

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physique-Chimique



Laboratoire de recherche d'Écologie et Environnement- UAM. Bejaïa

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Génétique Appliquée

Thème

Étude cytogénétique de *Medicago intertexta* (L.) Miller du Golfe de Béjaïa

Présenté par : BELLOUL KATIA

Soutenu devant le jury:

<i>M^{me}</i> Y. Benmessaoud	(Maitre assistant A, UAM. Bejaïa)	Présidente
<i>M^{elle}</i> H. Benmouhoub	(Maitre assistant A, UAM. Bejaïa)	Promotrice
<i>M^{me}</i> D. Atmani	(Maitre de conférences A, UAM. Bejaïa)	Examinatrice

Année universitaire 2015/2016



Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant sans qui rien n'est possible.

Je tiens à remercier vivement :

A M^{elle}. H. BENMOUHOUË (MAA U. Bejaia), ma promotrice pour avoir proposé et dirigé ce travail.

Mes incères remerciements vont aussi :

A M^{me} Benmessaoud, Président du jury, pour avoir accepté de présider le jury.

A M^{me} Atmani, Examinatrice, d'avoir accepté de juger notre Modeste travail.

A Monsieur Sahnoune Mohamed dont l'aide précieuse ne s'oubliera jamais.

Ainsi que M^{elle} Zemouri T. et ingénieurs et techniciens du laboratoire

D'écologie, pour leurs encouragements et leurs aides inconditionnelles aux étudiants. Sans votre aide, notre travail n'aurait pas vu le jour.

Je tiens enfin remercier à tous ceux et celles qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'élaboration de ce modeste travail, nous disons mille mercis.





Dédicaces

Je dédie ce travail :

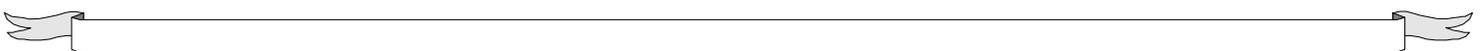
A Mon cher père qui ma beaucoup aidée avec son soutien tout au long de mes études.

A Ma chère mère qui ma entourée avec sa tendresse et qui n'a cessé de prier pour moi.

A Mes frères: fars, Karim, Adel Et Mes adorables sœurs qui m'ont toujours aidé et soutenu.

A tous le reste de la famille surtout ma chère grande mère.

A tous mes amis (es) : Nesrine , Nawal et Aida , et tout ceux qui me connaisse.



REMERCIEMENT

DÉDICACES

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAU

INTRODUCTION 01

CHAPITER I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I .1- LE GENRE <i>MEDICAGO</i> L.	02
I.1.1- HISTOIRE ET ORIGINE GEOGRAPHIQUE DU <i>MEDICAGO</i> L.....	02
I.1.2- MORPHOLOGIE DU GENRE <i>MEDICAGO</i> L.	03
1.1.2.1- LES PIECES FOLIAIRES DU GENRE <i>MEDICAGO</i> L.	04
1.1.2.2- LES PIÈCES FLORALES DU GENRE <i>MEDICAGO</i> L.....	04
1.1.2.3- LES FRUITS ET LES GRAINES DE <i>MEDICAGO</i> L.....	05
I.1.3- CLASSIFICATION DU GENRE <i>MEDICAGO</i> L.	05
I.1.3.1 - CLASSIFICATION SUPRAGÉNÉRIQUE	05
I.1.3 .2- CLASSIFICATION INFRAGÉNÉRIQUE.....	06
I.1.4 - DONNEES CYTOGENETIQUES SUR LE GENRE <i>MEDICAGO</i> L.....	06
I.1.5- LES ESPECES DU GENRE <i>MEDICAGO</i> L. SIGNALÉE EN ALGERIE.....	07
I.1.6- INTERET DE GENRE <i>MEDICAGO</i> L.	08
I.2- LA SECTION INTERTEXTAE	09
1.2.1- LES CARACTERE MORPHOLOGIQUES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE.....	09
I.2.2- LES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES DES ESPÈCES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE	09
I.2.3- DISTRIBUTION ET HABITAT DES ESPÈCES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE.....	11
I.2.4 - CARACTÉRISTIQUES CARYOLOGIQUES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE	12
I.2.4.1- NOMBRES CHROMOSOMIQUES DES ESPÈCES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE.....	12
I.2.4.2-CARYOMORPHOLOGIE DE LA SECTION INTERTEXTAE	13
I.3.4.3- LES HYBRIDATIONS ENTRE LES ESPECES DE LA SECTION INTERTEXTAE.....	15

1.2 .5- FLUX DE GENES.....	17
I.3- LES ANOMALIES DE LA MEIOSE.....	18

CHAPITRE II - MATERIEL ET METHODES

II.1- MATERIEL VÉGÉTAL UTILISÉE ET STATION D'ETUDE.....	20
II.2- ETUDE DES MÉIOSES POLLINIQUES.....	21
II.2.1- PRÉPARATION DES SOLUTIONS.....	21
II.2.1.1- PRÉTRAITEMENT.....	21
II.2.1.2- LE FIXATEUR.....	22
II.2.1.3- LE COLORANT.....	22
II.2.2- LES PRINCIPALES ÉTAPES DE L'ANALYSE DE LA MÉIOSE.....	22
II.2.3- ANALYSE DE LA FERTILITÉ POLLINIQUE.....	23
II.3- MITOSE.....	24
II.3.1- PRÉPARATION DES SOLUTIONS.....	24
II.3.1.1 – PRÉTRAITEMENT.....	24
II.3.1.2- LE FIXATEUR.....	24
II.3.1.3- LE COLORANT.....	25
II.3.2- LES PRINCIPALES ÉTAPES DE L'ANALYSE DE LA MITOSE.....	25

CHAPITRE III- RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

III.1 -RÉSULTATS.....	27
III.1.1 - MORPHOLOGIE DE L'ESPÈCE <i>M. INTERTEXTA</i>	27
III.1.2 - RESULTATS SUR LES MÉIOSES.....	28
III.1.2.1 - DÉNOMBREMENTS CHROMOSOMIQUES.....	28
III.1.2.2- ANALYSE DES ETAPES DE LA MÉIOSE POLLINIQUE.....	28
III.1.2.3- LES ANOMALIES ASSOCIÉES AUX MÉIOSES POLLINIQUES.....	31
III.1.2.4 - FERTILITE POLLINIQUE.....	35
III.1.3 - LES MITOSES.....	36
III.1.3.1- DÉNOMBREMENTS CHROMOSOMIQUES.....	36
III.1.3.2- ÉTABLISSEMENT DE CARYOGRAMME.....	37

III.1.3.3- LES DIFFERENTS STADE DE LA MITOSE.....	39
III.2 -DISCUSSIONS.....	40
CONCLUSION.....	44
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	45

LISTE DES FIGURES

Figures	Titres	Pages
Figure 1	Distribution géographique du genre <i>Medicago</i> dans le monde (Prolea, 2002).	3
Figure 2	<i>Medicago intertexta</i> (L.)Mill(Small, 1989 et Bena, 2001).	10
Figure 3	<i>Medicago ciliaris</i> (L.)Al (Small, 1989 et Bena, 2001).	10
Figure 4	<i>Medicago muricoleptis</i> Tineo (Small, 1989 et Bena, 2001).	11
Figure 5	<i>Medicago granadensis</i> Willd (Small, 1989 et Bena, 2001).	11
Figure 6	Distribution et habitat des espèces de la section des <i>Intertextae</i> (d'après Heyn, 1963 ; Lesins & Lesins, 1979 et Smail et al., 1999), c : <i>M. ciliaris</i> , g : <i>M. granadensis</i> , i : <i>M. intertexta</i> , m : <i>M. muricoleptis</i> Le Golfe de Béjaïa se localise sur cette carte sur une altitude de 37° N et une longitude de 5.5 E.	12
Figure 7	Morphologie de <i>Medicago intertexta</i> . a : La plante dans son milieu naturel ; b : Fleurs ; c : Feuilles ; d : Fruits. (Original).	20
Figure 8	Graines de <i>Medicago intertexta</i> pour les trois populations après germination. (1) Targa Ouzemmour ; (2) Ath Ousalah ; (3) Oued Ghir (Original)	25
Figure 9	Herbier de <i>M. intertexta</i> (Campus universitaire de Targa Ouzammour, le 15.05.2016).	27
Figure 20	Métaphases I de la méiose pollinique de <i>Medicago. intertexta</i> de Béjaïa avec 8 bivalents. Population Targa ouzamour (a : sans traitement ; b-c : avec traitement) ; Population Atho-Osalah (d : sans traitement, e : avec traitement) ; population Aboudaw (f : avec traitement). La barre d'échelle correspond à 10µm.	28
Figure 31	Les différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques sans prétraitement de <i>Medicago intertexta</i> de Béjaïa ; a : Interphase ; b : Prophase ; c-d : Métaphase I ; e : début Anaphase ; f : fin de télophase ; g : Métaphase II ; h : début anaphase II ; i-j : Fin de télophase II ; k : Tétrades ; l : Grains de pollen. La barre d'échelle correspond à 10 µm.	29

LISTE DES FIGURES

Figure 42	Différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques avec prétraitement de <i>Medicago intertexta</i> de Béjaïa: a-b : Prophase I ; b : Métaphase I ; d-e-f :Anaphase I ; g-h : métaphase II ; i : Début de télophase II ; j-k : Fin de télophase II; N : Tétrades. La barre d'échelle correspond à 10 µm.	30
Figure 53 (a-b-c)	Cellule mère pollinique metaphasique de <i>Medicago intertexta</i> montrant la migration anormale de chromosome aux poles.. La barre d'échelle correspond à 10 µm.	31
Figure 64	Elimination d'une partie de chromatine par une poche de cytoplasme chez <i>Medicago intertexta</i> (Flèche). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	31
Figure 75 (a-b)	Cellules mères polliniques en telophase II de <i>Medicago intertexta</i> avec un pont chromatique (Flèche). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	32
Figure 86 (a-b-c)	Cellules mères polliniques en télophase II parissant avec 3 noyaux chez <i>Medicago intertexta</i> . La barre d'échelle correspond à 10 µm.	32
Figure 97 (a-b-c)	Fusion de cellules mères chez <i>Medicago intertexta</i> . a et b : fusion entre les méiocyte ; c : Fusion entre une cellule métaphasique et une microcellule . La barre d'échelle correspond à 10 µm.	32
Figure 108	Cytomixies entre méiocytes chez <i>Medicago intertexta</i> (Flèches). a :cytomixie entre deux cellules ; b-c :cytomixie entre trois cellules; d : cytomixie entre cinq cellules . La barre d'échelle correspond à 10 µm.	33
Figure 119	Cellules mères polliniques avec des micronoyaux chez <i>Medicago intertexta</i> (flèches). a : Télophase II avec un micronoyau; b : Métaphase II avec 4 micronoyaux. La barre d'échelle correspond à 10 µm.	33
Figure 20 (a-b-c-d-e-f)	Cellules metaphasiques de <i>Medicago intertexta</i> avec chromosome retardataire ou chromosome perdu (flèche). La barre d'échelle correspond à 10 µm.	34
Figure 212 (a-b-c)	Triades chez <i>Medicago intertexta</i> . La barre d'échelle correspond à 10 µm.	34
Figure 22	Les différentes formes des grains de pollen chez <i>Medicago intertexta</i> . 1 : forme subsphérique ; 2 : forme ronde La barre d'échelle correspond à 10 um.	35
Figure 23	Fertilité des grains de pollen chez <i>Medicago intertexta</i> ,Fertile (N) et non fertile (AN). La barre d'échelle correspond à 10 um.	35
Figure 24	Métaphases mitotiques racinaires de <i>Medicago intertexta</i> . a-b : Athousalah ; c-d :Targa ouzamour ; e-f : Oued ghir . La barre d'échelle correspond à 10 µm.	36

LISTE DES FIGURES

Figure 25	Cellules de méristème racinaire en division mitotique chez <i>Medicago intertexta</i> , de nombre chromosomique a : $2n = 16$; b : $2n = 32$. (Oued Ghir). La barre d'échelle correspond à $10 \mu\text{m}$.	36
Figure 26	Caryotype de <i>Medicago intertexta</i> de Béjaïa. a : Microphotographie d'une plaque métaphasique mitotique d'un méristème racinaire (Athou salah) ; b : Interprétation de la plaque métaphasique en a ; c : Caryogramme basé sur b; d : Idiogramme basé sur c.	37
Figure 27	Les étapes de la mitose racinaire chez les populations de <i>Medicago intertexta</i> étudiées. a-b : prophase ; c-d-e : Métaphase ; f-g-h : début anaphase ; i-j-k : fin d'anaphase ; l : télophase.. La barre d'échelle correspond à $10 \mu\text{m}$.	39

LISTE DES TABLEAUX

tableaux	Titres	Pages
I	Classification botanique du genre <i>Medicago</i> (Guignard, 2001).	5
II	Espèces spontanées en Algérie (D'après Quézel et Santa, 1962).	7
III	Les caractères morphologiques des espèces de la section des Intertextae(Schlarbaum et al., 1984).	10
IV	Synthèse des données caryomorphologiques sur les intertextae d'après Schlarbaum et al. (1984)¹ et d'après Kouar (1998)²	13
V	Caractéristiques des chromosomes somatiques des intertextae d'après Schlarbaum et al. (1984)¹ et Kouar (1998)²	14
VI	Matériel végétal utilisé et Les stations de récolte.	21
VII	Taux de fertilité pollinique chez <i>Medicago intertexta</i> .	35
VIII	Morohologie des chromosomes mitotiques de <i>M. intertexta</i> .	38

Introduction

INTRODUCTION

Le genre *Medicago* L. (1754), Luzernes en Français, Iffis en Kabyle et Nefla en Arabe algérien appartient à la famille des *Fabaceae* (Légumineuses). Il comprend des espèces annuelles et des espèces pérennes, herbacées ou arbustives. Les espèces de ce genre sont originaires de la zone méditerranéenne puis transportées dans plusieurs régions du monde à climat méditerranéen et dans la région océanique à climat tempéré du centre ouest de la France (Heyn, 1963 ; Genier *et al*, 1992). Ces plantes se classent parmi les meilleures plantes fourragères dans le monde (Mauries, 1994). Ce genre a fait l'objet de nombreuses études taxonomiques basées sur les caractères morphologiques cytogénétique et enzymatiques. Les plantes de ce genre jouent un rôle important au niveau de la résorption des jachères ; la protection des sols contre l'érosion ; l'enrichissement des sols en matière azotées ; l'alimentation des animaux ; présentent des valeurs médicinales et constituent un matériel de choix pour l'étude des phénomènes microévolution chez les plantes.

La section des *Intertextae* du genre *Medicago* comprend quatre espèces (*M. intertexta*, *M. ciliaris*, *M. muricoleptis* et *M. granadensis*) dont seulement deux sont signalées en Algérie (*M. intertexta* et *M. ciliaris*) qui présentent des ressemblances morphologiques importantes en particulier à l'état végétatif. Les espèces de la section sont annuelles, diploïdes, autogames et à $2n = 16$ (Lesins et Lesins, 1979 ; Schlarbum *et al.*, 1984 ; Abdelgherfi *et al*, 1988b). Cependant, certains auteurs ont rapporté l'existence d'un $2n = 32$ chromosomes pour *M. intertexta* (Fruyer, 1930 ; Senn, 1938 ; Fernandes et Santos de Fatima, 1971). Pour les populations de *M. intertexta* et *M. ciliaris* du Golfe de Béjaïa les nombres comptés jusqu'ici sont de $2n = 16$ (Messaoudi, 2002 ; Benmouhoub, 2007 et Aberbour et Kétir, 2008) avec une plaque de $2n = 32$ pour *M. ciliaris*.

Récemment, une nouvelle population de *M. intertexta* (non incluse dans études précédentes citées plus haut), a été repérée dans la petite vallée entre Ain Skhoun et Bouaïche en allant de Taghzouyth vers Ath Oussalah. Ce travail qui se veut une initiation aux manipulations cytogénétiques se propose d'analyser cette nouvelle population tout en incluant les populations d'Aboudaou, Targa Ouzemmour et Oued Ghir. Les objectifs principaux du travail sont les comptages chromosomiques sur des mitoses et méioses, la réalisation du caryotype des populations de *M. intertexta* de Béjaïa (non réalisé dans les travaux précédents), l'observation des déroulements de la mitose et de la méiose ainsi que les anomalies liées à cette dernière et l'évaluation de la fertilité pollinique.

CHAPITRE I :
REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**I.1- LE GENRE *MEDICAGO* L.****I.1.1- HISTOIRE ET ORIGINE GEOGRAPHIQUE DU *MEDICAGO* L.**

Selon **Fournier (1961)**, le terme "*Medicago*" vient du mot latin "Medica" ou « herbes de médic », après a été modifié et devient : *Medicago*. Le nom américain donné à la luzerne "alfalfa" proviendrait de l'Arabe. On retrouve d'ailleurs l'appellation alfalfa en Espagnol et en Italien. La culture de la luzerne, comme le cite **Small et al., (1999)**, remonterait à plus de 9000 ans.

L'origine des espèces du genre *Medicago* ne fait pas l'unanimité selon les auteurs. En effet, pour **Lapeyronie (1982)**, elles sont distribuées dans le bassin méditerranéen (le sud de l'Europe, l'Afrique du Nord, le proche Orient), certaines ont été introduites en Amérique du Nord, en Australie et en Europe du Nord. D'après **Derek et Ernest (1997)**, elles sont originaires d'Europe, d'Asie et d'Afrique et se sont répandues dans d'autres continents sous forme de mauvaises herbes. **Prosperi et al., (1995, 2000)** signalent les aires d'origine de toutes les espèces du genre comme étant « le croissant fertile » recouvrant les pays ou régions actuelles de Turquie, d'Iran, d'Irak, du Sud du Caucase et du pourtour méditerranéen. Les travaux de **Mathieu (2003) et Hireche (2006)** affirment qu'au cours de XIX siècle, Les luzernes ont conquis l'ensemble de la zone méditerranéenne, plusieurs luzernes annuelles ont été distinguées (**Prosperi et al., 1993**), ensuite elles ont envahi d'autres parties du monde, en particulier les continents américain et australien à l'occasion des différents courants de la colonisation humaine (**Figure1**).

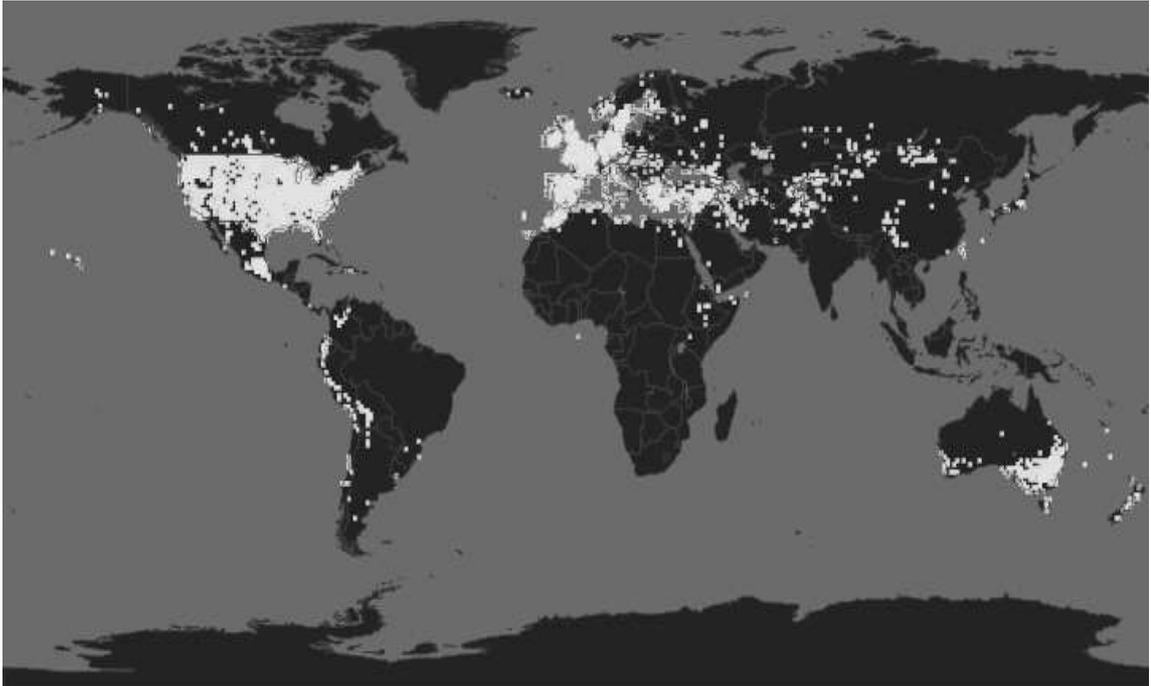


Figure 01 : Distribution géographique du genre *Medicago* dans le monde (Prolea, 2002).

Les luzernes s'accoutument des sécheresses périodiques, elles sont adaptées à tous les types de sols qui ne sont pas trop humides (Lapeyronie, 1982).

Les *medicago* arbustives sont originaire de la Grèce et des Iles. Actuellement, elles sont spontanée sur l'ensemble du pourtour Méditerranée, néanmoins elles se limitent aux zones Méditerranéennes chaudes car elles sont sensibles aux gelés importants (températures inférieure à -10°C) (prosperi *et al.*, 1995; abdelgherfi et Marrakchi, 2000).

I.1.2- MORPHOLOGIE DU GENRE *MEDICAGO* L.

Les plantes du genre *Medicago* sont annuelles ou pérennes, herbacées ou arbustives. Leurs caractères morphologiques ((Lesins et Lesins, 1979 ; Chakravatry, 1976 et Prosperi *et al.*, 1995) sont comme suit:

- Les feuilles sont trifoliées pétiolées et non terminées par une vrille et leurs folioles sont dentées sur la partie distale.
- Deux stipules collées aux pétioles
- Une corolle papilionacée, caduque, constituée d'un étendard de deux ailes libres et d'une carène formée par deux pétales inférieurs soudés.
- Androcée diadèphe (9 + 1) : neuf étamines soudées, formant la colonne staminale, plus une dixième étamine libre.

- Le calice est formé de cinq sépales soudés.
- Les inflorescences pédonculées portent jusqu'à 30 fleurs libres.
- La gousse est soit courbée, soit tordue, soit roulée en hélice, épineuse ou non, indéhiscente ou presque
- Le port est généralement dressé mais peut être prostré (collé au sol), les tiges peuvent être poilues.

1.1.2.1- LES PIÈCES FOLIAIRES DU GENRE *MEDICAGO* L.

Selon **Heyn (1963)** toutes les espèces du genre *Medicago* présentent des feuilles trifoliées composées de trois folioles et un pétiole inséré à la tige en un point où se trouvent deux stipules incisées.

Les folioles sont sous différentes formes : rondes, obovées, largement ou étroitement obovées, elliptiques ou obcordées et ovées. Les folioles portent des dents qui peuvent être émoussées ou pointues selon les espèces. Elles présentent ou non des poils sur les faces inférieures et des taches sur les faces supérieures.

1.1.2.2- LES PIÈCES FLORALES DU GENRE *MEDICAGO* L.

La fleur se compose d'un calice, une corolle, 10 étamines (9+1) et d'un pistil dont le tube a la forme d'une cloche avec 5 dents subégales. La corolle est papilionacée avec un étendard de différentes formes (arrondie, obovée, ovée ...) dont l'extrémité peut être jaune ou violette et deux pétales sous forme d'ailes de longueur supérieure, inférieure ou égale à la carène, sa couleur est généralement jaune (foncé ou clair) sauf chez *M. sativa* et *M. daghestanica* où elle est violette. Selon les espèces, le pédoncule est soit inférieur soit égal au pétiole et la présence ou l'absence de l'arête dépend aussi de l'espèce (**Lesins et Lesins, 1979**).

L'inflorescence chez *Medicago* d'après **Heyn (1963)** est une grappe avec un grand nombre de fleurs, ce nombre peut être réduit jusqu'à 1 ou 2 fleurs.

Les fleurs dont la couleur varie du mauve au jaune sont portées sur un long racème qui contient jusqu'à 20 fleurs (**Lapeyronie, 1982; Mathieu, 2003**).

1.1.3.3- LES FRUITS ET LES GRAINES DE *MEDICAGO* L.

Le fruit chez *Medicago* est une gousse plus ou moins enroulée, soit en forme de Faucille, soit spiralée (de 1 à 4 spires) parfois épineuse. La graine plus ou moins réniforme est longue d'environ 10 mm (Mathieu, 2003; Hireche, 2006), présentent une couleur variable allant du jaune paille au noir; Ses gousses peuvent être lâches, dures ou moyennes, et de diverses formes (ronde, ovale, cylindrique, en tonneau, discoïde, oblongue elles sont soit poilues (poils simples ou glanduleux), soit glabres. Les gousses sont enroulées en spires d'un nombre variable et présentent un réseau d'anastomoses de nervures ; Chaque spire porte des épines de nombre variable et insérées selon des angles différents. Dans chaque tour de spire on trouve des graines d'un nombre, de taille et de couleur variables (Heyen; 1963).

I.1.3- CLASSIFICATION DU GENRE *MEDICAGO* L

I.1.3.1 - CLASSIFICATION SUPRAGÉNÉRIQUE

Guignard (2001) a établi la classification botanique du genre *Medicago* (Tableau I).

Tableau I : Classification botanique du genre *Medicago* (Guignard, 2001).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyta
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone = Magnidiopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Super famille	Legumineusae
Famille	Papilionoideae
Genre	<i>Medicago</i>
Espèces	<i>M. intertexta</i> , <i>M. minima</i> , <i>M. polymorpha</i> ...

I.1.3 .2- CLASSIFICATION INFRAGÉNÉRIQUE

Plusieurs classifications du genre *Medicago* furent proposées par plusieurs botanistes et taxonomistes (Schoutteten, 2004; Heyn, 1963; Lesins et Lesins, 1979; Ernest *et al.*, 1998). Lesins et Lesins, 1979) recensent 55 espèces herbacées, 34 annuelles et 21 pérennes, parmi lesquelles une dizaine sont cultivées et dont la plupart sont présentes dans les pâturages ou parcours, notamment méditerranéens. Ils divisent le genre en 4 sous-genres (*Lupularia*, *Orbicularia*, *Falcago*, *Spirocarpus*) et 14 sections (Schoutteten, 2004).

Selon Ernest *et al.* (1998) le genre *Medicago* comporte 86 espèces (annuelles, bisannuelles et vivaces) représentant l'ensemble des 12 sections et 8 sous sections.

I.1.4 - DONNEES CYTOGENETIQUES SUR LE GENRE *MEDICAGO* L.

Le genre *Medicago* a fait l'objet de nombreuses recherches cytogénétiques, basées essentiellement sur les analyses caryologiques afin de préciser la position systématique et phylogénétique de certains taxons (Lesins *et al.*, 1970). Mais les données caryologiques sont insuffisantes et les relations phylogénétiques entre les espèces subsistent. Pourtant, il ressort de ces études au moins quatre nombres chromosomiques : $2n = 2x = 14$, 16 , 32 et 48 ; deux nombre de base $x = 7$, $x = 8$ et trois niveaux de ploïdies : diploïdes, tétraploïdes, et hexaploïdes (Bauchan *et al.*, 1984 ; Mariani *et al.*, 1990). Le nombre chromosomique le plus commun entre les espèces annuelles du genre *Medicago* est $2n = 2x = 16$.

Cependant, il existe des espèces diploïdes qui ont le nombre chromosomique $2n = 14$ et seule *M. murex* qui a à la fois $2n = 14$ et $2n = 16$. Le nombre chromosomique $2n = 14$ est le résultat d'un réarrangement des chromosomes faisant suite à l'union de deux chromosomes ou l'un des deux chromosomes est dépourvu du centromère Lesins *et al.*, (1970). D'après Lesins et Lesins (1979) il existe trois espèces avec le nombre chromosomique $2n = 14$, il s'agit de *M. polymorpha*, *M. praecox* et *M. rididula* et elles sont probablement dérivées de la même èspece que *M. murex*, vu leur possession exceptionnelle d'un chromosome long qui est le résultat d'une fusion de deux chromosomes. *M. constricta*, une autre espèce également à $2n = 14$, mais ne possède pas des chromosomes longs, elle est venue suite à un réarrangement secondaire des chromosomes. Il existe uniquement deux espèces annuelles tétraploïdes, il s'agit de : *M. rugosa* et *M. scutellata*. Les deux espèces ont le nombre chromosomique $2n = 30$ et $2n = 32$. *M.*

I.1.5- LES ESPECES DU GENRE *MEDICAGO* L. SIGNALÉE EN ALGERIE

Les plus importantes sont décrites par Quézel et Santa en 1962 (Tableau II).

Tableau II: Espèces spontanées en Algérie (D'après Quézel et Santa, 1962).

Nom d'espèce	Type de la plante	Gousse	Fleur	Habitat
<i>M. intertexta</i>	Annuelle	Glabre de 12 à 15 mm	Jaune	Pâturages, Tell Algéro- Constantinois
<i>M. ciliaris</i>	Annuelle	Velue hirsute, plus ou moins glanduleuses de 10-15 mm	Jaune	Pâturages, prairies, Tell à sol semi salin
<i>M. falcata</i>	Vivace	Courbée en faucille ou en anneaux, pubescen	Jaune	Pâturages argileux
<i>M. lupulina</i>	Annuelle ou bisannuelle	Réniforme, fortement arquée de 2-3 mm de diamètre	Jaune	Pâturages
<i>M. secundiflora</i>	Annuelle ou bisannuelle	Brun clair de 2-2.5 mm	Jaune	Pâturages
<i>M. marina</i>	Vivace	Contournée en hélice	Jaune	Sables maritimes
<i>M. sativa</i>	Vivace	glabre ou pubescente, à 2-3 tours de spire	Violettes ou jaunes lavées de brun	Cosmopolite
<i>M. scutellata</i>	Annuelle	Hémisphérique à spires emboîtées de 13-15 mm	Jaune	Sols argileux du Tell
<i>M. orbicularis</i>	Annuelle	Ovoïde à 5-6 tours de spires	Jaune	Pâturages du Tell
<i>M. rugosa</i>	Annuelle	Ne dépassant pas de 9 mm	Jaune	Pâturages de Constantine et Alger
<i>M. soleirolii</i>	Annuelle	Glabres	Jaune	Pâturages du Tell Constantinois
<i>M. rigidula</i>	Annuelle	Glanduleuse fortement pubescente de 10 mm	Jaune	Broussailles, Montagnes
<i>M. tuberculata</i>	Annuelle	Tronquée à sa base, Glabre de 10 mm	Jaune	Pâturages arides
<i>M. truncatula</i>	Annuelle	Tronquée a ses deux extrémités De 7-8 mm	Jaune	Sols argileux du Tell
<i>M. littoralis</i>	Annuelle	Ovoïde ou globuleuse de 10 mm	Jaune	Pâturages
<i>M. murex</i>	Annuelle	Glabres ou faiblement hispides	Jaune	Tell Algéro-Constantinois
<i>M. minima</i>	Annuelle	Contournée en hélice, pubescente de 3-4 mm	Jaune	Sols pauvres
<i>M. arabica</i>	Annuelle	Glabre de 5-7 mm	Jaune	Tell Algéro-Constantinois
<i>M. laciniata</i>	Annuelle	Ovoïde ou sphéroïdale de 5-6 mm	Jaune	Pâturages arides- Montagnes
<i>M. hispida</i>	Annuelle	Fortement réticulée- striée de 5-9 mm	Jaune	Tell - Pâturages

En Algérie, parmi les espèces les plus connues du genre, *Medicago ciliaris* et *Medicago intertexta* constituent les principales ressources en légumineuses fourragères (**André et Hubert, 1992 ; Laouar et Abdelguerfi, 2003 ; Hireche, 2006**). Leur classification n'est pas claire. En effet, selon la littérature ancienne et récente, quatre différentes classifications attribuées aux deux taxa existent et sont rapportées par **Laouar et Abdelguerfi (2003)**:

I.1.6- INTERET DE GENRE *MEDICAGO* L.

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

La luzerne (*M. sativa*) appartient à la famille des légumineuses bien connue pour ses avantages (**azibi, 2002**). La luzerne représente la plus importante culture fourragère du monde; elle est cultivée sur quelques 33 millions d'herbacé. Cette luzerne a été utilisée pour l'alimentation des animaux (**GENIER et al., 1992 ; Bolton, 1972**) et permet ses avantages :

- Teneur en protéine élevée (20% de la matière sèche)
- Valeur énergétique moyenne (0,74 UF-kg, de matière sèche, UF:unité fourragère).
- Productivité abondante en fourrage vert (12 à 14 tonnes de matière sèche -hectare)
- Régularité de rendement d'une année sur l'autre.
- Facilite d'installation en sol sain (6 < ph < 7,5).
- Culture à faible prix de revient (pérennité de 3-4 ans).

Elle a aussi une valeur médicinale pour guérir les animaux malade, qui est connue depuis fort longtemps (**FA.O, 1993**). Elle est utilisée pour traiter la cachexie et les ulcères. La luzerne renferme un taux élevée de protéines (allant jusqu'à 55 %), des acides aminés utilisés par l'organisme pour la synthèse de ses protéines et des vitamines (A, B1, B6, C, ...). Elle est riche en minéraux : la luzerne contient de grandes quantités de calcium, de magnésium et de potassium. Sa teneur en fer lui permet aussi d'être conseillée en cas d'asthénie et d'anémie. Elle est efficace en cas de rétention d'eau et pour conserver la tonicité des vaisseaux sanguins.

Selon **Bensaid (2003)**, des espèces du genre *Medicago* sont utilisées comme altératives à la jachère, largement pratiquée dans les régions céréalières (hauts plateaux).

Elles améliorent la fertilisation des sols par un important reliquat azoté de 40 à 50 kg-ha (**Abdelgherfi et al., 1988**). Grâce à leurs possibilités de captage d'azote en profondeur (jusqu'à 10 mètres pour *M. sativa*). Elles servent comme espèces « épuratrices de nitrate » (**Genier et al., 1992**). Leur utilisation en culture mixte avec les graminées permet d'augmenter le rendement de ces dernières. Les *Medicago* sont particulièrement adaptés aux zones de parcours et participent significativement au paysage pastoral sur le pourtour

méditerranéen (Refoufi, 1988). Dans quelques régions du monde, les cultures de luzernes annuelles ont été développées pour remplacer les céréales dans les systèmes de rotation avec le blé pour fournir une coupure au développement de parasites et de maladies céréales (Abdelkefi *et al.*, 2001).

I.2- LA SECTION INTERTEXTAE

Heyn en 1963 a décrit la section des *Intertextae* comme étant un groupe diploïde et annuel. Les espèces de cette section poussent dans les régions méditerranéennes à étages bioclimatiques allant de l'humide à l'aride supérieur. Ces espèces sont : *M. intertextata*, *M. ciliaris*, *M. muricoleptis*, *M. granadensis*. Les deux dernières espèces ne sont pas signalées en Algérie.

I.2.1- LES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE

Les principaux caractères des espèces de cette section sont ainsi résumés :

Gousses épineuses et enroulées en hélice. Les spires sont orientées, en allant de la base vers l'apex de la gousse, dans le sens des aiguilles d'une montre (Heyn, 1963 ; Lesins et Lesins, 1979). Des nervures radiales anastomosées très saillantes, mais pas de nervures latérales différenciées. Les nervures périphériques rejoignent latéralement la marge de l'épine, et se détachent de la face en formant une aile (Jauzein, 1995). Les graines sont brun-noir à maturité (Small *et al.*, 1989 ; Jauzein, 1995).

I.2.2- LES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES DES ESPÈCES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE

Les quatre espèces de la section des *Intertextae* : *M. ciliaris*, *M. intertextata*, *M. muricoleptis* et *M. granadensis* sont diploïdes ($2n = 2x = 16$) (Schlarbaum *et al.*, 1984) et leurs principaux caractères morphologiques sont indiqués dans le tableau III et les figures 2, 3, 4 et 5.

Tableau III : Les caractères morphologiques des espèces de la section des Intertextae (Schlarbaum *et al.*, 1984).

Caractères morphologiques	<i>M. ciliaris</i>	<i>M. intertexta</i>	<i>M. muricoleptis</i>	<i>M. granadensis</i>
Longueur du fruit (mm)	14,3	16,3	7,4	5,7
Largeur du fruit (mm)	11,8	12,5	10,6	8,8
Nombre du fruit	6,7	7,4	5,0	5,0
Longueur des épines (mm)	2,5	4,7	2,0	2,0
Nombre des épines	18	19	25	21
Longueur des feuilles (mm)	15,8	15,9	10,4	14,1
Présence des Anthocyanines dans les feuilles (1 : non, 2 : oui, 3 : parfois)	2	3	1	2
Longueur de la fleur (mm)	7,0	7,0	6,0	4,5
Taille de la plante (mm)	400	400	230	250

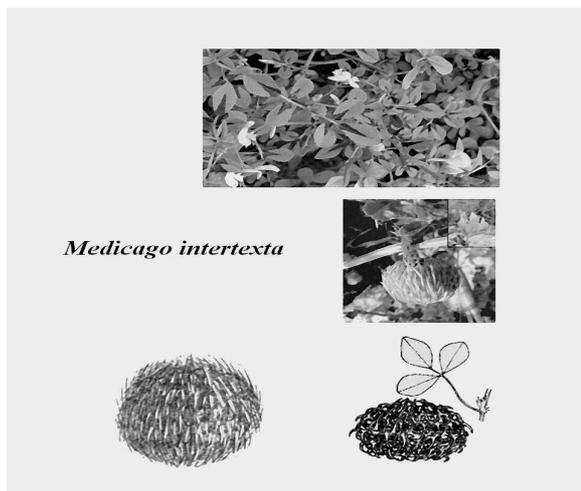


Figure 02: *Medicago intertexta* (L.) Mill (Small, 1989 et Bena, 2001).

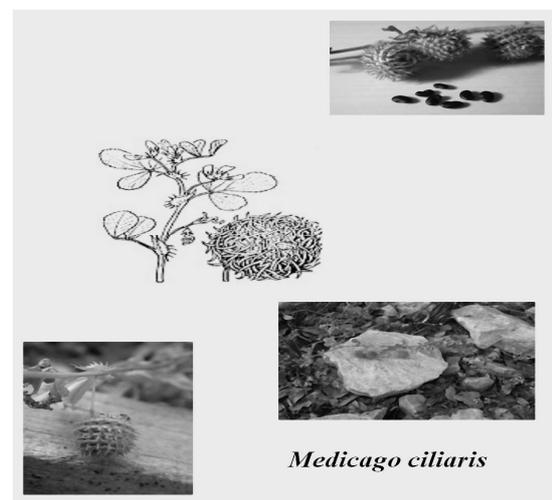


Figure 03: *Medicago ciliaris* (L.) Al (Small, 1989 et Bena, 2001).

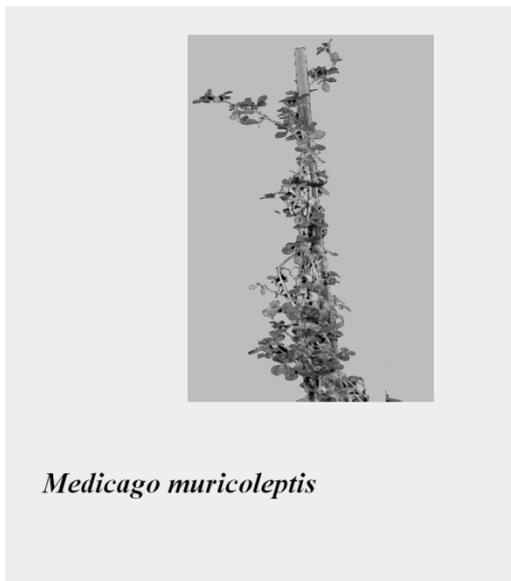


Figure 04: *Medicago muricoleptis* Tineo (Small, 1989 et Bena, 2001).

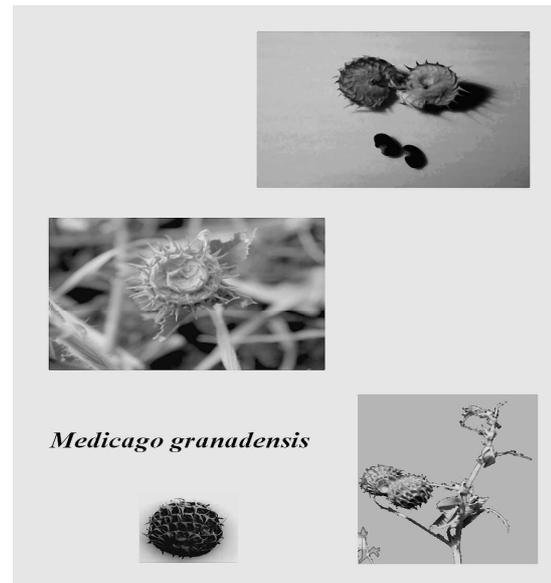


Figure 05: *Medicago granadensis* Willd (Small, 1989 et Bena, 2001).

Les ressemblances morphologiques entre les espèces de cette section, rend un peu difficile leur classification, surtout entre *M. intertexta* et *M. ciliaris* (Small et Jomphe, 1989 ; Small *et al.*, 1999). Cette difficulté est renforcée par l'existence de lien de parenté étroit entre elles; ces deux espèces auraient évolué à partir d'une lignée commune, et plus tard, *M. muricoleptis* et *M. granadensis* auraient dérivé de *M. intertexta*, par une évolution indépendante (Rose *et al.*, 1987).

I.2.3- DISTRIBUTION ET HABITAT DES ESPÈCES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE

La répartition éco-géographique des espèces de la section des *Intertextae* est liée principalement à la pluviométrie (annuelle et saisonnière), aux températures, au calcaire total, à l'altitude et aux profils écologiques des étages bioclimatiques. La Figure 06 représente cette répartition géographique.

De tout cela, il en résulte que : *M. intertexta* est ouest méditerranéenne : Portugal, France, Italie, Maroc, Algérie et îles canaries (Heyn, 1963 ; Lesins et Lesins, 1979 et Small et Jomphe, 1989). Elle préfère les sols lourds humides et les sols faiblement basiques à neutres de texture fine et très fine. Elle se localise dans les zones de pluviométrie annuelle supérieure à 550 (mm) et à des altitudes comprises entre 30 et 800 (m) (Abdelguerfi *et al.*, 1988a, 1988c).

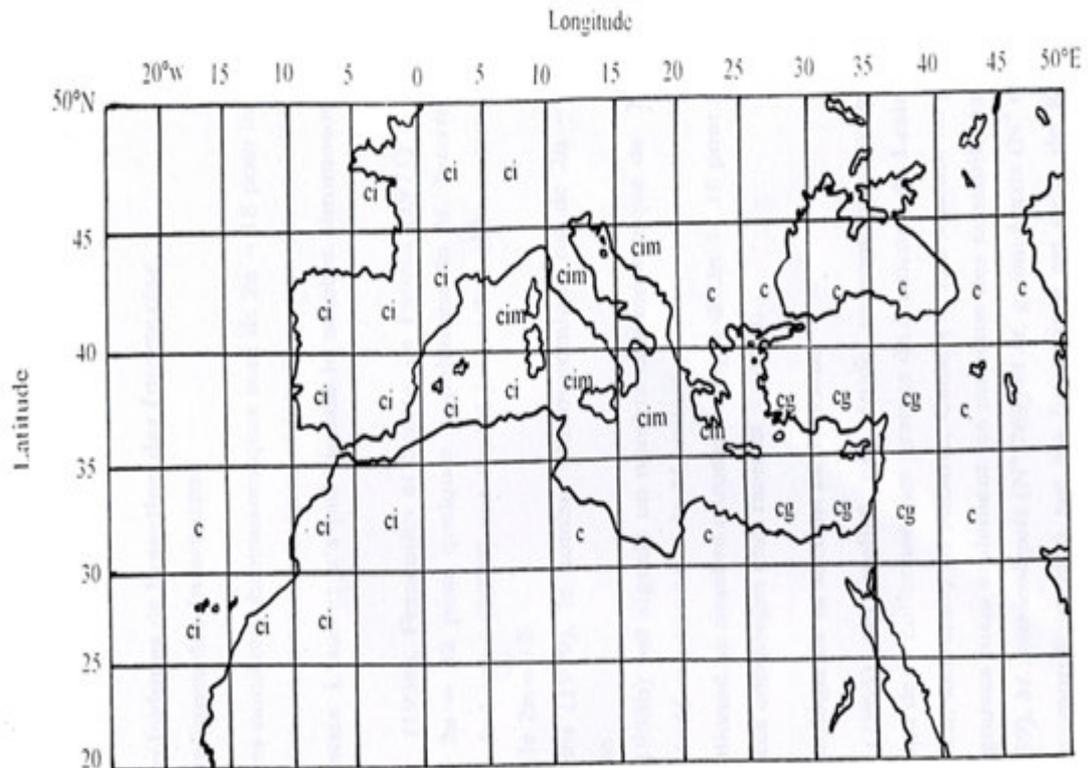


Figure 06 : Distribution et habitat des espèces de la section des Intertextae (d'après **Heyn, 1963; Lesins & Lesins, 1979 et Smail et al., 1999**), **c** : *M. ciliaris*, **g** : *M. granadensis*, **i** : *M. intertexta*, **m** : *M. muricoleptis*. Le Golfe de Béjaïa se localise sur cette carte sur une altitude de 37° N et une logéture de 5.5 E.

I.2.4 - CARACTÉRISTIQUES CARYOLOGIQUES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE

I.2.4.1- NOMBRES CHROMOSOMIQUES DES ESPÈCES DE LA SECTION DES INTERTEXTAE

Selon **Heyn (1963)**, les nombres chromosomiques sont de $2n = 18$ pour *M. intertexta* var. *ciliaris*, de $2n = 16$ pour *M. intertexta* var. *intertexta* et *M. intertexta* var. *decandollei*, de $2n = 16, 17, 18$ pour *M. granadensis*. L'auteur n'a pas signalé le nombre chromosomique de *M. muricoleptis*.

(FRUYER, 1930 et SENN, 1938 cité par SCHLARBAUM *et al.*, 1984), (FERNANDES AND SANTOS, 1971 cité par SADEGHIAN *et al.*, 2014), **JAUZEIN (1995)** ont signalé un nombre chromosomique de $2n = 32$ pour quelques populations de *M. intertexta*. Pour **Lesins et Lesins (1979)** aussi le nombre chromosomique de ces deux taxa est de $2n = 16$ mais pas le $2n = 32$. Jauzein (1995) a mentionné un nombre chromosomique de $2n = 16$ pour *M. ciliaris* et $2n = 32$ pour *M. intertexta*. **Abdelgurfi et al. (1988b)** ont signalé un nombre chromosomique de $2n = 16$ pour des populations algériennes de *M. intertexta* et *M. ciliaris*.

I.2.4.2-CARYOMORPHOLOGIE DE LA SECTION INTERTEXTAE

Schlarbaum et al. (1984) ont réalisé une étude caryomorphologique chez les intertextae sur un matériel issu de la collection des graines de *Medicago* de Lesins contenue au « Darwinian botanic garden, university of Albartha, Canada. ». Les auteurs ne précisent pas l'origine géographique des graines mais seulement les numéros des échantillons ; *M. ciliaris* (N°57), *M. intertexta* (N°239), *M. muricoleptis* (N°769) et *M. granadensis* (N°666). Pour toutes les quatre espèces le nombre chromosomique est de $2n = 16$.

Une autre étude caryomorphologique sur les intertextae est celle de **Kouar (1998)** réalisée sur un matériel d'Algérie : *M. intertexta* (Gouraya, Oued Mellah) et *M. ciliaris* (Bab Ezzouar; Gouraya, Mennaceur). Les nombres chromosomiques comptés pour ces populations sont de $2n = 16$ aussi.

Le **Tableau IV et V** synthétisent les données bibliographiques concernant les caractéristiques caryomorphologiques des espèces des Intertextae.

Tableau IV : Synthèse des données caryomorphologiques sur les intertextae d'après **Schlarbaum et al. (1984)**¹ et d'après **Kouar (1998)**² ; **a** : la somme S -somme de (L+S) ; **b** : somme L -somme (L+S)

Espèce	Longueur minimale des chromosomes (μm)	Longueur maximale des chromosomes (μm)	Taille moyenne des chromosomes \pm (μm)	Indice d'asymétrie		Formule chromosomique $n = x = 8$
				a	b	
<i>M. ciliaris</i> ¹	2.7	3.84	25.96	3.32 \pm 0.43		0M+5m+3sm+0st
<i>M. ciliaris</i> ²	1.48	2.70	16.95	1.88 \pm 0.58		0M+3m+5sm+0st
<i>M. intertexta</i> ¹	2.57	4.27	25.70	3.221 \pm 0.57		0M+5m+3sm+0st
<i>M. intertexta</i> ²	1.21	2.88	16-81	2.10 \pm 0.63		0M+5m+3sm+0st
<i>M. muricoleptis</i> ¹	2.09	3.44	21.49	2.68 \pm 0.51		1M+3m+3sm+1st
<i>M. granadensis</i> ¹	2.05	2.58	18.52	2.31 \pm 0.18		0M+4m+4sm+0st

Tableau V : Caractéristiques des chromosomes somatiques des intertextae d'après **Schlarbaum et al. (1984)¹** et **Kouar (1998)²**. **M :** métacentrique sensu stricto ; **m :** métacentrique ; **sm :** submétacentrique ; **ls :** subtélocentrique et présence d'un sateellite. ; **q :** bras long ; **p :** bras court, **LT :** longueur totale ; $LT=p+q$, **IC :** indice centromerique : $IC= p/q$ (%) ; **m :** métacentrique ; **TC :** type chromosomique ; **m :** métacentrique ; **sm :** submetacentrique ; **st :** région subterminale .

Espèce	Paire	q (µm)	p (µm)	ls(µm)	LT (µm)	IC (%)	Longueur relative	Tc
<i>M. ciliaris</i> ¹	1	1.72	0.78	1.34	3.84	0.81*	14.97	m
	2	2.42	1.39		3.81	0.57	14.67	sm
	3	2.09	1.56		3.65	0.74	14.06	sm
	4	1.84	1.35		3.19	0.73	12.29	sm
	5	1.68	1.35		3.03	0.80	11.67	m
	6	1.48	1.39		2.87	0.94	11.05	m
	7	1.56	1.31		2.87	0.84	11.05	m
	8	1.39	1.31		2.70	0.94	10.4	m
<i>M. ciliaris</i> ²	1	1.50	1.20	0.71	2.70	0.80	16.62	m
	2	1.65	1.03		2.68	0.62	16.50	sm
	3	1.22	0.46		2.39	0.96*	14.71	m
	4	1.33	0.80		2.13	0.60	13.11	sm
	5	1.28	0.82		2.10	0.64	12.93	sm
	6	1.10	0.82		1.92	0.74	11.82	sm
	7	0.87	0.68		1.55	0.78	9.54	m
	8	1.93	0.55		1.48	0.59	9.11	sm
<i>M. intertexta</i> ¹	1	2.27	2.00	1.30	4.27	0.88	16.61	m
	2	2.11	1.73		3.84	0.81	14.54	m
	3	1.65	1.58		3.23	0.95	12.56	m
	4	1.26	0.62		3.19	0.65*	12.41	sm
	5	1.50	1.42		3.92	0.94	11.36	m
	6	1.84	1.03		2.88	0.55	11.20	sm
	7	1.46	1.34		2.80	0.91	20.89	m
	8	1.50	1.07		2.57	0.71	10.0	sm
<i>M. intertexta</i> ²	1	1.79	1.09	0.45	2.88	0.61	17.60	sm
	2	1.63	1.17		2.80	0.71	17.11	sm
	3	1.79	0.83		2.62	0.46	16.01	m
	4	1.44	0.85		2.29	0.59	13.09	sm
	5	1.07	0.76		1.83	0.71	13.99	m
	6	0.78	0.43		1.66	0.88*	11.18	m
	7	0.76	0.64		1.40	0.84	8.55	m
	8	0.78	0.55		1.33	0.70	8.12	m
<i>M. muricoleptis</i> ¹	1	1.80	1.64	1.64	3.44	0.91	16.00	m
	2	1.43	0.28*		3.35	0.74*	15.58	sm
	3	1.97	0.98		2.95	0.49	13.72	st
	4	1.39	1.31		2.70	0.94	12.56	m
	5	1.48	0.90		2.38	0.60	11.07	sm
	6	1.35	1.03		2.38	0.76	11.07	m
	7	1.10	1.10		2.20	1.00	16.23	M
	8	1.23	0.86		2.09	0.69	9.72	sm
<i>M. granadensis</i> ¹	1	1.64	0.94	0.66	2.58	0.57	11.93	sm
	2	1.56	0.98		2.54	0.62	13.71	sm
	3	1.56	0.82		2.38	0.52	11.85	sm
	4	1.23	1.11		2.34	0.90	11.63	m
	5	1.31	0.94		2.25	0.71	12.14	sm
	6	1.23	0.98		2.21	0.79	11.93	m
	7	1.10	0.41		2.17	0.97*	11.71	m
	8	1.15	0.90		2.05	0.78	11.06	m

I.3.4.3- LES HYBRIDATIONS ENTRE LES ESPECES DE LA SECTION INTERTEXTAE

M. intertextata x *M. intertextata*

Le croisement réalisé *in vivo* entre *M. intertextata* (de Sicile) sans tache rouge à la base des feuilles et *M. intertextata* (du jardin botanique de Birmingham) avec une tache rouge triangulaire à la base des feuilles et des gousses à épines courbées a donné en F₁ des plantes avec une tache rouge triangulaire à la base des feuilles avec une fertilité pollinique très élevée. A la F₂, la ségrégation du caractère de la présence de la tache rouge à la base des feuilles est de 3 : 1 ; ainsi le gène responsable de ce caractère codé par une seule paire d'allèles ; M (avec tache) le caractère dominant et m (sans tache) est le caractère récessif. La fertilité pollinique élevée et la ségrégation normale du caractère étudié implique que les deux échantillons font partie de la même espèce (Lesins *et al.*, 1971).

❖ *M. granadensis* x *M. granadensis*

La couleur noire de la graine de *M. granadensis* est utilisée pour confirmer l'origine hybride de la F₁. Le croisement entre *M. granadensis* (originale du sud de la Turquie) avec des tiges poilues, une tache blanche au milieu de la feuille et des graines brunes, et *M. granadensis* (du sud de la Turquie) avec des tiges rouges lisses, tache rouge au milieu de la feuille et des graines noires a produit en F₁ des individus ayant une fertilité pollinique très élevée (98%). En F₂, les proportions obtenues pour la tache sur les feuilles sont 9 avec tache rouge au milieu de la feuille et 4 sans tache. Ce caractère semble être déterminé par un gène «P» pour la présence de la tache et un gène «C» responsable de la couleur de cette tache. Pour les caractères de la présence de poils sur la tige et la couleur des caractères tiges poilues et graines noires. La ségrégation indépendante des caractères indique que les gènes sont situés dans des chromosomes différents ou sur des parties très éloignées. La ségrégation normale des caractères en F₂ et la forte fertilité en F₁ indiquent que les deux échantillons sont de la même espèce (Lesins *et al.*, 1971).

❖ *M. ciliaris* x *M. intertextata*

Le croisement entre *M. ciliaris* (originale de la Palestine) sans tache sur les feuilles et gousses poilues et *M. intertextata* avec une tache rouge triangulaire à la base des feuilles donne une F₁ avec une tache rouge à la base des feuilles, avec une ségrégation de 3 : 1. La F₁ présente un taux de fertilité pollinique correspondant à 40^o-. Dans cette génération, la pilosité des

gousses était faible par rapport au parent *M. ciliaris*, la ségrégation de ce caractère en F₂ et de 3: 1 et en F₃ il est de 1: 2: 1. Ces résultats montrent que la pilosité des gousses est codée par un seul gène à deux allèles, l'allèle dominant « H » donne des gousses poilues et l'allèle récessif « h » donne des gousses glabres. La ségrégation des deux caractères, présence de tache sur les feuilles et pilosité des gousses étaient de 9: 3: 3: 1 en F₂, ce qui indique que les deux gènes codant pour ces caractères se trouvent sur deux chromosomes différents, ou sur deux parties très éloignées d'un même chromosome (Lesins *et al.*, 1971).

❖ *M. muricoleptis* x *M. Intertexta*

Le croisement entre *M. muricoleptis* (originaire de Sicile) avec des feuilles sans tache, de petites gousses cylindriques et à petites graines et *M. intertexta* (originaire du jardin botanique de Birmingham) avec une tache rouge à la base des feuilles et des gousses à épines courbées donne une F₁ composée de plantes portant des feuilles avec un taux de fertilité correspondant à 50[°]-. La F₂ est composée de 96 plants à feuilles avec tache rouge triangulaire à la base et 35 plantes sans taches. Après transfert de ces plantes vers un phytotron, deux classes sont distinguées ; sur les 96 plantes avec tache, la première est constituée de 33 plantes avec tache rouge foncée et la deuxième est composée de 63 plantes avec une tache rouge claire. Ces résultats laissent suggérer qu'il ya deux allèles responsables de cette tache, « M » et « m », « MM » donne des plantes avec tache rouge foncée, « Mm » donne des plantes avec tache rouge claire, et « mm » donne des plantes sans tache. Selon le poids des graines, 5 classes ont été distinguées avec une proportion de 1: 4: 6: 4: 1, ce qui montre que le poids des graines est codé par deux gènes à effet cumulatif. La distribution du caractère tache sur ces différentes classes a révélé que le caractère tache sur les feuilles et le caractère poids de graines ségrégent indépendamment (Lesins *et al.*, 1971).

❖ *M. muricoleptis* x *M. ciliaris*

Le croisement entre *M. muricoleptis* (originaire de Sicile) avec de petites gousses cylindriques, de petites graines et des feuilles sans tache et *M. ciliaris* (originaire de la Sardaigne) avec une tache rouge au milieu des feuilles et des poils sur les gousses donne une F₁ des plantes à feuilles avec une tache au centre et à gousses poilues, avec une fertilité pollinique de 35[°]-. *M. intertexta*, *M. ciliaris*, *M. muricoleptis* peuvent être croisées et produire des hybrides, mais avec une fertilité pollinique faible. Les analyses de la méiose de la F₁ de ces hybrides ont montré des irrégularités en métaphase, ce qui implique que ces espèces sont divergentes (Lesins *et al.*, 1971).

❖ *M. granadensis* x *M. intertexta* et *M. intertexta* x *M. galilaea*

Le croisement entre *M. granadensis* (originaire du sud de la Turquie) avec une tache rouge au milieu des feuilles et des tiges poilues rouges et *M. intertexta* (du jardin botanique de Birmingham) avec une tache triangulaire à la base des feuilles et des gousses à épines courbées et le croisement entre *M. galilaea* (originaire de la Turquie) avec des gousses poilues et *M. intertexta* (du jardin botanique de Birmingham) avec une tache rouge triangulaire à la base des feuilles et des gousses avec des épines courbées n'ont donné aucun hybride même répété à plusieurs reprises pour chacun. Ce résultat affirme la présence d'une forte barrière d'infertilité entre *M. intertexta* et *M. granadensis*-*M. galilaea* (Lesins *et al.*, 1971).

1.2.5 - FLUX DE GENES

Chérifi *et al.*, (1993) ont étudié les populations tunisiennes des intertextae. Ils ont trouvé qu'une population de *M. intertexta* s'est isolée de son groupe d'origine et de celui de *M. ciliaris* en se singularisant par sa position intermédiaire entre les deux groupes. En effet, la population intermédiaire présente un taux de viabilité des grains de pollen relativement faible (57%). Elle manifeste également une baisse du nombre de gousses formées par grappe. Ce qui suggère l'éventualité entre ces deux espèces. Certains caractères de la biologie florale semblent en faveur de cette hypothèse. Toutefois, la population de *M. intertexta* semble présenter des similarités morphologiques avec celle de *M. ciliaris*. Cette situation particulière traduirait la possibilité d'hybridations introgressives entre ces deux espèces. Les hybrides ont tendance à être pollinisés d'avantage par le pollen de l'un des deux parents que par leur propre pollen, d'où il s'ensuit une production d'hybrides introgressifs. Les croisements en retour avec l'un ou l'autre des types parentaux, par suite des recombinaisons génétiques, au transfert d'une partie du matériel génétique entre ces deux espèces. Ces résultats ont été confirmés par l'étude enzymatique de CHERIFI (1996). Il a montré que la population intermédiaire présente une similitude enzymatique importante avec les populations de *M. ciliaris* et occupe ainsi une position intermédiaire. Cette situation appuie l'hypothèse de la présence d'un flux génique entre *M. ciliaris* et *M. intertexta*.

Selon Small *et al.* (1999), *M. intertexta* est l'espèce la plus polymorphe des intertextae. Elle possède un grand nombre de loci polymorphes et une grande diversité allélique. Ainsi l'hétérozygotie est plus élevée chez *M. intertexta* moins élevées chez *M. ciliaris*, aucun hétérozygote n'a été observé chez *M. granadensis* et très peu chez *M. muricoleptis*. Les fleurs de *M. intertexta* sont parmi les plus grandes des espèces annuelles du

genre *Medicago*, la taille de la fleur est un caractère indicateur du degré d'interfertilité dans le genre, ce qui explique l'hétérozygotie élevée chez *M. intertexta* par rapport aux espèces annuelles et l'existence d'un flux de gène de *M. ciliaris* vers *M. intertexta*.

I.3- LES ANOMALIES DE LA MEIOSE

❖ LA SEGREGATION CHROMOSOMIQUE IRREGULIERE

Elle est caractérisée par la migration précoce des chromosomes vers les pôles pendant la métaphase et des chromosomes retardataires pendant l'anaphase. Ces anomalies peuvent mener à la formation de micronoyaux, qui sont dus à la présence de chromosomes univalents pendant l'adiakinèse ou en métaphase, à partir des chiasmés incomplets (terminaison précoce de chiasme), ou par la présence de gènes désynaptiques et asynaptiques durant la prophase I. Cette ségrégation irrégulière se manifeste chez les hybrides. (**Pagliarini, 2000 et Mendes-Bonato et al., 2001**).

❖ LA VISCOSITE DES CHROMOSOMES

Cette anomalie peut être présente dans toutes les phases du cycle cellulaire, et même le nombre de chromosomes impliqués dans la viscosité est variable. Elle est induite par des facteurs génétiques et environnementaux. Lorsque cette anomalie se produit elle conduit toujours à dégénérescence du noyau (pycnose) par une restriction extrême irréversible des chromosomes, puis la mort de la cellule (**Bione et al., 2000 ; Mendes-Bonato et al., 2001 & Sheidai et Fadaei, 2005**).

❖ LA CYTOMIXIE

La cytomixie (phénomène a été enregistré la première fois par KOERNICKE, 1901 ; cité par K LATTOO et al., 2006).C'est un transfert de chromosomes d'une cellule à une autre, à travers des connections cytoplasmiques, dont l'origine n'est pas encore claire. Des conditions environnementales et des facteurs génétiques, non élucidés, peuvent induire cette anomalie (**Love, 1938; Bass et al., 2003**). La cytomixie joue un rôle secondaire dans l'évolution qui est à l'origine des aneuploïdies et des polyploïdies (**Pagliarini, 2000**). Elle a été trouvée chez plusieurs plantes, *Brassica napsus* et *B. campestris* (**Souza et Pagliarini, 1997**), dans le genre *Glycine* (**Bione et al., 2000**), *Medicago sativa* (**Bellucci et al., 2003**) et dans le genre *Bromus* (**Sheidai & Fadaei, 2005**).

❖ LA FORMATION DE SYNCYTES

Il s'agit d'une fusion de deux ou plusieurs cellules qui se trouvent généralement dans la même phase de la méiose (**Mendes-Bonato *et al.*, 2001**). Le syncyte peut se former soit par la suppression de la formation de la paroi lors de la mitose préméiotique, soit par fusion de cellules mères polliniques (CMP), provoquée par la dissolution de la paroi cellulaire pendant la prophase de la méiose (**Mendes-Bonato *et al.*, 2001 & Mendes-Bonato *et al.*, 2006**).

CHAPITRE II :
MATERIEL ET
METHODES

Chapitre II - MATERIEL ET METHODES

II.1- MATERIEL VÉGÉTAL UTILISÉE ET STATION D'ETUDE

La figure 07 ci-dessous montre les différentes parties de la plante.

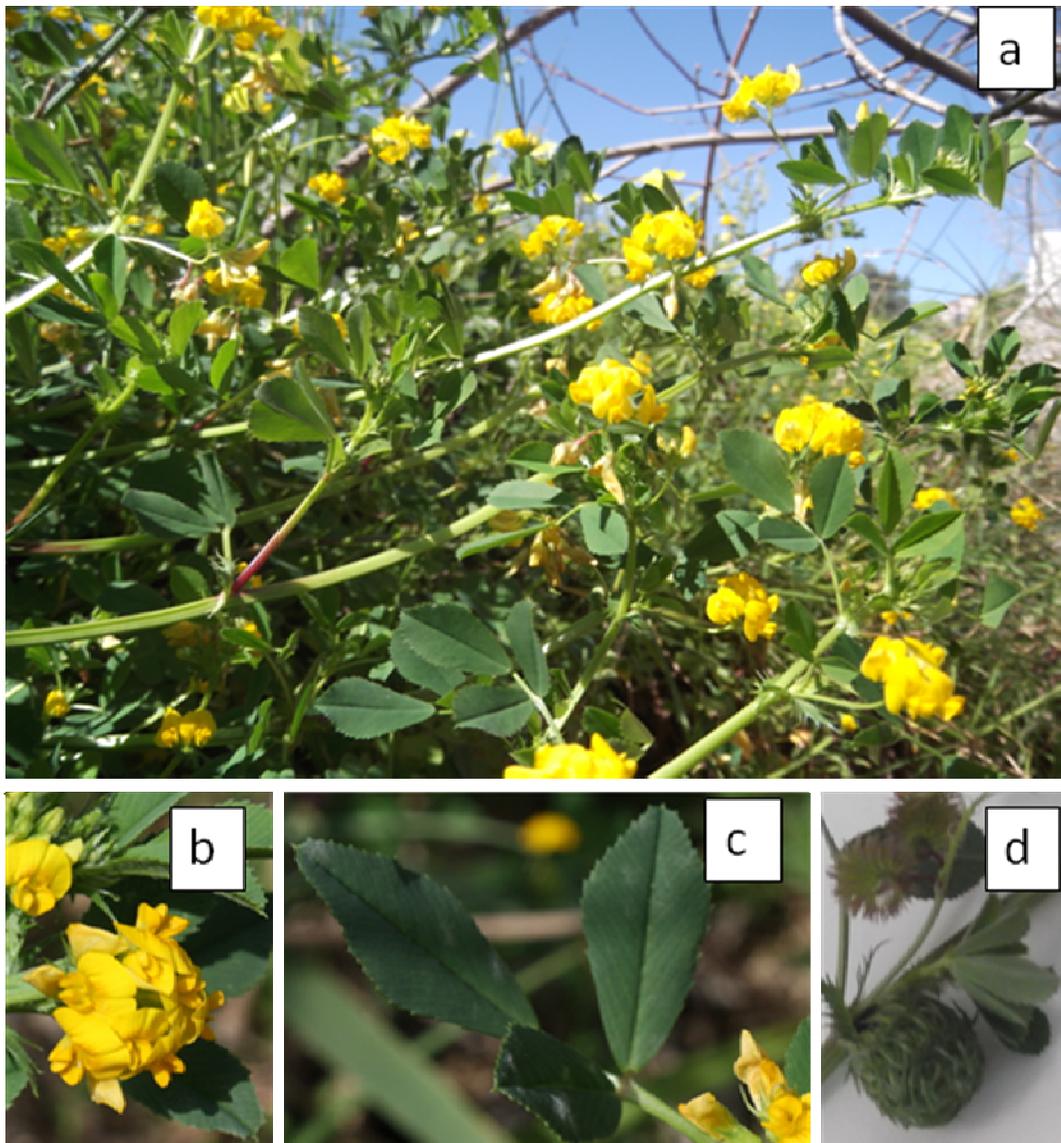


Figure07: Morphologie de *Medicago intertexta*. **a:** La plante dans son milieu naturel ; **b:** Fleurs ; **c:** Feuilles ; **d:** Fruits (gousse). (Originale).

Ce travail a été effectué sur des bourgeons floraux pour l'analyse des méioses et sur les graines pour l'analyse des mitoses des différentes populations étudiées (**Tableau VI**).

Tableau VI : Matériel végétal utilisé et Les stations de récolte.

Stations de récolte	Matériel végétal et Dates de récolte	
	Les Bourgeons floraux	Les gousses
Campus universitaire de Targa Ouzamour (Béjaïa)	21- 04-2013 22- 02- 2016 15 -03-2016 18-04-2016	12 -06 -2014 29-05-2015
Campus universitaire d'Aboudaw (Béjaïa)	08-04- 2015 30-03-2016	-
Athou-Salah (Bejaïa)	19 -04-2015 28-03-2016	28-10-2014
Oued Ghir (INRA)	-	30-06-2002 18 -06-2013

II.2- ETUDE DES MÉIOSES POLLINIQUES

II.2.1- PRÉPARATION DES SOLUTIONS

II.2.1.1- PRÉTRAITEMENT

Le prétraitement des bourgeons floraux ont été préparées comme suit :

- **8 Hydroxyquinoléine 0.002M** : Dans un flacon en verre, on dissoudre 0,29g de 8-hydroxyquinoléine dans 1000 ml d'eau distillée, agiter bien la solution jusqu'à ce que la poudre de 8-hydroxyquinoléine se dissolve complètement.
- **α -bromonaphtalène saturé dans l'eau** : On met une goutte de α -bromonaphtalène dans un litre d'eau distillée.

II.2.1.2- 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, et il assure une meilleure conservation pour la disponibilité du matériel végétal pendant une longue période lorsqu'il est conservé à l'obscurité à 4°C (**Jahier et al., 1992**).

Le fixateur utilisé est celui du Carnoy II composé de :

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

II.2.1.3- LE COLORANT

Le colorant utilisé est à base d'orcéine lactopropionique préparé selon **Dyer (1963)** modifié selon **Löve et Löve (1975)**. Dans un grand erlenmeyer, dissoudre 2g d'orcéine dans 23 ml d'acide propionique et 23 ml d'acide lactique, ensuite ajouter de l'eau distillée jusqu'à 100 ml et bien agiter la solution puis filtrer. La solution d'orcéine ainsi obtenue se conserve longtemps dans un flacon en verre fumé.

II.2.2- LES PRINCIPALES ÉTAPES DE L'ANALYSE DE LA MÉIOSE**❖ Fixation**

Durant la période de floraison, sous des conditions de température douce et d'humidité optimale, les boutons floraux sont prélevés très jeunes et mis immédiatement dans des tubes à essais contenant du fixateur Carnoy I (3 volumes d'Éthanol et 1 volume d'acide acétique glacial) ou Carnoy II (6 volumes d'Éthanol, 3 volumes de chloroforme et 1 volume d'acide acétique glacial), un deuxième lot des boutons floraux est prétraité par l' α -bromonaphtalène ou la 8-hydroxyquinoléine 0.002M pendant 24h à 4°C avant fixation. Ce fixateur assure un arrêt rapide des divisions cellulaires.

❖ COLORATION

Cette étape consiste à mettre une goutte du colorant sur une lame de microscope et chauffer au bain marie pendant 3 à 4 minutes à 60°C, puis recouvrir d'une lamelle en mettant

du papier filtre sur la lamelle pour éliminer l'excès du colorant en exerçant une légère pression avec le pouce pour étaler les anthères et libérer les cellules mères polliniques.

❖ **OBSERVATION MICROSCOPIQUE ET PHOTOGRAPHIE**

Après la coloration, passer la préparation au microscope optique pour observer les cellules en méiose à l'aide d'un objectif de faible grossissement (X 10) puis grossissement (X 40) pour une bonne visualisation de l'image. Le dernier grossissement est celui de l'objectif (X 100) à immersion. Les préparations réussies sont photographiées à l'aide d'un microscope OPTIKA 305 sur lequel est montée une caméra numérique.

Les lames sont conservées pendant quelques jours en luttant les lames avec du vernis à ongles transparent.

II.2.3- ANALYSE DE LA FERTILITÉ POLLINIQUE

Les boutons floraux mûrs récoltés au stade avant l'anthèse sont mis tout de suite dans du fixateur. La technique utilisée pour étudier la fertilité pollinique a été inspirée du protocole de **Mertens et Hamnersmith (1998)** qui est une technique est la coloration au bleu de coton.

Le bleu de coton est préparé comme suit :

- 8 volumes de glycérine,
- 4 volumes d'acide lactique à 85%,
- 4 volumes de solution de phénol (1gde cristaux 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).

La coloration se fait comme suit :

Sur une lame écraser les anthères pour libérer le maximum de grains de pollen et ajouter une petite goutte de colorant et recouvrir d'une lamelle et passer à l'observation au microscope photonique. Les grains de pollen colorés uniformément d'un bleu foncé sont considérés viables et fertiles alors que ceux de formes et de tailles anormales et non colorés uniformément sont considérés non viables et stériles. pour chaque fleur on compte jusqu'à 400 et 500 grains de pollen (fertiles et stériles).

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

$$TF(\%) = \frac{N}{(N+AN)} \times 100$$

TF : taux de fertilité pollinique

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

AN : nombres de grain de pollen anormaux (stériles).

II.3- MITOSE

II.3.1- PRÉPARATION DES SOLUTIONS

II.3.1.1 – PRÉTRAITEMENT

Cette première étape à pour but :

- de bloquer les divisions mitotiques en métaphase.
- de contracter les chromosomes.
- d'obtenir un grand nombre de plaques métaphasiques.

Deux agents ont été utilisés dans le présent travail. La 8 Hydroxy quinoléine 0,002M préparée comme précédemment et la colchicine 0,1% préparée en dissolvant 0.1g de poudre de colchicine dans 100 ml d'eau distillée

II.3.1.2- LE FIXATEUR

Le fixateur utilisé est composé de :

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

Le but de cette étape est :

- De détruire toute vie cellulaire.
- De bloquer les divisions cellulaires en conservant l'intégrité structurale des chromosomes.
- De protéger les chromosomes de l'action de l'agent mitoclasique de prétraitement.

(Löve et Löve, 1975 ; Jahier *et al.*,1992).

II.3.1.3- LE COLORANT

Le même colorant que celui utilisé pour la méiose.

II.3.2- LES PRINCIPALES ÉTAPES DE L'ANALYSE DE LA MITOSE

❖ MISE A GERMINATION DES GRAIN

Les graines les plus saines ont été récupérées à partir des gousses, puis scarifiées à l'aide de papier verre. Les graines scarifiées de chaque population sont étalées sur du papier coupé aux mêmes dimensions que la base de la boîte de pétri, puis humidifiées à l'eau de robinet et mises à germer à l'obscurité. Dans chaque boîte de pétri comportant les graines est placée une étiquette portant le nom de la station et date de mise a germination (Figure 7).



Figure 08: Graines de *Medicago intertexta* pour les trois populations après germination. (1) Targa Ouzemmour ; (2) Ath Ousalah ; (3) Oued Ghir (Originale).

❖ LE PRÉTRAITEMENT

Avec des pinces propres, des pointes de racines d'environ 2cm sont prélevées. Ces pointes de racines sont mises tout de suite dans un tube à essai contenant la solution de 8-hydroxyquinoléine 0.00M ou La colchicine 0.1% pour une durée de trois heures.

❖ FIXATION

Après le prétraitement, les pointes des racines sont transférées dans un tube à essai contenant la solution de fixateur pour une durée d'une heure.

❖ HYDROLYSE À HCL

Les pointes des racines sont ensuite transférées dans une solution d'HCl 1N et mises au bain marie à 60 °C pendant 10 à 15 min.

❖ COLORATION

Après l'hydrolyse, les pointes des racines sont transférées dans le colorant, puis mises au bain marie à une température de 60 °C pendant 5 min.

❖ MONTAGE ENTRE LAME ET LAMELLE

Sous la loupe, avec des pinces propres, prendre une racine et la mettre sur une lame de microscope, et avec une lame de rasoir couper l'extrémité de la racine colorée en rouge, puis ajouter une goutte de colorant et couvrir avec une lamelle. Le surplus du colorant est absorbé en appliquant du papier filtre sur la lamelle. Puis, en exerçant une légère pression avec le pouce sur la lamelle, le méristème racinaire est écrasé en prenant soin de pas déplacer la lamelle.

❖ OBSERVATION AU MICROSCOPE ET PHOTOGRAPHIE

Cette étape consiste à passer la préparation au microscope optique, pour observer des cellules en mitose. L'observation des chromosomes est obtenue par un grossissement supérieur, le plus souvent avec l'objet (x 100) à immersion. Les préparations réussies sont photographiées à l'aide d'un microscope OPTIKA 305 sur lequel est montée une caméra numérique.

Les lames sont conservées pendant quelques jours en les luttant avec du vernis à ongles transparent.

CHAPITRE III :
RESULTATS ET
DISCUSSIONS

III.1- RÉSULTATS

III.1.1 - MORPHOLOGIE DE L'ESPÈCE *M. INTERTEXTA*

La figure 09 ci-dessous montre un herbier complet de *M. intertexta*,

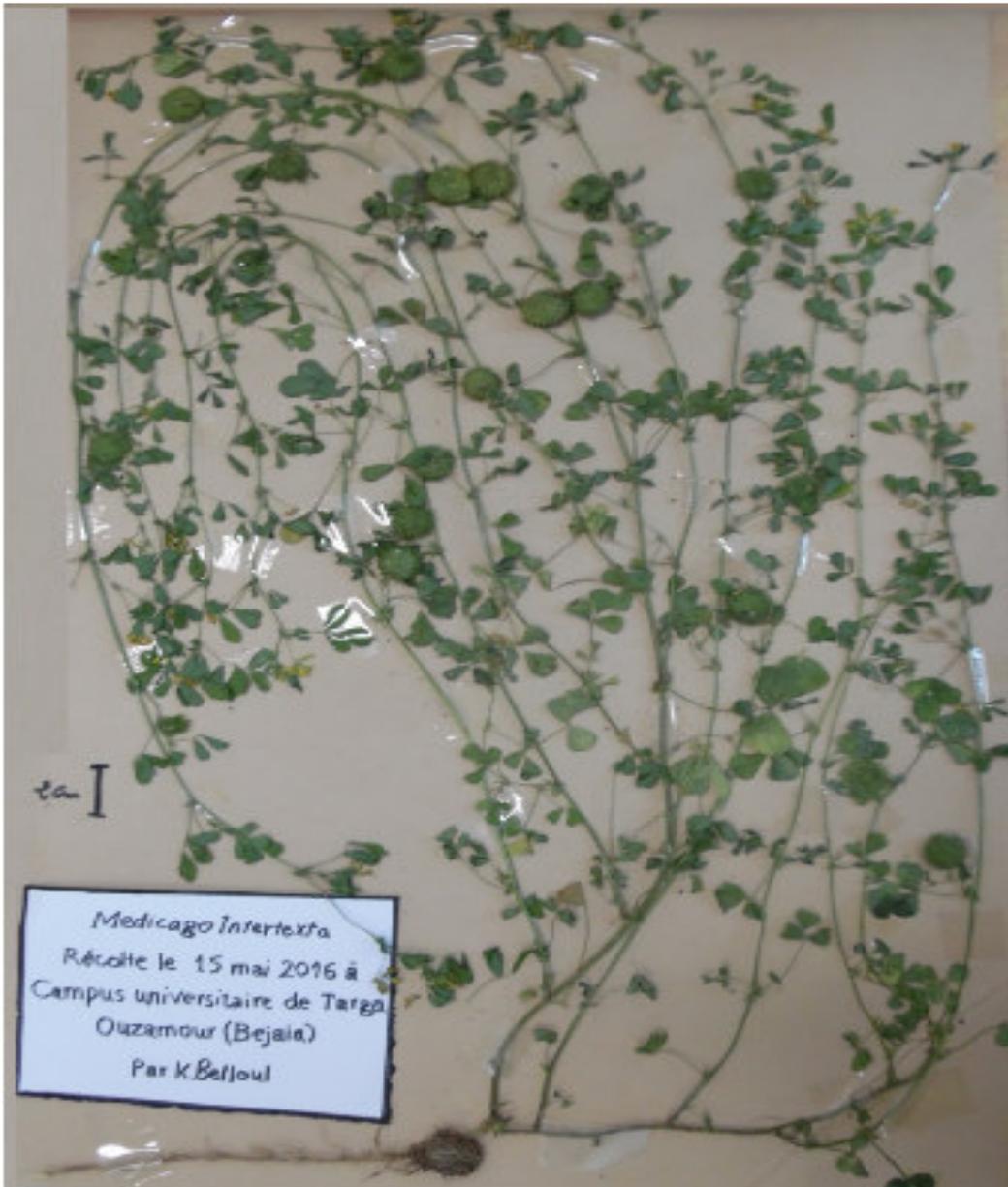


Figure 09 : Herbier de *M. intertexta* (Campus universitaire de Targa Ouzammour, le 15.05.2016).

III.1.2-RESULTATS SUR LES MÉIOSES

III.1.2.1- DÉNOMBREMENTS CHROMOSOMIQUES

Les dénombrements chromosomiques sont effectués au stade métaphase I, sur des cellules mères polliniques en division méiotique. Les résultats obtenus montrent une ségrégation normale à 8 bivalents chez les trois populations sans traitement (**Figure 10 : a ; d**) ou avec traitement (**Figure 10 : b-c-e-f**).

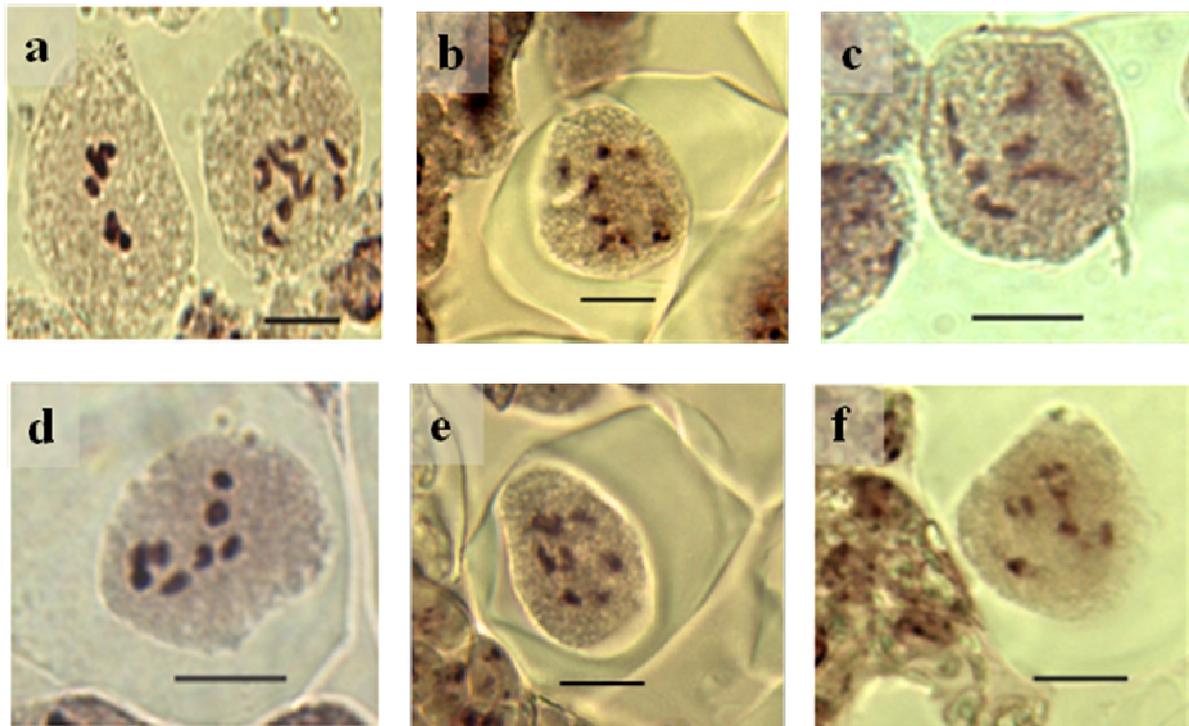


Figure 10 : Métaphases I de la méiose pollinique de *Medicago. intertexta* de Béjaïa avec 8 bivalents.

Population Targa ouzamour (**a**: sans traitement ; **b-c** : avec traitement) ; Population Atho-Osalah (**d** : sans traitement, **e**: avec traitement); population Aboudaw (**f** : avec traitement). La barre d'échelle correspond à 10µm.

III.1.2.2- ANALYSE DES ETAPES DE LA MÉIOSE POLLINIQUE

❖ SANS PRÉTRAITEMENT

L'analyse de la méiose pollinique faite sur les bourgeons floraux fixés *in situ*. La figure 11 ci-dessous montre les principales phases de la méiose observées pour *M. intertexta* pour les différentes populations.

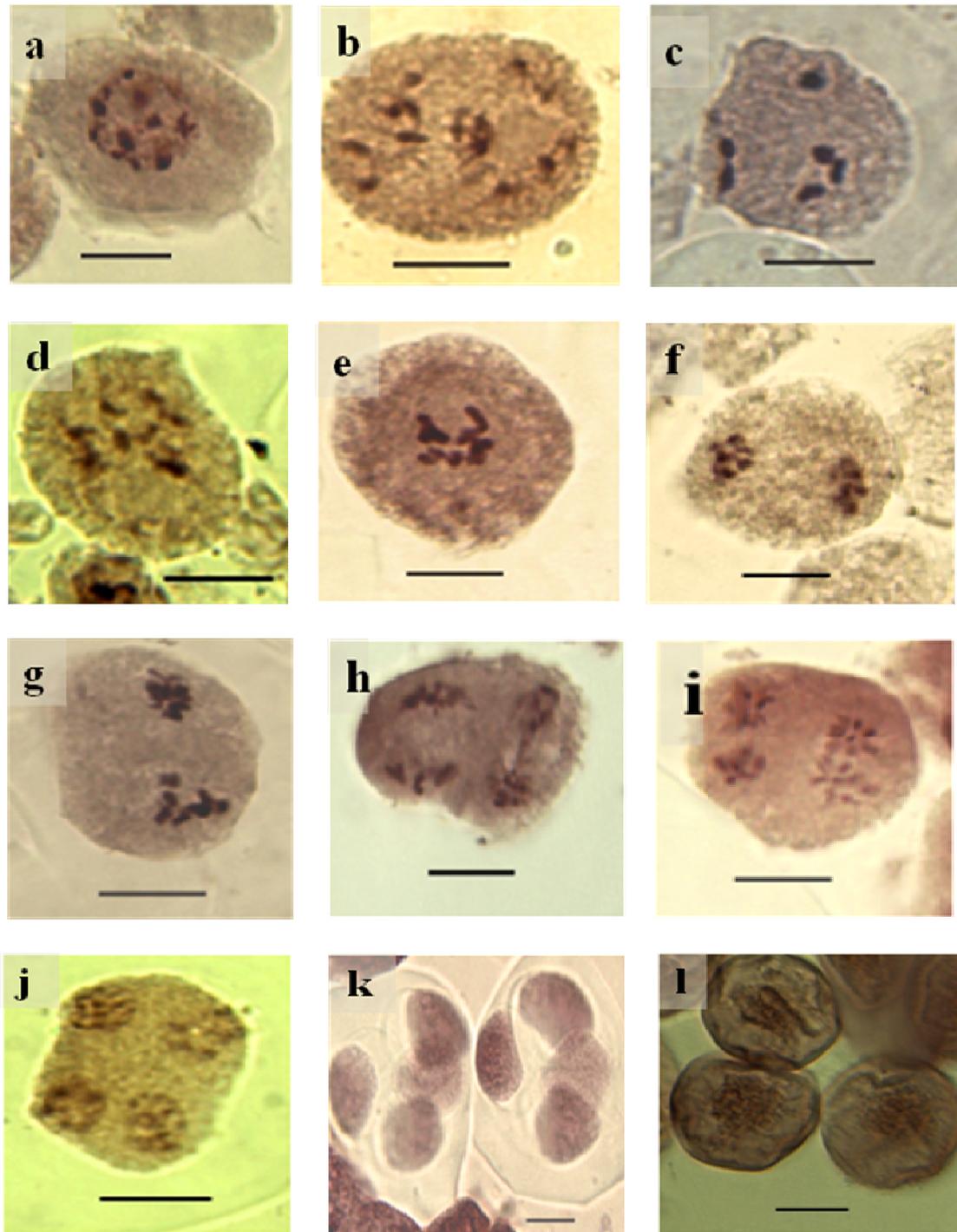


Figure 11: Les différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques sans prétraitement de *Medicago intertexta* de Béjaïa ; **a:** Interphase ; **b:** Prophase ; **c-d:** Métaphase I ; **e:** début Anaphase ; **f:** fin anaphase I ; **g:** Métaphase II ; **h:** anaphase II ; **i-j :** télophase II ; **k:** Tétrades ; **l:** Grains de pollen. La barre d'échelle correspond à 10 μm .

❖ AVEC PRÉTRAITEMENT

L'analyse de la méiose a été faite sur les boutons floraux prétraités par la 8-Hydroxyquinoleine ou α -bromonnaphthalène pendant 24 H à 4°C, ensuite fixés au carnoy II. La **figure 12** ci-dessous montre les différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques de *M. intertexta*.

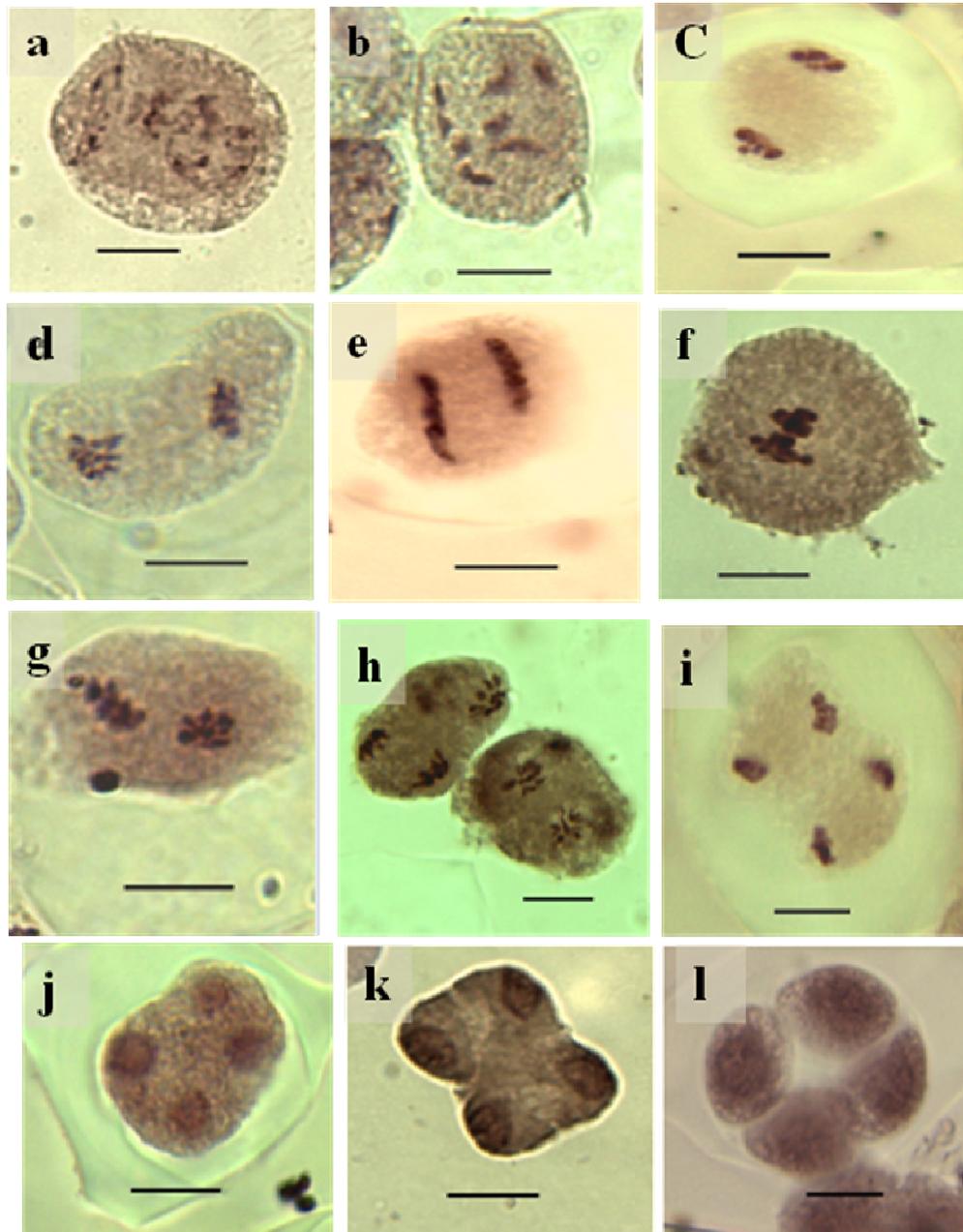


Figure 12 : Différentes étapes de la division méiotique des cellules mères polliniques avec pré traitement de *Medicago intertexta* de Béjaïa. **a :** Prophase I ; **b:** Métaphas I ; **c-d-e :** Anaphase I ; **f-g:** métaphase II ; **h:**anaphase II, **i :** Début de télophase II ; **j-k:** Fin de télophase II; **N :** Tétrades. La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

III.1.2.3-LES ANOMALIES ASSOCIÉES AUX MÉIOSES POLLINIQUES

Les anomalies de la méiose pollinique observées dans ce travail sont résumées dans les Figures 13 –21.

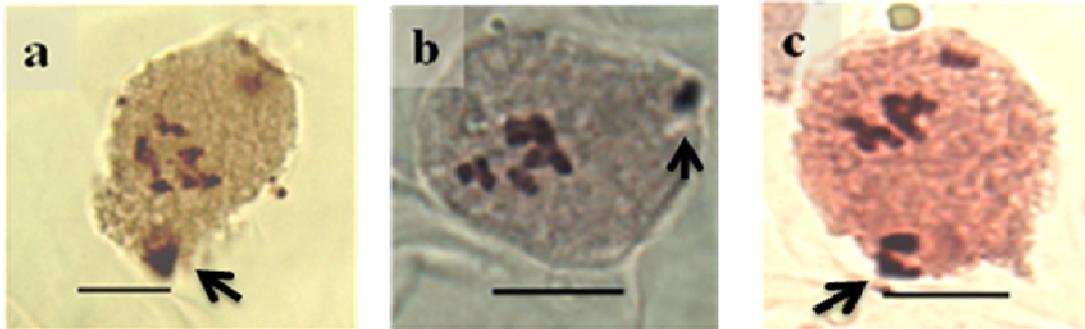


Figure 13 (a-b-c) : Cellule mère pollinique métaphasique de *Medicago intertexta* montrant la migration anormale de chromosome aux pôles.. La barre d'échelle correspond à 10 μm .

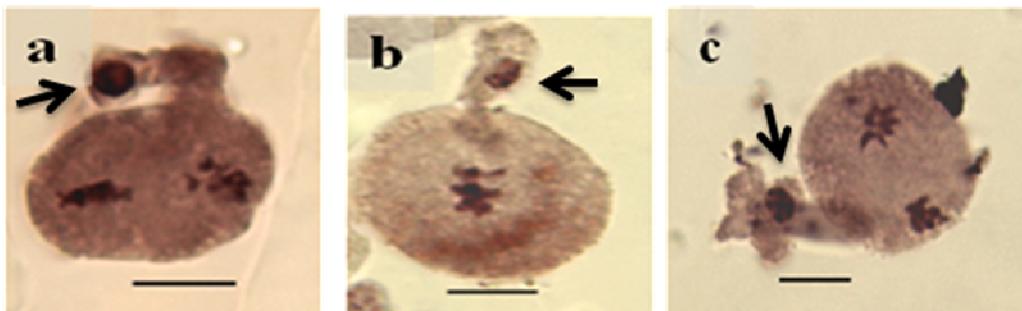


Figure 14 (a-b-c) : Elimination d'une partie de chromatine par une poche de cytoplasme chez *Medicago intertexta* (Flèche). La barre d'échelle correspond à 10 μm .

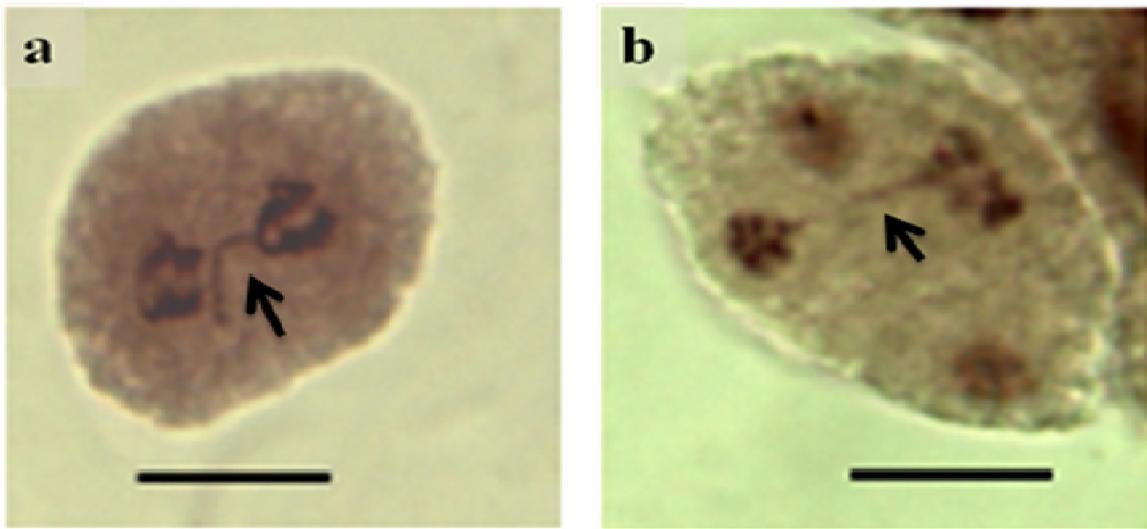


Figure 15 (a-b) : Cellules mères polliniques en telophase II de *Medicago intertexta* avec un pont chromatique (Flèche). La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

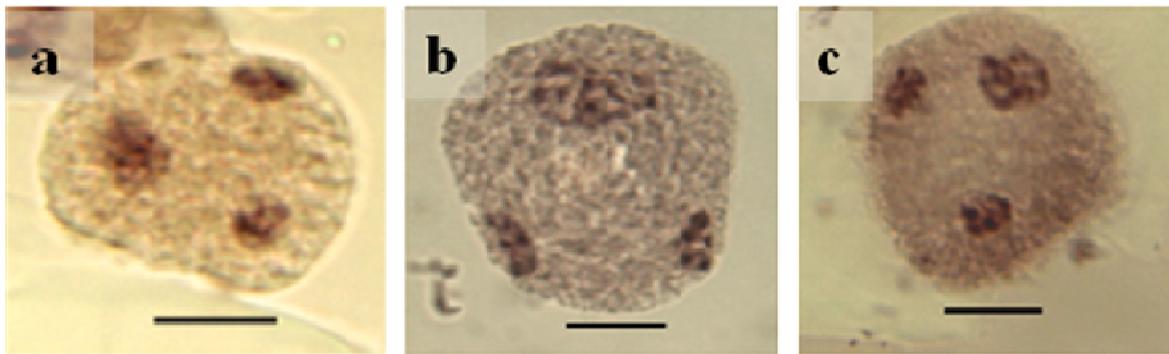


Figure 16(a-b-c) : Cellules mères polliniques en télaphase II parissant avec 3 noyaux chez *Medicago intertexta*. La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

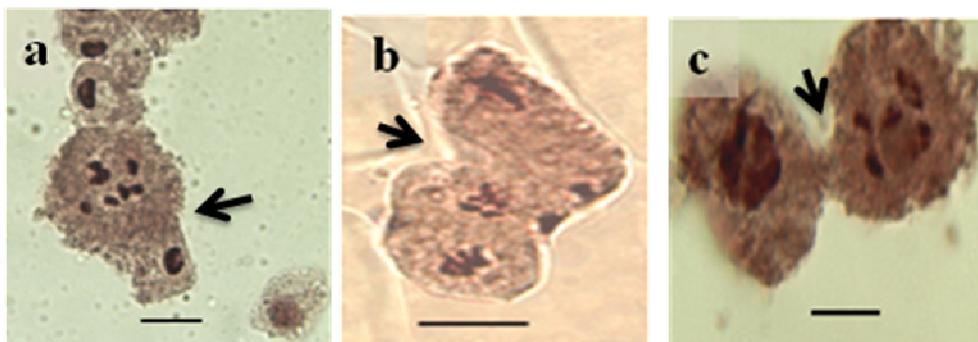


Figure 17: Fusion des cellules mères chez *Medicago intertexta* . **a et b** : fusion entre les méiocyte ; **c** : Fusion entre une cellule métaphasique et une microcellule . La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

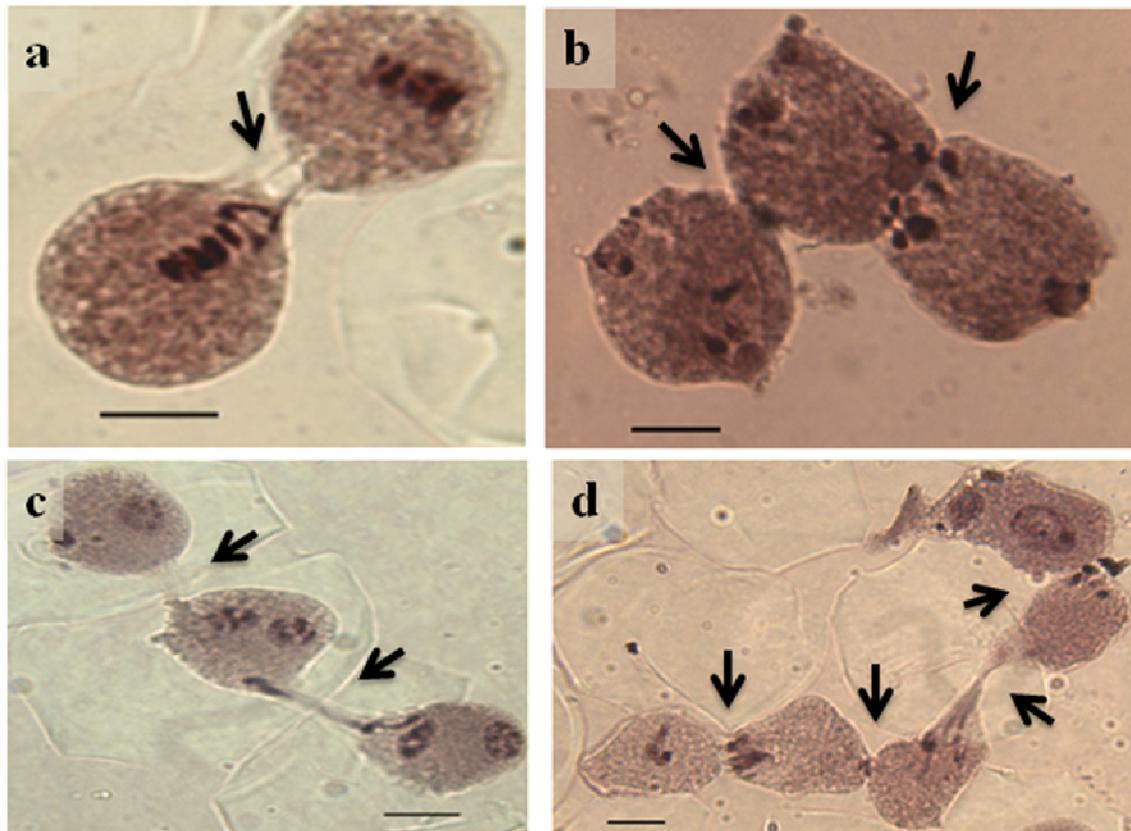


Figure 18 : Cytomixies entre les méiocytes chez *Medicago intertexta* (**Flèches**). **a** :cytomixie entre deux cellules ; **b-c** :cytomixie entre trois cellules;**d**: cytomixie entre cinq cellules . La barre d'échelle correspond à 10 μm .

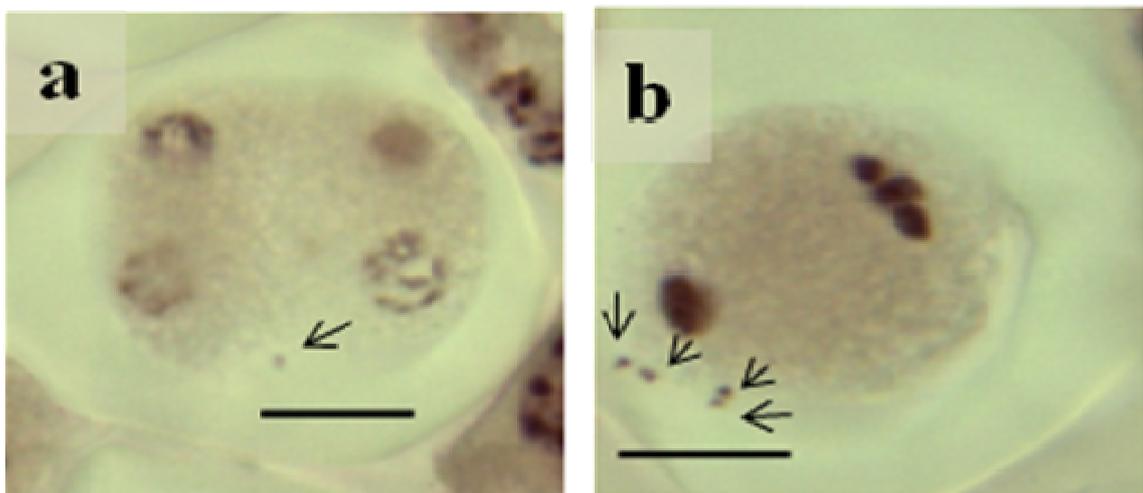


Figure 19 : Cellules mères polliniques avec des micronoyaux chez *Medicago intertexta* (**flèches**). **a** : Télaphase II avec un micronoyau; **b**: Métaphase II avec 4 micronoyaux. La barre d'échelle correspond à 10 μm .

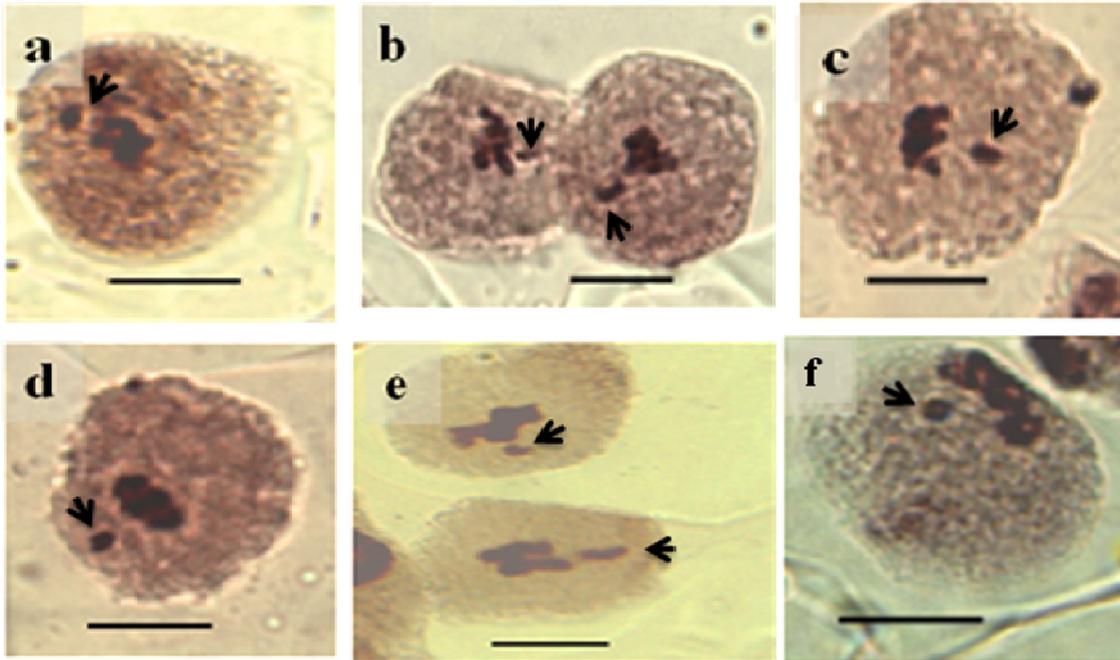


Figure 20(a-b-c-d-e-f) : Cellules metaphasiques de *Medicago intertexta* avec chromosome retardataire ou chromosome perdu (flèche). La barre d'échelle correspond à 10 µm.

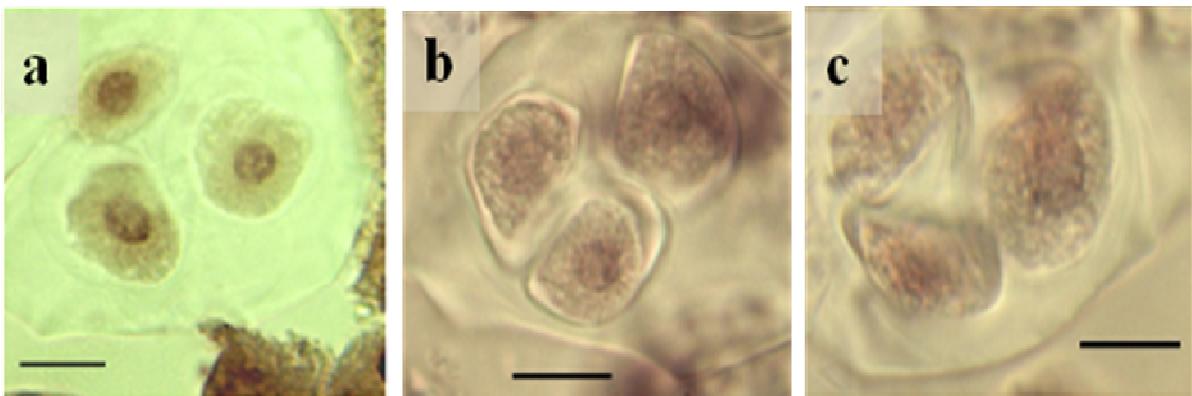


Figure 21(a-b-c) : Triades chez *Medicago intertexta*. La barre d'échelle correspond à 10 µm.

III.1.2.4-FERTILITÉ POLLINIQUE

Les grains de pollen de *M. intertexta*, se colorent bien au bleu de coton. Ils sont de forme subsphérique ou ronde (Figure 22). De même qu'ils peuvent être normaux (fertiles) ou anormaux (non fertiles) (Figure 23).

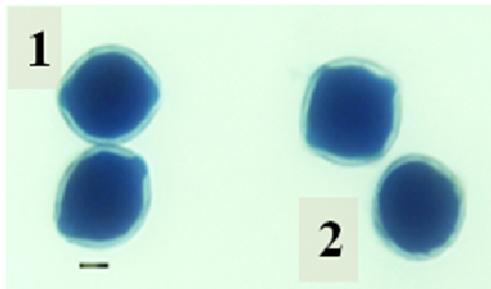


Figure 22 : Les différentes formes des grains de pollen chez *Medicago intertexta*. **1**: forme subsphérique ; **2** : forme ronde La barre d'échelle correspond à 10 um.

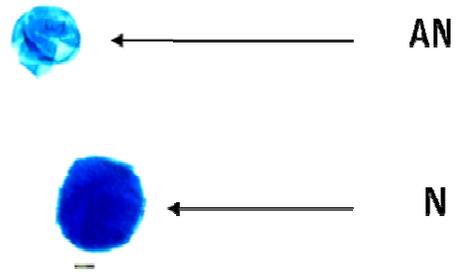


Figure 23: Fertilité des grains de pollen chez *Medicago intertexta*, Fertile (N) et non fertile (AN). La barre d'échelle correspond à 10 um.

Les taux de fertilité ont été estimés sur 15 fleurs choisies au hasard à partir d'un lot provenant d'un échantillon de 3 populations. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VII.

Tab. VII: Taux de fertilité pollinique chez *Medicago intertexta* .

Populations	Taux de fertilité pollinique (%)						Moyenne ± écart-type (%)
	Fleur 1	Fleur 2	Fleur 3	Fleur4	Fleur 5	moyen	
Campus universitaire de Targa Ouzamour	86,83	86,22	95,15	87,33	91,28	89,36	88 ,56± 1,66
Campus universitaire d'Aboudaw	91 ,98	87,03	77,99	86,58	87,67	86,25	
Athou-Salah	95,97	94,55	92 ,01	79,94	87,98	90,09	

III.1.3 - LES MITOSES

III.1.3.1- DÉNOMBREMENTS CHROMOSOMIQUES

L'observation des chromosomes en mitose et leur énumération sont effectués au stade métaphase sur des cellules méristématiques de la racine. Les résultats obtenus pour les trois populations est $2n = 2x = 16$ (Figure 24).

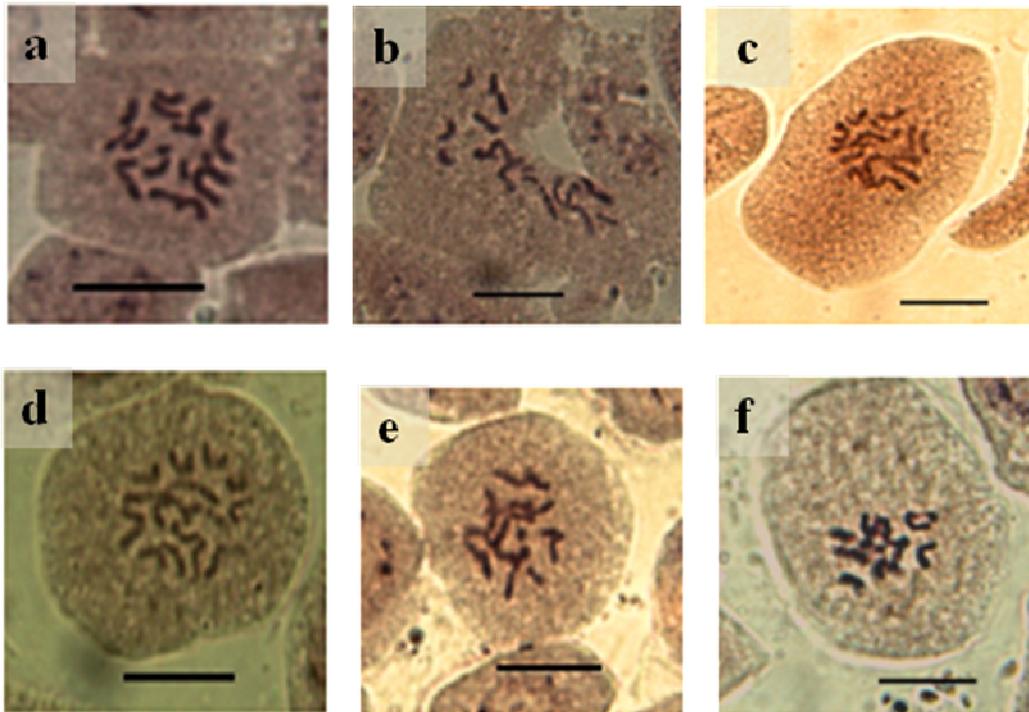


Figure 24: Métaphases mitotiques racinaires de *Medicago intertexta*. **a-b** : Athousalah ; **c-d** :Targa Ouzamour ; **e-f** : Oued ghir . La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

Une autre cellule a été observée avec un nombre chromosomique de $2n = 16$ et $2n = 32$ avec les deux chromatiques en forme d'anneau au lieu de x (Figure25).

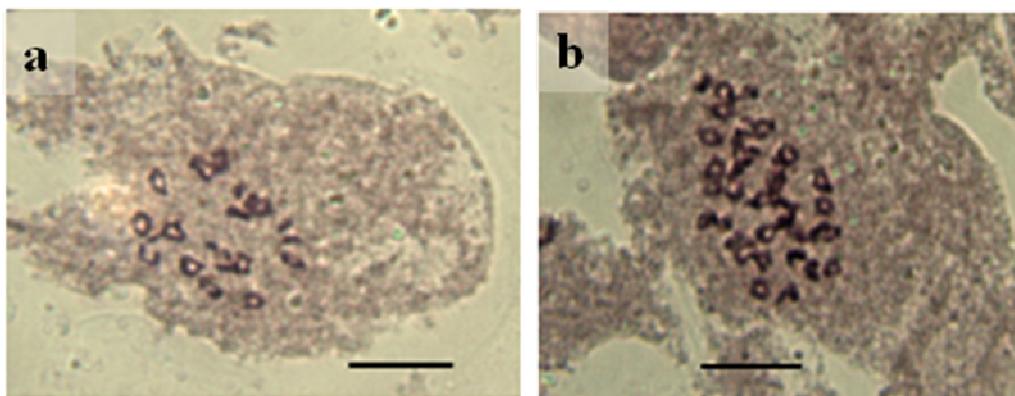


Figure 25: Cellule de méristè racinaire chez *Medicago intertexta*.(Oued Ghir). Avec **a** : $2n = 16$ chromosomes et **b**: $2n = 32$ chromosomes.

III.1.3.2- ÉTABLISSEMENT DE CARYOGRAMME

Les mesures des longueurs des chromosomes sont effectuées sur des plaques métaphasiques pour chaque population sur les méristèmes racinaires. La meilleure plaque métaphasique de mitose obtenue était celle la de population Athou Salah. Celle-ci a été utilisée pour préparer caractériser le caryotype de *Medicago intertexta* de Béjaïa (**Figure 26a**). Les tailles des chromosomes sont données en Tableau VIII. La formule chromosomique qui en résulte est de $2n = 2x = 16 = 12m + 4sm$.

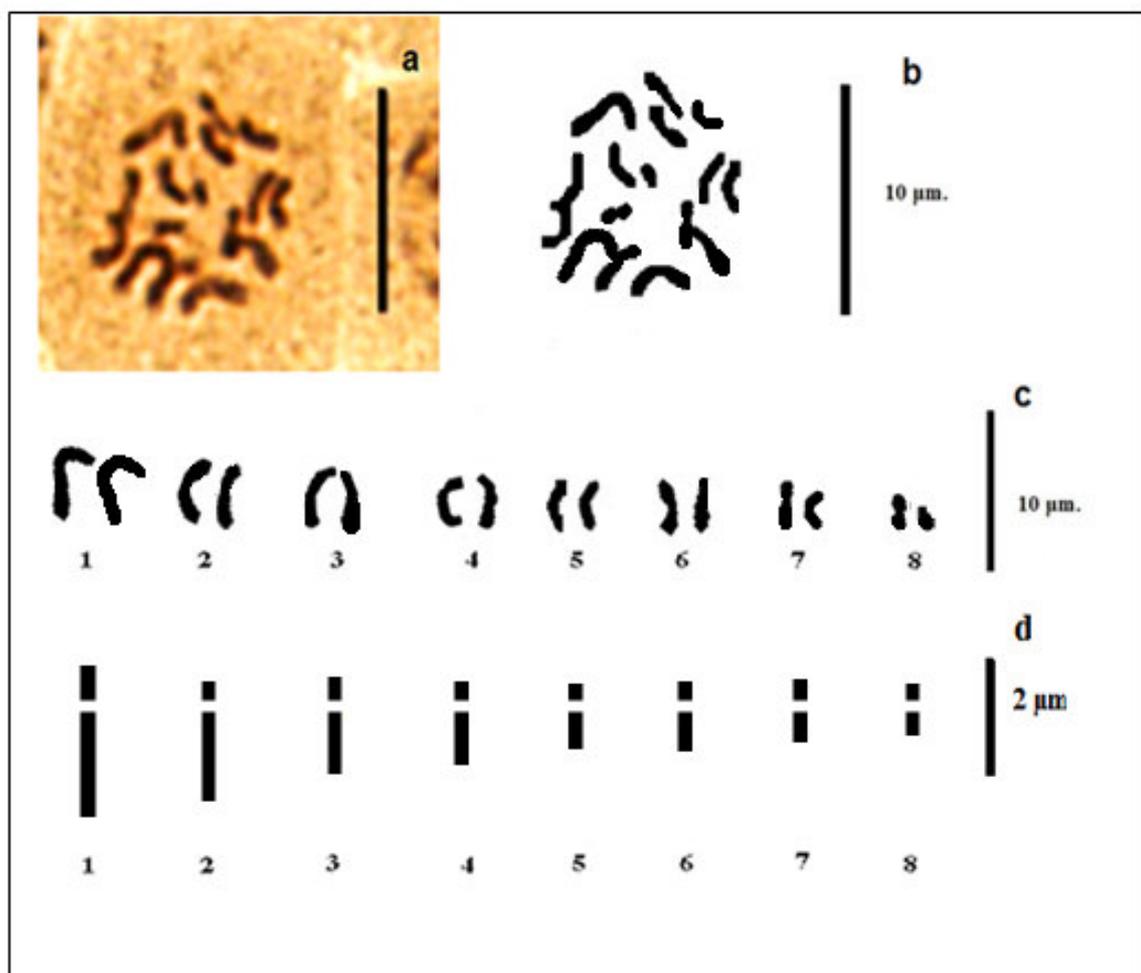


Figure 26: Caryotype de *Medicago intertexta* de Béjaïa. **a** : Microphotographie d'une plaque métaphasique mitotique d'un méristème racinaire (Athou salah) ; **b** : Interprétation de la plaque métaphasique en a ; **c** : Caryogramme basé sur b ; **d** : Idiogramme basé sur c.(réalisé par logiciel caryotype analysis)

Tableau VIII : Morphologie des chromosomes mitotiques de *M. intertexta*.

Paires	q (µm)	p (µm)	LT (µm)	IC (%)	Tc
1	2,56	1,62	4,18	38,75	m
2	2,55	1,61	4,16	38,70	m
3	1,88	1,36	3,24	41,97	m
4	1,85	1,34	3,19	42	m
5	1,57	1,46	3,06	47,71	sm
6	1,54	1,46	3	48,66	sm
7	1,28	1,11	2,39	46,44	m
8	1,24	1,14	2,38	47,89	sm
9	1,53	0,76	2,29	33,18	sm
10	1,51	0,72	2,23	32,28	m
11	1,36	0,85	2,21	38,46	m
12	1,33	0,87	2,2	39,54	m
13	1,19	0,68	1,87	36,36	m
14	1,12	0,68	1,8	37,77	m
15	0,76	0,51	1,27	40,15	m
16	0,59	0,42	1,01	41,58	m

q : bras long, p: bras court, LT: longueur totale du chromosome : $LT=q+p$, Ic: indice centromérique : $IC= p /LT$ (%), m :métacentrique , Tc: type chromosomique, m :métacentrique , sm :submetacentrique .

III.1.3.3- LES DIFFERENTS STADE DE LA MITOSE

La figure 27 ci-dessous illustre les différents stades de la mitose observés pour les populations étudiées.

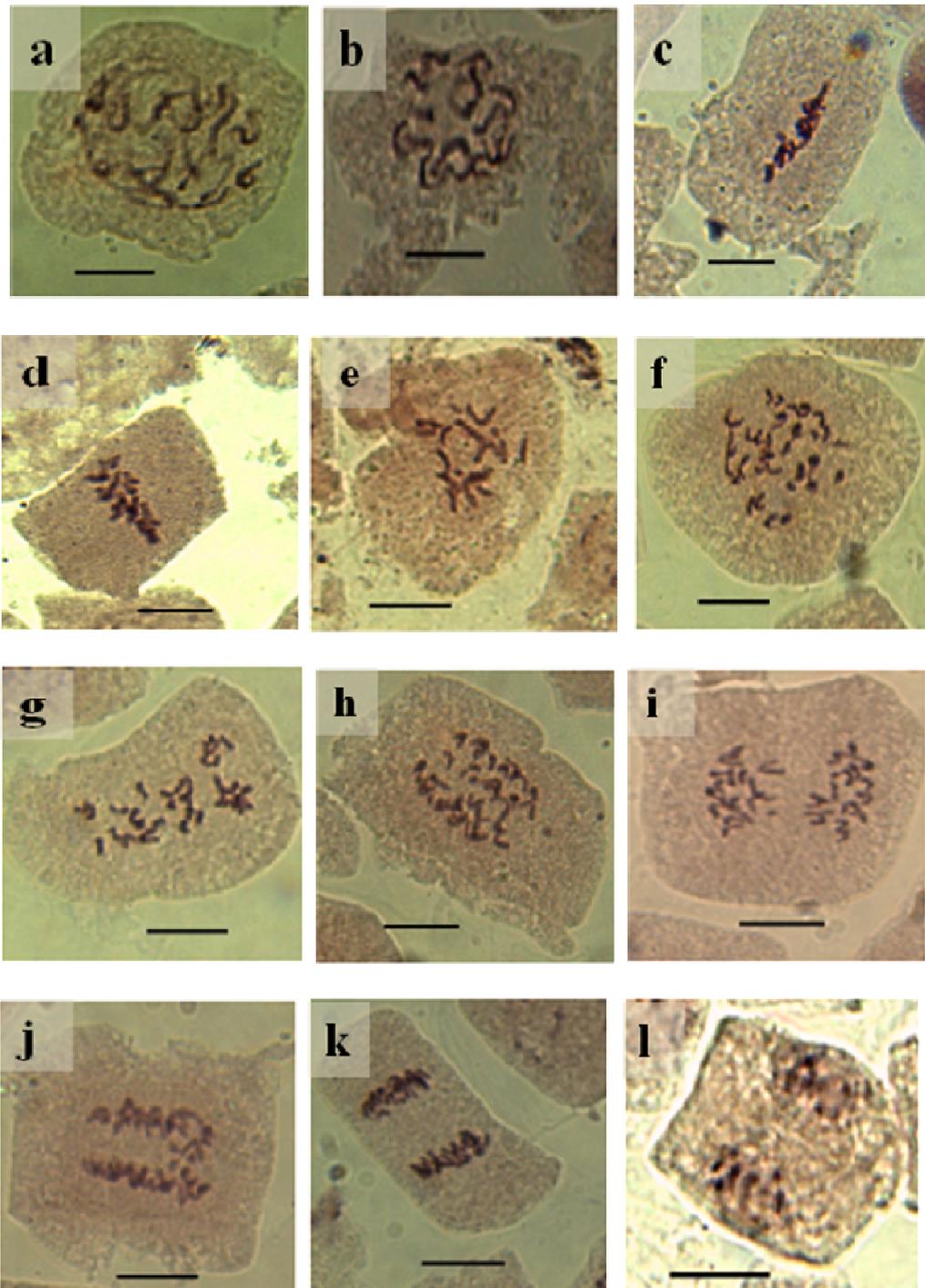


Figure 27 : Les étapes de la mitose racinaire chez les populations de *Medicago intertexta* étudiées. **a-b** : prophase ; **c-d-e** : Métaphase ; **f-g-h** : début anaphase ; **i-j-k** : fin d'anaphase ; **l** : télophase.. La barre d'échelle correspond à 10 μ m.

III-DISCUSSIONS

La méiose est une étape essentielle de la reproduction sexuée des organismes. Les différentes étapes méiotiques sont communes pour la plupart des organismes diploïdes.

Dans cette étude, le déroulement de la méiose a été suivi chez trois populations de *M. intertexta*, du Golfe de Béjaïa, afin d'observer les étapes de celle-ci et de compter les nombres chromosomiques. Dans tous les comptages chromosomiques réalisés sur les plaques métaphasiques II, l'appariement est normal avec 8 bivalents pour les trois populations (Figure 10) d'où $2n = 2x = 16$ avec $x = 8$. Ce nombre chromosomique est le même que celui rapporté par **Fernandes et al. (1977)**, **Lesins et Lesins (1979)**, **Schlabaum et al. (1984)** et **Abdelguerfi et al. (1988b)**.

Aucune différence nette n'a été observée sur le déroulement selon que les préparations soient réalisées sans prétraitement ou avec prétraitement à la 8-hydroxyquinoléine 0.002M ou à l' α -bromonaphtalène saturé dans l'eau (Figures 10-12).

L'analyse des cellules mères polliniques de *M. intertexta* aux différents stades de la méiose a permis d'observer différentes anomalies liées à celle-ci. Parmi les anomalies observées, il y a la présence des cellules mères polliniques métaphasiques montrant la migration anormale de chromosome aux poles (Figure 13). Ce phénomène a été trouvé aussi par **Wang et al. (2010)**, qui lui attribuent les anomalies de la formation du pollen et le considèrent comme révélateur d'un fort déséquilibre génétique du génome.

Une autre anomalie observée est l'élimination d'une partie de chromatine par une poche de cytoplasme (Figure 14). Le but de l'élimination de chromatine selon **Kalinka et al., (2010)** serait d'équilibrer le dosage des gènes. C'est un phénomène surtout observé chez les allopolyploïdes, Il est lui aussi indicateur de l'instabilité des chromosomes.

Au cours de l'anaphase II, certaines cellules mères polliniques sont avec un pont chromatique (Figure 15) reliant les bivalents après leur séparation. Cette anomalie est induite par des facteurs génétiques et environnementaux (**Bellucini (2003)** et **Sheidai et fadaei (2005)**). Ces ponts seraient le résultat de la fragmentation chromosomique à la prophase I, avec

l'absence de réparation des cassures double-brin induites par la protéine *Spo11* suite à une mutation (**Horlow et Doutriaux, 2003**).

Certaines cellules mères polliniques en télophase II sont à 3 noyaux (Figure 16). Cette réduction à 3 noyaux serait la conséquence de l'élimination de chromatine. L'observation de 3 noyaux correspondrait dans certains cas juste à une orientation anormale de deux noyaux parmi les quatre qui se présentent superposés au lieu d'être séparés. Selon **Wang et al. (2010)**, l'orientation anormale des axes à la deuxième division méiotique serait responsable de la production de gamète non réduits, pouvant aboutir à la formation de polyploïdes.

D'autres anomalies ont aussi été observées sur les préparations de jeunes anthères. Ce sont essentiellement la fusion entre méiocyte (Figure 17a), la fusion entre une cellule métaphasique et une microcellule (Figure 17b), la cytomixie (Figure 18), la formation de micronoyaux (Figure 19), cellules métaphasiques avec chromosome retardataire ou chromosome perdu (Figure 20) et la formation de triades (Figure 21).

La cytomixie est un échange de matériel génétique entre les méiocytes durant la méiose. D'après **Bellucini (2003)** et **Sheidai et Fadaei (2005)**, celle-ci est une anomalie liée aux facteurs environnementaux, comme conséquence, elle peut conduire à la formation de cellules aneuploïdes conduisant dans la plupart des cas à la formation de gamètes non fonctionnels.

Les chromosomes retardataires, peuvent être dus aux chromosomes univalents formés en métaphase I. Ces chromosomes retardataires vont former des micronoyaux et par la suite des dyades, triades, tétrades anormales, pentades et même des hexades (**Pupilli et al., 1995 & Mendes- Bonato et al., 2001**). Les tailles des microspores formées sont différentes et le taux de fertilité pollinique fertiles sera réduit. Selon **Boldrini et al. (2006)**, plusieurs facteurs peuvent induire des anomalies liées à la méiose, tels que l'exposition aux produits chimiques, la température, états de culture et facteurs génétiques. Toutes ces anomalies contribuent à la réduction de fertilité pollinique.

En ce qui concerne le matériel analysé dans ce présent travail, les taux de fertilité pollinique varient de 86-96% avec une moyenne de 88, 56±1, 66 (%). (Tableau VII). Le

pourcentage de fertilité pollinique estimé des fleurs est très variable d'une fleur à une autre, il est descendu jusqu'à 86% chez la population de Targa Ouzemmour. L'effet des anomalies de la méiose n'est pas assez fort, dans le cas de ces populations, puisque la valeur de 86% est déjà assez élevée. Cet effet réduit serait attribuable à la faible fréquence des anomalies observées.

L'étude des mitoses a confirmé les comptages réalisés sur les méioses exposés plus haut. Sur la plupart des plaques métaphasiques observées pour les 3 populations (**Figure 27**), le nombre chromosomique est de $2n = 2x = 16$. Ce nombre est aussi celui rapporté dans la littérature pour cette espèce (**Fernandes et al et al., 1977 ; Abdelguerfi et Guittonneau (1979) ; Lesins et Lesins (1979) ; Schlabaum et al. (1984), et Abdelguerfi et al. (1988b).**

Cependant, pour population de Oeud Ghir. sur certaines préparations, nous avons observé des métaphases à $2n = 16$ et d'autres (assez fréquentes) à $2n = 32$ (**Figure 25**). Il existerait dans cette population des mosaïques formées de cellules à $2n = 16$ et de cellules à $2n = 32$. Un cytotype tétraploïde de $2n = 32$ a été signalé pour *M. intertexta* par FERNANDES et SANTOS, 1971 (**cité par SADEGHIAN et al., 2014**).

Le Caryotype de *Medicago intertexta* est représenté dans la et les mesures sont Indiquées dans le.

D'après les résultats obtenu pour le travail analysé ici (Tableau VIII et figure 26), la formule chromosomique est $2n = 2x = 16 = 12m + 4sm$. Six paires de chromosomes sont métacentriques et quatre paires submétacentriques. La valeur de l'indice centromérique (IC), défini comme la longueur du bras court divisé par la longueur totale du chromosome, est comprise entre 32,28 et 48,66%. La longueur totale (LT) des chromosomes chez *M. intertexta* de Béjaïa est 1.01 μm à 4,18 (**Tableau VIII**). Selon **Agarwal et al., (1983)**, la longueur totale (LT) est de 1.86 μm à 3,24 μm . Selon **Mariani et al. (1996)**, la formule chromosomique : $2n = 2x = 16 = 14m + 2sm$ (Cinq paires de chromosomes métacentriques et deux paires submétacentriques). D'après **Schlabaum et al. (1984)** la formule chromosomique de *M. interetxta* est de $2n = 2x = 16 = 10m + 6sm$ (10 métacentriques et 6 submétacentriques), la même que celle obtenue dans ce présent travail.

Toutes ces études s'accordent pour le $2n = 2x = 16$ chromosomes pour *M. intertexta* avec un rare cytotype non confirmé de $2n = 4x = 32$ chromosomes. Les différences dans les formules chromosomiques pourraient être dues aux qualités des plaques utilisées et /ou à la précision dans les mesures de chromosomes.

CONCLUSION

Conclusion

Dans ce travail, il s'agit d'une étude cytogénétique classique (analyse des méioses, analyses des mitoses et des fertilités polliniques) de 4 populations de *Medicago intertexta* du Golfe de Béjaïa.

La technique de coloration à l'orcéine lactopropionique a donné de très bons résultats à la fois sur les méioses et les mitoses chez *Medicago intertexta*.

L'analyse de la méiose effectuée sur les boutons floraux des trois populations a indiqué une ségrégation à 8 bivalent ($2n = 16$). Les principaux stades de la méiose ont pu être observés pour *M. intertexta*. Quelques anomalies liées à la méiose ont été relevées (cytomixie, triades, ponts chromatiques...etc.), mais à une fréquence faible.

Après l'analyse des cellules mères polliniques de *M. intertexta* aux différents stades de la méiose sans prétraitement ou avec prétraitement à la 8-hydroxyquinoléine 0.002 M ou à l' α -bromonaphtalène saturé dans l'eau, aucune différence nette n'a été observée.

L'analyse de la fertilité pollinique portée sur les boutons floraux des trois populations a donné un taux de fertilité pollinique de 86-96 %, avec une moyenne de $88,56 \pm 1,66$ (%).

L'analyse de la mitose faite sur les méristèmes racinaires appartenant aux trois populations ont montré dans la plupart des cas une mauvaise séparation des chromosomes à la métaphase. Cependant, les chromosomes ont pu être comptés sur les bonnes plaques obtenues. Le nombre chromosomique trouvé pour tous les comptages que nous avons réalisés pour les trois populations est de $2n = 16$. Par contre, la population de Oued Ghir, en mélange sur de mêmes préparations, des cellules à $2n = 16$ et d'autres à $2n = 32$ ont été observées; il s'agirait probablement d'une mosaïque.

La meilleure plaque métaphasique de mitose obtenue est celle de la population Athou Salah. Cette dernière a été utilisée pour réaliser un caryogramme et un idiogramme. La formule chromosomique qui en résulte est de $2n = 2x = 16 = 12m + 4sm$. Les tailles des chromosomes varient entre 1,01 à 4,18.

En perspective, élargir l'étude cytogénétique à d'autres populations et approfondir l'analyse des mitoses pour réaliser les meilleures caryogrammes et idiogrammes ; Analyser le polymorphisme de l'ADN ; Réaliser la phylogénie moléculaire de cette espèce pour la situer par rapport aux autres.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUE

A

- ❖ Abdelguerfi, A. et Abdelguerfi-Berrikia, R. (1988a). Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Medicago* L. en Algérie. II. Caractérisation des gousses et des graines de *M. orbicularis* (L.) Bart. Relation avec les conditions du milieu d'origine. *Annales de l'institut National Agronomique. El-Harrach*, 12 (1) : 329-341.
- ❖ Abdelguerfi, A. et Abdelguerfi-Berrikia, R., and Guitonneau, G. (1988b). Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Medicago* L. en Algérie. III. Dénombrement chromosomique chez 35 populations de 17 espèces. *Annales de l'institut National Agronomique. El-Harrach*, 12 (1) : 342-354.
- ❖ Abdelguerfi, A., Chapot, J. Y., Conesa, A. P. et Roseau, R. (1988c). Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Medicago* L. en Algérie. Répartition des espèces en fonction des facteurs du milieu. *Annales de l'institut National Agronomique. El-Harrach*, 12 (1) : 304- 326.
- ❖ Abdelkefi, A., Boussaid .M. & Marrakchi. M. (2001). Complexe d'espèces et régime de reproduction dans la section des Intertextae, *Medicago ciliaris*, *Medicago intertexta*. *Ciheam*, 45 :107-110.
- ❖ Abdelkefi, A. et Marrakchi, M. (2000). Les ressources phylogénétique fourragères et pastorales : de l'érosion à la conservation .*Options Méditerranéennes*, 45 : 15-27 .
- ❖ Aberbour, A. et ketir, S. (2008). Caractérisation morphologique et nombres chromosomiques de la variété aux stipules foliacées de *Medicago intertexta* (L.) Miller. Mémoire de DES en biologie et physiologie végétales, option amélioration des plantes. Dpt BOP FSNV Université de Béjaïa, p. 65.
- ❖ Agarwall, K. and Gupta, P. K. (1983). Cytological Studies in the Genus *Medicago* Linn. *Cytologia*, 48: 781-793.
- ❖ André, G., Hubert B. (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. *Quae. Paris. P.* 271.
- ❖ Azibi, F. (2002). la section des leptospirae du genre *Medicago* L. (fabaceae) de la vallée de la soummam, Tiboualamine et kafrida : analyse taxonomique basée sur la morphologie des gousses. *DES.BPV ,UNI.A.Mira de bejaia*, p.76.

B

- ❖ Bass, H.W., Bordoli S.J. & Foss E.M. (2003). The desynaptic (dy) and desynaptic1 (dsy1) mutations in maize (*Zea mays* L.) cause distinct telomere-misplacement phenotypes during meiotic prophase. *Journal of Experimental Botany* 54 (380): 39-46.
- ❖ Bauchan, G.R. et Elgin, J.H. (1984). A new chromosome number for the genus *Medicago*. *Crop Science*. 24:193-195.
- ❖ Bellucci, M., Roscini, C. & Mariani, A. (2003). Cytomixis in pollen mother cells of *Medicago sativa* L. *Journal of Heredity*, 94 (6):512-516.
- ❖ Bena, G. (2001). Molecular phylogeny supports the morphologically based taxonomic transfer of the "medicagoid" *Trigonella* species to the genus *Medicago* L. *Pl. Syst. Evol.* 229: 217–236.
- ❖ Benmouhoub, H. (2007). Analyse d'hybrides F1 et F2 intra- et/ou interspécifiques chez *Medicago polymorpha* L., *M. intertexta* (L.) Miller, *M. ciliaris* (L.) Krockner, *M. arabica* (L.) Hudson., *M. orbicularis* (L.) Bartal. et *M. minima* (L.) Bartal. Interprétation taxogénétique. Magister en Biologie de la Conservation et Ecodéveloppement. Univ. A. MIRA de Béjaïa. P.93.
- ❖ BENSALIM, K. (2003). caractérisation phénotypique des rhizobia isolés de *Medicago polymorpha* de la région de Bejaïa et étude de l'effet de NaCl sur leur symbiose. Mémoire de magister. université de bejaïa, p.83.
- ❖ Bione, N. C.P., Pagliarini M.S. & De Toledo J. F.F. (2000). Meiotic behavior of several Brazilian Soybean varieties. *Meiotic Genetics and Molecular Biology*, 23 (3): 623-63.
- ❖ Boldrini, K.R., Pagliarini M.S. and Valle, C.B. do. (2006). Cell fusion and cytomixis during microsporogenesis in *Brachiaria humidicola* (Poaceae). *South African Journal of Botany*, 72:478–481.
- ❖ Bolton, J.L. (1972). WORLD distribution and historical development, ch.1. IN alfalfa science and Technology, *American Society of Agronomy*, 15:1-34.
- ❖ Brass Souza, A.M., Maria Suely Pagliarini, M.S. and Carraro, I.M. (1998). Abnormal Spindles in Second Meiosis in Canola (*Brassica napus* and *Brassica campestris*). *Agricultural Cooperative for Technological and Economic Development Ltd*, 5: 143–161.

C

- ❖ Chakravatry, H. L. (1976). Plant Wealth of Iraq. *Ed. A dictionary of economic plant*,1: 505 .
- ❖ Chérifi, K. (1996). Polymorphisme enzymatique de quelques populations naturelles de *Medicago ciliaris* (L.) Krok et *Medicago intertexta* (L.) Mill. *Acta Botanica Gallica* 143 (2/3):155- 165.
- ❖ Chérifi, K., Boussaid. M. & Marrakchi. K.(1993) Diversité génétique de quelques populations de *Medicago ciliaris* (L.) Krok et *Medicago intertexta* (L.) Mill. I. Analyse de la variabilité morphologique. *Agronomie* 13: 895-908.

D

- ❖ Dyer, A. F. (1963) The use of Lacto-Propionic Orcein in rapid Squash. Methods for chromosome preparations. *Stain Technology*, 38: 85-90.

E

- ❖ Ernest, S., Stephen ,R. D., Deborah, S., Erica ,J. and Heidi, L. Z.(1998). Multiple independent losses of the plastid rpoC1 intron in *Medicago* (Fabaceae) as inferred from phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Can. J. Bot.* 76(5): 791–803.

F

- ❖ F.A.O. (1993). Importance, utilisation et origine de la luzerne. 1- 15 p.
- ❖ Fournier, P. (1961) : Les quatre jlores de France, Ed. P. Lechevalier, Paris, p 577.
- ❖ Foury, A. (1954), Les légumineuses fourragères au Maroc, service de recherchagronomique, Rabat, P. 109.
- ❖ Fryer, J.R. (1930). Cytological studies in *Medicago*, *Melotus* and *Trigonella*. *Can.J.Res*, 3:3-50.

G

- ❖ Genier, G., P. Guy, et Prosperi, J. M. (1992). Les légumineuses. Ed. INRA, Paris. 778 p.
- ❖ Guignard, J. L. (2001). biochimie végétale. 12^{ème} édition de l'Académie. 190 p.

H

- ❖ Heyn, C. C. (1963). The annual species of *Medicago* Jerusalem: Magnes Press, the Hebrew university: Vol. XII. 154 p.
- ❖ Hireche, Y. (2006).Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Université al hadj lakhdar. Thèse de magistère. Batna chromosomique chez 35 populations de 17 espèces. Annales de l'institut National Agronomique. El-Harrach. 12 (1): 342-354 p.
- ❖ Horlow, C.et Doutriaux, M-P. (2003).Les mécanismes moléculaires de la méiose chez les plantes.*Médecine Sciences* ,19 : 717-723.

J

- ❖ Jahier, J., Chever A. M., Eber F., Delourne R., Tanguy A.M. (1992) Techniques de la Cytogénétique végétale. Ed. INRA, Paris. 183p.
- ❖ jauzein,p.(1995).flordes champs cultivés edition INRA,paris ,828p

K

- ❖ Kalinka, A., Achrem,M.and Rogalska, S.M.(2010). Cytomixis-like chromosomes/ chromatin elimination from pollen mother cells (PMCs) in wheat-rye allopolyploids. *Nucleus*, 53(3):69–83.
- ❖ Klattoo, S., Khan, S., Bamotra,S. and K dhar,A. (2006). Cytomixis impairs meiosis and influences reproductive success in *Chlorophytum comosum* (Thunb) Jacq. – an additional strategy and possible implications. *J. Biosci*, 31(5) : 629–637.
- ❖ Kornicke, M .(1901).Uber ortsveranderung von Zellkarnern S B Niederhein. *Ges Natur-U Heilkunde Bonn A*, 14–25
- ❖ Kouar, M.(1998).Analyses caryologique de 7 espèce annuelles du genre *Medicago* L..Mémoire des Biologie et physiologie végétale, USTHB.P85.

L

- ❖ Laouar , M., Abdelguerfi A.(2003).variabilité morphologique et phénologique chez deux taxa très proches.*Medicago ciliaris et Medicago intertexta*. INRAA. 263- 264

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Lapeyronie , A.(1982). Les productions fourragères méditerranéennes - technique agricole et production méditerranéenne. *Maisonneuve et Larose*. Paris. 307-315.
- ❖ Lesins, K. A., Lesins I.(1979).Genus *Medicago* (Leguminosae).a taxogenetic study. *Plant ecology*, 50(2): 228- 229.
- ❖ Lesins, K. A, Lesins I and Gillies C. B.(1970). *Medicago murex* with $2n = 16$ and $2n = 14$ chromosome complements. *Chromosoma*, 30: 109-122.
- ❖ Löve, A., Löve D. (1975) *Plants chromosomes*. T1, Ed. Cramer. 184p.Menglan
- ❖ Love, R.M., (1938)Somatic variation of chromosome numbers in hybrid wheats. *Genetics* 23:517-522.

M

- ❖ Mariani, A., pupilli, F. and Calderinini, O. (1996). Cytological and molecular analysis of annual species of the genus *Medicago*.*Can.J.Bot*, 74:299-307.
- ❖ Martens, T. R. and Hamnersmith R. L.(1998)Genetic laboratory investigations. Eleventh edition. Prentice hall inc. Upper Saddle River, *New Jersey*, 275p.
- ❖ Mathieu, M.(2003). Luzerne: culture, récolte, conservation, utilisation. France agricole. p 11-16.
- ❖ Mauries, M.(1994).La luzerne aujourd'hui.Ed.France Agricole, Paris.254p.
- ❖ Mendes-Bonato, A.B., Pagliarini M.S. & Valle C.B.D. (2006)Abnormal spindle orientation during microsporogenesis in an interspecific *Brachiaria* (Gramineae). *hybrid.Genetics and Molecular Biology*, 29 (1): 122-125.
- ❖ Mendes-Bonato, A. B., Pagliarini M. S., da Silva N. & Borges do Valle C. (2001)Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae) . *Acta Scientiarum* Maringá, 23 (2): 619-625.
- ❖ Messaoudi, B., (2002)Le genre *Medicago* L. sect. *Intertextae* (Fabaceae) dans la région de Béjaïa : Analyse phénétique de la morphologie, Caryologie, statuts taxonomiques et théorie d'évolution. Mémoire de magister de l'université de Béjaïa. 129 p.

P

- ❖ Pagliarini, M.S. (2000) .Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular Biology* , 23(4): 997-1002.
- ❖ Prolea, D. (2002) Espèces et utilisations, des ressources en protéines à redécouvrir : les plantes fourragères prairiales – la luzerne. Institut du Végétal et de l'Institut de l'Élevage. *GNIS. Paris*. P : 4-7.
- ❖ Proserpi, J. M., Guy, P. and Balfourier, F.(1995). Resource génétiques des plantes fourragères et à gazon. *Ed. INRA*. Paris. 245 p
- ❖ Proserpi, J. M., Olivviers I., Angevain, M., Angevain. et Nausat P.(1993). Diversité génétique, conservation et utilisation des ressources génétique des luzernes méditerranéennes. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*. P, 1-12.
- ❖ Proserpi, J. M., G. C. Auricht, G. Genier, R. C. Johnson. (2000). The Genetic Diversity of Legumes species in the Mediterranean: *Medicago*. In the plant genetic resources of legumes in the Mediterranean Maxted N. and Bennett S. Eds Kluwer Academic publishers. Netherlands.
- ❖ Pupilli ,F., Businelli S., Caceres M.E., Damiani F. & Arcioni S.(1995). Molecular, cytological and morphi-agronomical characterization of hexaploid somatic hybrids in *Medicago*. *Theoretical and Applied Genetics*, **90** (3-4): 347- 355.

Q

- ❖ Quezel, P., et S. Sanata. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. T. 1. Ed. CNRS. Paris. 498- 506 p.

R

- ❖ Refoufi, A.(1988). Etude compare de la tolerance au Na Cl de quelques espèces annuelles du genre *Medicago* L. *Annales de l'Institut National Agronomique*. El-harrach. 12 (1) :356-373.
- ❖ Rose, R. J., S. E. Schlarbaum et E. Small. (1987). Chloroplast genomic variation and phylogeny in *Medicago* section *Intertextae*. *Canadian Journal of Botany*. 66: 1352- 1358.

S

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Schlarbaum, S. E., E. Small, et L. B. Johnson. (1984). Karyotypic evolution, morphological variability and phylogeny in *Medicago* sect. *Intertextae*. *Plant Systematic and Evolution*. 145: 203- 222.
- ❖ Schoutteten, F. (2004). La luzerne. Fiche technique agro-industrie. Champagen-Ardenne. P1-5
- ❖ Senn,H.A.(1938).chromosome number relationships in the Leguminosae. *Bibliog.Gentica*, 12:175-336.
- ❖ Sheidai, M. & Fadaei F. (2005). Cytogenetic studies in some species of *Bromus* L., section *Genea Dum*. *Journal of Genetics* 84 (2): 189- 194.
- ❖ Small, E., S. I. Warwick, et B. Brookes. (1999). Allozyme variation in relation to morphology and taxonomy in *Medicago* sect. *Spirocarpos subsect. Intertextae (Fabaceae)*. *Plant Systematic and Evolution*. 214: 29- 47.
- ❖ Small, E., Jomphe M. (1989). A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae). *Canad. J. Bot.* 67:3260 – 3294.
- ❖ Souza, A.M. & Pagliarini, M.S. (1997). Cytomixis in *Brassica napus* var. *oleifera* and *Brassica campestris* var. *oleifera* (Brassicaceae). *Cytologia*,62: 25-29.

W

- ❖ Wang, J., Kang.X. and Zhu.Q. (2010). Variation in pollen formation and its cytological mechanism in an allotriploid white poplar. *Tree Genetics & Genomes*, 6:281–290.

Résumé :

Une étude caryologique détaillée de quatre populations de *Medicago intertexta* du Golfe de Béjaïa a été réalisée à l'aide des techniques de cytogénétique classique (coloration à l'orcéine lacto-propionique, analyse des mitoses, analyse des méiose et des fertilités polliniques). Les résultats obtenus confirment le niveau diploïde de cette espèce, avec $2n = 2x = 16$ chromosomes et un nombre de base $x = 8$. Cependant, pour la population de Oued Ghir, des cellules à $2n = 16$ et d'autres à $2n = 32$ ont été observées en mélange dans une même préparation; il s'agirait probablement d'une mosaïque. Les prétraitements à la 8-hydroxyquinoléine 0.002 M ou à l' α -bromonaphtalène saturé dans l'eau n'ont présenté aucun effet observable sur le déroulement de la méiose et de la mitose. L'établissement du caryotype pour la population de Ath-Oussalah a permis de déduire la formule chromosomique de $2n = 2x = 16 = 12m + 4sm$, avec les tailles des chromosomes allant de 1,01 à 4,18 μ m.

Mots clés : *Medicago intertexta*, chromosomes, méiose, mitose, fertilité pollinique.

Abstract :

A detailed karyological study of four populations of *Medicago intertexta* from the Gulf of Béjaïa was carried out using the traditional cytogenetic techniques (lacto-propionic orcein staining, analyzes of mitosis, meiosis and pollen fertility). The results obtained confirmed the diploid level of this species with $2n = 2x = 16$ chromosomes and a basic number of $x = 8$. However, for the population of Oued Ghir, cells with $2n = 16$ and others with $2n = 32$ were observed in mixture on a same preparation; this may probably correspond to a mosaic. The pretreatment with the 8-hydroxyquinoléine 0.002 M or α -bromonaphtalene saturated in water did not present any observable effect on the process of the meiosis and the mitosis. The establishment of a karyogram and an ideogram for the population of Ath-Oussalah made it possible to deduce the chromosomal formula of $2n = 2x = 16 = 12m + 4sm$, with chromosome lengths varying between 1,01 and 4,18 μ m.

Keywords: *Medicago intertexta*, chromosomes, meiosis, mitosis, pollen fertility.

ملخص :

قد أجريت دراسة caryologique لعينة من أربعة سكان فصة متداخلة من خليج بجاية باستخدام تقنيات علم الوراثة الخلوية التقليدية (تلوين مع أورسيين لآكتو البروبيونيك، يحلل الانقسام الاختزالي، يحلل الانقسام الخلوي وخصوبة حبوب الطلع) النتائج المتحصل عليها على السكان تؤكد مستوى ثنائي الصبغي لهذا النوع وهو $2N = 2X = 16$ مع العدد الأساسي $X = 8$. ومع ذلك، بالنسبة لسكان وادي غير، خلايا $2n = 16$ وأخرى $2N = 32$ قد لوحظت خلط في نفس الإعداد؛ ربما يكون من الفسيفساء. إن المعالجة المسبقة مع 8 hydroxyquinoléine 0.002 M أو α -bromonaphtalene المشبعة في الماء لا يقدم أي تأثير ملحوظ على تتكشف من الانقسام الاختزالي والانقسام الخلوي. جعل إنشاء الطابع النووي لعينة ايت صالح - من الممكن أن نستنتج الصيغة الصبغية من $2n = 2X = 16 = 12m + 4sm$ مع أحجام الكروموسومات تتراوح بين 1,01، مع 4,18 ميكرومتر.

الكلمات المفتاحية : فصة متداخلة، الكروموسومات، الانقسام الاختزالي، الانقسام، خصوبة حبوب اللقاح .

