

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences et Gestion de l'Environnement

Présenté par :

ZEMOURI Mourad

Thème

Etude cytogénétique de quelques espèces végétales de la flore de kéfrida (Wilaya de Bejaia) avec un accent sur les endémiques.

Soutenu le : 28 / 06 / 2017

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M.REMINI Hocine</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M. BOUCHIBANE Mebarek</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M. LAMINE Salim</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2016/2017

Remerciement

Au terme de ce modeste travail, je tiens à remercier tout d'abord le bon Dieu Allah qui m'a donné la volonté et le courage de reprendre le monde des études après une longue interruption.

- Je remercie Monsieur BOUCHIBANE Mebarek, Maître Assistant à l'université AMO de Bouira pour avoir accepté de m'encadrer ainsi que pour son aide, sa disponibilité et ses conseils et orientations ;
- Je remercie M. REMINI Hocine Maître de Conférence à l'université AMO de Bouira pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.
- Je remercie LAMINE Salim Maître Assistant à l'université AMO de Bouira pour avoir accepté d'examiner et de juger mon travail.
- Je remercie Pr. SAHNOUNE Mohamed Directeur de Laboratoire de Recherche en Ecologie et Environnement de l'université A/MIRA de Bejaia pour avoir accepté d'accomplir la partie pratique au sein du laboratoire, je le remercie aussi pour ses conseils, ses orientations et surtout pour ses encouragements.
- Je tiens à remercier tout particulièrement tous les membres (enseignants chercheur et doctorants) de l'équipe de recherche : Caractérisation des ressources phylogénétique, du Laboratoire d'Ecologie et Environnement à l'Université A. Mira pour m'avoir initié à la cytogénétique. Je leur exprime ma profonde gratitude pour m'avoir fait profiter de leurs connaissances.
- Je tiens à remercier tous les membres (enseignants chercheur et doctorants) du Laboratoire d'Ecologie et Environnement à l'Université A. Mira pour leurs encouragements et conseils.
- Je remercie aussi mes chers amis et collègues « Ingénieurs de Laboratoires » de l'université AMO de Bouira
- Je remercie tous ceux et toutes celles qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.

Sommaire

Introduction	01
I/Chapitre I : Revue bibliographique.....	03
I.1/ Intérêts des familles étudiées	03
I.1.1/ Intérêts de la famille des <i>Fabaceae</i>	03
I.1.1.1/ Intérêt agronomique des <i>Fabaceae</i>	03
I.1.1.2/ Intérêt zootechnique	04
I.1.2/ Intérêts de la famille des Lamiacées	04
I.1.2.1/ Intérêt cosmétique et alimentaire.....	04
I.1.2.2/ Intérêt pharmaceutique	05
I.1.3/ Intérêts de la famille des <i>Iridaceae</i>	06
I.1.4/ Intérêt de la famille des <i>Liliacées</i>	06
I.2/ Classification interne des espèces étudiées	07
I.2.1/ Classification dans le genre <i>Medicago</i>	07
I.2.2/ Classification dans le genre <i>Allium</i> L.....	08
I.2.3/ Classification dans le genre <i>Phlomis</i>	09
I.2.4/ Classification dans le genre <i>Iris</i>	09
I.3/ Répartition et écologie des espèces étudiées	10
I.3.1/ Les espèces du genre <i>Medicago</i>	10
I.3.2/ <i>Allium triquetrum</i> L.....	11
I.3.3/ <i>Phlomis bovei</i> De Noe.	11
I.3.4/ <i>Iris unguicularis</i> Poir.....	11
I.4/ Intérêt de la cytogénétique végétale.....	12
1.4.1/ Définition et intérêt.....	12
1.4.2/ Les chromosomes	12
1.4.2.1/ Différents types de chromosomes.....	13
I.5/ Caryologie des espèces étudiées	14
I. 6/ Diagnoses des espèces étudiées	15
I.6.1/ <i>Medicago arabica</i> L.....	15
I.6.2/ <i>Medicago murex</i> Willd.	16
I.6.3/ <i>Allium triquetrum</i> L.....	16
I.6.4/ <i>Phlomis bovei</i> de Noé.....	17
I.6.5/ <i>Iris unguicularis</i> Poir.	17

II/Chapitre II : Matériel et méthodes.....	18
II.1/ Matériel utilisé.....	18
II.1.1/ Les espèces étudiées et leurs origines	18
II.1.2/ Récolte des boutons floraux	18
II.1.3/ Récolte des gousses	19
II.1.3.1/ Mise à germination des graines.....	20
II.1.3.2/ Mise en culture des plantules.....	20
II.2/ Analyse des méioses polliniques	20
II.2.1/ Préparation des solutions.....	20
II.2.1.1/ Le fixateur	20
II.2.1.2/ Le colorant.....	21
II.2.2/ Le matériel végétal à observer.....	21
II.2.3/ Les différentes étapes de l'analyse de la méiose	21
II.2.3.1/ Prélèvement et fixation.....	21
II.2.3.2/ Hydrolyse à HCl	21
II.2.3.3/ Choix des boutons floraux.....	21
II.2.3.4/ La coloration.....	22
II.2.3.5/ L'observation.....	22
II.2.3.6/ Photographie.....	22
II.3/ Analyse de la fertilité pollinique	22
II.3.1/ Le matériel végétal utilisé	22
II.3.2/ Technique d'étude de la fertilité pollinique.....	23
II.3.3/ La technique de coloration des grains de pollen.....	23
II.3.4/ Estimation du taux de fertilité pollinique.....	23
II.4/ Analyse de la mitose.....	24
II.4.1/ Préparation des solutions.....	24
II.4.1.1/ Le fixateur	24
II.4.1.2/ Le colorant.....	24
II.4.1.3/ La solution de colchicine.....	24
II.4.2/ Le matériel végétal utilisé	24
II.4.3/ Les principales étapes de l'analyse de la mitose.....	25
II.4.3.1/ Prétraitement.....	25
II.4.3.2/ La fixation	25
II.4.3.3/ L'hydrolyse à HCl.....	25
II.4.3.4/ Coloration.....	25

II.4.3.5/ Préparation des lames et lamelles	25
II.4.3.6/ Observation.....	26
II.4.3.7/ Photographie.....	26
III/ Chapitre III : Résultats et discussions	27
III.1/ <i>Medicago arabica</i> L.	27
III.1.1/ Analyse de la mitose.....	27
III.1.2/ Analyse de la fertilité pollinique	28
III. 2/ <i>Medicago murex</i>	28
III.2.1/ Analyse de la méiose	29
III.2.2/ Analyse de la fertilité pollinique	30
III. 3/ <i>Allium triquetrum</i> L.	30
III.3.1/ Analyse de la méiose	31
III.3.2/ Analyse de la fertilité pollinique	32
III. 4/ <i>Iris unguicularis</i> Poir.....	32
III.4.1/ Analyse de la méiose	33
III.4.2/ Analyse de la fertilité pollinique	33
III. 5/ <i>Phlomis bovei</i> De Noé :	34
III.5.1/ Analyse de la mitose.....	34
III.6/ Autres résultats et leurs commentaires	35
III.6.1/ Les différents stades de la mitose :	35
III.6.2/ Les principales phases de la méiose :	37
III.6.3/ Quelques anomalies de la méiose :	38
III.6.4/ Cellules du tapétum chez l'espèce <i>I. unguicularis</i>	40
Conclusion générale et perspective	42
Références bibliographiques.....	43

Liste des tableaux

Liste des tableaux	Page
Tab. I : Classification dans le genre <i>Allium</i> L.	8
Tab. II : Classification dans le genre <i>Phlomis</i> L.	9
Tab. III : Classification de l'espèce <i>Iris unguicularis</i> Poir.	9
Tab. IV : Origine géographique des espèces étudiées, date et heure de fixation des boutons floraux.	18
Tab. V : Origine géographique des espèces étudiées, date et heure de la récolte des gousses et des graines.	19
Tab. VI : Fertilité pollinique de <i>Medicago arabica</i> L.	28
Tab. VII : Fertilité pollinique de <i>Medicago murex</i> Willd	30
Tab. VIII : Fertilité pollinique d' <i>Allium triquetrum</i> L.	32
Tab. IX : Fertilité pollinique d' <i>Iris unguicularis</i> Poir.	33

Liste des figures

Liste des figures	Page
Fig. 1 : Représentation schématique de quelques type de chromosomes (Griffiths <i>et al.</i> , 2002)	14
Fig. 2 : Localisation géographique de la zone d'étude	19
Fig. 3 : Luzerne d'Arabie (<i>Medicago arabica</i> L)	27
Fig. 4 : Mitoses de <i>Medicago arabica</i> L. (stade de métaphase)	28
Fig. 5 : Luzerne murex (<i>Medicago murex</i>)	29
Fig. 6 : Méioses de <i>M. murex</i> (stade de métaphase I).	29
Fig. 7 : Allium triquètre (<i>Allium triquetrum</i> L.)	31
Fig. 8 : Méioses d' <i>Allium triquetrum</i> L.	31
Fig. 9 : Iris d'Algérie (<i>Iris unguicularis</i> Poir.)	32
Fig. 10 : Méioses d' <i>Iris unguicularis</i> Poir. (Stade de métaphase I)	33
Fig. 11 : Phlomis (<i>Phlomis bovei</i> De Noe.)	34
Fig. 12 : Mitose de <i>Phlomis bovei</i> De Noe.	35
Fig. 13 : Les différents stades de la mitose chez <i>Phlomis bovei</i> De Noé	36
Fig. 14 : Les principales phases de la méiose des espèces étudiées.	37
Fig. 15 : Anomalies associées à la méiose observées chez <i>M. murex</i> .	38
Fig. 16 : Photographie de grains de pollen normaux (fertiles) et anormaux (stériles) d' <i>Allium triquetrum</i> et <i>M. arabica</i> L.	39
Fig.17 : Les différentes cellules du tapetum observées chez <i>I. unguicularis</i> Poir.	41

Introduction générale

Introduction générale

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19^e siècle mais c'est surtout à partir des années 1920, que la cytogénétique s'est développée et son importance n'a cessé de croître par la suite (Jahier *et al.*, 1992).

La cytogénétique est l'une de nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes. Elle participe à la connaissance du matériel végétal utilisé (Nombre de chromosomes, polyploïdie) et l'exploitation de la variabilité intraspécifique (Jahier *et al.*, 1992).

Les études caryologiques jouent un rôle prépondérant dans les recherches biosystématiques en vue de la compréhension des relations phylogénétiques (Stebbins, 1971 ; Grant, 1986). Mais, leur développement est lié à l'évolution des techniques de marquages des chromosomes. Les techniques classiques, qui permettent une vision morphologique de la cellule en métaphase, ont rendu possible le dénombrement des chromosomes et l'établissement de caryotypes (Darlington & Lacour, 1940).

Le dénombrement chromosomique joue un rôle important dans l'évaluation de la biodiversité et de sa conservation (Martinez & Perker, 1995).

Le secteur de Kéfrida, comme toute la région des Babors (petite Kabylie), présente une flore riche et diversifiée, avec un nombre appréciable en espèces endémiques au sens large, grâce aux conditions climatiques exceptionnelles, associées à une topographie très accidentée (Maire, 1926). La végétation de ce secteur (Kéfrida) a fait l'objet de quelques études consacrées à l'inventaire floristique et phytogéographique (Quézel, 1956 ; Quézel & Santa, 1962-63 ; Bouchibane *et al.*, 2017), utilisation des ressources phytogénétiques (Nouioua, 2012), mais très peu d'étude caryologique ont été réalisées sur la végétation de ce secteur (Bouchibane, 2009).

L'objectif de notre étude est de connaître le nombre chromosomique de quelques espèces du secteur de Kéfrida dans le but de déterminer la variabilité génétique de ces espèces. Ainsi essayer d'améliorer certaines étapes des techniques utilisées pour analyser les méioses et les mitoses, pour les faire adapter à notre matériel végétal.

Introduction générale

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

Chapitre I : Revue bibliographique

Chapitre I : Revue bibliographique

I/ Chapitre I : Revue bibliographique

I.1/ Intérêts des familles étudiées

I.1.1/ Intérêts de la famille des *Fabacées* (*Fabaceae*)

L'importance accordée aux *Fabaceae* tient aux nombreux avantages que ces espèces peuvent présenter, et qui justifient leur utilisation à grande échelle, dans les régions tempérées et tropicales du monde (Langer & Hill, 1982 in Adouane, 2009).

La famille des *Fabaceae* (Légumineuses) est l'une des familles les plus abondantes et les plus diversifiées des plantes supérieures. Elle compte quelques 1700 espèces réparties en quelques 700 genres, parmi ces espèces on trouve des plantes alimentaires, fourragères, ornementales et médicinales (Tootill, 1984 ; Allaby, 1992).

I.1.1.1/ Intérêt agronomique des *Fabacées* (*Fabaceae*)

La luzerne (*M. sativa*) appartient à la famille des *Fabaceae* bien connue pour ses avantages. La luzerne représente la plus importante culture fourragère du monde ; elle est cultivée sur quelques 33 millions d'hectares (Bolton, 1972). *Medicago sativa* est probablement la première plante fourragère cultivée par l'homme.

Une luzernière peut nourrir et engraisser jusqu'à 40 brebis par hectare avec leurs agneaux et en outre produire de 22 à 25000 kg/hectare de matière sèche (FAO, 1993). Il est concevable que les luzernes irriguées, puissent nourrir deux fois plus d'ovins (Marble, 1984 in Bettache & Ounecer, 2000). Dans quelques régions du monde, les cultures de luzernes (*Fabaceae*) annuelles ont été développées pour remplacer les céréales dans les systèmes de rotation avec le blé pour fournir une coupure aux développements de parasites et de maladies des céréales (Ovalle *et al.*, 1990 in Delgado *et al.*, 2000 ; Abdelkefi & Marrakchi, 2000). Ces médiques fournissent une meilleure couverture au sol et peuvent être employées comme engrais verts (Brummer *et al.*, 1995 ; Bouton, 1996 ; Shrestha *et al.*, 1998).

Les plantes de la famille des *Fabaceae* sont caractérisées par leur capacité de fixer l'azote atmosphérique, grâce à une symbiose existant entre la plante et une bactérie (*Rhizobium Meliloti*), qui se développe dans leurs systèmes racinaires (Mauries, 1994 ;

Chapitre I : Revue bibliographique

Zakhia, 2001). Grâce à cette symbiose, les *Fabaceae* apporte l'équivalent de 15% de la quantité totale d'azote fournie par l'industrie à l'agriculture française (Genier *et al.*, 1992).

I.1.1.2/ Intérêt zootechnique

Les légumineuses fourragères fournissent au bétail une nourriture particulièrement riche en protides, en vitamines et en sels minéraux (Foury, 1954).

Les ovins pâturant les luzernes annuelles exclusivement, présentent un gain moyen journalier de 220g de poids vif par tête. Alors que ceux alimentés traditionnellement, avec pâture de jachère et paille de lentille, ont un gain moyen journalier de 100g uniquement. Cette différence s'explique par le fait que les luzernes annuelles fournissent 10 fois plus d'unités fourragères que les jachères (Anonyme, 1979 *in* Aït Ouaret & Sahnoune, 1998).

I.1.2/ Intérêts de la famille des Lamiacées (Lamiaceae)

Les lamiacées comprennent 6 500 espèces dont l'aire de dispersion est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes : Thym, Lavande, Romarin caractérisent la flore des garrigues. Les *Lamiacées* sont rares, par contre, dans les régions arctiques et en haute montagne.

C'est une famille très homogène : une lamiacée est facile à reconnaître (Dupont & Guignard, 2012). En Algérie, cette Famille comprend 29 genres et 140 espèces se développant aussi bien dans les zones méditerranéennes que sahariennes (Nouioua, 2012).

I.1.2.1/ Intérêt cosmétique et alimentaire

Une trentaine d'espèces de *Lamiacées* sont utilisées comme épice ou en parfumerie telle la lavande (Ramade, 2008). Elles se remarquent par leurs odeurs pénétrantes d'où le nom de plantes aromatiques qui leur est attribué (Nouioua, 2012). La plupart des espèces appartenant à cette famille sont aromatiques et possèdent des huiles essentielles (Lawrence, 1992). Les huiles essentielles aromatiques sont principalement présentes dans les feuilles, mais elles peuvent être trouvées dans toutes

Chapitre I : Revue bibliographique

les parties supérieures des plantes. Elles sont précieuses dans les industries ; agroalimentaires, aromatologie , cosmétiques, parfumerie, pesticide et pharmaceutique (Kaufmann & Wink, 1994 ; Ozkan, 2008).

Certaines des espèces de la famille des *Lamiacées* sont utilisées comme herbes culinaires et cultivées pour ses feuilles comestibles, par ex. Basilic (*Ocimum* sp.), Menthe (*Mentha piperita* L.), romarin (*Rosmarinus officinalis* L.), sauge (*Salvia officinalis* L.), salé (*Satureja hortensis* L.), marjolaine (*Origanum majorana* L.) L'origanum (*Origanum vulgare* L.), le thym (*Thymus vulgaris* L.), la lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.) (Licina *et al.* 2013).

Plusieurs espèces de la famille des *Lamiaceae* comprennent également des plantes largement utilisées dans la médecine traditionnelle comme remède contre divers troubles (Carović-Stanko *et al.*, 2016).

I.1.2.2/ Intérêt pharmaceutique

Plus de 90 espèces de *Lamiaceae* sont inscrites dans la pharmacopée, leurs activités sont dues à la présence de véritables réservoirs sous-cuticulaires représentés par de nombreux poils glanduleux qui sécrètent des essences, constituant ainsi de véritables unités de production pour les alcools (géraniol, linalol, bornéol, terpinéol) provenant des Genres *Lavandula*, pour les aldéhydes provenant de *Melissa officinale* L., pour les cétones (camphre, carvone, thuyone, pulégone, menthone) provenant de *Lavandula stoechas* L. et pour les dérivés phénoliques (thymol, carvacrol, eugénol et estragol) provenant essentiellement du genre *Thymus*, de diverses espèces du genre *Origanum* pour les hydrocarbures (terpéniques et non terpéniques), enfin pour les oxydes provenant de *Mentha piperita* L. ; *Salvia officinalis* L. et de *l'Hyssopus officinalis* L. dont une sous espèce est caractéristique de la région d'Oran. En plus de ces plantes sont inscrites au codex, de nombreuses espèces de *Lamiaceae* sont utilisées dans la pharmacopée populaire : *Ajuga iva* Schr., 5 espèces de *Marrubium* L. et plus de 20 taxons de *Teucrium* L. (Nouioua, 2012).

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1.3/ Intérêts de la famille des *Iridaceae*

La famille des *Iridaceae* comprend 1800 espèces dont les iris, les glaïeuls, les crocus. En Algérie, elle compte 4 genres et 21 espèces (Quézel & Santa, 1962-63).

Cette famille se caractérise par sa richesse en polyphénols. Les flavonoïdes tels que la rutine, la disomine, la lutéoline et la quercétine, sont aujourd'hui de plus en plus commercialisés pour diverses applications médicamenteuses, alimentaires et cosmétologiques (Akroum, 2012).

Le safran est une épice chère noble, rare et d'une grande valeur commerciale. Elle dérive des stigmates de *Crocus sativus* L. une fleur de la famille des *Iridacée*. On l'appelle «l'or des agriculteurs ou l'or végétal». Ce précieux produit possède de nombreuses vertus médicinales (Moutiq *et al.*, 2011).

I.1.4/ Intérêt de la famille des *Liliacées*

Cette famille compte près de 2000 espèces largement répandues dans les diverses régions du globe. La plupart se font remarquer par l'élégance, la splendeur ou le parfum de leurs fleurs. Tout le monde connaît le Lis, la Tulipe, la Jacinthe, dont les innombrables variétés sont le plus bel ornement des parterres au printemps. On sait la place importante que tiennent dans nos jardins potagers plusieurs espèces du genre *Allium*. Les bulbes et les racines de quelques autres étaient jadis employés comme purgatifs et diurétiques. Enfin quelque espèces exotiques sont encore mises à profit par la médecine et l'industrie (Coste, 1937). Le genre *Allium* compte des espèces alimentaires (ail, oignon, poireau, échalote...) (Dupont & Guignard, 2012), des espèces (*Allium Cepa* ; *Allium fistulosum* et *Allium sativum*) avec des activités antibactériennes et antifongiques (Benmeddour *et al.*, 2015).

Chapitre I : Revue bibliographique

I.2/ Classification interne des espèces étudiées

I.2.1/ Classification dans le genre *Medicago*

En se basant sur un certain nombre de caractères, Lesins & Lesins (1979) ont classé le genre *Medicago*, en 4 sous-genres :

(a) Sous-genre n°1 : *Lupularia*

M. lupulina L.

M. secundiflora. Durieu

(b) Sous-genre n°2 : *Orbicularia*.

Section *Carstiensae* Kozuk.

Section *Cretaceae* Bieb.

Section *Platycarpae* E. small.

Section *Orbiculares* Urb.

Section *Hymenocarpos* Ser.

Section *Heyniana* Greu.

(c) Sous-genre n°3 *Medicago*

Section *Falcago* Reiche

Section *Papillosae*

Section *Arboreae*

Section *Suffruticosae*

(d) Sous-genre N° 4 : *Spirocarpos*

Section *Rotatae* (Urb) Hein

Section *Leptospirae* (Urb) Hein

Section *Pachyspirae* (Urb) Hein

Section *Intertextae* (Urb) Hein

Chapitre I : Revue bibliographique

Les deux sections qui nous intéressent dans cette présente étude sont :

- 1 - La section des *Leptospirae* qui se classe dans le sous-genre N° 4 : Spirocarpos. Les *Leptospirae* comptent 10 espèces : *M. polymorpha* (L.), ***M. arabica*** Hudson, *M. minima* Bartalini, *M. tenoreana* Seringe, *M. disciformis* de Candolle, *M. sauvagei* Nègre, *M. laciniata* (L.) Miller, *M. coronata* (L.) Bartalani, *M. lanigera* Winkler et Fedtschenko, *M. praecox* de Candolle
- 2- Section *Pachyspirae* (Urb) Hein qui se classe aussi dans le sous-genre N° 4 : Spirocarpos. Les *Pachyspirae* comptent 09 espèces : *M. soleirolii*, *M. tornata*, *M. littoralis*, *M. truncatula*, *M. rigidula*, ***M. murex***, *M. constricta*, *M. turbinata*, *M. doUata*.

I.2.2/ Classification dans le genre *Allium* L.

Friesen *et al.* (2006), on subdivisé le genre *Allium* en 15 sous-genres (*Allium*, *Amerallium*, *Melanocrommyum*, *Reticulatobulbosa*, *Cepa*, *Polyprason*, *Rhizirideum*, *Cyathophora*, *Butomissa*, *Porphyroprason*, *Vvedenskya*, *Anguinum*, *Caloscordum*, *microscordum* et *Nectaroscordum*) en se basant sur les relations phylogénétiques. L'espèce étudiée est classée dans le sous genre *Amerallium* et la section *Briseis* (Tab. I).

Tab. I : Classification dans le genre *Allium* L.

Rang	Nom Scientifique
Règne	Plantes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	<i>Aspragales</i>
Famille	<i>Liliaceae</i>
Sous-famille	<i>Allioidées</i>
Genre	<i>Allium</i> L.
Sous-genre	<i>Amerallium</i> .
Section	<i>Briseis</i>
Espèce	<i>Allium triquetrum</i> L.

Chapitre I : Revue bibliographique

I.2.3/ Classification dans le genre *Phlomis*

Phlomis bovei De Noé. est classée dans la famille des *Lamiaceae* et le genre *Phlomis* L. Ce dernier fait partie de la section *Phlomis* (Mathiesen, 2006) (Tab. II).

Tab. II. Classification dans le genre *Phlomis* L.

Rang	Nom Scientifique
Règne	Plantes
Angiospermes ou Magnoliophyta	Enangiospermes
Supérieures gamopétale	Astéridées
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Sous famille	<i>Lamoideae</i> Harley
Genre	<i>Phlomis</i> L
Section	<i>Phlomis</i>
Espèce	<i>Phlomis Bovei</i> De Noé

I.2.4/ Classification dans le genre *Iris*

Le genre *Iris* L. appartient à la famille des *Iridaceae*. Lawrence (1953) a subdivisé le genre *Iris* en trois catégories infragénériques à savoir : sous-genre, section et série. Le taxon en question a été classé dans la série *Unguiculares* (Diels) Lawrence, la Section *Limniris* et le Sous-genre *Limniris* (Tab. III).

Tab. III. Classification de l'espèce *Iris unguicularis* Poir.

Rang	Nom Scientifique
Cladus	Plantae
Cladus	Angiospermes
Cladus	Monocotyledones
Ordre	Asparagales
Famille	<i>Iridaceae</i>
Genre	<i>Iris</i>
Sous-genre	<i>Limniris</i>
Section	<i>Limniris</i>
Série	Unguiculares (Diels) Lawrence
Espèce	<i>Iris unguicularis</i> Poir.

Chapitre I : Revue bibliographique

I.3/ Répartition et écologie des espèces étudiées

I.3.1/ Les espèces du genre *Medicago*

M. arabica et *M. Murex*, comme toutes les espèces annuelles du genre *Medicago*, sont originaires du bassin méditerranéen et des régions adjacentes (Heyn, 1963 ; Lesins & Lesins, 1979 ; Cocks *et al.*, 1980 ; Bounejmate, 1996).

Les aires d'origines de toutes les espèces annuelles du genre *Medicago* est le « croissant fertile » recouvrant les pays ou régions actuels de Turquie, d'Iran, d'Irak et du sud du Caucase et le pourtour méditerranéen (Prosperi *et al.*, 1993). Ces espèces ont ensuite conquis l'ensemble de la zone méditerranéenne et les steppes avoisinantes (Derek & Ernest, 1997).

M. arabica est inféodée à des environnements particuliers, qui est fréquent en Corse, Sardaigne (Italie) et Grèce, mais rare en Espagne et en Afrique du Nord (Olivieri *et al.*, 1991). Elle préfère les zones les plus humides (Négre, 1959). *M. arabica* pousse sur des sols aux textures moyennes à grossières et légèrement acide (Abdelguerfi *et al.*, 1988).

M. murex se trouve dans tout le bassin méditerranéen. Elle est assez abondante sur les îles méditerranéennes (Chypre, Crète, Sicile, Sardaigne et la Corse). Sur le continent près de la mer, elle a été trouvée en Turquie, en Grèce, en Italie, dans le sud de la France et en Espagne (Lesins & Lesins, 1979).

Elle pousse sur des sols légèrement acide ou neutre dans les régions à pluviométrie élevée en Algérie (Abdelguerfi *et al.*, 1988). Elle n'est présente que sous les fortes pluviométries (700 – 1100 mm), mais à des altitudes variables (50 à 1100m).

Négre, (1959), signale cette espèce dans les plaines atlantiques du Maroc, et dans la région humide du Nord-Est algérien. D'après, Quezel & Santa, (1962), *M. murex*, pousse dans les broussailles et les pâturages. Elle est assez commune dans le Tell algéro-constantinois.

Chapitre I : Revue bibliographique

I.3.2/ *Allium triquetrum* L.

Allium triquetrum L. est originaire de la Méditerranée occidentale et centrale ; Portugal, Sud de l'Espagne (y compris les Baléares), France (y compris la Corse), Italie (y compris la Sardaigne et la Sicile), Algérie, Maroc et Tunisie (Perring, 1962 in BSBI, 2011).

Il a été naturalisé dans le sud de l'Australie en 1909, et maintenant il se trouve dans la Nouvelle-Galles du Sud, Victoria, Tasmanie et dans l'Ouest de l'Australie, En Irlande, en Turquie, en Afrique du Sud, en Argentine, aux États-Unis, et en Nouvelle-Zélande (Parson & Cuthbertson, 2001 ; Perring, 1962 in BSBI, 2011).

L'*Allium triquetrum* L. s'installe dans des friches sèches à fraîches et préfère une exposition ensoleillée à semi-ombragée. Le substrat doit être limono-sableux, limono-graveleux ou argilo-sableux. Cette espèce est indicatrice des zones humides et elle supporte des températures jusqu'à -12° C (Baba-Aissa, 1999).

En Algérie, Cette espèce présente dans le Nord, jusqu'au Tell Constantinois, mais elle est assez rare dans l'Ouest. Elle se rencontre dans les Forêts et les broussailles (Quézel & Santa, 1962). Au Maroc, cette espèce a été signalée dans les broussailles et les lieux ombragés humides (Orch, 2013).

I.3.3/ *Phlomis bovei* De Noé.

Cette espèce est une endémique de L'Algérie et de la Tunisie (Dobignard & Chatelain, 2010- 2013). Elle pousse dans les milieux humides montagneux du Nord-est de L'Algérie (Quézel & Santa, 1962 – 63).

I.3.4/ *Iris unguicularis* Poir.

Iris unguicularis Poir. est une espèce endémique Algéro-tunisienne (Quézel & Santa, 1962 – 63). Elle Pousse dans les broussailles, les forêts, les rocailles et les garrigues. Commun dans le Tell algéro-constantinois jusqu'à environ 1600 m d'altitude (Quézel & Santa, 1962 – 63 ; Beniston & Beniston, 1984).

Chapitre I : Revue bibliographique

1.4/ Intérêt de la cytogénétique végétale

1.4.1/ Définition et intérêt

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. 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. La cytogénétique est d'abord une science d'investigation. Elle a activement contribué à la compréhension des mécanismes héréditaires et la nouvelle classification du monde végétale (taxonomie et phylogénie). Elle participe à : La connaissance du nombre de chromosomes matériel végétal utilisé, l'établissement des cartes génétiques, L'exploitation de la variabilité intraspécifique, interspécifique ou induite et l'amélioration des plantes (Jahier *et al.*, 1992).

La cytogénétique végétale est une discipline sur laquelle s'appuie l'amélioration des plantes. Cette dernière a connu de prodigieux développements lorsqu'on a découvert les propriétés de la colchicine, agent permettant de doubler le stock chromosomique de cellules végétales. On a donc pu imaginer faire des super-plantes, en augmentant le nombre de chromosomes (plantes polyploïdes). On a aussi pu imaginer d'exploiter plus systématiquement les hybrides entre espèces ; en effet, ceux-ci sont normalement stériles pour cause de non-appariement des chromosomes parentaux en méiose ; le doublement de leur nombre, rétablissant une situation disomique pour chacun d'eux, permet une méiose subnormale et restaure dans une certaine mesure la fertilité. C'est ainsi que l'hybride blé x seigle (en latin : *Tritium x Seale*) donne après traitement à la colchicine une structure amphidiploïde (hybride interspécifique) fertile, le triticales (Bernard & Bernard, 1992).

1.4.2/ Les chromosomes

Sont des structures en forme de bâtonnets faites de chromatine (matériel génétique), visible pendant la division cellulaire. Sur chaque chromosome sont alignés les gènes dans un ordre fixe. Chaque chromosome porte une zone de constriction primaire dénommée centromère ; c'est le point de liaison des deux chromatides sœurs.

Chapitre I : Revue bibliographique

Les segments chromosomiques situés de part et d'autre du centromère constituent les deux bras du chromosome. La position du centromère permet de distinguer un bras court et un bras long (Griffiths *et al.*, 2002).

1.4.2.1/ Différents types de chromosomes

Griffiths *et al.* (2002), ont classé les chromosomes selon la position de leurs centromères en 3 groupes (Fig. 1) :

A/ Chromosome télocentrique

Un chromosome télocentrique a son centromère situé à l'une des extrémités, lorsque le chromosome migre durant la division cellulaire, il apparaît comme une simple baguette.

B/ Chromosome acrocentrique

Un chromosome acrocentrique a son centromère quelque part entre l'extrémité et le milieu du chromosome, au cours de son déplacement, le chromosome ressemble à un J.

C/ Chromosome métacentrique

Un chromosome métacentrique a son centromère au milieu et ressemble à un V au cours de sa migration.

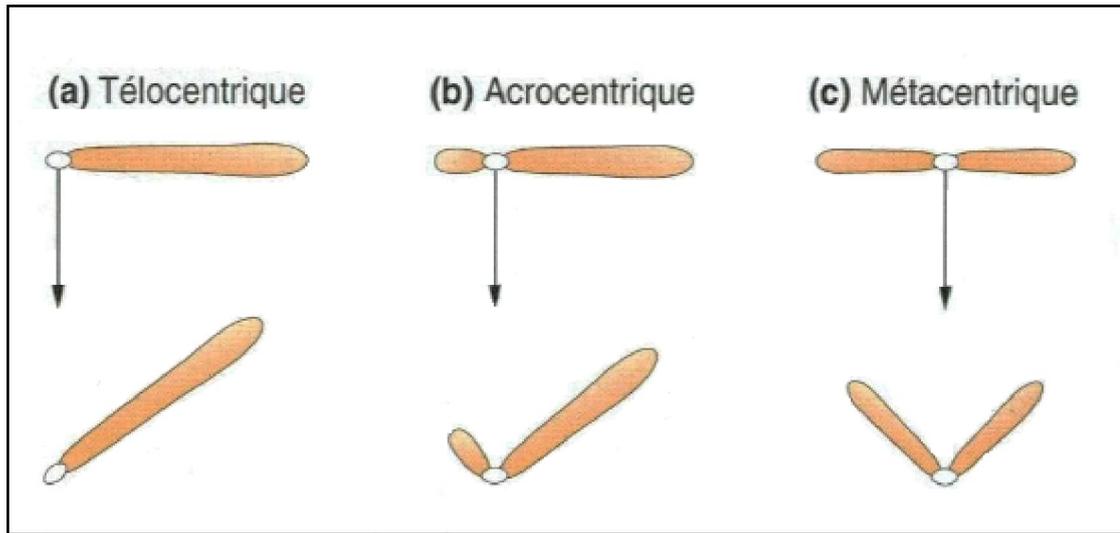


Fig. 1 : Représentation schématique de quelques type de chromosomes
(Griffiths *et al.*, 2002)

I.5/ Caryologie des espèces étudiées

Il ressort de la documentation consultée que *M. arabica* est une espèce diploïde avec $2n=16$ chromosomes, alors que *M. murex* est diploïde avec $2n = 14$ chromosomes (Heyn, 1963 ; Lesins & Lesins, 1979 ; Small & Jomphe, 1989 ; Bena *et al.*, 1998).

Divers auteurs, qui ont travaillé sur la cytologie du genre *Medicago*, exposent la difficulté à compter et à reconnaître la morphologie des chromosomes causée par l'encombrement des petits chromosomes qui se chevauchent sur la plaque métaphasique (Heyn, 1956). Les chromosomes de *M. arabica* et de *M. murex*, sont petits et montrent une mauvaise séparation à la métaphase et se prêtant mal à la coloration (Lesins & Lesins, 1979 ; Gillespie & Mc Comb, 1991).

Dans quelques espèces du genre *Medicago*, les chromosomes sont relativement petits, de 2,2 à 3,2 μm de long. Les centromères sont à la position médiane à sub-médiane dans au moins 7 couples chromosomiques. Le satellite fait presque la moitié de la longueur totale du chromosome qui le porte. Parfois cela peut donner l'apparence de deux chromosomes séparés (Lesins & Lesins, 1965). Les parties des chromosomes se chevauchent soit au niveau des extrémités soit au niveau des satellites, ce qui

Chapitre I : Revue bibliographique

explique que certains auteurs ont estimé incorrectement le nombre $2n$ dans certaines espèces du genre *Medicago* (Lesins & Lesins, 1963).

Chez le genre *Allium*, les chromosomes sont de grandes tailles (Guern *et al.*, 1991 ; Jauzein *et al.*, 2002). Des diploïdes, tétraploïdes et des hexaploïdes ont été trouvés chez ce genre (*Allium*) (Guern *et al.*, 1991). Selon Friesen *et al.* (2006), *Allium triquetrum* L. est un taxon diploïde qui possède 16 chromosomes ($2n = 16$), avec un nombre chromosomique de base $x = 8$.

Les études caryologiques réalisées sur le genre *Phlomis*, montrent que la polyploïdie n'est pas fréquente dans ce genre et le nombre chromosomique de base $x = 10$ et 11 (Chaksanova & Kaplanbekova, 1971 ; Azizian & Cutler, 1982). D'après, Azizian & Cutler (1982), *Phlomis samia* subsp. *moroccana*, provenant du Maroc, très proche de *Phlomis bovei*, est diploïde avec $2n = 20$ chromosomes.

Très peu d'étude caryologiques ont été réalisées sur *Iris unguicularis* Poir. La première étude caryologique réalisée sur cette espèce (*Iris unguicularis* Poir.) a été menée par Simonet (1928) ; où il affirme que le taxon est tétraploïde possédant un nombre chromosomique de $2n = 4x = 40$ avec un nombre de base $x = 10$.

En 1990 une autre étude a été réalisée sur l'*Iris unguicularis* Poir. où plus de 60 spécimens ont été récoltés sur littoral et le tell algérien. Le résultat de cette étude rapporte un autre nombre chromosomique diploïde ($2n=20$) avec un nombre chromosomique de base $x = 10$ (Davis & Jury, 1990).

I. 6/ Diagnoses des espèces étudiées

I.6.1/ *Medicago arabica* L.

Selon Lesins & Lesins (1979), Plantes de 40 à 65 cm de long, tiges couchées, ramification abondante provenant de la base. Stipules larges, profondément dentées. Folioles larges, amples, 11-23 mm x 14-32 mm, obcordées, obovées, généralement avec une tache anthocyanique au milieu, Glabre sur le côté supérieur. Pédoncule \pm long du pétiole correspondant, 2 à 5 fleurs, avec une arrête terminale. Fleurs de 5 à 6 mm de long. Pédicelle est inférieur que le tube de calice; Bractée aussi longues que le

Chapitre I : Revue bibliographique

pédicelle, souvent plus longues. Calices 2,5-3 mm de long, peu couvertes de poils. Corolle jaune vif; ovale; les ailes plus courtes que la carène. Gousses matures cylindrique à sphérique, planes aux deux extrémités, de couleur jaune-paille à brunâtres, glabres, épineuses. Spires 3,5-6, tournant dans le sens des aiguilles d'une montre. Graines de jaune à brunâtre, 2,5-3,5 mm x 1,2-1,5 mm, 1-3 par spire, séparées

I.6.2/ *Medicago murex* Willd.

D'après Lesins & Lesins (1979)

Plantes de 30 à 90 cm de long, tiges couchées à obliques, provenant de la base et se ramifiant secondairement. Parties végétatives glabre, ou peu couvertes de simples poils semi-verticaux. Stipules profondément incisées, parfois avec incisions secondaires, formant de longues dents; Dans les nœuds supérieurs, les stipules se forment parfois en une seule dent. Folioles 9-21 mm x 8-12 mm, obovés à coniques ; face supérieur glabre, la face inférieure couverte de quelques poils surtout le long de la nervure centrale. Pédoncule de 1 à 6 fleurs, avec une arrête terminale, généralement 2 à 5 fois plus longue que le pétiole correspondant, Rarement un peu plus long que, ou aussi long que le pétiole. Fleurs de 4 à 7 mm de long. Pédicelle inférieur au tube de calice; Bractées ont ± la longueur du pédicelle. Calice de 3 à 4 mm de long. La corolle jaune, généralement moins de deux fois plus longue que le calice, est rarement égale ou plus de deux fois plus longue; Les ailes nettement plus longues que la carène.

Gousses matures sphérique, de couleur grises-verdâtre à noir, épineuse ou inerme, 6 à 9 spires par gousse. Graines 3.5-4.5 mm x 1.5-2.5 mm, souvent en forme d'arc, 1 à 2 graines par spire, séparées.

I.6.3/ *Allium triquetrum* L.

Tige molle, de 10-40 cm, très nettement triquètre et à angles aigus ; se rétrécissant sous l'inflorescence. Feuilles glabres, planes. Fleurs blanches, grandes (téales de 10-18 mm de long); dressées puis nutantes ou pendantes (Quézel & Santa, 1962-63).

Chapitre I : Revue bibliographique

I.6.4/ *Phlomis bovei* de Noé

Herbes vivaces à tiges puissantes 50-80 cm, peu rameuses. Feuilles inférieures triangulaires cordiformes à la base, les florales lancéolées pétiolées. Calice à dents triangulaires courtes égalant le 1/8 de la longueur du tube (Quézel & Santa, 1962- 63).

I.6.5/ *Iris unguicularis* Poir.

Plante rhizomateuse à rhizome rampant. Feuilles linéaires. Divisions du périanthe de coloration très variable. Capsule bosselée, oblongue-trigone, brusquement contractée en bec de 4 mm env. Graines brun noir. Floraison décembre-avril, avec des fleurs de couleurs violettes (Quézel & Santa, 1962-63).

Chapitre II : Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

II/ Chapitre II : Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Recherche en Ecologie et Environnement de l'université abderrahmane MIRA à Béjaïa (UAM- Béjaïa).

II.1/ Matériel utilisé

II.1.1/ Les espèces étudiées et leurs origines

Notre échantillonnage a été fait dans le secteur de Kéfrida (fig.2). Notre étude a porté sur cinq espèces appartenant à quatre familles botaniques de plantes vasculaires. Ces espèces sont : *Medicago arabica* L. (Famille des *Fabaceae*) ; *Medicago murex* Willd. (Famille des *Fabaceae*), *Allium triquetrum* L. (Famille des *Liliaceae*) ; *Phlomis bovei* De Noe (Famille des *Lamiaceae*), *Iris unguiculais* Poir (Famille des *Iridaceae*). Le choix des espèces est basé essentiellement sur la rareté et sur l'endémisme, mais nous avons aussi pris en considération la disponibilité du matériel végétal. Les taxons récoltés de différentes stations sont représentés dans le Tableau IV.

Tab. IV : Origine géographique des espèces étudiées, date et heure de fixation des boutons floraux.

Espèces	Origine géographique	Altitude (m)	Date de fixation	Heure de fixation	Temps (météorologique) à la récolte	Coordonnées GPS
<i>Allium triquetrum</i> L.	Kéfrida (Tighzert)	550	03/03/2017	12h30	Ciel dégagé, il fait chaud	36,580628 ° 5,256204 °
<i>Medicago murex</i> Willd.	Kéfrida (Acherouf)	800	24/02/2017	10h30	Ciel dégagé, il fait chaud	36,565387 ° 5,2566006 °
<i>Iris unguiculari</i> Poir.	Kéfrida (Tadefelt)	1200	08/04/2017	14h00	Ciel nuageux avec pluie, il fait frais	36,578792 ° 5,246679 °

II.1.2/ Récolte des boutons floraux

Nous avons récolté les boutons floraux (les plus jeunes et les moins jeunes) au stade avant l'anthèse pour tous les taxons étudiés. Ces boutons floraux ont été mis immédiatement dans des tubes à essai contenant la solution de fixateur (Ethanol, chloroforme et acide acétique 6:3:1). La première récolte s'est faite le 24/02/2017 (Tab. IV).

Chapitre II : Matériel et méthodes

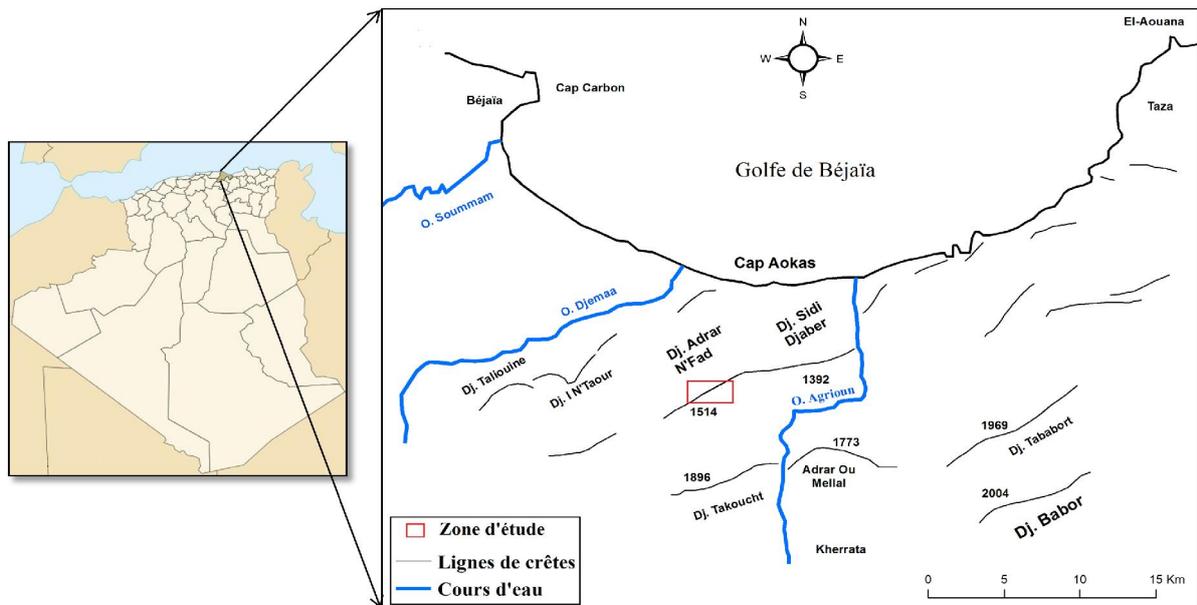


Fig. 2 : Localisation géographique de la zone d'étude.

Chaque tube à essai comportant les boutons floraux porte une étiquette sur laquelle on mentionne le nom de la station, altitude approximative (m), nom de l'espèce, date de fixation, heure de fixation (Tab. IV).

II.1.3/ Récolte des gousses et des graines

Nous avons ramassé des gousses appartenant aux espèces sur lesquelles notre étude a porté. Les gousses de chaque espèce ont été récoltées dans des sachets en papier portant le nom de la station, altitude approximative (m), nom de l'espèce et la date de récolte. Ces gousses sont destinées à une mise en culture pour l'analyse de la méiose, fertilité pollinique et l'analyse de la mitose (Tab V).

Tab. V : Origine géographique des espèces étudiées, date et heure de récolte des gousses et des graines.

Espèces	Origine géographique	Altitude (m)	Date de récolte	Coordonnées GPS
<i>Phlomis bovei</i> de Noé	Kéfrida (Tadefelt)	1200	03/03/2017	36,578792 ° 5,246679 °
<i>Medicago arabica</i> L.	Kéfrida (Acherouf)	800	24/02/2017	36,565387 ° 5,2566006 °

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1.3.1/ Mise à germination des graines

A partir des gousses récoltées dans les différentes stations, nous avons récupéré les graines les plus saines et les avons, scarifiées à l'aide de papier verre. Les graines scarifiées de chaque taxon sont déposées sur du papier filtre coupé aux mêmes dimensions que la base de la boîte de pétri, humidifiées à l'eau et mises à germer à l'obscurité. Dans chaque boîte de pétri, comportant les graines, on place une étiquette portant, le nom de la station, le nom de l'espèce et date de mise à germination.

II.1.3.2/ Mise en culture des plantules

Après la germination, on place 4 jeunes plantules dans chaque pot en plastique contenant du sol. Nous avons aussi récolté des plantules entières à partir de leur milieu d'origine et transplantées dans des pots en plastique au laboratoire. Les plantules contenues dans des pots sont mises à l'extérieur du laboratoire (sur les bords des fenêtres, orientation Ouest) et sont arrosées régulièrement à l'eau de robinet.

Chaque pot porte une étiquette sur laquelle on note le nom de la station, le nom de l'espèce et la date de plantation.

II.2/ Analyse des méioses polliniques

II.2.1/ Préparation des solutions

II.2.1.1/ Le fixateur

Le fixateur utilisé est celui du Carnoy II composé de :

- 6 volumes d'éthanol absolu,
- 3 volumes de chloroforme,
- 1 volume d'acide acétique absolu.

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

Chapitre II : Matériel et méthodes

matériel végétal pendant une longue période, lorsqu'il est conservé à l'obscurité à 4°C (Jahier *et al.*, 1992) .

II.2.1.2/ Le colorant

Le colorant utilisé est à base d'orceine lactopropionique préparé selon Dyer (1963) modifié selon Love & Love (1975). Dans un grand erlenmeyer, on dissout 2 g d'orcéine 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'orcéine ainsi obtenue se conserve longtemps dans un flacon en verre fumé.

II.2.2/ Le matériel végétal à observer

Les anthères constituent un matériel de choix pour analyser les chromosomes. La principale difficulté consiste à récolter les anthères au moment où les cellules mères des grains de pollens (CMP) subissent la méiose.

II.2.3/ Les différentes étapes de l'analyse de la méiose

Le protocole d'analyse des méioses polliniques comporte les étapes suivantes :

II.2.3.1/ 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.

II.2.3.2/ 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.

II.2.3.3/ 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

Chapitre II : Matériel et méthodes

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.

II.2.3.4/ La coloration

Cette étape consiste à mettre une goutte du colorant sur une lame préparée, et recouvrir d'une lamelle, puis 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.

II.2.3.5/ L'observation

Après la coloration, on passe la préparation au microscope photonique pour observer les cellules en méiose. Les cellules mères polliniques sont repérées facilement à l'aide d'un objectif de grossissement ($G = 10$ ou $G = 40$). L'observation des chromosomes est obtenue par un grossissement supérieur le plus souvent avec le grossissement ($G = 100$). 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.

II.2.3.6/ Photographie

Les bonnes préparations sont photographiées à l'aide d'un microscope trinoculaire OPTIKA-B350 équipé d'un appareil photo numérique adapté.

II.3/ Analyse de la fertilité pollinique

II.3.1/ Le matériel végétal utilisé

Les boutons floraux mûrs sont récoltés au stade avant l'anthèse pour toutes les espèces étudiées. Ces boutons floraux sont mis tout de suite dans le fixateur (Ethanol, chloroforme et acide acétique 6:3:1) contenu dans un tube à essai hermétiquement fermé, puis conservés à l'obscurité.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.3.2/ Technique d'étude de la fertilité pollinique

La technique utilisée pour étudier la fertilité pollinique a été inspirée du protocole de Mertens et Hamnersmith (1998). Cette technique est la coloration au bleu de coton au lactophenol. Le colorant est composé de :

- 8 volumes de glycérine,
- 4 volumes d'acide lactique à 85%,
- 4 volumes d'un mélange de cristaux de phénol (1 g de phénol + 4 ml d'eau distillée).
- 2 volumes d'eau distillée,
- 1 volume de bleu d'aniline à 1% (0.05 ml + 100 ml d'eau distillée).

II.3.3/ La technique de coloration des grains de pollen

Sous la loupe binoculaire, sur une lame de microscope dans une goutte d'eau on fait sortir les anthères à partir d'une fleur en utilisant deux aiguilles, ensuite on écrase les anthères pour libérer le maximum de grains de pollen. On élimine les débris de la fleur et les anthères vides, puis on laisse sécher la goutte d'eau contenant les grains de pollen. On ajoute alors une petite goutte de bleu de coton et on recouvre d'une lamelle. Les grains de pollen sont vite colorés et on les observe au microscope photonique. On compte entre 400 et 500 grains de pollen par fleur puis on calcule le taux de fertilité pollinique. Les grains de pollen colorés uniformément d'un bleu foncé sont considérés viables et fertiles, alors que ceux de forme et de tailles anormales et non colorés uniformément sont considérés non viables et stériles.

II.3.4/ Estimation du taux de fertilité pollinique

Le taux de fertilité pollinique est le rapport de la somme des grains de pollen fertiles sur la somme des grains de pollen fertiles et non fertiles (stériles).

$$TF = n / N * 100$$

TF = Taux de fertilité pollinique

n = Nombre de grains de pollen normaux (fertiles)

Chapitre II : Matériel et méthodes

N = Nombre total de grains de pollen ; normaux (fertiles) et anormaux (stériles).

II.4/ Analyse de la mitose

II.4.1/ Préparation des solutions

II.4.1.1/ Le fixateur

Le fixateur utilisé est composé de :

- 3 volumes d'éthanol
- 1 volume d'acide acétique glacial

Ce fixateur détruit toute vie cellulaire. Il doit avoir une action rapide pour bloquer toute évolution des divisions cellulaires. Il permet de conserver l'intégrité structurale des chromosomes et d'améliorer l'absorption des colorants (Love & Love, 1975 ; Jahier *et al.*, 1992).

II.4.1.2/ Le colorant

Comme dans II.2.1.2 .

II.4.1.3/ La solution de colchicine

Dans un flacon en verre, on dissout 0,05 g de colchicine dans 100 ml d'eau distillée, on agite bien la solution, et on la laisse pour quelques heures, le temps que les grains de colchicine se dissolvent complètement. La solution obtenue est celle de colchicine à 0,05%. La colchicine a pour effets principaux de bloquer les divisions cellulaires au stade métaphasique et de contracter les chromosomes.

II.4.2/ Le matériel végétal utilisé

Les méristèmes racinaires de graines germées, constituent un matériel de choix pour observer les chromosomes en mitose.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.4.3/ Les principales étapes de l'analyse de la mitose

II.4.3.1/ Prétraitement

A partir des graines germées, on prélève avec des pinces propres les pointes des racines d'environ 2 cm. Ces pointes des racines seront mises tout de suite dans un tube à essai contenant la solution de colchicine à 0,05% pour une durée de deux heures à l'obscurité.

II.4.3.2/ La fixation

Après le prétraitement, les pointes des racines sont transférées dans un tube à essai contenant le fixateur pour une durée de 5 minutes.

II.4.3.3/ L'hydrolyse à l'acide Chlore-Hydrique (HCl)

Une solution de HCl (1N) sera mise au bain-marie à 60° C pendant 5 minutes. Les racines fixées sont ensuite transférées dans cette solution de HCl (1N) préchauffée à 60° C, contenu dans un tube à essai, puis remise au bain-marie à 60° C pour encore 3 minutes pour *M. arabica* et 10 minutes pour *P. bovei* de Noé.

II.4.3.4/ Coloration

Après l'hydrolyse, les racines sont transférées, dans le colorant contenu dans un tube à essai, puis mises au bain- marie à une température de 60°C pendant 3 minutes pour *M. arabica* et 10 minutes pour *P. bovei* de Noé.

II.4.3.5/ Préparation des lames et lamelles

Sous la loupe binoculaire, avec une pince propre, on prend une racine et on la met sur une lame de microscope, et avec une lame de rasoir on coupe l'extrémité de la racine colorée en rouge, puis on ajoute une goutte du colorant (orcéine lactopropionique), on place alors la lamelle et, après avoir éliminé le surplus de colorant à l'aide du papier absorbant, nous écrasons avec le pouce perpendiculairement à la lamelle, en prenant soin de ne pas la déplacer.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.4.3.6/ Observation

Cette étape consiste à passer la préparation au microscope optique, pour observer les cellules en mitose. On doit chercher des cellules au stade métaphasique afin de pouvoir compter les chromosomes.

II.4.3.7/ Photographie

Les préparations réussies seront photographiées, à l'aide d'un microscope trinoculaire OPTIKA-B350 équipé d'un appareil photo numérique adapté.

Chapitre III : Résultats et discussions

III/ Chapitre III : Résultats et discussions

III.1/ *Medicago arabica* L.

Cette espèce est caractérisée par la présence d'une tache noire sur les folioles (Fig. 3). Elle est rare en Algérie (Quézel & Santa, 1962-63).



Fig. 3: Luzerne d'Arabie (*Medicago arabica* L.)

III.1.1/ Analyse de la mitose

L'analyse de la mitose portée sur 40 méristèmes racinaires appartenant à 40 graines de *M. arabica* a montré une assez bonne séparation des chromosomes à la métaphase, permettant ainsi un dénombrement correct des chromosomes ($2n = 16$). (Fig. 4)

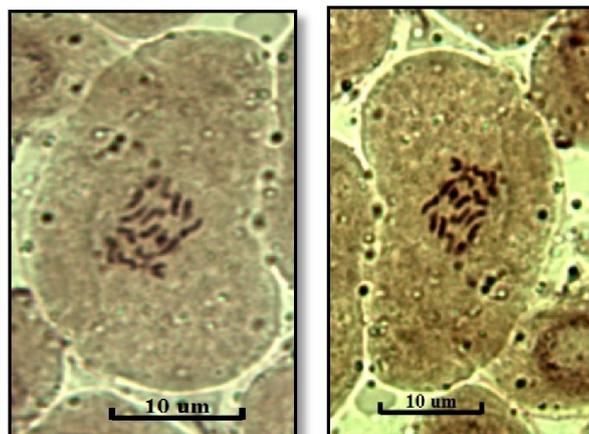


Fig. 4 : Mitoses de *M. arabica* L. (stade de métaphase)

Chapitre III : Résultats et discussions

Ce résultat de $2n = 16$ chromosomes, rejoint ceux obtenus par différents auteurs pour *M. arabica* (Heyn, 1963 ; Lesins & Lesins, 1979 ; Agarwall, 1983 ; Bena *et al.*, 1998).

III.1.2/ Analyse de la fertilité pollinique

L'analyse de la fertilité pollinique réalisée sur 3 fleurs de *M. arabica* est présentée dans le tableau VI.

Tab. VI : Fertilité pollinique de *Medicago arabica* L.

Espèce	Nombre de plantes analysées	Nombre de fleurs analysées	Taux de fertilité pollinique (%)
<i>M. arabica</i>	3	3	89 – 94

La fertilité pollinique des plantes analysées est très élevée, elle varie de 89 à 94% (Tab. VI). Ce taux élevé est comparable à celui obtenu par Benmouhoub (2007) pour *M. arabica* L. et pour *M. polymorpha* à tache noire au centre des folioles.

III. 2/ *Medicago murex*

Cette espèce est glabre, présentant 1-4 fleurs/grappe, avec des folioles de couleur vert foncé (Fig. 5).



Fig. 5: Luzerne murex (*Medicago murex*)

III.2.1/ Analyse de la méiose

L'analyse de la méiose faite sur 120 fleurs de *M. murex* a donné une bonne séparation des chromosomes à la métaphase I. De ce fait les chromosomes ont été dénombrés d'une façon sûre. Sur les plaques métaphasiques Fig. 6, ce nombre est de $2n=14$.

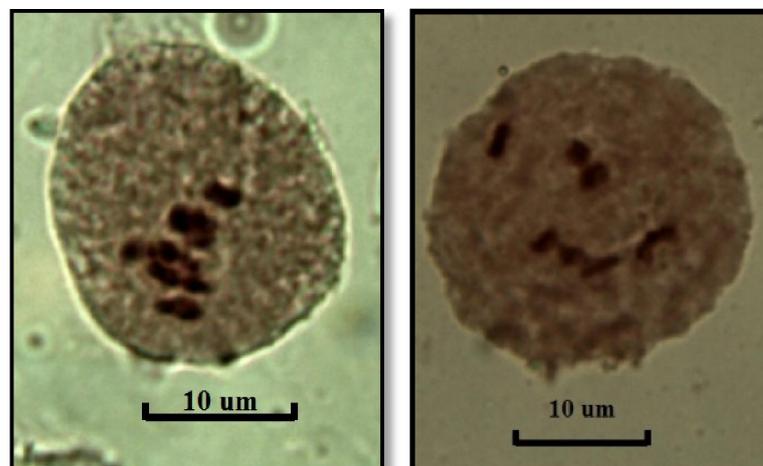


Fig. 6: Méioses de *M. murex* (stade de métaphase I).

Chapitre III : Résultats et discussions

Ce résultat de $2n = 14$ chromosomes, s'accorde avec ceux obtenus par Heyn (1963) ; Lesins & Lesins (1979) ; Small & Jomphe (1989) ; Bena *et al.* (1998), pour *M. murex* Willd.

III.2.2/ Analyse de la fertilité pollinique

L'analyse de la fertilité pollinique effectuée sur 3 fleurs de *M. murex* est présentée dans le tableau VII.

Tab. VII : Fertilité pollinique de *Medicago murex* Willd

Espèce	Nombre de plantes analysées	Nombre de fleurs analysées	Taux de fertilité pollinique (%).
<i>M. murex</i>	3	3	95 - 97

La fertilité pollinique des plantes analysées est très élevée, elle varie de 95 à 97% (Tab. VII.). Ce taux élevé est comparable à celui obtenu par Bouchibane (2009) pour les différents morphotypes de *M. polymorpha* L. (87 – 99%). Cette dernière (*M. polymorpha* L.) est proche de *M. murex*, présentant tout les deux le même nombre de chromosomes ($2n = 14$).

III. 3/ *Allium triquetrum* L.

Ce taxon est présent dans tout le Nord de l'Algérie. Il présente des fleurs blanches (Fig. 7).



Fig. 7 : *Allium triquetrum* (*Allium triquetrum* L.)

III.3.1/ Analyse de la méiose

L'analyse de la méiose réalisée sur 80 fleurs d'*Allium triquetrum* L. a donné une bonne séparation des chromosomes à la métaphase avec 8 bivalents (Fig. 8) d'où $2n=16$.

Ce nombre chromosomique de $2n=16$ a été signalé par Friesen *et al.* (2006), pour *Allium triquetrum* L.

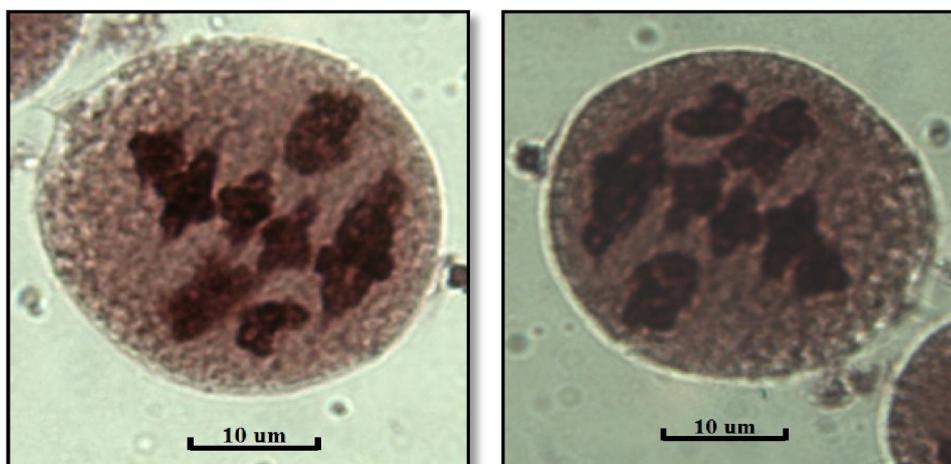


Fig. 8 : Méioses d'*Allium triquetrum* L.

Chapitre III : Résultats et discussions

III.3.2/ Analyse de la fertilité pollinique

Trois fleurs d'*Allium triquetrum* L. ont fait l'objet d'une analyse de la fertilité pollinique, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VIII.

Tab. VIII : Fertilité pollinique d'*Allium triquetrum* L.

Espèce	Nombre de plantes analysées	Nombre de fleurs analysées	Taux de fertilité pollinique (%).
<i>Allium triquetrum</i> L.	3	3	97 - 99

La fertilité pollinique des plantes analysées est très élevée, elle varie de 97 à 99% (Tab. VIII).

III. 4/ *Iris unguicularis* Poir.

Cette espèce est une endémique de l'Algérie et de la Tunisie (Quézel & Santa, 1962-63). Elle est assez commune dans notre région d'étude. Ce taxon est connu par ses fleurs violettes (Fig. 9).



Fig. 9 : Iris d'Algérie (*Iris unguicularis* Poir.)

Chapitre III : Résultats et discussions

III.4.1/ Analyse de la méiose

L'analyse de la méiose faite sur 90 fleurs d'*Iris unguicularis* Poir. a montré une séparation insuffisante des chromosomes au cours de la métaphase I. Du coup, les chromosomes ne peuvent être comptés de façon correcte sur les plaques métaphasiques (Fig. 10).

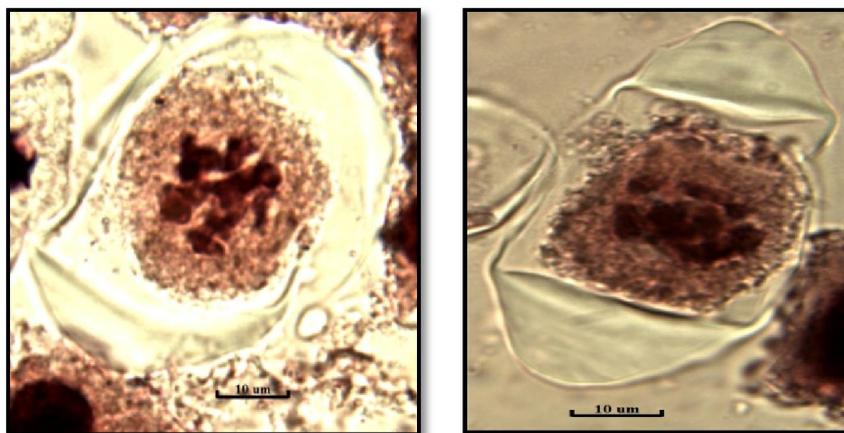


Fig. 10 : Méioses d'*Iris unguicularis* Poir. (Stade de métaphase I)

Cette séparation insuffisante des chromosomes à la métaphase I, peut s'expliquer par le manque de connaissance sur le moment de la fixation des boutons floraux.

III.4.2/ Analyse de la fertilité pollinique

L'analyse de la fertilité pollinique effectuée sur trois fleurs d'*Iris unguicularis* Poir. a donné les résultats présentés dans le tableau IX.

Tab. IX : Fertilité pollinique d'*Iris unguicularis* Poir.

Espèce	Nombre de plantes analysées	Nombre de fleurs analysées	Taux de fertilité pollinique (%).
<i>Iris unguicularis</i> Poir.	3	3	89 - 92

Les fleurs des différentes plantes analysées ont montré un taux de fertilité pollinique élevé, il varie de 89 à 92 % (Tab. IX).

Chapitre III : Résultats et discussions

III. 5/ *Phlomis bovei* De Noé :

Cette espèce est une endémique Algéro-tunisienne (Dobignard & Chatelain, 2010-2013). Elle présente des feuilles inférieures triangulaires cordiformes à la base (Fig. 11). *Phlomis bovei* De Noé. est rare et inscrite sur la liste de l'UICN, 1997 (Walter & Gillet, 1998).



Fig. 11 : *Phlomis* (*Phlomis bovei* De Noé.)

III.5.1/ Analyse de la mitose

L'analyse de la mitose portée sur 65 méristèmes racinaires de *Phlomis bovei* De Noé. a donné une séparation insuffisante des chromosomes au cours de la métaphase, de ce fait les chromosomes ne peuvent être comptés de façon correcte sur la plaque métaphasique (Fig. 12). Une estimation de 16 à 18 chromosomes a été faite. Cette mauvaise séparation des chromosomes à la métaphase est probablement due à la mauvaise qualité de la colchicine utilisée comme prétraitement.

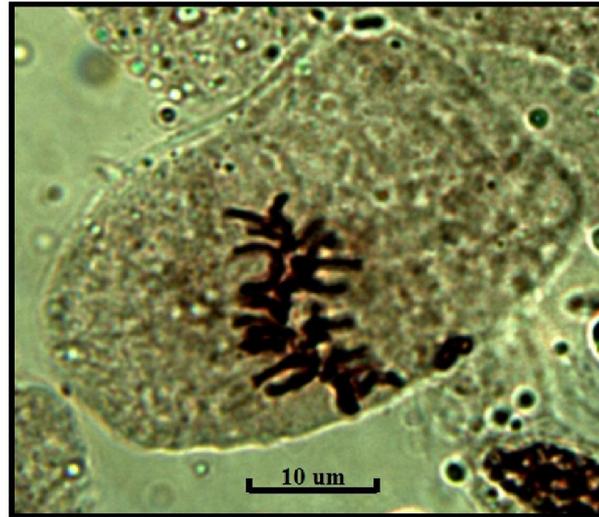


Fig. 12 : Mitose de *Phlomis bovei* De Noé.

III.6/ Autres résultats et leurs commentaires

III.6.1/ Les différents stades de la mitose :

Les différents stades de la mitose ont pu être observés chez *Phlomis bovei* De Noé. La figure 13 montre les principales phases de la mitose.

Chapitre III : Résultats et discussions

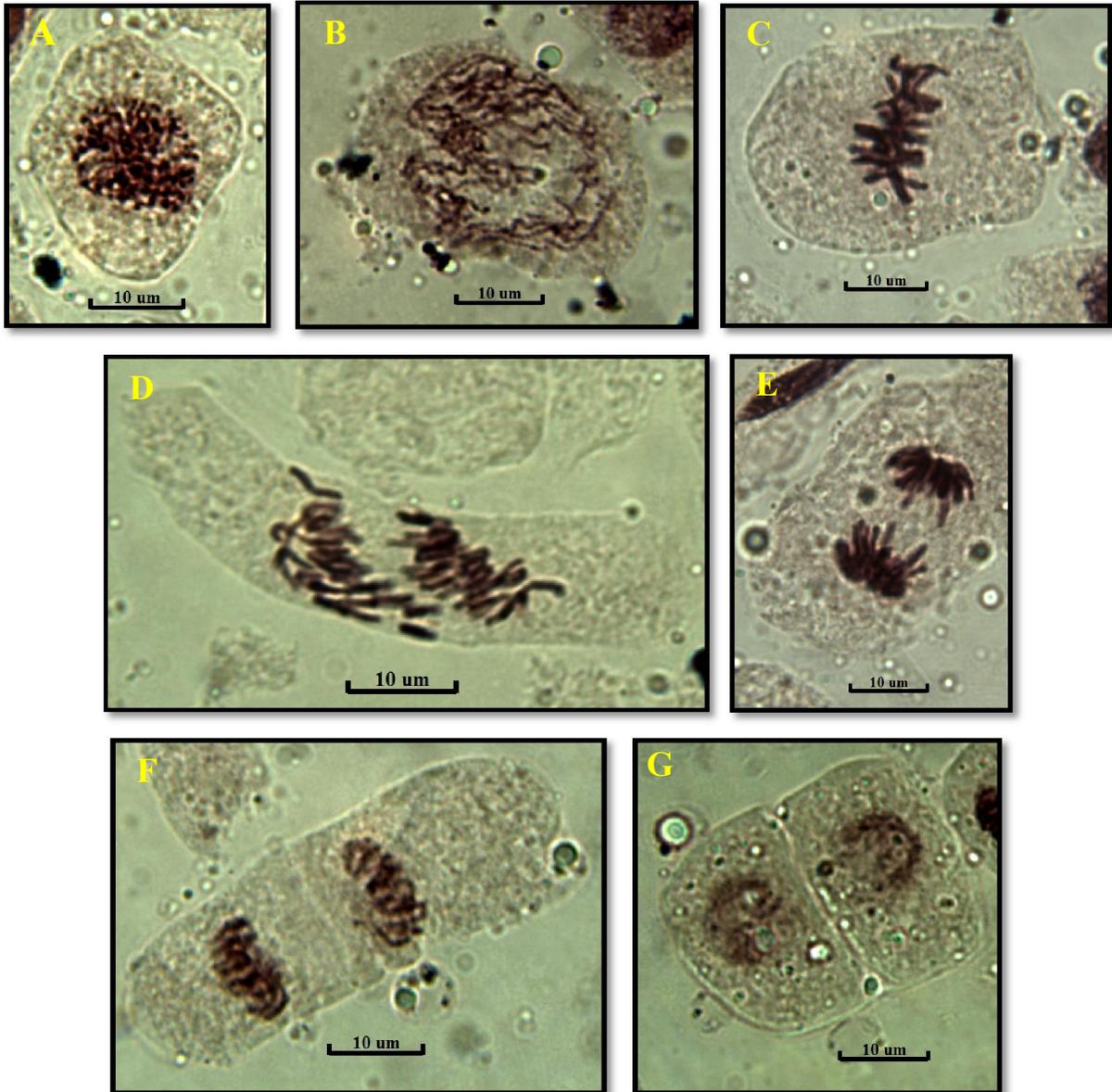


Fig. 13: Les différents stades de la mitose chez *Phloem bovei* De Noé.

A: Interphase; B: Prophase ; C : Métaphase ; D : Début Anaphase ; E: Fin Anaphase ; F : Télaphase ; G : Deux Cellules filles

Chapitre III : Résultats et discussions

III.6.2/ Les principales phases de la méiose :

Les principales phases de la méiose ont été observées pour les différentes espèces étudiées. La figure 14 montre les principaux stades de la méiose chez les différentes espèces étudiées.

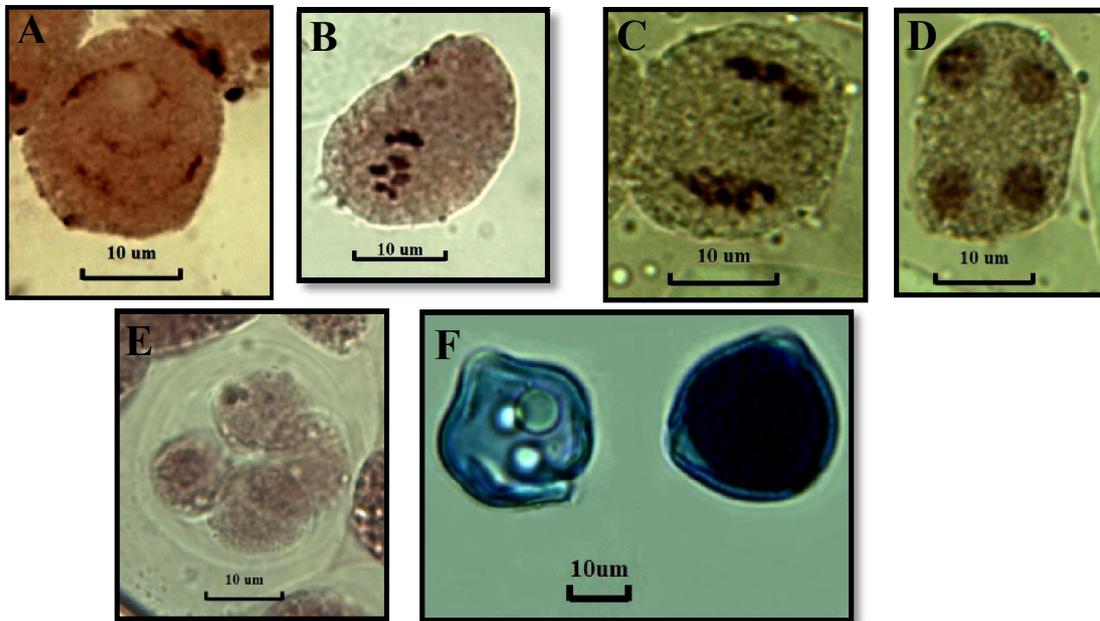


Fig. 14 : Les principales phases de la méiose des espèces étudiées.

A : Prophase ; B : Metaphase I ; C : Metaphase II ; D : Télaphase II ;

E : Tétrades ; F : Grains de pollen

Chapitre III : Résultats et discussions

III.6.3/ Quelques anomalies de la méiose :

Nous avons remarqué que certaines cellules présentent des tétrades anormales (Pentades et Triades) et d'autres présentent des cytomixies (Fig. 15).

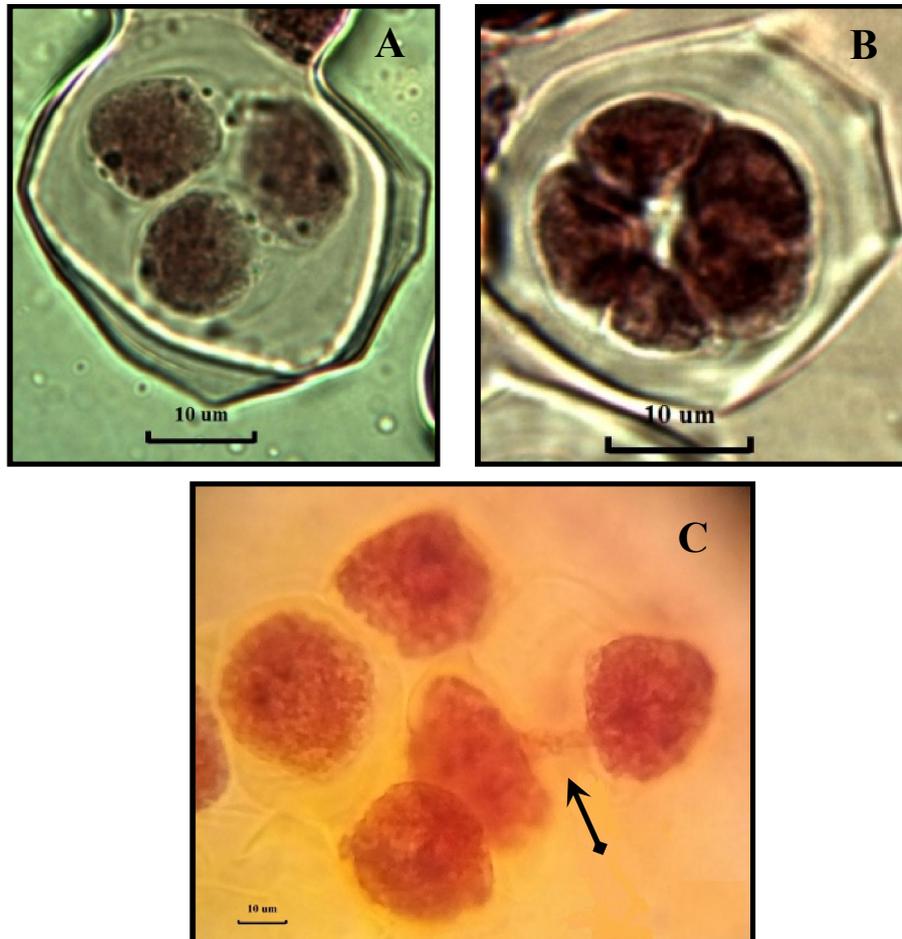


Fig. 15: Anomalies associées à la méiose observées chez *M. murex*.

A: Triade, B: Pentade, C : Cytomixie (la flèche indique une connexion cytoplasmique).

Ces anomalies (Pentades et Triades) sont liées à la formation de chromosomes retardataires et de micronoyaux (Pupilli *et al.*, 1995 ; Mendes- Bonato *et al.* , 2001).

La cytomixie est un transfert de chromosomes d'une cellule à une autre, à travers des connexions cytoplasmiques. Des conditions environnementales et des facteurs génétiques, non élucidés, peuvent induire cette anomalie (Love, 1938 et Bass *et al.*, 2003). Certains auteurs pensent que certains facteurs peuvent être responsables de son

Chapitre III : Résultats et discussions

apparition comme les agents chimiques tels que la colchicine et les herbicides, le changement des processus biochimiques entraînant la modification du microenvironnement des anthères lors de la microsporogénèse et enfin l'influence des gènes (Bellucci *et al.*, 2003). Cette anomalie a été observée chez *M. murex* Willd.

La technique utilisée pour étudier la fertilité pollinique en nous inspirant du protocole de Mertens et Hamnersmith (1998) a donné des résultats satisfaisants dans la mesure où on a pu distinguer facilement les grains de pollen normaux (fertiles) et les grains de pollen anormaux (stériles), ce qui nous a permis de calculer aisément le taux de fertilité pollinique pour chaque espèce.

La figure 16 est une photographie qui montre les grains de pollen normaux (fertiles) et les grains de pollen anormaux (stériles) de certaines espèces étudiées.

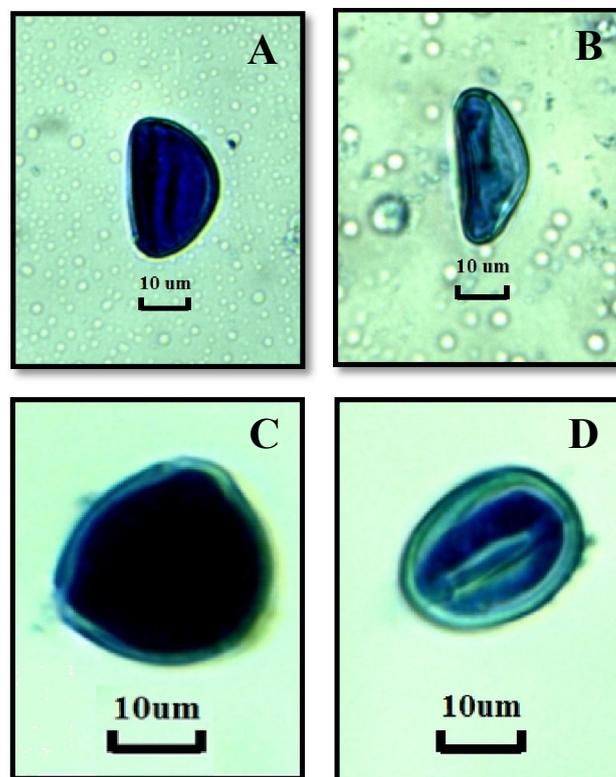


Fig. 16 : Photographie de grains de pollen normaux (fertiles) et anormaux (stériles) d'*Allium triquetrum* et *M. arabica* L.

A : Grain de pollen fertile d'*Allium triquetrum* ; B : Grain de pollen sterile d'*Allium triquetrum* ; C : Grain de pollen fertile de *M. arabica* ; D : Grain de pollen sterile de *M. arabica*

Chapitre III : Résultats et discussions

III.6.4/ Cellules du tapétum chez l'espèce *I. unguicularis*

Durant les manipulations des méioses poliniques chez *I. unguicularis* Poir. on a remarqué la présence de cellules un peu blizzarôides à cause de leurs natures polynucléées. Après une recherche bibliographique, il s'est avéré que se sont les cellules du tapetum. En effet ; la paroi d'une anthère est réellement constituée de cinq couches. C'est au début de la méiose, que les cinq couches de tissu sont différenciées et reconnues. En comptant de l'extérieur vers l'intérieur : la couche de tissu tapetum est classée quatrième juste au dessus de la couche des cellules mères (Pacini et Keijzer, 1989).

La plupart des cellules du tapetum ; au lieu de se diviser via une mitose normale, elles se divisent par endo-mitose ce qui est appelé aussi une mitose inhibée (Sharma et al., 2012).

Cette division (endo-mitose) est un type de division nouveau pour la cytologie des cellules du tapetum. Le cycle endo-mitotique consiste en endo-prophase, endo-metaphase, endo-anaphase et endo-telophase. Tout au long du processus, la membrane nucléaire reste intacte, il n'y a pas de formation de centrioles et par conséquent il n'existe aucun mouvement anaphasique des chromosomes. Ainsi, tous les chromosomes restent dans le même noyau, ce qui augmente le degré de polyploïdie (Witkus, 1945).

Selon Schrauwen et al., (1996) ; la couche de cellules tapetum a comme rôle :

- Alimentation des gamétophytes mâles en développement.
- Sécrétion des enzymes telles que β -1, 3-glucanases pour décomposer la paroi callosique qui entoure les tétrades polliniques.
- Participation dans la formation de l'exine du pollen.
- La synthèse et la sécrétion des substances lipoïdiques qui seront déposées sur la surface des grains de pollen matures pour les protéger de la déshydratation.
- Production et sécrétion de composés protéiques impliqués dans la réhydratation pendant la germination et la croissance du tube pollinique après le transfert du grain de pollen sur le stigmate.

La figure 17 ci-dessous montre les différentes cellules du tapetum qu'on a pu observer durant l'analyse des méioses chez l'espèce *I. unguicularis* Poir.

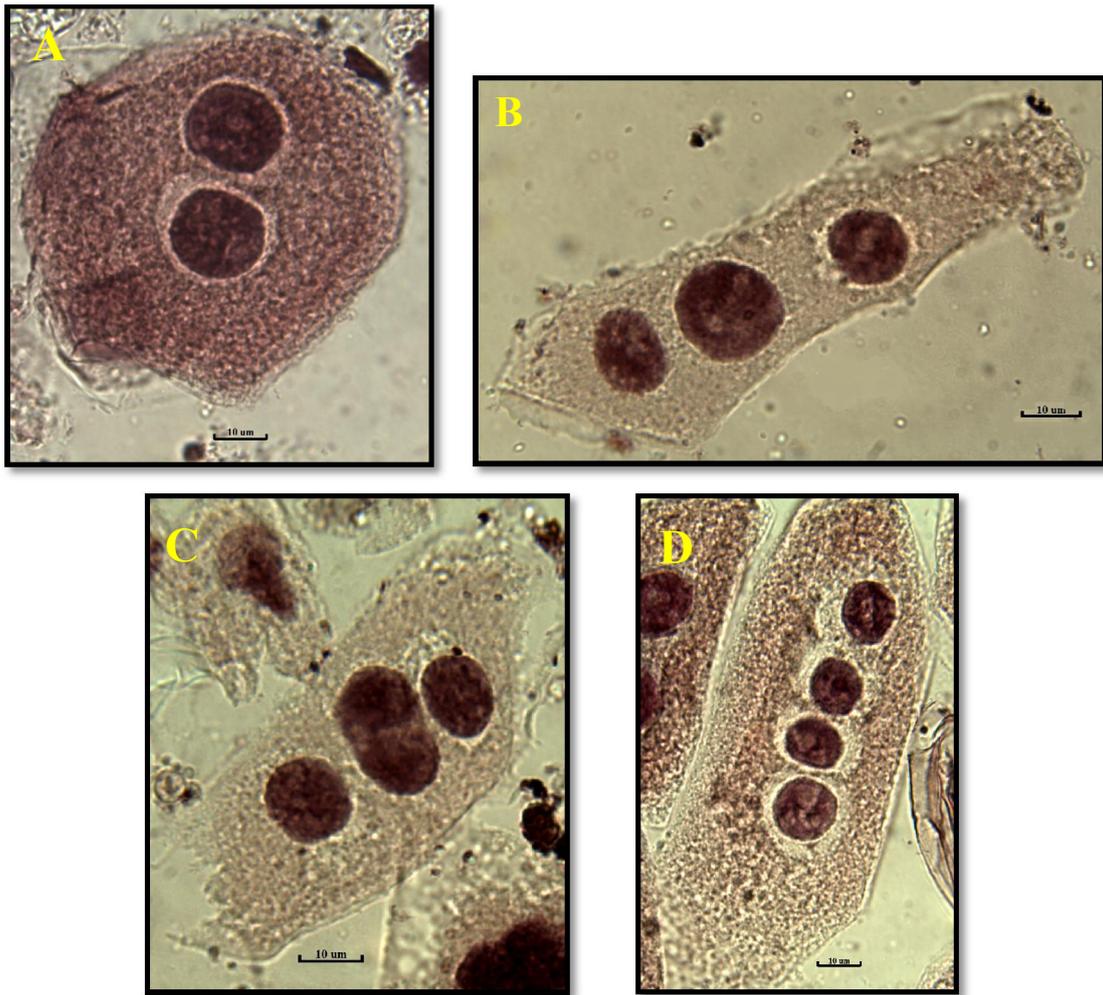


Fig. 17 : Les différentes cellules du tapetum observées chez *I. unguicularis* Poir.

A : Cellule binucléée ; **B** : Cellule trinucléée ; **C** : Cellule trinucléée dont un noyau est en division ; **D** : Cellule tétranucléée.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspective

Cinq espèces végétales, ont fait l'objet d'une analyse cytogénétique : Trois espèces ont été analysées pour leurs méioses (*Medicago murex* Willd, *Allium triquetrum* L. et *Iris unguicularis* Poir.) et deux espèces ont été analysées pour leur mitoses à savoir *M. arabica* L. et *Phlomis bovei* De Noé.

L'analyse de la mitose portée sur les méristèmes racinaires appartenant aux graines germées de *Medicago arabica* L. et de *Phlomis bovei* De Noé, a montré dans la plupart des cas une séparation insuffisante des chromosomes à la métaphase, mais sur une plaque métaphasique, on a pu dénombrer 16 chromosomes ($2n = 16$) chez *Medicago arabica* L. Par contre, chez *Phlomis bovei* De Noé, les chromosomes, n'ont pas pu être comptés de façon sûre. Toutes les phases de la mitoses ont été observées chez *Phlomis bovei* De Noé.

L'analyse de la fertilité pollinique effectuée sur les boutons floraux de quatre espèces (*M. murex* Willd, *M. arabica* L. ; *Allium triquetrum* L. et *Iris unguicularis* Poir.) a donné un taux de fertilité pollinique élevé pour toutes les espèces : 89 – 94% (*M. arabica* L.), 95 – 97% (*M. murex* Willd.), 97 – 99% (*Allium triquetrum* L.), 89 – 92% (*Iris unguicularis* Poir.).

L'analyse de la méiose faite sur les boutons floraux avant anthèse a indiqué une ségrégation normale à 8 bivalents ($2n=16$) pour *Allium triquetrum* L. et 7 bivalents ($2n=14$) pour *M. murex* Willd. Les principaux stades de la méiose ont pu être observés pour les espèces étudiées. Quelques anomalies de la méiose ont été relevées (Cytomixie, Pentades et triades), mais à une fréquence très faible.

Perspectives

Améliorer les techniques utilisées pour analyser les méioses et les mitoses, et élargir l'étude à d'autres espèces rares et endémiques de la région,

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abdelguerfi A., Chapet J.Y. & Conesa A.P. (1988)** - Contribution à l'étude de la répartition des luzernes annuelles spontanées en Algérie selon certains facteurs du milieu. *Fourrages* 113, 89-106.
- Abdelkefi A. & Marrakchi M. (2000)** – Les ressources phylogénétiques fourragères et pastorales : de l'érosion à la conservation. *Options Méditerranéennes* 45: 15-27.
- Adouane B. (2009)** - Reconstruction des phylogénies de 27 espèces du genre *Trifolium* L. en se basant sur les séquences d'ADN ribosomique ITS1, ITS2 et 5,8 S. DES, BPV, UNIV. A/MIRA de Bejaia, 43p.
- Agarwall K. & Gupta P. K. (1983)** - Cytological Studies in the Genus *Medicago* Linn. *Cytologia* 48: 781-793.
- Aït Ouaret N. & Sahnoune H. (1998)** – Analyse phénétique de la section des *Leptospirae* du genre *Medicago* L. (Fabaceae) de la région de Béjaïa. DES BPV, ISN, Uni. A. Mira, Béjaïa, 62p.
- Akroum S. (2012)** - Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse Doctorat en Science. BA, UNIV. MENTOURI de Constantine. 112p.
- Albaladejo R. G., Aguilar J. F., Aparicio A. & Gonzalo N. (2005)** - Contrasting nuclear-plastidial phylogenetic patterns in the recently diverged Iberian *Phlomis crinita* and *P. lychnitis* lineages (Lamiaceae). *TAXON* 54(4) , 987-998.
- Allaby M. (1992)** – The concise oxford dictionary of botany, oxford univ. Press, oxford, new york, 442p.
- APG II., 2003** - The Angiosperm Phylogeny Group: An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399–436.
- APG III., 2009** - The Angiosperm Phylogeny Group: An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399–436.
- Azizian D. & Cutler D. F. (1982)** - Anatomical, cytological and phytochemical studies on *Phlomis* L. and *Erernostachys* Bunge (Labiatae). *Botanical journal of the Linnean Society* 85: 249-281. With 46 figures

Références Bibliographiques

- Baba-Aïssa F. (1999)** - Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Plus de 800 plantes de la flore d'Algérie et du Maghreb, ainsi que des substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition. Librairie Moderne Rouïba. p101.
- Bass H. W., Bordoli S. J. & Foss E. M. (2003)** – The desynaptic (dy) and desynaptic1(dsy1) mutations in maize (*zea mays* L.) cause distinct telomere-misplacement phenotypes during meiotic prophase. *Journal of experimental Botany*. 54 (380): 39 – 46.
- Bastida J., Lavilla R. & Viladomat F. (2006)** - Chemical and biological aspects of Narcissus alkaloids. *Alkaloids Chem Biol* 63: 87-179.
- Bellucci M., Roscini C. & Mariani A. (2003)** – Cytomixis in pollen mother cells of *Medicago sativa* L. *Journal of heredity* 94 (6): 512 - 516.
- Bena G., Lejeune B., Prosperi J. M. & Olivieri I. (1998a)** – Evolution of annual species of the genus *Medicago*: A molecular phylogenetic approach. *J. Mol. Phylog. and Evol.* 9(3): 552 – 559.
- Beniston N.T. & Beniston W.S. (1984)** - Fleurs d'Algérie. Entreprise Nationale du Livre, cop. p 359.
- Benmeddour T., Laouer H., Benabdi A.A. & Brahimi S. (2015)** - évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de trois espèces du genre allium (famille des amarallydacées) : *A. cepa*, *fistulosum* et *sativum* cultivées dans le périmètre agricole de doussen (wilaya de biskra). *Courrier du Savoir* N°19, Mars 2015, p.09-14.
- Benmouhoub H. (2007)** – Analyse d'hybrides F1 et F2 intra- et / ou interspécifiques chez *Medicago polymorpha* L. *M. intertextae* (L.) Miller, *M. ciliaris*(L.) Krocher, *M. arabica* (L.) Hudson, *M. orbicularis* (L.) Bartal, et *M. minima* (L.) Bartal : interprétation taxonomique. Magister, ISN, Univ. A. Mira de Béjaïa, 105p.
- Bemard M. & Bemard S. (1992)** - Développement et applications des techniques de coloration différentielle des chromosomes chez les végétaux : caryotypes et structures chromosomiques, identification des espèces et relations phylétiques. *Société Française de Génétique* n ° 3, vol. 8.
- Bettache S. & Ounecer S. (2000)** – Ontogénie foliaire et taxonomie numérique d'un échantillon de la section des *Leptospirae* du genre *Medicago* L. (Fabaceae) récolté dans la région de Béjaïa.

Références Bibliographiques

- Bolton J.L. (1972)** – World distribution and historical development, Ch.1. IN Alfalfa science and Technology, *American Society of Agronomy*. Monographie n° 15. p1-34.
- Bouchibane M. (2009)** - Analyse des méioses et des mitoses de quelques morphotypes de *Medicago polymorpha* L. dans la région de la Soummam et Taskriout (Béjaïa). Mémoire Magister, ISN, Univ. A. Mira de Béjaïa, 105p.
- Bouchibane M., Vêla E., Bougaham A.F., Zemouri M., Mazouz A. & Sahnoune M. (2017)** - Étude phytogéographique des massifs forestiers de Kéfrida, un secteur méconnu de la zone importante pour les plantes des Babors (Nord-Est Algérien). *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)* Vol. 72 (4), p 13.
- Bounejmate M. (1996)** – Le point sur les travaux réalisés en amélioration des plantes sur les luzernes annuelles par le programme fourrages de l'institut national de la recherche agronomique du Maroc. *Options Méditerranéennes* 12: 53 – 64.
- Bouton J. H. (1996)** – New uses for alfalfa and other (Old) forage legumes. *J. Janick(ed), Progress in new crops. ASHS Press, Alexandria*. P. 251- 259
- Brummer E. C., Bouton J. H. & Kochert G. (1995)** – Analysis of annual *Medicago* species using RAPD markers. *Genome* 38: 362- 367.
- BSBI (Botanical Society of Britain & Ireland). (2011)** - *Allium triquetrum* [En ligne]. Non-native species secretariat: GB non-native organism risk assessment scheme. Disponible : <http://www.nonnativespecies.org/index.cfm?pageid=143> [consulté le 14/05/2017].
- Carović-Stanko K., Petek M., Grdiša M., Pintar J., Bedeković D., Herak Ćustić M. & Satović Z. (2016)** - Medicinal Plants of the Family Lamiaceae as Functional Foods – a Review. *Czech J. Food Sci* 34 : 377–390
- Chaksanova N. A. & Kaplanbekova SH. A. (1971)** - Chromosome numbers in certain species of Labiatae Juss. and Scrophulariaceae Lindl. *Botanic heskii Zhurnal SSSR* 56: 522-528.
- Cocks P.S., Mathison M.J. & Grawford E.J. (1980)** - From wild plants to pasture cultivars: annual medics and subterranean clovers in southern Australia. In "Advances in Legume Science". (Eds. R.J. Summerfield and A.H. Bunting) pp. 569-596.
- Coste H. (1937)** - Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Tome III. 728p.

Références Bibliographiques

- Darlington C.D. & Lacour L.F. (1940)** - Nucleic acid starvation of chromosomes in trillium. *Journ. Genet* 40 : 185 – 213.
- Davis A.P. & Jury S.L. (1990)** - A taxonomic review of *Iris* L. series *Unguiculares* (Diels) Lawrence. *Botanical Journal of the Linnean Soczeb* 103: 281-300.
- Delpozo A., Ovalle C., Aronson J. & Avendano J. (2000)** – Developmental responses to temperature and photoperiod in ecotypes of *Medicago polymorpha* L. Collected along an environmental gradient in central Chile. *Annals of botany* 85: 809 – 814.
- Derek B. & Ernest S. (1997)** - Les légumes du Canada. NRC *Research Press*. p. 279-290.
- Dobignard A. & Chatelain C. (2010 – 2013)** - Index synonymique de la flore d’Afrique du Nord. Ed. Conservatoire et Jardin botanique, Genève. <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/>
- Dyer A. F. (1963)** – The use of lacto-Propionic Orcein in Rapid Squash. Methods for chromosomes preparations. *Stain technology* 38: 85 – 90.
- Dupont G. (2007)** - Abrégé de botanique systématique moléculaire. 14e édition. Elsevier Masson Ed. 108p.
- Dupont F. & Guignard J.L. (2012)** – Botanique : Les familles de plantes. 15^e édition. Elsevier Masson Ed. 300p
- FAO. (1993)** – Etude de FAO/production végétale et production des plantes. 237p.
- Foury A. (1954)** - Les légumineuses fourragères au Maroc. Les cahiers de la recherche agronomique 3 : 629p.
- Friesen N., Fritsch R.M. & Blattner F.R. (2006)** - Phylogeny and new intrageneric classification of *Allium* L. (Alliaceae) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Aliso* 22: 372–395.
- Fritsch R.M. & Astanova S.B. (1998)** – Uniform karyotypes in different sections of *Allium* L. subgen. *Melanocrommyum* (Webb et Berth.) Rouy from Central Asia. *Feddes Repert* 109: 539–549.
- Genier G., Guy P. & Prospero J. M. (1992)** - Les légumineuses, Ed. INRA, Paris, 778p.
- Gillespie D. J. & Mc Comb J. A. (1991)** – Morphology and distribution of species in the *Medicago murex* complex. *Canadian journal of Botany*, 69: 2655 – 2662.

Références Bibliographiques

- Goudjil-Benhizia H. (2014)** - Caractérisation cytogénétique classique et moléculaire de trois espèces endémiques du genre *Hedysarum L.* Thèse de doctorat. DBEV. FSNV. Université Constantine 1. 73p.
- Gorenflot R. & Raicu P. (1980)** – Cytogénétique et évolution. Collection de biologie évolutive 6^e Edition. Masson Ed. 181 p.
- Grant V. (1986)** - Differentiation patterns in higher Plants. In *Plants biosystematics*. Academic Press, London
- Griffith A., Miller J.F., Suzuki D.T., Lewontin R.C. & Gelbart W.M. (2002)** - Introduction à l'analyse génétique. 3^e édition. de boek université. Paris. 860p.
- Guern M., Lecorff J. & Boscher J. (1991)** - Caryologie comparée des *Allium* du groupe *ampeloprasum* en France. *Bull. Soc. Bot. Fr* 303 – 313.
- Heyn C. (1956)** - Some Chromosome Counts in the Genus *Medicago*. *Caryologia* Vol. IX, n. I.
- Howes MJR. & Perry E. (2011)** - The Role of Phytochemicals in the Treatment and Prevention of Dementia. *Drug & Aging* 28: 439-68.
- Jahier J., Chever A.M., Eber F., Delourne R. & Tanguy A.M. (1992)** - Techniques de la cytogénétique végétale. Ed. INRA, Paris. 183.
- Jauzein P., Tison J. M., Deschatres R. & Couderc H. (2002)** - *Allium corsicum*, espèce méconnue de la flore Corse. *Candollea* 56 : 301 – 314.
- J.O.R.A. 2012** - Décret exécutif du 18 janvier 2012, complétant la liste des espèces végétales non cultivées et protégées. Journal officiel de la république algérienne, n° 3-12/12 du 18-01-2012.
- Kaufmann M. & Wink M. (1994)** – Molecular systematics of the Nepetoideae (Family Labiatae) : Phylogenetic Implication from *rbcl* Gene Sequences. *Z. Naturforsch* 49c, 635-645.
- Lawrence B.M. (1992)** - Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. In: Harley R.M., Reynolds T. (eds): *Advances in Labiate Science*. Richmond, Royal Botanic Gardens Kew: 399–436.
- Lawrence G. H. M. (1953)** - A reclassification of the genus *Iris*. *Gentes Herbarum* 8: 346-371.

Références Bibliographiques

- Lesins K.A.D & Lesins I. (1963)** - Some little-known medicagos and their chromosome complements II. species from turkey. *Can. J. Genet. Cytol* 5: 133-137.
- Lesins K.A.D & Lesins I. (1965)** - Little-known medicagos and their chromosome complements III. Some mediterranean species. *Can. J. Genet. Cytol* 7 : 97-102.
- Lesins K.A. D. & Lesins I. (1979)** – Genus *Medicago* (leguminosae), a taxogenetic study. W. Junk publishers, The Hague, Boston – London, 228p.
- Licina B.Z., Stefanovic O.D., Vasic S.M., Radojevic I.D., Dekic M.S. & Comic L.R. (2013)** - Biological activities of the extracts from wild growing *origanum vulgare* L. *Food Control* 33: 498–504.
- Love R. M. (1938)** – Somatic variation of chromosome numbers in hybrid wheats. *Genetics* 23: 517 – 522.
- Love A. & Love D. (1975)** – Plant chromosomes. T1. Ed. Cramer.184p
- Lwashina T. (2000)** - The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. *J. Plant Res* 113: 287-299
- Maire R. (1926)** - Carte phytogéographique de l'Algérie et de la Tunisie – 1/1 500 000, Gouvernement général d'Alger, Service cartographie, Alger.
- Martinez A. & Perkers J.S. (1995)** - Biodiversity and conservation: rote for the chromosomes. In Brandham P. E., Bennet M. D. (eds), Kew chromosome conference IV. *Royal Botanic Gardens Kew*, pp. 1-7.
- Mathiesen C. (2006)** - Phylogeny and biogeography of the lamioid mint genus *Phlomis* L. Candidata scientiarum thesis. Natural History Museum. University of Oslo. P 41.
- Mauries M. (1994)** – La luzerne aujourd'hui. Ed. France agricole n°1, pp12- 119
- Meddour R., Mellal H., Meddour-Sahar O. & Derridj A. (2009)** - La Flore Médicinale et ses Usages Actuels en Kabylie (wilaya de Tizi Ouzou, Algérie) : Quelques Résultats d'une Etude Ethnobotanique. *Revue des Régions Arides* N° Spécial, pp :181-201
- Mendes-Bonato A. B., Pagliarini M. S., da Silva N. & Borges do Valle C. (2001)** – Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae). *Acta Scientiarum Maringa* 23(2): 619 – 625.
- Mertens T. R. & Hamnersmith R. L. (1998)** – Genetic laboratory investigations. Eleventh edition. Prentice hall inc; Upper Saddle River, New Jersey, 275p.

Références Bibliographiques

- Moutiq R., Abderabihi M., El Maadoudi E. H., Al Faiz C., El Housni, A., Iraqi D., et al. (2011).** *Rapport d'activité*. Maroc: Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat. 92p.
- Naraoui N. & Sahnoune L. (1997)** - Le genre *Medicago* L. (Fabaceae). Dans la région de Béjaïa : Analyse phénétique et biodiversité. DES, BPV, ISN. UNIV. A. MIRA de Bejaïa, 96p.
- Negre R. (1959)** - Revision des *Medicago* d'Afrique du Nord. *Bull. Soc. Hist. Nat. l'Afrique Nord* 50:267-314.
- Nouioua W. (2012)** - Biodiversité et Ressources Phytogénétiques d'un Ecosystème forestier « *Paeonia mascula* (L.) Mill. ». MAGISTER, BVE. UNIV. F. ABBES de Sétif. 65p.
- Ohri D., Fritsch R. M. & Hanelt P. (1998)** - Evolution of genome size in *Allium* (Alliaceae). *Pl. Syst. Evol* 210 : 57- 86
- Olivieri I., Gouyon P.H. & Prospero .M. (1991)** - Life-cycles of saps mediterranean invaders. In R.H. Groves AND F. di Castri : Biogeography Of Mediterranean invasions. Cambridge University Press, 145-157.
- Orch H., Zidane L. & Douira A. (2013)** - Contribution à la connaissance de la Flore vasculaire du massif d'Izarène (Nord Ouest Maroc). *Journal of Animal & Plant Sciences* vol.20, Issue 2 : 3093-3112.
- Ozkan M. (2008)** - Glandular and eglandular hairs of *Salvia recognita* Fisch. & Mey. (Lamiaceae) in Turkey. *Bangla-desh Journal of Botany* 37: 93–95.
- Pacini E. & Keijzer C.J. (1989)** – Ontogeny of intruding non-periplasmodial tapetum in the wild chicory, *Cichorium intybus* (compositae). *Pl. Syst. Evol* 167: 149-164.
- Parson W.T. & Cuthbertson E.G. (2001)** - [En ligne]. Noxious weeds of Australia. CSIRO Publishing. 2nd Ed. P. 705. Disponible sur : https://books.google.dz/books?id=sRCrNAQQrpwC&printsec=frontcover&hl=fr&source=gbv_ViewAPI&redir_esc=y#v=onepage&q&f=true [Consulté le 14/05/2017]
- Prospero J.M., Olivieri I., Angevain M., Génier G. & Nansat P. (1993)** - diversité génétique, conservation et utilisation des ressources génétiques des luzernes méditerranéennes. Laboratoire de Ressources génétiques et d'Amélioration des luzernes méditerranéennes. INRA, station de Génétique et d'Amélioration des plantes.

Références Bibliographiques

- Pupilli F., Businelli S., Caceres M. E., Damiani F. & Arcioni S. (1995)** – Molecular, cytological and morpho-agronomical characterization of hexaploid somatic hybrids in *Medicago*. *Theoretical and applied genetics* 90 (3-4): 347 – 355.
- Quézel, P. (1956)** - Contribution à l'étude des forêts de chênes à feuilles caduques d'Algérie. *Mém. Soci. Hist. Nat. Afr. du Nord. Nouv. série.* 1: 1-57.
- Quézel P. & Santa S. (1962-1963)** - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 2 volumes, CNRS, Paris.
- Ramade F. (2008)** - Dictionnaire encyclopédique des sciences de la nature et de la biodiversité. 1152p.
- Ricroch A., Yockteng R., Brown S.C. & Nadot S. (2005)** - Evolution of genome size across some cultivated *Allium* species. *Genome* 48: 511–520.
- Rochette J. (2013)** - Diagnostic cytogénétique du caryotype classique à la CGH Array. UE1 – Cours n°16. 4p.
- Sharma S. K., Kumaria S., Tandon P. & Rao S. R. R. (2012)** - Endomitosis in tapetal cells of some *Cymbidiums* (Orchidaceae). *Nucleus* 1-5.
- Shrestha A., Hesterman O. B., Squire J. M., Fisk J. M. & Sheaffer C. C. (1998)** - Annual medics and be seem clover as emergency forage. *Agron. J* 30: 197 – 201.
- Simonet M. (1928a)** - Le nombre des chromosomes dans le genre des Iris. *Comptes Rendus de la Société Biologique de Paris*, 99 : 1314-1316.
- Small E. & Jomphe M. (1989)** – A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae). *Can. J. Bot.* 67: 3260 – 3294.
- Stebbins G. L. (1971)** - Chromosomal evolution in higher plants. Edwads, Arnold ilt, London, 216 p.
- Tootill E. (1984)** – The penguin dictionary of botany, Penguin Boods, London, 391p.
- Walter K.S. & Gillett H.J. (1998)** - 1997 IUCN red list of threatened plants. Compiled by the World Conservation Monitoring Centre. IUCN – the World Conservation Union. Gland, Switzerland & Cambridge, UK.
- Witkus E.R. (1945)** – Endomitotic tapetal cell divisions in *Spinacia*. *American Journal of Botany*.32:326–30.

Références Bibliographiques

Zakhia F., Jeber H., Gilles M., Dreyfus B. & De Lajudie P. (2001) – Diversité des rhizobiums symbiotes de 22 légumineuses spontanées de la zone aride de Tunisie. Colloque n°3 sur la Rhizosphère. Palais du congrès, Dijon, 26, 27 et 28 novembre 2001.

Résumé

Etude cytogénétique de quelques espèces végétales de la flore de kéfrida (Wilaya de Bejaia) avec un accent sur les endémiques.

Résumé : En vue d'étudier la variabilité génétique de cinq espèces végétales de la région de Kéfrida (Kabylie des Babors), trois analyses méiotiques de trois espèces (*Medicago murex* Willd. ; *Allium triquetrum* L. et *Iris unguicularis* Poir.) et deux analyses mitotiques de deux espèces (*Medicago arabica* L. et *Phlomis bovei* de Noé) ont été faites.

L'analyse de la méiose portée sur des boutons floraux a donné une ségrégation normale à 7 bivalents ($2n=14$) pour *M. murex* Willd. et 8 bivalents ($2n=16$) pour *Allium triquetrum* L. Par contre, chez *Iris unguicularis* Poir. les chromosomes n'ont pas pu être comptés de façon sûre.

Certaines anomalies liées à la méiose ont été observées, mais à des fréquences très faibles. Des cellules de tapetum ont été observées et identifiées grâce à leurs natures polynucléées chez *Iris unguicularis* Poir.

L'analyse de la fertilité pollinique réalisée sur des fleurs mûres de quatre espèces (*M. murex* Willd. ; *M. arabica* L. ; *Iris unguicularis* Poir et *Allium triquetrum* L.) a indiqué un fort taux de fertilité pollinique (88 - 97%) pour toutes les espèces.

L'analyse de la mitose effectuée sur des méristèmes racinaires a montré une bonne séparation des chromosomes à la métaphase pour *M. arabica* L. avec $2n=16$. Mais pour *Phlomis bovei* De Noé. la séparation des chromosomes à la métaphase est insuffisante, de ce fait, les chromosomes n'ont pas pu être comptés d'une façon correcte.

Mots clés : Cytogénétique, Méiose, Mitose, espèces endémiques, Kéfrida.

Cytogenetic study of some plant species of kéfrida flora (Wilaya of Bejaia) with an emphasis on the endemics.

Abstract : In order to study the genetic variability of five plant species in the Kefrida region (Kabylie des Babors), three meiotic analyzes of three species (*Medicago murex* Willd., *Allium triquetrum* L. and *Iris unguicularis* Poir.) And two mitotic analyzes of Two species (*Medicago arabica* L. and *Phlomis bovei* de Noé) were made.

Meiosis Analysis of the flower buds gave a normal segregation to 7 bivalents ($2n = 14$) for *M. murex* Willd. And 8 bivalents ($2n = 16$) for *Allium triquetrum* L. However, in *Iris unguicularis* Poir. the chromosomes could not be precisely counted. Some abnormalities related to meiosis have been observed, but at very low frequencies. Tapetum cells were observed and identified by their polynucleated natures in *Iris unguicularis* Poir.

The pollen fertility Analysis on mature flowers of four species (*M. murex* Willd., *M. arabica* L., *Iris unguicularis* Poir and *Allium triquetrum* L.) indicated a high pollen fertility rate (88-97%) for all species.

The mitosis analysis performed on root meristems showed good chromosomal separation at the metaphase for *M. arabica* L. with $2n = 16$. But for *Phlomis bovei* De Noé. The chromosomal separation at the metaphase is insufficient ; hence the chromosomes could not be counted reliably.

Key words: Cytogenetic, Meiosis, Mitosis, endemic species, Kéfrida