu observer 5 types appariements au niveau des plaques métaphasiques I : 8 Bivalents, 6 Bivalents +1 Tétravalent, 4 Bivalents + 2Tétravalents, 2 Bivalents + 3 Tétravalents, 4 Tétravalents. Les associations où les tétravalents sont présents sont souvent plus élevées que celle avec seulement des bivalents, montrant ainsi que l'appariement en tétravalents n'est pas un phénomène rare (Tableau III, résultats). Pour appuyer la véracité de la tétraploïdie du genre *Hyoseris*, nous avons recherché l'existence du nombre $n = 4$ parmi les genres de la tribu des Lactuceae (= Cichorieae) à laquelle appartient le genre

Hyoseris en utilisant Chromosome Counts Database (<http://ccdb.tau.ac.il/>) (Rice et al., 2015). Les résultats sont synthétisés dans le Tableau VIII. Il en ressort que dans 9 genres il subsiste encore des espèces à $n = 4$ à côté de celles à $n = 8$. Cette observation suffit à elle seule pour affirmer que les $2n = 16$ sont d'origine tétraploïde. L'observation de tétravalents ne fait que confirmer cette évidence.

Tableau VIII : Le nombre d'espèces dans la tribu des Lactuceae avec $x = 4$

Genre	Nombre totale des espèces	Nombre des espèces à $X=4$
<i>Heteracia</i>	1	1
<i>Leontodon</i>	120	51
<i>Hypochaeris</i>	105	61
<i>Youngia</i>	24	1
<i>Taraxacum</i>	792	3
<i>Krigia</i>	11	5
<i>Askellia</i>	3	1
<i>Crepis</i>	287	125
<i>Catanache</i>	8	1

Dans la tribu des Lactucées, le nombre de base est variable ($x=3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$ et plus). Deux genres possèdent des nombres de base variables : *Crepis* ($x = 3, 4, 5, 6, 7$) et *Hypochaeris* ($x = 3, 4, 5, 6$) (Tomb, 1978). Turner et al. (1961 in Tomb, 1978) suggèrent que le nombre de base ancestral de la tribu des lactucées est $x = 4$ ou 5. Les autres nombres de base seraient apparues le jeu d'aneuploïdie et d'hybridations interspécifiques. Jauzein (2020) suggère aussi que c'est possible que $x=4$, serait un nombre ancestral dans le genre *Hypochaeris*.

III.3. La fertilité pollinique

Les taux de fertilité pollinique calculés sont très élevés pour toutes les populations des quatre espèces abordées dans ce travail. Les taux de fertilité élevés concordent avec presque l'absence d'anomalies méiotiques observées chez les populations étudiées. Ces taux élevés montrent que les conditions climatiques et environnementales de ces espèces sont adéquates et que leurs caryotypes sont stables. Ils prouvent aussi que la formation de tétravalents n'affectent pas la fertilité pollinique, prouvant ainsi que la ségrégation des chromosomes en anaphase I est régulière.

III.4. La taille du pollen

Le type de pollen du genre *Hyoseris* est de type lactuca (Osmane, 2006). Blackmore, (1981) a noté que le pollen de *Hyoseris* L. ressemble à celui de plusieurs espèces telles que *Hypochoeris* L., *Launaea* Cass. ou *Sonchus* L.

Les données du tableau VI des résultats, il y a une légère variation de taille de pollen entre les différentes populations d'*Hyoseris*. Par exemple, la population 6 (Sidi sahnoune) de l'espèce *H. radaita* a des tailles de pollen plus petites tandis que la population 8 (Amtik) a plus grande taille de pollen.

Pour l'espèce *H. lucida* de la population Aokas-Falaise et Melbou-Fontaine ont des tailles de pollen plus grandes, tandis que les autres populations ont une taille de pollen intermédiaire. Les valeurs de E/P reflètent le rapport entre la longueur de l'axe majeur et celle de l'axe mineur du pollen. Ce rapport avoisinant la valeur de 1 et l'égalité statistique des deux axes montrent que les grains de pollen sont sphériques.

Beaucoup d'auteurs ont montré que souvent la taille des grains est positivement corrélée avec la quantité d'ADN dans les cellules. Cela semble vérifié pour le cas d'*Hyoseris* car *H. scabra* montrant les plus petits grains de pollen montrent aussi une longueur totale des chromosomes relativement plus petite en comparaison avec *H. lucida* et *H. scabra*.

III.5. La Cléistogamie

Le test de germination effectué sur le pollen de *Hyoseris* a donné des résultats négatifs. C'est probablement parce que le pollen est défectueux. L'absence de pollen germés sur les stigmates appellent deux hypothèses; Soit que le pollen ne germe pas en quantité car les fleurs sont uniovulées (un seul grain de pollen suffit pour le féconder), soit il y a existence d'auto incompatibilité. Plus d'expériences et d'observations sont requises pour clarifier ce point.

Conclusion

Conclusion

Notre travail porte sur une étude cytogénétique des espèces du genre *Hyoseris* L. de la famille des Astéracées. Elle a été réalisée au niveau du Laboratoire de Recherche en Ecologie et Environnement de l'Université Abderrahmane MIRA de Bejaïa. Nous avons appliqué des méthodes de la cytogénétique classique (analyse des mitoses, analyse des méioses, analyse des fertilités polliniques et tailles des grains de pollen), après avoir récolté et mis en conservation des boutons floraux. Nous avons trouvé les résultats suivants :

Les dénombrements chromosomiques chez *Hyoseris* en méioses ont permis de compter un nombre chromosomique de $2n = 2x = 16$ pour toutes les populations étudiées. Ce résultat a été confirmé sur métaphase mitotique pour la population de Cap Carbon de *H. lucida*, où nous avons pu compter $2n = 16$.

En plus du dénombrement chromosomique, l'analyse des méioses nous a permis d'observer les différents stades de la méiose, où nous avons constaté sur des métaphases méiotiques la présence fréquente du tétravalents indice d'autopolyploïdie. Donc correspondant probablement au tétraploïde à $2n = 4x = 16$ avec un nombre de base $x=4$. Cette interprétation est confirmée par la présence simultanée de $n = 4$ et $n = 8$ dans la tribu des *Lactuceae* notamment dans les genres *Leontodon*, *Hypochaeris* et *Crepis*. Malgré cette autopolyploïdie, la ségrégation des chromosomes est régulière en méiose I.

Les principales anomalies méiotiques observées en faible fréquences sont : la cytomixie, les chromosomes retardataires et les chromosomes agglutinés.

Les résultats indiquent que les taux de fertilité sont élevés pour la plupart des populations de toutes les espèces étudiées, avec des variations allant de 80% à 100%, en accord avec les faibles fréquences des anomalies méiotiques et la ségrégation régulière des chromosomes en méiose I. L'espèce *H. radiata* a la fertilité pollinique moyenne la plus faible (81.21 ± 11.62) tandis que les valeurs les plus élevées ont été observées dans la population intermédiaire ($99.66 \pm 0,22$).

La plus grande taille des grains de pollen a été mesurée pour *H. lucida* avec ($P=33,33 \pm 2,27 \mu\text{m}$, $E = 33,37 \pm 2,27 \mu\text{m}$) et la population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* ($P=33,36 \pm 2,12 \mu\text{m}$; $E = 33,71 \pm 1,98$), suivis par *H. radiata* avec ($P=32,82 \pm 2,74 \mu\text{m}$; $E = 33,19 \pm 2,66 \mu\text{m}$), puis par *H. scabra* ($P=31,70 \pm 2,65 \mu\text{m}$; $E=31,59 \pm 2,82 \mu\text{m}$) avec des tailles plus petites. La taille des grains de pollen semble corrélée avec la taille du caryotype chez le genre *Hyoseris*.

Perspectives

- Clarifier le statut à accorder à la population intermédiaire entre *H. lucida* et *H. radiata* : s'agit-il d'un *H. lucida* acclimaté aux conditions de non exposition à l'influence directe de la mer.
- Rechercher la présence de tétravalents chez d'autres espèces d'autres genres de la tribu des Lactucées.
- Clarifier le statut taxonomique des espèces de *Hyoseris* L. par l'étude cytogénétiques de leurs hybrides expérimentaux.

Références

- Amirouche R. & M.T. Misset, 2009 : Flore spontanée d'Algérie : différenciation éco géographique des espèces et polyploïdie Flore spontanée d'Algérie : Cahier Agriculture 18 (6) : novembre-décembre 2009.
- Bala S. & R. Chand Gupta, 2013: Male meiosis and chromosome number in Asteraceae family from District Kangra of H.P. (WESTERN HIMALAYAS). International Journal of Botany and Research (IJBR), 3(1): 43-58.
- Blackmore S., 1981: Palynology and intergeneric relationships in subtribe Hyoseridinae (Compositae: Lactuceae). Bot.J. Linn.Soc.82: 1-13
- Bremer K., 1994 _b. Asteraceae, _ cladistics and classification. Ed. Timber Press, London. 752 p
- Brullo S., Minissale P., Siracusa G. & G. Spampinato, 1997: Taxonomic and phytogeographical considerations on *Hyoseris taurina* (Compositae) a S. Tyrrhenian element. Bocconea 5: 707-716.
- Brullo S., Pavone P. & M.C. Terrasi, 1980 : Numeri cromosomici per la flora italiana. Inform. Bot. Ital. 11 : 161-171.
- Brullo S. & P. Pavone, 1978 : numeri cromosomici per la flora italiana. /nf. bot. iral., 10 :464-483.
- Brullo S., Guglielmo A., Pasta S., Pavone P. & C. Salmeri, 2008 : Note citotassonomiche sul genere *Thapsia* L. (Apiaceae). Informatore Bot. Italiano, 40 Suppl. 3 : 41-48.
- Chérifi, K., 2016: Evidence of natural hybridization and introgression between *Medicago ciliaris* and *Medicago intertexta*. International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR) 2 (7): 129-135.
- Cronquist A., 1981: An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, 248-250.
- Funk V.A., Susanna A., Stuessy T.F. & H.E. Robinson, 2009: Classification of Compositae. In: Funk VA, Susanna A, Stuessy TF, Bayer RJ. Systematics, Evolution, and Biogeography
- Gaussen H., Leroy F. & P. Ozenda, 1982 : Précis de botanique (Végétaux supérieurs). 2 Ed Masson, Paris, 580p.
- Giseke P.D., 1792: Praelectiones in Ordines Naturales Plantarum. Hoffmann, Hamburg.
- Guignard J.L., 1994 : Abrégé botanique. Ed Masson, Paris, 276p.

- Halacsy E.V., 1902: *Conspectus florum Graecae*, Vol. II Lipsiae. Loon C. von and Kieft B. 1980. IOPB Chromosome numbers reports LXCIII (Löve Ä. ed.). *Taxon* 29 : 538.
- Heywood V.H., 1985: *Las plantas con flores*. Ed. Reverté. España, 329 p
- Huseyin I., Hayırlıoglu-Ayaz S. & M. Ozcan, 2007: Chromosome numbers of the twenty-two Turkish plant species. *Caryologia*, 60 (4): 349–357.
- Jahier J., 1992 : *Techniques de cytogénétique végétale* : INRA, Paris. 183p.
- Jorde L., Cary J., Bomshad M. & R. White, 2004 : *Génétique médicale*, Edition Elsevier Française, 395 p.
- Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A. & P.F. Stevens, 1999: *Plant Systematics. A phylogenetic approach*. Massachusetts, Sinauer Associates.
- Klein J., Sahnoune M., Valles J., Cerbah M., Coulaud j. & S. Siljak-Yakovlev, 1997 : Analyse cytogénétique comparée de trois taxons du genre *Hyoseris*. *Lagascalia*, 19 : 529-536.
- Laberche J.C., 1999, 2004, 2010 : *Biologie végétale*. Dunod, Paris, 318 p.
- Lamarck J.B., 1789 : *Encyclopédie méthodique, Botanique*, t.3, pp. 158-160.
- Leitch I.J & M.D. Bennett, 1997: Polyploidy in Angiosperms. *Trends in Plant Science*, 8: 470-76.
- Leroy J.F., 1982 : *Les Angiospermes*. In *Précis de botanique 2. Les végétaux supérieurs*. Gaussen, H. ; J.-F. Leroy et P. Ozenda. 2 ed. Masson, Paris. 579 p.
- Linné C., 1737: *Genera plantarum*, p. 237 (in Rouy, 1908).
- Linné C., 1753: *Species plantarum*, 2 : 808-811, B. Quaritch LTD, London 1959.
- Löve D., 1942: Some contribution to the cytology of silenoideae. *Svensk bot. Tidskr.* 36: 262
- Martinoli G., 1953: Studio citotassonomico dei generi *Hyoseris* e *Robertia* con particolare riferimento all' *Hyoseris taurina* G. Martinoli sp. nov. (Asteraceae). *Caryologia* 5: 253
- Kilian N., Gemeinholzer B. & H.W. Lack, 2009 : *Cichorieae Cap.24* (PDF), Dans *Systématique, Evolution et biogéographie Composées*, Vienne, Association internationale pour la taxonomie végétale (IAPT), pp.343-383.
- Kilian N., Hand R. & E.v. Raab-Straube, 2021 : *Hyoseridinae. Cichorieae Systematics Portal* (general editors). Published on the internet. Accessed: 2021 Feb. 16.
- Osman A.K.E., 2006 b: Pollen types of the Egyptian species of tribe Lactuceae (subfamily Cichorioideae-Compositae). *Acta Botanica Croatica* 65: 161–180.

- Otto S.P. & J. Whitton, 2000: Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*, 34: 401-437.
- Pavone P., 1988: *Hyoseris frutescens*, a new species from Gozo (Malta). *Candollea* 43: 717-726.
- Peer Y., Van de Maere S. & A. Meyer, 2009: The evolutionary significance of ancien genome.
- Peruzzi L. & R. Vangelisti, 2010: Considerazioni tassonomiche su *Hyoseris taurina* (Asteraceae) e sua presenza in Italia centrale. *Annali di Botanica (Roma), Quaderni*, 2010, n.s.: 119-134.
- PHILIPPE J., juin 2020 : cytotaxonomie de la flore francilienne flore d'Île-de-France, tome 3.
- Quézel P. & S. Santa, 1962-1963 : Nouvelle flore de l'Algérie (et des régions désertiques méridionales). C.N.R.S. Ed., Paris, 1170 p. (2 vol.).
- Quézel P. et S. Santa, 1962 : Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1, Ed. CNRS, 558 p.
- AHMM R., AKMR I. & MM. Rahman, 2011: The Family Asteraceae of Rajshahi Division, Bangladesh, VDM Verlag Dr. Muller Publishing House Ltd. Germany, 1-176.
- Ramsey J. & D.W. Schemske, 1998: Pathways, mechanisms and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 467- 501. Duplications. *Nature Reviews Genetics*, 10(10): 725-732.
- Rice A., Glick L., Abadi S., Einhorn M., Kopelman N.M., Salman-Minkov A., Mayzel J., Chay O. & I. Mayrose, 2014: The Chromosome Counts Database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. *New Phytologist* (2014). Doi: 10.1111/nph.13191.
- Sahnoune M., 1994: Phylogénie in the genus *Hyoseris* L. (Lactuceae). International Compositae conference, Royal Botanic Gardens, Kew; Papers and Posters abstracts p. 106.
- Semple J.C. & K. Watanabe, 2009: A review of chromosome numbers in Asteraceae with hypotheses on chromosomal base number evolution. In: Funk VA, Susanna A, Stuessy T, Bayer R, eds. *Systematics, evolution, and biogeography of Compositae*. Vienna: International Association for Plant Taxonomy (IAPT), 61–72.

- Tomb A.S., Kenton L. Chambers, Donald W. Kyhos, A. Michael Powell and Peter H. Raven, 1978. Chromosome Numbers in the Compositae. XIV. Lactuceae. American Journal of Botany 65(7) : 717-721
- Spichiger R.E., Savolainen V.V., Figeat M. & D. Jeanmonod, 2004 : Botanique Systématique des plantes à fleurs. 3ème édition, Presses Polytechniques Universitaires Romandes, Lausanne, Suisse. pp. 348-349.
- Tomb A.S., 1975: Pollen morphology in tribe Lactuceae (Compositae). Grana 15: 79–89. [Catananche, Dendroseris, Dubyaea, *Hyoseris*, *Hypochaeris*, *Lactuca*, *Launaea*, *Leontodon*, *Rhagadiolus*, *Scolymus*, *Scorzonera*, *Tolpis*, *Tragopogon*]
- Tzanoudakis D., 1986: Chromosome studies in the Greek flora. I. Karyotypes of some Aegean Angiosperms. Bot. Helv. 96 :27-36. University Press New York
- Véla E. & S. Benhouhou, 2007 : Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). Comptes Rendus de Biologie 330 : 589–605.
- Vincent R., 2007 : Génétique moléculaire. Edition De Boeck, Paris. 122 p
- Wood T.E., Takebayashi N., Barker M.S., Mayrose I., Greenspoon P.B. & I.H. Rieseberg, 2009: The frequency of polyploid speciation in vascular plants. Proc.Nat.Acad.Sci. USA., 106(33): 13875-13879.

