

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SIENTIFIQUE



Université Saad Dahlab Blida
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et des Organismes



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en
génomique et biotechnologie végétale

Thème

Etude cytogénétique de quelques populations du genre
Oxalis L. (Oxalidacées) de la région centre d'Algérie

Dirigé par :

Mme OURARI Malika

Réalisé par :

M^{elle} ARIB Djedjiga

Jury:

Mme BRADEA M. S. MCA/BPO UDB1

Présidente

Mme BENNASSEL N. MAA/BPO UDB1

Examinatrice

Mme OURARI M. MCB Univ. Béjaia

Promotrice

Mme CHERIF S. MCB/BPO UDB1

Co-Promotrice

Promotion 2016

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde gratitude au bon Dieu de m'avoir donné la force pour réaliser ce modeste travail.

Je tiens à remercier ma très chère « mère » qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir.

Je présente également mes vifs remerciements à Mme BRADEA M. S. Maître de Conférences (UDB1) et à Mme BENNASSEL N. Maître Assistante (UDB1) de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail.

Je remercie infiniment ma promotrice Mme OURARI MALIKA Maître de Conférences à l'Université A. Mira (Béjaïa) qui a encadré ce mémoire, pour toutes ses orientations et conseils qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier ma co-promotrice Mme CHERIF HAMIDA SAIDA maître Assistante à l'Université Saad Dahleb Blida.

Un grand merci également à Mme DJAFRI-BOUALAG LINDA Maître Assistante à l'université A. Mira (Béjaïa) pour son aide dans le traitement des données et des photographies et sa disponibilité durant le travail pratique.

Je remercie également Mme BENMOUHOUH HASSINA Maître Assistante à l'université A. Mira (Béjaïa).

Je remercie également toutes les personnes du laboratoire de biologie et physiologie végétale pour leur disponibilité et leur aide multiforme, Mme BENHAMICHE, M. HAMLAT, M. BAKOURI Y. et M. ABBACI.

Dédicaces

Je tiens à dédier ce travail tout particulièrement :

A ma très chère maman.

A mes très chers (es) frères et sœurs.

A mes adorables neveux et nièces.

A toutes et à tous mes amis (es) particulièrement à Sofiane.

A toutes les personnes qui m'ont aidée pour réaliser ce travail.

Liste des figures

Fig. 1: <i>Oxalis pes-caprae</i> L.	05
Fig. 2 : <i>Oxalis corticulata</i> L. a : plante d' <i>Oxalis articulata</i> , b : fleur, c : réceptacle floral, d : étamine, e : pistil, f : fruit (capsule), g et h : bulbille.	06
Fig. 3 : <i>Oxalis articulata</i> Savigny.	07
Fig. 4 : Aspects des différents stades de la méiose.	09
Fig. 5 : Zone d'échantillonnage des trois espèces du genre <i>Oxalis</i> L.	15
Fig. 6 : Photographie d'un échantillon de <i>Oxalis cernua</i> L.	15
Fig. 7 : Photographie d'un échantillon de <i>Oxalis corniculata</i> L.	16
Fig. 8 : Photographie d'un échantillon de <i>Oxalis articulata</i> Savigny.	16
Fig. 9 : Différents stades de maturité des boutons floraux récoltés de <i>Oxalis</i> L.	17
Fig. 10 : Dénombrements chromosomiques chez <i>Oxalis cernua</i> L. montrant 9 bivalents et 2 univalents (flèches) en métaphase I. La barre d'échelle correspond à 10µm.	20
Fig. 11 : Dénombrement chromosomique chez <i>Oxalis articulata</i> Savigny montrant 14 chromosomes en métaphase II. La barre d'échelle correspond à 10µm	21
Fig. 12 : Observation chromosomique chez <i>Oxalis corniculata</i> L. montrant des chromosomes agglutinés en métaphase I. La barre d'échelle correspond à 10µm.	21
Fig. 13 : Aspects des différents stades de la division méiotique des cellules mères de pollen des populations de <i>Oxalis</i> L. analysées. a : Prophase I, b : métaphase I, c : télophase I, d : anaphase I, e : prophase II, f : anaphase II, g : métaphase II, h : télophase II, i : grains de pollen. La barre d'échelle correspond à 10µm.	22
Fig. 14 : Forme et taille des noyaux des cellules mères de pollen chez les trois espèces de <i>Oxalis</i> , a : <i>O. cernua</i> ; b : <i>O. corniculata</i> , c : <i>O. articulata</i> . La barre d'échelle correspond à 10µm.	23
Fig. 15 : Aspect des cellules mères de pollen des populations de <i>Oxalis</i> L. analysées montrant différentes irrégularités méiotiques. a et b : Cellules en métaphase I montrant des univalents, c : Cellule en anaphase I présentant des ponts chromatiques ; d : : Cellule en anaphase II avec des ponts chromatiques ; e : Cellule en fin anaphase I avec deux chromosomes retardataires, f : Cellule en début d'anaphase I montrant trois chromosomes retardataires ; La barre d'échelle correspond à 10µm.	24
Fig. 16. Aspects des différentes cellules multipolaires dans les populations analysées de <i>Oxalis</i> L. a : diade, b : triade, c : tétrade, d : pentade, e : hexade, f : heptade, g : octade, h : nanoade, i : décade. La barre d'échelle correspond à 10µm	25

Fig. 17. Aspects des cellules mères de pollen au stade tétrade vidées de leur matériel génétique (cytomixie) observées chez les populations de <i>Oxalis</i> L. La barre d'échelle correspond à 10µm	27
Fig. 18 : Aspects des cellules mères de pollen des populations analysées de <i>Oxalis</i> L. montrant des ponts cytotoxiciques. a : cytomixie entre un groupe de cellules mères de pollen, b : cinq ponts chromatique entre deux cellules mère de pollen, c et d : cytomixie entre les noyaux d'une tétrade, e : cytomixie entre deux tétrades, f : cytomixie entre deux cellules mère de pollen en stade métaphase I, g : trois ponts chromatique entre deux cellules mère de pollen en stade prophase I. h : cytomixie entre deux grains de pollen.	28
Fig. 19. : Fig. 19 : Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations de <i>Oxalis</i> L. analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (µN) au stade tétrade.	29
Fig. 20 : Fig. 20 : Aspects des grains de pollen non viables observés dans les populations de <i>Oxalis</i> L. analysées	30
Fig.21 : Aspects des grains de pollen viables observés dans les populations de <i>Oxalis</i> L. analysées	30

Liste des tableaux

Tab. I : Echantillons analysés et caractérisation des sites d'échantillonnage	14
Tab. II : Taux d'anomalies méiotiques calculés pour les différentes populations de <i>Oxalis</i> L. analysées	26
Tab. III : Taux total d'anomalies et taux de fertilité calculés chez les trois espèces de <i>Oxalis</i> L. analysées.	26

Glossaire

Glossaire

Anthèse : Stade phénologique où les fleurs sont ouvertes et épanouies.

Cyme : Inflorescence définie lorsque le bourgeon de l'axe principal devient florifère avant ceux des axes secondaires.

Cytomixie : Transfert de matériel génétique entre deux ou plusieurs cellules mères de pollen (CMP) adjacentes. Le passage d'une cellule à une autre cellule se fait par le biais de canaux intercellulaires ou contact direct (Heglund *et al.*, 2011).

Hétérostylie : Se dit des fleurs d'une même espèce ayant des styles, mais aussi des étamines, de longueurs très différentes d'une fleur à l'autre permettant une fécondation croisée.

Inflorescence : Groupe de fleurs. Voir cyme, ombelle, grappe, épi.

Ombelle : Inflorescence indéfinie ou grappe où les fleurs ont des pédoncules tous insérés au même point et de longueur égale.

Stolon : Tige aérienne, rampante, à entre-nœuds dont les nœuds s'enracinent par endroits et donnent naissance à un nouveau pied par multiplication végétative. Ex. : le stolon du fraisier.

Style : Partie intermédiaire du carpelle entre l'ovaire contenant l'ovule et le stigmate.

Triaperturé : Se dit d'un grain de pollen ayant trois ouvertures (Ouvertures dans l'enveloppe du grain de pollen). L'ouverture peut être un pore ou un sillon pour la sortie du tube pollinique.

Pubescent : Couvert de poils mous, faibles, courts, qui imitent un duvet.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	01
I. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	03
I.1. Genre <i>Oxalis</i> L.	03
I.1. 1. <i>Oxalis pes-caprae</i> L. (1753)	03
I.1.2. <i>Oxalis corniculata</i> L.	05
I.1.3. <i>Oxalis articulata</i> Savigny.	06
I.2. Cytogénétique	08
I.3. Méiose	08
I.3.1. Division réductionnelle	09
I.3.2. Division équationnelle	10
I.4. Cytomixie	12
II. MATERIEL ET METHODES D'ETUDE	14
II.1. Matériel	14
II.1.1. Lieux et la durée de stage pratique	14
II.1.2. Choix des sites et échantillonnage de population	14
II.1.3. Identification des espèces	15
II.1.4. choix de matériel végétal	16
II.2. Méthodes d'étude	16
II.2.1. Analyse caryologique	17
II.2.2. Analyse de la fertilité pollinique	19

III. RESULTATS	20
III.1. Dénombrement chromosomique	20
III.2. Analyse de la méiose	22
III.2.1. Différents stades de la division méiotique	22
III.2.2. Facteurs méiotiques irréguliers	23
III.3. Fertilité pollinique	31
IV. DISCUSSION	34
CONCLUSION	39
Références Bibliographies	40

Introduction

INTRODUCTION

Les plantes utilisent de nombreuses stratégies de reproduction, qu'il s'agisse de la reproduction sexuée ou asexuée. Elles sont devenues un sujet d'étude des cytogénéticiens en raison, notamment, de l'abondance et de l'accessibilité du matériel produit dans les organes reproducteurs mâles (anthères). C'est dans les jeunes boutons floraux que se déroule la méiose, étape essentielle de la reproduction sexuée des organismes eucaryotes. Au cours de cette division particulière, une cellule diploïde réduit son matériel chromosomique de moitié pour produire quatre cellules haploïdes porteuses des gamètes mâles.

Oxalis L. est un genre cosmopolite comprenant au moins 500 espèces dont la majorité est originaire d'Amérique du Sud et de l'Afrique australe. Les espèces de ce genre présentent une grande variation morphologique. Ainsi, elles se présentent sous forme d'herbes rampantes, de plantes grasses ou de petits arbustes. Les tiges sont soit des tubercules, des rhizomes ou de vrais bulbes. Son système de reproduction est caractérisé par une hétérostylie trimorphe qui a fait l'objet de nombreux travaux depuis Darwin (1877). Les études les plus importantes sur ce genre ont été entreprises par Knuth (1930), par Salter (1944) et par Lourteig (1994, 2000).

Oxalis pes-caprae L., anciennement nommée *Oxalis cernua* Thunb., est originaire d'Afrique du Sud. Son caractère invasif grâce à la multiplication végétative (rhizome et bulbe) lui permet de coloniser différentes régions du monde à climat méditerranéen. En Afrique du Nord, elle est citée dans différentes synthèses sur la flore adventice du Maroc occidental et central (Boulet et al., 1989 in Boussaha et al., 2014), dans les travaux de Chabrolin en Tunisie et dans la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales de Quezel et Santa (1963). Dans son aire d'origine, *O. pes-caprae* se présente sous forme diploïde ($2n=2x=14$) ou tétraploïde ($2n=4x=28$). Les espèces pentaploïdes ($2n=5x=35$) sont rares et stériles et leur reproduction est essentiellement asexuée (Boussaha et al., 2014).

Oxalis corniculata L. est une plante herbacée vivace, originaire d'Amérique centrale et d'Amérique du sud. Elle est introduit dans différents régions du monde, en Europe, en Asie, en Afrique, dans les îles du pacifique et en Australie. Elle pousse avec succès dans les pelouses, les terres arables, les lieux incultes et les jardins (Nesom, 2009). *Oxalis corniculata*

Introduction

se reproduit par voie sexuée. Elle est auto-compatible et fortement autogame. Elle fleurit tout au long de l'année dans les climats tempérés chauds ou tropicaux (Doust *et al.*, 1985). *Oxalis corniculata* L. présente une série de ploïdie variant de diploïdes ($2n=2x=12$) aux octaploïdes ($2n=8x=48$) (Vaio *et al.*, 2013).

Oxalis articulata Savigny est une plante vivace originaire d'Amérique de sud. Elle est cultivée dans les jardins comme plante décorative (ornementale). Cependant, avec sa multiplication rapide par bulbilles, elle est devenue envahissante dans différentes régions du monde. Le nombre chromosomique de *Oxalis articulata* Savigny selon Marks (1955) est de $2n=2x=14$ avec un nombre chromosomique de base $x=7$.

Dans le but d'étudier et de mieux connaître le comportement méiotique des espèces sauvages et afin d'exploiter ces espèces naturelles dans le domaine de l'amélioration des plantes, nous nous proposons dans le présent travail, d'analyser le comportement méiotique des cellules mères de pollen et la fertilité pollinique chez six (6) populations de trois espèces du genre *Oxalis* L.: *Oxalis pes-caprae* L., *Oxalis corniculata* L. et *Oxalis articulata* Savigny.

Le travail s'articule de la façon suivante :

- Synthèse bibliographique qui porte sur la description du genre *Oxalis* et des trois espèces étudiées. Des notions de base de la cytogénétique et de la méiose sont également présentées.
- Matériel et méthodes où nous présentons les caractéristiques des populations d'étude et les méthodes utilisées ;
- Enfin, nous exposons les résultats obtenus et une discussion générale.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Genre *Oxalis* L.

Le nom du genre «*Oxalis*» vient de mots grec «*oxus*» acide et «*al*» sel. Les plantes de ce genre contiennent un principe acide qui fournit le sel d'oseille appelé oxalate de potassium.

Dans le genre *Oxalis* L. (Famille des Oxalidaceae), les espèces sont étroitement liées et sont difficilement identifiables en raison de leur grand polymorphisme intraspécifique. Cette complexité a engendré des difficultés à classer et à nommer les espèces. On y trouve beaucoup plus de noms que d'espèces réelles.

Le genre a fait l'objet d'une monographie par Knuth en 1930. Il distingue 37 sections dont cinq contenant les espèces sud-africaines. Cependant, les subdivisions excessives, la séparation des taxons étroitement liés et l'inclusion de mêmes espèces sous plusieurs noms différents sont signalées par les auteurs. Ainsi, Salter (1939 *in* Young, 1958) a révisé la nomenclature des espèces sud-américaines et décrit 208 espèces dans 11 sections. Dans une autre étude, Wiegand (1925) a revu le groupe Corniculatae de l'est des États-Unis, et sa version est adoptée par Fernald (1950) dans la dernière édition du Manuel de Gray de botanique.

Le genre *Oxalis* contient plus de 450 espèces (Lourteig, 2000). Ces espèces sont originaires des côtes désertiques sud-américaines et sud-africaines mais ont fini par coloniser des milieux très divers depuis les forêts tempérées eurasiatiques jusqu'aux steppes de la Patagonie (vorgelegt von Christoph Heibl, 2005). Ces espèces se répartissent en deux groupes se reproduisant principalement par les graines et par bulbilles respectivement. Cependant, beaucoup d'entre elles ne se reproduisent que végétativement (Young, 1958).

1. 1. *Oxalis pes-caprae* L. (1753)

Oxalis pes-caprae L. nommée également *Oxalis cernua* Thunb. est une espèce originaire d'Afrique du Sud. Elle a colonisé différentes régions du monde à climat méditerranéen. En Méditerranée, la propagation de cette espèce a progressé d'est en ouest où elle n'est signalée qu'à la fin du siècle dernier (Rappa, 1911 *in* Ater, 2000). En Afrique du Nord, elle a été

Partie bibliographique

mentionnée par Duceillier en 1914 et elle est citée dans le Catalogue des plantes du Maroc (Jahandiez et Maire, 1932 *in* Ater, 2000).

Oxalis pes caprae L. est une plante herbacée de 5 à 15cm de hauteur qui pousse en colonies. Les feuilles basilaires présentent un limbe à 3 folioles cordiformes d'où le nom *Pes caprae* qui signifie littéralement «pied de chèvre». La tige transformée en bulbilles est profondément enfoncée dans le sol. La hampe florale velue porte à son extrémité 5 à 12 fleurs plus ou moins inclinées rassemblées en ombelles. Les fleurs, en forme d'entonnoir, sont de grande taille (jusqu'à 2.5cm) et de couleur jaune. Elles sont pentamères et à deux cycles d'étamines (5 grandes, 5 petites). L'ovaire sphérique se transforme en capsule courte rarement bien développée (Bayer *et al.*, 2005).

Sa biologie de la reproduction est relativement complexe. D'une part, elle se reproduit par multiplication végétative par bulbilles ; ce qui lui confère une grande capacité colonisatrice. D'autre part, c'est une espèce hétérostylée, qui, dans son aire d'origine, présente des populations trimorphiques avec des fleurs à styles courts, des fleurs à styles moyens et des fleurs à styles longs (Ornduff, 1974 *in* Ater, 2000).

Dans son habitat naturel (Afrique du Sud), *O. pes-caprae* présente trois niveaux de ploïdie : diploïde ($2n = 2x = 14$), tétraploïde ($2n = 4x = 28$) et pentaploïde ($2n = 5x = 35$) avec un nombre chromosomique de base $x=7$. Les formes pentaploïdes sont rares et stériles et leur reproduction est donc essentiellement asexuée (Boussaha *et al.*, 2014).

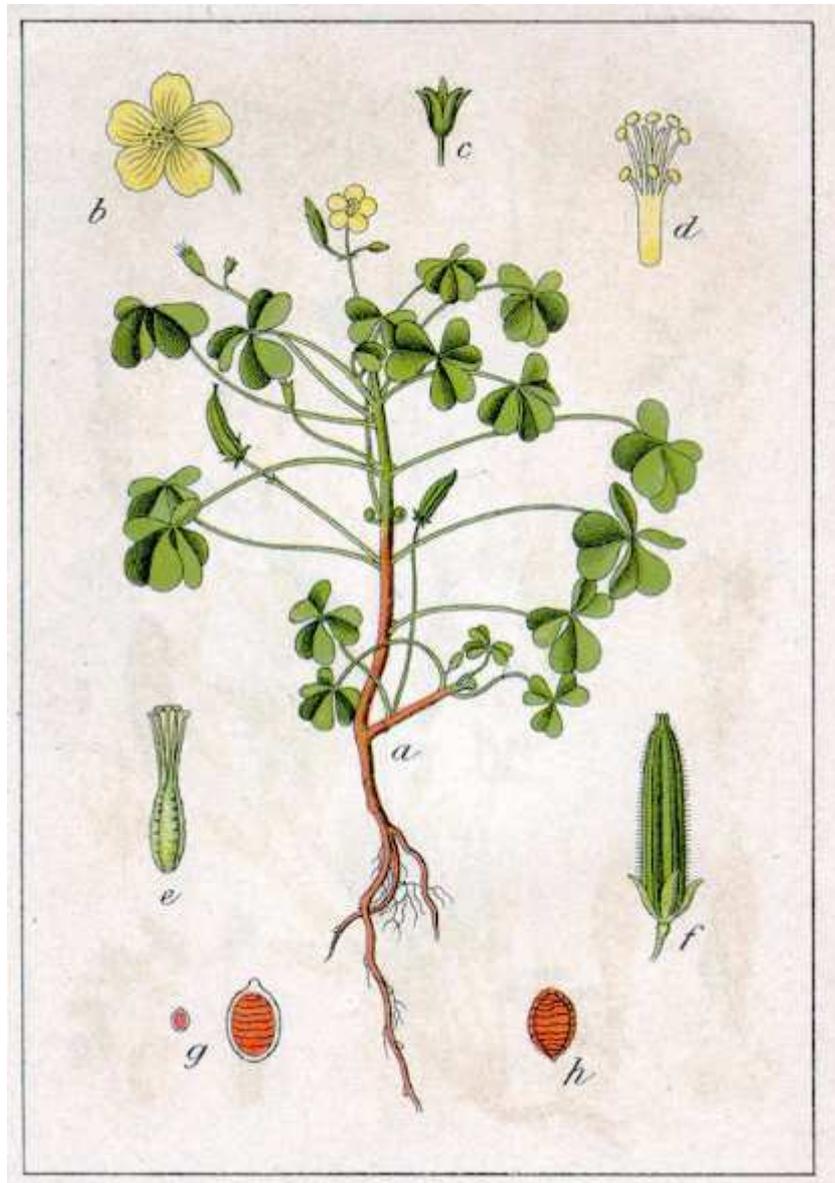


Fig. 2 : Morphologie de *Oxalis corticulata* L. **a :** plante de *Oxalis articulata*, **b :** fleur, **c :** réceptacle florale, **d :** étamine, **e :** pistil, **f :** fruit (capsule), **g** et **h :** bulbille.

1.3. *Oxalis articulata* Savigny. (oxalis articulée)

Oxalis articulata Savigny, appelée communément oxalis articulée, est originaire d'Amérique de sud (Brésil, Argentine, Paraguay...). Elle est naturalisée dans toutes les autres régions du monde. Elles poussent dans les friches ouvertes eutrophiles. Elle est cultivée comme plantes ornementales dans les régions tempérées.

Partie bibliographique

O. articulata est une plante vivace grâce à la présence d'un rhizome presque ligneux de 2 cm de diamètre environ. La racine basale; devient chez les plantes âgées très ramifiée, souvent avec des constrictions qui la subdivisent en segments sphériques. Les feuilles et les fleurs proviennent des extrémités des rhizomes de sorte que la plante forme des grappes compactes. Les pétioles de 10 à 25 cm de longueur, sont plus ou moins pubescents. Les feuilles sont dépliantes, obcordées, et également pubescentes. Elles sont larges de 1 à 4 cm de largeur, portant de rares cals orangés et allongés sur les deux côtés. Les pédoncules floraux sont légèrement plus longs que les pétioles. Trois à 12 fleurs hétérostylées sont groupées en une cyme ombelliforme. On peut compter jusqu'à 100 inflorescences par plante. Les sépales pubescents, au nombre de cinq, présentent des cals orangés. Les pétales de 10 à 15mm de longueur sont de couleur rose foncé, rarement blancs ou rose pâle. Les fruits en capsules sont cylindriques et courts (10mm) (Young, 1958).

Le nombre chromosomique de *Oxalis articulata* Savigny. selon Marks (1955) est de $2n = 2x = 14$ avec un nombre chromosomique de base $x = 7$.



Fig. 3 :Morphologie de *Oxalis articulata* Savigny.

2. Cytogénétique

La cytogénétique a pour objet l'étude de la structure et du fonctionnement normal et pathologique des chromosomes (condensation, recombinaison, réparation, ségrégation, transmission). Cette discipline fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux cytogénétiques sur les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19ème siècle. Elle est à l'origine de la compréhension de certains mécanismes héréditaires du monde végétal dans sa diversité (taxonomie, phylogénie). Actuellement, des techniques nouvelles exploitent l'aspect moléculaire des chromosomes tel que l'hybridation fluorescente *in situ* (FISH) et l'hybridation génomique *in situ* (GISH). C'est une discipline sur laquelle s'appuie notamment l'amélioration des plantes. Elle participe à :

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

- l'établissement des cartes génétiques (FISH)

- l'exploitation de la variabilité interspécifique et intraspécifique.

En outre la cytogénétique peut être impliquée au niveau de la création variétale en participant à l'explication et la résolution des problèmes ponctuels rencontrés (Jahier *et al.*, 1992).

3. Méiose

La méiose est une étape clé de la reproduction sexuée chez les organismes eucaryotes en permettant la stabilité du nombre chromosomique des espèces. Elle constitue un facteur important dans les populations naturelles car elle induit de la variabilité génétique.

Chez les végétaux, la méiose ne peut avoir lieu que dans des cellules diploïdes, ou polyploïdes. La préparation de la méiose nécessite une phase S durant laquelle les chromosomes sont dupliqués. Cependant, plutôt que de réaliser une division, la méiose implique deux divisions, identifiées par la numérotation romaine, méiose I et méiose II. Durant la **méiose I** (ou division réductionnelle), les chromosomes homologues se séparent. Durant la **méiose II** (ou division équationnelle), ce sont les chromatides sœurs qui se séparent.

Partie bibliographique

Les phases de chaque division nucléaire sont également identifiées par une numérotation romaine.

3.1. Division réductionnelle

Cette première division permet la réduction du nombre de chromosomes par cellule de moitié. Elle passe par plusieurs phases :

3.1.1. Prophase I (Fig. 1a, b, c)

La **prophase I** est le premier stade et le plus complexe de la méiose. Elle commence après l'interphase. Elle se caractérise par plusieurs stades :

- Stade **Leptotène** (*leptos* = tenu, allongé) : la chromatine devient visible sous forme de filaments longs et minces. Ces filaments commencent à subir une phase de spiralisation et de nucléination. On constate, au moyen du microscope optique, qu'ils sont constitués par un seul filament, ou chromonème, et non par deux comme à la prophase de mitose.

- Stade **Zygotène** (*zygos* = union): les deux filaments homologues qui constituent chacune des paires commencent à se rapprocher l'un de l'autre et ils s'associent intimement sur toutes leurs longueurs pour former des unités bivalentes. C'est ce qu'on appelle 'union de synapsis des chromosomes'.

- Stade **Pachytène** (*pachys* = épais): les filaments continuent à se spiraler et à se nucléiner et deviennent plus courts et plus épais.

- Stade **Diploène** (*Diploos* = double): les deux chromosomes homologues de chaque bivalent s'écartent l'un de l'autre. On constate alors que chacun des deux homologues est dédoublé sur toute sa longueur, excepté au centromère. Ce dédoublement s'effectue durant l'interphase préméiotique, mais ne devient visible qu'au stade diploène. Les deux homologues ne sont pas séparés entièrement, ils restent attachés en des endroits où on a une structure en forme de croix. Ces structures sont appelées *chiasmata*. Elles sont formées par les *crossing-over*. Ces derniers ont lieu durant le stade de pachytène ou zygotène. Ces *crossing-over* (enjambements) aboutissent à un échange de segments de chromosomes entre chromatides non sœurs appartenant à des chromosomes homologues.

- Stade **Diacinèse**: la compaction des chromosomes est maximale. Ils deviennent très courts et donc plus maniables pour la suite des mouvements qu'ils vont subir. On peut compter facilement le nombre de bivalents par noyau.

3.1.2. Métaphase I

La **métaphase I** (Fig.1 d) de la méiose est comparable à la métaphase de la mitose, sauf que ce sont les chromosomes et non les chromatides qui se déplacent vers la plaque métaphasique (ou plaque équatoriale). Les mouvements des chromosomes sont sous contrôle des microtubules fusoriaux.

3.1.3. Anaphase I

Durant l'**anaphase I** (Fig.1 e, f), les chromosomes homologues se séparent et migrent aux pôles opposés. Des protéines motrices permettent cette montée aux pôles. Contrairement à la mitose, les chromatides sœurs d'un chromosome restent attachées à leur centromère et se déplacent ensemble, en tant qu'unités, vers le même pôle fusorial. Ainsi, chaque pôle possède un lot de chromosomes et le nombre de chromosomes a été divisé par deux.

3.1.4. Télophase I

Durant la **télophase I** (Fig.1 g), les chromosomes continuent leur mouvement entamé lors de l'anaphase I, se terminant à proximité des pôles opposés. Dans de nombreux cas, la membrane nucléaire se reforme et les chromosomes se décondensent. Dans d'autres cas, les cellules entrent immédiatement en méiose II. La cytotélophase, c'est-à-dire la division du cytoplasme, a lieu généralement durant la télophase I.

3.2. Division équationnelle

Durant la **méiose II**, les chromatides sœurs se séparent. Au terme de ce stade, on observe quatre noyaux possédant la moitié du nombre de chromosomes par rapport à la cellule originelle. Ces noyaux se développent et donnent des spores ou des gamètes.

3.2.1. Prophase II

Aux deux pôles de la cellule (Fig.1h), les groupes de chromosomes entrent dans une brève prophase II, sans stade S (interphase). Les enveloppes nucléaires se rompent et un nouveau fuseau se forme (Peter *et al.*, 2011).

3.2.2. Métaphase II

En métaphase II (Fig. 1i), les fibres fusoriales des deux pôles s'unissent aux kinétochores des différentes chromatides sœurs, permettant la migration des chromosomes vers la plaque métaphasique suite à la tension exercée sur eux par les microtubules tirant les centromères frères (Peter *et al.*, 2011).

3.2.3. Anaphase II

Les fibres fusoriales se raccourcissent et le complexe de cohésion unissant les centromères des chromatides sœurs est détruit (Fig. 1 g). Les centromères se scindent et les chromatides vont vers les pôles opposés (Peter *et al.*, 2011).

3.2.4. Télophase II

Finalement, l'enveloppe nucléaire se reforme autour de quatre lots de chromosomes fils (Fig. 1k). La cytokinèse vient ensuite (Peter *et al.*, 2011).

Le résultat final de cette division est la production de quatre cellules filles haploïdes.

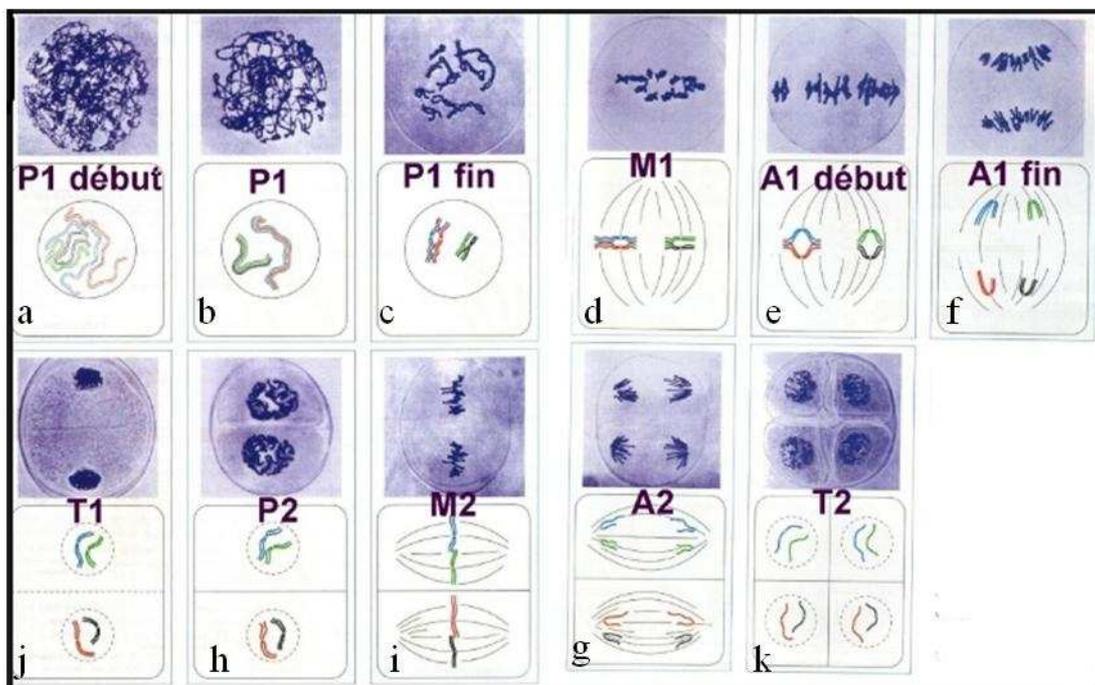
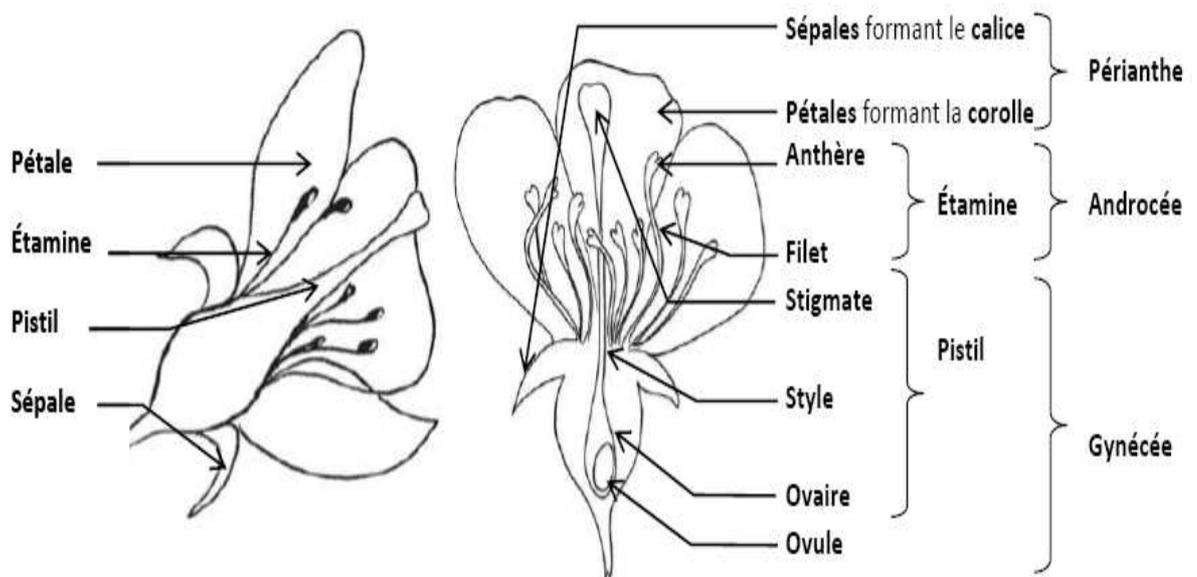


Fig. 4 : Aspects des différents stades de la méiose.

Partie bibliographique

a : Cellule au début d'une prophase I ; **b** : Cellule en prophase I ; **c** : Cellule à la fin d'une prophase ; **d** : Cellule en métaphase I ; **e** : Cellule en début d'anaphase ; **f** : Cellule en fin d'anaphase ; **g** : Cellule en télophase ; **h** : Cellule en prophase II ; **i** : Cellule en métaphase II ; **g** : Cellule en anaphase II ; **k** : cellule en télophase II.

4. Organisation simple d'une fleur



5. Cytomixie

La cytomixie est un phénomène commun chez les organismes eucaryotes. Elle est contrôlée par plusieurs gènes (Dalta *et al*, 2005). Elle représente le transfert de matériel génétique entre deux ou plusieurs cellules mères de pollen (CMP) adjacentes. Le passage d'une cellule à une autre cellule se fait par le biais de canaux intercellulaires (Heglund *et al.*, 2011). Le transfert de matériel génétique peut être partiel ou total. Dans le premier cas, une partie d'ADN migre vers une autre cellule alors que dans le deuxième cas c'est la totalité d'un noyau qui est transférée.

On observe le passage de la chromatine principalement durant la prophase I. Cependant, la cytomixie est aussi détectable dans les autres stades méiotiques de prophase précoce au stade de tétrade. Le temps nécessaire pour ce passage est estimé entre dix à trente minutes (District, 2014).

Partie bibliographique

Woodworth (1931) réussit à provoquer la cytomixie en appliquant une légère pression sur ses préparations de cellules-mères de microspores. Il a abouti à la conclusion que la cytomixie avait une origine purement artificielle. Remarquant que les transferts de chromatine étaient beaucoup plus fréquents chez les plants d'origine hybride que chez les espèces parentales, Woodworth émit toutefois l'hypothèse que les cytoplasmes hybrides étaient instables et, de ce fait, plus vulnérables aux pressions externes. Au contraire, Sarvella (1956 ; 1958), qui signale des cas de cytomixie dans des hybrides du genre *Gossypium*, attribua au phénomène des causes naturelles. Pour cet auteur la cytomixie résulterait d'un échange intercellulaire de substances chromatiques qui prendrait place, *in vivo*, à la faveur d'une formation incomplète des parois cellulaires.

Plusieurs facteurs tels les températures élevées, la pollution, les contraintes environnementales, les agents mutagènes, les blessures mécaniques, les carences nutritionnelles et également l'utilisation des pesticides, herbicides peuvent induire la cytomixie (Reis *et al.*, 2014)). Cependant, des études actuelles montrent que la cytomixie est un phénomène naturel contrôlé par des facteurs génétiques (Kaur et Singhal, 2014).

II. MATERIEL ET METHODES D'ETUDE

1. Matériel

1.1. Lieux et durée de stage pratique

Notre travail est effectué au niveau du laboratoire de biologie et de physiologie végétale à l'université A. Mira de Béjaïa. Ce travail est réalisé au bout de cinq (5) mois.

1.2. Choix des sites et échantillonnage de populations

Ce travail porte sur six populations naturelles du genre *Oxalis* échantillonnées principalement dans deux régions d'Algérie: Béjaïa et Blida (Fig.4). Nous avons effectué des prospections sur terrain pendant la période de floraison citée dans la littérature. Les populations de récolte et leurs caractéristiques sont données dans le tableau I. Le choix des populations, est fait selon les possibilités en tenant compte du bioclimat.

Tab. I : Echantillons analysés et caractérisation des sites d'échantillonnage

Taxon	Origine	Altitude (m)	Coordonnées Géographiques
<i>Oxalis cernua</i> L.	Université Saad dahleb (Blida)	194	36°30'16,53''N 2°52'33,27''E
	PNG Béjaïa	134	36°45'38,60''N 5°05'31,78''E
<i>Oxalis corniculata</i> L.	Targa ouzammour (Béjaïa)	32	36°45'06,16''N 5°02'08,67''E
	Aamriw (Béjaïa)	08	36°44'53,40''N 5°04'00,74''E
<i>Oxalis articulata</i> Savigny	Targa ouzammour (Béjaïa)	32	36°45'06,16''N 5°02'08,67''E
	Aamriw (Béjaïa)	08	36°44'53,40''N 5°04'00,74''E

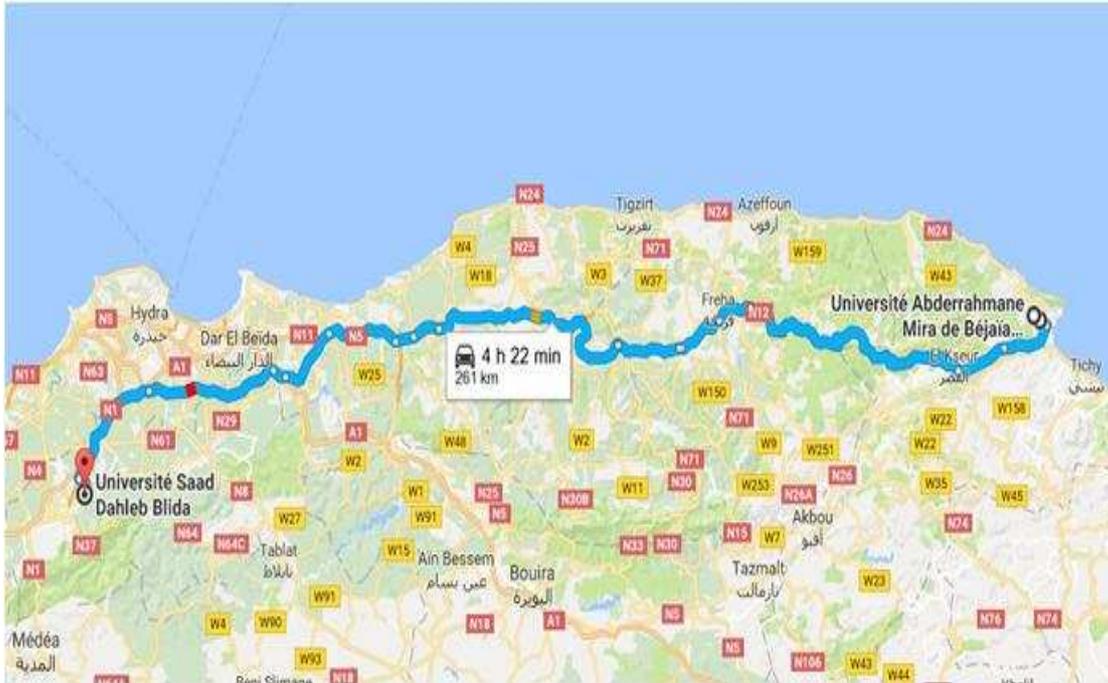


Fig. 5 : Zone d'échantillonnage des trois espèces du genre *Oxalis* L.

1.3. Identification des espèces

L'identification des trois espèces: *O. pes caprae* L. (Fig. 5), *O. corniculata* L. (Fig. 6) et *O. articulata* Savaingy (Fig.7) est fait au niveau de laboratoire d'étude.



Fig.5 : Photographie d'un échantillon de *Oxalis pes-caprae* L. (*cernua*).



Fig.6 : Photographie d'un échantillon de *Oxalis corniculata* L.



Fig. 7 : Photographie d'un échantillon de *Oxalis articulata* Saviny.

1.4. Choix de matériel végétal

Des boutons floraux sont récoltés et fixés immédiatement dans le carnoy. Les jeunes boutons floraux (stade très jeune) de quelques millimètre sont utilisés pour l'analyse des

méioses (Fig.8, 1 et 2). Les boutons floraux matures au stade juste avant l'anthèse de 1 à 2 cm environ (Fig. 8, 3 et 4) sont utilisés pour l'estimation de la fertilité pollinique.

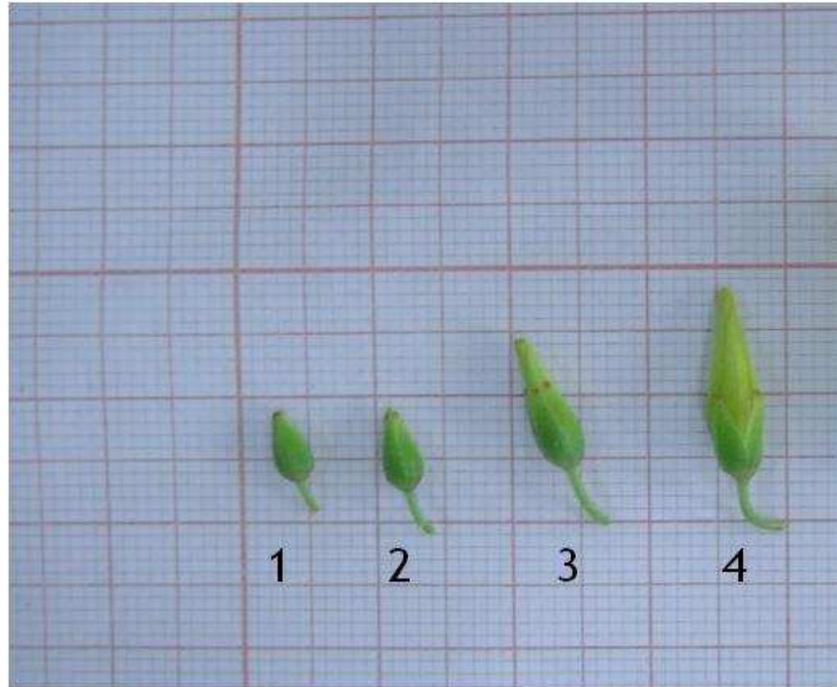


Fig. 8 : Différents stades de maturité des boutons floraux récoltés de *Oxalis L.*

2. Méthodes d'étude

Les populations échantillonnées ont fait l'objet d'une analyse caryologique et d'une analyse de la fertilité pollinique.

Nous avons utilisé un protocole inspiré de Mertens et Hmnersmirt (1998) basé sur la coloration à Orcéine lactopropionique pour l'analyse de la méiose et à la coloration au bleu de coton pour l'estimation de la fertilité pollinique.

2.1. Analyse caryologique

Cette analyse consiste à déterminer le comportement méiotique des chromosomes en division cellulaire. Elle est réalisée sur des cellules mères de pollen (CMP). Elle nécessite plusieurs étapes :

Matériel et méthodes

- Fixation

De très jeunes boutons floraux sont récoltés et fixés dans le carnoy composé du mélange de un volume d'acide acétique, de trois volumes de chloroforme et de six volumes d'éthanol (voire l'annexe) dans le but de bloquer les divisions cellulaires des CMP.

- Stockage

Le matériel végétal récolté peut être conservé dans la même solution de fixation pour plusieurs mois ou dans l'alcool à 70%.

- Hydrolyse

Les boutons floraux sont hydrolysés pendant deux à trois minutes dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 1N à 60°C au bain marie. Cette étape permet la libération des groupements aldéhydes sur lesquels se fixe le colorant. Elle permet également de solubiliser la lamelle moyenne des CMP.

- Préparation des lames

Sous loupe binoculaire, on dépose un bouton floral dans une goutte d'eau. Les étamines sont détachées à l'aide d'épingles puis elles sont dilacérées dans le but de libérer les CMP.

- Coloration

Deux essais sont réalisés

- Coloration à l'orcéine lactopropionique : Les étamines sont colorées pendant une minute puis écrasées entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules.

- Double coloration au réactif de Schiff et à l'orcéine acétique: Les boutons floraux colorés d'abord à la fushine basique pendant deux heures à l'obscurité sont ensuite écrasés dans l'orcéine (voire l'annexe).

- **Observation au microscope optique**

Les cellules en division sont repérées au microscope photonique à l'aide d'un objectif à faible grossissement (25x10) puis au grossissement '400x10' pour une bonne visualisation des chromosomes et enfin à l'objectif 100x10 en utilisant l'huile à immersion.

- **Photographies des plaques**

Les meilleures plaques sont photographiées à l'aide d'un appareil photo de marque Sony à 16.1 mégapixels avec zoom maximal.

2.2. Analyse de la fertilité pollinique

Cette analyse consiste à déterminer la viabilité des grains de pollen. Elle est réalisée sur des grains de pollen mûrs. Des boutons floraux sont récoltés avant l'anthèse et fixés immédiatement dans le carnoy.

Les anthères sont écrasées entre lame et lamelle pour libérer le maximum de grains de pollen puis sont colorées dans une goutte de bleu de coton pendant 15 à 30 minutes. Les grains de pollen colorés uniformément d'un bleu foncé sont considérés viables et fertiles alors que ceux de formes et de tailles anormales et non colorés uniformément sont considérés non viables et stériles.

- **Calcul du taux de la fertilité pollinique**

$TF = N / (N + AN)$: TF : taux de fertilité pollinique, N : nombres de grains de pollen normaux (fertiles), AN : nombres de grains de pollen anormaux (stériles).

Résultats

RESULTATS

Une analyse caryologique des cellules mères de pollen a porté sur des populations appartenant à trois espèces du genre *Oxalis* : *Oxalis cernua* L. (Fig. 3), *O. corniculata* L. (Fig. 4) et *O. articulata* Savigny. Des dénombrements chromosomiques, des estimations des anomalies méiotiques et de la fertilité pollinique sont établis.

1. Dénombrement chromosomique

Un nombre chromosomique est établi sur des cellules mères de pollen pour deux espèces : *O. cernua* L. et *O. articulata* Savigny. Le dénombrement est effectué sur des CMPs au stade métaphase I (Fig. 6) pour *O. cernua* et au stade métaphase II (Fig. 7) pour *O. articulata*. Nous avons pu compter un nombre chromosomique de $2n=20$ avec un nombre de base $x=10$ pour *O. cernua* (Fig.6). *O. articulata* présente un nombre chromosomique de base $x=7$ avec $2n=4x=28$. Pour l'espèce *O. corniculata* L., aucun dénombrement n'est réalisé, car les chromosomes en métaphase I sont agglutinés (Fig.8).

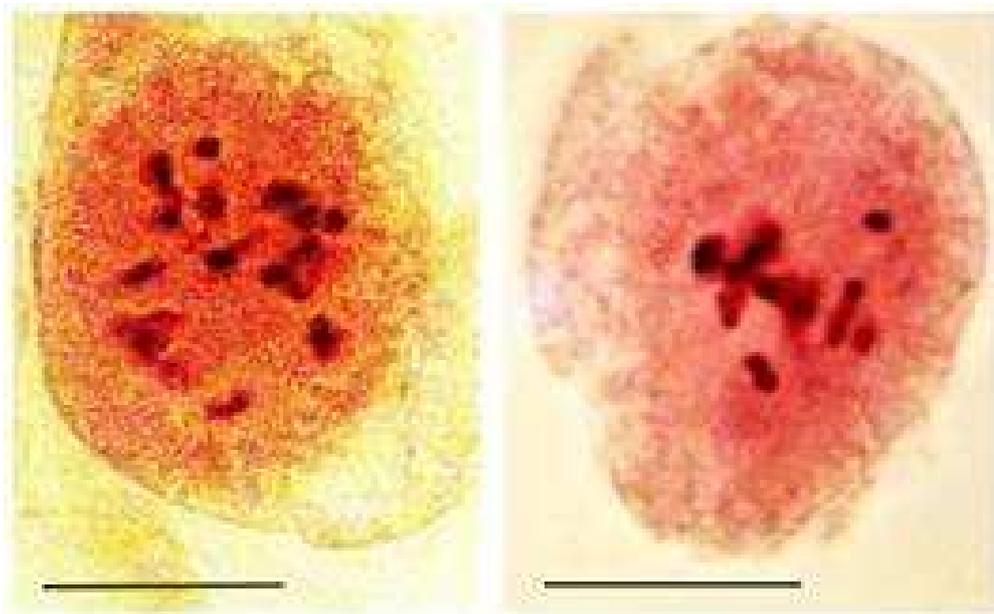


Fig. 10 : Dénombrements chromosomiques chez *Oxalis cernua* L. montrant 9 bivalents et 2 univalents (flèches) en métaphase I. La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

Résultats

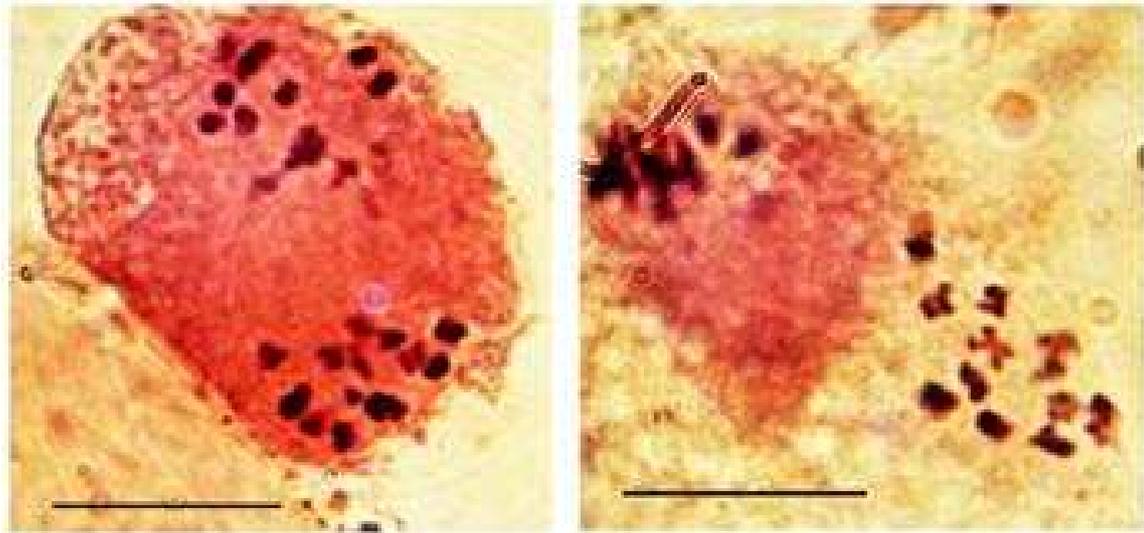


Fig. 11 : Dénombrement chromosomique chez *Oxalis articulata* Savigny montrant 14 chromosomes en métaphase II. La barre d'échelle correspond à 10 μ m.



Fig. 12 : observation chromosomique chez *Oxalis corniculata* L. montrant des chromosomes agglutinés en métaphase I. La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

Résultats

2. Analyse de la méiose

2.1. Différents stades de la division méiotique

Des photographies de cellules mères de pollen avec un déroulement normal de la méiose des populations analysées sont données dans la figure 12.

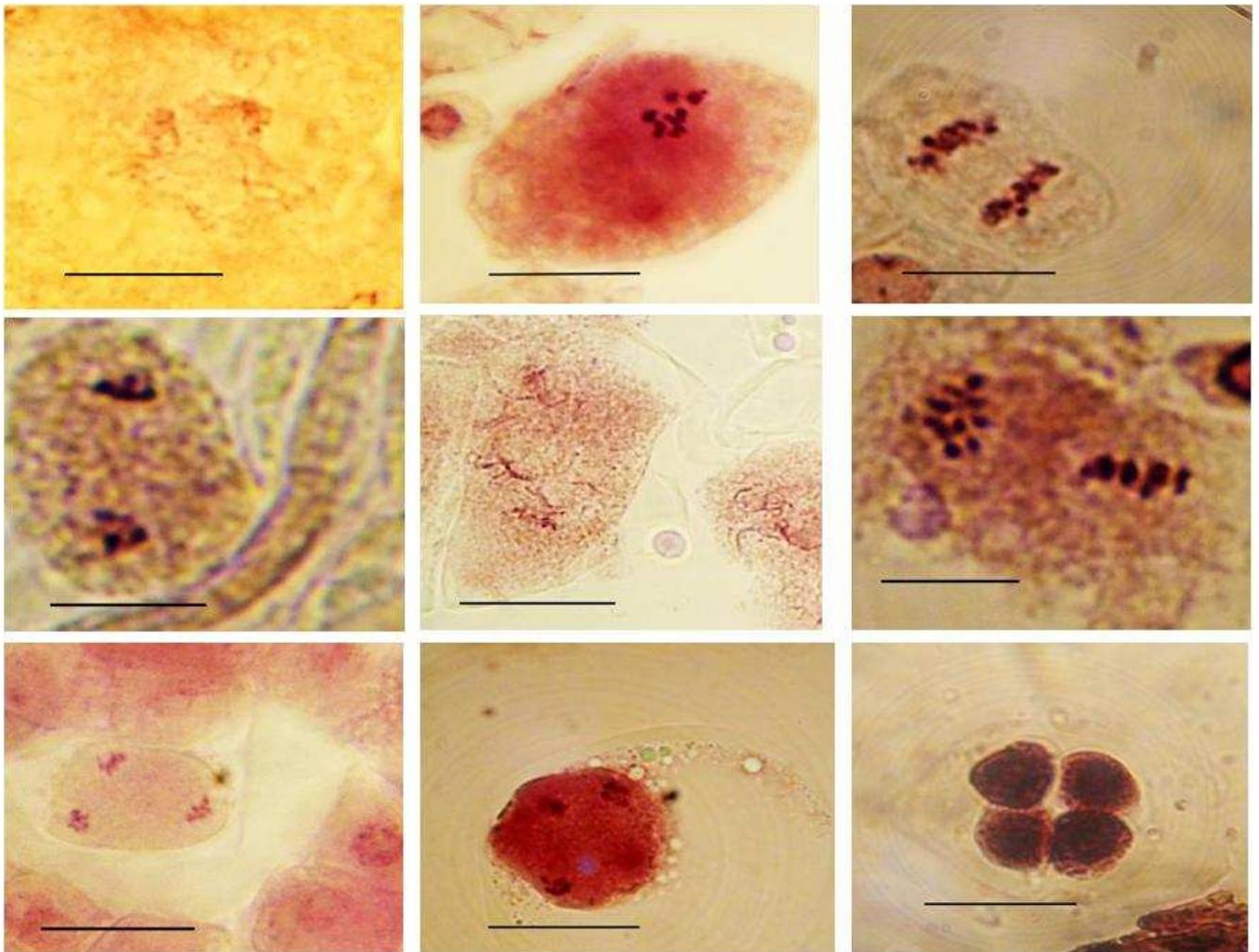


Fig. 13 : Aspects des différents stades de la division méiotique des cellules mères de pollen des populations de *Oxalis* L. analysées. **a :** Prophase I, **b :** métaphase I, **c :** télophase I, **d :** anaphase I, **e :** prophase II, **f :** anaphase II, **g :** métaphase II, **h :** télophase II, **i :** grains de pollen. La barre d'échelle correspond à 10µm.

Nous avons remarqué une différence de taille des noyaux des cellules mères du pollen pour l'espèce *Oxalis cernua* L. (Fig.10a). Une déformation presque totale de la forme des noyaux des cellules mères de pollen pour l'espèce *Oxalis articulata* savingy (Fig. 10c).

Résultats

Cependant nous avons noté une taille et une forme régulière des noyaux des cellules mères de pollen chez l'espèce *Oxalis corniculata* L. (Fig. 10b).

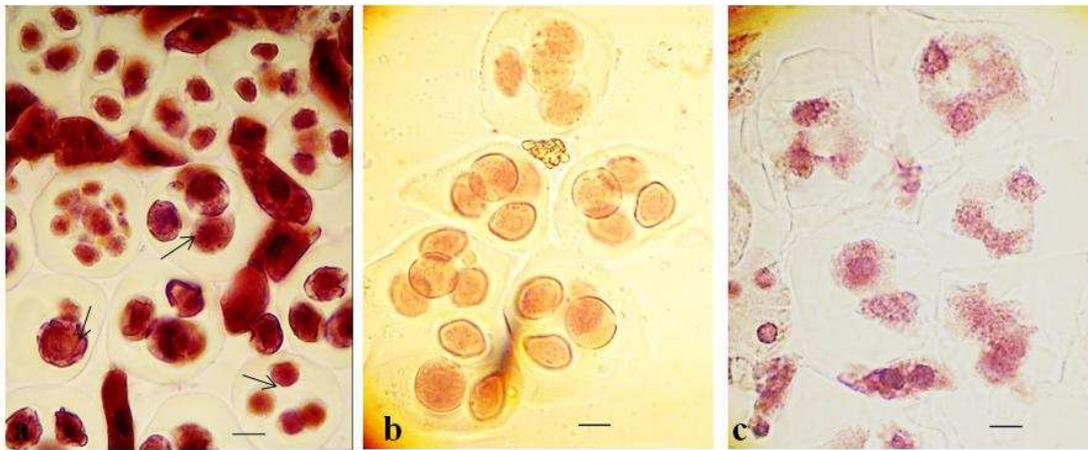


Fig. 14 : Forme et taille des noyaux des cellules mères de pollen chez les trois espèces de *Oxalis*, **a** : *O. cernua* ; **b** : *O. corniculata*, **c** : *O. articulata*. La barre d'échelle correspond à 10µm.

2.2. Facteurs méiotiques irréguliers

Les trois espèces du genre *Oxalis* étudiées sont hétérogènes. Elles présentent une diversité de taux et de nombre d'anomalies observées (Tab. II). Un coefficient de corrélation est établi entre le taux d'anomalies et la fertilité pollinique chez *Oxalis cernua* L. et *Oxalis corniculata* L.. Il correspond à -0.76. Un autre coefficient de corrélation est également estimé à -0.88 entre le taux d'anomalie et le taux de la cytomixie entre les noyaux chez les trois espèces du genre.

Sept anomalies méiotiques sont observées sur des cellules mères de pollen en division. Nous dénombrons des univalents (Fig. 14 a et b), des chromosomes retardataires (Fig.14 e et f), des ponts chromatiques (Fig.14 c et d), des cellules multipolaires (Fig. 15), des micronoyaux (Fig. 16) et de la cytomixie (Fig. 17).

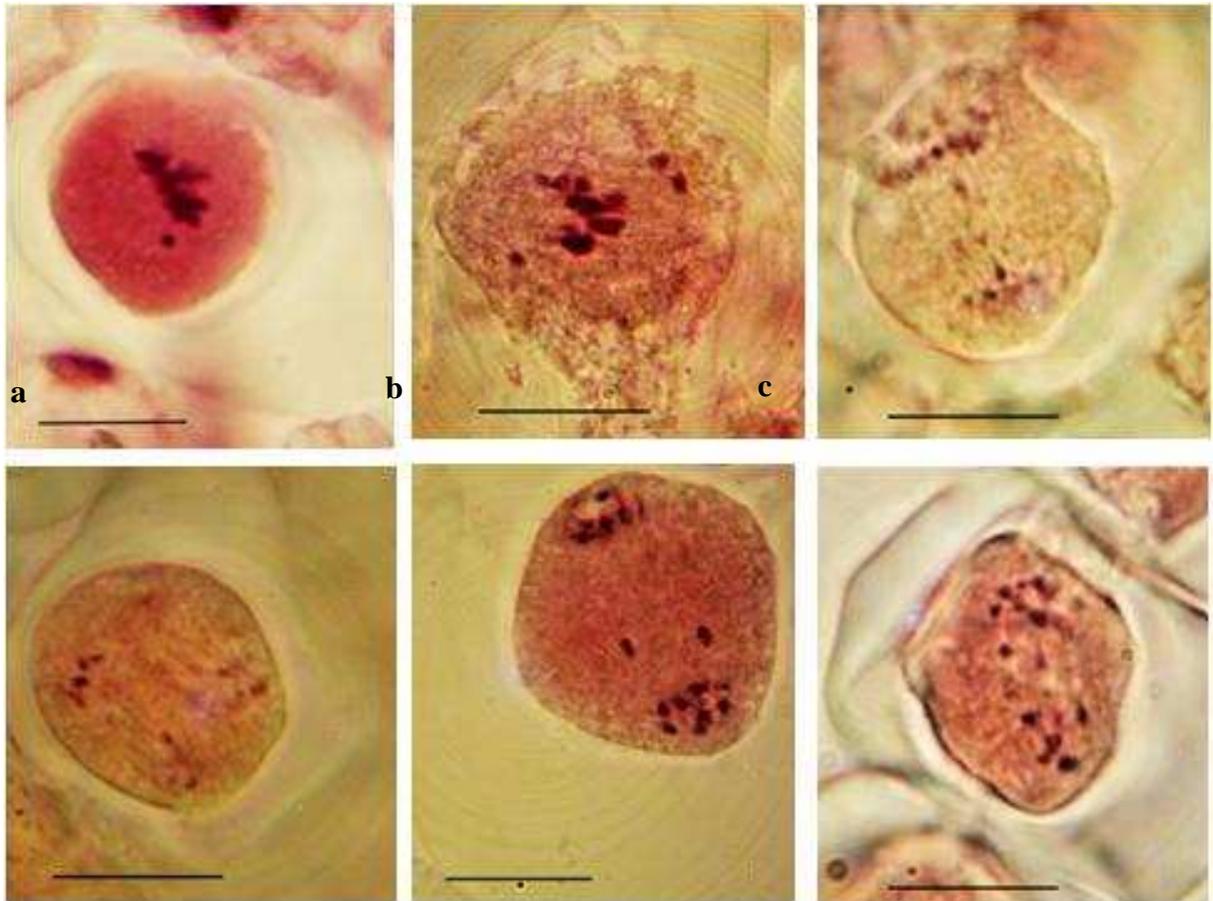


Fig. 15 : Aspect des cellules mères de pollen des populations de *Oxalis* L. analysées montrant différentes irrégularités méiotiques. **a** et **b** : Cellules en métaphase I montrant des univalents, **c** : Cellule en anaphase I présentant des ponts chromatiques ; **d** : : Cellule en anaphase II avec des ponts chromatiques ; **e** : Cellule en fin anaphase I avec deux chromosomes retardataires, **f** : Cellule en début d'anaphase I montrant trois chromosomes retardataires ; La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

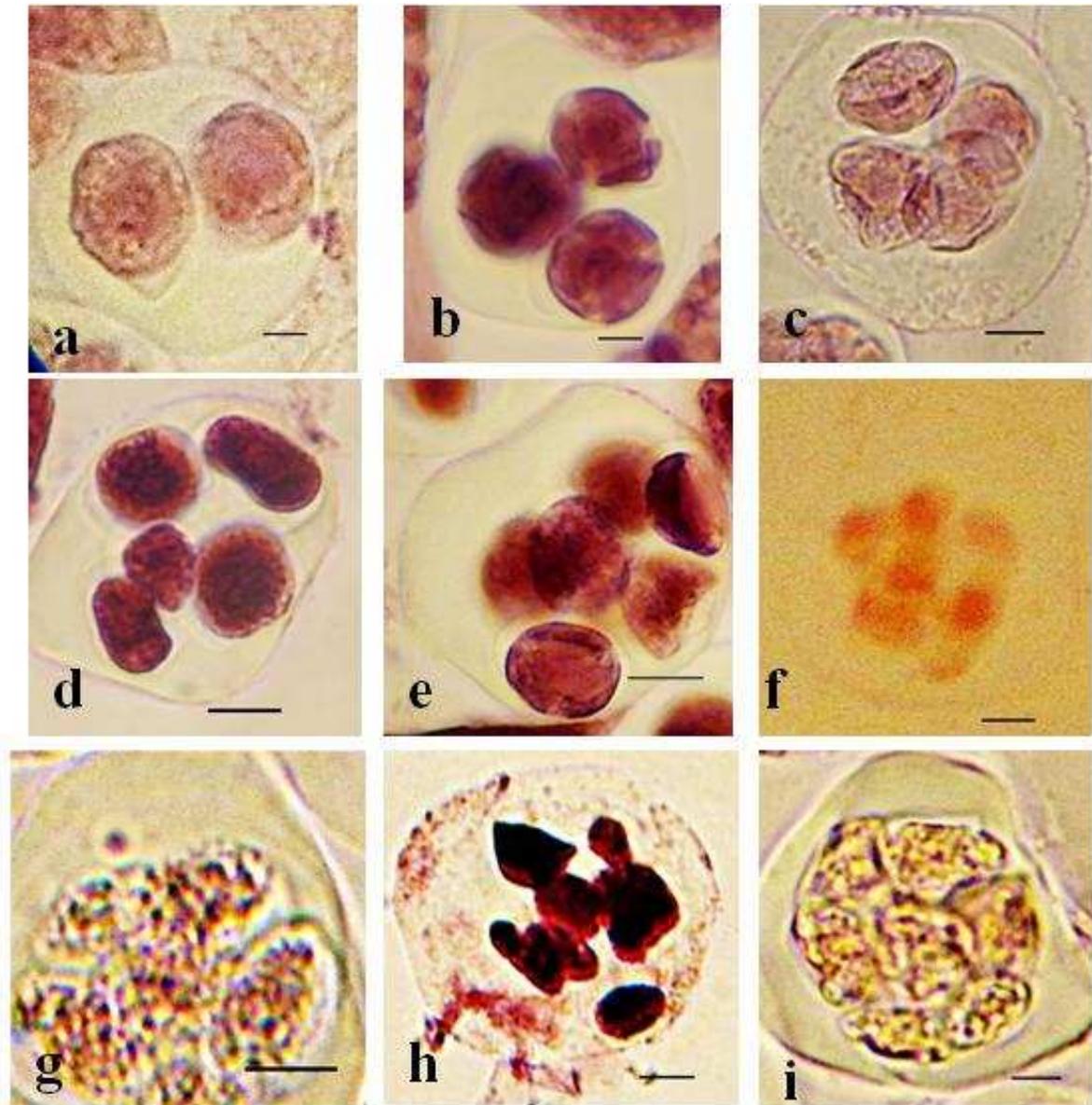


Fig. 16. Aspects des différentes cellules multipolaires dans les populations analysées de *Oxalis* L. **a** : diade, **b** : triade, **c** : tétrade, **d** : pentade, **e** : hexade, **f** : heptade, **g** : octade, **h** : nanoade, **i** : décade. La barre d'échelle correspond à 10 μ m

Les taux d'anomalies calculés pour les différentes populations analysées pour chaque anomalie sont donnés dans le tableau II. Les taux totaux d'anomalies et le taux de la fertilité pollinique calculés pour les trois espèces de *Oxalis* L. sont donnés dans le tableau III.

Résultats

Tab. II : Taux d'anomalies méiotiques calculés pour les différentes populations de *Oxalis* L. analysées

Taxon	Origine	Nombre total des CMPs analysées	chromosomes retardataires (%)	Univalents (%)	Pont chromatique (%)	Cytomixie entre méiocytes (%)	Cytomixie entre microspore (%)	Cellules multipolaires (%)	Micronoyaux (%)
<i>Oxalis cernua</i>	Université Saad dahleb (Blida)	7479	0,01	0,41	0,053	5,16	0,00	12,22	24,95
	PNG Béjaia	1606	0,81	3,86	0	9,28	0,00	1,43	5,35
<i>Oxalis corniculata</i>	Targa ouzammour (Béjaia)	1696	0	0	0	0,12	0,00	1,59	0,18
	Aamriw (Béjaia)	460	0	0	0	1,30	0,00	0,43	1,74
<i>Oxalis articulata</i>	Targa ouzammour (Béjaia)	1971	0	0	0	3,75	12,08	7,15	0,81
	Aamriw (Béjaia)	2758	0	0	0	1,09	5,51	14,14	4,31

Tab. III : Taux total d'anomalies et taux de fertilité calculés chez les trois espèces de *Oxalis* L. analysées.

Taxon	Origine	Taux d'anomalies (%)	Taux de fertilité pollinique (%)
<i>Oxalis cernua</i>	Université Saad dahleb (Blida)	42,81	63,65
	PNG Béjaia	20,73	65,13
<i>Oxalis corniculata</i>	Targa ouzammour (Béjaia)	1,89	76,59
	Aamriw (Béjaia)	3,48	94,32
Coefficient de corrélation entre taux d'anomalie et la fertilité pollinique			-0,76
<i>Oxalis articulata</i>	Targa ouzammour (Béjaia)	23,80	4,36
	Aamriw (Béjaia)	25,05	7,96
Coefficient de corrélation entre cytomixie entre noyaux au stade tétrade et la fertilité pollinique			-0,88

Résultats

Pour l'espèce *Oxalis cernua*, nous avons analysé un total de 9085 cellules mères de pollen réparties sur deux populations à raison de 7479 CMPs pour le campus universitaire Saad Dahleb Blida et de 1606 CMPs pour la population du Parc National de Gouraya Béjaïa. Nous avons calculé un taux d'anomalies de 42,81% et de 20,73% dans les populations de Blida et de Béjaïa respectivement (Tab. III). Sept types d'anomalies sont observés dans les deux populations d'*Oxalis cernua*. Les anomalies sont observées aux différents stades de division méiotique. Elles se manifestent par :

- des **Chromosomes retardataires** : un à quatre chromosomes retardataires par cellule sont observés en anaphase I et II (Fig. 11B1, B2). Un pourcentage de 0.01% est calculé pour la population de Blida et 0.81% pour la population de Parc National de Gouraya à Béjaïa (Tab. II).
- des **Univalents** en métaphase I et II (Fig. 11 A1, A2, A3) sont observés avec des taux de 0.41% et 3.86% pour les populations de Blida et de Béjaïa respectivement.
- des **Ponts chromatiques** en anaphase I et II (Fig. 11C) ne sont notés que pour la population de Blida avec un pourcentage de 0.053%.
- de la **Cytomixie** : un échange de matériel génétique est observé entre les cellules mères de pollen à un taux de 5.16% dans la population de Blida et un taux de 9.18% dans la population de Béjaïa. Des cellules mères de pollen complètement vidées de leur matériel génétique sont observées (Fig. 13). Ce qui est probablement dû au phénomène de cytomixie.

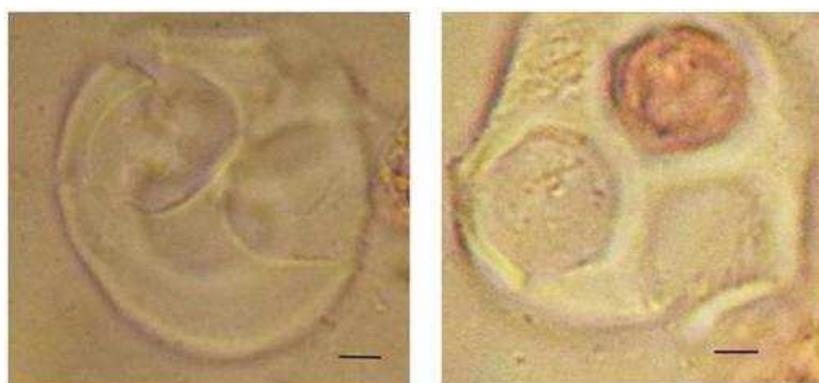


Fig. 17. Aspects des cellules mères de pollen au stade tétrade vidées de leur matériel génétique (cytomixie) observées chez les populations de *Oxalis* L. La barre d'échelle correspond à 10µm

Résultats

Nous avons également remarqué plusieurs types de cytomixie (Fig. 17) : Cytomixie entre deux cellules mères de pollen, entre un groupe de cellules et même une cytomixie entre grains de pollen. Nous avons également noté plusieurs ponts cytomictiques entre les cellules.

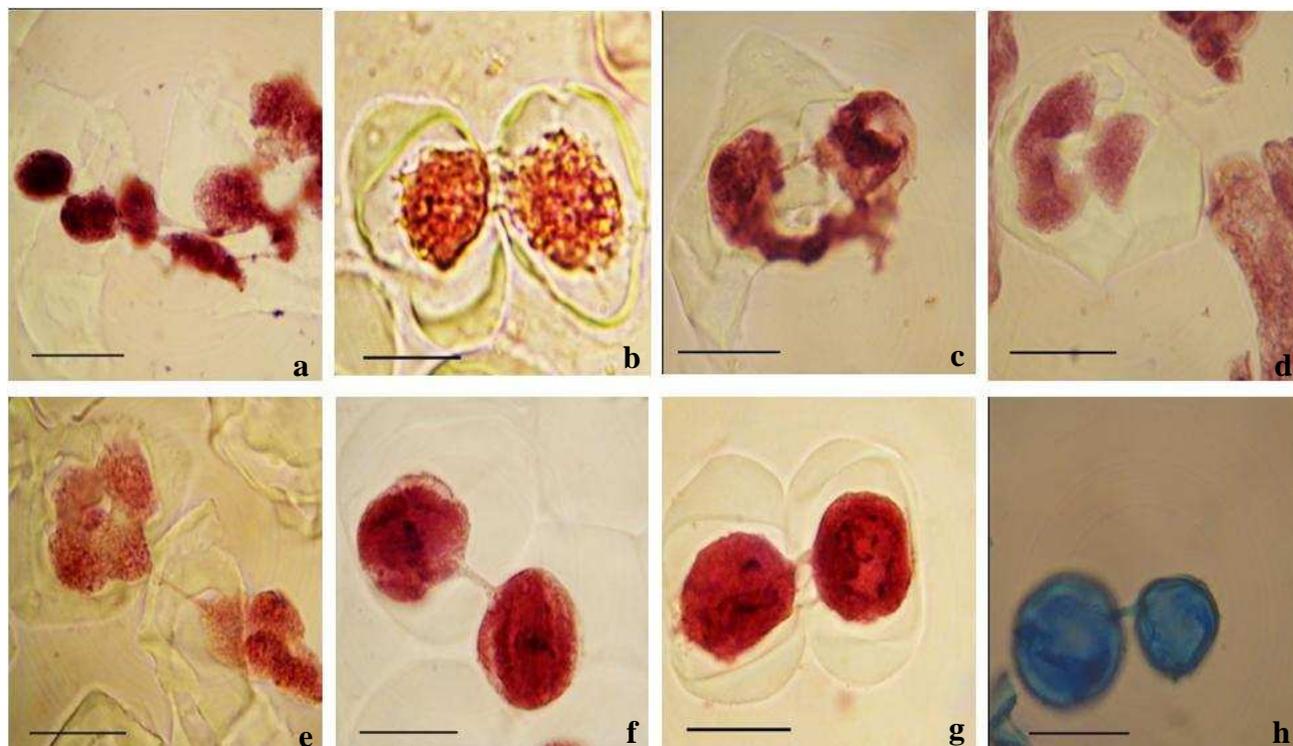


Fig. 17 : Aspects des cellules mères de pollen des populations analysées de *Oxalis* L. montrant des ponts cytomictiques. **a** : cytomixie entre un groupe de cellules mères de pollen, **b** : cinq ponts chromatique entre deux cellules mère de pollen, **c** et **d** : cytomixie entre les noyaux d'une tétrade, **e** : cytomixie entre deux tétrades, **f** : cytomixie entre deux cellules mère de pollen en stade métaphase I, **g** : trois ponts chromatique entre deux cellules mère de pollen en stade prophase I. **h** : cytomixie entre deux grains de pollen.

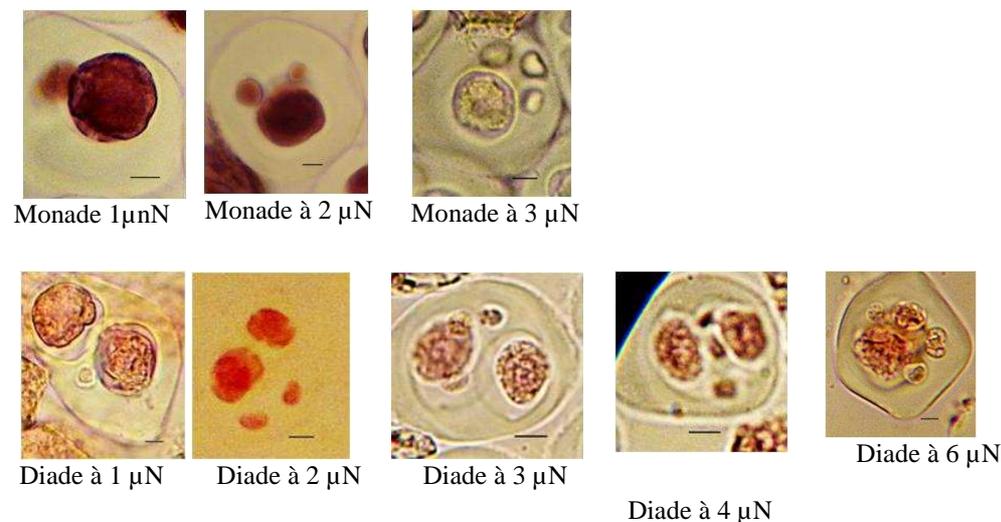
Cellules multipolaires : Nous avons calculé un pourcentage de 12.22% pour la population de Blida et un pourcentage de 1.41% dans la population du parc national de Gouraya (Béjaïa). Des cellules mères de pollen présentent des noyaux surnuméraires allant de deux noyaux par cellule à plus de dix noyaux par cellule. La figure 16 présente les différents cas observés. Les taux de cellules multipolaires dans la population Blida est de 12.22% et dans la population de Béjaïa est de 1.43%. La population de Blida se distingue par son taux le plus élevé en triades et par un taux d'anomalies le plus élevé.

Résultats

- des **Micronoyaux** : Des noyaux d'une taille réduite en plus du noyau principal de la cellule mère de pollen sont observés. Nous avons constaté un pourcentage de 24.95% dans la population de Blida et un pourcentage de 5.35% dans la population du parc de Gouraya. Un à huit micronoyaux par cellules sont détectés dans la population de Blida (Fig. 16).

Pour *Oxalis corniculata* L., nous avons analysé un total de 2156 cellules mères de pollen réparties sur deux populations à raison de 1696 CMPs pour la population de Targa Ouzemmour et de 460 CMPs pour la population de Aamriw (Béjaïa). Nous avons calculé un taux d'anomalies totales de 1.89% et de 3.48% dans les populations de Targa Ouzemmour et de Aamriw respectivement (Tab. III). Seuls trois types d'anomalies sont observés chez cette espèce (Cytomixie entre cellules, cellules multipolaires, micronoyaux). Les taux de ces anomalies sont consignés dans le tableau II.

Pour *Oxalis articulata* Savigny, nous avons analysé un total de 4729 cellules mères de pollen réparties sur deux populations à raison de 1971 CMPs pour la population de Targa Ouzemmour et de 2758 CMPs pour la population de Aamriw (Béjaïa). Nous avons calculé un taux d'anomalies totales de 23.80% et de 25.05% dans les populations de Targa Ouzemmour et de Aamriw respectivement (Tab. III). Quatre types d'anomalies sont observés chez cette espèce (Cytomixie entre cellules, cellules multipolaires, micronoyaux, cytomixie entre noyaux au stade tétrade). La cytomixie entre noyaux au stade tétrade est observé uniquement chez cette espèce. Les taux de ces anomalies sont consignés dans le tableau II.



Résultats

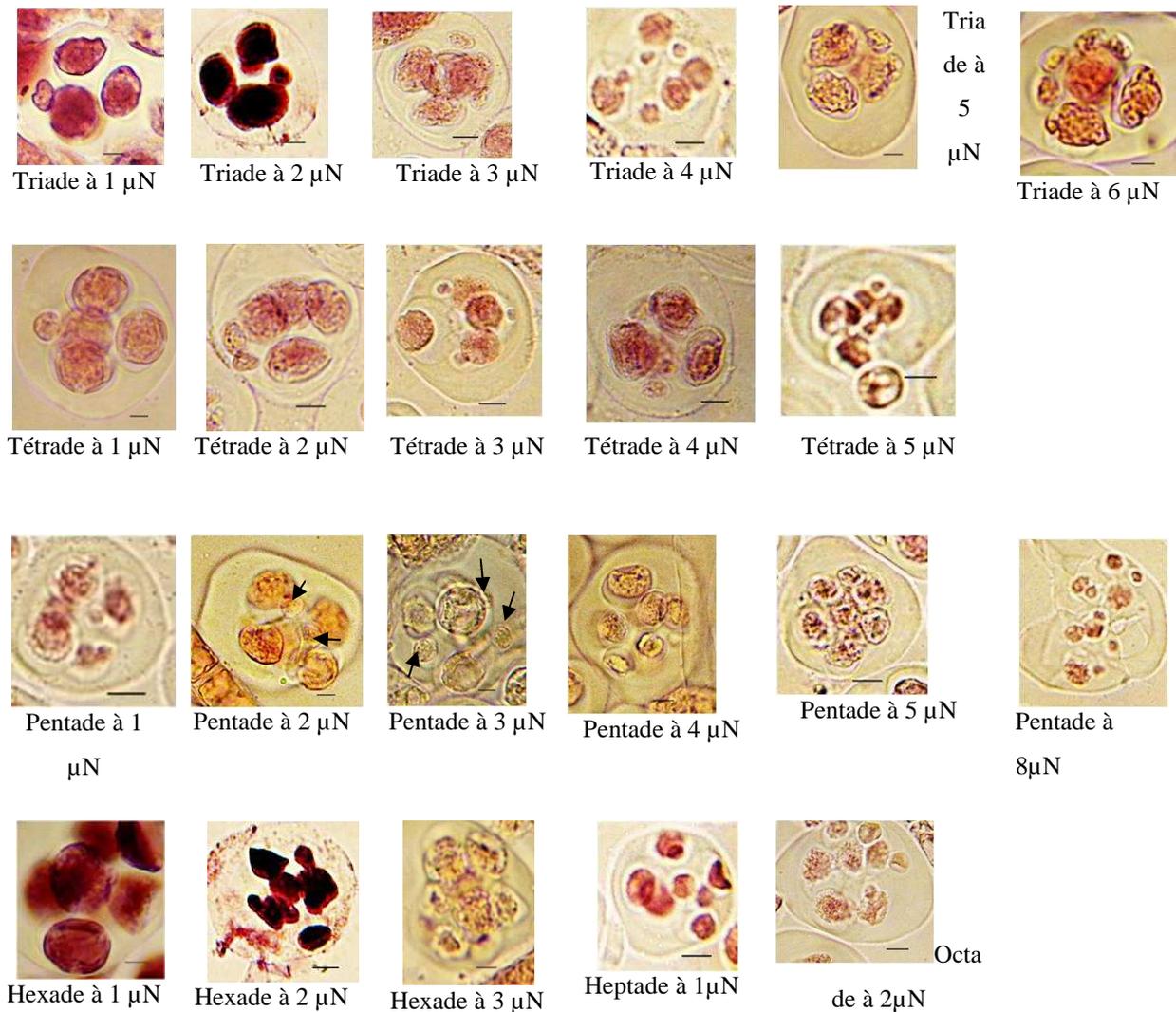


Fig. 19 : Aspects des différentes cellules mères de pollen des populations de *Oxalis L.* analysées montrant des nombres variables microspores et de micronoyaux (μN) au stade tétrade.

3. Fertilité pollinique

Un taux de fertilité pollinique est estimé pour chaque population. Il représente le rapport du nombre de grains de pollen fertiles au nombre de grains de pollen total observé. Les grains de pollen bien colorés et de forme régulière sont fertiles, alors que les grains de forme et de couleur irrégulière sont considérés comme non fertiles (Fig.17). Ces derniers ont une forme sphérique, ornementée et tri-aperturé. Les taux de fertilité ont été estimés sur 15 fleurs choisies au hasard. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III.

Résultats

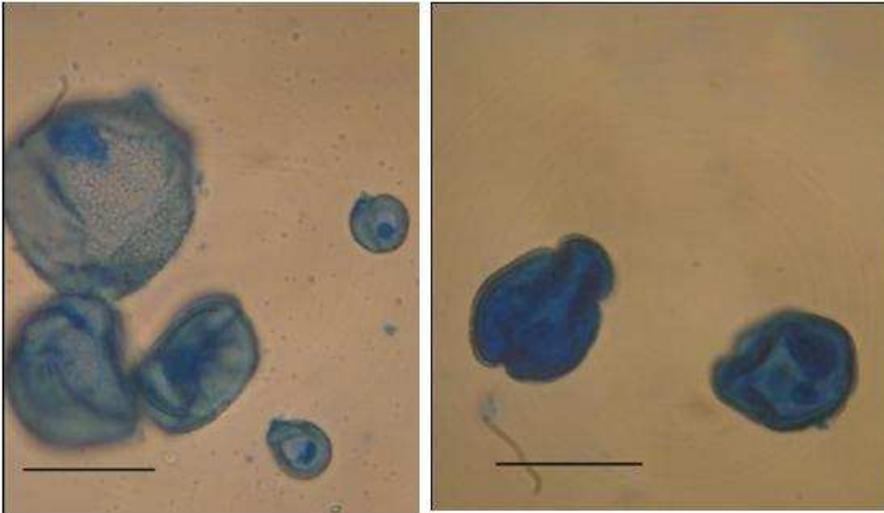


Fig. 20 : Aspects des grains de pollen non viables observés dans les populations de *Oxalis* L. analysées

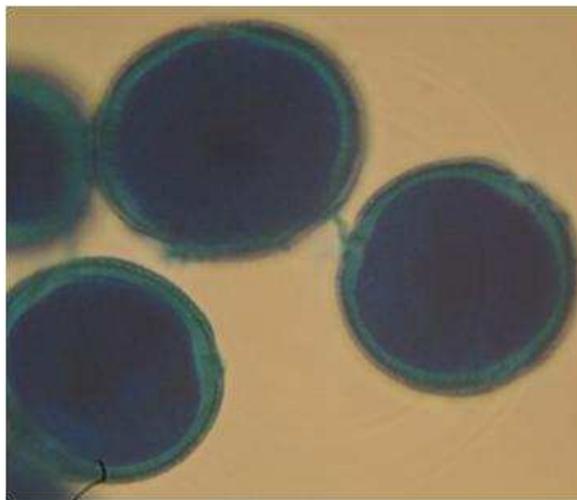


Fig. 20 : Aspects des grains de pollen viables observés dans les populations de *Oxalis* L. analysées.

Le taux de fertilité pollinique calculé diffère d'une espèce à l'autre. Chez *Oxalis corniculata*, il est relativement élevé et il est compris entre 76,59 % pour la population de Targa Ouzamour et 94.32% pour celle d'Aamriw. *Oxalis cernua*, présente plutôt un taux moyen. Nous avons calculé un pourcentage de 63.65% pour la population de Blida et de 65, 13% pour la population du parc national Gouraya (Béjaia). Une fréquence de viabilité très

Résultats

réduite est détectée chez *Oxalis articulata* Savigny. Un pourcentage de 7,96% dans la population d'Aamriw et 4,36 % dans la population du campus universitaire Targa ouzamour Béjaia (Tab. III).

Une différence de taille des grains de pollen viables est notée au sein des populations des deux espèces *Oxalis articulata* Saviny. et *Oxalis cernua* L., tandis que la taille des grains de pollen de *Oxalis corniculata* L. est régulière pour les deux populations analysées.

Discussion

DISCUSSION

La présente étude porte sur une étude cytogénétique de trois espèces pérennes de *Oxalis* L. présentant des organes de reproduction végétative. Une analyse des anomalies méiotiques ainsi qu'une analyse de la fertilité pollinique sont menées.

Dénombrement chromosomique

Oxalis cernua L. est connue comme une espèce polyploïde comportant des diploïdes, des tétraploïdes et des pentaploïdes (Costa *et al.*, 2012). D'après Yamashita (1935), les tétraploïdes à $2n=4x=28$ présentent un nombre chromosomique de base $x=7$. Nos échantillons montrent plutôt un nombre chromosomique de 20 avec un nombre de base x de 10 (09 bivalents et 02 univalents en métaphase). D'après Heitz 1927, le nombre chromosomique de *Oxalis articulata* Savigny est de $2n=2x=14$ avec un nombre chromosomique de base $x=7$. Le cytotype retrouvé dans notre aire d'échantillonnage est donc un tétraploïde avec $2n=4x=28$. Pour *O. corniculata* L., le nombre chromosomique est de 24 chromosomes avec un nombre de base $x=6$ ou $x=12$ d'après Rutland (1941). Les chromosomes sont de petite taille.

Facteurs irréguliers de la méiose pollinique

Au cours de l'anaphase I et II des divisions méiotiques nous avons observé des ponts chromatiques chez l'espèce *Oxalis cernua*. Ces ponts seraient le résultat de la fragmentation chromosomique à l'anaphase avec l'absence de réparation des cassures double brins induite par la protéine *Spo11* suite à une mutation (Horlow et Doutriaux, 2003).

L'une des causes de la formation des univalents est une mutation au niveau du gène *asyl*, qui est responsable de la formation du complexe synaptonémal. En effet, le complexe synaptonémal est une protéine qui permet l'appariement des chromosomes homologues lors de la métaphase. Le complexe synaptonémal semble établir une connexion entre les chromosomes homologues sur toute leur longueur comme le montre des travaux chez

Discussion

Arabidopsis thaliana. La protéine du gène *asyl* est l'homologue de la protéine *hap1* de la levure. L'autre cause est une mutation au niveau des gènes *spo11* et *dcm1*. En effet, la protéine codée par le gène *spo11* induit la formation des cassures double brins nécessaire à la mise en route de recombinaison homologue méiotique. La protéine *dcm1* est impliquée dans l'orientation de la recombinaison réparatrice. La mutation de ces gènes *spo11* et *dcm1* présente une diminution de la recombinaison homologue. De ce fait, il n'y a pas formation de bivalents (Horlow et Doutriaux, 2003). D'après Reis *et al.* (2015) et Kravets (2012), les univalents sont aussi des conséquences de phénomènes de la cytomixie.

Nous avons noté des chromosomes retardataires dans les deux populations analysées de *Oxalis cernua*. Ce phénomène est signalé par plusieurs travaux. Parmi eux les travaux de Reis *et al.* (2015) sur *L. alba* (tétraploïde), où ils ont détecté 47% de chromosomes retardataires. Singhal and Puneet Kumar (2008), ont expliqué ce phénomène comme étant une conséquence de la cytomixie. le phénomène est aussi observe par de Godoyl (2012). D'après Mendes-Bonato *et al.*, (2001), les chromosomes retardataires peuvent être causés par les facteurs environnementaux tels que les rayaux X, la température et les éléments du sol. Ce phénomène peut être dû à la présence de gènes mutants ou des facteurs abiotiques tels que des températures élevées.

Les cellules multipolaires est l'anomalie la plus fréquente. Nous l'avons observée dans les six populations de trois espèces de *Oxalis* étudiées. La fréquence la plus élevée est notée chez l'espèce *Oxalis cernua* (37.17%) suivi de *Oxalis articulata* (24.77%). Nous avons observé un taux très faible dans les trois populations de *Oxalis coniculata*. Selon Souza *et al.* (2010), cette anomalie est une conséquence de la cytomixie. Horlow et Doutriaux (2003) considèrent que les cellules multipolaires sont des conséquences des chromosomes retardataires et des univalents observés en anaphase et en métaphase. Souza *et al.*, (2010) considèrent ces cellules multipolaires comme une conséquence des chromosomes retardataires et des univalents observés dans le même travail.

La présence de micronoyaux est un phénomène anormal observé au stade télophase I et II. Il est causé par la présence des chromosomes retardataires au stade anaphase et des

Discussion

univalents au stade métaphase (Horlow et Doutriaux, 2003). D'après Pagliarini *et al.* (1993), Mendesbonato *et al.* (2002) *in* de Godoyl (2012), la ségrégation irrégulière des chromosomes durant la division cellulaire est la cause principale de la formation des micronoyaux. Selon Kaur et Singhal (2014), les micronoyaux sont principalement une conséquence de la cytomixie.

Un échange de matériel génétique entre les méiocytes durant la méiose est observé dans toutes les populations étudiées. Ces échanges peuvent être entre deux à plusieurs cellules mères de pollen. La cytomixie est aussi observé entre des cellules à différents stades de division méiotique (en prophase, métaphase, tétrades). La connexion entre les méiocytes se fait par des ponts cytoplasmiques dont le nombre varie de un à cinq. Ce qui induit la formation des diades, triades, pentades, hexades, heptades, octades, nanoades et des decades observées dans cette présente étude. Nous avons aussi observé des échanges de matériel génétique entre les noyaux de la même cellule mère de pollen. Des cas de cytomixie entre grains de pollen sont aussi observés. Kaur et Singhal (2014) ont détecté le phénomène de la cytomixie (entre deux à six CMPs adjacentes) à différents stades de la méiose chez deux populations de *N. govaniiana* et à des pourcentages de 17.45% et 22.87%. Ils ont noté aussi que le transfert de la chromatine est partiel ou complet. En conséquence, des CMPs dénudées (sans noyaux) et autres avec des noyaux surnuméraires (des diades avec 17.25%, triades 7.56% et tétrades avec des micronoyaux à 2.12%) sont observées. Les mêmes auteurs ont remarqué également que la fréquence des anomalies chromosomiques (univalents, bivalents, chromosomes inorganisé, ponts chromatiques...) est significativement élevée chez les individus présentant de la cytomixie. Le rôle de la cytomixie dans l'induction de telles anomalies méiotiques et par conséquent les grains de pollen de tailles variables ont également été signalés dans un certain nombre de plantes des régions désertiques froides de Lahaul - Spiti, Pangi Valley et les régions Kinnaur de l'Himalaya occidental. Reis *et al.* (2015), sur *L. alba* (espèce tétraploïde) ont pu observer la cytomixie principalement pendant la prophase I mais aussi dans les autres stades de la méiose à un pourcentage de 81%. La cytomixie augmente la diversité génétique du pollen et permet l'équilibrage dans les génomes déséquilibrés. La cytomixie permet également la polyploidisation, un phénomène crucial dans l'évolution et la biodiversité chez les végétaux (Mursalimov *et al.*, 2013). Reis *et al.* (2014)

Discussion

montrent un pollen géant dans *L. alba* (éventuellement avec une quantité d'ADN somatique) et ces auteurs expliquent cette grande taille comme une conséquence de la formation de diades et triades. Les mêmes auteurs ont démontré que le taux de cytomixie augmente en moyenne de 2,4 % à chaque passage à un niveau de ploïdie.

Sidorchuk *et al.* (2015), a pu suivre le chemin de la chromatine depuis sa migration de la cellule donneuse jusqu'à la formation des micronoyaux aux niveaux de la cellule réceptrice dans des espèces de céréales. Ils expliquent le nombre de noyaux surnuméraires et des micronoyaux supérieurs à deux par la présence de plusieurs canaux cytomictiques. Ils notent aussi que la taille des noyaux surnuméraires est presque égale à la taille de noyau normale et dans le même stade de division cellulaire que lui.

La cytomixie est également signalée dans *Sesamum indicum* L. entraînant la formation de méiocytes complètement vides (Kumar et Yadav, 2012).

Fertilité pollinique

Oxalis cernua se reproduit principalement par voie asexuée ce qui explique le taux de viabilité du pollen relativement faible de 63.65 et 65.13 évalué pour les deux populations analysées de cette espèce. Ces taux peuvent s'expliquer également par les fréquences d'anomalies particulièrement élevés détectés dans les deux populations comme le confirme le coefficient de corrélation de -0.76.

Oxalis coriniculata L. est la seule espèce qui présente des grains de pollen à capsules. Cela peut expliquer le taux élevé de fertilité pollinique calculé pour les deux populations analysées. Aussi le taux d'anomalies est très réduit chez les deux populations de cette espèce.

Oxalis articulata Savigny présente un taux de fertilité très réduit dans les deux populations. Nous pouvons expliquer cette stérilité des grains de pollen par la cytomixie entre noyaux. Ce phénomène est très remarqué chez cette espèce. Le coefficient de corrélation entre la cytomixie entre noyaux et la fertilité pollinique est de -0.88.

Discussion

Singhal et Puneet Kumar, (2008), ont observé une forme irrégulière et une taille hétérogène des grains de pollen chez *M. aculeata*. Les mêmes auteurs ont également observé une variation dans les diamètres de pollen viable et non viable (4,87 à 54,84 μm). Ces auteurs expliquent cette diversité de taille par la variation de la teneur en ADN des grains de pollen et que la cytomixie est directement responsable de la différence de tailles et de la stérilité des grains de pollen chez *M. aculeata*. Les mêmes auteurs ont rapporté les travaux sur *Coix* (Sapre et Deshpande 1987), *Alopecurus arundinaceus* (Koul, 1990), *Polygonum tomentosum* (Haroun, 1995), *Hordeum vulgare* (Haroun 1996), *Brassica napus var. oleifera* et *B. campestris var oleifera* (Alice et Maria, 1997), et *Vicia faba* (Haroun *et al.*, 2004). Ces travaux ont montré des connexions cytoplasmiques entre des grains de pollen chez certains individus.

Conclusion

CONCLUSION

Le présent travail consiste en une étude cytogénétique de trois espèces du genre *Oxalis* présentes en Algérie : *Oxalis cernua* (*pers-caprae*) L., *Oxalis articulata* Savigny et *Oxalis corniculata* L. Nous avons appliqué des méthodes de la cytogénétique classique (analyse du comportement méiotique et l'analyse de la fertilité pollinique), sur des cellules mères de pollen en division échantillonnées principalement dans les régions de Béjaïa et de Blida.

Pour les cellules analysées en méiose, la coloration des chromosomes utilisée est l'orceine lactopropionique.

Le dénombrement chromosomique effectué sur les méioses polliniques en métaphase I et II a permis d'identifier le nombre chromosomique des espèces *O. cernua* et *O. articulata* Savigny. *O. cernua* est une espèce diploïde avec un nombre chromosomique $2n=2x=20$ et le nombre de base $x=10$. *O. articulata* Savigny s'est révélée tétraploïde avec un nombre chromosomique $2n=28$ et le nombre de base est de $x=7$. Pour *O. corticulata* L., nous n'avons pas pu dénombrer le nombre chromosomique car les chromosomes en métaphase sont agglutinés.

L'analyse méiotique et l'analyse de la fertilité pollinique des six populations des trois espèces de *Oxalis* L. nous a permis d'évaluer sept anomalies méiotiques : les univalents, les chromosomes retardataires, les ponts chromatiques, les cellules multipolaires, les micronoyaux et la cytomixie entre cellules et entre noyaux. Les cellules multipolaires et les micronoyaux sont les anomalies les plus fréquentes. Elles présentent le plus grand taux.

Ces analyses nous montrent une grande hétérogénéité chez les trois espèces. *Oxalis cernua* L., l'espèce qui présente les sept anomalies citées ci-dessus et avec des fréquences élevées est semi fertile. *Oxalis corniculata* L. se caractérise par des méioses régulières. Elle est fertile. *Oxalis articulata* présente des taux d'anomalies relativement élevés. Elle est caractérisée par un taux élevé de cytomixie entre noyaux. C'est une espèce stérile.

En perspective, nous comptons élargir cette étude cytogénétique à d'autres populations et de réaliser des analyses de mitose afin d'établir des caryotypes, des caryogrammes et des idiogrammes pour ces trois espèces du genre *Oxalis* L..

Références bibliographiques

Références Bibliographies

- Ater M., 2000.** Note sur la présence d'une forme stérile d'*Oxalis pes-caprae* L. au Maroc. *acta botanica malacitana* **25**. 2000. pp259 -263.
- Bayer E., Butter K.P., Finkenzeller X. et Gran J., 2005.** Guide de la flore méditerranéenne : caractéristique, habitat, distribution et particularités de 536 espèces, edd Delachaux et Niestlé S.A.
- Boussaha A., Hayouni A., Marouani A. and Ben Naceur M., 2014.** Diversité morpho génétique de l'*Oxalis pes-caprae*, L. au Péninsule du Cap Bon de la Tunisie, *International Journal of Innovation and Scientific Research ISSN 2351-8014*, Vol. **9** No. 2 Sep. 2014, pp. 376-385, c 2014 *Innovative Space of Scientific Research Journals*.
- Christine Horlow, Marie-Pascale Doutriaux, 2003.** Les mécanismes moléculaires de la méiose chez les plantes, M/S n° 6-7, vol. **19**, juin-juillet 2003.
- Christoph Heibl And Susanne S. Renner, 2012.** Distribution Models and a Dated Phylogeny for Chilean Oxalis Species Reveal Occupation of New Habitats by Different Lineages, not Rapid Adaptive Radiation, *Syst. Biol.* **61**(5): pp823–834, 2012, DOI:10.1093/sysbio/sys034.
- Couplan F., 2010.** Plantes urbaines, edd sang de la terre, pp 151.
- De Godoyi S. M., Rodrigues A., Pereira A., Romagnolo M. B., Riso-PascottoI. C., 2012.** Meiotic behavior during microsporogenesis of *Alchornea triplinervia* (Sprengel) Müller Argoviensis, *Ciência Rural*, eiotic behavior during microsporogenesis.
- Dupont F. et Guignard J. L., 2012.** Botanique les familles de plantes, edd 2012, Elsevier Masson SAS, pp299 (153).
- Jahier J., (1992).** Techniques de cytogénétique végétale. Edition INRA, Paris, pp181.
- Kaur M., and Singhal K. V., 2014.** First Report of Cytomixis and Meiotic Abnormalities in *Nepeta govaniensis* from Solang Valley, Kullu District, Himachal Pradesh ; Department of Botany, Punjabi University, Patiala-147002, Punjab, India ; 2014 *The Japan Mendel Society Cytologia* **79**(2): pp227–233.

Références bibliographiques

- Kravets, E. A., 2012.** Cytomixis and Its Role in the Regulation of Plant Fertility, Plant Developmental Biology, Institute of Food Biotechnology and Genomics, National Academy of Sciences of Ukraine, Journal of *Developmental Biology*, 2013, Vol. **44**, No. 3, pp. 113–128. © Pleiades Publishing, Inc., 2013, Original Russian Text © E.A. Kravets, 2013, published in *Ontogenez*, 2013, Vol. **44**, No. 3 pp. 147–165.
- Kumar G. and Singh Yadav R., 2012.** Induction of cytomixis affects microsporogenesis in *sesamum indicum* L. (pedaliaceae), developmental biology of plants, naithani plant genetics laboratory, department of botany, university of allahabad, allahabad, up, 211002 india, issn 1062_3604, russian journal of *developmental biology*, 2012, vol. **43**.
- Lourteig, A. 2000.** *Oxalis* L. subgénero Monoxalis (Small) Lourteig, *Oxalis* y Trifidus Lourteig. *Bradea* **7**: pp201–629.
- Mandal A. , Datta A. K., Gupta S., Paul R., Aditi S., Ghosh B. K., Bhattacharya A. et Iqbal M., 2013.** Cytomixis—a unique phenomenon in animal and plant ; *Protoplasma* (2013) 250:985–996 DOI 10.1007/s00709-013-0493-z ; Received: 8 August 2012 / Accepted: 27 February 2013 / Published online: 10 March 2013# *Springer-Verlag Wien* 2013.
- Marks G. E., 1955.** Chromosome numbers in the genus *oxalis*, Agricultural Research Council, Potato Genetics Station, Cambridge.
- Mursalimov S. R. Deineko E. V., 2014.** How cytomixis can form unreduced gametes in *tobacco*, *Plant Syst Evol* (2015) 301:1293–1297 DOI 10.1007/s00606-014-1150-5, *Springer-Verlag Wien* 2014.
- Mursalimov S. R., Sidorchuk Y.V. et Deineko E. V., 2013.** New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants, *Planta* (2013) 238:415–423 DOI 10.1007/s00425-013-1914-0, © *Springer-Verlag Berlin Heidelberg* 2013.
- Nesom Guy I., 2009.** Taxonomy of yellow-flowered caulescent *oxalis* (oxalidaceae) in eastern North America, journal of *the botanical research institute of texas* **3**(2), *j. bot. res. inst. texas* **3**(2): pp727 – 738.
- Nesom Guy I., 2009.** taxonomic notes on acaulescent *oxalis* (oxalidaceae) in the United States, *phytologia* (december 2009) **91**(3), 2925 hartwood drive fort worth, tx 76109, USA.
- Peter H. Raven (Biologiste), Georges B. Johnson, Kenneth A. Mason, 2011.** Biologie, edd. De Boeck Supérieur Amazon France, pp 1406.

Références bibliographiques

- Reis A. C., Sousa S. M., Viccini L. F., 2015.** High frequency of cytomixis observed at zygotene in tetraploid *Lippia alba*, *Plant Syst Evol* (2016) 302:121–127 DOI 10.1007/s00606-015-1249-3, Received: 17 June 2015 / Accepted: 14 September 2015 / Published online: 28 September 2015_ *Springer-Verlag Wien* 2015.
- Sidorchuk Y. V., Novikovskaya A. A., Deineko E. V., 2015.** Cytomixis in the cereal (Gramineae) microsporogenesis, *Springer-Verlag Wien* 2015, *Protoplasma* (2016) **253**:291–298 DOI 10.1007/s00709-015-0807-4.
- Singhal V. K. and Kumar P. 2008.** Impact of cytomixis on meiosis, pollen viability and pollen size in wild populations of Himalayan poppy (*Meconopsis aculeata* Royle); *J. Biosci.* **33** 371–380.
- Vaio M., Gardner Emswiller ., E. A., M. Guerra, 2013.** Molecular phylogeny and chromosome evolution among the creeping herbaceous *Oxalis* species of sections Corniculatae and Ripariae (Oxalidaceae), *Molecular Phylogenetics and Evolution* **68** (2013), pp 199–211.
- Yamashita K., 1935.** Zytologische Studien an *Oxalis* L. *Jap. J. Genet.*, vol. **11**, 36.
- Young D. P., 1958.** *Oxalis* in the British Isles. *Watsonia Jour. Bot. Soc. Brit. Isls.* Vol. **4**, 51-69.

Annexe

Annexe I

Préparation du réactif de Schiff

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

Préparation de Carnoy

- 6 volumes de l'alcool absolu (600 ml).
- 3 volumes de chloroforme (300 ml).
- 1 volume d'acide acétique (100 ml).

Préparation d'Orceine 1%

- 1 g d'orceine.
- 45 ml d'acide acétique glacial.
- 55 ml d'eau distillée porté à ébullition.

Continuer à bouiller jusqu'à la dissolution totale, laisser refroidir et filtrer.

Résumé

Résumé

Oxalis L. est un genre très diversifié dans la famille des Oxalidaceae. Il contient plus de 500 espèces principalement distribuées dans les régions sud américaines et sud africaines. Une étude caryologique est effectuée sur six populations de trois espèces de ce genre ; *O. pes caprae* L., *O. corniculata* L. et *O. articulata* Saviny. Une étude du comportement méiotique et de la fertilité pollinique sont menées. Six anomalies dont les chromosomes retardataires, les univalents, les ponts chromatiques, la cytomixie, les micronoyaux et les cellules multipolaires sont observées. *Oxalis pes-caprae* L. présente les six anomalies à la fois avec des taux d'anomalies de 42.81% et de 20.73% chez les populations de l'université Saad Dahleb (Blida) et du PNG (Béjaia) respectivement. Le taux de fertilité estimé est de 63.65% et de 65.13% pour les deux populations de Blida et de Béjaia respectivement. *Oxalis corniculata* L. présente des méioses régulières. Le taux d'anomalies est très bas allant de 1.89% chez la population de Targa Ouzamour à 3.48% chez la population d'Aamriw. Le taux de fertilité estimé est de 76.59% et de 94.32% chez les deux populations de Targa Ouzamour et de Aamriw respectivement. Le coefficient de corrélation entre le taux d'anomalies et la fertilité pollinique est de -0.76%. *Oxalis articulata* Saviny présente un taux d'anomalies de 23.80% chez la population de Targa Ouzamour et de 25.05% chez la population de Aamriw. L'anomalie la plus fréquente chez cette espèce est la cytomixie entre noyaux. Le taux de fertilité pollinique est de 4.36% et de 7.96% chez la population de Targa Ouzamour et Aamriw respectivement. De même, le coefficient de corrélation entre la cytomixie entre noyaux et la fertilité pollinique est égal à -0.88%.

Mots clé: *Oxalis* L., *O. pes caprae* L., *O. corniculata* L., *O. articulata* Savangy., anomalies méiotiques, fertilité pollinique.

Abstract:

Oxalis L. is a diversified genus in Oxalidaceae family. It contains more than 500 species mainly distributed in the southern US and South African regions. A Karyological study is conducted on six populations of three species of this genus : *O. pes caprae* L., *O. corniculata* L. and *O. articulata* Saviny. A meiotic behavior study and pollen fertility are conducted. Lagging chromosomes, monovalents, chromatic bridges, cytomixis, micronuclei and multipolar cells are observed. *Oxalis pes - caprae* L. presents six abnormalities with 42.81 % and 20.73 % in the University Saad Dahleb (Blida) and PNG (Bejaia) populations respectively. The estimated fertility rates were 63.65% and 65.13 % in the two populations

Résumé

Blida and Bejaia respectively. *Oxalis corniculata* L. has a regular meiosis. The abnormalities rate is very low ranging from 1.89 % in the population of Targa Ouzamour to 3.48 % in the population of Aamriw. The estimated fertility rates were 76.59 % and 94.32 % in two populations of Targa Ouzamour and Aamriw respectively. The correlation coefficient between abnormalities and pollen fertility is -0.76 %. *Oxalis articulata* Savigny has an abnormalities rate of 23.80 %. *Oxalis articulata* Savigny has an abnormalities rate of 23.80 % in Targa Ouzamour and 25.05 % in Aamriw . The most common abnormality in this species is the cytomixis between nuclei. The pollen fertility rates were 4.36 % and 7.96 % in Targa Ouzamour and in Aamriw respectively. Similarly, the correlation coefficient between cytomixis between nuclei and pollen fertility is equal to -0.88 %.

Keywords : *Oxalis* L., *O. pes caprae* L., *O.corniculata* L., *O.articulata* Savangy ,meiotic abnormalities , pollen fertility.