République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des sciences biologiques de l'environnement Spécialité : Biodiversité et Sécurité Alimentaire



Réf :

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

MASTER

Thème

Etude cytogénétique d'une accession des Eudicots basales (Angiospermes) dans la région de *Béjaïa*

Présenté par : Bouamara Dyhia et Idiri Meriem Soutenu le 16/07/2022

Devant le jury composé de :

M. A. ADJAOUD Mme M. OURARI Mme D. CHELLI.TAHTI MAA Président MCA Encadreur MAA Examinateur

Année universitaire : 2021 / 2022

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui m'ont guidée durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et m'a soutenu durant toute ma vie et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci chers parents.

A mes sœurs : Aini, Noumidia, Thanina et Thafsuth.

A mon frère : Massinissa.

Je remercie mon binôme Idiri Meriem qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail.

Enfin, A tous mes amis. A toutes les personnes chères à mon cœur.

Dyhia

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui m'ont guidée durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, mon cher papa qui a sacrifie toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, ma mère qui a été à mes côtés, qui m'a soutenue durant toute ma vie, merci mes chers parents.

A mes sœurs : Sara, Maria

A mon petit frère : Mohamed.

A mes chères tantes : tata lynda, Hayette, Noura et naima. Je remercie mon binôme Bouamara Dyhia qui a contribué à la réalisation ce modeste travail.

Enfin, a tous mes amis. A toutes personnes chères à mon cœur.

Meriem

Remerciements

Nous remercions tout d'abord " Allah" de nous avoir donné le courage, la patience et la confiance pour réaliser ce travail.

Nos remerciements s'adressent à notre encadreur madame **OURARI** pour la qualité de son encadrement, ses précieux conseils et son encouragement tout au long de ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements Mme **DJARFI-BOUALLAG**, pour son aide, son soutien et les conseils qu'elle nous a apportés tout au long de réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier M. Hamlat pour tous ses conseils et son aide.

Nous remercions M. **BAKOURI**, technicien du laboratoire Biologie et Physiologie Végétales à l'université A. Mira de Béjaïa pour ses conseils, son soutien et son inestimable gentillesse.

Nous remercions les membres de jury qui ont acceptés de juger notre travail.

Nous remercions tous ceux et toutes celles qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.

Liste des abréviations

CMp : Cellules mères de pollen

MN : Micronoyau

TF% : Taux de fertilité pollinique

E : Etamine

F : fleur

Ordr: Ordre

Lise des tableaux

N°	TITRE	PAGE
Tab. I	Nombre et taux de cellules méres régulières	21
Tab. II	Nombre et taux d'anomalies observées	23

Liste des figures

N°	TITRE	PAGE		
Figure.1	Différentes formes de tétrades à trois plans de cytocinèse.			
Figure.2	Coupe schématique d'un grain de pollen binuclée.			
Figure.3	Photographie originale d'un tube pendentif contenant desboutons floraux soumis une hydrolyse dans un bain marie			
Figure.4	Photographie originale d'une coloration simple à carmin acétique	15		
Figure.5	Photographie originale d'une préparation d'une lame après séparation des anthères	16		
Figure.6	Photographie originale de cellule mère de pollen du taxon Eudicots basale étudié (G :10x40), (barre d'échelle 10µm)	19		
Figure.7	Photographies originales de cellules mères de pollen en division méiotiquedans le taxon Eudicots basale étudié. a : prophase I ; b: métaphase I ; c: anaphase I ; d : télophase I ; e: prophase II ; f: métaphase II ; j: fin d'anaphase II ; h : télophase II ; i: tétrade (G :10x40), (barre d'échelle 10µm)	20		
Figure.8	Photographies originales de cellules multipolaires dans le taxon étudié a: triade ; b: hexade ; c: pentade, (G :10x40), (barre d'échelle= 10 μm)			
Figure.9	Photographies originales de cellues mères de pollen montrant des micronyaux (flèches) dans le taxon étudié. a: diade à micronyau ; b: triade à micronyau ; c: tétrade à micronyau(G :10x40), (barre d'échelle = 10 μm)	22		
Figure.10	Photographies originales de cellules mères de pollen montrant une cytomixie dans le taxon étudié (G :10x40), (barre d'échelle = 10μm)	23		

Figure.11	Photographies originales de grains de pollen avec des formes et des nombre d'apertures déférents (flèches). a : grain de pollen àune seule aperture ; b: grain de pollen à deux apertures ; c: grain de pollen à trois apertures; d : grain de pollen à quatre apertures (G : 10x40), (barre d'échelle=10μm)		
Figure.12	Production de grains de pollen par étamine présentée	25	
	par fleur (F : fleur ; E : étamine)		
Figure.13	Diagramme en bâtonnés représentant le nombre de grains de	27	
	pollen produits au niveau de chaque fleur		
Figure.14	Photographie originale montrant un grain de pollen non viable (B)entouré des grains de pollens viables (A: grain de		
	optique au grossissement (10x40), barre d'échelle=10µm.		
Figuro 15	Diagramme en bâtonnés représentant le taux de fertilité pollinique pour chaque étamine		
Figure.15			
Figure.16	Diagramme en bâtonnés présentant le taux de fertilité	21	
	pollinique au niveau des quinze fleurs étudiées		
Figure.17	Diagramme en boites à moustache montrant la variation de la surface des grains de pollen pour les étamines		
Figure 19	Diagramme en boites à moustache montrant la variation de		
rigure.18	la surface des grains de pollen entre les fleurs étudiées	51	

Sommaire

Liste des abréviations.	
Liste des tableaux.	
Liste des figures.	
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	3
1. Les Angiospermes	3
1-1-Généralités	3
1-2- Classification des Angiospermes	3
1-3- Eu-dicotylédones basales	4
2- La microsporogénèse	4
2-1- La méiose	4
2-2- Mécanismes moléculaires du déroulement de la méiose	5
2-3- Les anomalies de la méiose	6
2-3-1-Les micronoyaux	6
2-3-2- La polyploïdie	7
2-3-3- La Cytomixie	7
2-3-4- La ségrégation chromosomique irrégulière	7
2-3-5- La viscosité des chromosomes	7
2-3-6- Chromosomes retardataires	8
2-3-7-Chromosomes agglutinés	8
2-4-Les variations de la microsporogénèse	8

3- Pollen et viabilité pollinique	10
3-1- Définition du grain de pollen	10
3-2- Description morphologique du pollen	10
3-2-1- La taille	10
3-2-2- La paroi	10
3-2-3- Les apertures	11
3-3- Evolution des caractères polliniques au sein des Angiospermes	11
Chapitre II : Matériels et méthodes d'étude	13
1- Origine du matériel végétal étudié	13
2- Les solutions utilisées	13
2-1- Le fixateur	13
2-2- HCL 1N	13
2-3- Le colorant à carmin acétique	14
2-4- Bleu de Cotton	14
3- Méthode utilisée pour l'analyse de la méiose	14
4- Méthode utilisée pour l'étude de la fertilité pollinique	16
4-1-Observation et comptage	17
5-Analyse de la surface de grains de pollen	17
6-Analyse de la variance et coefficient de variation	17
6-1-Coefficient de variation	18
Chapitre III : Résultats et discussion	19
1-Analyse de la méiose pollinique	19

1-1-Les différents stades observés en méiose	19
1-1-1Nombre et taux de cellules méres égulieres	20
1-2-Les différentes anomalies observés en méiose	21
1-2-1-Cellules multipolaires	21
1-2-2-Les micronoyaux	22
1-2-3- Cytomixie	22
1-2-4-Nombres et taux d'anomalies observées en méiose	23
2-Analyse du pollen	24
2-1-Forme et nombre d'apertures des grains de pollen	24
2-2- Production de pollen	24
2-2-1- Production par étamines	24
2-2-2- Production par fleurs	26
2-3-Fertilité pollinique	27
2-3-1- Fertilité pollinique par étamines	28
2-3-2- Fertilité pollinique par fleur	31
2-4-Variation de la surface des grains de pollen	32
2-4-1- Variation au sein de la même fleur	32
2-4-2- Variation entre les fleurs	36
Conclusion	38
Liste bibliographiques	

Annexes

Résumé

Introduction

La connaissance, la classification, la caractérisation et la conservation des différents taxons sont une priorité scientifique mondiale pour l'évaluation et la gestion de la biodiversité (Cotterill, 1995). Les efforts consentis en faveur de l'étude de la flore sont très importants pour connaître les grands traits biologiques des plantes et leur répartition biogéographique (Lavergne et al., 2005).

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité : méditerranéenne, saharienne et paléo-tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (Quézel et Santa, 1962-1963). Elle regroupe des espèces importantes sur le plan économique, et sur le plan des études théoriques en relation avec l'histoire géologique ou climatique de la région. Elle regroupe également des espèces endémiques, rares ou en voie de disparition. Leur étude est devenue aujourd'hui fondamentale et absolument indispensable pour qu'elle soit correctement exploitée ou préservée.

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

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées à l'analyse cytogénétique d'une espèce d'Angiospermes (Eudicots basales) de la région de Béjaïa.

Une étude du déroulement des méioses polliniques, de la production du pollen, de la fertilité pollinique et de la surface de grains de pollen est menée. La variation de la surface du grain de pollen au sein de la même fleur et entre fleur au sein de la population est déduite.

En vue de répondre à cette problématique, le présent travail sera structuré en trois chapitres distincts :

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique traitant des Angiospermes, des Eu-dicotylédones basales et enfin de la méiose et du pollen chez les Angiospermes.

Le deuxième chapitre est consacré à la présentation du matériel végétal; du matériel de laboratoire ainsi que des différentes méthodes suivies pour réaliser ce travail.

Enfin, le dernier chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus et leur interprétation, et nous terminons par une conclusion.

1. Les Angiospermes

1-1-Généralités

Le terme « Angiospermes » vient du grec « *aggeion* » signifiant « capsule » et « *sperma* » signifiant « semence ». Ce sont des plantes faisant partie d'un sousembranchement des Spermatophytes (plantes à ovules). C'est un groupe diversifié avec un grand succès écologique ; il représente90 % des espèces de plantes terrestres actuelles. Cette diversité spécifique est, également, reflétée dans la diversité des caractéristiques végétatives. Les Angiospermes s'adaptant à presque tous les écosystèmes terrestres. Elles présentent une répartition cosmopolite allant du cercle arctique jusqu'aux côtes antarctiques, présentant une richesse en familles particulièrement élevée à l'équateur des continents américains et asiatiques (Espinosa Moreno, 2019). Il a été montré que les conditions climatiques sont un des facteurs déterminants pour la richesse en familles herbacées tandis que l'équateur américain présente la plus grande richesse en familles herbacées tandis que l'équateur asiatique est particulièrement riche en familles d'arbres. Ce succès évolutif est à relier à la diversité morphologique végétative, mais aussi à la diversité de la structure florale responsable de la reproduction (Espinosa Moreno, 2019).

1-2- Classification des Angiospermes

Depuis la naissance de la botanique, plusieurs systèmes de classification des Angiospermes ont été proposés et particulièrement depuis le système de Linné (*SpeciesPlantarum*, 1753). Aujourd'hui le plus adopté par la plupart des botanistes est les systèmes APG (Angiosperm Phylogeny Group) qui n'utilise plus une hiérarchie des caractères observables mais une comparaison génétique partielle notamment d'ADN en fondant avant tout sur les relations de parenté (phylogénie) des Angiospermes, ce qui garantit à cette classification une réelle stabilité et une grande pérennité (contrairement aux systèmes antérieurs).

La classification APG (1998) est la première classification botanique des Angiospermes établie selon les travaux de l'Angiosperms Phylogeny Group ; la deuxième est la classification phylogénétique APG II (2003) ; la troisième est la classification phylogénétique APG III (2009) et la quatrième version de la classification phylogénétique APG IV est parue en 2016 et c'est une modification de la classification phylogénétique III.

1-3- Les Eu-dicotylédones basales

Les Eudicots, ou Eudicotyledoneae (Cantino *et al.*, 2007), sont considérés comme un groupe monophylétique fortement soutenu dans le système du Groupe de Phylogénie des Angiospermes (APGIII, 2009 ; APGIV, 2016), incluant plus de 200 000 espèces, comprenant environ 75% des espèces d'Angiospermes existantes et englobant une énorme diversité morphologique, biochimique, anatomique, et écologique (Drinnan *et al.*, 1994; Judd et Olmstead, 2004; Furness *et al.*, 2004; Moore *et al.*, 2010). Les Eudicots ont d'abord été reconnus et définis morphologiquement comme le clade Tricolpate sur la base de l'importante synapomorphie de trois apertures polliniques 'tricolpates' ou des types dérivés de celles-ci (Donoghue et Doyle, 1989 ; Doyle et Hotton, 1991). Au sein des Eudicots, quelques lignées, dont les Ranunculales, les Sabiaceae, les Protéales, les Trochodendrales et les Buxales, ont été révélées par des études phylogénétiques comme représentant les branches les plus anciennes et sont appelées " basaleudicots " ou " first/early diverging eudicots " (Chase *et al.*, 1993 ;Savolainen *et al.*, 2000a ; 2000b ; Soltis *et al.*, 2007).

2- La microsporogénèse

La microsporogénèse, ou méiose mâle des Angiospermes, comprend l'ensemble des étapes permettant de passer d'une cellule mère diploïde à quatre microspores haploïdes, par l'intermédiaire de la méiose. Avant de se diviser, la cellule mère s'entoure d'une paroi de callose. Suivent alors la première et la deuxième division de méiose. Des parois de callose se forment entre les microspores, qui restent assemblées dans des tétrades avant que la callose ne soit dégradée à la fin de la microsporogenèse, libérant ainsi les microspores, qui constituent les futurs grains de pollen (Prieu, 2015).

2-1- La méiose

La méiose est une étape essentielle pour tous les organismes à reproduction sexuée. Elle forme les gamètes mâles et femelles desquels résultera après fécondation, un nouvel individu diploïde. Elle donne naissance à des cellules haploïdes (spores ou gamètes). C'est un processus de grande stabilité évolutive réduisant le nombre de chromosomes (Pagliarini, 2000).

Durant la méiose, deux étapes de ségrégation des chromosomes se déroulent. Dans

la première division, appelée réductionnelle (méiose I), les chromosomes parentaux se séparent. Dans la deuxième division, dite division équationnelle (méiose II), ce sont les chromatides sœurs qui se séparent.

2-2- Mécanismes moléculaires du déroulement de la méiose

La méiose est caractérisée par deux divisions successives (nommées méiose I, méiose II) précédées d'un évènement unique de réplication, pendant lequel deux copies exactes de chromosomes homologues paternel et maternel sont créés. Ces copies sont appelées chromatides sœurs et elles sont connectées entre elles par les cohésines.

La première division méiotique est dite **réductionnelle** car elle permet la ségrégation des chromosomes homologues parentaux. La méiose II est, quant à elle, **équationnelle** et se rapproche d'une mitose car elle permet la séparation des chromatides sœurs. En conséquence, chaque cellule diploïde génère quatre cellules haploïdes. Les différentes étapes de la méiose sont comme suit (Tagliaro Jahns, 2014) :

- La prophase I : c'est l'étape la plus longue et la plus complexe de la méiose. La durée de la prophase méiotique est bien supérieure à celle de la mitose et est très variable en fonction de l'espèce (Armstrong *et al.*, 2003). C'est à cette étape qu'un grand nombre d'événements tels que la compaction de la chromatine autour des axes, l'association entre les chromosomes homologues (mise en place du complexe synaptonémal) et la recombinaison homologue se réalisent (Zickler et Kleckner, 1998).La prophase est divisée en 5 stades distincts : le leptotène, le zygotène, le pachytène, le diplotène et la diacinèse (Wettstein *et al*, 1984; Zickler et Kleckner, 1999).Suite à la phase de réplication, les chromosomes sont composés de deux chromatides sœurs identiques maintenues ensemble par les cohésines.

>Au stade leptotène, une structure protéique appelée élément axial se forme le long de chaque paire de chromatides sœurs pour former une structure continue.

>Lors du zygotène, les chromosomes homologues commencent à s'apparier ; les éléments axiaux de chaque homologue s'assemblent pour former le complexe synaptonémal.

>En pachytène, la synapsis est complète entre les chromosomes homologues. La recombinaison méiotique s'achève par la réparation des cassures double brin conduisant, entre autres, à la formation de crossing-over qui sont des échanges réciproques de matériel génétique.

>En diplotène, le complexe synaptonémal se dépolymérise.

>En diacinèse, les chromosomes continuent leur condensation. Les chromosomes

homologues sont facilement identifiables à ce stade et les chiasmata (manifestation cytologique des crossover) sont identifiables. L'enveloppe nucléaire disparait en fin de diacinèse (Hamant *et al.*, 2006 ; Pawlowski et Cande, 2005).

> En métaphase I, les bivalents se placent et s'alignent sur la plaque métaphasique ; chaque homologue étant capturé par des fibres de microtubules émanant des pôles opposés de la cellule. Les « kinétochores sœurs » (présents sur chaque chromatide sœur) sont monoorientés.

>L'élimination de la cohésion le long des bras déclenche l'anaphase I. Les chromosomes homologues s'éloignent l'un de l'autre grâce à la traction exercée par le fuseau. Ils formeront deux lots de chromosomes à deux chromatides.

>En télophase I, le fuseau disparait, les chromosomes se décondensent et une nouvelle membrane nucléaire peut apparaître. A ce stade, la cytodiérèse n'est pas obligatoire. Suite à cette première division, une seconde va être initiée sans phase de réplication préalable.

>En méiose II, les chromosomes vont à nouveau se condenser. Lors de la métaphase II, ces chromosomes à deux chromatides vont s'aligner sur la plaque métaphasique et le fuseau de microtubules se forme à nouveau. Les kinétochores sœurs sont désormais bi-orientés permettant un accrochage bipolaire chromosomes. Ainsi chaque chromatide sœur est capturée par des fibres de microtubules et attirée vers les pôles opposés de la cellule après destruction de la cohésion encore présente au centromère. En fin d'anaphase II, quatre cellules haploïdes sont produites (Marston et Amon, 2004).

2-3- Les anomalies de la méiose

2-3-1-Les micronoyaux

Lors de la télophase I ou II, lorsque les chromatides sœurs séparées se décondensent et l'enveloppe nucléaire se reforme autour d'elles, des chromosomes isolés dans l'espace ou des fragments de chromosomes se décondensent également, formant un petit noyau rond entouré de sa propre membrane nucléaire (Potapova *et al.*, 2017). Ainsi, des chromosomes retardataires ou de la chromatine issue de la cytomixie sont à l'origine de la formation de micronoyaux (Sidorchuk *et al.*, 2016). Le piégeage de la chromatine des chromosomes en retard dans le sillon de clivage semble être un mécanisme courant pour générer des micronoyaux (Potapova *et al.*, 2017).

2-3-2- La polyploïdie

Le terme de polyploïde qualifie les individus ou les cellules qui présentent plus de deux lots de chromosomes. Plusieurs types de polyploïdes sont distingués selon les évènements qui sont à leur origine (Chen et Ni, 2006; Chen, 2007). Les autopolyploïdes au sein desquels des génomes, provenant d'une même espèce, sont juxta posés sont composés de plusieurs jeux de chromosomes homologues. Les allopolyploïdes, quant à eux sont formés après hybridation interspécifique rassemblant dans un même génome deux sous génomes différents.

2-3-3- Cytomixie

La cytomixie a d'abord été décrite par Arnoldy (1900) dans les organes reproducteurs des gymnospermes puis par Körnicke (1901) dans des cellules mères de pollen (PMC) de *Crocus sativus*. Par la suite, Gates (1908) a observé des fils délicats de cytoplasme reliant des PMC adjacentes chez des espèces de *Oenothera* (Mursalimov *et al.*, 2013 ; Ranjbar *et al.*, 2014). En 1911, Gates appelle cytomixie ce qui lui est paru être une migration de la chromatine d'une cellule-mère de pollen vers une autre (De Nettancourt, 1964). Le phénomène de cytomixie est défini comme la migration de la matière chromatique entre les cellules proximales par des connexions cytoplasmiques ou des ponts intercellulaires et des canaux cytomictiques ainsi que par la dissolution de la paroi cellulaire (Mursalimov *et al.*, 2013 ; Kaur et Singhal, 2014).

2-3-4- La ségrégation chromosomique irrégulière

Elle consiste en la migration précoce des chromosomes vers les pôles en métaphase, et des chromosomes retardataires pendant l'anaphase. Ces anomalies peuvent conduire à la formation de micronoyaux. Ces derniers peuvent provenir de chromosomes univalents pendant la diacynèse ou la métaphase I (Pagliarini, 2000 ; Mendes-Bonato *et al.*,2001 ; Godoy *et al.*,2012).

2-3-5-Viscosité des chromosomes

C'est une agrégation chromosomique qui peut être observée à n'importe quelle phase du cycle cellulaire, et le nombre de chromosome impliqués est variable. Elle peut être causée par des facteurs environnementaux, et aussi génétiques. Cette viscosité induit la formation d'un noyau pycnotique qui, à son tour, aboutit à la dégénérescence de la chromatine. Gaulden

(1987) suggère que la viscosité des chromosomes résulte d'un changement dans l'une des protéines non histones spécifiques (topoisomérase II et protéines périphériques), soit par une mutation dans les gènes structuraux de ces protéines ou par une action directe de mutagènes sur ces dernières (Pagliarini, 2000 ; Bione *et al.*, 2000 ; Mende-Bonato *et al.*, 2001 ; Sheidai et Fadaei, 2005).

2-3-6-Chromosomes retardataires

Ils sont issus d'une séparation défectueuse des chromosomes homologues lors de l'anaphase I. Ils sont dus à une mutation au niveau du gène *Ask*1 (insertion dans un gène qui code pour un composant du système d'ubiquitinylation). Ce gène est homologue de *Skp* chez la levure. De ce fait, les auteurs proposent que le gène *Ask* est responsable de la dégradation des structures qui connectent les chromosomes homologues (Horlow et doutriaux, 2003).

2-3-7- Chromosomes agglutinés

Les chromosomes agglutinés sont caractérisés par un regroupement intense de chromosomes durant une des phases de la division cellulaire (Rao *et al.*, 1990) qui peut être causé par des facteurs environnementaux tels que les rayons x, la température, les compositions du sol (Mendes *et al.*,2001), ou par le contrôle génétique. Généralement ce phénomène affecte la viabilité des grains de pollen et contribue à la formation d'autres anomalies telles que les monades, les dyades et les triades (Pagliarini 2000; Mendes *et al.*, 2001; Kiihl, 2011).

2-4-Les variations de la microsporogénèse

La microsporogénèse est déterminée par le type de cytocinèse (deux états : successifs ou simultanés) et de la formation de la paroi qui va ainsi constituer une tétrade de microspores qui, selon le nombre et la disposition des noyaux au cours de la méiose, peut adopter différentes formes (Wodehouse, 1935).

A. La cytocinèse

La cytocinèse (cytodiérèse ou cytokinèse) est une division du cytoplasme suivant généralement la division du noyau à la fin de la mitose ou de la méiose I et II. Elle est le processus par lequel le cytoplasme d'une cellule eucaryote se divise pour former deux cellules. Le processus biologique de la division d'une cellule implique que le plasma et les autres constituants de la cellule mère sont divisés entre les cellules filles en formant des membranes cellulaires entre elles. Il en résulte généralement deux cellules filles, parfois plus. Ainsi, chez les plantes à fleurs, il existe deux types principaux de cytocinèse : la cytocinèse successive et la cytocinèse simultanée (Sannier, 2006).

B. Formation de la paroi

C'est au niveau des plans de cytocinèse que les parois de callose vont se former (Ressayre *et al.*, 2002) :

a. de manière **centripète** par rapport à la **tétrade** : les parois se forment à partir de la paroi extérieure de la tétrade vers son centre.

b. de manière **centrifuge** par rapport à la **tétrade** : les parois se forment à partir du centre de la tétrade vers la paroi extérieure.

c. de manière centrifuge par rapport aux **plans de division** : les parois se forment à partir du centre de chaque plan vers leur périphérie.

d. de manière **centripète** par rapport aux **plans de division** : les parois se forment à partir du bord de chaque plan vers leur périphérie.

C. La forme des tétrades

Une tétrade c'est un assemblage de quatre microspores séparées par de la callose. Les variations décrites précédemment ainsi que le nombre et l'organisation des noyaux au cours de la méiose ont un impact sur la forme de la tétrade obtenue. Trois grandes catégories de formes de tétrades peuvent être observées (Longly et Waterkeyn, 1979b ; Ressayre *et al.*, 2002) (Fig. 1) :

a. Les tétrades tétragonales ou décussées, définies par trois ou quatre plans de division,

b. Les tétrades rhomboïdales qui comptent cinq plans de division.

c. Les tétrades tétraédriques définies par six plans de division.



Fig. 1 : Différentes formes de tétrades à trois plans de cytocinèse (Sannier, 2006)

3- Pollen et viabilité pollinique

3-1- Définition de grain de pollen

Le grain de pollen, ou microgamétophyte, est un petit organisme haploïde, produit par le sporophyte lors de la reproduction. Chez les angiospermes, il comprend deux (ou parfois trois) cellules au moment de sa libération (fig.2). Il est alors transporté (par un vecteur animal ou par le vent) sur le stigmate d'une autre fleur, où il va germer et produire un tube pollinique. Ce tube assurera la fécondation en transportant les gamètes mâles jusqu'à l'ovule, permettant ainsi la formation d'une graine (Prieu ; 2015).

3-2- Description morphologique du pollen

3-2-1- La taille

Les grains de pollen ont des tailles, des formes et des structures de surface très diverses et peuvent souvent constituer des caractéristiques de l'espèce ou du genre. La plupart des grains de pollen ont une taille comprise entre 10 et 100 microns, le plus petit étant d'un diamètre de 5 μ m chez *Myosotis*, le plus gros étant chez *Cucurbita* avec un diamètre de 170 à plus de 200 microns (Prieu, 2015).

3-2-2- La paroi

Les grains de pollen sont dotés d'une double paroi particulière. La couche extérieure ou **exine** est constituée principalement de **sporopollénine**, une substance extrêmement résistante. C'est une couche rigide, qui assure une protection mécanique, et une certaine imperméabilité. La couche interne ou **intine** est de nature pectocellulosique, et est plus souple que l'exine. Elle fait surface au niveau des apertures, qui sont les sites de la paroi

dépourvus d'exine (Prieu, 2015).

3-2-3- Les apertures

Une aperture est une ouverture dans la paroi du grain de pollen, permettant la sortie du tube pollinique (Fig. 2). Fondamentalement, il y a une seule ou trois apertures. Elle est une zone d'amincissement de l'exine du pollen, caractérisant notamment l'appartenance des plantes aux classements des Monocotylédones ou des autres Angiospermes. C'est au niveau des apertures que germe le tube pollinique, et que se font les échanges avec le milieu extérieur notamment les échanges hydriques et la respiration (Heslop-Harrison, 1979 ; Edlund *et al.*, 2004). Les apertures ont également une fonction mécanique, dans la mesure où elles permettent l'accommodation des variations de volume (harmomégatie) (Wodehouse, 1935; Payne, 1972).



Fig.2. Coupe schématique d'un grain de pollen binuclée (Prieu, 2015).

3-3- Evolution des caractères polliniques au sein des Angiospermes

Walker et Doyle (1975) ont proposé une hypothèse des voies d'évolution, à l'échelle des Angiospermes, pour les caractères polliniques. Ils ont également étudié l'évolution du type apertural, mais seulement à l'échelle des Magnoliidées. On retrouve certaines tendances comme le passage du pollen monosulqué au pollen tricolpé par l'intermédiaire du pollen trichotomosulqué. Le pollen inaperturé ressort également comme un intermédiaire importantentre le pollen monosulqué et les formes polliniques à multiples apertures. Le grain

de pollen monosulqué est considéré comme la forme ancestrale aux Magnoliidées. Il est par contre difficile de savoir si ces tendances évolutives se retrouvent à l'échelle des Angiospermes. Finalement, la seule tendance communément admise concernant l'évolution du type apertural est une augmentation du nombre d'apertures au cours de l'évolution des Angiospermes (Chaloner, 1976). Walker et Doyle (1975) ont également effectué un travail sur l'évolution chez les Angiospermes de la forme, de la symétrie et de la polarité du grain de pollen ainsi que sur l'évolution de l'exine et de son unité de dispersion. Selon cette étude, le grain de pollen ancestral aux Angiospermes était allongé, en forme de bateau, hétéropolaire et à symétrie bilatérale. Son exine était sans doute de type tectéimperforé et sa dispersion s'effectuait isolément des autres grains de pollen. Cependant, datant de 1975, ils sont fondés sur les classifications des Angiospermes de Takhtajan (1966) et Cronquist (1968). Ces classifications, quoique d'une importance capitale au moment de leur publication, ont depuis, été grandement remaniées. Citons les Magnoliidées qui étaient considérées comme les Angiospermes les plus basales or, selon l'APG (Stevens, 2001), ce sont les Amborellales, les Nymphaeales et les Austrobaileyales qui occupent cette place. Il serait intéressant de revoir les tendances évolutives des caractères polliniques proposées par Walker et Doyle (1975) à la lumière de la phylogénie des Angiospermes telle qu'elle est connue aujourd'hui.

Matériel et méthodes d'étude

Dans cette partie nous allons présenter le matériel et les méthodes de manipulation utilisés dans ce travail afin de répondre à notre problématique posée dans l'introduction. L'espèce étudiée est une espèce d'Angiospermes de la famille des Ranunculaceae. L'une des caractéristiques de la fleur de cette espèce est la cyclisation.

1- Origine du matériel végétal étudié

Les fleurs de l'espèce étudiée sont prélevées le 05/11/2020 au niveau du campus de Targa Ouzemour de l'université d'Abderrahmane Mira et fixées *in situ* dans du Carnoy.

2- Les solutions utilisées

2-1- Le fixateur

Le fixateur assure un arrêt rapide des divisions cellulaires sans détruire la structure chromosomique, et une bonne conservation du matériel végétal, par son rôle aseptisant, pendant une longue période (Jahier et al., 1992). Le fixateur détruit toute vie cellulaire. Il a 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 (Löve et Löve, 1975 ; Jahier et al., 1992).

Le fixateur utilisé pour les boutons floraux et qui est le Carnoy est préparé comme suit :

- 1volume d'acide acétique
- 3volume de chloroforme
- 6volume d'éthanol

2-2- HCL 1N

Pour un volume de 500 mL d'HCl 1N, on utilise 44.5 mL de HCl fumant. Sous la hotte, on verse d'abord une bonne quantité d'eau puis on ajoute HCL fumant puis affiner l'ajustement à 500 mL.

2-3- Le colorant à carmin acétique

Le colorant utilisé pour l'analyse méiotique est à base de carmin acétique qui a était mise au point par Belling en 1921 (Jahier, 1992) et il est composé de :

-10g de carmin.

-1L d'eau acétique (45% acide acétique).

- Dans un grand erlenmeyer (2L) ; porter l'eau acétique à ébullition. Verser le carmin et faire mijoter la solution pendant 5mn.

- Laisser décanter jusqu'à refroidissement puis filtrer.

2-4- Bleu de Cotton

Le colorant est préparé selon le protocole de Mertens et Hammersmith (1998). Il 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).

3- Méthode utilisée pour l'analyse de la méiose

La méthode utilisée passe par plusieurs étapes (Jahier , 1992) :

- Hydrolyse à l'acide chlorhydrique 1N

Des boutons floraux de différentes tailles sont soumis à une hydrolyse acide pendant 5min dans HCL 1N à 60°C dans un bain-marie (Fig.3). Les échantillons sont ensuite rincés à l'eau du robinet pour assurer l'élimination de l'acide chlorhydrique. Cette étape permet la fixation du colorant, de ramollir les parois cellulaires ; d'éclaircir le cytoplasme et d'obtenir un bon étalement des chromosomes.



Figure.3 : Photographie originale d'un tube pendentif contenant des boutons floraux soumis une hydrolyse dans un bain marie

- Coloration

Les boutons floraux précédemment hydrolysés ont soumis à une coloration au carmin acétique pendant 3 minutes dans un bain-marie à 60°C (Fig.4) afin d'améliorer la visibilité des chromosomes lors de leur observation.



Figure.4: Photographie originale d'une coloration simple à carmin acétique

- Préparation des lames

Sous une loupe binoculaire, avec une pince propre, le bouton floral est déposé sur une lame porte objet de microscope dans une goutte d'eau, et à l'aide d'une aiguille, les anthères sont séparées sur différentes lames. Une goutte de carmin acétique est ajoutée sur chaque lame (Fig.5) et la préparation est ensuite recouverte d'une lamelle. Après une légère pression sur la lamelle, l'observation est faite d'abord au faible grossissement, avant de passer aux plus forts.



Figure. 5 : Photographie originale d'une préparation d'une lame après séparation des anthères

- L'observation

Sous le microscope optique, les cellules mères polliniques à des différentes phases méiotiques sont observées à différents grossissements (G=10x10 ou G=10x40). L'observation des chromosomes est obtenue par un grossissement supérieur le plus souvent avec le grossissement (G = 10x100). 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. Les lames sont conservées pendant quelques jours en les lutant avec du vernis à ongles transparent. Les bonnes préparations sont photographiées à l'aide de la caméra du smartphone ' Redmi note 9S et Redmi 9T'.

4- Méthode utilisée pour l'étude de la fertilité pollinique

L'étude de la fertilité pollinique est réalisée sur quinze (15) fleurs de tailles différentes. L'étude est faite sur quatre anthères pour chaque fleur et le dénombrement est fait pour chaque anthère individuellement afin d'estimer la variabilité interindividuelle (entre les anthères de chaque fleur) et intra individuelle (entre les différentes fleurs). La technique utilisée est inspirée du protocole de Mertens and Hammersmith (1998) qui consiste à réaliser une coloration au bleu de coton. Sur une lame porte objet, les anthères de

chaque fleur sont dégagées des autres pièces florales et chaque anthère est mise seule sur une lame et est ensuite morcelée dans une goutte d'eau à l'aide de deux aiguilles pour libérer le pollen sous une loupe binoculaire. Une goutte de bleu de coton est déposée sur les grains de pollen après avoir éliminé les débris des anthères. La lame est ensuite recouverte d'une lamelle.

4-1- Observation et comptage

Après coloration pendant au moins une demi-journée, le pollen est observé au microscope optique à l'objectif 10. Les grains de pollen sont observés pour mesurer leur taille et compter le nombre de grains normaux (fertiles) et le nombre de grains anormaux (stériles). Les grains de pollen colorés uniformément et ayant une forme bien définie sont considérés comme viables et fertiles, alors que ceux de forme et de taille anormales et non colorés uniformément sont considérés comme non viables et stériles.

Le taux de fertilité pollinique (TF) est calculé selon la formule suivante :

 $TF \% = \frac{N}{N+AN} \ge 100$, avec : **TF** : Taux de fertilité pollinique (en %), **N** : Nombre de grains de pollen fertiles (normaux), **AN** : Nombre de grains de pollens non fertiles (anormaux).

5- Analyse de la surface de grains de pollen

La mesure de la surface des grains de pollen est réalisée pour les quinze fleurs analysées et à l'aide des logiciels.

Pour les quatre anthères de chaque fleur, nous avons sélectionné cent (100) grains de pollens viables en utilisant le logicielle **Photoshop** afin de réaliser les mesures de leurs surfaces à l'aide de logicielle **ImageJ.** Les résultats obtenus avec ce dernier sont ensuite utilisés pour analyser la variation de la surface des grains de pollen en utilisant le logiciell **Statistica.**

6 - Analyse de la variance et coefficient de variation

En utilisant l'ANOVA, nous avons pu faire l'analyse de la variance et calculer le coefficient de variation de la surface des grains de pollen au sein de la même fleur et entre les fleurs.

6-1-Coefficient de variation

Le coefficient de variation est défini comme le rapport entre l'écart-type σ et la moyenne μ . Il est généralement exprimé en pourcentage. $CV = \frac{\sigma}{\mu} \times 100$.

1-Analyse de la méiose pollinique

L'analyse de la méiose faite sur l'espèce étudiée 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. La figure 6 montre une cellule mère de pollen en métaphase I. cette cellule montre 08 bivalents indiquant nombre chromosomique de 16 chromosomes avec un nombre chromosomique de base n=08 chromosomes.



Figure. 6. Photographie originale de cellule mère de pollen du taxon Eudicots basale étudié (G :10x40), (barre d'échelle 10µm).

1-1- Les différents stades observés en méiose

Les différentes phases de la méiose pollinique observées chez l'espèce étudiée sont illustrées dans la figure 7.



Figure. 7. Photographies originales de cellules mères de pollen en division méiotique dans le taxon Eudicots basale étudié. a : prophase I ; b : métaphase I ; c : anaphase I ; d : télophase I ; e : prophase II ; f : métaphase II ; j : fin d'anaphase II ; h : tétrade ; (G : 10x40), (barre d'échelle 10μm)

Lors de la méiose I, les chromosomes repliqués s'apaississent et se condensent en prophase I (Fig. 7a). Les chromosomes homologues viennent se situer côte à côte et chaque paires de chromosomes est appelée bivalent visible en métaphase I. Nous voyons que les bivalents sont orientés au hasard sur le plan équatoriel (Fig. 7b).

Lors de l'anaphase I, les chromosomes homologues se sépaent et migrent aux pôles opposés (Fig. 7c)) ce qui permet la réduction de nombre chromosomique de l'état diploïde à l'état haploïde. Les chromosomes ont atteint les pôles et l'enveloppe nucléaire se forme en télophase I (Fig. 7d).

Au cours de la méiose II, le fuseau achromatique se forme en prophase II et les chromosomes individualisés se placent sur la plaque équatorielle lors de la métaphase II (Fig. 7e). En anaphase II, le centromère de chaque chromosome se divise pour permettre la migration des chromosomes homologues aux pôles. Chaque cellule se devise en deux cellules filles et forment ce qu'on appelle des tétrades au cours de la télophase II (fig.7f).

1-1-1- Nombre et taux de cellules méres régulières

Le nombre et le taux de cellules méres à différentes phases de la méiose sont présentés dans le tableau 1 :

Stade	Nombre	%
Prophase I	1258	4.81
Métaphase I	3067	11.73
Anaphase I	12	0.046
Télophase I	288	1.10
Prophase II	1797	6.87
Métaphase II	16	0.061
Tétrades	18920	72.36
Σ de CMp	26144	100
Σ de CMp régulière	25358	96.99

Tab. I : Nombre et taux de cellules méres régulières dans le taxon étudié

Selon les résultats statistiques représentés dans le tableau I, nous deduisons que 96.99% de cellules mères du taxon étudié ont une méiose régulière.

1-2- Les différentes anomalies observées durant la méiose

La division méiotique a révélé la présence d'anomalies telles que les tétrades anormales (triades, pentade, hexades), les micronoyaux et la cytomixie. Les résultats sont illustrés dans les figures 8,9 et 10.

1-2-1-Cellules multipolaires

Ces anomalies qui correspondent aux diades, aux triades, aux pentades et aux hexades (Fig.8) seront liées à la formation de chromosomes retardataires et de micronoyaux (Pupilli *et a*l. 1995 ; Mendes- Bonato *et al.*, 2001). Elles peuvent être le résultat d'une ségrégation chromosomique irrégulière selon Mendes- *Bonato et al.* (2001). Dans le taxon étudié, les triades représentent 2.54%, les pentades représentent 0.022% et hexade 0.0076.



Figure. 8 : Photographies originales de cellules multipolaires dans le taxon étudié a : triade ; b : hexade ; c : pentade (G :10x40) , (barre d'échelle = 10 μm)

1-2-2-Les micronoyaux

Les micronoyaux peuvent être le résultat d'une ségrégation chromosomique irrégulière.



Figure 9 : Photographies originales de cellues mères de pollen montrant des micronyaux (flèches) dans le taxon étudié. a : diade à micronyau ; b : triade à micronyau ;c : tétrade à micronyau observés au microscpe optique (G : 10x40) (barre d'échelle = 10μm)

1-2-3- Cytomixie

Au cours de l'analyse des cellules mères polliniques, nous avons observé des migrations de matériel génétique (coloré en rouge par le carmin acétique) entre deux ou plusieurs cellules adjacentes (Fig. 10). C'est ce qu'on appelle 'cytomixie'.

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 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 microsporogénése et enfin l'influence des gènes (Bellucci *et al*. 2003).


Figure. 10: Photographies originales de cellules mères de pollen montrant une cytomixie dans le taxon étudié (G :10x40) (barre d'échelle = 10 μm)

1-2-4- Nombres et taux d'anomalies observées en méiose

Le nombre et les taux d'anomalies sont présentés dans le tableau II.

Tab. II : Nombre et taux d'anomalies observées dans le taxon étudié. MN : micronoyaux,CM : Cellules mères de pollen.

Anomalies	Nombre de cellules	Taux d'anomalies
Tétrade+MN	16	0.061
Triades	664	2.54
Triades+MN	09	0.034
Pentades	06	0.022
Pentade+MN	01	0.0038
Hexades	02	0.0076
Diades+MN	03	0.0114
Cytomixie	85	0.325
Σ de CMp totales	26144	/
Σ de CMp irrégulières	786	3.006

D'après les résultats du tableau II, nous remarquons que le taux d'anomalies est relativement faible (3.006%). L'anomalie la plus fréquente est la tétrade anormale avec un taux de 2.57% (2.54% pour les triades ; 0.022% pour les pentades et 0.0076 % pour les hexades). La cytomixie est à 0.325% et enfin les micronoyaux à 0.11%.

2 – Analyse du pollen

2-1- Forme et nombre d'apertures des grains de pollen

Les grains de pollen de l'espèce étudiée apparaissent sous forme sphérique à des tailles différentes avec un, deux, trois ou quatre apertures bien visibles au microscope optique après la coloration au carmin acétique et au bleu de coton (Fig.11).

Selon Chaloner (1976), la seule tendance communément admise concernant l'évolution du type d'apertures est une augmentation du nombre d'apertures au cours de l'évolution des Angiospermes.



Figure. 11 : Photographies originales de grains de pollen avec des formes et des nombre d'apertures déférents (flèches). a : grain de pollen à une seule aperture ; b
: grain de pollen à deux apertures ; c : grain de pollen à trois apertures; d : grain de pollen à quatre apertures (G : 10x40), (barre d'échelle=10µm)

2-2- Production de pollen

2-2-1-Production par étamines

La production de pollen par étamine et par fleur est estimée (avec quatre étamines par fleur). Au total, quinze fleurs sont analysées. Les résultats obtenus sont présentés en dans la figure 12 sous forme de diagrammes en bâtonnés qui représente le nombre de grains de pollen produits au niveau de chaque étamine.





Figure. 12 : Production de grains de pollen par étamine présentée par fleur (F : fleur ; E : étamine)

D'après les résultats des diagrammes ci-dessus, nous remarquons que le nombre de grains de pollen produit varie entre **0.611x10³** et **4.451x10³** au niveau de la **fleur1**, entre **1.052x10³** et **3.865x10³** au niveau de la **fleur2**, entre **1.612x10³** et **2.101x10³** au niveau de la **fleur3**, entre **2.092x10³** et **4.382x10³** au niveau de la **fleur4**, entre **0.734x10³** et **2.709x10³** au niveau de la **fleur5**, entre **1.497x10³** et **2.969x10³** au niveau de la **fleur6**, entre **2.247x10³** et **3.359x10³** au niveau de la **fleur7**, entre **2.435x10³** et **4.199x10³** au niveau de la **fleur8**, entre **1.76x10³** et **1.936x10³** au niveau de la **fleur9**, entre **2.516x10³** et **7.365x10³** au niveau de la **fleur10**, entre **0.169x10³** et **1.948x10³** au niveau de la **fleur11**, entre **0.445x10³** et **1.899x10³** au niveau de la **fleur12**, entre **0.34x10³** et **4.433x10³**au niveau de la **fleur13**, entre **0.093x10³** et **1.96x10³**au niveau de la **fleur14**, et entre **0.807x10³** et **1.274x10³**au niveau de la **fleur15**.

2-2-2-Production par fleur

La production de pollen est estimée pour quinze fleurs de l'espèce étudiée et les résultats obtenus sont présentés dans la figure 13 sous forme de diagramme en bâtonnés qui représente le nombre de grains de pollen au sein de chaque fleur.



Figure. 13 : Diagramme en bâtonnés représentant le nombre de grains de pollen produit au niveau de chaque fleur

Selon les résultats présentés dans la figure 13, nous constatons que le nombre de grains de pollen au niveau des fleurs analysées varie entre **3.036x10³ et 20.575x10³**. Pour la plupart des fleurs, le nombre de grains de pollen total dépasse **5x10³**, contrairement aux fleurs 12,13 et 15.

Le nombre de grains de pollen produit est différent d'une fleur à une autre et même d'une étamine à une autre et cela ne peut être causé que par des facteurs génétiques notamment des anomalies méiotiques, puisque l'échantillon analysé provient d'une même station (mêmes conditions écologiques). Selon Maria Teresa *et al.* (2004), les facteurs météorologiques ont un impact sur la production, la libération et la disposition des grains de pollen.

2-3-Fertilité pollinique

Le taux de fertilité pollinique est estimé pour chaque fleur et pour chaque étamine d'une même fleur. La figure 14, est une photographie à une échelle de 10µm qui montre les grains de pollen fertiles (A) et les grains de pollens stériles (B).



Figure. 14: Photographie originale montrant un grain de pollen non viable (B) entouré des grains de pollens viables (A: grain de pollen viable ; B: grain de pollen stérile), sous le microscope optique au grossissement (10x40), barre d'échelle=10μm.

2-3-1-Fertilité pollinique par étamine

Le taux de fertilité pollinique des quatre étamines d'une même fleur a été estimé. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 15 sous forme de diagrammes en bâtonnés qui représentent le taux de fertilité pollinique au niveau de chaque étamine.





Figure. 15: Diagramme en bâtonnés représentant le taux de fertilité pollinique pour chaque étamine.

D'après les résultats présentés dans ce digramme, nous remarquons que le taux de fertilité pollinique au niveau de la **fleur1**, varie entre **87.60%** et **98.83%**, au niveau de la **fleur2**, il varie entre **82.96%** et **95.91%**, au niveau de la **fleur3**, il varie entre **92.12%** et **96.42%**, au niveau de la **fleur4**, il varie entre **74.69%** et **98.71%**, pour la **fleur5**, il est entre **86,38%** et **94.92%**, au niveau de **fleur6**, il varie entre **94.95%** et **97.74%**, pour la **fleur7**, il varie entre **96.30%** et **97.15%**, au niveau de la **fleur8**, il est entre **94.95%** et **97.56%**, pour la **fleur9**, il varie entre **78.87%** et **96.77%**, au niveau de la **fleur10**, il est entre **95.87%** et **97.02%** et pour les **fleurs 11**, 12 et **13**, il varie entre **66.27%** et **98.70%** ; **91%** et **98.20%** ; **92%** et **97.58%**. Le taux de fertilité le plus faible est enregistré au niveau des étamines des **fleurs14** et **15** avec des taux de fertilité qui varient entre **32.26%** et **86.27%** au niveau de la **fleur14**; et **17.77%** et **52.25%** au

niveau de la fleur15.

2-3-2-Fertilité pollinique par fleur

Les taux de fertilité pollinique sont estimés pour les quinze fleurs de l'espèce étudiée et sont présentés dans la figure16.



Figure. 16: Diagramme en bâtonnés présentant le taux de fertilité pollinique au niveau des quinze fleurs étudiées.

Selon le diagramme en bâtonnés précédent, nous remarquons que le taux de fertilité pollinique varie entre 36.74% et 96.76%.

La variabilité du taux de fertilité pollinique au niveau de la même fleur et entre les fleurs étudiées peut s'expliquer par les conditions environnementales variables (température, composition du sol, sécheresse...etc.), par les facteurs génétiques ou causée par des anomalies produites en méiose (Pagliarini, 2000; Bellucci *et al.*, 2003).

2-4- Variation de la surface des grains de pollen

2-4-1-Variation au sein de la même fleur

La surface des grains de pollen est estimée pour les quatre étamines de chaque fleur analysée. Au total, une analyse de la surface de cent (100) grains de pollen viables pour chaque étamine est réalisée. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de boites à moustache illustrées dans la figure 17. Cette figure montre la médiane, la valeur maximale, la valeur minimale, le1^{er} quantile et le 3^{ème} quantile de chaque étamine, ces valeurs et la valeur de **P** se trouvent dans le tableau I et II dans la partie annexe.





Figure. 17. Diagramme en boites à moustache montrant la variation de la surface des grains de pollen pour les étamines d'une même fleur

D'après les résultats présentés dans cette figure, nous remarquons que:

Au niveau de la fleur1, la surface varie entre 42.112 et 134.36 dont la plus petite valeur est enregistrée au niveau de l'étamine2 et la plus grande au niveau de l'étamine4.
La médiane varie au sein de cette fleur entre 59.0535 et 70.6445.

L'analyse de la variance montre une différence significative dans la surface des grains de pollen entre les étamines de la **fleur1** avec P<0.001.

La surface des grains de pollen varie entre 22.771 et 108.23 au niveau de la fleur2, la surface la plus petite est enregistrée au niveau de l'étamine3 et la plus grande est enregistrée au niveau de l'étamine2. La médiane au niveau de cette fleur varie entre 42.318 et 57.061.

L'analyse de la variance montre qu'il n'y a pas de variation significative entre les étamines 2 et 3, mais ces dernières ont une variation significative avec les étamines1 et 4 avec P<0.001.

- La surface des grains de pollen varie entre **24.554** et **106.31** au sein de la **fleur3**, dont nous avons enregistrée la surface la plus petite au niveau de l'**étamine1** et la plus grande au niveau de l'étamine3. La médiane au niveau de la fleur3 varie entre 44.7875 et 65.2265.

L'analyse de la variance montre qu'il n y a pas de variation de la surface entre les étamines**3** et **4** mais ces dernières ont une différence avec les deux autres étamines avec P <0.001.

-Au niveau de la **fleur4**, la surface varie entre **41.015 et 181.07**. La surface la plus petite est enregistrée au niveau de l'**étamine3** et la plus grande enregistrée au niveau de l'**étamine2**. La médiane au niveau de cette fleur varie entre**70.9875 et 92.7985**.

L'analyse de la variance montre qu'il n'y a pas de variation de la surface entre les étamines3 et 4 mais ces dernières sont significativement différentes des deux autres étamines avec P = 0.

- La surface des grains de pollen varie entre **36.626 et 175.72** au niveau de la **fleur5.** La surface la plus petite est enregistrée au niveau de l'**étamine1** et la plus grande au niveau de l'**étamine3**. La médiane varie entre **64.70368 et 84.84200**.

L'analyse de la variance montre une différence significative dans la surface des grains de pollen entre les étamines de la **fleur5** avec P< 0.001.

- Au sein de la fleur6, la surface des grains de pollen varie entre 36.90 et 141.1520.
La surface minimale est enregistrée au niveau de l'étamine3 et la valeur maximale est au niveau de l'étamine1. La médiane varie entre 50.3430 et 67.4215 au niveau de cette fleur.

L'analyse de la variance montre une différence significative dans la surface des grains de pollen entre les étamines de la **fleur6** avec P<0.001.

L'intervalle de variation de la surface des grains de pollen au niveau de la fleur7
est 37.037 et 166.3920 dont la surface la plus petite et la plus grandes sont enregistrées au niveau de l'étamine2 et la médiane varie entre 67.284 et 80.6588.

L'analyse de la variance montre une différence significative dans la surface des grains de pollen entre les étamines de la **fleur7** avec P<0.001.

Au niveau de la **fleur 8** la surface des gains de pollen varie entre **44.58200** et **54.32100** dont la plus petite enregistrée au niveau de l'étamine3. Tandis que la surface la plus grande est enregistrée dans l'étamine3 également. La médiane varie au sein de cette fleur entre **69.54700** et **78.80650**.

L'analyse de la variance montre qu'il n'y a pas de variation entre les étamines4 et 2 ; mais ces dernières sont significativement différentes des deux autres étamines avec P<0.001.

- La surface des gains de pollen varie entre **33.88200 et 160.7680** au niveau de la **fleur9** dont la plus petite est enregistrée au niveau de **l'étamine3**. Tandis que la surface la plus grande est enregistrée au niveau de **l'étamine4**. La médiane varie au sein de cette fleur entre **53.49800** et **82.03050**.

L'analyse de la variance montre une différence significative dans la surface des grains de pollen entre les étamines de la **fleur9** avec P<0.001.

- Au niveau de la **fleur10**, la surface de ses gains de pollen varie entre **0.27400 et 101.6460**; dont la plus petite enregistrée au niveau de l'étamine4. Tandis que la surface la plus grande est enregistrée au niveau de l'étamine3. La médiane varie au sein de cette fleur entre **42.66100** et **70.09600**.

L'analyse de la variance montre qu'il n'y a pas de variation de la surface des grains de pollen entre l'étamine3 et 4 et entre l'étamine2 et 1. Mais ces dernières sont significativement différentes des étamines 3 et 4 avec P<0.001.

Au sein de la fleur11, la surface de gains de pollen varie entre 0.41200 et 117.5580. La plus petite et la plus grande surfaces sont enregistrées au niveau de l'étamine1. La médiane varie au sein de cette fleur entre43.07300 et 62.07150

L'analyse de la variance montre une différence significative dans la surface des grains de pollen entre les étamines de la **fleur11** avec P< 0.001

- L'intervalle de variation de la surface des grains de pollens au niveau de la fleur12 est 31.55 et 138.2720. La plus petite est enregistrée au niveau de l'étamine3, tandis que la surface la plus grande est enregistrée au niveau de l'étamine1. La médiane varie au sein de cette fleur varie entre44.65050 et 72.35950.

L'analyse de la variance montre une différence significative dans la surface des grains de pollen entre les étamines de la **fleur12** avec P< 0.001.

Au niveau de la fleur13, la surface des gains de pollen varie entre 41.83 et 143.2610.
La plus petite est enregistrée au niveau de l'étamine1, tandis que la surface la plus grande est enregistrée dans l'étamine2. La médiane varie au sein de cette fleur entre70.57600 et

76.68050.

L'analyse de la variance montre qu'il y pas de variation entre les étamines4 et 3 mais ces dernières sont significativement différentes des deux autres étamines avec P<0.001.

-Au sein de la **fleur14**, la surface des gains de pollen varie entre **49.24** et **123.045**. La plus petite est enregistrée au niveau de **l'étamine2**, tandis que la surface la plus grande est enregistrée à **l'étamine 1**. La médiane varie au sein de cette fleur entre **70.71300** et **96.63950**.

L'analyse de la variance montre qu'il n'y a pas de variation entre les étamines1, 2 et 4 et cette dernière n'est pas différente de l'étamine 3. Les étamines1 et 2 sont significativement différentes de l'étamine 3 avec P<0.0000001.

- Au niveau de la **fleur15**, la surface de gains de pollen varie entre **2.195** et **174.600**. La plus petite est enregistrée au niveau de **l'étamine3**, tandis que la surface la plus grande est enregistrée à **l'étamine2**. La médiane varie au sein de cette fleur entre **54.8700** et **112.4825**.

L'analyse de la variance montre qu'il n'y a pas de variation entre les étamines2 et 4 mais ces dernières sont significativement différentes des deux autres étamines avec P<0.001.

La variance est supérieure à 15 au niveau de toutes les étamines des fleurs étudiées ; ce qui indique que ces dernières sont toutes hétérogènes.

2-4-2. Variation entre les fleurs

La variation a été estimée sur quinze fleurs de l'espèce étudiée. Nous avons fait une analyse de quatre cent (400) grains de pollens viables pour chaque fleur. Les résultats obtenus sont présentés en dessous sous forme d'un graphique illustré dans la figure 15 qui montre la variation de la surface des grains de pollen entre les fleurs étudiées. Les valeurs présentées dans la figure 18 et la valeur de **P** sont présentés dans le tableau III d'annexe.



Figure.18. Diagramme en boites à moustache montrant la variation de la surface des grains de pollen entre les fleurs étudiées.

Selon les résultats présentés dans la figure 15 et l'analyse de la variance, nous remarquons, qu'il n'y a pas de variation entre les fleurs :

-11 et 9 -7 et 2 -5 et 4 -14-3-6

Cependant, il y a une variation significative entre les différents groupes de fleurs précédents et même entre eux et les fleurs restantes avec P <0.0001.

Conclusion

Notre travail porte sur une analyse cytogénétique d'une espèce Angiosperme du clade des Eu-dicotylédones Basales de la région de Béjaïa. Afin de répondre à cette problématique, nous avons opté pour des techniques classiques de la cytogénétique pour l'analyse de la méiose pollinique mâle. Et on a suivi le protocole de Martens et Hammersmithe (1998) pour l'analyse du pollen.

L'analyse de la méiose est faite sur les boutons floraux. Les cellules mères de pollen en division ont montré que la méiose au sein de l'espèce étudiée est régulière à un taux de 96.99%, avec une présence de quelques anomalies méiotiques (avec un taux de 3.006%). La présence des micronoyaux est estimée à un taux de 0.1102%, celle des cellules multipolaires à 2.57% et celle de la cytomixie à 0.325%.

L'analyse pollinique a été réalisée afin d'estimer le nombre d'apertures, la production de pollen par étamines et par fleurs, la fertilité pollinique par étamines et par fleur, et enfin la variation de la surface des grains de pollen au sein de la même fleur et entre les fleurs.

En perspective, ce serait intéressant de continuer l'étude de cette espèce sur le plan taxonomique et morphologique, élargir et approfondir les études mitotiques dans le but de la réalisation de caryogrammes pour cette espèce afin de connaitre la taille des chromosomes et les études méiotiques pour comprendre l'origine des anomalies et leur impact sur la fertilité pollinique.

Liste bibliographique

- Armstrong, S. J., Franklin, F. C. H., & Jones, G. H. (2003). A meiotic timecourse for Arabidopsis thaliana. Sexual Plant Reproduction, 16(3), 141–149. doi:10.1007/s00497-003-0186-4
- Bass H. W., Bordoli S. J. & Foss E. M. (2003). The desynaptic (dy) and desynaptic 1(dsy1) mutations in maize (zea mays L.) cause distinct telomeremisplacement phenotypes during meiotic prophase. Journal of experimental Botany. 54 (380): 39 – 46.
- Bellucci M, Roscini C, Mariani A. (2003). Cytomixis in pollen mother cells of Medicago sativa L. Journal of Hered 94, p. 512–516
- Bione N. C. P., Pagliarini M. S. et Toledo J. F. F. D. (2000). Meiotic behavior of several Brazilian soybean varieties. Genetics and Molecular Biology, 23 (3): 623-631
- Cantino, P.D., J.A. Doyle, S.W. Graham, W.S. Judd, R.G.Olmstead, D.E.
 Soltis, P.S. Soltis et M.J. Donoghue. 2007. Towards a phylogenetic nomenclature of Trache-*ophyta*. Taxon 56 :822–846
- **Chaloner WG**. 1976. The evolution of adaptive features in fossil exines. In: I. K. Ferguson, M. Muller, eds. The evolutionary significance of the exine. London
- Chase, M. W., D. E. Soltis, R. G. Olmstead, D. Morgan, D. H. Les, B. D. Mishler, M. R. Duvall, R. A. Price, H. G. Hills, Y.-L. Qiu, K. A. Kron, J. H. Rettig, E. Conti, J. D. Palmer, J. R. Manhart, K. J. Sytsma, H. J. Michaels, W. J. Kress, K. G. Karol, W. D. Clark, M. Hedrén, B.S.Gaut, R. K. Jansen, K. J. Kim, C. F. Wimpee, J.F. Smith, G.R.Furnier, S.H.Strauss, Q.-Y.Xiang, G.M.Plunkett, P. S. Soltis, S. M. Swensen, S. E. Williams, P. A. Gadek, C. J. Quinn, L. E. Eguiarte, E. Golenberg, G. H. Learn, S. W. Graham , S. C. H. Barrett, S.Dayanandan V. A. Albert. 1993. Phylogenetics of seed plants : Ananalysis of nucleotide sequences from the plastid gene rbcL. Ann. Missouri Bot. Gard. 80: 528-580
- Chen ZJ, Ni Z. 2006. Mechanisms of genomic rearrangements and gene expression changes in plant polyploids. BioEssays 28(3): 240-252

- Chen ZJ. 2007. Genetic and Epigenetic Mechanisms for Gene Expression and Phenotypic Variation in Plant Polyploids. Annual review of plant biology. 58: 377-406
- Cotterill, F.P.D. 1995. Systematics, biological knowledge and environmental conservation. Biodiv. Et Conserv., 4: 183-205
- **Cronquist A**. 1968. The evolution and classification of flowering plants. New York: New York Botanical Garden PR Dept
- **Donoghue, M.J. & J.A. Doyle.** 1989. Phylogenetic analysis of Angiosperms and the relations hips of Hamamelidae. Pp.17–45 in P.R
- Doyle, J.A. et C.L. Hotton. 1991. Diversification of early Angiosperm pollen in a cladistic context. Pp.169–195in S. Black more & S. H. Barnes (editors), Pollen and Spores : Patterns of Diversification. Clarendon Press, Oxford
- Drinnan, A.N., P.R. Crane & S.B. Hoot. 1994. Patterns of floral evolution in the early diversification o fnon- magnoliid dicotyledons (eudicots). Pl.Syst. Evol. 8 (suppl.): 93–122
- Espinosa Moreno F.2019. Etude sur l'origine et l'évolution des variations florales chez Delphinium L. (Ranunculaceae) à travers la morphologie, l'anatomie et la tératologie. ED n°567 : Sciences du végétal : du gène à l'écosystème (SDV). Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
- Furness C. A., Rudall P. J. (2004) Pollen aperture evolution a crucial factor for eudicot success?Trends Pl. Sci. 9 : 1360–1385
- Gaulden M. E. (1987). Hypothesis: some mutagens directly alter specific chromosomal
- proteins (DNA topoisomerase II and peripheral proteins) to produce chromosome stickiness, which causes chromosome aberrations. *Mutagenesis*, 2 (5): 357-365.
- Godoy S. M. d., Pereira A. R. A., Romagnolo M. B., & Risso-Pascotto C. (2012). Meiotic behavior during microsporogenes is of *Alchornea triplinervia* (Sprengel) Müller Argoviensis. *Ciência Rural*, 42 (6): 1027-1032
- Gómez-Casero María Teresa, Pablo J Hidalgo, Herminia García-Mozo, Eugenio Domínguez & Carmen Galán. (2004). Pollen biology in four Mediterranean *Quercus* species, Grana, 43:1, 22-30, DOI: 10.1080/00173130410018957

- Hamant, O., Ma, H., & Cande, W. Z. (2006). Genetics of meiotic prophase I in plants. Annual review of plant biology, 57(January), 267–302. doi: 10.1146/ annurev. arplant. 57. 032905. 105255
- Horlow, C., & Doutriaux M. P. (2003). Les mécanismes moléculaires de la méiose chez les plantes. *médecine/sciences*, 19 (6-7): 717-723
- Jahier J, Chever A. M, Eber F, Delourne R, Et Tanguy A. M. (1992). Techniques de la cytogénétique végétale. Ed. INRA, Paris. p. 183
- judd,W.S. & R.G.Olmstead. 2004. A survey of tricolpate (Eudicot) phylogenetic relation ships.Amer. J. Bot. 91: 1627-1644
- Kaur M. and Singhal K. V. 2014. Fust Repeat of cytomixis, and Méiotic Nepeta govaniana Solang Valley, Kullu District, Himachal Pradesh. Cytologia;79: 227-233
- Kiihl P. R. P, Rodrigues Alonso Pereira Andréia, Sara Mataroli de Godoy I, Neusa Maria Colauto Stenzel C, Risso-Pascotto C. (2011). Chromosome stickines during meiotic behavior analysis of *Passiflora serrato-digitata* L. (Passifloraceae). Ciência Rural, Santa Maria, v.41, n.6, p.1018-1023
- Lavergne, S., Thuiller, W., Molina, J. & Debussche, M. (2005).—Environmental and human factors in fluencing rare plant local occurrence, extinction and persistence: a 115 year study in Mediterraneanregion. J. Biogeogr., 32: 799-811
- Longly B, Waterkeyn L. (1979b) Etude de la cytocinèse. III. Les cloisonnements simultanés et successifs des microsporocytes. Cellule 73: 65–80
- Love R. M. (1938). Somatic variation of chromosome numbers in hybrid wheats. *Genetics*,23: 517-522.
- Löve A, & Löve D. (1975). Plant chromosomes. T1, Ed. Cramer. P. 184
- Marston, A. L., & Amon, A. (2004). Meiosis: cell-cycle controls shuffle and deal. Nature reviews. Molecular cell biology, 5(12), 983–97. Doi : 10.1038/nrm1526
- Mendes-Bonato A. B., Pagliarini M. S., Valle C. B. D. et Penteado M. I. D. O. (2001). A severe cause of chromosome stickiness in pollen mother cells of *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf (Gramineae). *Cytologia*, 66 (3): 287-291
- Mertens, Thomas Robert, .1998. Genetics : laboratory investigations. 11th ed.

- Moore, M.J., P. S. Soltis, C. D. Bell, J. G. Burleigh & D. E. Soltis. 2010.
 Phylogenetic analysis of 83 plastid genes further resolves the early diversification of Eudicots. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.A. 107 :4623–4628
- Mursalimov S. R., Sidorchuk Y. V., Deineko E. V. 2013. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants. *Planta* 238 (3) : 415-423
- **Pagliarini M. S. (2000).** Meiotic behavior of economically important plant species: the Relationship between fertility and male sterility. Genetics and Molecular Biology, Brasil. 23, 4, p. 997-1002
- Pawlowski, W. P., & Cande, W. Z. (2005). Coordinating the events of the meiotic prophase.Trends in cellbiology, 15(12), 674–81. doi:10.1016/j.tcb.2005.10.005
- **Payne, W.W**. 1972. Observations of Harmomegathy in Pollen of Anthophyta. Grana 12: 93–98
- Potapova T. et Gorbsky G. J. The consequences of chromosome segregation errors in mitosis and meiosis. Biology, 2017, vol. 6, no. 1, p. 12
- **Prieu C. 2015.** Evolution et Développement des grains de pollen chez les Angiospermes.Evolution [q-bio.PE]. Université Paris Saclay (COmUE)
- Quézel P, Santa S. (1962-1963). Nouvelle Flore d'Algérie et de régions Désertiques Méridionales.Tomes I et II. CNRS
- Ranjbar M., Karami S., Rostami M. 2014. Cytogenetic study and meiotic behaviour on 13 populations of Fibigia (Brassicaceae) in Iran. Webbia 69 (2) : 269-280
- Rao P.N, Ranganadham P. Nirmala A. (1990). Behavior of a sticky desynaptic mutant in pearl millet, v.81, p. 221
- Ressayre A, Raquin C, Mignot A, Godelle B, Gouyon PH. 2002. Correlated variation in microtubule distribution, callose deposition during male post-meiotic cytokinesis, and pollen aperture number a cross *Nicotiana* species (Solanaceae). American Journal of Botany 89 : 393–400
- Sannier J.2006. Diversité et évolution de la microsporogenèse chez les palmiers (Arecaceae) en relation avec la détermination du type apertural. Biologie végétale. Université Paris Sud - Paris XI,. Français

- Savolainen, V., M. F. Fay, D. C. Albach, A. Backlund, M. van der Bank, K. M. Cameron, S.A. Johnson, M. D.Lledo', J.-C. Pintaud, M. Powell, M. C. Sheahan, D. E. Soltis, P. S. Soltis, P. Weston, W. M. Whitten, K. J. Wurdack& M. W. Chase. 2000b. Phylogeny of the Eudicots: A nearly complete familial analysis based on *rbcL* gene sequences. Kew Bull. 55 : 257–309
- Savolainen, V., M. W. Chase, S. B. Hoot, C. M. Morton, D. E. Soltis, C. Bayer, M. F. Fay, A. Y. De Bruijn, S. Sullivan & Y.-L. Qiu. 2000a. Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atp*B and *rbc*L gene sequences. Syst. Biol. 49 : 306–362
- Sheidai M. & Fadaei F. (2005). Cytogenetic studies in some species of *Bromus* L., section Gene a Dum. *Journal of Genetics*, 84 (2): 189- 194
- Sidorchuk Y. V., Novikovskaya A. A. et Deineko E. V. Cytomixis in the cereal (Gramineae) microsporogenesis. Protoplasma, 2016, vol. 253, no 2, p. 291-298
- Soltis, D. E., M. A. Gitzendanner & P. S. Soltis. 2007. A 567-taxon data set for Angiosperms : The challenges posed by Bayesian analyses of large data sets. Int. J. Pl. Sci 168 :137–157
- **Tagliaro Jahns Marina** . Etude du rôle de la neddylation dans la régulation de la recombinaison méiotique. Thèse de doctorat. Université Paris sud .2014
- Takhtajan A. 1966. A system and phylogeny of the flowering plants. Moscou: Nauka
- Walker JW, Doyle JA. 1975. The bases of angiosperm phylogeny, palynology. Annals of the Missouri Botanical Garden 62: 664-723
- Wettstein, D. Von, Rasmussen, S. W., & Holm, P. B. (1984). The synaptonemal complex in genetic segregation, 331–413
- Wodehouse R.P. 1935. Pollen grains: their structure, identification and significance in science and medicine. New York: Mc Graw-Hill
- Zickler, D., & Kleckner, N. (1998). The leptotene-zygotene transition of meiosis. Annual review of genetics, 32, 619–97. doi:10.1146/annurev.genet.321.619
- Zickler, D., & Kleckner, N. (1999). Integrating Structure and Function, 603–754

ANNEXE I : Variation au sein de la même fleur

Fleur 1	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	71,41286	70,64450	42,25000	97,8050	62,96300	79,97250	104,9796	10,24596	14,34749
Var2	100	59,47875	59,12200	42,11200	77,5030	53,49800	65,22600	57,7670	7,60046	12,77844
Var3	100	59,98627	59,05350	42,66100	121,6740	53,97800	63,64900	100,0891	10,00445	16,67790
Var4	100	66,63652	67,00950	47,18800	134,5680	58,64200	73,11400	131,4956	11,46715	17,20851
Fleur 2	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	58,05485	57,06400	38,54600	95,8850	52,60650	64,12900	72,8278	8,53392	14,69976
Var2	100	47,03017	45,95350	24,69100	108,2300	41,15200	52,81200	97,3160	9,86489	20,97566
Var3	100	43,35938	42,31800	22,77100	78,6010	38,27200	47,11950	81,1782	9,00989	20,77957
Var4	100	45,83125	44,85550	27,02300	69,4100	34,70550	56,72150	145,0485	12,04361	26,27815
Fleur 3	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	44,43209	44,78750	24,55400	59,5340	39,16350	51,50900	62,01486	7,874951	17,72357
Var2	100	56,07134	54,73300	40,19200	73,6630	50,06900	61,31700	56,96543	7,547545	13,46061
Var3	100	65,81340	65,22650	52,26300	106,3100	60,01350	70,57650	66,84656	8,175975	12,42296
Var4	100	61,79698	60,90500	47,87400	88,3400	56,17300	66,94100	59,56687	7,717958	12,48921
Fleur 4	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	93,08229	92,79850	65,70600	125,5140	82,99050	102,1950	200,4746	14,15891	15,21117
Var2	100	83,14272	79,14950	63,78600	181,0700	75,03400	86,0770	254,7149	15,95979	19,19565
Var3	100	78,78598	77,02350	41,01500	178,4640	68,86150	84,2250	413,2178	20,32776	25,80124
Var4	100	73,02873	70,98750	52,94900	141,2890	65,08900	78,5325	164,2836	12,81732	17,55106
Fleur 5	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	69,25378	71,87950	36,62600	106,4470	56,03550	81,82450	262,7882	16,21074	23,40774
Var2	100	67,10288	67,21550	38,27200	92,8670	58,36750	78,12100	158,5110	12,59012	18,76241
Var3	100	86,34433	84,84200	63,51200	175,7200	78,94400	92,52400	177,1553	13,30997	15,41499
Var4	100	64,70368	63,51150	43,89600	90,5350	55,21250	73,18250	117,4313	10,83657	16,74800
Fleur 6	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	60,77632	58,57300	43,62100	141,1520	51,44050	64,95200	203,6497	14,27059	23,48051
Var2	100	67,70786	65,22650	45,54200	95,8850	60,76850	75,78850	114,5228	10,70153	15,80545
Var3	100	51,94513	50,34300	36,90000	78,3260	47,73650	54,18400	54,3932	7,37517	14,19801
Var4	100	67,47464	67,42150	46,91400	87,2430	61,11150	73,11400	64,8032	8,05004	11,93047
Fleur 7	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	71,28256	67,28400	52,81200	139,7810	62,55100	73,45700	248,4887	15,76352	22,11414
Var2	100	76,16872	68,86150	37,03700	166,3920	57,47600	89,57500	656,8635	25,62935	33,64813
Var3	100	72,35803	70,98750	52,81200	159,8080	64,60950	76,95450	155,0337	12,45125	17,20784
Var4	100	82,43757	80,65850	60,08200	110,2880	73,86800	90,12350	139,9038	11,82809	14,34794

Fleur 8	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	72,98628	72,70200	50,89200	101,5090	66,52950	79,15000	106,1534	10,30308	14,11646
Var2	100	77,33199	76,61200	54,32100	101,3720	70,02750	85,11650	93,8719	9,68875	12,52878
Var3	100	81,28949	78,80650	44,58200	114,9520	71,53650	91,56350	198,8243	14,10051	17,34604
Var4	100	70,22222	69,54700	51,30300	100,2740	64,67750	74,96600	80,6063	8,97810	12,78527
Fleur 9	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	84,28257	82,03050	54,18400	153,9090	72,70200	93,62150	354,7626	18,83514	22,34761
Var2	100	53,86006	53,49800	41,83800	112,4830	49,31450	57,20200	65,2054	8,07498	14,99253
Var3	100	74,23316	73,73150	33,88200	153,9090	64,54050	81,96150	230,1319	15,17010	20,43574
Var4	100	81,59120	80,04150	51,85200	160,7680	73,04550	89,57500	220,1196	14,83643	18,18386
Fleur 10	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	67,79149	70,09600	43,89600	96,4330	56,17250	77,70950	166,6513	12,90935	19,04273
Var2	100	67,79149	70,09600	43,89600	96,4330	56,17250	77,70950	166,6513	12,90935	19,04273
Var3	100	56,93412	56,44750	0,27400	101,6460	46,77600	66,80400	223,4375	14,94782	26,25460
Var4	100	43,57335	42,66100	0,27400	93,1410	37,38000	48,62800	115,7652	10,75942	24,69267
Fleur 11	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Var1	100	63,56379	62,07150	0,41200	117,5580	54,73250	73,59400	323,6965	17,99157	28,30474
Var2	100	58,22222	57,33900	38,54600	83,2650	51,71500	64,06050	96,2904	9,81277	16,85399
Var3	100	44,98083	44,17000	32,37300	62,6890	40,80950	48,97100	36,2173	6,01808	13,37920
Var4	100	44,22907	43,07300	28,53200	77,0920	40,26050	47,53050	42,3521	6,50785	14,71397
Fleur 12	Valid N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Lower	Upper	Variance	Std.Dev.	Coef.Var.
Fleur 12 Var1	Valid N 100	Mean 60,67212	Median 59,25900	Minimum 40,05500	Maximum 138,2720	Lower 54,32100	Upper 63,44300	Variance 169,2512	Std.Dev. 13,00966	Coef.Var. 21,44256
Fleur 12 Var1 Var2	Valid N 100 100	Mean 60,67212 72,87519	Median 59,25900 72,35950	Minimum 40,05500 49,79400	Maximum 138,2720 105,4870	Lower 54,32100 65,70650	Upper 63,44300 78,80650	Variance 169,2512 90,8192	Std.Dev. 13,00966 9,52991	Coef.Var. 21,44256 13,07703
Fleur 12 Var1 Var2 Var3	Valid N 100 100 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638	Median 59,25900 72,35950 44,65050	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880	Lower 54,32100 65,70650 41,76950	Upper 63,44300 78,80650 48,76550	Variance 169,2512 90,8192 26,9361	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4	Valid N 100 100 100 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13	Valid N 100 100 100 100 Valid N	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev.	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var.
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1	Valid N 100 100 100 100 Valid N 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2	Valid N 100 100 100 100 Valid N 100 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 76,68050	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 76,68050 74,69150	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3 Var4	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 75,55144	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 76,68050 74,69150 74,69150	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 14	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 Valid N	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 75,55144 Mean	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 76,68050 74,69150 74,69150 Median	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 Minimum	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 Maximum	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 Lower	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 Upper	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366 Variance	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 Std.Dev.	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881 Coef.Var.
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 14 Var1	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 Valid N Valid N	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 75,55144 Mean 92,55280	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 76,68050 74,69150 74,69150 Median 96,63950	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 Minimum 57,61300	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 97,2570 Maximum 123,0450	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 Lower 79,01250	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 Upper 105,9670	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366 Variance 277,8084	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 Std.Dev. 16,66758	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881 Coef.Var. 18,00873
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 14 Var1 Var2	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 Valid N 100 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 75,55144 Mean 92,55280 72,46641	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 76,68050 74,69150 74,69150 Median 96,63950 71,12450	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 Minimum 57,61300 49,24600	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 97,2570 Maximum 123,0450 102,1950	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 Lower 79,01250 63,71750	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 80,10950 Upper 105,9670 82,3045	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366 65,3366 Variance 277,8084 155,0295	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 8,08310 Std.Dev. 16,66758 12,45108	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881 10,69881 Coef.Var. 18,00873 17,18187
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 14 Var1 Var2 Var3	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 75,55144 Mean 92,55280 72,46641 79,02192	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 74,69150 74,69150 74,69150 Median 96,63950 71,12450 77,64050	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 52,94900 Minimum 57,61300 49,24600 54,73300	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 97,2570 Maximum 123,0450 102,1950 107,6820	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 Lower 79,01250 63,71750 68,51850	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 80,10950 Upper 105,9670 82,3045 87,6540	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366 Variance 277,8084 155,0295 160,0408	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 Std.Dev. 16,66758 12,45108 12,65072	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881 Coef.Var. 18,00873 17,18187 16,00913
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 14 Var1 Var2 Var3 Var3 Var4	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 30	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 75,55144 Mean 92,55280 72,46641 79,02192 72,40057	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 74,69150 74,69150 74,69150 96,63950 71,12450 71,12450 70,71300	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 52,94900 Minimum 57,61300 49,24600 54,73300 55,00700	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 97,2570 97,2570 Maximum 123,0450 102,1950 107,6820 101,6460	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 Lower 79,01250 63,71750 68,51850 62,00300	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 80,10950 Upper 105,9670 82,3045 87,6540 80,9330	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366 05,3366 Variance 277,8084 155,0295 160,0408 143,8208	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 Std.Dev. 16,66758 12,45108 12,65072 11,99253	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881 10,69881 Coef.Var. 18,00873 17,18187 16,00913 16,56414
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var4 Var2 Var3 Var4 Fleur 14 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 15	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 30 Valid N	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 Mean 92,55280 72,46641 79,02192 72,40057 Mean	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 74,69150 74,69150 74,69150 96,63950 71,12450 77,64050 70,71300 Median	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 Minimum	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 97,2570 97,2570 102,1950 102,1950 107,6820 101,6460 Maximum	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 70,85050 Lower 79,01250 63,71750 68,51850 62,00300 Lower	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,9330 Upper	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366 65,3366 Variance 277,8084 155,0295 160,0408 143,8208 Variance	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 8,08310 Std.Dev. 16,66758 12,45108 12,65072 11,99253 Std.Dev.	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,00913 10,69881 10,00913
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 14 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 15 Var1	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 30 Valid N 100	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 75,55144 Mean 92,55280 72,46641 79,02192 72,40057 Mean 54,5076	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,6950 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 52,94900 Minimum 57,61300 49,24600 54,73300 55,00700 Minimum 39,64300	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 97,2570 97,2570 97,2570 102,1950 102,1950 107,6820 101,6460 Maximum 72,2910	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 70,85050 Lower 63,71750 63,71750 68,51850 62,00300 Lower 48,35400	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 80,10950 Upper 105,9670 82,3045 87,6540 80,9330 Upper 59,0535	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366 Variance 277,8084 155,0295 160,0408 143,8208 Variance 52,545	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 Std.Dev. 16,66758 12,45108 12,45108 12,65072 11,99253 Std.Dev. 7,24876	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881 10,69881 Coef.Var. 18,00873 17,18187 16,00913 16,56414 Coef.Var. 13,29864
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 14 Var2 Var3 Var4 Fleur 15 Var1 Var2 Var3 Var4	Valid N 100 100 100 Valid N 100 Valid N 100 100 100 100 100 100 100 100 100 10	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 75,55144 Mean 92,55280 72,46641 79,02192 72,40057 Mean 54,5076 107,7161	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69350 71,12450 71,12450 71,12450 70,71300 Median 54,8700 112,4825	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 55,00700 54,73300 55,00700 Minimum 39,64300 46,50200	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 97,2570 97,2570 97,2570 102,1950 102,1950 102,1950 101,6460 Maximum 72,2910 174,7600	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 70,85050 70,85050 63,71750 63,71750 63,71750 63,51850 62,00300 Lower 48,35400 82,85300	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,10950 80,9330 Upper 59,0535 131,3445	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 65,3366 65,3366 04,0408 155,0295 160,0408 143,8208 Variance 52,545 1046,956	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 8,08310 Std.Dev. 16,66758 12,45108 12,45108 12,65072 11,99253 Std.Dev. 7,24876 32,35670	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881 10,69881 Coef.Var. 18,00873 17,18187 16,00913 16,56414 Coef.Var. 13,29864 30,03888
Fleur 12 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 13 Var4 Var2 Var3 Var4 Fleur 14 Var1 Var2 Var3 Var4 Fleur 15 Var4 Fleur 15 Var1 Var2 Var3	Valid N 100 100 100 Valid N 100 100 100 100 100 100 Valid N 100 100 100 100 100 100 100 100 100 10	Mean 60,67212 72,87519 45,15638 71,17696 Mean 72,74890 77,71197 75,55144 Mean 92,55280 72,46641 79,02192 72,40057 Mean 54,5076 107,7161 78,4966	Median 59,25900 72,35950 44,65050 70,71300 Median 70,57600 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,69150 74,6950 74,69150 71,12450 70,71300 71,12450 70,71300	Minimum 40,05500 49,79400 31,55000 45,26700 Minimum 41,83800 56,37900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 52,94900 49,24600 54,73300 55,00700 Minimum 39,64300 46,50200 2,19500	Maximum 138,2720 105,4870 57,8880 116,4610 Maximum 110,7000 143,6210 97,2570 97,2570 97,2570 Maximum 123,0450 102,1950 107,6820 101,6460 Maximum 72,2910 174,7600 142,3870	Lower 54,32100 65,70650 41,76950 62,41400 Lower 60,49400 70,37050 70,85050 70,85050 70,85050 Lower 79,01250 63,71750 63,71750 68,51850 62,00300 Lower 48,35400 82,85300 58,29900	Upper 63,44300 78,80650 48,76550 76,81800 Upper 85,11650 82,71600 80,10950 80,10950 80,10950 Upper 105,9670 82,3045 87,6540 80,9330 Upper 59,0535 131,3445 105,8985	Variance 169,2512 90,8192 26,9361 156,6099 Variance 244,8126 126,7492 65,3366 05,3366 Variance 277,8084 155,0295 160,0408 143,8208 Variance 52,545 1046,956 814,892	Std.Dev. 13,00966 9,52991 5,19000 12,51439 Std.Dev. 15,64649 11,25829 8,08310 8,08310 Std.Dev. 16,66758 12,45108 12,65072 11,99253 Std.Dev. 7,24876 32,35670 28,54632	Coef.Var. 21,44256 13,07703 11,49339 17,58208 Coef.Var. 21,50752 14,48721 10,69881 10,69881 10,69881 Coef.Var. 18,00873 17,18187 16,00913 16,56414 Coef.Var. 13,29864 30,03888 36,36633

ANNEXE II : Variation au sein de la même fleur

		SC	Degr. de Liberté	MC	F	Р
Fleur 1	ordr. Origine	11187,55	1	11187,55	14896,21	0,00
	Etamines	3420,89	3	1140,30	1518,30	0,00
	Erreur	297,41	396	0,75		
Fleur 2	Ordr. Origine	10201,05	1	10201,05	10189,05	0,00
	Etamine	476,20	3	158,73	158,55	0,00
	Erreur	396,47	396	1,00		
Fleur 3	Ordr. Origine	21188,45	1	21188,45	21206,95	0,00
	Etamine	378,89	3	126,30	126,41	0,00
	Erreur	395,65	396	1,00		
Fleur 4	Ordr.					
	Origine	21188,45	1	21188,45	21206,95	0
	Etamine	378,89	3	126,3	126,41	0
	Erreur	395,65	396	1		
Fleur 5	ordr. Origine	12164,21	1	12164,21	12165,81	0,00
	Etamines	272,98	3	90,99	91,01	0,00
	Erreur	395,95	396	1,00		
Fleur 6	ord. origine	16909,68	1	16909,68	16913,60	0,00
	Etamines	888,34	3	296,11	296,18	0,00
	Erreur	395,91	396	1,00		
Fleur 7	orde. origine	10277,17	1	10277,17	10276,46	0,00
	étamines	885,62	3	295,21	295,19	0,00
	Erreur	396,03	396	1,00		
Fleur 8	ordr. origine	20523,00	1	20523,00	20523,06	0,00
	ètamines	305,96	3	101,99	101,99	0,00
	Erreur	396,00	396	1,00		
Fleur 9	ordr. origine	11598,41	1	11598,41	11597,68	0,00
	Etamines	274,69	3	91,56	91,56	0,00
	Erreur	396,02	396	1,00		
Fleur 10	ordr. Origine	8431,012	1	8431,012	8429,009	0,00
	Etamines	178,258	3	59,419	59,405	0,00
	Erreur	396,094	396	1,000		
Fleur 11	ordr. origine	14082,79	1	14082,79	14084,77	0,00
	ètamines	886,82	3	295,61	295,65	0,00
	Erreur	395,94	396	1,00		

	ordr. Origine	22872,73	1	22872,73	22872,49	0,00
Fleur 12	Etamines	1530,92	3	510,31	510,30	0,00
	Erreur	396,00	396	1,00		
	ordr. origine	22872,73	1	22872,73	22872,49	0,00
Fleur 13	étamines	1530,92	3	510,31	510,30	0,00
	Erreur	396,00	396	1,00		
Fleur 14	ordr. origine	8837,277	1	8837,277	8836,949	0,000000
	étamines	25,292	3	8,431	8,430	0,000021
	erreur	326,012	326	1,000		
Fleur 15	ordr, origine	7160,647	1	7160,647	7163,704	0,00
	étamines	1463,246	3	487,749	487,957	0,00

	étamines	var 2 moy	А	b	С	d
Fleur 1	4	0,348736	****			
	3	5,998627		****		
	1	6,980729			****	
	2	7,826151				****
Fleur 2	4	3,806582		****		
	2	4,769794	****			
	3	4,817709	****			
	1	6,805961			****	
Fleur 3	1	5,645755		****		
	2	7,426668			****	
	4	7,994435	****			
	3	8,045648	****			
Fleur 4	1	5,645755		****		
	2	7,426668			****	
	4	7,994435	****			
	3	8,045648	****			
Fleur 5	1	4,272287	****			
	2	5,329855		****		
	4	5,968974			****	
	3	6,487177				****
Fleur 6	1	4,259027	****			
	2	6,327837		****		
	3	7,038636			****	
	4	8,381943				****
Fleur 7	2	2,971858	****			
	1	4,523005		****		
	3	5,811890			****	

	4	6,968518				****
Fleur 8	3	5,765212		****		
	1	7,086047			****	
	4	7,819846	****			
	2	7,980598	****			
Fleur 9	1	4,473597	****			
	3	4,893419		****		
	4	5,498059			****	
	2	6,674109				****
Fleur 10	3	3,808302	****			
	4	4,049568	****			
	2	5,251084		****		
	1	5,255154		****		
Fleur 11	1	3,533285	****			
	2	5,934987		****		
	4	6,794020			****	
	3	7,471899				****
Fleur 12	1	4,667086	****			
	4	5,689605		****		
	2	7,646924			****	
	3	8,700651				****
Fleur 13	1	4 0 40 400				
	· ·	4,648492		****		
	2	4,648492 6,901596		****	****	
	2	4,648492 6,901596 9,346955	****	***	***	
	2 4 3	4,648492 6,901596 9,346955 9,350426	****	****	****	
Fleur 14	2 4 3 1	4,648492 6,901596 9,346955 9,350426 5,552058	**** **** ****	***	****	
Fleur 14	2 4 3 1 2	4,648492 6,901596 9,346955 9,350426 5,552058 5,820595	**** **** ****	***	****	
Fleur 14	2 4 3 1 2 4	4,648492 6,901596 9,346955 9,350426 5,552058 5,820595 6,038413	**** **** **** ****	****	***	
Fleur 14	2 4 3 1 2 4 3	4,648492 6,901596 9,346955 9,350426 5,552058 5,820595 6,038413 6,246792	**** **** **** ****	**** ****	****	
Fleur 14 Fleur 15	2 4 3 1 2 4 3 3 3	4,648492 6,901596 9,346955 9,350426 5,552058 5,820595 6,038413 6,246792 2,748479	**** **** **** ****	****	****	
Fleur 14 Fleur 15	2 4 3 1 2 4 3 3 2	4,648492 6,901596 9,346955 9,350426 5,552058 5,820595 6,038413 6,246792 2,748479 3,328680	**** **** **** ****	**** **** ****	**** ****	
Fleur 14 Fleur 15	2 4 3 1 2 4 3 3 3 2 4	4,648492 6,901596 9,346955 9,350426 5,552058 5,820595 6,038413 6,246792 2,748479 3,328680 3,328680	**** **** **** ****	****	**** ****	

ANNEXE III :

		Différence	Valeur		
Contraste	Différence	standardisée	critique	Pr > Diff	Significatif
F15 vs F13	-4,191	-59,260	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F8	-3,974	-56,193	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F1	-3,340	-47,228	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F14	-2,565	-44,083	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F3	-2,565	-44,083	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F6	-2,565	-44,083	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F4	-2,176	-30,770	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F5	-2,061	-29,141	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F2	-1,776	-25,109	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F7	-1,764	-24,944	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F12	-1,618	-22,881	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F9	-1,401	-19,815	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F11	-1,308	-18,502	3,391	< 0,0001	Oui
F15 vs F10	-1,136	-16,058	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F13	-3,055	-43,203	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F8	-2,838	-40,136	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F1	-2,204	-31,170	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F14	-1,429	-24,567	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F3	-1,429	-24,567	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F6	-1,429	-24,567	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F4	-1,040	-14,712	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F5	-0,925	-13,083	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F2	-0,640	-9,052	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F7	-0,628	-8,887	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F12	-0,483	-6,823	3,391	< 0,0001	Oui
F10 vs F9	-0,266	-3,757	3,391	0,014	Oui
F10 vs F11	-0,173	-2,444	3,391	0,481	Non
F11 vs F13	-2,882	-40,758	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F8	-2,665	-37,691	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F1	-2,031	-28,726	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F14	-1,257	-21,596	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F3	-1,257	-21,596	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F6	-1,257	-21,596	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F4	-0,868	-12,268	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F5	-0,752	-10,639	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F2	-0,467	-6,607	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F7	-0,456	-6,443	3,391	< 0,0001	Oui
F11 vs F12	-0,310	-4,379	3,391	0,001	Oui
F11 vs F9	-0,093	-1,313	3,391	0,993	Non
F9 vs F13	-2,789	-39,445	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F8	-2,573	-36,378	3,391	< 0,0001	Oui

F9 vs F1	-1,939	-27,413	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F14	-1,164	-20,000	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F3	-1,164	-20,000	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F6	-1,164	-20,000	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F4	-0,775	-10,955	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F5	-0,660	-9,326	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F2	-0,374	-5,294	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F7	-0,363	-5,130	3,391	< 0,0001	Oui
F9 vs F12	-0,217	-3,066	3,391	0,129	Non
F12 vs F13	-2,573	-36,380	3,391	< 0,0001	Oui
F12 vs F8	-2,356	-33,313	3,391	< 0,0001	Oui
F12 vs F1	-1,722	-24,347	3,391	< 0,0001	Oui
F12 vs F14	-0,947	-16,274	3,391	< 0,0001	Oui
F12 vs F3	-0,947	-16,274	3,391	< 0,0001	Oui
F12 vs F6	-0,947	-16,274	3,391	< 0,0001	Oui
F12 vs F4	-0,558	-7,889	3,391	< 0,0001	Oui
F12 vs F5	-0,443	-6,260	3,391	< 0,0001	Oui
F12 vs F2	-0,158	-2,229	3,391	0,644	Non
F12 vs F7	-0,146	-2,064	3,391	0,759	Non
F7 vs F13	-2,427	-34,316	3,391	< 0,0001	Oui
F7 vs F8	-2,210	-31,249	3,391	< 0,0001	Oui
F7 vs F1	-1,576	-22,283	3,391	< 0,0001	Oui
F7 vs F14	-0,801	-13,766	3,391	< 0,0001	Oui
F7 vs F3	-0,801	-13,766	3,391	< 0,0001	Oui
F7 vs F6	-0,801	-13,766	3,391	< 0,0001	Oui
F7 vs F4	-0,412	-5,826	3,391	< 0,0001	Oui
F7 vs F5	-0,297	-4,196	3,391	0,003	Oui
F7 vs F2	-0,012	-0,165	3,391	1,000	Non
F2 vs F13	-2,415	-34,151	3,391	< 0,0001	Oui
F2 vs F8	-2,198	-31,084	3,391	< 0,0001	Oui
F2 vs F1	-1,564	-22,118	3,391	< 0,0001	Oui
F2 vs F14	-0,789	-13,566	3,391	< 0,0001	Oui
F2 vs F3	-0,789	-13,566	3,391	< 0,0001	Oui
F2 vs F6	-0,789	-13,566	3,391	< 0,0001	Oui
F2 vs F4	-0,400	-5,661	3,391	< 0,0001	Oui
F2 vs F5	-0,285	-4,031	3,391	0,005	Oui
F5 vs F13	-2,130	-30,119	3,391	< 0,0001	Oui
F5 vs F8	-1,913	-27,052	3,391	< 0,0001	Oui
F5 vs F1	-1,279	-18,087	3,391	< 0,0001	Oui
F5 vs F14	-0,504	-8,666	3,391	< 0,0001	Oui
F5 vs F3	-0,504	-8,666	3,391	< 0,0001	Oui
F5 vs F6	-0,504	-8,666	3,391	< 0,0001	Oui
F5 vs F4	-0,115	-1,629	3,391	0,953	Non
F4 vs F13	-2,015	-28,490	3,391	< 0,0001	Oui
F4 vs F8	-1,798	-25,423	3,391	< 0,0001	Oui

F4 vs F1	-1,164	-16,458	3,391	< 0,0001	Oui
F4 vs F14	-0,389	-6,686	3,391	< 0,0001	Oui
F4 vs F3	-0,389	-6,686	3,391	< 0,0001	Oui
F4 vs F6	-0,389	-6,686	3,391	< 0,0001	Oui
F14 vs F13	-1,626	-27,940	3,391	< 0,0001	Oui
F14 vs F8	-1,409	-24,213	3,391	< 0,0001	Oui
F14 vs F1	-0,775	-13,316	3,391	< 0,0001	Oui
F14 vs F3	0,000				
F14 vs F6	0,000				
F3 vs F13	-1,626	-27,940	3,391	< 0,0001	Oui
F3 vs F8	-1,409	-24,213	3,391	< 0,0001	Oui
F3 vs F1	-0,775	-13,316	3,391	< 0,0001	Oui
F3 vs F6	0,000				
F6 vs F13	-1,626	-27,940	3,391	< 0,0001	Oui
F6 vs F8	-1,409	-24,213	3,391	< 0,0001	Oui
F6 vs F1	-0,775	-13,316	3,391	< 0,0001	Oui
F1 vs F13	-0,851	-12,033	3,391	< 0,0001	Oui
F1 vs F8	-0,634	-8,966	3,391	< 0,0001	Oui
F8 vs F13	-0,217	-3,067	3,391	0,129	Non

	Movenne	Erreur	Borne	Borne	а	b	С	d	е	f	g	h	i	j
Modalité	estimée	standard	(95%)	(95%)										
F15	2,481	0,050	2,383	2,579	а									
F10	3,617	0,050	3,519	3,715		b								
F11	3,789	0,050	3,691	3,887			С							
F9	3,882	0,050	3,784	3,980			С							
F12	4,099	0,050	4,001	4,197				d						
F7	4,245	0,050	4,147	4,343					е					
F2	4,257	0,050	4,159	4,355					е					
F5	4,542	0,050	4,444	4,640						f				
F4	4,657	0,050	4,559	4,755						f				
F14	5 <i>,</i> 046	0,030	4,988	5,104							G			
F3	5,046	0,030	4,988	5,104							G			
F6	5,046	0,030	4,988	5,104							G			
F1	5,821	0,050	5,723	5,919								h		
F8	6,455	0,050	6,357	6,553									i	
F13	6,672	0,050	6,574	6,770										j

Résumé

Une espèce d'Angiospermes (Eudicotylédones basales) fait l'objet d'une analyse cytogénétique. L'analyse est portée sur la méiose, la régulation méiotique, les anomalies méiotique, l'analyse pollinique, forme et nombre d'apertures de grains de pollen au sein de l'espèce étudiée, production de pollen par étamines et par fleur pollen, la fertilité pollinique par étamines et par fleur et enfin la variation de la surface des grains de pollen au sein de la même fleur et entre les fleurs. L'analyse méiotique montre un déroulement de la méiose régulier avec un taux de **96.99%**. Quelques anomalies de la méiose ont été retrouvées à un taux relativement faible tel que la présence de micronoyaux, de tétrades anormales et de cytomixie. Des grains de pollen à un, deux, trois et quatre apertures ont été retrouvés lors de l'analyse pollinique. Une production de pollen par étamine qui varie d'une étamine a une autre au niveau de chaque fleur et une production par fleur qui varie entre **3.036x10³** et **20.575x10³**. Le taux de fertilité par fleur varie entre **36.74%** à **96.76%**. L'analyse de la variation significative au sein de la même fleur et entre les fleurs.

Mot clés : Cytogénétique ; méiose, microsporogenèse, anomalies méiotiques, pollen, apertures.

Abstract

A species of Angiosperms (basal Eudicotyledons) is the subject of a cytogenetic analysis. The analysis is focused on meiosis, meiotic regulation, meiotic abnormalities, pollen analysis, shape and number of pollen grains apertures within the studied species, pollen production per stamens and per flower, pollen fertility per stamens and per flower and finally the variation of pollen grains surface within the same flower and between flowers. The meiotic analysis shows a regular meiosis progress with a rate of **96.99%**. Some meiosis abnormalities were found at a relatively low rate such as the presence of micronuclei, abnormal tetrads and cytomixis. Pollen grains with one, two, three and four apertures were found in the pollen analysis. Pollen production per stamen varied from one stamen to another in each flower and production per flower varied between **3.036x10³** and **20.575x10³**. The fertility rate per flower varies between **36.74%** and **96.76%**. The analysis of variance shows significant variation within the same flower and between flowers.

Key words: Cytogenetics; meiosis, microsporogenesis, meiotic anomalies; pollen, apertures