

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

MALEK Naziha & RABIAI Radia

Thème

**Etude cytogénétique et morphométrique des deux espèces
du genre *Ophrys* (*Orchideae*) de la région de Bouira.**

Soutenu le: 04 / 07 /2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>	<i>Université</i>	
<i>M. LEKBAL F.</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M. MAHDJOUB M. M.</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M. BOUCHIBANE M.</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-promoteur</i>
<i>Mme. AKKOUCHE S.</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu le tout-puissant de nous avoir donné le courage et la patience durant toutes ces années d'études.

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadrant monsieur **MAHDJOUR Mohamed Malik** pour son soutien continu, ses encouragements et ses précieux conseils tout au long de notre projet. Grâce à sa guidance, nous avons acquis des compétences essentielles et développé une compréhension approfondie des enjeux de notre projet. Nous tenons également à souligner sa patience et sa bienveillance, qui nous a permis de travailler dans un environnement convivial et encourageant. C'est grâce à ses efforts diligents et à son investissement dans notre projet que nous sommes arrivés à un résultat satisfaisant.*

Nous lui souhaitons tout le succès à venir et espérons avoir l'opportunité de travailler à nouveau avec lui.

*Merci infiniment pour tout, Monsieur **MAHDJOUR**.*

*Nous tenons également d'exprimer notre profonde reconnaissance à monsieur **BOUCHIBAN Mebarek**, notre Co-Promoteur de mémoire, pour son soutien et son engagement tout au long de ce projet. Grâce à sa grande expertise et à sa patience, nous avons pu avancer dans nos recherches et produire un travail de qualité.*

*Nous remercions chaleureusement notre chère la doctorante Mme. **ZAMMOUM Nadjat** pour sa gentillesse, sa souplesse, son soutien et son aide précieuse.*

*Nos remerciements vont également aux membres du jury M. **LEKBAL F.** (président) et Mme. **AKKOUCHE S.** (examinatrice) qui ont acceptés d'évaluer le travail présenté par ce document.*

Dédicaces

À mon cher **père**, je tiens à te remercier du fond du cœur pour toutes les opportunités que tu m'as offertes, et pour être toujours là pour moi, même dans les moments difficiles, ta confiance en moi m'a donné la force d'affronter toutes les épreuves de la vie, ton dévouement et ton amour inconditionnel ont été mes sources d'inspiration et de motivation. Aujourd'hui, je réalise à quel point j'ai de la chance de t'avoir comme père. Tu es un modèle de bonté, de générosité et d'intégrité. Je t'aime de tout mon cœur papa.

À ma chère **maman**, ta gentillesse, ta générosité et ton amour inconditionnel sont des qualités qui me fascinent et me touchent profondément, tu as toujours su trouver les mots justes pour me remonter le moral, me redonner confiance en moi et m'insuffler une force indéfectible. Merci d'être toujours là pour moi, merci de m'avoir donné la vie et merci de faire de chaque jour une aventure merveilleuse. Je t'aime plus que les mots ne pourront jamais l'exprimer.

À ma sœur **Imane**, depuis notre enfance, nous avons traversé tant de moments ensemble, tant de rires et de larmes partagés, tu as toujours su trouver les mots justes pour me reconforter, m'encourager et m'inspirer, ta présence est un baume apaisant dans les moments de doute et de tristesse. Merci d'être celle que tu es, merci d'être ma sœur.

À mon petit frère **Mohamed Ali**, cette dédicace est pour toi mon petit frère, qui est toujours là pour moi, prêt à me soutenir et à me faire rire. Tu es ma source de joie et de bonheur, avec ton sourire contagieux et tes éclats de rire qui illuminent mes journées les plus sombres, tu es une précieuse partie de ma vie et je suis reconnaissant de t'avoir comme frère.

À ma chère copine **Lina**, Nous avons partagé tant de rires, tant de complicités, à travers les hauts et les bas, notre amitié est restée, tu es toujours là pour écouter mes joies et mes peines, tu es bien plus qu'une simple amie, tu es une âme sœur authentique.

Je vous dédie ce mémoire en témoignage de mon amour et de ma reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi. Merci infiniment pour tout, je vous aime.

Naziha

Dédicaces

Louange à Dieu tout-puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

A Mes Très chers Parents

Je dédie ce mémoire à mes parents, pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être. Trouvez ici, chère mère et cher père, dans ce modeste travail, le fruit de tant de dévouement et de sacrifices ainsi que l'expression de ma gratitude et de mon profond amour. Puisse Dieu leur accorder santé, bonheur, prospérité et longue vie afin que je puisse un jour combler de joie leurs vieux jours.

A Mon Frère Abdou et ma Sœur Iman

Je leur dédie ce travail pour tous les sacrifices qu'ils n'ont cessé de m'apporter tout au long de mes années d'études. Que Dieu leur apporte le bonheur, les aide à réaliser tous leurs vœux et leur offre un avenir plein de succès.

A Ma tante Louisa et ma tante zozo

Pour votre soutien et vos encouragements, les mots ne suffisent pas pour exprimer l'attachement et l'affection que je porte pour vous.

A Ma chère amie Asmahane

Nulle dédicace ne pourrait exprimer ma profonde affection et mon immense gratitude pour tous les encouragements et soutiens qu'ils ont consentis à mon égard.

A Ma cousine

Merci pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions. Merci pour votre énorme support pendant la rédaction de mon projet.

Radia

Liste des abréviations

- **ADN** : Acide désoxyribonuccléique.
- **APG** : Angiosperm Phylogeny Group.
- **HCL** : Acide chlorhydrique.
- **n** : Nombre chromosomique.
- **S.S** : Sens strict.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Place des <i>orchidaceae</i> au sein des classifications évolutives	6
Tableau 2 : Comptages chromosomiques antérieurs d'espèces du genre <i>Ophrys</i> dans la péninsule ibérique.....	12
Tableau 3 : Classification et Nomenclature de chromosomes	13
Tableau 4 : Stations de récolte des espèces étudiées, altitude et la période de fixation des boutons floraux.....	18
Tableau 5 : Les caractères morphologiques analysés	20
Tableau 6 : Les caractères quantitatifs et qualificatifs d' <i>Ophrys speculum</i> L.	25
Tableau 7 : Caractérisation morphologique d' <i>Ophrys tenthredinifera</i> Willd	27
Tableau 8 : Fertilité pollinique et la taille des grains de pollen d' <i>Ophrys speculum</i> L <i>Ophrys tenthredinifera</i> W.....	34

Liste des figures

- Figure 1** : Différentes espèces d'Orchidées : A : *Ophrys speculum* L. ; B : *Orchis simia* ; C : *Ophrys numida* ; D : *Cephalanthera longifolia* ; E : *Ophrys tenthredinifera* subsp. *Ficalhoan* ; F : *Orchis purpurea* subsp. *purpurea*.....4
- Figure 2** : Diagramme floral des orchidées selon John Lindley.....5
- Figure 3** : Estimations de nombre d'espèces d'orchidées par région (genres/espèce). Les régions adjacentes se superposent lorsqu'elles sont séparées par une barrière océanique ou désertique7
- Figure 4** : Certains composés polyphénoliques et flavonoides rapportés pour l'activité anticancéreuse de la famille des *orchidaceae* 8
- Figure 5** : Une guêpe scoliïde mâle, *Dasyscolia ciliata*, pseudocopulant la fleur de l'orchidée miroir, en position céphalique sur le labelle 11
- Figure 6** : Image représente les types de la chromatine..... 14
- Figure 7** : Les deux espèces récoltées sur terrain , A,B : *Ophrys speculum* Link ; C , D : *Ophrys tenthredinifera* subsp. *tenthredinifera* Willd..... 18
- Figure 8** : Lieux de récolte des deux espèces étudiées. 19
- Figure 9** : Matériel utilisé durant l'expérimentation cytogénétique. A : Microscope optique; B : Loupe binoculaire; C : Bain-Marie ; D : Matériel végétal.....23
- Figure 10** : Différents stades de la méiose d'*O. speculum* L. A : Prophase I; B : Métaphase I; C: Anaphase I; D :Télophase I; E: prophase II ; F : Métaphase II; G : Anaphase II; H, I : Télophase II. Echelle : 10µm..... 32
- Figure 11** : Nombre chromosomique de *O. speculum* L (n= 18) en métaphase I . Echelle : 10µm..... 32
- Figure 12** : Différents stades de la méiose d'*O. tenthredinifera* W. A : Prophase I ; B : Métaphase I ; C, D : Anaphase I ; E : Télophase I ; F : Métaphase II; G, H : Anaphase II ; I : Télophase II. Echelle: 10 µm..... 33
- Figure 13** : A. Grain de pollen fertile d' *Ophrys speculum* L ; B : Grain de pollen fertile d'*O. tenthredinifera* W ; C : Grain de pollen stérile d' *Ophrys speculum* L ; D : Grain de pollen stérile d'*O. tenthredinifera* W .Echelle : 10 µm. 34

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale 1

1/ Synthèse bibliographique

1.1/ Généralités sur les orchidées	3
1.1.1/ Description botanique.....	4
1.1.2/ Classification.....	5
1.1.3/ Distribution géographique	6
1.1.4/ Utilisation médicinale des orchidées	8
1.1.5/ Utilisation commerciale des orchidées	8
1.2/ Le genre <i>Ophrys</i>	9
1.2.1/ L'origine du mot <i>Ophrys</i>	9
1.2.2/ Période de floraison	10
1.2.3/ Distribution du genre <i>Ophrys</i>	10
1.2.4/ Pollinisation du genre <i>Ophrys</i>	10
1.2.5/ Caryologie du genre <i>Ophrys</i>	11
1.3/ Cytogénétique	12
1.3.1/ Chromosomes.....	13
1.3.2/ Chromatine	14
1.3.3/ Division cellulaire.....	14
1.3.3.1/ Méiose	15
1.3.3.1.1/La méiose I (Division réductionnelle)	15
1.3.3.1.1.1/ Prophase I	15
1.3.3.1.1.2/ Métaphase I.....	15
1.3.3.1.1.3/ Anaphase I	15
1.3.3.1.1.4/ Télaphase I.....	16
1.3.3.1.2/ La méiose II (Division équationnelle)	16
1.3.3.1.2.1/ Prophase II	16
1.3.3.1.2.2/ Métaphase II	16
1.3.3.1.2.3/ Anaphase II.....	16
1.3.3.1.2.4/ Télaphase II	16

2/ Matériel et méthodes

2.1/ Origine géographique du matériel étudié.....	17
2.2/ Identification des espèces.....	19
2.3/ Techniques d'études	19
2.3.1/ Etude morphologique	20
2.3.1.1/ Les caractères analysés.....	20
2.3.2/ Etude cytogénétique	21
2.3.2.1/ Matériel végétal utilisé	21
2.3.2.2/ Préparation du matériel pour l'observation des méioses.....	22
2.3.2.2.1/ Préparation des solutions	22
2.3.2.2.1.1/ Fixateur.....	22
2.3.2.2.1.2/ Colorant	22
2.3.2.2.2/ Les différentes étapes de l'analyse de la méiose	22
2.3.2.2.2.1/ Prélèvement et fixation.....	22
2.3.2.2.2.2/ Hydrolyse à HCl.....	22
2.3.2.2.2.3/ Choix des boutons floraux.....	22
2.3.2.2.2.4/ Coloration	22
2.3.2.2.2.5/ Observation.....	23
2.3.2.2.2.6/ Photographie	23
2.3.2.3/ Etude de la fertilité pollinique	24

3/ Résultats

3.1/ Morphologie d' <i>Ophrys speculum</i> L et <i>Ophrys tenthredinifera</i> W	25
3.2/ Description générale	29
3.2.1/Description d' <i>Ophrys speculum</i> L.....	29
3.2.1.1/ Les racines	29
3.2.1.2/ La tige.....	29
3.2.1.3/ Les feuilles basales.....	29
3.2.1.4/ L'inflorescence	29
3.2.1.5/ Les fleurs	29
3.2.1.6/ Les bractées	29
3.2.1.7/ Les pétales	30
3.2.1.8/ Les sépales.....	30
3.2.1.9/ Le labelle	30
3.2.2/ Description d' <i>Ophrys tenthredinifera</i> subsp <i>tenthredinifera</i> Willd.	30
3.2.2.1/ Les racines	30
3.2.2.2/ La tige.....	30
3.2.2.3/ Les feuilles basales.....	30
3.2.2.4/ L'inflorescence	31
3.2.2.5/ Les fleurs	31
3.2.2.6/ Les bractées	31
3.2.2.7/ Les pétales	31
3.2.2.8/ Les sépales.....	31
3.2.2.9/ Le labelle	31

3.3/ Caryologie	31
3.3.1/ Méiose et dénombrements chromosomiques	31
3.3.2/ Grains de pollen et fertilité pollinique	33

4/ Discussion

4.1/ Aspect botanique	35
4.2/ Nombre de chromosome	35
4.3/ Fertilité pollinique et nombre des grains de pollen	37
4.4/ Adaptation à la pollinisation entomophile	37
Conclusion.....	40

Références bibliographiques

Résumé

Introduction générale

Introduction générale

Les *Orchidaceae* constituent la famille de plante à fleur la plus distinguée du règne végétal. Ces orchidées représentent environ 10% de toutes les Angiospermes (Schatz & Geniez, 2011). Elles sont probablement la famille de plantes la plus riche en espèces, talonnée de près par les composées, mais battant de loin les légumineuses et les graminées. La beauté et l'étrangeté de leurs fleurs ont passionné depuis longtemps botanistes et horticulteurs et l'étrangeté de certaines de leurs « mœurs » (Bourlière *et al.*, 1982).

Les *Orchidaceae* constituent de loin la plus grande famille en nombre d'espèces des Monocotylédones et probablement du règne végétal (Chase, 2005). Cette richesse taxonomique, leur omniprésence dans les forêts denses humides et leur mode de vie majoritairement épiphyte en font une famille particulièrement intéressante pour l'étude de la végétation en Afrique tropicale. En effet, cette flore particulière de la canopée représenterait jusqu'à 10 % des plantes vasculaires connues à ce jour (Gentry & Dodson, 1987). En Afrique tropicale, les *Orchidaceae* comptent pour 50 à 70 % des épiphytes (Johansson, 1974 ; Zapfack *et al.* 1996 ; Zapfack & Engwald, 2007). Cette part importante de la diversité a été jusqu'à présent négligée, aussi bien dans la plupart des études de diversité et des études phytogéographique que lors de l'évaluation des zones d'importance pour la conservation (Bougaham *et al.*, 2015).

Les connaissances sur les orchidées d'Algérie et leurs répartitions restent peu connues, et majoritairement basées sur les anciennes observations de Maire (1960) qui a recensé 55 taxons réparti en 15 genres. Bougaham *et al.* (2015) ont répertorié vingt-sept taxons (espèces et sous-espèces) et neuf genres dans la région de la Kabylie des Babors. Le genre *Ophrys* est le plus diversifié, avec huit espèces, le genre *Orchis* vient en deuxième place, avec cinq espèces. Quatre de ces espèces sont mentionnées pour la première fois dans le secteur phytogéographique dit de "Petite Kabylie « Cette relative diversité orchidologique s'explique en grande partie par les conditions climatiques exceptionnelles, associées à une relative originalité paysagère des milieux en altitudes de la Kabylie des Babors, plus au moins bien conservée (Bougaham *et al.*, 2015).

Le genre *Ophrys*, principalement méditerranéen, est endémique de la région ouest-paléarctique (Delforge, 2005). Il est hautement polymorphe sur le plan de la morphologie florale malgré une similarité basique apparente (Nelson, 1962). De ce fait, l'identification de ces taxons demeure très difficile, même pour les spécialistes les plus expérimentés. Kullenberg & Bergström (1976) ont suggéré une division du genre *Ophrys* suivant des observations sur la pollinisation, l'attraction des insectes et l'analyse chimique des composés volatiles des insectes

Introduction générale

et des fleurs. D'autres auteurs comme Amich *et al.* (2009) se basent plutôt sur les analyses génétiques et caryologiques. Néanmoins, la taxonomie du genre *Ophrys* reste principalement basée sur les caractères morphologiques de la fleur à défaut de taxonomie intégratrice (Véla *et al.*, 2015).

Ophrys speculum Link subsp. *speculum* est une orchidée très abondante dans la wilaya de Béjaïa. Elle est présente en population importante (de 10 à plus 100 individus) dans cent six stations (Bougaham *et al.*, 2021). Elle est très commune et abondante en Tunisie et au Maroc (Raynaud, 1985; Martin *et al.*, 2015). Dans le Parc National de Djurdjura, l'*Ophrys miroir* a été observé dans dix-huit stations sur les différentes expositions et à des altitudes variées, le 09.04.2022, cette orchidée a été observée avec 5 individus sous pinède en aval de la route qui mène vers Tikjda, devant la maison en pierre (route d'Akboub) (36°23'08.17"N, 4°06'42.11"E, 562 m) (Rebbas *et al.*, 2023).

Ophrys tenthredinifera Willd. subsp. *tenthredinifera* était considéré comme une espèce polytypique présente dans tout le bassin méditerranéenne. Elle est très commune dans le Tell algérien, le Nord tunisien et le Maroc (Maire, 1960). C'est une orchidée à floraison précoce mais étalée dans le temps selon l'altitude (De Belair *et al.*, 2005). Dans le Parc National de Djurdjura cette orchidée a été observée dans dix stations en mars 2010. Elle a été vue en fleurs aussi à El Riche, commune de Bouira (36°23'45.67"N, 3°53'13.81"E, 551 m) à la fin du mois de mars 2010 avec 15 individus (Rebbas *et al.*, 2023).

Le but de ce travail est de déterminer les caractères morphologiques et caryologique des deux espèces *Ophrys speculum* L. et *ophrys tenthredinifera* W.

Notre travail est réparti en quatre chapitres, initiée par une partie bibliographique qui parlera sur la présentation botanique de la famille des orchidées et du genre *Ophrys*, leur répartition géographique et leur propriété thérapeutique, et une définition générale sur la cytogénétique végétale. La deuxième partie est consacrée au matériel végétal analysé et à la méthodologie utilisée. Dans le troisième chapitre, nous présentons les résultats obtenus, et leurs interprétations est discutés dans le quatrième chapitre, nous terminons notre mémoire par une conclusion générale et des perspectives de recherche.

1/ Synthèse Bibliographique

1.1/ Généralités sur les orchidées

Les *Orchidaceae* forment l'une des plus grandes familles d'Angiospermes, ainsi que l'une des plus fascinantes en raison de leur diversité et de leur spécialisation dans la structure florale (Cakova, 2013).

La famille des orchidées est la plus importante en nombre d'espèces après celle des *Asteraceae* (Cakova, 2013). Ces plantes à fleurs entomophiles très évoluées représentent un patrimoine végétal d'une très grande biodiversité. C'est la famille la plus étudiée du règne végétal. Ils sont généralement cultivés pour leurs belles fleurs et sont largement connus pour leur importance économique et très peu pour leur usage médicinal. L'organisation végétative est variable selon les espèces. En général, ils sont composés de racines adventives, de rhizome, de tige, de feuilles et des fleurs.

Au cours des processus évolutifs, les orchidées se sont adaptées à des environnements distincts, elles peuvent donc être épiphytes, terrestres, saprophytes ou lithophytes. Ces variations environnementales contribuent aux altérations structurelles des organes végétatifs. (Aybeke *et al.*, 2010). La figure 1, montre quelques espèces d'orchidées connues d'Afrique du Nord.



Figure 1 : Différentes espèces d'Orchidées : **A** : *Ophrys speculum* L ; **B** : *Orchis simia* ; **C** : *Ophrys numida* ; **D** : *Cephalanthera longifolia* ; **E** : *Ophrys tenthredinifera* subsp. *Ficalhoan* ; **F** : *Orchis purpurea* subsp. *purpurea* (Martin *et al.*, 2020).

1.1.1/ Description botanique

Les orchidées sont des plantes phanérogames appartenant à la classe des monocotylédones. Les racines des orchidées sont différentes des autres végétaux car elles sont uniformes de grosseur sur toute longueur et partent toutes de l'axe de la plante.

La tige n'est pas ramifiée et conserve le même diamètre tout au long de la vie de la plante, portant des feuilles simples, non divisées, à nervure parallèle, comme toutes les monocotylédones. L'inflorescence contient des fleurs qui sont construites selon un plan unique avec diagramme précis, relativement simple qui permet de les distinguer des autres familles botaniques. Ces dernières possèdent 3 sépales vers l'extérieur, une corolle est formée de 3 pétales, plus colorés et évolués, dont deux latéraux sont toujours identiques tandis que l'inférieur est modifié en labelle. Ces fleurs contiennent une étamine (partie mâle), parfois deux

Synthèse bibliographique

et un pistil (partie femelle) est constitué d'un style, d'un stigmate et d'un ovaire dit infère (situé en dessous du point d'insertion des pièces florale), il est destiné à se transformer en fruit (Cakova, 2013). La figure 2, ci-dessous, montre le diagramme floral des orchidées.

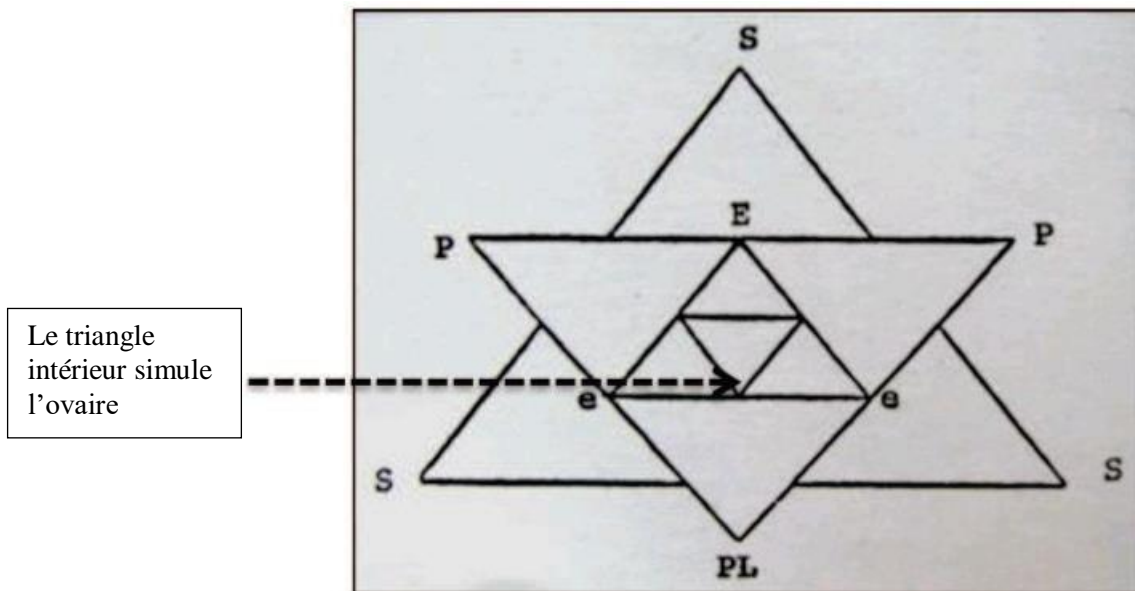


Figure 2 : Diagramme floral des orchidées selon John Lindley
S = sépales ; P = pétales ; PL = pétale modifié; E = étamine
(Pour les orchidées à une seule étamine); e = étamines
(Pour les orchidées à deux étamines); 0 = ovaire infère (Lecoufle, 2004).

1.1.2/ Classification

Les orchidées occupent différentes positions dans différentes classifications évolutives. La plupart sont basés sur des similitudes morphologiques, comme Thorne (1992), mais d'autres prennent en considération les études phylogénétiques, comme APG III (2009). D'après Cakova (2013), les orchidées sont des plantes à fleurs appartenant à l'embranchement des spermaphytes, sous embranchement des Angiospermes et à la classe des monocotylédones (tableau 1). Il existe deux types discernables de taxonomie : morphologique et phylogénétique, et ils diffèrent par leur manière d'ordonner hiérarchiquement. Les orchidées sont classées dans l'ordre des Orchidales (Classification morphologique) (Voir tableau 01) et dans l'ordre des Asparagales (Classification phylogénétique) (Cakova, 2013). Dressler (1993) divise la famille des orchidées en se basant sur la phylogénie à 5 sous-familles qui sont :

- 1.1.1.1 Les Apostasioideae.
- 1.1.1.2 Les Vanilloideae.
- 1.1.1.3 Les Cyripedioideae.

Synthèse bibliographique

1.1.1.4 Les Orchidoideae.

1.1.1.5 Les Epidendroideae.

Tableau 1 :Place des *orchidaceae* au sein des classifications évolutives.

Auteur	Cronquist (1981)	Thorne (1992)	Dressler(1993)	APG III (2009)
Division	Magnoliophyta (Angiospermes)			
Classe	Liliopsida (monocotylédones)	Magnoliopside (Angiospermes)		
Clade			Angiospermes	
Sous classe	Lillidae	Monocotylédones		
Clade du range inférieur				Monocotylédones
Superordre		Lilianeae		
Ordre	Orchidales	Orchidales	Asparagales	
Sub-ordre		Orchidineae		
Famille	<i>Orchidaceae</i>			

1.1.3/ Distribution géographique

La répartition géographique des orchidées est presque mondiale. Ces orchidées se retrouvent dans tous les continents à toutes les latitudes sauf les pôles et les milieux désertiques les plus arides. Elles se rencontrent sur les rochers, dans les prairies des écosystèmes boréaux, tempérés, méditerranéens et dans les forêts, mais les écosystèmes tropicaux en comptent le plus grand nombre (Dressler, 1981). Les Orchidées sont omniprésentes sur les bords des routes, les cimetières et surtout les endroits peu piétinés (Durbin, 2004). De nombreuses tribus d'orchidées appartiennent aux tropiques (Martos, 2010). Environ 95 % des orchidées mondiale se trouvent dans les régions tropicales comme l'Amérique du sud et centrale et seulement 5 % dans les régions tempérées (Telepova-TeXier, 2011) (Figure 3).

En Afrique, les orchidées terrestres sont plus fréquentes dans les climats tempérés, tandis que les orchidées épiphytes colonisent les régions équatoriales. En Afrique du sud, une orchidée sur dix est épiphyte, alors qu'au Kenya et au Zaïre, la proportion est supérieure à la moitié (Cakova, 2013).

Synthèse bibliographique

L'Algérie, comme le reste du territoire d'Afrique du Nord, abrite certaines espèces d'orchidées connues depuis l'Antiquité. Le nombre d'espèces d'orchidées n'est pas encore connu avec précision. En effet, Battandier & Trabut (1902) ont signalé 10 genres et 44 espèces, par contre Maire (1960) donne 55 espèces et 15 genres. Quèzel & Santa (1962-1963) décrivent un total de 51 taxons, dont 3 sous-espèces. Baumann *et al.* (2006) ont répertorié un total de 55 espèces d'orchidées. Au niveau local, Bougaham *et al.* (2015) ont recensé 27 taxons d'orchidées en Kabylie des Babors. Babali *et al.* (2018) ont avancé un nombre 48 taxons d'orchidées pour la région de Tlemcen. Hamel *et al.* (2017) ont indiqué 18 orchidées pour la wilaya de Skikda.

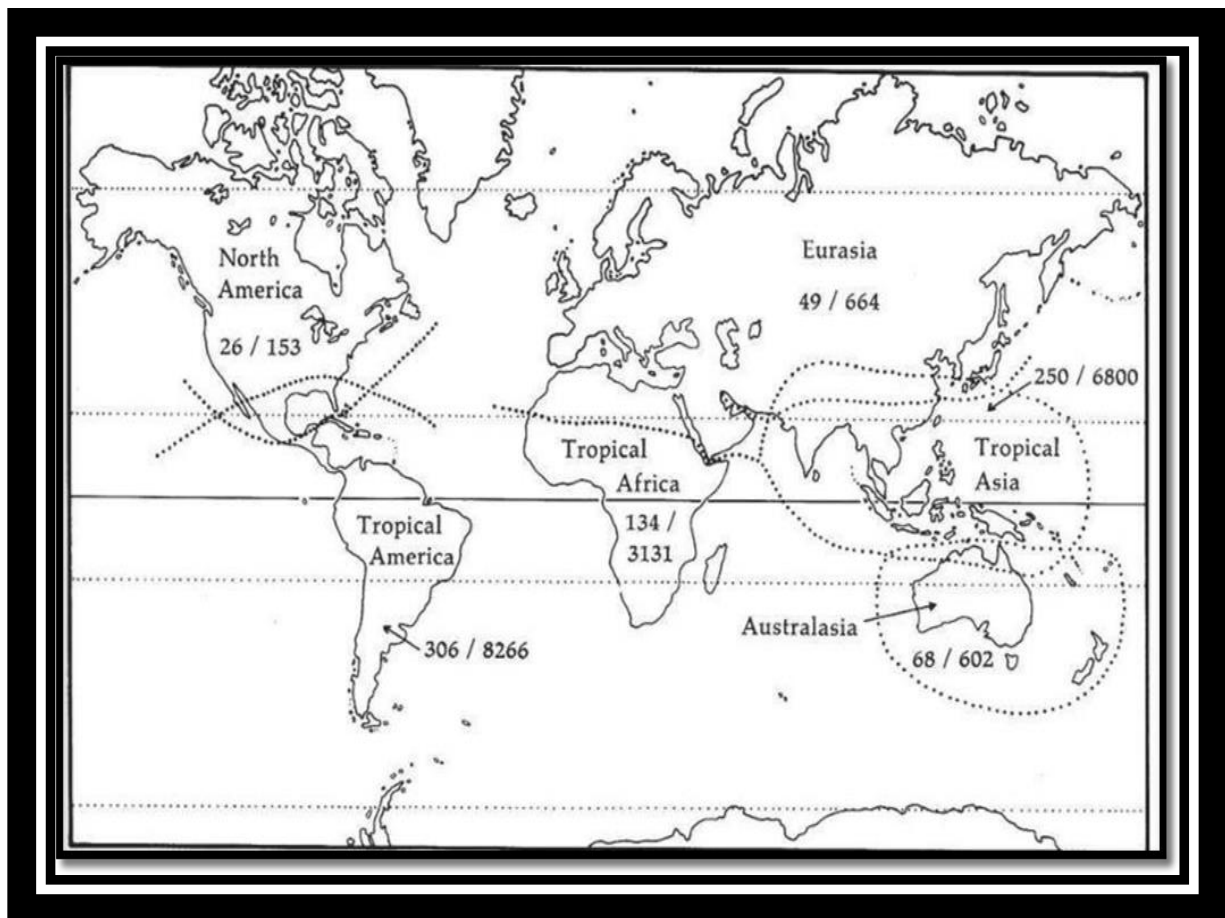


Figure 3 : Estimations de nombre d'espèces d'orchidées par région (genres/espèce). Les régions adjacentes se superposent lorsqu'elles sont séparées par une barrière océanique ou désertique (Dressler, 1990).

Synthèse bibliographique

1.1.4/ Utilisation médicinale des orchidées

Les orchidées ont de nombreuses utilisations pour la médecine traditionnelle et moderne : anticancéreux, antitumoraux, antibactériens, antifongiques, antioxydants, antimutagènes, anti inflammatoires, antiplaquettaires, antispasmodiques, hépato protecteurs, anti diarrhéiques, antidiabétiques, diaphorétiques, sédatifs, aphrodisiaques (Eraybozyl & Merdamert, 2017).

Les espèces végétales d'orchidées ont d'énormes activités anticancéreuses. L'extrait de méthanol de plusieurs orchidées a été étudié pour ses activités anticancéreuses telles que *Dendrobium longicornu* L. ; *Dendrobium transparens* L. ; *Rhyncostylis retusa* L. et *Vanda cristata* L. Les orchidées sont riches en polyphénols, flavonoïdes (1-6) et ont des effets antioxydants élevés, ces propriétés sont responsables d'activités anticancéreuses (Figure 4) (Bozyl & Merdamert, 2017). Une orchidée connue sous le nom de vanille (*Vanilla planifolia* L.) originaire du Mexique à qui on attribue plusieurs vertus : lutte contre la fatigue et l'insomnie, apéritive et digestive, anti déprime, anti-stress, aphrodisiaque, antiseptique (Ricard, 2010).

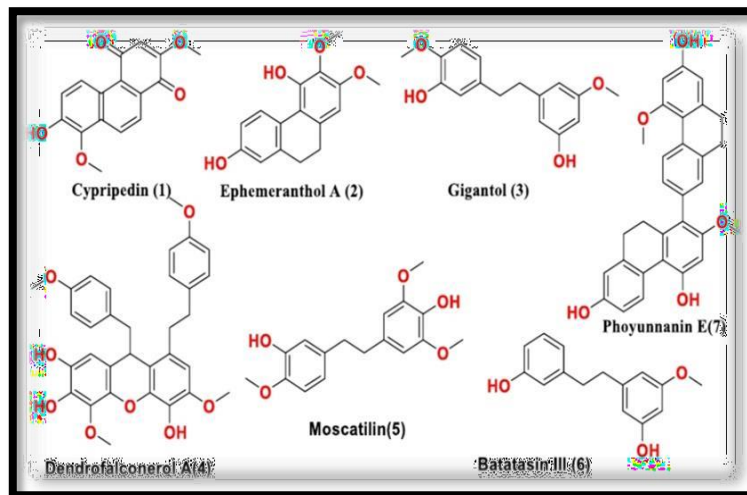


Figure 4 : Certains composés polyphénoliques et flavonoïdes rapportés pour l'activité anticancéreuse de la famille des *orchidaceae* (Shukla *et al.*, 2022).

1.1.5/ Utilisation commerciale des orchidées

De grandes variétés d'orchidées, comme *Phalaenopsis* et *Cattleya orchids* ont été utilisées pour la décoration comme fleurs coupées et plantes en pot dans les hôtels, les ménages, les arrangements suspendus, les boutiques, les anniversaires, les funérailles et les mariages. Il existe de nombreux hybrides inter-génériques (interspécifiques), tels que, les genres, *Oncidium* avec *Brassia* et *Miltonia* avec *Odontoglossum*. Elles sont également disponibles sur les marchés

qui sont commercialement utilisés dans les zones climatiques chaudes portant de belles fleurs et ont une résistance à la chaleur (Ramesh *et al.*, 2019). Les Orchidées tirent leur réputation de leur valeur alimentaire et commerciale (Hamisy, 2007). Elles constituent une ressource de grande importance économique dans l'industrie agroalimentaire en Europe et en Amérique (Hamisy, 2007).

1.2/ Le genre *Ophrys*

Le genre *Ophrys* est le plus diversifié en bassin méditerranéen (Delforge, 2016) et domine l'orchidoflore algérienne (Quézel & Santa, 1962).

Le genre *Ophrys* est l'un des groupes très attrayants parmi les orchidées en raison de leurs couleurs vives, formes et système de pollinisation intéressant, donc communément connu sous le nom d'orchidées d'abeilles en raison de la ressemblance des fleurs de certaines espèces aux corps poilus des abeilles et d'autres hyménoptères (Aybeke *et al.*, 2010).

Le nom scientifique *Ophrys* signifie « Sourcil » en langue grecque se référant aux bords poilus des lèvres de plusieurs espèces. Le genre *Ophrys* a deux sections : *Euophrys* et *Pseudophrys* (Aybeke *et al.*, 2010). *Ophrys speculum* (orchidée miroir) est l'une des espèces communes d'*Ophrys* incluses dans la section *Euophrys* et le groupe d'*Ophrys speculum* est une espèce d'*Ophrys* distribuée dans toute la méditerranée qui est pollinisée exclusivement par une seule espèce de guêpe *scoliidae* « *Dasyscolia ciliata* » (Aybeke *et al.*, 2010).

1.2.1/ L'origine du mot *Ophrys*

Nom générique : Le nom officiel, accepté du genre *Ophrys* établi et publié en 1753, par le botaniste suédois Carl Linnaeus (1707-1778), auteur abrégé en L.

Le nom générique, *Ophrys*, provient du grec ancien "*Ophrys*"(sourcil, paupière) et a été utilisé pour la première fois par le naturaliste et philosophe romain Gaius Plinius Secundus (23-79 avant notre ère), connu sous le nom de Pline l'Ancien, pour une plante d'origine incertaine.

Ophrys (sourcil) est une référence à la bordure poilue ou à la marge poilue, une référence aux marges poilues du labelle qui imitent la pilosité des abeilles femelles, d'où le nom vernaculaire générique de ce genre, les orchidées des abeilles. "*Ophis* "est aussi un nom donné par le botaniste suisse Gaspard Bauhin (1560-1623) au genre *Neottia* (anciennement *Listera*), dont les fleurs ont un capuchon vert et un labelle fourchu, ressemblant à la tête et à la langue d'un serpent.

1.2.2/ Période de floraison

Les espèces d'*Ophrys* fleurissent une fois par année, d'avril à juin, selon l'altitude (De Angelli & Anghelescu, 2020). Il est courant que les plantes bisannuelles ne fleurissent pas nécessairement chaque année (Hutchings, 2010) et la proportion de plantes qui fleurissent au sein d'une population varie grandement d'une année à l'autre. Des études réalisées dans le sud de l'Angleterre, ont montré que la fréquence moyenne de floraison des plantes d'une année à l'autre était de 27,4 % chez *Ophrys apifera* et de 83,7 % chez *Ophrys sphegodes* (Wells & Cox, 1989 ; Hutchings, 2010).

La floraison dépend habituellement de la taille du tubercule, du nombre de feuilles et de la quantité de pluie en automne, lorsque les feuilles commencent à apparaître au-dessus du sol (Wells & Cox, 1989).

La sécheresse constitue un facteur limitatif très important, car elle empêche la formation d'inflorescences et provoque une détection prématurée des fleurs, réduisant ainsi les chances de pollinisation et de production de graines (Neiland, 1994).

1.2.3/ Distribution du genre *Ophrys*

Ophrys est un genre monophylétique d'orchidées. Suivant l'exemple du Jardin botanique de Kew, la liste mondiale des familles végétales sélectionnées, le genre est représenté par 148 espèces et nothospécies (espèces d'origine hybride).

Ils sont répandus dans une grande partie de l'Europe, des îles Canaries à la mer Caspienne, du sud de la Scandinavie à l'Afrique du Nord, de l'est à l'ouest de l'Asie (Nord-Ouest de l'Iran), avec la plus grande diversité dans le bassin méditerranéen (Pridgeon *et al.*, 2001).

1.2.4/ Pollinisation du genre *Ophrys*

Presque tous les *Ophrys* sont pollinisés au moyen du même processus, c'est-à-dire la tromperie sexuelle, essentiellement par les insectes Hymenoptera (Paulus, 2006). Attiré par l'odeur et la forme insectiforme de la fleur, le mâle pollinisateur se pose sur le labelle et tente de s'y accoupler. Au cours de cette pseudo-copulation, le mâle entre en contact avec la pollinie, qui s'attache à sa tête ou à son abdomen (Pouyanne, 1917). Il a été proposé (Godfery, 1928 ; Devillers & Devillers-Terschuren, 1994) que le genre *Ophrys* soit subdivisé en deux sections principales, c'est-à-dire Pseudophrys Godfery, caractérisé par une pseudocopulation

abdominale (les pollinies se fixent à l'extrémité de l'abdomen) et *Euophrys Godfery* qui pratique la pseudocopulation céphalique : les pollinies se fixent à la tête (Figure 5).



Figure 5 : Une guêpe scoliïde mâle, *Dasyscolia ciliata*, pseudocopulant la fleur de l'orchidée miroir, en position céphalique sur le labelle (Paulus, 2006).

1.2.5/ Caryologie du genre *Ophrys*

Les études caryologiques sur les orchidées en général, et sur le genre *Ophrys* en particulier sont rares. Greilhuber & Ehrendorfer (1975) et Bianco *et al.* (1991), ont réalisé des études portant sur la polyploïdie de certaines espèces d'orchidées en Autriche et en Italie respectivement. Les résultats obtenus montrent qu'*Ophrys tenthredinifera* subsp. *tenthredinifera* Willd est une espèce diploïde avec $2n=36$, le nombre chromosomique de base est $n=18$. Ce taxon peut être aussi triploïde (Bianco *et al.*, 1991).

Les données chromosomiques sur l'*Ophrys* ibérique (Espagne) sont très peu. Le tableau 2, montre les résultats des comptages précédents effectués avec du matériel ibérique.

Synthèse bibliographique

Tableau 2 : Comptages chromosomiques antérieurs d'espèces du genre *Ophrys* dans la péninsule ibérique (Assédé *et al.*, 2017).

Espèces	Auteurs	2 n	Localités
<i>O. apifera</i>	Love & Kjellqvist (1973)	36	Espagne. Jaén, Sierra de Cazorla
<i>O. apifera</i>	Perez Chiscano <i>et al.</i> , (1990)	36	Espagne. Cáceres, Alcaraz
<i>O. apifera</i>	Bernardo & Amich (2002)	36	Espagne. Salamanque, La Fregeneda
<i>O. lutea</i>	Love & Kjellqvist (1973)	36	Espagne. Jaén, Sierra de Cazorla
<i>O. scolopax</i>	Silvestre (1983)	36	Espagne. Séville, El Coronil
<i>O. scolopax</i>	Bernardo & Amich (2002)	36	Espagne. Salamanque, Pereña
<i>O. spéculum ssp. Spécu</i>	Queiros (1983)	36	LE Portugal. Beira Litoral, Castanhede
<i>O. spéculum ssp. Lusitanicum</i>	Queiros (1983)	38	LE Portugal. Beira Litoral, Río de Galhinas

1.3/ Cytogénétique

La Cytogénétique est une science qui fait le lien entre la cytologie et la génétique (Jahier *et al.*, 1992). C'est une approche utile pour étudier les variations chez les plantes basée sur la variation chromosomique, de plus, la taille du génome est une information pertinente pour comprendre les mécanismes et processus fondamentaux sous-jacents à la croissance des plantes, les études évolutives, taxonomiques systématiques et de biologie cellulaire (Mendes *et al.*, 2011).

Synthèse bibliographique

Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19^e siècle mais c'est surtout à partir de 1920 que la cytogénétique s'est développée et son importance n'a cessé de croître par la suite, elle a pris une part active à la compréhension des mécanismes héréditaires et du monde végétal dans sa diversité (taxonomie, phylogénie). C'est aussi une des nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes, C'est une science d'investigation.

Elle participe à :

- La connaissance du matériel végétal utilisé : nombre de chromosomes, polyploïdie, allopolyploïdie.
- L'établissement de cartes génétiques grâce à la production et l'étude d'aneuploïdes (lignées monosomiques, télosomiques... lignées d'addition...).
- L'exploitation de la variabilité intraspécifique, interspécifique ou induite.

La cytogénétique peut être impliquée au niveau même de la création variétale en participant à l'explication et la résolution de problèmes ponctuels rencontrés par les sélectionneurs : instabilité, stérilité (Jahier *et al.*, 1992).

1.3.1/ Chromosomes

Le terme "chromosome" dérive à l'origine de la langue grecque qui signifie couleur (chromo)-corps (certains) en raison de leur coloration intense avec certains colorants

Les chromosomes sont les éléments constitutifs du noyau d'une cellule et ils portent le matériel génétique héréditaire sous la forme de gènes composés d'acide désoxyribonucléique (ADN). Grâce à une série d'expériences pionnières réalisées depuis les années 1880, Theodor Boveri a le premier apporté la preuve que les chromosomes sont bien les vecteurs du matériel héréditaire. Cette découverte fascinante de Boveri avait inspiré un certain nombre de cytologistes et finalement Boveri et Sutton ont proposé indépendamment la théorie de l'hérédité chromosomique en 1902.

Les chromosomes ont été classés en six catégories en fonction de la position du centromère (tableau 3).

Tableau 3 : Classification et Nomenclature de chromosomes de Levan *et al.*, (1964).

Position du centromère	Types chromosomiques
Point médian	Métacentrique s.s. (M)

Synthèse bibliographique

Région médiane	Métacentrique (m)
Région submédiane	Submétacentrique (sm)
Région subterminale	Subtélolocentrique (st)
Région terminale	Acrocentrique (t)
Point terminale	Télolocentrique (T)

1.3.2/ Chromatine

Flemming a observé des structures filiformes dans le noyau et les a nommées chromatine, Par la suite, ces structures filiformes de la chromatine ont également été observées par Waldeyer-Hartz qui a inventé le terme "chromosomes" en 1888.

La chromatine est la forme sous laquelle se présente l'ADN dans le noyau. C'est la substance de base des chromosomes eucaryotes, elle correspond à l'association de l'ADN et de protéines structurales appelées histones.

Deux types de chromatine peuvent être distingués :

- L'euchromatine : qui consiste en ADN actif, de structure globalement décondensée permettant l'expression génique.
- L'hétérochromatine : reste compactée tout au long du cycle et peut être visualisée grâce à une coloration de Giemsa C-Banding ou de Fluorochromes. (Wolffe ,1998).

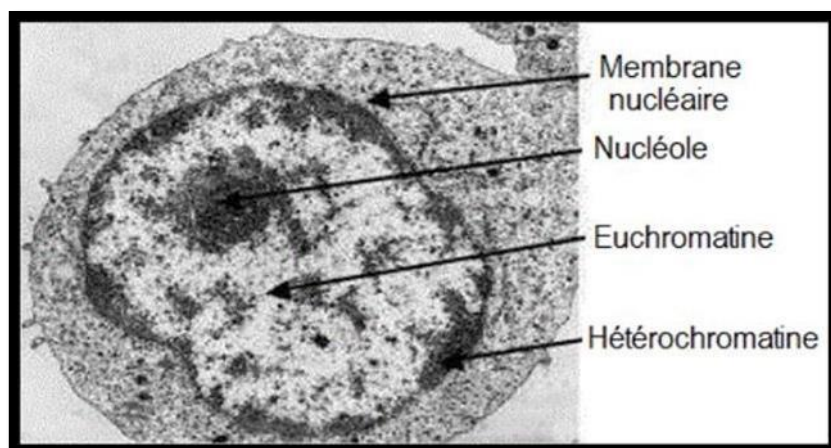


Figure 6 : Image représente les types de la chromatine (Bennaceur & Louchani, 2020).

1.3.3/ Division cellulaire

La division cellulaire nécessite une série d'événements, connus collectivement sous le nom du cycle cellulaire, qui conduisent finalement à la duplication de l'ADN, et à la ségrégation

des génomes nouvellement dupliqués en cellules filles, Les chromosomes se condensent alors et l'enveloppe nucléaire se décompose (Salazar *et al.*, 2017).

La méiose est la division cellulaire qui redistribue l'information génétique entre les générations (Mercier *et al.*, 2015).

1.3.3.1/ Méiose

La méiose consiste en une méiose I et une méiose II. La méiose I est une division réductrice (Division réductionnelle), dans laquelle les chromosomes homologues s'associent en bivalents et subissent ensuite une ségrégation au hasard. Au cours de la méiose II (Division équationnelle), ce sont les chromatides sœurs qui se séparent telle dans une mitose (Luo *et al.*,2014). Les méioses I et II sont divisées en quatre étapes importantes : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase.

1.3.3.1.1/La méiose I (Division réductionnelle)

Les différents stades de la division réductionnelle sont :

1.3.3.1.1.1/ Prophase I

La prophase de la première division de la méiose est l'étape la plus longue et la plus complexe puisqu'elle représente 90% de la durée totale de la méiose (Mieulet *et al.*, 2017).

1.3.3.1.1.2/ Métaphase I

En métaphase I, les bivalents se déplacent vers le plan équatorial de la cellule et le fuseau achromatique se forme. Le fuseau achromatique est formé de microtubules et de nombreuses protéines associées. Les chromosomes s'alignent sur la plaque métaphasique et sont attachés aux microtubules par leurs kinétochores. Les kinétochores sont des structures associées au centromère des chromosomes. Chaque chromosome possède une paire de kinétochores. Le kinétochore est le lieu d'attachement des microtubules sur le chromosome. (Wynne *et al.*, 2018).

1.3.3.1.1.3/ Anaphase I

Les chromosomes homologues s'éloignent l'un de l'autre grâce à la force exercée par le fuseau. La mono-orientation des kinétochores permet aux chromatides sœurs de migrer du même côté. A la fin d'anaphase I, les chromosomes migrent vers un des pôles de la cellule. Chaque groupe est composé de chromosomes en unique exemplaire, mais avec deux chromatides sœurs. La cellule commence à s'allonger pour préparer la division cellulaire suivante (méiose II) (Jullian *et al.*, 2010).

1.3.3.1.1.4/ Téléphase I

En téléphase I, le fuseau méiotique disparaît, chaque groupe de chromosomes est maintenant arrivé près d'un pôle. La cytokinèse a lieu à ce stade, et produit deux cellules filles. Il n'y a pas de nouvelle réplication de l'ADN avant la prophase II. (Mieulet *et al.*, 2017).

1.3.3.1.2/ La méiose II (Division équationnelle)

Cette division ressemble à une mitose sans qu'il y ait réplication préalable de l'ADN, A la suite de la première division de méiose.

1.3.3.1.2.1/ Prophase II

Entre les deux divisions méiotiques, les chromosomes restent condensés, le noyau ne se reforme pas et l'ADN ne se réplique pas ; la chromatine et les microtubules restent dans un état pseudo métaphasique. Au cours de la prophase II, chaque chromosome est composé d'une paire de chromatides sœurs liées par un même centromère. Les chromosomes se condensent et leurs centromères se divisent (Subramanian *et al.*, 2014).

1.3.3.1.2.2/ Métaphase II

L'attachement correct des chromosomes au fuseau mitotique en plaque métaphasique est indispensable au déclenchement de l'anaphase II. Le contrôle de cet attachement représente un point de surveillance important, au cours de la division cellulaire. Un mécanisme opère pour assurer que tous les chromosomes sont correctement attachés au fuseau avant que la séparation des chromatides-sœurs n'ait lieu. Les chromosomes non attachés au fuseau bloquent la séparation de toutes les chromatides-sœurs (Terret *et al.*, 2008).

1.3.3.1.2.3/ Anaphase II

À l'anaphase, les chromatides-sœurs se séparent lorsque la séparase (une protéase) détruit par protéolyse spécifique la cohésine qui les maintient rassemblées (Lara-Gonzalez, 2012).

1.3.3.1.2.4/ Téléphase II

À la téléphase II, les chromosomes se décondensent et l'enveloppe nucléaire est reformée. Les noyaux commencent à se former aux deux pôles de la cellule, autour de chacun des quatre stocks chromosomiques haploïdes. La cytokinèse a lieu, et quatre cellules filles sont formées, génétiquement différentes les unes des autres (grâce au brassage des chromosomes homologues lors de la recombinaison pendant la Prophase I) (Touati *et al.*, 2014).

2/ Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et lavie et sciences de la terre de l'université Aklli Mohand Oulhadj-Bouira (UAMOB).

Selon les données présentées, les objectifs de ce travail énoncé près de ces axes principaux :

- Tout d'abord, les deux espèces *ophrys speculum* Link. et *ophrys tenthredinifera* subsp. *tenthredinifera* Wild. qui sont des espèces à grande importance dans l'écosystème ont été étudiées sous deux aspects morphologiques et cytologiques.
- Initiation dans l'étude cytogénétique de certaine espèce des orchidées à la première fois dans l'Algérie.

2.1/ Origine géographique du matériel étudié

Les échantillons de plantes appartenant à ces deux taxons ont été récoltés dans deux stations. La première station est la forêt d'Errich (520 m. d'altitude), et la deuxième station est le massif de Tikjda, située à environ 1450 m. d'altitude (Tableau 4).

La forêt d'Errich est dominée essentiellement par le chêne liège (*Quercus suber* L.) et quelques individus de chêne zéen (*Quercus canariensis* Willd.). Par contre, le massif de Tikjda est dominé par le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* (Endl.) Carrière), le chêne vert (*Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp) et compte des maquis de *Calicotome spinosa* (L.) Lam et des pelouses qui sont propices au développement des orchidées.

Des spécimens entiers de plantes ont été récoltés dans des sachets en plastiques et transportés au laboratoire pour les étudier, durant la période s'étalant du mois d'avril au mois de juin.

Matériel et méthodes



Figure 7 : Les deux espèces récoltées sur terrain , **A ,B :** *Ophrys speculum* Link ; **C , D :** *Ophrys tenthredinifera* subsp. *tenthredinifera* Willd.

Tableau 4 : Stations de récolte des espèces étudiées, altitude et la période de fixation des boutons floraux.

Taxon	Station de récolte	Altitude	Période de fixation
<i>Ophrys speculum</i> Link.	Forêt d'Errich	520 m	Mars, Avril, Mai
<i>Ophrys speculum</i> Link.	Tikjda	1450 m	Avril, Mai
<i>Ophrys tenthredinifera</i> subsp. <i>tenthredinifera</i> Willd.	Forêt d'Errich	520 m	Avril, Mai
<i>Ophrys tenthredinifera</i> subsp. <i>tenthredinifera</i> Willd.	Tikjda	1450 m	Avril, mai



Figure 8 : Lieux de récolte des deux espèces étudiées.

2.2/ Identification des espèces

Notre étude est portée sur deux espèces du genre *ophrys* dans la région de Bouira, qui sont *Ophrys tenthredinifera* subsp. *tenthredinifera* Willd et *Ophrys speculum* Link. Le choix de ces taxons est basé essentiellement sur la disponibilité du matériel végétale et sur leurs boutons floraux jeunes facilement visibles sur la plante.

2.3/ Techniques d'études

Après identification, les espèces ont fait l'objet de deux volets suivant : une étude morphologique et cytologique.

Matériel et méthodes

2.3.1/ Etude morphologique

Cette étude a été réalisée sur des individus de l'espèce *ophrys speculum* Link et *Ophrys tenthredinifera* Willd ; nous avons récoltés des plantes complètes pour effectuer les mesures de la taille, la largeur, le diamètre des différentes parties de ces espèces. Le matériel végétal échantillonné est photographié, étiqueté puis transporté au laboratoire, et conservé à l'état frais et naturel pour les mesures biométriques des différentes parties de la plante. Ces dernières ont été réalisées sur chaque échantillon séparément afin d'éviter toute confusion.

2.3.1.1/ Les caractères analysés

Nous avons sélectionné (58) caractères morphologiques à analyser, couvrant la majeure partie de la plante ; dont (34) caractères quantitatifs et (24) qualitatifs (Tableau 5). Les caractères numérotés de 1 à 7 et de 28 à 34 ainsi que les caractères 10 et 13 ont été mesurés à l'œil nu et à l'aide du papier millimétrique, et les caractères de 8 à 27 (Tableau 5) ont été mesurés avec le logiciel Fiji Software (Schindelin *et al.*, 2012) en utilisant les images scannées

Tableau 5 : Les caractères morphologiques analysés.

Caractères quantitatifs	Caractères qualitatifs
1. Longueur de la racine (mm)	35- Positionnement des fleurs
2. Diamètre de la racine (mm)	36- Couleur de l'inflorescence
3. Largeur de la racine (cm)	37- Type de l'inflorescence
4. Longueur des bulbes (mm)	38- Couleur de la bractée
5. Diamètre des bulbes (mm)	39- Forme de la bractée
6. Longueur de la tige (cm)	40- Texture de la bractée
7. Diamètre de la tige (mm)	41- Forme de la bractée
8. Longueur du pétale (mm)	42- Positionnement des bractées
9. Largeur du pétale (mm)	43- Couleur de l'étamine
10. Nombre des pétales	44- Couleur du pétale
11. Longueur du sépale (mm)	45- Texture du pétale
12. Largeur du sépale (mm)	46- Forme du pétale
13. Nombre des sépales	47- Couleur du sépale
14. Longueur du labelle (mm)	48- Forme du sépale
15. Largeur du labelle (mm)	49- Texture du sépale
16. Nombre des lobes du labelle	50- Forme du labelle

Matériel et méthodes

17. Longueur du lobe médian (mm)	51- Texture du labelle
18. Largeur du lobe médian (mm)	52- Couleur de la tige
19. Longueur des lobes latéraux (mm)	53- Texture de la tige
20. Largeur des lobes latéraux (mm)	54- Couleur de la feuille basale
21. Longueur des poils du labelle (mm)	55- Texture de la feuille basale
22. Longueur du filet (mm)	56- Positionnement des feuilles basale
23. Largeur du filet (mm)	57- Forme des feuilles basale
24. Longueur de l'étamine (mm)	58- Insertions des feuilles basale
25. Largeur de l'étamine (mm)	
26. Longueur du style (mm)	
27. Largeur du style (mm)	
28. Longueur de la première feuille basale (cm)	
29. Largeur de la première feuille basale (mm)	
30. Longueur de l'inflorescence (cm)	
31. Largeur de l'inflorescence (mm)	
32. Nombre des fleurs	
33. Longueur de la bractée (cm)	
34. Largeur de la bractée (mm)	

2.3.2/ Etude cytogénétique

2.3.2.1/ Matériel végétal utilisé

Nous avons récolté les boutons floraux (les plus jeunes et moins jeunes) au stade pré-anthèse pour les deux espèces étudiées. Ces dernières ont été mis immédiatement dans des tubes à essai contenant la solution de fixateur (Ethanol, chloroforme et acide acétique 6 :3 :1) (Love & Love, 1975; Jahier *et al.*, 1992). Ce dernier stoppe les divisions cellulaires afin de maintenir la forme des chromosomes, et par ricochet achever la vie cellulaire, de plus, ce fixateur permet de conserver le matériel durant une longue période (4°C, à l'obscurité) (Jahier *et al.*, 1992).

Les échantillons fixés sont transportés dans une glacière et conservé à une température de 4°C au niveau du laboratoire.

2.3.2.2/ Préparation du matériel pour l'observation des méiose

2.3.2.2.1/ Préparation des solutions

2.3.2.2.1.1/ Fixateur

Le fixateur utilisé est celui du Carnoy II composé de : 6 volumes d'éthanol, 3 volumes de chloroforme, 1 volume d'acide acétique. Ce fixateur assure un arrêt rapide des divisions cellulaires, sans léser ou détruire la structure chromosomique, et une bonne conservation du matériel végétal par son rôle aseptisant, et il assure une meilleure conservation pour la disponibilité du matériel végétal pendant une longue période, lorsqu'il est conservé à l'obscurité à 4 °C (Jahier *et al.*, 1992).

2.3.2.2.1.2/ Colorant

Le colorant utilisé est à base d'orceine lactopropionique préparé selon Dyer (1963) modifié selon Love and Love (1975). Dans un grand erlenmeyer, on dissout 2 g d'orceine dans 23 ml d'acide propionique et 23 ml d'acide lactique, ensuite on ajoute de l'eau distillée jusqu'à 100 ml et on agite bien la solution puis on filtre. La solution d'orceine ainsi obtenue se conserve longtemps dans un flacon en verre fumé.

2.3.2.2.2/ Les différentes étapes de l'analyse de la méiose

2.3.2.2.2.1/ Prélèvement et fixation

Durant la période de floraison, les boutons floraux sont prélevés très jeunes (apex des tiges) et mis immédiatement dans des tubes à essai contenant la solution de fixateur.

2.3.2.2.2.2/ Hydrolyse à HCl

Les boutons floraux fixés sont transférés dans le HCl à 60 °C pendant 3 à 4 minutes. Cette étape a pour but de ramollir les cellules et éclaircir le cytoplasme. Après l'hydrolyse, les boutons floraux sont remis encore dans le fixateur.

2.3.2.2.2.3/ Choix des boutons floraux

Sous la loupe binoculaire, à l'aide de deux aiguilles, on prend une fleur à partir d'un bouton floral le plus jeune, et on la met sur une lame propre en lui ajoutant une goutte d'eau, ensuite on fait sortir les anthères qu'on écarte les unes des autres à l'aide d'une aiguille. On laisse sécher la goutte d'eau, puis on passe à la coloration.

2.3.2.2.2.4/ Coloration

Cette étape consiste à mettre une goutte du colorant sur une lame préparée. La lame est ensuite remise au bain marie à une température de 60 °C pendant 3 à 4 minutes afin que le

Matériel et méthodes

colorant s'infiltrer bien dans les cellules. Puis recouvrir la lame avec une lamelle et on met du papier filtre sur la lamelle pour éliminer l'excès du colorant en exerçant une légère pression avec le pouce pour étaler les anthères et libérer les cellules mères polliniques.

2.3.2.2.5/ Observation

Après la coloration, on passe à la préparation du microscope photonique pour observer les cellules en méiose. L'observation des méioses est réalisée sous microscope optique. Les cellules mères polliniques sont repérées facilement à l'aide d'un objectif de grossissement ($G = 4$ ou $G = 10$). L'observation des chromosomes est obtenue par un grossissement supérieur le plus souvent avec le grossissement ($G = 40$). Pour pouvoir compter les chromosomes, on doit chercher des divisions cellulaires au stade métaphasique où les chromosomes sont plus ou moins contractés, ce qui facilite leur individualisation.

2.3.2.2.6/ Photographie

Les lames sont prises en photo à l'aide de l'appareil photo intégré sur le microscope Optique. Ces dernières sont ensuite traitées, afin d'améliorer la visualisation et ajouter la légende et l'échelle. A la fin, un dossier spécifique a été créé pour conserver l'ensemble des résultats.

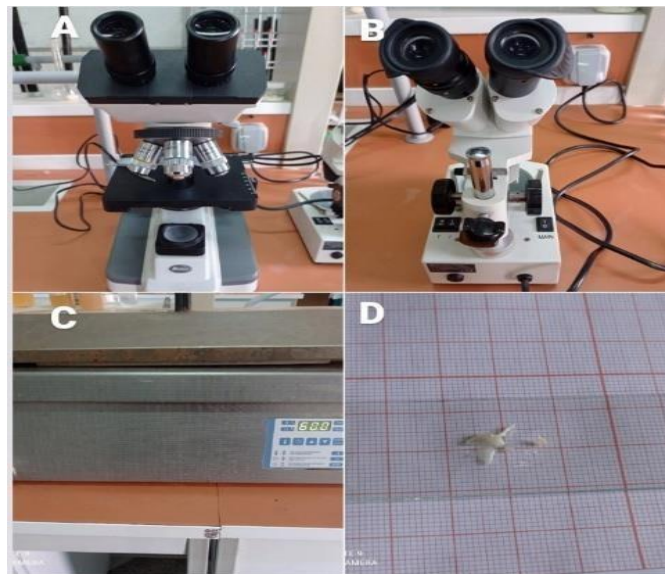


Figure 9 : Matériel utilisé durant l'expérimentation cytogénétique. **A :** Microscope optique ; **B :** Loupe binoculaire ; **C :** Bain-Marie ; **D :** Matériel végétal.

2.3.2.3/ Etude de la fertilité pollinique

Des boutons floraux mûrs sont récoltés après anthèse et sont immédiatement fixés dans le fixateur. La technique utilisée pour la fertilité pollinique est inspirée du protocole de Mertens et Hmnersmith (1998). Cette technique utilise la coloration au bleu de coton. Les grains de pollens libérés des anthères sous loupe binoculaire, sont colorés au bleu de coton ensuite remis au bain marie à une température de 60°C pendant 4 minutes. Sous microscope photonique et au faible grossissement, les grains de pollen sont dénombrés. Les grains colorés uniformément d'un bleu foncé sont considérés comme viables et fertile alors que ceux de formes et de tailles anormales et non colorés uniformément sont considérés non viables et stériles. Le taux de fertilité pollinique est calculé comme suit :

$$\mathbf{TF} = \mathbf{N} / (\mathbf{N} + \mathbf{AN}).$$

TF : Taux de fertilité pollinique

N : Nombres de grains de pollen normaux (fertiles).

AN : Nombres de grains de pollen anormaux (stériles).

3/ Résultats

Résultats

3.1/ Morphologie d'*Ophrys speculum* L et *Ophrys tenthredinifera* W

Les 58 caractères morphologiques étudiés sur les 11 sujets d'*Ophrys speculum* L dont 34 caractères quantitatifs et 24 caractères qualificatifs, sont consignés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Les caractères quantitatifs et qualificatifs d'*Ophrys speculum* L.

Caractères quantitatifs	Min-Max	Moy ± ET
1 - Longueur de la racine (cm)	0,8 - 5	3.9±0.82
2 - Largeur de la racine (cm)	1 - 4.6	2.6±1.39
3 - Diamètre de la racine (mm)	1 - 7	3.5±1.87
4 - Longueur des bulbes (cm)	1,5- 2,1	2±0
5 - Diamètre des bulbes (cm)	0,9 - 2,5	1.5±0.5
6 - Longueur de la tige (cm)	7,8 - 20	16.2±3.56
7 - Diamètre de la tige (mm)	2 - 5	3.2±1.05
8 - Longueur du pétale (mm)	1 - 2	1.6±0.48
9 - Largeur du pétale (mm)	0,5 - 1,5	1±0.70
10- Nombre des pétales	2	2±0
11 - Nombre des sépales	3	3±0
12 - Longueur du sépale (mm)	6 - 9	7.1±0.93
13 - Largeur du sépale (mm)	3 - 5	3.6±0,77
14 - Longueur du labelle (cm)	0,6 - 1,2	0.9±1.19
15 - Largeur du labelle (cm)	0,7 - 1,1	0.9±1.14
16 - Nombre des lobes du labelle	3	3±0
17 - Longueur du lobe médian (cm)	0,6 - 1,2	0.9±1.17
18 - Largeur du lobe médian (mm)	4 - 8	6.1±1.40
19 - Longueur des lobes latéraux (mm)	1 - 7	4.1±1.74
20 - Largeur des lobes latéraux (mm)	1 - 2	1.5±0.49
21 - Longueur des poils du labelle (cm)	0,2 - 0,3	0.25±0.07
22 - Longueur de l'étamine (mm)	5	5±0
23 - Largeur de l'étamine (mm)	1,3	1.3±0
24 - Longueur du filet (mm)	3.5	3.5±0

Résultats

25 - Largeur du filet (mm)	0,5	0.5±0
26 - Longueur du style (mm)	0	0
27 - Largeur du style (mm)	0	0
28 - Longueur de la première feuille basale (cm)	3,5 - 8	5.7±1.5
29 - Largeur de la première feuille basale (cm)	1,1 - 1,7	1.5±0.5
30 - Longueur de l'inflorescence (cm)	3,6 - 9,6	7±0
31 - Largeur de l'inflorescence (mm)	2,1 - 3,9	3±0.44
32 - Nombre des fleurs	5 - 9	6.7±1.65
33 - Longueur de la bractée (cm)	1,5 - 2,3	1.8±2.23
34 - Largeur de la bractée (mm)	3 - 8	6±1.85

Caractères qualificatifs	Description
35 - Positionnement des fleurs	100% En grappe
36 - Couleur de l'inflorescence	100% Verdâtre
37 - Type de l'inflorescence	100% Grappe
38 - Couleur de la bractée	100% Verdâtre
39 - Forme de la bractée	100% Ovale
40 - Texture de la bractée	100% Glabre
41 - Positionnement des bractées	100% En spirale
42 - Couleur de l'étamine	100% Vert clair
43 - Couleur du pétale	100% Brun-rougeâtre
44 - Texture du pétale	100% Velouté
45 - Forme du pétale	100% Presque triangulaire
46 - Couleur du sépale	100% Vert-rougeâtre
47 - Forme du sépale	100% Ovale linéaire
48 - Texture du sépale	100% Glabre
49 - Couleur du labelle	100% Brun verdâtre
50 - Forme du labelle	100% Complexe trilobé
51 - Texture du labelle	100% Poilus
52 - Couleur de la tige	100% Verdâtre
53- Texture de la tige	100% Glabre

Résultats

54 - Couleur des feuilles basale	100% Verdâtre
55 - Texture de feuilles basale	100% Epaisse glabre
56 - Positionnement des feuilles basales	100% En rosette
57 - Forme des feuilles basale	100% Ovale
58 - Insertion des feuilles basale	100% Engainante

Les 54 caractères morphologiques étudiés sur les 4 sujets d'*Ophrys tenthredinifera* Willd, dont 33 caractères quantitatifs et 21 caractères qualificatifs, sont consignés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Caractérisation morphologique d'*Ophrys tenthredinifera* Willd .

Caractères quantitatifs	Min-Max	Moy±ET
1- Longueur de la racine (cm)	2 – 3,5	2±0
2- Diamètre de la racine (mm)	3 – 6	4.2±1.29
3- Longueur du bulbe (cm)	1,5 – 2	2±0
4- Diamètre du bulbe (cm)	1 – 2	1.5±0.50
5- Longueur de la tige (cm)	8 – 24	16.6±6.56
6- Diamètre de la tige (mm)	3 – 4	4±0.70
7- Longueur du pétale (mm)	4 – 5	4.2±0.43
8- Largeur du pétale (mm)	1 – 2	1.7±0.43
9- Nombre des pétales	2	2±0
10- Nombre des sépales	3	3±0
11- Longueur du sépale (cm)	1 – 1,3	1±0
12- Largeur du sépale (mm)	3 – 7	4.7±1.47
13- Longueur du labelle (cm)	0,7 – 1,5	1±0
14- Largeur du labelle (mm)	6 – 8	6.7±0.82
15- Longueur de lobe médian (mm)	0	0
16- Largeur de lobe médian (mm)	0	0
17- Nombre des lobes du labelle	3	3±0
18- Longueur des lobes latéraux (mm)	0,7 – 1	1±0
19- Largeur des lobes latéraux (mm)	2 – 3	2.2±0.43
20- Longueur des poils du labelle (mm)	0	0
21- Longueur du filet (mm)	3	3±0

Résultats

22- Largeur du filet (mm)	0,5	0.5±0
23- Longueur de l'étamine (mm)	4	4±0
24- Largeur de l'étamine (mm)	1,5	1.5±0
25- Longueur du style (mm)	0	0
26- Largeur du style (mm)	0	0
27- Longueur de la première feuille (cm)	5,5 – 7,4	7±0
28- Largeur de la première feuille (cm)	0,8 – 1,5	1.19±0.70
29- Longueur de l'inflorescence (cm)	5 – 11,5	7±1.63
30- Largeur de l'inflorescence (mm)	3 – 7	4.5±1.5
31- Nombre des fleurs	2 – 6	3.5±1.5
32- Longueur de la bractée (cm)	2,7 – 3,6	4.5±1.34
33- Largeur de la bractée (mm)	6 – 9	7.7±1.8

Caractères qualificatifs	Description
34- Positionnement des fleurs	100% En grappe
35 - Couleur de l'inflorescence	100% Rose violette
36 - Type de l'inflorescence	100% Grappe
37 - Couleur de la bractée	100% Verdâtre
38 - Forme de la bractée	100% Ovale
39 - Texture de la bractée	100% Glabre
40 - Couleur d'étamine	100% Vert clair
41 - Couleur du pétale	100% Brun-rougeâtre
42 - Forme du pétale	100% Presque triangulaire
43 - Couleur du sépale	100% Rosâtre
44 - Forme du sépale	100% Ovale linéaire
45 - Couleur du labelle	100% Jaune-verdâtre
46 - Forme du labelle	100% Complexe trilobé
47 - Texture du labelle	100% Bordure poilus
48 - Couleur de la tige	100% Verdâtre
49 - Texture de la tige	100% Glabre
50 - Couleur des feuilles basale	100% Vert foncé

Résultats

51 - Texture de feuilles basale	100% Glabre
52 - Positionnement des feuilles basale	100% En Rosette
53 - Forme des feuilles basale	100% Ovale
54 - Insertion des feuilles basale	100% Engainante

3.2/ Description générale

3.2.1/Description d'*Ophrys speculum* L.

3.2.1.1/ Les racines

Les racines d'*Ophrys speculum* L sont charnues et épaisses avec un diamètre de 1 à 7 mm, longueur de 0,8 à 5cm et largeur entre 1 et 4,6 cm.

3.2.1.2/ La tige

La tige d'*Ophrys speculum* L est complètement glabre, verdâtre, sa hauteur est variée entre 7,8 -20 cm et son diamètre entre 2-5 mm.

3.2.1.3/ Les feuilles basales

Les feuilles d'*O. speculum* L. ont une texture légèrement épaisse, glabre, et de forme ovale avec une couleur verte foncée. Elles sont engainantes, disposées en rosette à la base de la plante.

La longueur de la première feuille basale est variée entre 3,5 - 8 cm et la largeur entre 1,1 -1,7 cm.

3.2.1.4/ L'inflorescence

L'inflorescence est de type grappe, couleur verdâtre, elle est de taille variante entre 3,6 - 9,6 cm et de largeur entre 2,1 - 3,9 cm, elle comporte 4 à 9 fleurs.

3.2.1.5/ Les fleurs

Les fleurs d'*ophrys speculum* L. ont une forme de casque, elles sont portées en grappe, se caractérisent par une forme complexe avec trois sépales, deux pétales et un labelle.

3.2.1.6/ Les bractées

Les bractées ont une forme ovale, entourant la tige florale et disposées en spirale à la base de la fleur. Elles sont des verdâtres, complètement glabre, mesurent entre 2,7 à 3,6 cm de longueur et 6 à 9 mm de largeur.

3.2.1.7/ Les pétales

Deux pétales latéraux, les pétales sont de couleur rose avec une texture veloutée et une forme triangulaire. Ils mesurent de 1 à 2 mm de longueur et 0.5 à 1.5 mm de largeur.

3.2.1.8/ Les sépales

Les sépales entourent la partie centrale de la fleur formant une sorte de casque, ils sont de couleur vert-rougeâtre et complètement glabres. Deux sépales latéraux sont entièrement tournés vers l'extérieur, et un sépale dorsal. Ils mesurent entre 6 et 9 mm de longueur et de 3 à 5 mm de largeur.

3.2.1.9/ Le labelle

Le labelle mesure 0,6 à 1,2 cm de longueur et 0,7 à 1,1 cm de largeur, il est en forme complexe, coloré d'un brun verdâtre avec une bordure de courts poils, denses, foncés, brun rougeâtre à violacé, les poils mesurent entre 2 à 4 mm. Le labelle est trilobé, se compose de deux lobes latéraux ont une forme ovale mesurant de 2 à 7 mm de longueur et de 1 à 2 mm de largeur et un lobe médian abovale avec 0,6 à 1,2 de longueur et 5 à 8 mm de largeur, le centre du labelle est un miroir glabre brillant, bleu, bordé d'une marge jaune verdâtre.

3.2.2/ Description d' *Ophrys tenthredinifera* subsp *tenthredinifera* Willd.

3.2.2.1/ Les racines

Les racines d'*O. tenthredinifera* sont tubercules avec un diamètre de 3 à 6 mm et longueur de 2 à 3,5 cm.

3.2.2.2/ La tige

La tige d *O. tenthredinifera* W est complètement glabre, verdâtre, sa hauteur est variée entre 8 et 24 cm et son diamètre entre 3 et 4 mm.

3.2.2.3/ Les feuilles basales

Les feuilles d'*O. tenthredinifera* W ont une texture légèrement épaisse, glabre, et de forme ovale avec une couleur verte foncée. Elles sont engainante, disposées en rosette à la base de la plante.

La longueur de la première feuille basale est entre 5,5 et 7,4 cm et la largeur entre 0,8 et 1,5 cm.

3.2.2.4/ L'inflorescence

L'inflorescence est racème dense, grappe, de couleur verdâtre, elle est de taille variante entre 5 - 11,5 cm, et de largeur entre 3 - 7 cm, elle comporte 2 à 6 fleurs.

3.2.2.5/ Les fleurs

Les fleurs d'*O. tenthredinifera* Willd. ont une couleur rose violète, elles sont portées en grappe en forme de cloche, possèdent une forme complexe avec trois sépales, deux pétales et un labelle.

3.2.2.6/ Les bractées

Les bractées ont une forme ovale, entourant la tige florale et disposées en spirale à la base de la fleur. Elles sont des verdâtres, complètement glabre, mesurant entre 1.5 à 2.3 cm de longueur et 3 à 8 mm de largeur.

3.2.2.7/ Les pétales

Deux pétales latéraux, les pétales sont de couleur brun-rougeâtre avec une forme presque triangulaire. Ils mesurent de 4 à 5 mm de longueur et 1 à 2 de mm largeur.

3.2.2.8/ Les sépales

Les sépales d'*O. tenthredinifera* W. entourent la partie centrale de la fleur formant une sorte de casque, ils sont de couleur rosâtre et velus. Deux sépales latéraux sont entièrement tournés vers l'extérieure, et un sépale dorsal, les sépales mesurent entre 1 - 1,3 cm de longueur et 3 - 7 mm de largeur.

3.2.2.9/ Le labelle

Le labelle mesure 0,7 à 1,5 cm de longueur et 6 à 8 mm de largeur, il est en forme complexe, coloré d'un jaune verdâtre, poilus (courts poils avec couleur blanchâtre). Le labelle se compose de deux lobes latéraux et un lobe médian plus grand, le centre du labelle est en couleur marron à violacée.

3.3/ Caryologie

3.3.1/ Méiose et dénombrements chromosomiques

La Figure 10 montre les différents stades de la méiose chez *O. speculum* L. Par ailleurs, la plupart des plaques métaphasiques (MI) ont montrées probablement un nombre chromosomique de $n=18$ (Figure 11).

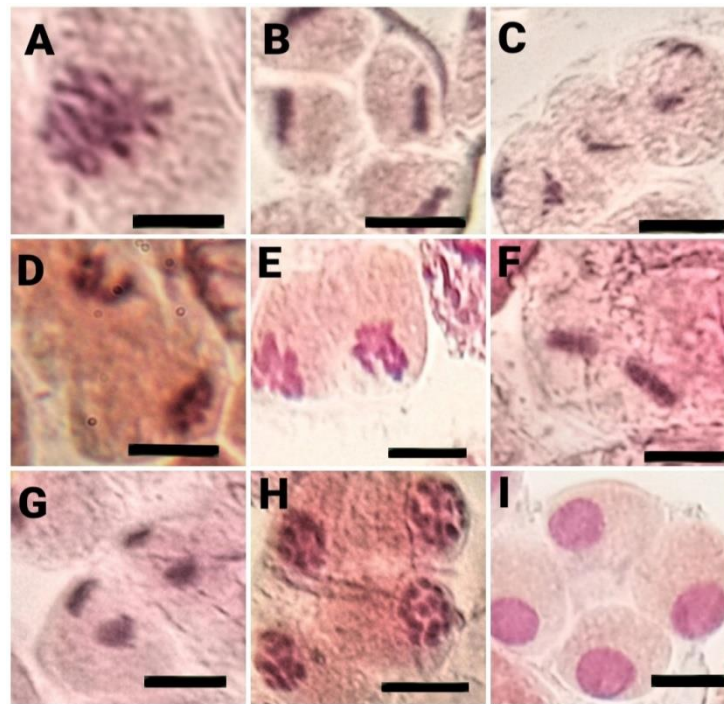


Figure 10 : Différents stades de la méiose d'*O. speculum* L. **A** : Prophase I; **B** : Métaphase I; **C** : Anaphase I; **D** :Télophase I; **E**: Prophase II ; **F** : Métaphase II; **G** : Anaphase II; **H**, : Télophase II. ;**I** : Tétrade. Echelle : 10 μ m.



Figure 11 : Nombre chromosomique de *O. speculum* L (n= 18) en métaphase I . Echelle : 10 μ m.

La Figure 12 montre les différents stades de la méiose chez *O. tenthredinifera* subsp *tenthredinifera* Willd.

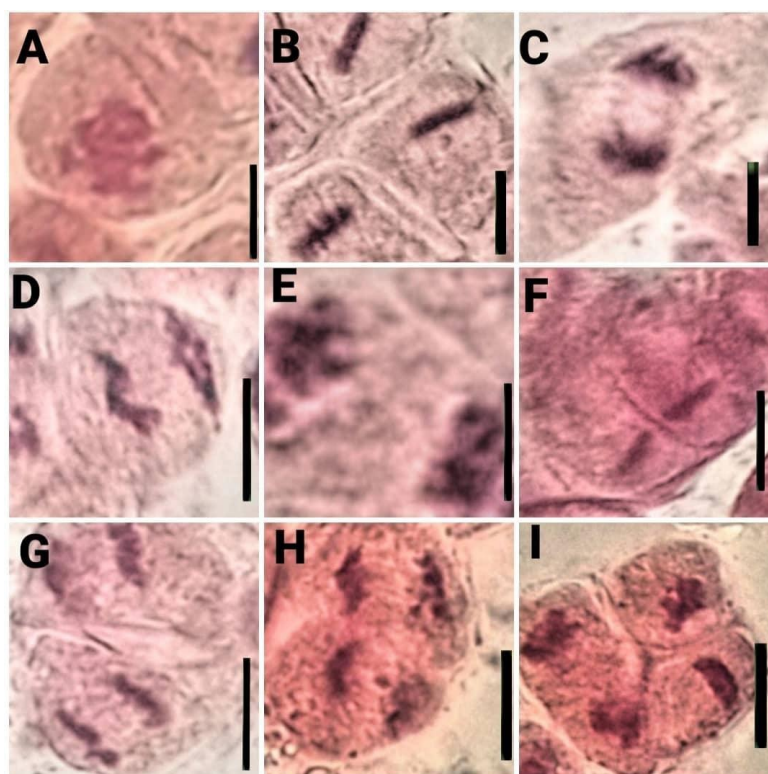


Figure 12 : Différents stades de la méiose d'*O. tenthredinifera* W. **A** : Prophase I ; **B** : Métaphase I ; **C, D** : Anaphase I ; **E** : Télaphase I ; **F** : Métaphase II ; **G, H** : Anaphase II ; **I** : Télaphase II. Echelle: 10 μ m.

3.3.2/ Grains de pollen et fertilité pollinique

Les grains de pollen ont une forme triangulaire pour les deux espèces étudiées (Figure 14). Nous avons comptés entre 80 à 170 grains de pollen pour chaque fleur pour *l'O.speculum* L et entre 80 et 111 pour *l'O. tenthredinifera* W.

Résultats

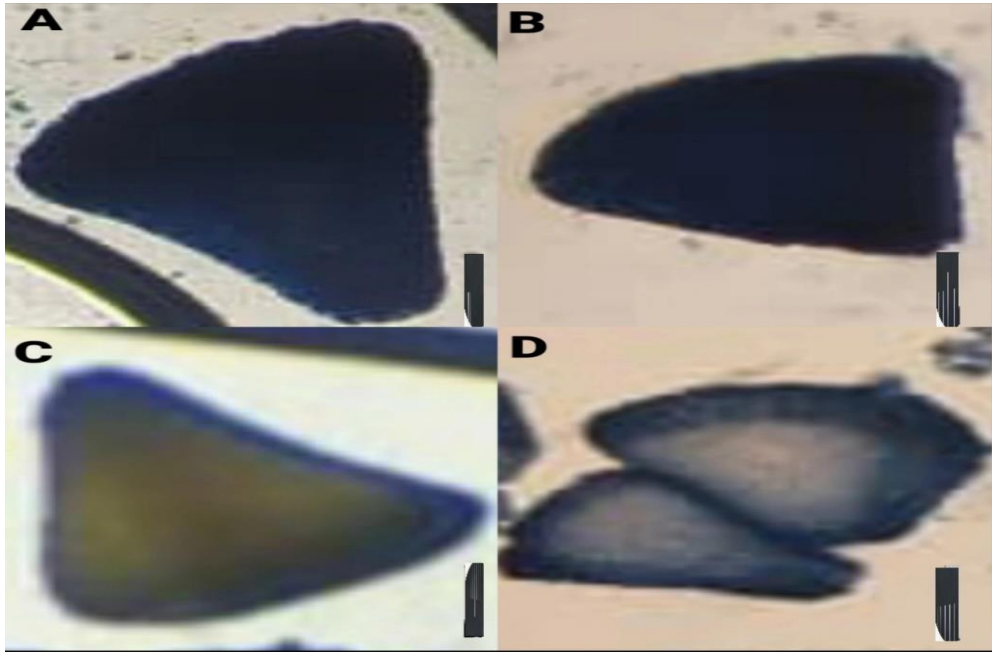


Figure 13 : **A.** Grain de pollen fertile d' *Ophrys speculum* L ; **B :** Grain de pollen fertile d' *O. tenthredinifera* W ; **C :** Grain de pollen stérile d' *Ophrys speculum* L ; **D :** Grain de pollen stérile d' *O. tenthredinifera* W .Echelle : 10 μ m.

Tableau 8 : Fertilité pollinique et la taille des grains de pollen d' *Ophrys speculum* L *Ophrys tenthredinifera* W.

	<i>O. Speculum</i> L.			<i>O. tenthredinifera</i> W.		
	Min	max	Moy \pm Et	Min	max	Moy \pm Et
Longueur de grain de pollen(μ m) (n= 35 grains de pollen)	17,5	26,5	23.2 \pm 3.85	15	23	18.7 \pm 2.85
Largeur de grain de pollen (μ m) (n= 35 grains de pollen)	8,8	24	16.8 \pm 4.70	8	28	18.1 \pm 5.23
Fertilité pollinique (%) (n= 4 fleurs)	83%	99%	91 \pm 7.51	82 %	94 %	89 \pm 4.41

4/ Discussion

4.1/ Aspect botanique

Nos observations morphologiques sur les deux espèces *Ophrys speculum* L. et *Ophrys tenthredinifera* W. sont en accord avec les descriptions de toutes les flores d'Algérie (Battandier & Trabut, 1895 ; Maire, 1960 ; Quézel & Santa, 1962).

Les deux espèces d'*Ophrys* ont des similitudes en termes de morphologie. Elles sont toutes les deux caractérisées par des fleurs à 3 sépales et 3 pétales, avec un labelle en forme d'insecte. Cependant, il y a des différences significatives entre les deux espèces.

Ophrys speculum a des labelles plus grands et plus larges que ceux d'*Ophrys tenthredinifera*. Le labelle d'*Ophrys speculum* a une forme plus arrondie et ressemble à une abeille, avec des zones de couleur noire et jaune brillantes. Le labelle d'*Ophrys tenthredinifera* est plus étroit et plus allongé, avec des motifs jaunes et brunâtres qui suggèrent la forme d'une guêpe. De plus, les couleurs sont plus sourdes que chez *Ophrys speculum*.

La floraison d'*Ophrys speculum* a lieu généralement en avril-mai. Celle d'*Ophrys tenthredinifera* est plus tardive et se situe davantage en juin.

En résumé, bien que les deux espèces soient similaires en termes de morphologie, quelques différences existent en termes de taille, de forme, de couleur et de période de floraison.

4.2/ Nombre de chromosome

Le nombre chromosomique probablement retenu pour *Ophrys speculum* L. dans cette étude est de $n=18$ d'où $2n=36$. Nous avons constaté que nos résultats sont cohérents avec les résultats des études pré-existantes et confirme le nombre de chromosomes de base du genre *Ophrys*.

Greilhuber & Ehrendorfer (1975) indiquent que le nombre diploïde de base d'*Ophrys* est de $2n=2x=36$, et que c'est le nombre le plus répandu dans le genre, la tétraploïdie étant limitée à l'agrégat *O. fusca*. Ils soulignent également les faibles niveaux de divergence du genre et la similitude de ses caryotypes, ce qui a également été remarqué par Ehrendorfer (1980). Bianco et al., (1991) enregistrent les exemples connus de polyploïdie et indiquent l'existence de nombreux cas d'aneuploïdie somatique avec $2n=37, 38, 39$ et 40 (Bernardos *et al.*, 2003).

Les premières données sur le nombre de chromosomes effectuées avec du matériel ibérique pour les espèces *O. apifera* ($2n=36$), *O. lutea* ($2n=36$), *O. scolopax* ($n=18$, $2n=$

Discussion

36) et *O. speculum* ($2n = 36, 38$) sont également présentés, confirmant la stabilité du nombre de chromosomes chez *Ophrys*. (Bernardos *et al.*, 2003).

Malheureusement, Nous n'avons pas réussi à obtenir des résultats significatifs concernant le dénombrement chromosomique pour l'espèce *Ophrys thenthredinifera*.

Il y a plusieurs raisons possibles pour lesquelles on n'a pas pu faire un dénombrement chromosomique pour cette espèce :

- Caractéristiques de l'espèce ; Certaines espèces ont des chromosomes très petits ou difficiles à observer au microscope, il est également possible que les chromosomes de cette espèce soient instables ou fragiles , ce qui rendrait leur observation et leur dénombrement délicat.
- Spécificités biologiques : Il se peut que cette espèce ait des caractéristiques spécifiques qui rendent difficile l'obtention de cellules appropriées pour le dénombrement chromosomique.
- Problèmes expérimentaux : Il est possible que, malgré les efforts, on n'a pas réussi à obtenir des cellules appropriées en raison de problèmes techniques ou de limitations dans la méthodologie utilisée.

Les résultats préalablement obtenus sur le groupe *O.thenthredunifera* montrent qu'après une étude de trois populations, correspondant à deux espèces du complexe : deux d'Ibérie (*O. ficalhoana* ; *O. tenthredinifera*) et une de Tunisie (*O. tenthredinifera*). Pour *O. ficalhoana* , pour lequel aucune donnée antérieure n'est disponible pour Iberia, un résultat de $2n = 36$ a été obtenu. C'est le numéro diploïde de base du genre. Cependant, les *O. tenthredinifera* ibériques et nord-africains ont donné des résultats de $2n = 38 + 4B$ et $2n = 38$, respectivement. Ces résultats confirment l'existence de phénomènes aneuploïdes dans le groupe *O. tenthredinifera*. Ceci avait déjà été observé en France où Shimoya & Ferlan (1952) rapportaient $n = 18$ et $n = 19$. Scrugli (1977), Bianco *et al.*, (1991) et Romano & Campo (1995) ont indiqué $2n = 36$ chez *O. tenthredinifera*. Les longueurs des chromosomes vont de 3,70 à 2,07 μm (Bernardos *et al.*, 2003).

La stabilité caryologique des taxons des groupes *O. tenthredinifera*, *O. apifera* et *O. scolopax*, qui ont un caryotype diploïde de $2n = 36$, est remarquable dans les populations ibériques étudiées. L'aneuploïdie a été détectée préférentiellement dans les populations nord-africaines) (Bernardos *et al.*, 2003).

4.3/ Fertilité pollinique et nombre des grains de pollen

En général, les fleurs sont connues pour avoir une grande quantité, des centaines et des milliers de grains de pollen. Dans cette étude nous avons comptés de 80 à 170 de grains de pollen pour *Ophrys speculum* L. et de 80 à 110 de grains de pollen pour *Ophrys thenthredinifera* W. Ce nombre peut sembler relativement faible par rapport à d'autres espèces végétales (exemple le genre *Salvia* L. (Mahdjoub *et al.*, 2018)), mais cela peut varier en fonction de facteurs tels que la taille de l'inflorescence, l'âge de la fleur, la santé de la plante, les conditions climatiques et la présence d'insectes pollinisateurs, et il est important de noter que les *Ophrys* sont pollinisés par des insectes tels que les abeilles solitaires, qui ont une grande efficacité de pollinisation et qui n'ont besoin que d'une petite quantité de pollen pour permettre la fécondation.

Ces taux de fertilité pollinique indiquent la proportion de fleurs qui donneront des graines viables après la pollinisation. Pour *Ophrys speculum*, de 83% à 99% des fleurs produiront des graines viables suite à une pollinisation réussie, tandis qu'entre 17% et 1% ne donneront pas de graines. Pour *Ophrys thenthredinifera*, entre 82% et 94% des fleurs produiront des graines viables suite à une pollinisation réussie, tandis qu'entre 18% et 6% ne donneront pas de graines. Ces taux de fertilité pollinique peuvent être influencés par des facteurs environnementaux tels que les conditions climatiques, la disponibilité d'insectes pollinisateurs et la concurrence avec d'autres plantes pour les pollinisateurs.

4.4/ Adaptation à la pollinisation entomophile

La pollinisation des plantes à fleurs, c'est-à-dire le transport du pollen des anthères productrices aux stigmates récepteurs, est réalisé principalement par autopolinisation passive ainsi que par le vent (anémophilie) et les insectes (entomophilie). La pollinisation effectuée par les abeilles est remarquable sur le plan quantitatif et qualitatif. En effet, les abeilles transportent couramment des dizaines de milliers de grains de pollen sur leurs corps et elles en déposent de grandes quantités sur les stigmates, avec pour conséquence une sélection gamétique efficace des tubes polliniques. Et sur le plan qualitatif, en allant de fleur en fleur, les abeilles transportent du pollen issu d'individus génétiquement différents et le dépôt d'allo-pollen permet la fécondation croisée et la reproduction de toutes les espèces auto-incompatibles. (Vaissière & Bernard, 2005)

Discussion

L'objectif principal de la recherche sur *Ophrys* est leur stratégie de pollinisation unique, appelée tromperie sexuelle. Ce phénomène a été décrit pour la première fois par deux botanistes en Algérie, qui ont observé que les mâles de la guêpe *Dasyscolia ciliata*, émergeant jusqu'à un mois avant les femelles, se tournent vers les fleurs d'*Ophrys speculum* « pour se divertir », adoptant « un comportement qui rappelle fortement celui de copulation » (Correvon et Pouyanne, 1916).

Ceci est illustré par de nombreux exemples et démontré par de nombreux tests de choix expérimentaux sur le terrain dans des conditions naturelles. L'évolution de nouvelles espèces d'*Ophrys* est toujours la conséquence d'un changement de pollinisateur (Hannes, 2006).

Les *Ophrys* sont des espèces non gratifiantes avec des fleurs sans nectar qui n'offrent aucune récompense aux insectes pollinisateurs. En conséquence, leur pollinisation est basée exclusivement sur la tromperie et le mimétisme, qui dans ce cas devient l'une des stratégies les plus raffinées, sophistiquées et fascinantes du monde.

Le genre d'orchidées méditerranéennes *Ophrys* est remarquable pour son mécanisme de pollinisation pseudo-copulatrice ; les pollinisateurs mâles naïfs sont attirés par les fleurs par des signaux olfactifs, visuels et tactiles. Le repère visuel le plus frappant est une région de spéculum bleue hautement réfléchissante au centre du labelle, qui imite l'insecte femelle correspondant et atteint son développement le plus fort dans l'orchidée miroir *O. speculum* (Vignolini *et al.*, 2012).

Les fleurs d'*Ophrys* sont connues depuis longtemps pour leur forme et leur couleur remarquables on pense qu'ils « imitent » les insectes (Kullenberg, Bertil, 1950), Les fleurs de chaque espèce d'*Ophrys* imitent une femelle sexuellement réceptive d'une espèce d'insecte particulière, principalement des abeilles. Les abeilles mâles sont d'abord attirées par les pseudo-phéromones émises par les fleurs d'*Ophrys* qui ressemblent aux phéromones sexuelles de leurs femelles. Les mâles sont alors attirés par la forme, la couleur et la pilosité de la fleur, et tentent de s'accoupler avec la fleur, qui colle le pollen sur leur corps. Le pollen est ensuite transféré sur le stigmate d'une autre fleur de la même espèce d'*Ophrys* lors de tentatives de copulation similaires. Contrairement aux stratégies de pollinisation gratifiantes, *Ophrys* les pollinisateurs semblent être parasités (Baguette *et al.*, 2020).

Discussion

Des épisodes de diversification massive par des transitions de pollinisateurs, permettant à la fois l'exploitation de nouvelles niches écologiques et l'établissement d'un isolement reproductif entre les lignées. Le taux de spéciation explosif du genre *Ophrys* (orchidées abeilles) est parmi les plus élevés signalés chez les angiospermes, avec des taux de diversification culminant entre 4 et 8 lignées par million d'années dans certains clades (Breitkopf *et al.*, 2015). Ce rayonnement spectaculaire a donné lieu à plusieurs premières mentions d'une centaine d'espèces dans la région méditerranéenne du Paléarctique occidental (Delforge, 2016). Selon Baguette *et al.* (2020), ce rayonnement adaptatif spectaculaire est dû à la dynamique Co-évolutive particulière entre ces plantes et leurs pollinisateurs.

Conclusion

Conclusion

Ce travail de mémoire a comme objectif principal d'étudier les deux espèces bien représentées en Algérie *Ophrys speculum* L et *Ophrys tenthredinifera* W sur le plan morphologique et caryologique.

L'étude des espèces (*Ophrys speculum* et *Ophrys tenthredinifera*) sur le plan morphologique a révélé que les espèces étudiées sont caractérisées par une forme de fleur très spécifique et développent un mécanisme de pollinisation très spécifique à la base de ces caractères morphologiques. Toutes les deux espèces présentent des fleurs à 3 sépales et 3 pétales, dont deux pétales sont latéraux et un pétale modifié appelé labelle. La tige de ces plantes est de couleur verte, complètement glabre et comporte des feuilles disposées en rosette à la base de la plante, ainsi que des fleurs disposées en spirale à la base des bractées. Cependant, il existe des différences significatives entre les deux espèces en termes de couleur, de taille et de forme.

L'aspect le plus frappant de l'*ophrys speculum* Link est le labelle, qui ressemble à une abeille en vol. Il est recouvert d'une structure réfléchissante appelée « spéculum », qui imite les reflets de la lumière du soleil. Cette illusion d'optique attire les insectes pollinisateurs, tels que les abeilles solitaires, qui tentent de s'accoupler avec la fleur en lui transférant ou en lui prenant le pollen.

Quant à le labelle de l'*ophrys tenthredinifera* wild, il ressemble à l'abdomen d'un insecte, ce qui attire les insectes mâles, en particulier les bourdons, qui sont ses principaux pollinisateurs. Les insectes sont attirés par les phéromones émises par la fleur et tentent de s'accoupler avec elle, effectuant ainsi le transfert du pollen.

Ces deux espèces d'*ophrys* sont particulièrement intéressantes d'un point de vue botanique en raison de leurs adaptations étonnantes pour attirer et tromper les insectes pollinisateurs. Elles jouent un rôle important dans la préservation de ces écosystèmes et de ces interactions complexes.

L'étude caryologique sur des méioses polliniques effectuée sur les boutons floraux des deux espèces de genre *ophrys* ; *O.speculum* L et *O.tenthredinifera* W a montrée probablement un nombre chromosomique ($2n=36$) chez l'espèce *Ophrys speculum* L, des résultats significatifs ne puissent pas être obtenues concernant le dénombrement chromosomique chez l'espèce *O.tenthredinifera* W. Tandis que les principaux stades de la méiose ont pu être observés chez les deux espèces étudiées.

Conclusion

L'analyse de la fertilité pollinique portée sur les boutons floraux des espèces étudiées a donné un taux de fertilité pollinique très élevé chez les deux espèces : 83 – 99% (*Ophrys speculum* L), 82 – 94% (*Ophrys tenthredinifera* W).

Partant des résultats de cette présente étude, un certain nombre de perspectives de travail se dégagent :

- Compléter les études cytogénétique, phylogénétiques et biogéographiques afin de mieux les connaître pour mieux les conserver et bien les valoriser.
- Établir des investigations sur le terrain pour actualiser la liste des espèces d'*Ophrys* et leurs distributions dans l'Algérie.
- L'élaboration d'un plan d'évaluation de l'état actuel des espèces *O. speculum* L et *Ophrys tenthredinifera* W et d'appliquer des méthodes de conservation *in situ* et/ou *ex situ* dans l'espoir de conserver ce patrimoine national.
- Utiliser la modélisation des sites d'occurrence pour tenter de repérer de nouvelles populations des espèces présentes en Algérie ou susceptibles d'être présentes en Algérie.
- Elargir les études sur les grains de pollen de la famille des orchidées en générale.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Anghelescu, Nora Eugenia DG, Bygrave, Annie, Georgescu, Mihaela I.(2020). A History of Orchids. A History of Discovery, Lust and Wealth. *Scientific Papers. Series B, Horticulture*, vol. 64, no 1.
- Anghelescu, Nora Eugenia DG, Kertész, Hajnalka, Pataki, Hajnal,(2021). Genus *Ophrys* L., 1753 in Romania–Taxonomy, morphology and pollination by sexual deception (mimicry). *Scientific Papers. Series B, Horticulture*, p. 187-201.
- Baguette, M., Bertrand, J. A., Stevens, V. M., & Schatz, B. (2020). Why are there so many bee-orchid species? Adaptive radiation by intra-specific competition for mnesic pollinators. *Biological Reviews*, 95(6), 1630-1663.
- Battandier, J.A. & Trabut, L. (1884). *Flore d'Alger, et catalogue des plantes d'Algérie. Monocotylédones*. Alger, Adolphe. Jourdan (ed.). Alger.
- Battandier, J.A. & Trabut, L. (1902). *Flore analytique et synoptique de l'Alger et dela Tunisie*. Veuve. Giralt. Imprimeur– éditeur.
- Baumann, H., & Künkele, S., & Lorenz, R. (2006). Orchideen Europas. *Mit angrenzenden Gebieten*. Ulmer, Stuttgart, 333 p.
- Bernardos, Sonia, Amich, Francisco, et Gallego,(2003). Francisca. Karyological and taxonomic notes on *Ophrys* (Orchidoideae, Orchidaceae) from the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society*,vol. 142, no 4, p. 395-406.
- Bianco, P., D'Emérico, S., Medagli, P. (1991). Polyploidy and aneuploidy in *Ophrys*, *Orchis*, and *Anacamptis* (Orchidaceae). *Pl Syst Evol* 178, 235–245.
- Bougaham, A.F., Bouchibane, M., & Véla, E. (2015). Inventaire des orchidées de la Kabylie des Babors (Algérie): *éléments de cartographie et enjeux patrimoniaux*. 2015- J. Eur. Orch. 47 (1): 88-110.
- Bourlière, François. Dressler, R.L,(1981).The orchids. Natural history and classification. Cambridge, Mass. Harvard University Press. *Revue d'Écologie (La Terre et La Vie)*, vol. 36, no 2, p. 309-310.
- Cakova, V. (2013). Contribution à l'étude phytochimique d'orchidées tropicales :identification des constituants d'*Aerides rosea* et d'*Acampe rigida* : Techniques analytiques et préparatives appliquées à *Vanda coerulea* et *Vanda teres*. Thèse de Doctorat en Pharmacognosie. Université de Strasbourg. 318 p.
- Chedraoui, Stéphanie, Abi-Rizk, Alain, El-Beyrouthy, M, (2017). *Capparis spinosa* L. dans une revue systématique : Une espèce xérophile aux multiples valeurs et potentialités prometteuses pour les agrosystèmes sous la menace du réchauffement climatique. *Aux frontières de la phytologie* , vol. 8, p. 1845.
- Cronquist, A. (1981). Un système intégré de classification des plantes à fleurs. Columbia University Press, New York, 248-250.
- Delforge, P. (2005). *Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord & du Proche - Orient*. Delachaux & Niestlé, Lausanne/ Paris o.

Références bibliographiques

- Delforge, P. (2006). *Orchids of Europe, North Africa and the Middle East*. A&C Black.
- Delforge, P. (2016). *Guide des orchidées d'Europe, l'Afrique du Nord & du Proche-Orient* (4ème édit.). Delachaux et Niestlé, Lausanne / Paris. 544pp.
- Dressler, R.L. (1981). *The orchids. Natural history and classification*. Harvard university press. Cambridge. Masschusetts. P 332.
- Dressler, R.L. (1993). *Phylogeny and classification of the orchid family*. Dioscorides Press, Theodore R. Dudley, Ph. D., General Editor Portland, Oregon, USA. 314 p.
- Durbin, Ph. (2004). *Orchidées en France*. (En ligne) mis à jour 2 février 2017 disponible sur : perso.numericable.fr/~durbphil/index.htm.
- Dupras, Charles. (2017). *Implications éthiques, sociales et légales de l'épigénétique: perspectives rhétorique, dialectique et réflexive sur l'application des connaissances scientifiques*.
- Hamel, T., Meddad-Hamza, A & Mabarek Oudina, A. (2017). *De nouvelles perspectives pour les orchidées de la région de Skikda (Nord-Est algérien) ; Journal Europäischer Orchideen (J. Eur. Orch)*.vol.49 (1).61 – 78p.
- Hamisy, W.C (2007). *Development of conservation strategies for the wild edible orchid in Tanzania*. Progress Report for the Ruffod Small Grants Foundation. London. The Rufford Foundation.
- Jahier J., Chever A.M., Eber F., Delourne R. & Tanguy A.M. (1992) .*Techniques de la cytogénétique végétale*. Ed. INRA, Paris. 183
- Julian K.(2010). *Caractérisation moléculaire d'inversions péri-et paracentriques et analyse de leurs effets sur la méiose d'individus porteurs hétérozygotes*.Thèse de doctorat. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Lecoufle, M. (2014). *Orchidées*. Encyclopédie visuelle. Artémis. ISBN: 2-8160-05059.
- Levan, Albert, Fredga, Karl, et Sandberg, Avery A.(1964). *Nomenclature for centromeric position on chromosomes*. *Hereditas*, vol. 52, no 2, p. 201-220.
- Luo Q., Li Y., Shen Y.(2014). *Tenyears of gene discovery for meiotic event control inrice*. *Journal of Genetics and Genomics*, vol. 41, no 3, p. 125-137.
- Lara-Gonzalez, Pablo, Westhorpe, Frederick G., et Taylor, Stephen S.(2012). *The spindle assembly checkpoint*. *Current biology*, vol. 22, no 22, p. R966-R980.
- Mahdjoub, MM, Zemouri, T., Benmouhoub, H. et Sahnoune, M. (2018). *Etude morphologique, caryologique et biogéographique de l'espèce endémique algérienne Salvia jaminiana de Noé (Lamiaceae), avec interprétations taxonomiques et évolutives*. *Flore* , 242 , 102-119.
- Maire, R. (1960). *Flore de l'Afrique du Nord*. Volume 6. Editions *Lechevalier*, Paris, 397 p.

Références bibliographiques

- Martos, F. (2010). Structuration écologique et évolutive des symbioses mycorhiziennes des orchidées tropicales. Thèse de Doctorat en Biologie des Populations et Ecologie. Faculté des Sciences et des Technologies, Université de la Réunion. 250 p.
- Mendes, Sandra, Moraes, Ana Paula, Mirkov, T. Erik. (2011). Et al. Chromosome homeologies and high variation in heterochromatin distribution between *Citrus L.* and *Poncirus Raf.* as evidenced by comparative cytogenetic mapping. *Chromosome Research*, 2011, vol. 19, p. 521-530.
- Mieulet D. (2017). Manipulation de la recombinaison chez une plante cultivée, le riz. 2017. Thèse de doctorat. Montpellier Sup Agro.
- Mursalimov S., Sidorchuk Y., Demidov D.(2015). A rise of ploidy level influences the rate of cytomixis in tobacco male meiosis. *Protoplasma*, 2015, vol. 253, no 6, p. 1583-1588.
- Quézel, P. & Santa, S. (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales, Tome I (1962); Tome II (1963). Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. 1170 pp.
- Rebbas, K., Bougaham, A.F., Rebbas, N. & Errol, V. (2021). Inventaire des orchidées de la wilaya de Bejaia (Petite Kabylie, Algérie) sur dix-sept années. *J. Eur. Orch.* 53(2-4) : 502-590.
- Rebbas, K., Heddad, M., Ben si Said, Z., Haddad, S. & Errol, V. (2023). Les Orchidées du Parc National de Djurdjura (Grande Kabylie, Algérie) sur 17 années- Inventaire, Taxonomie et Biogéographie. *Journal Europäischer Orchideen*, vol. 55 (1) : 99-181.
- Salazar-Roa, M., & Malumbres, M. (2017). Fueling the cell division cycle. *Trends in cell biology*, 27(1), 69-81
- Sarkar, M., Datta, S., & Kundagrami, S. (2017). Global climate change and mung bean production: a roadmap towards future sustainable agriculture. *Sustaining future food security in changing environment*, 99.
- Schatz B. & Geniez P. (2011). Les orchidées, un patrimoine naturel à conserver. In le génie de la nature. (eds : Pietrasanta Y. et Schatz B.), Biotope, Mèze (collection Parthénope), P 26-47.
- Subramanian V. V. Et Hochwagen A.(2014). The meiotic checkpoint network: step-by-step through meiotic prophase. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, vol. 6, no 10, p. a016675
- Telepova-TeXier, M. (2011). Interaction entre les orchidées et leurs pollinisateurs. *Les amis du Muséum National d'Histoire Naturelle* (248): 61-66.
- Terret M. E. et Wassmann K.(2008). Le point faible méiotique : la première division. *Médecine/sciences*, vol. 24, no 2, p. 197-204.
- Thorne R. F. (1992). "Classification et géographie des plantes à fleurs". *Revue botanique*. 58 (3) : 225-348.

Références bibliographiques

- Touati , S.(2014). Mécanisme de séparation des chromosomes dans l'ovocyte de souris. Thèse de doctorat . Université Pierre et Marie Curie-Paris.
- Woinarski ,J. (2018). A bat's end : the Christmas Island pipistrelle and extinction in Australia. CSIRO PUBLISHING.

Résumé

Étude cytogénétique et morphométrique des deux espèces du genre *Ophrys* (*Orchideae*) dans la région de Bouira.

Résumé : Nos recherches ont porté sur l'analyse morphologique d'*Ophrys speculum* L et d'*Ophrys thenthredinifera* W. Nous avons mené des examens biométriques qualitatifs et quantitatifs sur différents composants de ces plantes. Les résultats obtenus indiquent que ces deux espèces d'*Ophrys* partagent certains traits morphologiques. Plus précisément, elles présentent toutes les deux des fleurs à trois sépales et trois pétales, comportant un labelle ressemblant à un insecte. Néanmoins, de nettes disparités existent entre les deux espèces.

Pour déterminer le nombre de chromosomes d'*Ophrys speculum* L et d'*Ophrys thenthredinifera* W, nous avons procédé à une étude caryologique. En analysant les méioses des boutons floraux, nous avons découvert que probablement *Ophrys speculum* a un nombre de chromosomes de ($n = 18$) et nous avons observé toutes les étapes de la division cellulaire. De plus, nous avons pu observer toutes les étapes de la division cellulaire chez *Ophrys thenthredinifera*, mais nous n'avons pas obtenu de résultats concluants concernant le nombre de chromosomes. L'analyse de la fertilité pollinique réalisée sur des fleurs avant anthèse a montré un fort taux de fertilité (83% - 99%) pour l'*Ophrys speculum* L et (82% - 94%) pour l'*Ophrys thenthredinifera* W.

Mots clés : *Ophrys speculum* L, *Ophrys thenthredinifera* W, morphologie, caryologie, fertilité pollinique.

Cytogenetic study and morphometric of two species of the genus *Ophrys* (*Orchideae*) in the Bouira region.

Abstract : Our research focused on the morphology analysis of *Ophrys speculum* L and *Ophrys thenthredinifera* W. We conducted qualitative and quantitative biometric tests on various components of these plants. The results obtained indicate that these two *Ophrys* species share certain morphological traits. Specifically, they both have flowers with three sepals and three petals, with an insect-like labellum. Nevertheless, there are clear disparities between the two species.

To determine the number of *Ophrys speculum* L and *Ophrys thenthredinifera* W chromosomes, a karyology study was conducted. By analyzing the meiosis of the flower buds, we discovered that probably *Ophrys speculum* has a chromosome number of ($n = 18$) and we observed all stages of cell division. In addition, we were able to observe all stages of cell division in *Ophrys thenthredinifera*, but we did not obtain conclusive results regarding the number of chromosomes. The analysis of pollen fertility performed on flowers before anthesis showed a high fertility rate (83% - 99%) for *Ophrys speculum* L and (82% - 94%) for *Ophrys thenthredinifera* W.

Keywords : *Ophrys speculum* L, *Ophrys thenthredinifera* W, morphology, karyology, pollen fertility.

لدراسة الخلوية و الوراثة و المورفولوجيا لنوعين من جنس أوفريس (أوركيديا) لمنطقة البويرة

ملخص . ركز بحثنا على التحليل المورفومتري لنوعين أوفريس سبيكيلوم ل و أوفريس تنثريدنيفورا و أجرينا فحوصات بيومترية نوعية وكمية على مكونات مختلفة من هذه النباتات. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن هذين النوعين يشتركان في بعض على وجه التحديد ، كلاهما يتميز بزهور بثلاث كؤوس وثلاث بتلات ، و بعلامة تشبه الحشرات. ومع ذلك ، السمات المورفولوجية. توجد تباينات واضحة بين النوعين.

لتحديد عدد الكروموزومات لنوعين أوفريس سبيكيلوم ل و أوفريس تنثريدنيفورا و أجرينا دراسة كاريولوجيا . من خلال تحليل الانقسام الاختزالي لبرعم الزهرة، وجدنا أن نوع أوفريس سبيكيلوم يحتوي على عدد كروموزوم ($n = 18$) ولاحظنا جميع مراحل ، انقسام الخلايا. بالإضافة إلى ذلك ، تمكنا من ملاحظة المراحل الأولية لانقسام الخلايا في أوفريس تنثريدنيفورا و لكننا لم نحصل على نتائج قاطعة فيما يتعلق بعدد الكروموزومات. تحليل خصوبة حبوب اللقاح الذي تم إجراؤه على الأزهار قبل التخليق أظهر ارتفاع معدل الخصوبة (83%-99%) بالنسبة لأوفريس سبيكيلوم ل و (82%-94%) بالنسبة لأوفريس تنثريدنيفورا و .

الكلمات المفتاحية أوفريس سبيكيلوم ل ، أوفريس تنثريدنيفورا ، مورفولوجيا ، كاريولوجيا ، خصوبة حبوب اللقاح