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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de physico-chimie Filière : Sciences Biologiques Option : Génétique Appliquée





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

MASTER

Thème

Analyse cytogénétique de *Oxalis cernua* Thunb (*Oxalidaceae*) dans la région de Bejaïa

Présenté par: OUGHLISSI Saida Soutenu le : 18 Juin 2017

Devant le jury composé de :

	Grade	
RAHMANI-BERBOUCCHA M	MAA	Présidente
OURARI M	MCB	Encadreur
BENMESSAOUD-KARTOUT Y	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016/2017

Dédicace

Ce mémoire représente l'aboutissement du soutien et des encouragements que mes chères parents m'ont prodigués tout au long de ma scolarité. Mon père Karim et ma mère Houa qui m'ont soutenu tout au long de ce parcours Mes frères : Dalil, Djahid, Hocine Ma sœur : Thellili

Toutes les personnes qui, de près ou de loin, qu'ils aident à l'élaboration de ce travail

Jaida

Remerciement

Mes vifs remerciements s'adressent à :

- Mademoiselle OURARI M, Maître conférences à l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, pour avoir accepté l'encadrement de ce travail en dépit de son temps fort chargé et de ses multiples occupations.
- Madame DJAFRI-BOUALLAG L, Maître assistante à l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa de présenté à la place promotrice et en dépit de son temps fort chargé et de ses multiples occupations.
- Madame RAHMANI-BERBOUCHA-M, Maître assistante à l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury.
 Veuillez agréer l'expression de ma reconnaissance et de mes remerciements les plus sincères.
- Madame BENMESSAOUD-KARTOUT Y, Maître assistante à l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail. . Veuillez agréer l'expression de ma reconnaissance et de mes remerciements les plus sincères.
- Monsieur. SAHNOUNE M, Professeur à l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa qui m'a orienté ver Melle OURARI M à me encadré.
- Monsieur BAKOURI Y, Technicien de laboratoire biologie physiologie végétale à l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa pour ces conseils, son soutien et son inestimable gentillesse.

Merci à mes amis qui ont toujours été là quand j'ai besoin d'eux et avec qui j'ai passé une très bonne année.

SOMMAIRE

Sommaire

INTRODUCTION	01
--------------	----

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le Genre Oxalis L	02
I.1. Classification du genre Oxalis L	02
I.2. Description morphologique d'Oxalis cernua (1753)	03
II. La cytogénétique	04
II.1. La méiose	05

CHAPITRE II- MATERIEL ET METODES

I. Matériel Végétale	
II. Méthodes	10
II.1. Analyse de la méiose pollinique	10
II.2. Analyse de la fertilité pollinique	

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Déroulement de la méiose	
I.1. Divisions régulières	13
1.2. Divisions irrégulières	14
II. Fertilité pollinique	
CONCLUSION	27
REFERENCES BIBLIOGRAPHIES	28
ANNEX	

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations

FISH : Fluorescente in situ Hybridation.

GISH : Génomique in situ Hybridation.

Asy1: Protein Asynaptic 1.

Hop1: Spindle Pole homolog.

DMC1: Protein-dna-Cytosine Methyl-transferase.

SPO11: Meiosis-specific protein SPO11 (EC: 5.99.1.3).

ASK1: Apoptosis Signal-regulating Kinase 1.

List des Figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Différents stades de la méiose chez les Angiospermes	08
	1: prophase I, 2 : métaphase I, 3: anaphase I, 4 : télophase I, 5	
	: prophase II, 6 : métaphase II, 7 : anaphase II, 8 : télophase II.	
Figure 02	Morphologie d'Oxalis cernua L. a : plante dans son milieu	09
	naturel ; \mathbf{b} : feuille ; \mathbf{c} : fleur ; \mathbf{d} : racines et bulbilles.	
Figure 03	Différents stades de maturité des boutons floraux d'Oxalis	10
	cernua L.	
	a : Fleur utilisée dans l'étude du pollen,	
	b : Bouton floral utilisé dans l'étude de la méiose.	
Figure 04	Différentes phases de la division méiotique des cellules mères	13
	de pollen chez les deux populations analysées d'Oxalis cernua.	
	a : Prophase I, b : Métaphase I, c : Anaphase I, d : Télophase	
	I, \mathbf{e} : Prophase II, \mathbf{f} : Métaphase II, \mathbf{g} : Anaphase \mathbf{h} : Télophase	
	II, i : Tétrade. La barre d'échelle correspond à 10µm.	
Figure 05	Aspect des cellules mères de pollen des deux populations	15
	d'Oxalis cernua L. analysées montrant des univalents en	
	métaphase I. La barre d'échelle correspond à 10µm.	
Figure 06	Aspect des cellules mères de pollen des deux populations pour	16
	l'espèce d'Oxalis cernua L. analysées montrant des bivalents	
	en métaphase I. a : un bivalent, b : deux bivalents c : trois	
	bivalents. La barre d'échelle correspond à 10µm.	

Figure 07	Aspect des cellules mères de pollen des populations d'Oxalis	17
	cernua L. analysées montrant les chromosomes non orientés.	
	a, c : un chromosome non orienté, b, d, e : deux chromosomes	
	non orientés, f : trois chromosomes non orientés. La barre	
	d'échelle correspond à 10µm.	
Figure 08	Aspect des cellules mères de pollen des deux populations	19
	d'Oxalis cernua L. analysées montrant des anomalies	
	méiotiques. a : Stickiness, b : Divisions asynchrones, c : Ponts	
	chromatiques, d et e : un chromosome retardataire en télophases	
	I, \mathbf{f} : quatre chromosomes retardataires en anaphase I. La barre	
	d'échelle correspond à 10μm.	
Figure 09	Aspects des cellules mères de pollen des populations analysées	21
	d'Oxalis cernua L. montrant des ponts cytomictiques. a : pont	
	chromatique entre deux cellules mère de pollen, \mathbf{b} : deux ponts	
	chromatique entre deux cellules mère de pollen, c : trois ponts	
	chromatiques entre deux cellules mère de pollen, d : cytomixie	
	entre un groupe de cellules mères de pollen, e : cytomixie entre	
	les noyaux d'une tétrade, \mathbf{f} : cytomixie entre deux noyau d'un	
	diade. La barre d'échelle correspond à 10µm.	
Figure 10	Aspect des cellules mères de pollen des populations d'Oxalis	22
	cernua L. analysées montrant des micronoyaux.	
	a et b et e ; un micronoyau au stade télophase I, d : deux	
	micronoyaux a la métaphase I \mathbf{c} : trois micronoyaux à la	
	métaphase I, \mathbf{f} : tétrade avec un micronoyau, \mathbf{g} : tétrade avec deux	
	micronoyaux, \mathbf{h} : tétrade avec 3micronoyaux, \mathbf{i} : tétrade avec	
	4micronoyaux. La barre d'échelle correspond à 10µm.	

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

 populations analysées d'<i>Oxalis cernua</i> L. a : monade, b : diade, c : triade, d : pentade, e : hexade, f : heptade. La barre d'échelle correspond à 10µm. Figure 12 Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (µN) au stade tétrade : a : Monade 1µnN, b : Monade à 2µN, c : Diade à 1µN, d : Diade à 2µN, e : Diade à 3µN, f : Diade à 4µN, g : Triade à 1µN, h : Triade à 2µN, i : Triade à 3µN, j : Triade à 4µN, k : Pentade à 1µN, l et: m Pentade à 2µN, n: Pentade à 3µN, o: Pentade à 4µN, p: Hexade à 1µN, r et q : Hexade à 2µN, s: Heptade à 1µN, t : Heptade à 2µN, u: Octade à 1µN. La barre d'échelle correspond à 10µm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique, c : grains de pollen viables triporés d : grains de 	Figure 11	Aspects des différentes cellules multipolaires dans les	23								
 c: triade, d: pentade, e: hexade, f: heptade. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 12 Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade : a : Monade 1μnN, b : Monade à 2 μN, c : Diade à 1 μN, d : Diade à 2 μN, e : Diade à 3 μN, f : Diade à 4 μN, g : Triade à 1 μN, h : Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1 μN, t: Heptade à 2 μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique, c : grains de pollen viables triporés d : grains de 		populations analysées d'Oxalis cernua L. a : monade, b : diade,									
 Figure 12 Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations d'Oxalis cernua L. analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade : a : Monade 1μnN, b : Monade à 2 μN, c : Diade à 1 μN, d : Diade à 2 μN, e : Diade à 3 μN, f : Diade à 4 μN, g : Triade à 1 μN, h : Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, t: Heptade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1 μN, t: Heptade à 2 μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'Oxalis cernua L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de 		c : triade, d : pentade, e : hexade, f : heptade. La barre d'échelle									
 Figure 12 Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade : a : Monade 1μnN, b : Monade à 2 μN, c : Diade à 1 μN, d : Diade à 2 μN, e : Diade à 3 μN, f : Diade à 4 μN, g : Triade à 1 μN, h : Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, s: Heptade à 1 μN, t: Heptade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1 μN, t: Heptade à 2 μN, u: Octade à 1 μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables triporés d : grains de 		correspond à 10µm.									
 Figure 12 Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations d'Oxalis cernua L. analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade : a : Monade 1μnN, b : Monade à 2 μN, c : Diade à 1 μN, d : Diade à 2 μN, e : Diade à 3 μN, f : Diade à 4 μN, g : Triade à 1 μN, h : Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1μN, t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'Oxalis cernua L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de 											
 d'Oxalis cernua L. analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade : a : Monade 1μnN, b : Monade à 2 μN, c : Diade à 1 μN, d : Diade à 2 μN, e : Diade à 3 μN, f : Diade à 4 μN, g : Triade à 1 μN, h : Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1 μN, t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'Oxalis cernua L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de 	Figure 12	Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations	25								
 microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade : a : Monade 1μnN, b : Monade à 2 μN, c : Diade à 1 μN, d : Diade à 2 μN, e : Diade à 3 μN, f : Diade à 4 μN, g : Triade à 1 μN, h : Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1μN, t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'Oxalis cernua L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique, c : grains de pollen viables triporés d : grains de 		d'Oxalis cernua L. analysées montrant des nombres variables									
 Monade 1μnN, b : Monade à 2 μN, c : Diade à 1 μN, d : Diade à 2 μN, e : Diade à 3 μN, f : Diade à 4 μN, g : Triade à 1 μN, h : Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1μN, t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de 		microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade : a :									
 à 2 μN, e : Diade à 3 μN, f : Diade à 4 μN, g : Triade à 1 μN, h : Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1μN, t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique, c : grains de pollen viables triporés d : grains de 		Monade 1µnN, b : Monade à 2 µN, c : Diade à 1 µN, d : Diade									
 Triade à 2 μN, i : Triade à 3 μN, j : Triade à 4 μN, k : Pentade à 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1μN, t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique, c : grains de pollen viables triporés d : grains de pollen viables triporés. 		à 2 μ N, e : Diade à 3 μ N, f : Diade à 4 μ N, g : Triade à 1 μ N, h :									
 1 μN, l et: m Pentade à 2 μN, n: Pentade à 3 μN, o: Pentade à 4 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1μN, t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de pollen viables 		Triade à 2 μ N, i : Triade à 3 μ N, j : Triade à 4 μ N, k : Pentade à									
 μN, p: Hexade à 1 μN, r et q : Hexade à 2 μN, s: Heptade à 1μN, t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains d : gra		1 μ N, l et: m Pentade à 2 μ N, n : Pentade à 3 μ N, o : Pentade à 4									
 t: Heptade à 2μN, u: Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm. Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de 		μN , p : Hexade à 1 μN , r et q : Hexade à 2 μN , s : Heptade à 1 μN ,									
 Figure 13 Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'<i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de 		t: Heptade à $2\mu N$, u: Octade à $1\mu N$. La barre d'échelle									
Figure 13Aspects des grains de pollen observés dans les populations27d'Oxalis cernua L. analysées. a b f : grains de pollen viablessubsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de		correspond à 10µm.									
Figure 13Aspects des grains de pollen observés dans les populations27d'Oxalis cernua L. analysées. a b f : grains de pollen viablessubsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de											
d' <i>Oxalis cernua</i> L. analysées. a b f : grains de pollen viables subsphérique c : grains de pollen viables triporés d : grains de	Figure 13	Aspects des grains de pollen observés dans les populations	27								
subsphérique \mathbf{c} · grains de pollen viables triporés \mathbf{d} · grains de		d'Oxalis cernua L. analysées. a b f : grains de pollen viables									
subspherique, e . gruins de porten vidores diportes, d . gruins de		subsphérique, \mathbf{c} : grains de pollen viables triporés, \mathbf{d} : grains de									
pollen non viables, e : grains de pollen avec différentes formes,		pollen non viables, e : grains de pollen avec différentes formes,									
tailles. La barre d'échelle correspond à 10µm.		tailles. La barre d'échelle correspond à 10µm.									

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Classification phylogénétique du genre Oxalis L.	03
Tableau II	Taux d'anomalies calculés chez les deux populations d' <i>Oxalis cernua</i> L.	14



Introduction

Le genre Oxalis L. appartient à la famille des Oxalidaceae. Il compte environ 800 espèces distribuées en Amérique de Sud et en Afrique du Sud (Salter, 1944 ; Lourteig, 2000). *Oxalis cernua* Thunb. représente l'espèce la plus envahissante grâce à sa reproduction végétative par bulbilles. En Afrique du Nord, elle a été citée dans différentes synthèses sur la flore adventice du Maroc occidental et central (Boulet *et al.*, 1989; Bouhache *et al.*, 1994; Taleb *et al.*, 1994 et Bensellame *et al.*, 1997) et également, durant les années 30 en Tunisie par Chabrolin (http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/P0063_10/P0063_10_0434.pdf).

Oxalis cernua Thunb. ou *Oxalis pes-caprae* L. est une plante herbacée vivace originaire d'Afrique du Sud mais elle s'est dispersée dans toute la région méditerranéenne. Elle est considérée comme plante invasive dans presque toutes les régions du monde. Cette aptitude à se reproduire végétativement a permis à l'espèce d'accumuler des mutations dans les gènes codant la division méiotique. De ce fait, elle constitue un matériel de choix dans les études cytogénétiques.

L'étude des paramètres caryologiques et de l'organisation des chromosomes, peut fournir des indications évolutives. La technique classique de Feulgen permet de visualiser l'ADN des cellules à différents stades de méiose ou de mitose. *Oxalis cernua* L dans son habitat naturel (Afrique du Sud), présente deux niveaux de ploïdie, des diploïdes à 2n = 2x = 14 et des tétraploïdes à 2n = 4x = 28 (te Beest *et al.*,2012).

Nous sommes intéressés à l'étude cytogénétique de l'espèce *Oxalis cernua*. Cette étude vise à une meilleure connaissance du comportement méiotique des cellules mères de pollen et de la fertilité pollinique de cette espèce. Deux populations sont échantillonnées dans le Campus Universitaire de Targa Ouzemmour et dans le village de Maâla dans la région de Béjaia.

Dans ce mémoire nous présentons d'abord, une synthèse bibliographique sur le genre Oxalis L. en général et sur l'espèce *Oxalis cernua* en particulier. La deuxième partie est consacrée au matériel végétal et à la méthodologie utilisée. Dans la troisième partie nous exposons les résultats obtenus et leur interprétation.



Analyse bibliographique

I. Le Genre Oxalis L.

Le nom '*Oxalis*' vient de mot grec « $\delta\xi\alpha\lambda\zeta$ », venant de « $\delta\xi\delta\zeta$ » : aigre, acide et « $\delta\lambda\zeta$ » : sel ; allusion au sel acide contenu dans les feuilles.

Les espèces de ce genre se reconnaissent à leurs feuilles trifoliées (on parle abusivement de "faux trèfles"). Les folioles présentent la forme d'un cœur dont la pointe est constituée par le pétiole. En général, les folioles s'ouvrent le jour et se replient pendant la nuit. Ce genre regroupe plusieurs espèces de plantes vivaces, basses, le plus souvent rampantes. Il inclut plus de 800 espèces réparties dans le monde. Dans une monographie du genre, Knuth (1930) distingue 37 sections dont cinq contiennent les espèces sud-africaines. Salter (1944) donne une classification révisée du matériel sud-africain et décrit 208 espèces dans 11 sections. Les principaux centres de diversité sont en Amérique centrale, en Amérique du Sud et en Afrique du Sud (Salter, 1944; Lourteig, 2000). Ces plantes vivaces sont devenues envahissantes dans le monde entier grâce à leur multiplication végétative par bulbilles ou par rhizomes.

I.1. Classification du genre Oxalis L.

La classification phylogénétique du genre Oxalis L. est donnée dans tableau I.

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Embranchement	Tracheophyta
Sous-embranchement	Euphyllophytina
Super division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida=Dicotylédone Vraie
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Oxalidales
Famille	Oxalidaceae
Genre	Oxalis

Tab. I : Classification phylogénétique du genre Oxalis L.

I.2. Description morphologique d'Oxalis cernua (1753)

Oxalis cernua Thunb. ou *Oxalis pes-caprae* L. est appelé communément « pied de chèvre » se rapportant à la forme des folioles. Cette plante légèrement poilue se propage essentiellement par voie végétative (bulbilles), les germinations étant rares.

La fleur d'*Oxalis cernua* Thunb. présente au moins deux morphes : l'un avec un gynécée surmontant les anthères, connues sous le nom de fleurs «longues» ; l'autre présentant le stigmate en dessous du niveau de l'anthère, connu sous le nom de fleurs "courtes" (Barrett et Richards, 1990; Charlesworth et Charlesworth, 1979; Ganders, 1979; Lourteig, 2000). L'inflorescence est une ombelle composée de 6 à 12 fleurs jaunes-citron de plus de 2 cm de long. Elles sont pourpres avec des pédoncules dépassant les feuilles. Le calice est petit à 5 sépales soudés à la base. Les pétales au nombre de cinq sont extérieurement verdâtres et spiralés en bouton. Elles sont pentamères et à deux cycles d'étamines (5 grandes, 5 petites). L'ovaire sphérique se transforme en capsule courte rarement bien développée (Bayer *et al.*, 2005).

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les tiges non feuillées et non ramifiées naissent sur de longs rhizomes blanchâtres enterrés profondément sur lesquels croissent de petites bulbilles de la grosseur d'un pois. Les feuilles en rosette à la base de la plante, sont longuement pétiolées et sont formées de trois folioles en forme de cœur, avec de petits points brun foncé violacé (Fig. 2)

La reproduction se fait d'une part végétativement par des bulbilles riches en métabolites secondaires leur conférant la capacité invasive. En Méditerranée, la colonisation de cette espèce a progressé de l'est vers l'ouest. En Afrique du Nord, elle a été signalée par Ducellier en1914 et elle est citée dans le Catalogue des plantes du Maroc (Jahandiez et Maire, 1932). Elle est également citée durant les années 30 en Tunisie. Elle a fini par coloniser différentes régions du monde á climat de type méditerranéen.

Dans son habitat naturel (Afrique du Sud), l'*Oxalis cernua* présente deux niveaux de ploïdie : diploïdes (2n = 2x = 14) ou tétraploïdes (2n = 4x = 28) (te Beest *et al.* 2012). Les espèces pentaploïdes (2n = 5x = 35) sont rares et stériles et donc leur reproduction est essentiellement asexuée (Boussaha *et al.*, 2014).

II. La cytogénétique

La cytogénétique a pour objet l'étude de la structure et du fonctionnement régulier et irrégulier des chromosomes lors des divisions cellulaires. Leur analyse est effectués au cours des stades métaphasiques des cycles cellulaires ou les chromosomes sont bien individualisés et peuvent être observés au microscope. Cette discipline fait un lien entre la cytologique et la génétique. Les premiers travaux cytogénétiques sur les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19ème siècle. Elle est à l'origine de la compréhension de certains mécanismes héréditaires du monde végétal dans sa diversité (taxonomie, phylogénie). Actuellement, des techniques nouvelles exploitent l'aspect moléculaire des chromosomes tels que l'hybridation fluorescente in situ (FISH) et l'hybridation génomique in situ (GISH). C'est une discipline sur laquelle s'appuie notamment l'amélioration des plantes (Jahier *et al.*, 1992). Elle participe à :

- la connaissance du matériel végétal en déterminant le nombre chromosomique et le niveau de ploïdie des taxons (alloploïdie, autoploïdie...).

- l'établissement des cartes génétiques (FISH).

- l'exploitation de la variabilité intraspécifique et interspécifique.

II.1. La méiose

La méiose du grec meiōsis (μείωσις) ("faire plus petit", "amoindrissement", "diminution") est un processus de haute stabilité qui régule le nombre de chromosomes chez les Eucaryotes. Le cours normal et harmonieux de la méiose assure la viabilité des gamètes.

Chez les Angiospermes (plantes à fleurs), la méiose produit des cellules à l'origine des grains de pollen. Elle donne des cellules haploïdes (cellules contenant n chromosomes) à partir de cellules diploïdes (cellules contenant 2n chromosomes). Ross KJ *et al.*, 1996.

Elle se déroule en plusieurs étapes formant un ensemble de deux divisions cellulaires successives : une première division méiotique dite réductionnelle car elle permet de passer de 2n chromosomes à n chromosomes et une deuxième division dite équationnelle car elle conserve le nombre de chromosomes (Fig. 1).

-Division réductionnelle

La division réductionnelle commence par une longue prophase pendant laquelle s'effectue l'appariement des chromosomes homologues. Elle se déroule en plusieurs phases :

Prophase I

Les chromosomes bichromatidiens s'individualisent par condensation de leur ADN à partir de la chromatine du noyau. Ils apparaissent doubles car formés chacun de deux chromatides. Ils s'associent ensuite par paires de chromosomes homologues. Cet appariement donne des bivalents. Cette phase est divisée en cinq étapes qui correspondent à cinq états caractéristiques de la chromatine : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse.

Leptotène (du grec lepto-, mince, et -tène, bandelette).

Ce stade se caractérise par un début de la condensation de la chromatine et l'apparition de structure filamenteuse.

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Zygotène (du grec zygo-, liaison entre deux éléments).

Il se caractérise par un début de l'appariement des chromosomes homologues (synapsis) par le complexe synaptonémal (ou synapton).

Pachytène (du grec pachy-, épais).

Il y a appariement strict des chromosomes homologues et apparition des nodules de recombinaison (intra-chromosomique) et de nodules tardifs qui permettent les enjambements (échanges entre chromatides homologues ; lesquels échanges sont facilités par la mise en place au préalable d'un chiasma). Cette phase a une importance considérable dans le brassage chromosomique (crossing-over).

Diplotène (du grec diplo-, double).

Il y a désynapsis (séparation des chromosomes homologues). Cependant, les chromosomes restent attachés en plusieurs points au niveau desquels deux des quatre chromatides semblent s'entrecroiser (recombinaison intra-chromosomique). A ce stade, le complexe synaptonémal se dépolymérise, libérant les chromosomes sauf au niveau des chiasmata (points de jonction ou crossing-over).

Diacinèse (du grec dia-, à travers).

Il y a recondensation de la chromatine. Lors de cette phase, une séparation des centrosomes s'effectue. Ainsi, deux centrosomes génèrent des fuseaux de fibres entre eux et s'éloignent l'un de l'autre.

Métaphase I

Les paires de chromosomes homologues (bivalents) se placent en vis-à-vis de part et d'autre du plan équatorial. Les chiasmata entre chromosomes homologues (et non les centrosomes comme en métaphase II) se placent de part et d'autre du plan équatorial. Leur orientation se fait de façon aléatoire : on appelle ce phénomène la « ségrégation aléatoire ». Durant cette phase, deux kinétochores vont s'attacher à chaque centrosome grâce à la formation d'un fuseau mitotique. Les deux kinétochores d'un même centrosome sont dirigés vers le même pôle d'une cellule, et ceux du chromosome homologue vers l'autre pôle.

Anaphase I

Durant cette phase, les microtubules du fuseau de division tirent les chromosomes homologues vers les pôles opposés de la cellule. C'est également à l'anaphase que se déroule la recombinaison inter-chromosomique.

Télophase I

On observe une disparition du fuseau mitotique créé en métaphase, puis une séparation et individualisation en deux cellules par cytodiérèse.

-Division équationnelle

Prophase II

Cette phase est identique à la prophase I mais brève car les chromosomes restent compacts. Les centrosomes se séparent et génèrent des fuseaux de fibres entre eux en s'éloignant l'un de l'autre.

Métaphase II

Les chromosomes se placent sur la plaque métaphasique par leur centromère. Leur condensation est maximale. Durant cette phase, les centrosomes migrent aux pôles opposés de la cellule et les microtubules se fixent aux kinétochores, complexes protéiques préalablement attachés aux centromères.

Anaphase II

Les chromatides sœurs de chaque chromosome se séparent après rupture de leur centromère et migrent vers les pôles opposés de la cellule tirées par des fibres protéiques. Durant cette phase, les microtubules du fuseau de division tirent les chromatides sœurs vers les pôles opposés de la cellule.

Télophase II

Quatre cellules haploïdes issues de la méiose possédant n chromosomes sont formés.

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE



Fig. 1 : Différents stades de la méiose chez les Angiospermes

1: prophase I, 2 : métaphase I, 3: anaphase I, 4 : télophase I, 5 : prophase II, 6 : métaphase II,

7 : anaphase II, 8 : télophase II.

Matériels et Méthodes

I -MATERIELS Végétales

Deux échantillons d'*Oxalis cernua* L. sont récoltés dans le Campus Universitaire de Targa Ouzemmour (36°45'02.40 "N 5°02'11.45"E, alt. 30 m) et dans le village de Mâala (36°36'08.58"N°41'35.69"E, alt. 220 m) dans la région de Béjaïa. La morphologie des échantillons est donnée dans la figure 2.



Fig. 2 : Morphologie de Oxalis cernua L. a : plante dans son milieu naturel ; b : feuille ; c : fleur ; d : racines et bulbilles.

Des boutons floraux de 2mm à 3mm de diamètre sont utilisés pour l'analyse de la méiose et des fleurs de 2cm de diamètre sont utilisées dans l'analyse de la fertilité pollinique (Fig. 3).

MATERIEL ET METHODES



Fig. 3 : Différents stades de maturité des boutons floraux d'Oxalis cernua L.

a : Fleur utilisée dans l'étude du pollen

b : Bouton floral utilisé dans l'étude de la méiose.

II. Méthodes

Une analyse de la méiose pollinique de très jeunes boutons floraux et une étude de la viabilité pollinique de fleurs matures sont effectuées.

II.1. Analyse de la méiose pollinique

Cette analyse passe par plusieurs étapes :

-Fixation et conservation

Des jeunes boutons floraux de 2mm à 3mm de diamètre sont récoltés, fixés et conservés dans du Carnoy. Le Carnoy est un fixateur anhydre à base d'éthanol (6V), de chloroforme (3V) et d'acide acétique (1V). Il assure un arrêt rapide des divisions cellulaires sans léser la structure chromosomique (Jahier *et al.*, 1992).

-Hydrolyse

Cette étape a pour but de libérer les groupements aldéhydes, de ramollir les cellules et d'éclaircir le cytoplasme. Au moment de l'analyse, les boutons floraux sont transférés dans une solution d'HCl (1N) et mis au bain marie à 60 °C pendant 1.5 à 2 min. Les échantillons sont ensuite rincés cinq fois à l'eau du robinet pour assurer l'élimination de l'acide chloridrique.

-Coloration

Les échantillons ont subi une double coloration d'abord à la fushine basique ensuite à l'orcéine acétique.

Dans un premier temps, les boutons floraux sont plongés dans des piluliers contenant le réactif de Schiff (Fuschine basique) et gardés à l'obscurité pendant deux heures. Sous loupe binoculaire, les étamines colorées en rouge violacé par le Réactif de Schiff sont dégagées à l'aide d'aiguilles fines et écrasées entre lame et lamelle dans une goutte d'orcéine acétique.

-Observation

Les cellules mères en division sont repérées au microscope photonique à l'aide de l'objectif 40. Pour une meilleure visualisation de l'image, le grossissement (x100) est utilisé après avoir déposé une goutte d'huile à immersion. Les cellules mères en division seront photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique à 16 mégapixels de marque canon

II.2. Analyse de la fertilité pollinique

Cette analyse est réalisée sur des fleurs matures avant l'anthèse. Le colorant utilisée est le bleu de coton selon le protocole de Mertens et Hmnersmith (1998). Sur une lame porte objet, les anthères sont écrasées pour libérer les grains de pollen qui sont ensuite colorés dans une goutte de bleu de coton. L'observation se fait, après trente minutes, au microscope optique au grossissement 10. Environ, 1000 grains de pollen (fertiles/stériles) pour chaque fleur sont comptés. Les grains de pollen bien colorés en bleu foncé sont viables et fertiles. En revanche, ceux qui sont faiblement colorés ou complètement non colorés sont considérés comme non viables et stériles. Les grains de pollen sont photographiés à l'aide d'un appareil photo numérique à 16 mégapixels de marque canon.

Un taux de fertilité pollinique (TFP) est calculé selon le rapport suivant :

TFP= (NF/NT) X 100, NF étant le nombre de grains de pollen fertiles et NT étant le nombre de grains total.



Résultats et Discussion

Des jeunes boutons floraux d'*Oxalis cernua* L. récoltés dans le campus Universitaire de Targa Ouzemmour (Béjaïa) et dans le village de Maâla (Sidi Aïch) sont analysés en cytogénétique. Le déroulement de la division méiotique, les anomalies méiotiques et la fertilité pollinique sont analysés.

I. Déroulement de la méiose

I.1. Divisions régulières

Les différentes phases de la méiose pollinique chez les deux populations analysées sont illustrées dans la figure 4.



Fig. 4 : Différentes phases de la division méiotique des cellules mères de pollen chez les deux populations analysées d'*Oxalis cernua*.

a : Prophase I, b : Métaphase I, c : Anaphase I, d : Télophase I, e : Prophase II, f : Métaphase II, g : Anaphase II, h : Télophase II, i : Tétrade. La barre d'échelle correspond à 10μm.

I.2. Divisions irrégulières

Une étude statistique est réalisée sur les deux populations d'*Oxalis cernua* pour déterminer les fréquences des cellules mères de pollen présentant un déroulement irrégulier de la méiose. Des taux similaires et relativement importants sont calculés pour les deux populations analysées. Ces taux sont de 31.24% et de 34.91% pour les populations de Targa Ouzemmour et de Maâla respectivement. Le taux de chaque anomalie est présenté dans le tableau II.

Tab.	II :	Taux	d'anoma	alies ca	alculés	chez	les deu	х рори	lations	d'Oxali.	s cernua L.
------	------	------	---------	----------	---------	------	---------	--------	---------	----------	-------------

	Targa Ouz	emmour	Maâla	
	(Béjaïa)		(Sidi Aïch)	
	Nombre	%	Nombre	%
Total de cellules analysées	19526	100	3283	100
Univalents	91	0,47	12	0,37
bivalents non-orientés (bivalents désorientés)	63	0,32	2	0,06
chromosomes non-orientés	37	0,19	3	0,09
Stickiness (chromosomes agglutinés)	288	288 1,47 0		0,00
Divisions asynchrones	9	0,05	0	0,00
Ponts chromatiques	5	0,03	1	0,03
Chromosomes retardataires	8	0,04	1	0,03
Cytomixie	151	0,77	30	0,91
Micronoyaux	3238	16,58	490	14,93
Cellules multipolaires	1353	6,93	372	11,33
Cellules multipolaires avec micronoyaux	856	4,38	235	7,16
Total des cellules irrégulières	6099	31,24	1146	34,91

L'analyse de tableau II montre l'existence d'un nombre relativement élevé d'anomalies affectant la première et la deuxième division. Ces anomalies se manifestent par la présence des :

-Univalents

Un à quatre univalents sont observés (Fig. 5) avec un pourcentage de 0.47% pour la population de Targa Ouzemmour et un pourcentage de 0.37% pour celle de Maâla.

Deux chromosomes non appariés forment deux univalents à la métaphase I. Cette anomalie serait due à une mutation au niveau du gène asy1, qui est responsable de la formation du complexe synaptonémal. Ce complexe est une structure protéique particulière qui apparaît au stade zygotène puis disparaît au stade diplotène au cours de la prophase I. Son rôle est d'établir une connexion entre les chromosomes homologues sur toute leur longueur. Ce gène est homologue de la protéine Hop1 de la levure. Une autre mutation au niveau des gènes spo11 et dcm1 pourrait également intervenir pour empêcher l'appariement entre chromosomes homologues. En effet, la protéine Spo11 induit la formation des cassures double-brin nécessaires à la mise en route de la recombinaison homologue méiotique tandis que la protéine Dmc1 est spécifiquement impliquée dans l'orientation de la recombinaison réparatrice vers le chromosome homologue (et non la chromatide-sœur). Les mutations des gènes SPO11 et DMC1 entraînent une stérilité partielle chez Arabidopsis, confirmant le rôle de la recombinaison homologue pour la formation des bivalents (Horlow et Doutriaux, 2003). D'après Reis et al. (2015) et Kravets (2012), les univalents peuvent être également une conséquence des phénomènes de la cytomixie.



Fig. 5 : Aspect des cellules mères de pollen des deux populations d'Oxalis cernua L. analysées montrant des univalents en métaphase I. La barre d'échelle correspond à 10µm.

-Bivalents non-orientés ou bivalents désorientés

Un à trois bivalents désorientés est observés à la métaphase I (Fig. 6), dans les deux populations d'*Oxalis cernua* avec un taux 0.32% pour la population de Targa Ouzemmour et un taux de 0.06% pour la population de Maâla (Tab. II).

Un bivalent est l'association de deux chromosomes homologues répliqués ayant échangé un brin d'ADN dans au moins un site appelé chiasma. Chaque bivalent contient au minimum un chiasma et rarement plus de trois. La raison de l'apparition de bivalents non orientés est le résultat d'un échec d'enchainement des fibres achromatiques au kinétochore. Ce qui provoque leur dispersion dans le cytoplasme tandis que les autres bivalents sont alignés sur la plaque équatoriale en métaphase I (Godoy *et al.*, 2012). Le kinétochore est un assemblage de protéines au niveau des régions centromériques jouant un rôle actif dans le mouvement des chromosomes permettant leur placement sur la plaque équatoriale (ou métaphasique)



Fig. 6 : Aspect des cellules mères de pollen des deux populations *d'Oxalis cernua* L. analysées montrant des bivalents.

a : un bivalents, II, **b** : deux bivalents **c** : trois bivalents. La barre d'échelle correspond à $10\mu m$.

-Chromosomes non-orientés

Au cours de la méiose, l'orientation des chromosomes se fait de façon aléatoire : on appelle ce phénomène «ségrégation aléatoire». Le kinétochore permet l'ancrage du cytosquelette aux chromosomes au niveau du centromère et une mutation induit une désorientation chromosomique de la plaque équatoriale (ou métaphasique).

Un à quatre chromosomes non-orientés est observé avec des pourcentages de 0.19% pour la population de Targa Ouzemmour et de 0.09% pour Maâla (Tab. II, Fig. 7).



- Fig.7 : Aspect des cellules mères de pollen des populations d'*Oxalis cernua* L. analysées montrant les chromosomes non orientés.
 - a, c : un chromosomes non orienté, b, d, e : deux chromosomes non orientés, f : trois chromosomes non orientés. La barre d'échelle correspond à 10μm.

-Stickiness (chromosomes agglutinés)

Cette anomalie méiotique se présente sous une masse de chromatine condensée en métaphase I (Fig. 8a) à un pourcentage de 1.47% dans la population Targa Ouzemmour. Dans la population de Maâla (Tab. II), cette anomalie semble absente. Ce phénomène a été identifié par Koernicke (1905) comme un effet de la fragmentation au niveau de la prophase I. Il existe également un gène collant (*st*) qui contrôle et affecte la microsporogenèse en provoquant des changements dans l'organisation structurelle de chromosomes (Singh, 1993). Cette anomalie chromosomique résulte des changements dans les protéines spécifiques non histoniques (topoisomérase II et protéines périphériques) qui sont des composants intégrés du chromosome et dont la fonction est nécessaire pour la séparation et la ségrégation des chromatides. Ces changements sont causés soit par une mutation dans les gènes structurels des protéines (adhésivité héréditaire), soit par l'action directe des mutagènes sur les protéines (adhésivité induite). Faute de ségrégation harmonieuse, cette anomalie induit la stérilité pollinique.

-Divisions asynchrones

Cette anomalie est observée en méiose II. Elle se manifeste par un décalage dans le temps des deux cellules de la diade : l'une des cellules est en anaphase alors que l'autre stagne en métaphase (Fig. 8b). Elle est très faiblement représentée dans la population de Targa Ouzemmour avec un taux de 0.05% (Tab. II). Cette irrégularité est observée par Risso-Pascotto *et al.* (2003) chez *Brachiaria ruziziensis*. Ce phénomène causé par une mutation qui effectue le 'checkpoint' du fuseau achromatique empêche les chromosomes de l'une des cellules sœurs de rejoindre la plaque métaphasique. Ainsi, des chromosomes restent dispersés dans le cytoplasme tandis que la deuxième cellule poursuit sa division et entre en anaphase II puis en télophase II, induisant la formation d'une triade.

-Ponts chromatiques

Ces ponts sont observés en anaphase I (Fig. 8c). Des taux de 0.03% dans la population de Targa Ouzemmour et de 0.03 % dans celle de Maâla (tab III) sont enregistrés. Ces ponts seraient le résultat d'une séparation incorrecte des chromosomes liés par les chiasmata en métaphase I et à la fragmenta

tion chromosomique à l'anaphase, avec l'absence

de réparation des cassures double-brins. Cette absence de réparation est induite par la protéine Spo11 suite à une mutation (Horlow et Doutriaux, 2003). SPO11 a un rôle prédominant dans l'initiation de la recombinaison méiotique. L'épaisseur des ponts dépend du nombre de chromosomes impliqués dans leur formation (Ruvalcaba-Ruiz et Rodriguez-Garay, 2002).

-Chromosomes retardataires

Des chromosomes retardataires sont observés en anaphase I (Fig. 8d e f) avec des pourcentages de 0.4% dans la population de Targa Ouzemmour et de 0.3% pour Maâla (Tab. II). Cette anomalie se caractérise par la séparation défectueuse des chromosomes homologues lors de l'anaphase I chez le mutant *ask1*. Cette mutation résulte d'une insertion dans le gène du système d'ubiquitinylation qui est l'homologue de *skp1* chez la levure (Bellicci *et al.*, 2003). Ce qui induit la formation de micronoyaux en télophase I s'ils ne sont pas réinsérés dans le noyau télophasique. Selon Mendes-Bonato et al. (2001), les chromosomes retardataires peuvent être causés par les facteurs environnementaux tels que les royaux X, les températures élevées et les éléments du sol



Fig. 8: Aspect des cellules mères de pollen des deux populations d'Oxalis cernua L.
analysées montrant des anomalies méiotiques. a : Stickiness, b : Divisions asynchrones, c : Ponts chromatiques, d et e : un chromosome retardataire en télophases I, f : quatre chromosomes retardataires en anaphase I. La barre d'échelle correspond à 10.

-Cytomixie

Chez *Oxalis cernua*, un échange de matériel génétique est observé entre les cellules mères de pollen (Fig. 9) à des taux de 0.77% dans la population de Targa Ouzemmour et de 0.91%% dans celle de Maâla (Tab. II). Ces échanges se réalisent soit entre cellules (Fig. 9 a, b, c, d) soit entre noyaux (Fig. 9 e, f).

La cytomixie est un transfert d'ADN d'une cellule à une autre à travers des connections cytoplasmiques. Elle induit des anomalies de nombre de chromosomes chez les cellules mères de pollen, des microspores aberrantes (monades, diades, triades ...) et une stérilité pollinique (Bellicci *et al.*, 2003). Des conditions environnementales et des facteurs génétiques peuvent induire cette anomalie (Love, 1938 ; Bass *et al.*, 2003).

Cette anomalie a été enregistrée la première fois par KÖrnicke en 1901 dans les cellules mères de grains de pollen de *Crocus sativus*. Selon Nirmala et Kaul (1994) *in* Bellucci *et al.* (2003), la cytomixie observée chez *Pisum Sativum* pourrait être causée par un gène mutant induisant la stérilité mâle et sa fréquence pourrait être modifiée par des facteurs environnementaux (rayonnements, température, blessure mécanique). Chez *L. alba* (espèce tétraploïde), la cytomixie est observée principalement pendant la prophase I mais également dans les autres stades de la méiose à un pourcentage de 81%. La cytomixie peut être à l'origine de la polyploïdisation, un phénomène crucial dans l'évolution et la biodiversité chez les végétaux (Mursalimov *et al.*, 2013).



- Fig. 9 : Aspects des cellules mères de pollen des populations analysées d'*Oxalis cernua* L. montrant des ponts cytomictiques.
- a : pont chromatique entre deux cellules mères de pollen, b : deux ponts chromatiques entre deux cellules mères de pollen, c : trois ponts chromatiques entre deux cellules mères de pollen, d : cytomixie entre un groupe de cellules mères de pollen, e : cytomixie entre les noyaux d'une tétrade, f : cytomixie entre deux noyaux d'une diade. La barre d'échelle correspond à 10μm

-Les micronoyaux

Les micronoyaux sont observés dans les deux populations *d'Oxalis cernua* L étudiées avec des taux relativement élevés. Des taux de 16,58% dans la population de Targa Ouzemmour et de 14,93% dans celle de Maâla (Tab. II, Fig. 9) sont enregistrés.

RESULTATS ET DISCUSSION



Fig. 10 : Aspect des cellules mères de pollen des populations d'*Oxalis cernua* L. analysées montrant des micronoyaux.

a et b et e; un micronoyau au stade télophase I, d: deux micronoyaux à la métaphase I c:
 trois micronoyaux à la métaphase I, f: tétrade avec un micronoyau, g: tétrade avec deux micronoyaux, h: tétrade avec 3 micronoyaux, i: tétrade avec 4 micronoyaux. La barre d'échelle correspond à 10μm.

Selon Sidorchuk *et al.* (2015), la cytomixie induit la formation de micronoyaux. Ils peuvent également se former suite à la condensation des chromosomes retardataires qui ne peuvent rejoindre les deux pôles. La ségrégation irrégulière des chromosomes durant la division cellulaire est la cause principale de la formation des micronoyaux (Kaur et Singhal, 2014).

-Les cellules multipolaires

Les cellules multipolaires s'observent au stade tétrade. Elles se présentent sous forme de monades, de diades, de triades, de pentades, d'hexades ou de heptades (Fig. 11). La population de Maâla se singularise avec un taux relativement élevé de 11.33% par rapport à la population de Targa Ouzemmour (6,93%) (Tab. II). Cette anomalie serait également une conséquence de la cytomixie selon Bellucci et *al.*, (2003). Les divisions asynchrones induiraient la formation des triades (Fig.10 c) (Risso-Pascotto *et al.*, 2003). Souza *et al.* (2010) considèrent ces cellules multipolaires comme une conséquence des chromosomes retardataires et des univalents observés en anaphase et en métaphase



Fig. 11 : Aspects des différentes cellules multipolaires dans les populations analysées d'*Oxalis cernua* L.
a : monade, b : diade, c : triade, d : pentade, e : hexade, f : heptade. La barre d'échelle correspond à 10μm

-Cellules multipolaires avec micronoyaux

Les photographies de tétrades avec des micronoyaux sont illustrées dans la figure 11.



La Suit :



Fig. 12 : Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations de Oxalis L. analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade : a : Monade à 1μN, b : Monade à 2 μN, c : Diade à 1μN, d : Diade à 2μN, e : Diade à 3μN, f : Diade à 4μN, g : Triade à 1μN, h : Triade à 2μN, i : Triade à 3μN, j : Triade à 4μN, k : Pentade à 1μN, l et m : Pentade à 2μN, n : Pentade à 3μN, o : Pentade à 4μN, p : Hexade à 1μN, q, r : Hexade à 2μN, s : Heptade à 1μN, t : Heptade à 2μN, u : Octade à 1μN. La barre d'échelle correspond à 10μm.

Des tétrades avec des micronoyaux correspondant aux types décrits par Fehnandes (1946) sont observées à des pourcentages de 4,38% pour la population de Targa Ouzemmour et de 7,16% pour celle de Maâla (Tab. II). Cette anomalie serait due à la présence des chromosomes retardataires en anaphase I et aux divisions asynchrones (Risso-Pascotto *et al.*, 2003).

II. Fertilité pollinique

Des grains de pollen des deux populations analysées sont montrés dans la figure 12. Des tailles, des formes et des colorations différentes sont mises en évidence.

Un taux de fertilité pollinique est estimé à partir de 15 fleurs avant l'anthèse pour chaque population. Les deux populations analysées présentent des taux similaires de 68,01% à Béjaïa et de 68,04% à Sidi Aïch. Ces taux de fertilité sont en accord avec le taux d'anomalies enregistrés dans les deux stations. La cytomixie est probablement le facteur important agissant sur la fertilité pollinique (Nirmala et Kaul, 1994 *in* Bellucci et *al*, 2003). Le stress abiotiques (choc thermique) et le stress biotique (attaques parasitaires) peuvent également influer sur ce taux (Benmouhoub, 2007).

RESULTATS ET DISCUSSION



Fig. 13 : Aspects des grains de pollen observés dans les populations d'Oxalis cernua L. analysées.

a, b, f : grains de pollen viables subsphériques, c : grains de pollen viables triporés, d : grains de pollen non viables, e : grains de pollen avec différentes formes, tailles. La barre d'échelle correspond à 10μm.

Conclusion

Conclusion

Dans le présent travail, une analyse du déroulement de la méiose sur des cellules mères de pollen et une analyse de la viabilité du pollen sont effectuées sur des populations d'*Oxalis cernua* (Oxalidaceae). Deux populations échantillonnées dans le campus universitaire de Targa Ouzemmour (Béjaïa) et dans le village de Maâla (Sidi Aïch) sont analysées.

Une méthode de cytogénétique classique au Feulgen et à l'orcéine est appliquée à des très jeunes boutons floraux pour l'analyse de la méiose. Une coloration au bleu de coton est utilisée dans l'analyse de la viabilité du pollen.

En méiose, différents stades de division méiotique des cellules mères polliniques sont observés, avec un nombre importent d'anomalies. Des micronoyaux au stade tétrade avec un taux relativement important (14,93 à 16,58%), des cellules multipolaires (6,93 à 11,33)%, des cellules multipolaires avec des micronoyaux (4,38 à 7,16%), des chromosomes agglutinés (Stickiness) en prophase I (1,47%), de la cytomixie (0,77 à 0,91%), des univalents à la métaphase I (0,47 à 0,37)%, des bivalents non orientés à la métaphase I (0,32 à 0,06%), des chromosomes non-orientés (0,19 à 0,09)%, des divisions asynchrones (0,05%) et des chromosomes retardataires en anaphase I (0,03 à 0,04)% sont observés. Des ponts chromatiques en anaphase I sont également observés mais à un taux très faible I (0,03%). L'analyse de la fertilité pollinique réalisée sur des fleurs avant l'anthèse montre un taux moyen de fertilité de 68% pour les deux populations analysées. Ce taux peut s'expliquer par la présence d'anomalies en méiose.



Liste bibliographies

- Barrett S.C.H., Richards J.H (1990). Heterostyly in tropical plants. *Mem. N. Y.Botanical* Garden 55, 33–61.
- Bass H.W., Bordoli S.J., and Foos E.M (2003). The dynaptic (dy) and desynaptic l (dsy 1) mutation in maize (*Zea mays* L.) cause distinct telomere-misplacement phenotypes during meiotic prophase. *Journal of experimental Botany* 54 (380):39-46.
- **Bayer E., Butter K.P., Finkeuzeller X et Grau J (2005).** Guide de la flore méditerranéenne, caractéristiques, habitat, distribution et particularités de 536 espèces.
- Bellucci M., Roscini C., and Mariani A (2003). Cytomixis in Pollen Mother *Cells of Medicago sativa* L. *Journal of Heredity* 94 (6):512–516. DOI: 10.1093/jhered/esg096.
- Benmouhoub H. (2007). Analyse d'hybrides F1 et F2 intra- et/ou interspécifiques chez Medicago polymorpha L., M. intertexta (L.) Miller, M. ciliaris (L.) Krocker, M. arabica (L.) Hudson, M.orbicularis (L.) Bartal. Et M. minima (L.) Bartal.: interprétation taxogénétique. Magister en Biologie, Option : Biologie de la Conservation et Eco développement, Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, p.86.
- Bensellam E. H., M. Bouhache & A. Taleb (1997). Étude des adventices des vergers d'agrumes dans le Gharb (Maroc): aspects floristique, agronomique et écologique. Weed Research. 37: 201-210.
- Bouhache M., C. Boulet & A. CHOUGRANI (1994). Aspects floristique et agronomique des mauvaises herbes de la région du Loukkos (Maroc). *Weed Research.* 34: 119-126.
- Boussaha A., Hayouni A., Marouani A. and Ben Naceur M (2014). Diversité morpho génétique de Oxalis pes-caprae, L. au Péninsule du Cap Bon de la Tunisie, International Journal of Innovation and Scientific Research ISSN 2351-8014 Vol. 9 No. 2 Sep. 2014, pp. 376-385

Charlesworth D. (1979). The evolution and breakdown of tristyly. Evolution 33:486–498

- Ducellier M. L. (1914). Végétation de Oxalis cernua Thunb. en Algérie. Rev. Gen. Bot. 25:2177-227.
- Fernandes A (1946). Sur le devenir des micronoyaux formés à la microsporogénèsc. *Ibid.*, 181-193.
- Ganders F. R. (1979). The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany*, 17, 607–635.
- Godoy S.M., Pereira A. R. A., Romagnolo M. B., Risso-Pascotto C. (2012). Meiotic behavior during microsporogenesis of *Alchornea triplinervia* (Sprengel) Müller Aregoviensis. *Ciência Rural*, Vol. 42, n°6, P.1027-1032.
- Horlow C., Doutriaux M. P. (2003). Les mécanismes moléculaires de la méiose chez les plantes. Médecine Sciences 19 :717-723.
- Jahandiez E & Maire R. (1932). Catalogue des plantes de Maroc. Tome deuxième. *Minerva*. Alger Bonn 14-423.
- Jahier J., Chèvre A. M., Eber F., Delourme R.,&Tanguy A. M(1992). Techniques de Cytogénétique végétale. *Ed. INRA.*, Paris, 181p
- Kaur M., and Singhal K. V (2014). Fust *Repeat* of cytomixis, and Méiotic Nepetagovaniana Solang Valley, Kullu District, Himachal Pradesh. *Cytologia*; 79: 227-233.
- Knuth, Reinhard Gustav Paul (1930). Oxalidaceae. In: Engler, Das Pflanzenreich [...] [Heft95] IV. 130. Verlag von Wilhelm Engelmann (Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig)
- Koernicke M (1905). Uber die wirkung von Rontgen- und Radiumstrahlen auf pflanzliche Gewebe und Zellen. Dtsch. Bot.Ges. 23: 404-415.
- Koernicke M. (1901). Über Ortsveränderung von Zellkernen. SB Niederrhein Ges Nat und Heilk Bonn 14–25.
- Kravets E.A. (2012). Nature, Significance, and Cytological Consequences of Cytomixis. Cyt. and Gen. 46(3): 188–195.
- Lourteig A. (2000). Oxalis L. subgeneros Monoxalis (Small) Lourt. Oxalis y Trifidus Lourt. Bradea. 7:201–628.

- Love R. M. (1938). Somatic variation of chromosome numbers in hybrid wheats. *Genetics* 23:517-522.
- Martens T. R. and Hamnersmith R. L. (1998). Genetic laboratory investigations. *Eleventh edition. Prentice hall inc*; Upper Saddle River, New Jersey, 275p.
- Mendes-Bonato A. B., Pagliarini M. S., de Silva N. and Borger de Valle C. (2001). Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumens* Stapf. (Gramineae). Acta Scientiarum Maringa 23 (2):619_625.
- Mursalimov S. R., Sidorchuk Y. V., Deineko E. V. (2013). New insights in to cytomixis : specific cellular features and prevalence in higher plants. *Planta* 238 : 415-423.
- Nirmala C., Kaul M. L. H. (1994). Male sterility in pea. VI. Gene action duplicity. Cytologia. 59:195-201. Julve, Ph., 2016 ff. – Baseflour. Index botanique, écologique et chorologie de la flore de France. Version : 09 février 2017. http://www.tela-botanica.org.
- Reis's A. C., Sousa S. M. and Viccini L. (2015). High frequency of 302(1); DOI: 10.1007/s00606-015-1249-3. cytomixis observed at zygotene in tetraploid *Lippiaalba*. *Plant Systematics and Evolution*
- Risso-Pascotto, C. Pagliarin, M. S., and Vall, C. B. (2003). A mutation in the spindle checkpoint arresting meiosis II in *Brachiaria ruziziensis*, 46: 724–728 doi: 10.1139/G03-037.
- Ross KJ, Fransz P, Jones GH. A (1996) light microscopic atlas of meiosis in *Arabidopsis thaliana*. *Chrom Res*; 4: 507–16.
- Ruvalcaba-Ruiz D. et Rodriguez-Garay (2002). Aberrant meiotic in *Agave tequilana* Webrevar. azul. *BMC Plant Biology*, 147-229/2/10.
- Salter T. M. (1944). The genus Oxalis in South Africa: a taxonomic revision. *The Journal of South* African Botany Supplementary, 1, 1–355.
- Sidrchuk Y., Novikovskaya A. A. and Deineko E. V. (2015). Cytomixis in the cereal (Gramineae) microsporogenesis. *Protoplasma*. 253:291-298.DOI 10.1007/s00709-015-0807-4.
- Singh R. J. (1993). Plant Cytogenetic. CRC Press, Boca Raton.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIES

- Souza M. M. (2010). Cytogenetic studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): a review emphasizing Brazilian species. Brazilian archives of biology and Technology, v.51, p.247-258, 2008. Available from: http://www.scielo.br/pdf/babt/v51n2/a03v51n2.pdf>. Accessed: Jan. 12, 2010. Doi: 10.1590/S1516-89132008000200003
- Taleb A. & J. Maillet (1994). Mauvaises herbes des céréales de la Chaouia (Maroc). I Aspect floristique. *Weed Research* 34:353-360.

teBeest M., Le Roux J.J., Richardson D.M and *al.* (2012). The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany*, **109**, 19–45.

ANNEXES

Annexes

Le fixateur carnoy suivante le protocole de (Jahier et al., 1992) composé de :

- ✤ 6 volumes d'éthanol (600 ml),
- ✤ 3 volumes de chloroforme (300ml),
- 1volumes d'acide acétique glacial (100 ml).

Préparation d'Orciene 1% :

- ✤ 2,2g d'orciene,
- ✤ 45 ml d'acide acétique glacial,
- ✤ 55 ml d'eau distillée porté à ébullition,
- Continuer à bouiller jusqu'à la dissolution totale, laisser refroidir et filtrer.

Préparation de réactif de Schiff :

- Dissoudre 1 g de fuchsine basique dans 100 ml d'eau bouillante,
- ✤ Laisser refroidir à 50°C puis filtrer,
- ✤ Rincer le filtre avec 30 ml d'HCl N,
- Mettre au fond du flacon en verre fumé dans lequel on place le réactif, 3 g de méta sulfite de potassium ou le natrium bisulfite,
- Mettre au réfrigérateur. Après 2 heures la solution est prête à l'emploi.

Le bleu de coton au lactophenol (protocole de : Mertens et Hamnersmith 1998) :

- ✤ 8 volumes de glycérine,
- ✤ 4 volumes d'acide lactique 85%,
- 4 volumes d'un mélange de cristaux de phénol (1g de phénol+4ml d'eau distillée),
- ✤ 2volume d'eau distillée,

1 volume de bleu d'aniline a 1% (005 ml +100mld'eau distillée)

Abstract

Cytogenetic study was carried out to detect meiotic abnormalities in two natural populations of *Oxalis cernua* sampled in Béjaïa. Flower buds analysis shows an irregular meiotic course. Several abnormalities are noted in relatively high rates.

Tetrade with micronuclei at relatively high rate (14.93 to 16.58%), multipolar cells (6.93 to 11.33%), multipolar cells with micronuclei (4.38 to 7.16%), sticky chromosomes at prophase I (1.47%), cytomixis (0.77 to 0.91%), univalents (0.47 to 0.37%) unoriented bivalents (0.32 to 0.06%), unoriented chromosomes (0.19 to 0.09%), asynchronous divisions (0.05%), laggards (0.03 to 0.04%) are observed. Chromatic bridges at anaphase I are also observed but at a very low rate I (0.03%). The analysis of pollen fertility carried out on flowers before anthesis showed an average fertility rate of 68% for the two analyzed populations. This rate can be explained by the presence of the meiotic abnormalities.

Keywords: Oxalis cernua L., meiotic abnormalities, pollen fertility, Cytomixi, Bejaïa.

من أجل الكشف عن الطفرات الانتصافي في اثنين من مجموعتين الطبيعية لنبات أقصليس ماعزي في منطقة بجاية. دراسة الوراثة الخلوية. قد اجريت.

ملخص

قمنا بتحليل على براعم صغيرة جدا اظهرت سلوك غير طبيعي خلال الانقسام الاختزالي. ولوحظت عدة حالات بمعدلات متقاربة.

النويات في مرحلة الرباعيات مع نسبة عالية نسبيا (14،93 -16،58٪)، وخلايا متعددة الأقطاب (6،93 -1،31٪)، وخلايا متعددة الأقطاب مع النويات (4،38-1،6٪)، الكروموسومات ملتصق (اللزوجة) في الطور التمهيدي) I ٪(1.47، تبادل الكروموسومات بين الخلايا (0.07-0.9٪)، وحيد التكافؤ في الطور الاستوائيI)٪(0.47-0.37، ثنائي التكافؤ غير المنحى في الطور الاستوائي I ٪(0.06-0.32)، الكروموسومات الغير الموجهة (0،10-0.40٪)، والانقسامات غير متزامن (0.05٪)، في أواخر طور الانفصال I الكروموسومات متأخرة طور في الانفصال I

) / 03-0،0، (04، الجسور الكروماتينية في الطور الانفصالي I لوحظت أيضا ولكن بمعدل منخفض للغاية (/ 0.03). تحليل خصوبة حبوب اللقاح تنفيذها على الزهور قبل الازهار يظهر معدل الخصوبة متوسط إلى 68٪ لكلا التجمعين تحليلها. ويمكن تفسير هذا المعدل بسبب وجود عيوب في الانقسام الاختزالي.

كلمات المفتاحية: أقصليس ماعزي، الطفرات الانتصافي، خصوبة حبوب اللقاح، تبادل الكروموسومات ، بجاية.

Résumé

En vue de détecter les anomalies méiotiques chez deux populations naturelles d'*Oxalis cernua* échantillonnées dans la région de Béjaïa, une étude cytogénétique est entreprise.

L'analyse de très jeunes boutons floraux montre un déroulement irrégulier de la méiose. Plusieurs anomalies sont notées à des taux plus ou moins importants.

Des micronoyaux au stade tétrade avec un taux relativement important (14,93 à 16,58%), des cellules multipolaires (6,93 à 11,33)%, des cellules multipolaires avec des micronoyaux (4,38 à 7,16%), des chromosomes agglutinés (Stickiness) en prophase I (1,47%), de la cytomixie (0,77 à 0,91%), des univalents à la métaphase I (0,47 à 0,37)%, des bivalents non orientés à la métaphase I (0,32 à 0,06%), des chromosomes non-orientés (0,19 à 0,09)%, des divisions asynchrones (0,05%) et des chromosomes retardataires en anaphase I (0,03 à 0,04)% sont observés. Des ponts chromatiques en anaphase I sont également observés mais à un taux très faible I (0,03%). L'analyse de la fertilité pollinique réalisée sur des fleurs avant l'anthèse montre un taux moyen de fertilité de 68% pour les deux populations analysées. Ce taux peut s'expliquer par la présence d'anomalies en méiose.

Mots-clés : Oxalis cernua L., anomalies méiotiques, fertilité pollinique, cytomixie, Béjaïa.