

N° d'ordre: 01 / 2005- M / S.N

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

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENNE

USTHB - ALGER

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

Magister

en Sciences de la Nature

Spécialité: Biologie végétale : Eco-Biologie

Par: **Nada CHEBATA**

Thème

Analyses cytogénétiques de populations algériennes
diploïdes et tétraploïdes du complexe spécifique
Dactylis glomerata L. (Poaceae)

Soutenu publiquement le: 28 / 05 / 2005, devant le jury composé de:

Mlle AID F.	Professeur, USTHB	Président
Mme AMIROUCHE N.	Chargé de cours, USTHB	Directeur de thèse
Mme BOUGUEDOURA N.	Professeur, USTHB	Examineur
Mme KHALFALLAH N.	Professeur, Université de Constantine	Examineur
Mme KHELIFI M.	Maître de conférences, INA	Examineur
M. AMIROUCHE R.	Chargée de cours, USTHB	Examineur

Résumé

La méiose est une étape clé dans la reproduction sexuée. Elle représente une phase d'étude importante pour la compréhension de la polyploïdie, processus fondamental dans spéciation et l'évolution des plantes. Le présent travail vise à la caractérisation de populations du complexe polyploïde *Dactylis glomerata* par des analyses du comportement des méioses polliniques. Des analyses biométriques du pollen sont envisagées pour la détection de diplopollen (gamètes-2n), une des voies à l'origine des polyploïdes. L'étude repose sur des échantillons diploïdes ($2n=2x=14$) et tétraploïdes ($2n=4x=28$) de diverses origines de l'Atlas tellien et du littoral.

Des analyses multivariées, prenant comme variables les différentes associations chromosomiques de la diacinèse et de la métaphase I, révèlent une forte ségrégation entre les populations diploïdes (2x) et tétraploïdes (4x). Les diploïdes montrent un taux moyen de bivalents (II) par cellule égal à 6,71 tandis que celui des univalents (I) est de 0,44 et celui des multivalents est de 0,04 (III) et de 0,01 (VI). Toutes les populations présentent 1 ou 2 chromosomes B par cellule. Une population de l'Atlas tellien (Berrouaghia) se distingue par un nombre de bivalents droits élevé (4,5) et un nombre de chiasmas par cellule relativement faible (8,68). Une présence inattendue de multivalents (trivalents et tétravalents) avec un nombre élevé de chiasmas (11,95) est constatée dans la population littorale de Tipaza. Par contre les tétraploïdes montrent un comportement méiotique bien plus régulier avec un nombre moyen de bivalents par cellule de 10,08, un nombre d'univalents de 1,4 de tétravalents de 1,12 et de 1,96 pour les autres multivalents (V et VI).

L'analyse biométrique du pollen souligne davantage la divergence entre les cytotypes diploïdes et tétraploïdes dont le diamètre moyen est respectivement de 28,41 μ m et 32,36 μ m. La variabilité intra et inter population n'est importante que chez les populations diploïdes. Dans ces populations, l'observation d'un pollen de diamètre supérieur à 38 μ m indiquerait par rapport aux normes admises, la présence de diplopollen. Leurs taux varient entre 0,25 % et 3% et les individus diploïdes producteurs de ces 2n-gamètes sont détectés dans toutes les stations étudiées. Ces résultats révèlent une différenciation entre les populations diploïdes dans leur comportement méiotique (présence d'univalents et de multivalents) comme dans la production de diplopollen. La fréquence élevée de bivalents chez les tétraploïdes indiquerait des processus de diploïdisation en cours. Les résultats obtenus confirment le caractère régulier du déroulement de la méiose. Un rééquilibrage s'effectue au fur et à mesure dans les populations naturelles garantissant l'établissement et la stabilité des polyploïdes.

Mots clés : Cytogénétique, méiose, polyploïdie, pollen-2n, *Dactylis glomerata*.

Summary

Meiosis is a key stage in the sexual reproduction. It represents a significant phase of study for the comprehension of polyploidy, fundamental process in speciation and evolution of the plants. This work aims to the characterization of populations of the polyploid complex *Dactylis glomerata* by analyses of the behavior of the pollinic meiosis. Biometric analyses of pollen are considered for the detection of dipollen ($2n$ - gametes), one of the ways at the origin of the polyploids. The study involves samples of diploid ($2n = 2x = 14$) and tetraploid ($2n = 4x=28$) of various origins of the Tellian Atlas and littoral.

Multivariate analyses, using as parameter various chromosomal associations of diakinesis and metaphase I, reveal a strong segregation between the diploids ($2x$) and tétraploïds.($4x$). The diploids show an average rate of bivalent (II) equal to 6,71 by cell while that of the univalent (I) is 0,44. All the populations present 1 or 2 **B** chromosomes by cell. Berrouaghia, population of the Tellian Atlas is characterized by a high number of rod bivalent (4,5) and a relatively low number of chismas per cell (8,68). An unexpected presence of multivalents (trivalent, 0.04 and tetravalent, 0.01) with a high number of chismas (11,95) are noted in the Littoral population of Tipaza. On the other hand the tetraploid ones show a meiotic behavior much more regular with 10.08 bivalent by cell, 1.4 univalent, 1.12 tetravalent and 1.96 for the others multivalents (pentavalent and hexavalent).

Biometric analysis of the pollen shows the divergence between the diploid and tetraploid cytotypes.whose average of pollen diameter is $28.41\mu\text{m}$ and of $32.36\mu\text{m}$ respectively. the intra and inter-population Variability is significant only at the diploid populations, in which the observation of a pollen of diameter higher than $38\mu\text{m}$ would indicate, according to the literature data's, the presence of diplopollens. Their percentage varies between 0.25% and 3%. The diploids producing of these $2n$ -pollen are detected in the majority of the studied stations.

These results reveal a differentiation between the diploid populations in their meiotic behavior (presence of univalent and multivalent) as in the production of diplopollen. The high frequency of the bivalent at the tetraploid ones would indicate processes of diploidisation of this cytotype.

The results obtained confirm the regular character of the meiosis. The equilibrium is carried out progressively in the natural populations while guaranteeing the establishment and the stability of the polyploid ones.

Key words: Cytogenetics, meiosis, polyploidy, $2n$ -pollen, *Dactylis glomerta*.

SOMMAIRE

Introduction	9
La polyploïdie. Définition et importance	14
1. Classification des polyploïdes	14
1.1. Les autopolyploïdes	15
1.2. Les allopolyploïdes	15
1.3. Les allopolyploïdes segmentaires	16
2. Origine et mécanismes de formation des polyploïdes	16
2.1. Origine	16
2.2. Mécanismes de formation des polyploïdes	21
3. Effets génétiques de la polyploïdie	23
4. Expression de la méiose chez les polyploïdes	27
5. Polyploïdie et spéciation	30
Matériel et méthodes	
1. Matériel	33
2. Méthodes	34
2.1. Protocoles expérimentaux	34
2.1.1. Etude des méioses	34
2.1.2. Etude du pollen	36
2.2. Méthodes statistiques univariées et multivariées	37
2.2.1. Méthodes statistiques univariées	37
Méthodes statistiques multivariées	38
Résultats	
1. Analyse du comportement méiotique	42
1.1. Les configurations méiotiques	42
1.2. Analyses statistiques univariées	42
1.3. Analyses statistiques multivariées	51
1.3.1. L'analyse en composante principale (ACP)	51
1.3.2. L'analyse ascendante hiérarchique (CAH)	54
2. Biométrie du pollen	55
2.1. Taille du pollen	56
2.2. Recherche des individus diploïdes produisant du diplo-pollen.	61
Discussion	
1. Différenciation des populations diploïdes	63
2. Pollen et diploïdiosation	67
3. Relation méiose - diplopollen	68
Conclusion générale	71
Références bibliographiques	75
Annexes	85

Liste des figures et planches

Figure 1.	Différentes phases de l'évolution des polyploïdes	18
Figure 2.	Les origines multiples des polyploïdes actuels.	19
Figure 3.	Mécanisme de formation des gamètes $2n$.	22
Figure 4.	Conséquences de l'évolution des génomes chez les allopolyploïdes.	25
Figure 5.	<i>Dactylis glomerata</i> de la station de Tipaza.	33
Figure 6.	Distribution des configurations en fonction de leurs moyenne pour le cytotype diploïde.	44
Figure 7.	Distribution des configurations en fonction de leurs moyenne pour le cytotype tétraploïde.	47
Figure 8.	Coefficients de corrélation entre les caractères méiotiques.	50
Figure 9.	Répartition des individus selon les axes 1-3 et 1-2 de l'ACP.	52
Figure 10.	Répartition des caractères selon l'axe 1-3 de l'ACP.	53
Figure 11.	Dendrogramme des six (06) populations étudiées.	54
Figure 12.	Distribution des fréquences de la taille du pollen chez les populations du dactyle.	57
Figure 13.	Distribution des fréquences de la taille du pollen chez les diploïdes.	58
Figure 14.	Distribution des fréquences de la taille du pollen chez les tétraploïdes.	59
Figure 15.	Intervalle de confiance des deux cytotypes.	60
Figure 16.	Micrographie du pollen du cytotype diploïde.	61
Figure 17.	Schéma résumant l'origine de la polyploïdie par voie sexuée (diplogamètes)	69
Planche I	Configurations méiotiques des diploïde	43
Planche II	Irrégularités méiotiques des populations diploïdes.	46
Planche III	configurations méiotiques des tétraploïdes.	48

Liste des tableaux

Tableau I	Liste de quelques taxons polyploïdes ayant des origines multiples.	20
Tableau II	Etages bioclimatiques et altitudes caractérisant les stations de récolte.	34
Tableau III	Moyennes des différentes configurations méiotiques obtenues.	42
Tableau IV	Moyennes des chiasmas par cellule et par bivalent pour les populations diploïdes.	45
Tableau V	Moyennes des chiasmas par cellule et par bivalent pour les populations tétraploïdes.	49
Tableau VI	Paramètres statistiques de la taille du pollen et pourcentages des gamètes $2n$ pour les individus diploïdes.	56
Tableau VII	Données brutes des caractères traités pour l'analyse cytogénétique.	AnnexeII
Tableau VIII	Valeurs propres des contributions des dix (10) premiers axes de l'ACP	AnnexeIII

Introduction

Depuis longtemps, les systématiciens ont reconnu le rôle fondamental de l'hybridation et de la polyploïdie dans l'histoire évolutive des plantes et dans leur diversification (Stebbins, 1947; 1950; 1971). Chez les angiospermes plus de 70% des taxons auraient subi au moins un épisode de polyploïdisation au cours de leur évolution (Grant, 1981; Soltis et Soltis, 1993; 2000). La polyploïdie est également à la base du processus de domestication de nombreuses plantes cultivées telle que les Poaceae, les Brassicaceae, les Fabaceae et les Solanaceae (Paterson et al., 2000). En effet, les données cytogénétiques considérables accumulées depuis des décennies ont montré que beaucoup d'espèces végétales possèdent différents niveaux de ploïdie ou cytotypes constituant des complexes spécifiques. L'association de plus de deux génomes au sein d'un même noyau confère aux espèces des caractéristiques génétiques et physiologiques et par conséquent des potentialités adaptatives et évolutives.

Les recherches les plus récentes sont consacrées à l'origine des polyploïdes et aux relations avec leurs parents diploïdes; des exemples désormais classiques concernent les genres *Gossypium* (Wendel, 2000), *Tragopogon* (Soltis et Soltis, 1993), *Spartina* (Baumel, 2001)

Ce travail s'intéresse à l'étude d'un complexe polyploïde très répandu en Afrique du nord: *Dactylis glomerata*. C'est une Poaceae qui constitue un excellent fourrage pouvant par sa rusticité reconstituer les pâturages dégradés. Sur le plan taxonomique et évolutif, il a suscité de nombreuses recherches (Myers, 1943; Mc Collum, 1958; Stebbins, 1956; Borrill, 1978;

Amirouche, 1987, 1988; Ardouin, 1988; Lumaret, 1988; Maceira, 1990).

Peu d'études ont porté sur les dactyles d'Afrique du Nord et notamment ceux d'Algérie. Maire (1955) a décrit cinq variétés et huit formes tandis que Quezel et Santa (1962) les ont rassemblées en un taxon unique *Dactylis glomerata*. A la suite des travaux de Nur et Zohary (1959), Stebbins et Zohary (1959), de Borill (1978) et de Parker (1968), cinq taxons sont rapportés pour la flore algérienne, trois diploïdes (*santaï*, *mairi*, *castellata*) et deux tétraploïdes (*hispanica* et *marina*). Sur la base d'un échantillonnage large et d'une approche pluridisciplinaire, Amirouche (1987, 1988) confirme l'existence de ces taxons en soulignant, chez les diploïdes algériens, une grande complexité et une répartition écogéographique inattendue.

La stabilité des polyploïdes est tributaire de la régularité de la méiose et par conséquent de la fertilité des gamètes. Cette stabilité est sous-tendue par des mécanismes de diploïdisation (Sybenga, 1975, 1999). L'analyse de la méiose renseigne sur les changements intrinsèques qui peuvent avoir lieu au niveau chromosomique et des mécanismes moléculaires sont récemment étudiées sur des organismes modèles comme la souris et la levure (Grishchuk et Kohli, 2003). Chez les végétaux, c'est *Arapidopsis thaliana* qui en constitue le modèle (Santos et al., 2003). Ces mécanismes sont relativement peu connus et de nouvelles protéines sont mises à jour dans la compréhension de la cohésion des chromatides sœurs et la formation des bivalents (Mercier et al., 2001).

C'est lors de l'appariement des chromosomes que les recombinaisons ont lieu et par conséquent, l'analyse des configurations méiotiques en constitue une étape indispensable

pour la connaissance des relations intra et inter génomiques. La présence de multivalents révélerait un haut degré d'homologie entre les génomes impliqués alors qu'une association en bivalents seulement traduirait une divergence entre chromosomes homéologues.

L'origine de la polyploïdie a été longtemps considérée comme une duplication somatique notamment pour les espèces autopolyploïdes. Par contre, les autres taxons qui proviendraient d'une hybridation entre espèces différentes sont des allopolyploïdes (Stebbins, 1971). A la suite des travaux de Harlan et De Wet (1975) et de De Wet (1980 *in* Maceira, 1990), de nouvelles hypothèses évoquent l'implication de gamètes diploïdes (gamètes non réduits). D'autres études ont montré le rôle de ces gamètes $2n$ dans le processus de la polyploïdisation. La production de ces gamètes $2n$, grains de pollen ou ovules, résulterait d'anomalies affectant le déroulement de la méiose. Cette origine de la polyploïdie par voie sexuelle est montrée chez de nombreuses espèces (Maceira, 1990; Wagenvoort, 1992; Chen *et al.*, 1997). Cependant, l'établissement des polyploïdes dans les populations naturelles et leur expansion géographique restent mal connue (Thompson et Lumaret, 1992). Des alternatives comme la fertilité des triploïdes ou la production de gamètes $2n$ sont nouvellement rapportés (Ramsey et Schemske, 1998; Husband et Schemske, 2000).

Chez les autopolyploïdes, c'est cette voie des diplogamètes qui est privilégiée (Bretagnolle *et al.*, 1998). Pour le dactyle, réputé autopolyploïde (Lumaret *et al.*, 1989), de nombreuses questions restent sans réponse notamment pour les taxons algériens.

C'est par rapport à cette problématique que se situe ce travail. Il fait suite à des travaux préliminaires* (Amirouche 1987, 1988; Hamrani, 1997; Abdi, 1998; Torche, 2000; Aissat et Ait Ouferoukh, 2004). Il portera sur la caractérisation des cytotypes diploïdes et tétraploïdes dans ce complexe en focalisant sur le comportement méiotique et la recherche de gamètes $2n$ dans les populations diploïdes.

Une première partie est consacrée à un aperçu bibliographique portant sur le processus de la polyploïdie et les mécanismes intervenant lors de la formation des polyploïdes. Les effets génétiques et son rôle dans la spéciation sont évoqués.

Dans la deuxième partie, après avoir présenté le matériel et les méthodes d'études, nous exposerons les résultats obtenus d'analyse du comportement méiotique, de biométrie du pollen et de recherche de diplogamètes. Une synthèse sera donnée en guise de conclusion.

* Laboratoire de biologie et physiologie des organismes. Equipe: taxonomie, physiologie et microbiologie végétales.

Aperçu bibliographique

La polyploïdie. Définition et importance

Un organisme est considéré comme polyploïde lorsque le nombre de ses chromosomes est supérieur à plus de deux génomes haploïdes. En fait, l'apparition de la fécondation comme processus sexué est à l'origine du premier polyploïde apparu, le diploïde $2n = 2x$ (Gorenflot et Raicu, 1980). Dans la nature plusieurs niveaux de ploïdie existent, triploïdes, tétraploïdes, pentaploïdes...etc, jusqu'au plus haut niveau 80-ploïde avec $2n = 640$ signalé chez une angiosperme *Sedum suaveolens* (Leitch et Bennett, 1997).

La polyploïdie joue un rôle majeur dans l'histoire évolutive des plantes. Chez les ptéridophytes 95% des espèces sont polyploïdes (Grant, 1981). Chez les angiospermes ce taux atteint 80% selon Soltis et Soltis (2000). Toutefois, ce phénomène n'est pas commun chez les gymnospermes.

Le règne animal, lui aussi, montre l'existence de polyploïdes notamment chez les reptiles, les insectes et les poissons. Ces formes polyploïdes sont souvent associées à un mode de reproduction asexué (Mogie, 1986 *in* Baumel, 2001).

1. Classification des polyploïdes

La première classification basée sur l'origine des polyploïdes a été établie en 1926 par Kihara et Ohno qui ont distingué les autopolyploïdes et les allopolyploïdes. Les premiers dérivent du dédoublement d'un même génome, les seconds proviennent d'une hybridation interspécifique. En 1945, Claussen *et al.*, (*in* Bidault, 1971) ont introduit la notion d'amphiploïde pour désigner l'ensemble des allopolyploïdes et des autopolyploïdes.

Une autre classification excluant le cycle de reproduction et impliquant les variations au sein du génome a été mise en place par Serba en 1968 (*in* Gorenflot et Raicu, 1980) qui a défini l'aneuploïdie et l'euploïdie comme étant les variations affectant le nombre de chromosomes pour la première et le nombre de génome pour la deuxième. Stebbins (1950, 1971), Soltis et Soltis (2000) se sont basés sur le degré d'homologie des chromosomes en impliquant directement les processus de la méiose dans la formation des polyploïdes. Trois catégories de polyploïdes sont distinguées:

1.1. Les autopolyploïdes

Ils résultent d'un croisement entre individus appartenant à la même espèce suivi d'un doublement chromosomique. Ces autopolyploïdes se caractérisent par la formation des multivalents à la méiose. L'hérédité polysomique leur confère un certain degré d'hétérozygotie par rapport à leurs parents diploïdes (Stebbins, 1971). Les complexes polyploïdes les plus connus de ce type sont: *Dactylis glomerata*, *Secale cereale*, *Turnera ulmifolia*, *Chamerion angustifolium*, *Vaccinium corymbosium*.

1.2. Les allopolyploïdes

Ce sont des espèces qui résultent d'un croisement entre taxons différents suivi d'un doublement chromosomique. Ce type de polyploïde se caractérise par la formation exclusive de bivalents à la méiose avec une hérédité disomique. Par conséquent, les allopolyploïdes présentent une hétérozygotie fixée d'une génération à l'autre (Soltis et Soltis, 2000). Plusieurs genres ou familles appartiennent à ce modèle comme par exemple: le genre *Triticum*, les familles des Brassicacées et des Solanacées.

1.3. Les allopolyploïdes segmentaires

Ils constituent un type d'allopolyploïde dont les chromosomes parentaux présentent des segments homologues. Au cours de la méiose se forment des bivalents et des multivalents (Bidault, 1971).

2. Origine et mécanismes de formation des polyploïdes

2.1. Origine

La polyploïdie est le processus le plus commun, peut être l'unique, à l'origine de la formation des espèces nouvelles.

Stebbins (1971) a noté que tous les genres dont le nombre de base $x=12$ ou plus sont des genres dérivants par polyploïdisation de groupes ayant des nombre de base $x<12$.

L'utilisation des techniques de biologie moléculaire telles que le polymorphisme de l'ADN (RFLP, RAPD, AFLP, microsatellites...), le marquage moléculaire (GISH, FISH) et le séquençage de gènes, a permis de montrer que des espèces longtemps considérées comme diploïdes ne sont en réalité que d'anciens polyploïdes (Leitch et Bennett, 1997; Levy et Feldmaireian, 2002).

De ce fait, l'évolution des espèces par polyploïdie suggère que le doublement chromosomique a eu lieu tôt après l'hybridation. D'autres évènements semblent prendre place durant l'établissement des néopolyploïdes ou au cours de leur évolution (Levy et Feldmaireian, 2002).

La figure 1 présente les différentes phases de l'évolution des polyploïdes.

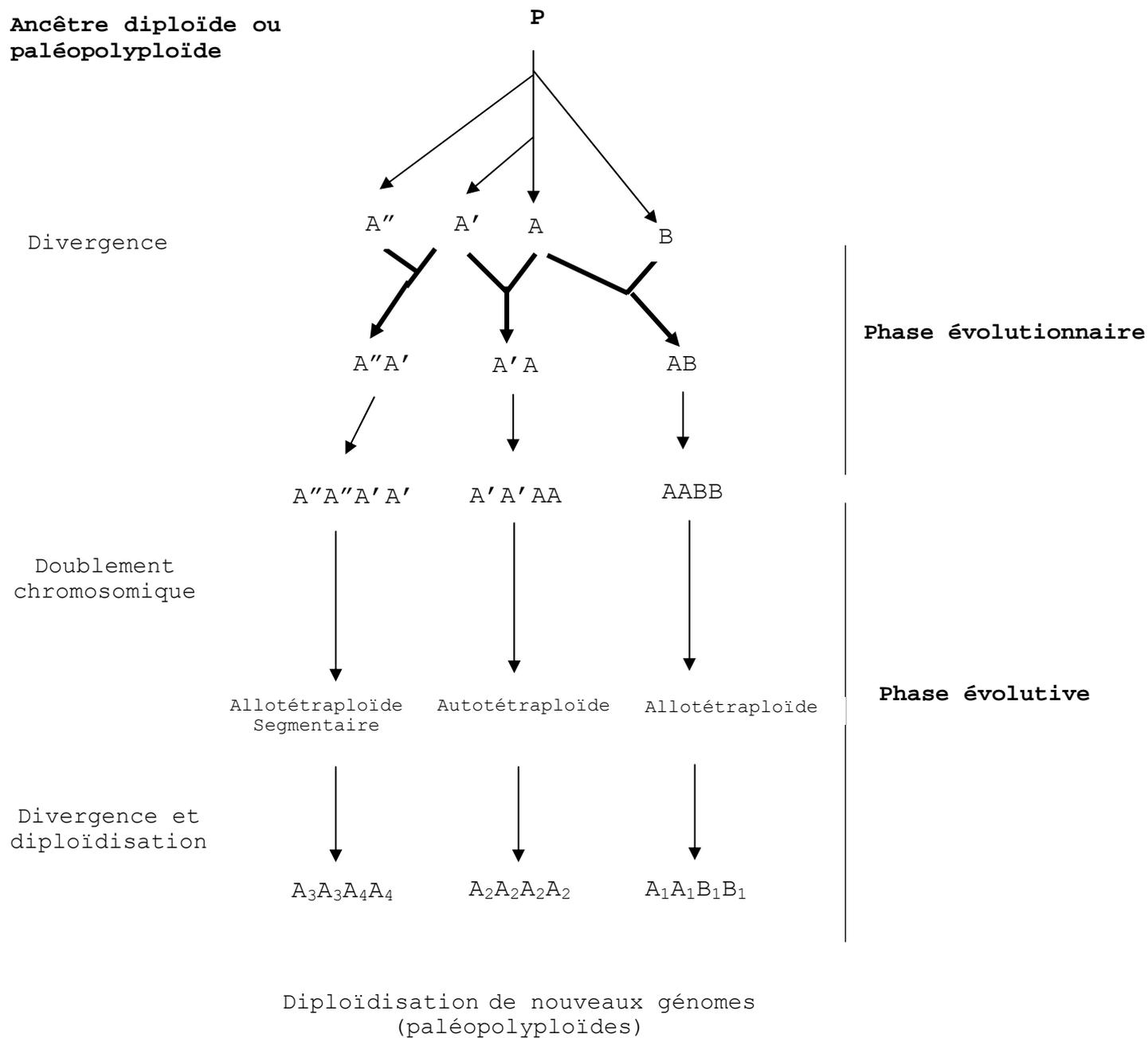


Figure 1. Différentes phases de l'évolution des polyploïdes.
D'après Levy *et al* (2002)

Elle montre qu'à partir d'une espèce ancestrale (diploïde ou paléopolyploïde) d'autres espèces divergent avec des génomes pouvant être ou non reliés. Le génome A est très lié au génome A', leurs chromosomes peuvent s'apparier chez l'hybride AA' donnant naissance à un autopolyploïde A'A'AA. Les génomes A''A' présentent des similarités partielles, d'où l'appariement de quelques chromosomes seulement, les autres étant très divergents. De ce fait, il y aura formation d'un allopolyploïde segmentaire. Enfin, les génomes A et B sont très distincts et par conséquent, il ne va pas y avoir d'appariement; le dédoublement des chromosomes donnera naissance à un allopolyploïde.

Deux grandes phases marquent l'évolution des polyploïdes:

- ❖ Phase révolutionnaire: pendant laquelle des changements génétiques et épigénétiques importants ont lieu dès les premiers stades du doublement chromosomique et de la formation de l'hybride.

- ❖ Phase évolutive: les génomes restent divergents et les homologies des chromosomes avec ceux de leurs géniteurs diminuent progressivement. Ainsi se forment de nouveaux génomes diploïdes qui sont des polyploïdes âgées (Stebbins, 1947) ou des paléopolyploïdes (Soltis et Soltis, 1993; Levy et Feldmaireian, 2002). A ce stade, le flux de gènes entre espèces polyploïdes partageant un même génome est possible. Les empreintes de la duplication du génome original peuvent être détectées par séquençage.

A partir de l'analyse des sites de restriction de l'ADNcp et nucléaire, Soltis et Soltis (1993, 1999) ont évoqué la question des origines multiples de plusieurs espèces polyploïdes d'angiospermes (figure 2) et ont noté que ces dernières auraient plus d'une origine.

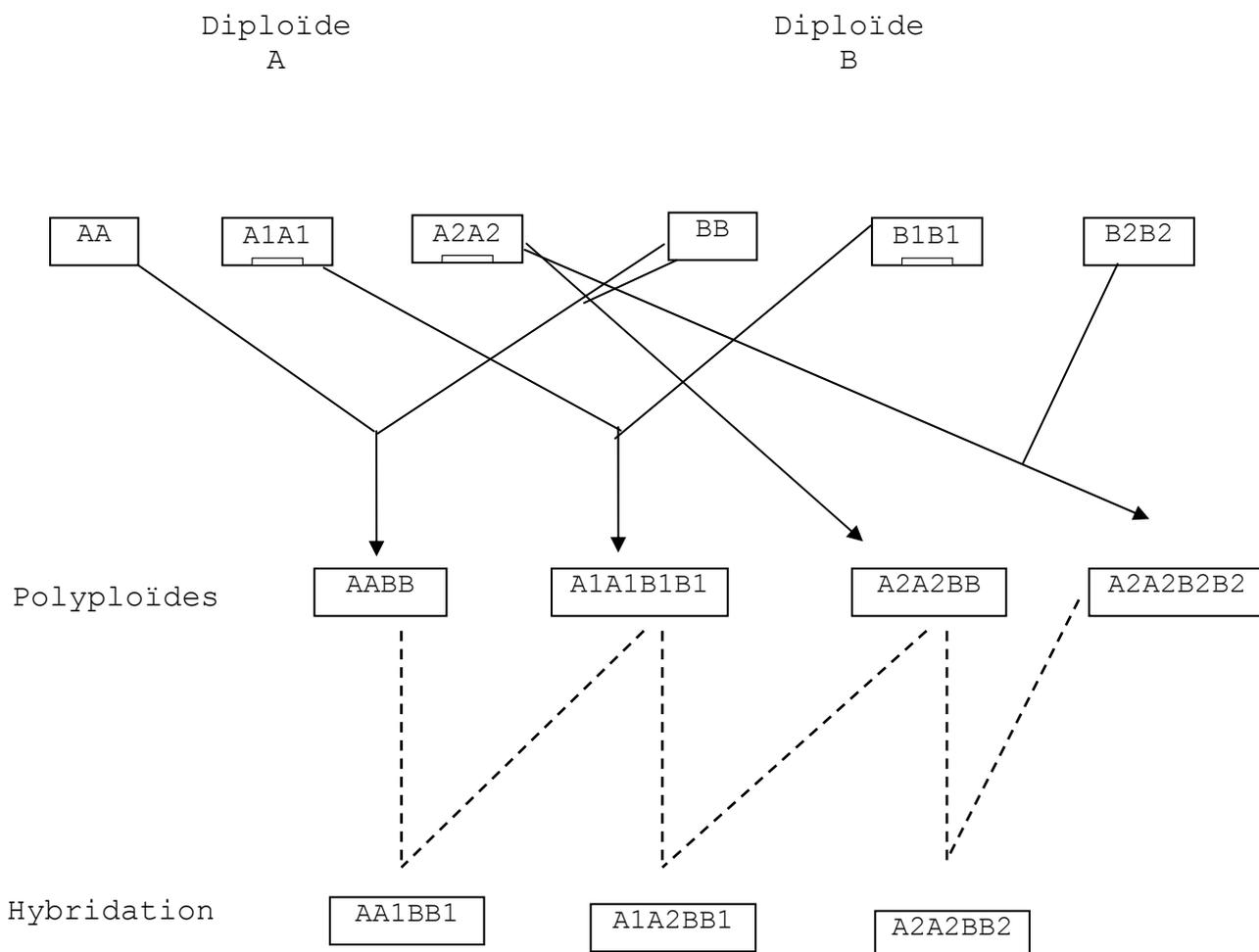


Figure 2. Les origines multiples des polyploïdes actuels, d'après Soltis et Soltis (1999)

D'autres travaux ont appuyé cette hypothèse (Leitch et Bennett, 1997; Ramsey et Schemske, 1998; Wendel, 2000). La présence d'espèces polyploïdes à origine unique n'est pas exclue (Levy et Feldmaireian, 2002). Sur le tableau I, sont représentées les espèces polyploïdes les plus connues.

Tableau I. Liste de quelques taxons ayant des origines multiples, d'après Soltis et Soltis (1993)

Taxons	Niveau de ploïdie	Type de polyploïdie	Auteurs
<i>Aegilops triuncialis</i>	4x	Allotétraploïde	Ogihara et Tsunewaski (1988)
<i>Brassica napus</i>	4x	Allotétraploïde	Erickson et al., (1983)
<i>Brassica juncea</i>	4x	Allotétraploïde	Song et al., (1988)
<i>Dactylis glomerata L.</i>	4x	Allotétraploïde	Song et al., (1988)
<i>Draba cacuminum</i>	4x	Autotétraploïde	Lumaret et al (1989)
<i>Darba lactea</i>	8x	Allo octaploïde	Brochman et al., (1992)
<i>Glycine tabacina</i>	6x	Allohexaploïde	Brochman et al., (1992)
<i>Heuchera grossulari-ifolia</i>	4x	Allotétraploïde	Doyle et al., (1990, 1999)
<i>Heuchera mircantha</i>	4x	Autotétraploïde	Wolf et al., (1990)
<i>Solanum tuberosum</i>	4x	Autotétraploïde	Soltis et al., (1989)
Ssp. andigena	4x	Allotétraploïde	Ashton et Abbott (1992)
<i>Tragopogon mirus</i>	4x	Allotétraploïde	Ashton et Abbott (1992)
<i>Triticum dicoccoides</i>	4x	Allotétraploïde	Soltis et Soltis (1991)
<i>Turnera ulmifolia</i>	4x	Allotétraploïde	Ogihara et Tsunewaski (1988)
<i>var. elegans</i>	4x	Autotétraploïde	Shore (1991)

4x: tétraploïde ; 6x: hexaploïde; 8x: octaploïde .

2.2. Mécanismes de formation des polyploïdes

La notion de polyploidisation sexuelle a été renforcée par les travaux de Harlan et De Wet (1975) et De Wet (1980 *in* Maceira, 1990). D'autres études cytogénétiques chez de nombreuses espèces diploïdes et leurs descendants polyploïdes ont montré l'implication de gamètes- $2n$ dans le processus de leur formation (Maceira, 1990; Wagenvoort *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 1997; Bretagnolle *et al.*, 1998)

Des anomalies affectant le comportement des chromosomes durant la méiose au niveau des cellules mères des gamètes perturbent la microsporogénèse et la macrosporogénèse, donnant ainsi naissance à des gamètes non réduits (figure 3).

L'union d'un diplopollen avec un ovule diploïde aboutit à la formation d'un tétraploïde (polyploïdisation sexuelle bilatérale) ou encore, si seulement l'un des deux gamètes est diploïde, nous assisterons à la naissance d'un triploïde (polyploïdisation sexuelle unilatérale). Ce dernier est le plus souvent stérile. Dans les cas où il est fertile, il peut former des tétraploïdes par rétro-croisement ou auto-fertilisation (pont triploïde). Le croisement entre diploïdes et tétraploïdes (ou inversement) aboutit également à la formation de polyploïdes (Maceira, 1990; Bretagnolle *et al.*, 1998; Ramsey et Schemske, 1998; Petit *et al.*, 1999)

Un autre phénomène semble avoir un rôle dans l'établissement des polyploïdes, l'auto-incompatibilité. Ramsey et Schemske (1998) signalent que l'efficacité de la fréquence du pollen $2n$ peut être augmentée par la suppression de l'auto-incompatibilité au niveau du diplopollen, chez les plantes dont le phénomène est de type gamétophytique. Lewis (1996 *in* Baumel, 2001) a trouvé des triploïdes chez des descendants auto-incompatibles du genre *Pyrus* produisant du pollen $2n$ et a décrit ce phénomène comme étant «le tamis de l'incompatibilité».

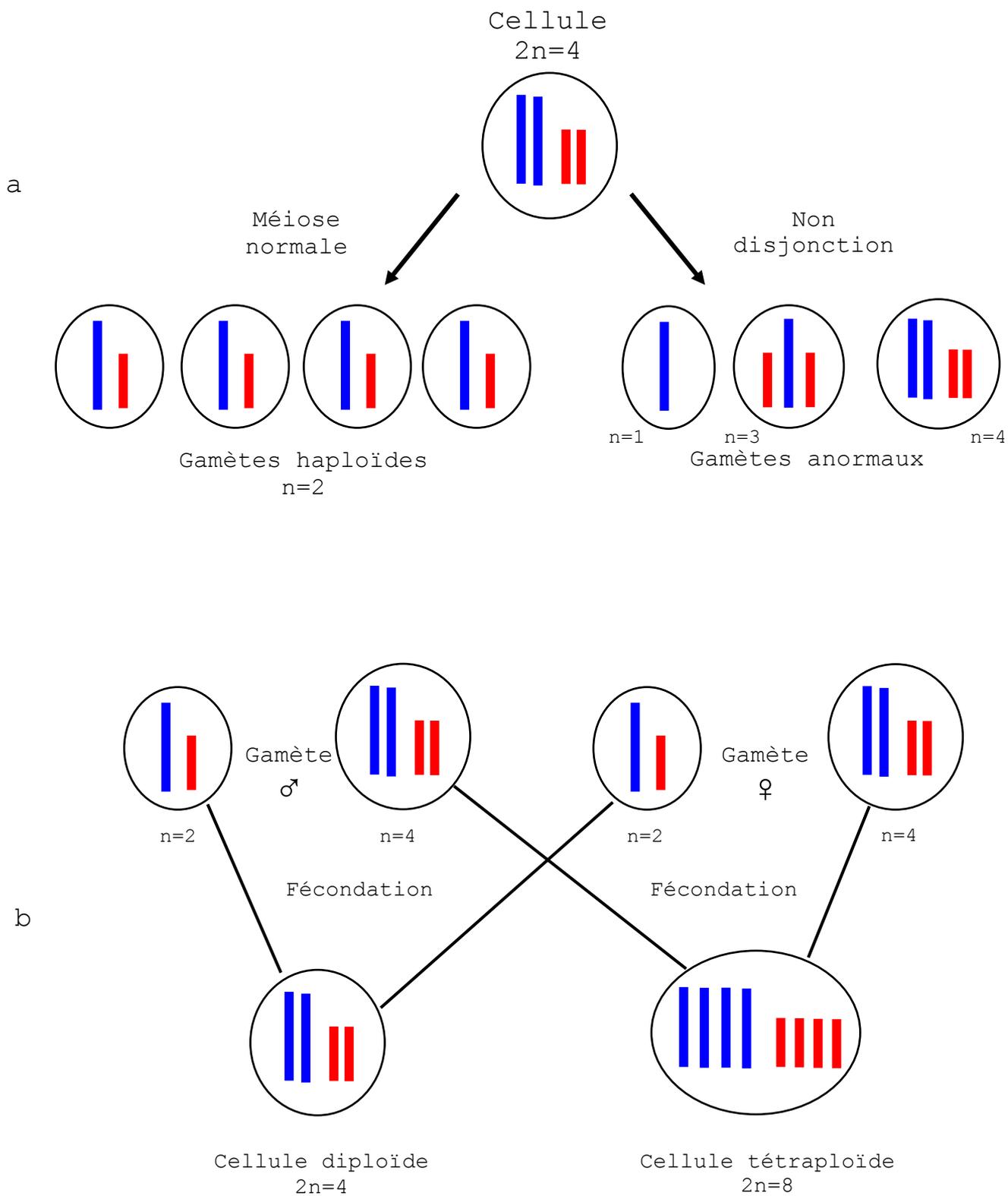


Figure 3. Formation des gamètes non réduits (a) donnant naissance aux polyploïdes (b), d'après Henry et De buyser, 2000.

3. Effets génétiques de la polyploïdie

Il est évident que l'établissement des néopolyploïdes a nécessité la mise en place de nouveaux mécanismes permettant leur maintien et leur prolifération voire leur spéciation.

Stephens (1951 *in* Wendel, 2000) a souligné cette mise en place en disant: «C'est un mécanisme dans lequel de nouvelles fonctions peuvent être ajoutées et les anciennes conservées. Ce mécanisme est prétendu avoir un remarquable avantage sélectif. La seule façon d'atteindre cette amélioration est l'augmentation du nombre de loci»

En effet, des changements ont été identifiés à différents niveaux du génome allant du chromosome jusqu'aux séquences d'ADN (Leitch et Bennett., 1997). Ces modifications sont considérées comme une réponse au stress génomique que ces espèces subissent suite au dédoublement chromosomique, ainsi qu'une préadaptation des plantes pour qu'elles puissent prendre place avec leurs géniteurs. Par conséquent, les nouveaux polyploïdes n'auront pas à réduire leur fitness (Levy et Feldmaireian, 2002).

Les réarrangements génomiques qui ont eu lieu suite à la formation des polyploïdes ont été mis en évidence grâce aux nombreuses techniques de biologie moléculaire (séquençage, GISH, RFLP, cartographie...).

Des translocations intergénomiques sont mentionnées chez plusieurs espèces. Leitch et Bennett (1997) ont noté 18 translocations chez *Avena sativa* et 5 translocations chez *Avena maroccana*. Trois génotypes différents du tabac ont été analysés par Kenton *et al.*, 1993 (*in* Leitch et Bennett, 1997), 3 lignées présentent 9 translocations homozygotes entre les génomes S et T (le génome S désigne *Nicotiana sylvestris* et le génome T semble appartenir à la section *tomentosa*)

Brubaker *et al.*, (1999) dans une étude sur le genre *Gossypium* ont comparé le génome allotétraploïde (AD, n=26) avec les génomes de ses géniteurs diploïdes (A et D, n=13). Ils ont démontré que la polyploïdisation chez ce genre s'est accompagnée par une augmentation de la recombinaison, du fait que la somme des distances génétiques au niveau du génome allotétraploïde est supérieure à 50% par rapport à celle de leurs parents diploïdes.

La duplication des gènes est très connue comme étant une conséquence génétique du processus de la polyploïdisation (Soltis et Soltis, 1993, 2000; Wendel, 2000). Il a été démontré que les 2/3 du génome d'*Arabidopsis thaliana* sont dupliqués. De nombreuses espèces renferment des génomes dupliqués telles que les espèces de la famille des Brassicaceae et celles des genres *Gossypium*, *Triticum*, *Solanum* et d'autres.

Après la polyploïdisation, Wendel (2000) montre que les génomes parentaux évoluent différemment chez les allopolyploïdes (figure 4):

Une divergence entre deux génomes A et B est suivie d'une hybridation ensuite doublement chromosomique pour former un allopolyploïde A'B' (1). Les séquences de ce dernier vont s'apparier avec leurs homologues dans le cas où les deux génomes parentaux auraient évolué indépendamment (2). Dans le cas contraire, elles se lieront ensemble suite à une homogénéisation des deux séquences (3). La perte de l'une des deux séquences parentales ou bien l'apparition de nouvelles séquences peuvent également avoir lieu (4).

D'après Wendel (2000) les gènes dupliqués peuvent avoir quatre destinations (figure 4):

1. Leurs fonctions peuvent diverger sous l'effet d'un relâchement de la sélection sur l'une des deux copies. Par conséquent, de nouvelles capacités vont émerger. La conservation de la fonction originale des deux copies est également possible.

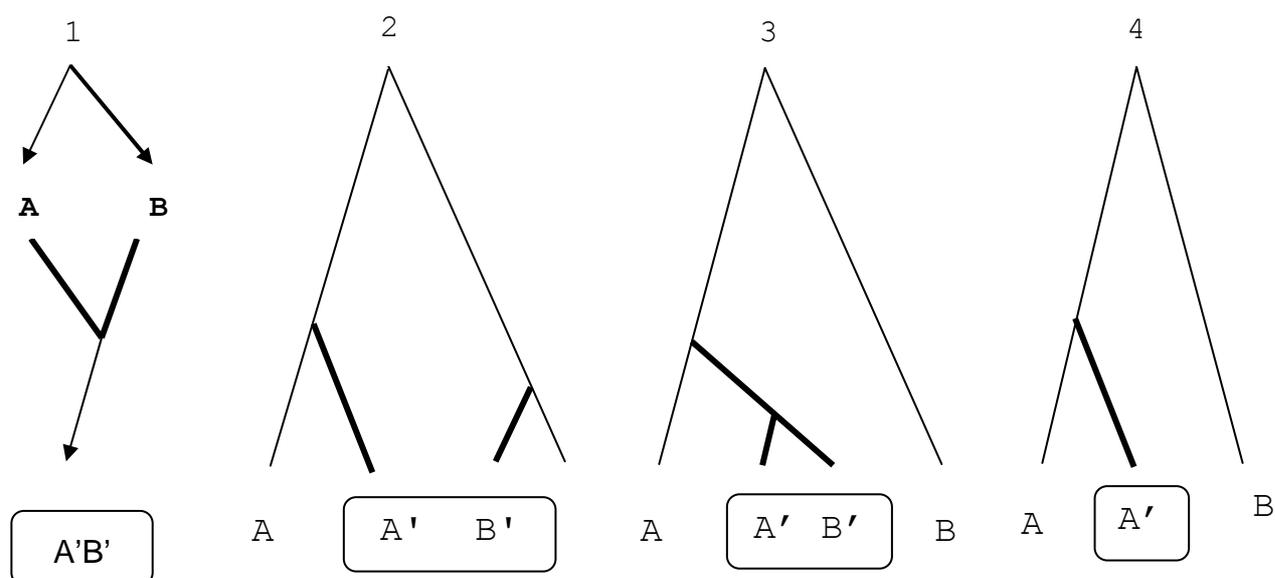


Figure 4. Les conséquences de l'évolution du génome chez les allopolyploïdes' après Wendel(2000)

1. A et B deux génomes ayant divergés puis hybridés donnant naissance à un allopolyploïde A'B' (suite à un dédoublement)
2. Les deux génomes parentaux ont évolué indépendamment, les séquences de l'hybride vont se brancher avec leurs homologues parentaux.
3. Les deux génomes parentaux ont évolué dans la même direction, par conséquent les séquences de l'hybride vont se brancher ensemble suite à une homogénéisation.
4. Perte de l'une des séquences parentales ou encore apparition de nouvelles séquences.

2. La dégradation de l'une des deux copies sous l'effet de la mutation. Dans ce cas des gènes non fonctionnels dit pseudogènes ou gènes silencieux apparaissent. Ce type a été trouvé chez le cytotype tétraploïde de *Chenopodium*, le cytotype hexaploïde de *Triticum aestivum* et le cytotype diploïde de *Phaseolus vulgaris* (Soltis et Soltis, 1993; Wendel, 2000; Kashkush et al., 2002). La présence des gènes silencieux semble avoir un rôle dans le retour à l'état diploïde des génomes paléopolyploïdes. Néanmoins, cette hypothèse n'a pas été expérimentalement confirmée (Soltis et Soltis, 2000).

3. La perte carrément d'un gène. Des études réalisées sur le blé allotétraploïde synthétisé à partir de deux progéniteurs, *Aegilops sharonensis* et *Triticum monococcum* ssp *aegilopoides* ont mis en évidence la perte de gènes. Ce processus irréversible semble avoir lieu dès la première génération hybride F1 ou encore après doublement chromosomique. Ce phénomène contribue à la diploïdisation génétique d'un grand nombre de loci pendant les premiers stades de la polyploïdisation (Kashkush et al., 2002).

4. La dernière destination est une interaction entre génomes homéologues du fait de la perte de l'indépendance entre gènes dupliqués. La réunion de génomes différents au sein d'une même espèce offre des possibilités d'interaction entre les séquences. Ces dernières ont tendance à s'homogénéiser en subissant une «évolution concertée» plutôt que de continuer à évoluer séparément. Une analyse des séquences ITS de l'ADNr d'un *Gossypium* allotétraploïde renfermant 2 loci de chacun des génomes parentaux A et D a révélé une homogénéisation des séquences. Les séquences du génome A sont devenues identiques à celles du génome D chez la plupart des espèces. Toutefois, ce processus n'est pas généralisé pour toutes les séquences, certains loci peuvent garder leur identité chez le polyploïde (Leitch et Bennett, 1997)

4. Expression de la méiose chez les polyploïdes

Les techniques cytogénétiques se basant sur le comportement des chromosomes durant la méiose sont à la base de la séparation entre les trois types de polyploïdes. La distinction entre les allopolyploïdes et les autopolyploïdes est basée sur l'origine de leurs génomes. Alors que ceux des premiers sont très différents, ceux des deuxièmes semblent être liés. De ce fait, les allopolyploïdes ne présentent que des bivalents. Les autopolyploïdes par contre présentent des bivalents et des multivalents à la méiose. Entre ces deux extrêmes un troisième groupe vient prendre place, les allopolyploïdes segmentaires qui combinent les deux comportements, bivalents et multivalents.

Des études cytologiques et moléculaires récentes suggèrent que beaucoup d'autopolyploïdes ne sont en vérité que des allopolyploïdes segmentaires (Sybenga, 1996, Fjellstron *et al.*, 2001 *in* Wu *et al.*, 2001). En fait, l'existence des multivalents à la fois chez les autopolyploïdes et les allopolyploïdes segmentaires a rendu la distinction entre les deux catégories difficile (Jackson, 1984).

C'est pourquoi, plusieurs méthodes mathématiques ont été mises au point pour estimer l'affinité de l'appariement entre les chromosomes chez les espèces polyploïdes en particulier celles considérées autopolyploïdes et leurs géniteurs. Ces méthodes se sont principalement basées sur le taux des tétravalents, des bivalents en plus des fréquences des chiasmata (Jackson et Casey, 1982, Jackson, 1984; Luping *et al.*, 1998; Sybenga, 1994, 1996; Wu *et al.*, 2001)

D'après Sybenga (1996) plusieurs autopolyploïdes naturels ou artificiels peuvent présenter de faibles tendances à former des multivalents notamment des tétravalents. Wu *et al.*, (2001) viennent appuyer cette hypothèse suite à l'utilisation de marqueurs moléculaires dans leur analyse sur l'appariement des chromosomes en multivalents chez les espèces autopolyploïdes.

Ils notent que ces dernières peuvent ne présenter que des bivalents ou bien uniquement des multivalents ou encore les deux à la fois.

Lorsqu'une espèce présente des multivalents, elle est caractérisée par une hérédité polysomique. Un chromosome aura dans ce cas plusieurs partenaires (au moins trois) auxquels il peut se lier. Si l'association se fait de manière aléatoire au niveau de deux points d'appariement, deux-tiers (2/3) des chromosomes impliqués forment des tétravalents et seulement un tiers (1/3) des chromosomes se lient en bivalents (Lavania, 1995; Sybenga, 1996).

Pourtant, l'importante fréquence des bivalents par rapport aux tétravalents formés chez les autopolyploïdes suggère que les chromosomes montrent certaines préférences les uns par rapport aux autres. L'existence de ces affinités entre chromosomes est probablement causée par des différenciations évolutives entre génomes impliqués. Ces dernières seraient dues à des changements structuraux à l'échelle génique. Les auteurs désignent ce processus par le terme de «l'appariement préférentiel». Ce dernier favorise la formation des bivalents au dépend des tétravalents et par conséquent, diminue la fréquence des chiasmas (Jackson et Casey, 1982, Jackson, 1984; Lavania., 1995; Luping *et al.*, 1998; Sybenga, 1994, 1996; Wu *et al.*, 2001)

Luping *et al.*, (1998) dans leur étude sur *Vaccinium* indiquent que ce mécanisme est un mode de diploïdisation chez cette espèce et que l'autopolyploïdie est un processus évolutif dynamique qui a permis une importante divergence au niveau de ses espèces. Cette divergence est la conséquence du transfert de gènes à partir des espèces diploïdes vers leurs autopolyploïdes apparentés via les gamètes diploïdes.

Effectivement, la polyploïdisation sexuelle représente un moyen pour le transfert de la diversité génétique des espèces spontanées vers les espèces cultivées et joue donc un rôle

essentiel dans l'amélioration génétique de celles-ci (Carputo *et al.*, 2003).

Les mécanismes qui ont intervenu dans la formation des gamètes diploïdes particulièrement le pollen, ont fait l'objet de plusieurs recherches. Toutes les analyses portant sur ce sujet ont lié ce processus au déroulement de la méiose au niveau des cellules mères du grain de pollen. Elles ont démontré l'existence d'anomalies durant les deux divisions méiotiques. Ces aberrations ont été nommées «mécanismes méiotiques de restitution nucléaire» (Ramanna, 1992). Ces remaniements ont permis aux autopolyploïdes d'avoir un haut niveau d'hétérozygotie et d'acquérir des performances pour certains caractères (Chen *et al.*, 1997; Lumaret, 1988; Wagenvoort *et al.*, 1992) leur permettant une large distribution biogéographique traduite par l'aptitude à s'adapter aux conditions de l'environnement. Ces «mécanismes méiotiques de restitution nucléaire» se résument essentiellement dans:

1- L'absence ou la malformation du fuseau achromatique. Ce phénomène est probablement dû à un gène récessif *ps* (parallel spindle). La présence de ce gène perturbe l'orientation des microtubules du fuseau qui prennent un aspect parallèle. Par conséquent, tous les chromosomes migrent vers le même pôle. Le résultat est alors la formation de deux diades comportant chacune un nombre somatique de chromosomes (Carputo *et al.*, 2003)

2- L'absence de la migration des chromosomes avec absence de la deuxième division méiotique ou bien absence de la cytotélorèse. Ce phénomène a été mis en évidence par Chen *et al.*, (1997) chez *Lolium perenne* et par Carputo *et al.*, (2003) chez les Solanaceae.

3- La présence de chromosomes surnuméraires **B** qui semblent porter des gènes affectant l'appariement des chromosomes et pouvant induire la formation d'univalents (Falistocco *et al.*,

1994; Jackson, 1984; Lumaret *et al.*, 1992; Maceira *et al.*, 1992).

4- La cytomixie est un phénomène de migration des chromosomes à travers des canaux, résultant de la persistance des plasmodesmes entre deux meiocytes voisins. Ce mécanisme est également impliqué dans la formation du diplopollen (Wagenvoort *et al.*, 1992; Falistocco *et al.*, 1994).

Toutefois, les données indiquent que la production naturelle des gamètes $2n$ se fait en faible quantité. Ce qui laisse suggérer que les espèces diploïdes ont tendance à garder une grande fréquence du pollen normal (haploïde) pour maintenir leur niveau de ploïdie tout en permettant la polyploïdisation (Lumaret, 1988; Carputo *et al.*, 2003)

5. Polyploïdie et spéciation

Il existe une étroite relation entre la polyploïdie et la spéciation. En effet, la polyploïdie a joué et joue encore un rôle important voire majeur dans la diversification des genres et espèces (Gorenflot et Raicu, 1980)

Les néopolyploïdes apparus soit par dédoublement du génome d'une espèce ancestrale ou bien par union de génomes différents, ont pu coloniser de vastes territoires biogéographiques. (Ramsey et Schemske, 1998; Bayer, 1999; Petit *et al.*, 1999). L'adaptation des polyploïdes aux nouvelles niches écologiques s'est traduit au cours du temps par un isolement reproducteur entre eux et leurs parents. Cet isolement est de deux types:

- Un isolement reproducteur complet causé par une séparation spatiale entre cytotypes. On parle dans ce cas d'une spéciation allopatrique.
- Un isolement reproducteur partiel entraînant une spéciation sympatrique. Dans ce cas, des populations vivant dans des habitats adjacents d'une même aire géographique (zones de contact) ont évolué vers des espèces séparées suite

à des restructurations chromosomiques ou géniques. Un échange partiel de gènes peut se produire entre les espèces de ce type (Petit *et al.*, 1999; Husband *et al.*, 2003)

Petit *et al.*, (1999) dans leur étude sur les zones de contact entre diploïdes et tétraploïdes notent que la polyploïdisation contribue à l'augmentation de la diversité génétique. Cette dernière est due aux flux de gènes entre cytotypes avec des niveaux de ploïdie différents. Ils citent l'exemple du genre *Taraxacum* chez lequel ils ont remarqué l'existence d'un flux de gène bilatéral entre cytotypes diploïdes à reproduction sexuée et cytotypes triploïdes apomictiques. Cette hybridation a permis le maintien d'un haut niveau de diversité génétique tandis que l'apomixie a favorisé un important degré d'adaptation locale.

Pour les deux types de spéciation les restructurations chromosomiques et géniques sont accumulées au niveau des populations en transformations (Gorenflot et Raicu, 1980)

Stebbins (1971) considère que les polyploïdes sont beaucoup moins fréquents au niveau des régions tempérées et subtropicales qu'au niveau des régions froides où les fluctuations écologiques sont plus intenses avec des séries de glaciation. L'aptitude des polyploïdes à s'adapter aux conditions écologiques et climatiques les plus extrêmes est la conséquence de la multiplication du génome et à l'augmentation de l'hétérozygotie entraînant une élévation de l'homéostasie physiologique et écologique (Bretagnolle *et al.*, 1998).

Matériel & méthodes

1. Matériel

Nous avons utilisé pour notre étude les échantillons du genre *Dactylis glomerata* (figure 5) appartenant à la collection du laboratoire de Génétique Ecologique. Ces populations, soumises aux mêmes conditions écologiques sont maintenues en culture au niveau de la serre de l'Université. Ces populations proviennent de différentes régions monts des Babors, sous couvert forestier de chêne vert et de cèdre, des gorges de Kherrata et de Lakhdaria ainsi que des régions sub-littorales de Ténès, Tipaza et Ziama. La station de Berrouaghia également retenue provient de l'atlas tellien. D'autres échantillons traités dans cette étude ont été récoltés au niveau de la station de Tipaza pendant le printemps 2002.



Figure 5. *Dactylis glomerata* de la station de Tipaza.

Le tableau II montre les différentes populations ainsi que les étages bioclimatiques et les altitudes qui caractérisent les stations (Stewart, 1974).

Tableau II. Etages bioclimatiques et altitudes des stations de récolte.

Populations	Etage bioclimatique	Altitude
Babors 1	Humide doux	1000–1600 m
Babors2		
Kherrata	Humide frais	200–300 m
Dmairei		
Kherrata	Humide chaud	20 m
Ziama		
Tipaza	Sub-Humide chaud	10–20 m
Lakhdaria	Sub-Humide doux	650 m
Ténès	Sub-Humide chaud	150 m
Berrouaghia	Sub-Humide frais	800 m

2. Méthodes

2.1. Protocoles expérimentaux

2.1.1. Etude des méioses

Nous avons analysé les populations de Babors1, Kherrata Dmairei, Berrouaghia et Tipaza, Babors 2 et Ziama.

Nous avons adopté la technique de Feulgen qui consiste en la coloration des chromosomes en rouge violacé. Cent quatre dix neuf (199) cellules mères du grain de pollen (CMP) sont observées aux stades diacinèse (fin de prophase I) et métaphase I. La technique comporte les étapes suivantes :

Prétraitement

Avant l'anthèse, nous avons procédé au prélèvement des panicules avant et après leur émergence de la gaine de la feuille culmaire. Par la suite les panicules sont plongées dans le Carnoy pendant 48 heures. L'agitation est indispensable pour permettre l'imprégnation de la solution entre les épillets et par conséquent dans les cellules.

Le Carnoy est une solution composée de trois produits, alcool, chloroforme et acide acétique dans des proportions respectives 6/3/1. Il bloque les divisions cellulaires en métaphase I.

Fixation et conservation

Les panicules sont transférées dans l'alcool 70° et conservées au réfrigérateur à 4°C. Un minimum de 24 heures est indispensable pour toute observation. Elles peuvent être conservées pendant plusieurs semaines dans ces conditions.

Hydrolyse

L'hydrolyse permet la libération des groupements aldéhydes de l'ADN après rupture des liaisons N-glucosidiques des bases puriques. Cette étape est réalisée au bain-marie dans une solution de HCL 1N à 60°C pendant 10 minutes.

Coloration

Les panicules sont colorées au réactif de Schiff pendant 1 heure 30 à 2 heures, à l'obscurité et à température ambiante. Cette coloration permet la fixation du colorant sur les groupements aldéhydes de l'ADN.

Montage et observation

Une fois retirées du colorant, les panicules sont mises pendant 10 minutes dans l'eau distillée pour accentuer la coloration. La dissection des anthères est effectuée sous la loupe binoculaire. Chaque anthère est placée entre lame et lamelle dans une goutte de carmin acétique pour augmenter sensiblement la coloration. Les anthères peuvent être également écrasées dans de l'acide acétique 45%. L'excès de l'acide acétique ou du carmin acétique est épongé par du papier filtre. Une fois le squash réalisé, l'observation est faite sous microscope photonique. Les meilleures préparations sont conservées au Depex.

Exploitation des résultats

L'exploitation des résultats consiste à repérer et à dénombrer au niveau de chaque lame et sur plusieurs cellules les figures caractéristiques de la méiose: Les univalents, les bivalents en anneaux ou droits; les tétravalents, en chaînes, en anneaux.

2.1.2. Etude du pollen

Les individus traités dans cette étude appartiennent aux populations de Lakhdaria, Berrouaghia, Tipaza, Ténès ainsi que Kherrata et Ziama. Nous avons procédé à la mesure de quatre mille quatre cents (4400) grains de pollen. Le protocole adopté est comme suit:

Récolte du pollen

Juste avant l'anthèse, les panicules sont emballées par des sachets en cellophane pour empêcher la dissémination du

pollen. A l'anthèse, le pollen est récolté en saupoudrant les panicules sur des lames.

Coloration

La coloration a été effectuée au carmin acétique-glycérol (1/1) pendant 24 heures à température ambiante.

Mesure du pollen

Les mesures ont été effectuées grâce à un oculaire micrométrique au grossissement x25. Le diamètre de 400 grains de pollen par individu soit quatre mille quatre cents observations ont été réalisées sur onze individus. Seuls les grains rouges et sphériques ont été pris en considération (Jahier et al., 1990).

2.2. Méthodes statistiques univariés et multivariés

2.2.1. Méthodes statistiques univariés

L'analyse des différents types d'appariements chromosomiques a consisté en un dénombrement des chromosomes pour chaque population et à établir la formule méiotique moyenne. Les différentes configurations sont aussi visualisées sous forme de courbes.

Des coefficients de corrélations entre les différentes configurations chromosomiques sont établis par le logiciel STATISTICA (version 5, 97)

L'étude biométrique du pollen a été traitée par les paramètres statistiques classiques (Lamotte, 1971):

La moyenne

$$\bar{X} = \sum \frac{ni xi}{N}$$

Avec:

ni: fréquences.

xi: valeur du diamètre.

N: effectif.

La variance

$$\sigma^2 = \sum ni \frac{(xi - \bar{X})^2}{N}$$

L'écart type

$$\sigma = \sqrt{\sigma^2}$$

Intervalle de confiance

$$IC = \bar{X} \pm t \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$$

t = 1.96 au seuil de sécurité 95%.

Coefficient de variation

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} \quad \text{ou encore} \quad CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} 100$$

Des intervalles de confiance et des courbes ont été établis pour chaque individu.

2.2.2. Méthodes statistiques multivariés

Nous avons choisi pour le traitement de nos données deux méthodes statistiques largement utilisées (Sneath et Sokal, 1973). L'analyse en composantes principales (ACP) et la classification ascendante hiérarchique (CAH). Elles consistent

à calculer le degré de divergence ou de similitude entre individus ou populations étudiées.

Les deux méthodes utilisent un tableau de contingence à double entrée où les lignes correspondent aux individus et les colonnes aux variables.

Analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP nous permet de mettre en évidence l'existence ou non d'une variabilité entre les populations étudiées. Le degré de ressemblance entre les individus est traduit par la proximité des points. Les individus ou les variables sont représentés par des nuages de points de l'espace pluridimensionnel et projetés sur un plan à deux dimensions.

L'analyse a été effectuée par le logiciel STATISTICA (version 5, 97). Dix (10) caractères ont été pris, dans le but de comparer les 6 populations:

- I: univalents,
- IIa, IIb : bivalents en anneaux et droits,
- III : trivalents,
- IVa, IVc : tétravalents en anneaux et en chaînes,
- V : pentavalents,
- VI : hexavalents,
- C : taux de chiasmas par cellule,
- B : nombre de chromosomes surnuméraires.

Classification ascendante hiérarchique (CAH)

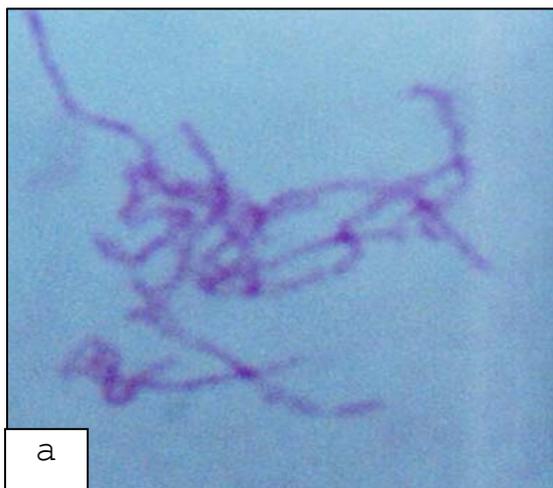
Cette méthode permet de distinguer les individus, populations ou variables sur la base de leur degré de similitude ou de divergence. En premier lieu, un coefficient de corrélation entre paires d'individus ou variables est calculé. Par la suite une matrice de corrélation est obtenue, au niveau de laquelle s'isole la paire d'individus ou de variables présentant le plus grand degré de corrélation. Les autres

paires sont isolées en groupements successifs par rapport à leurs corrélations graduellement faibles. Un dendrogramme est établi traduisant graphiquement les niveaux de hiérarchie les plus significatifs et mettant ainsi en évidence la discontinuité entre les groupes.

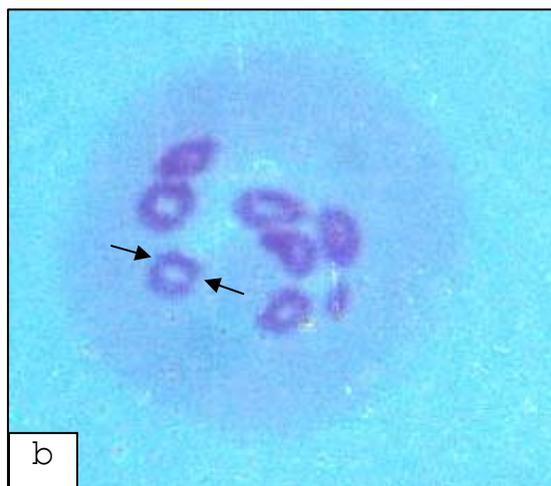
Notre analyse, a été effectuée par le logiciel STATISTICA (version 5, 97). L'indice de corrélation choisi dans notre cas est la distance euclidienne qui exprime le degré de divergence (dissimilitude) entre variables étudiées.

Résultats

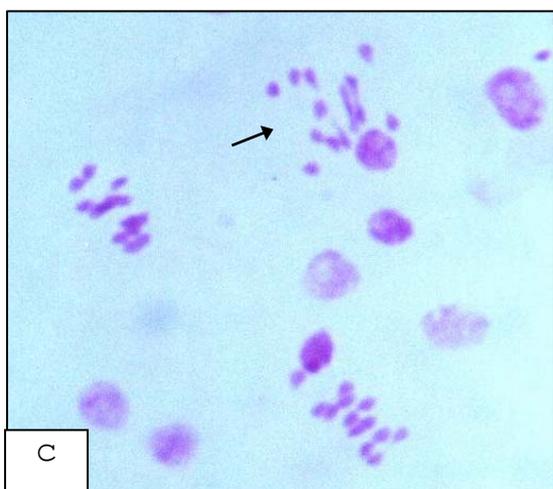
Planche I



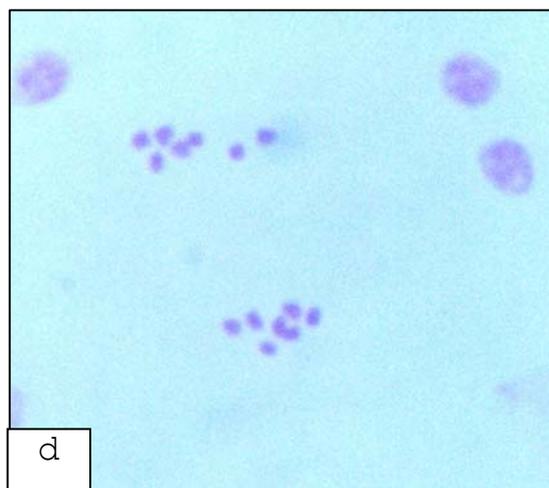
a



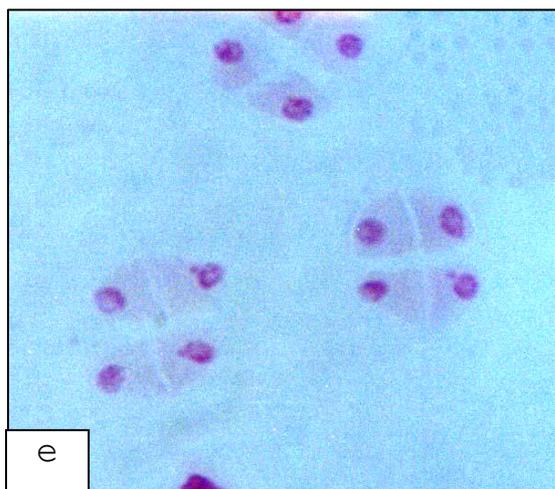
b



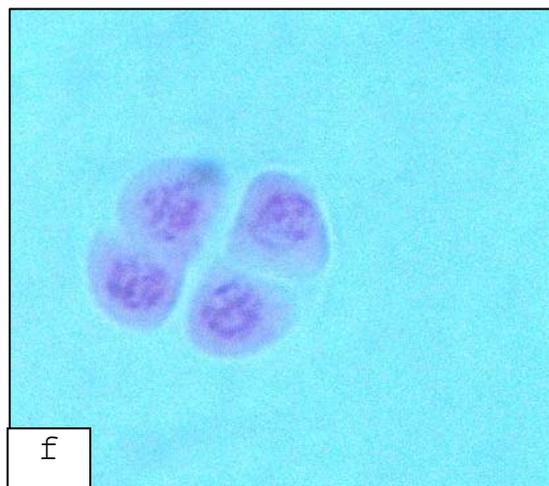
c



d



e



f

Configurations méiotiques du cytotype diploïde.

a. Stade prophase I

b. Stade diacinèse (prophase I): 7IIa + 1B (avec 2 chiasmata, flèches)

c. Cellules en métaphase I et cellule en début d'anaphase I (flèche)

d. Anaphase I régulière

e. Diades et f. Tétrade

Les graphes de la figure 6 traduisent la distribution moyenne des configurations méiotiques des populations diploïdes qui présentent des courbes unimodales. Dans l'ensemble les populations présentent des tendances à la formation des bivalents en anneaux avec des moyennes variant entre 4.16 et 5.3. La population de Berrouaghia montre par contre, une préférence pour les bivalents droits avec une moyenne de 4.5.

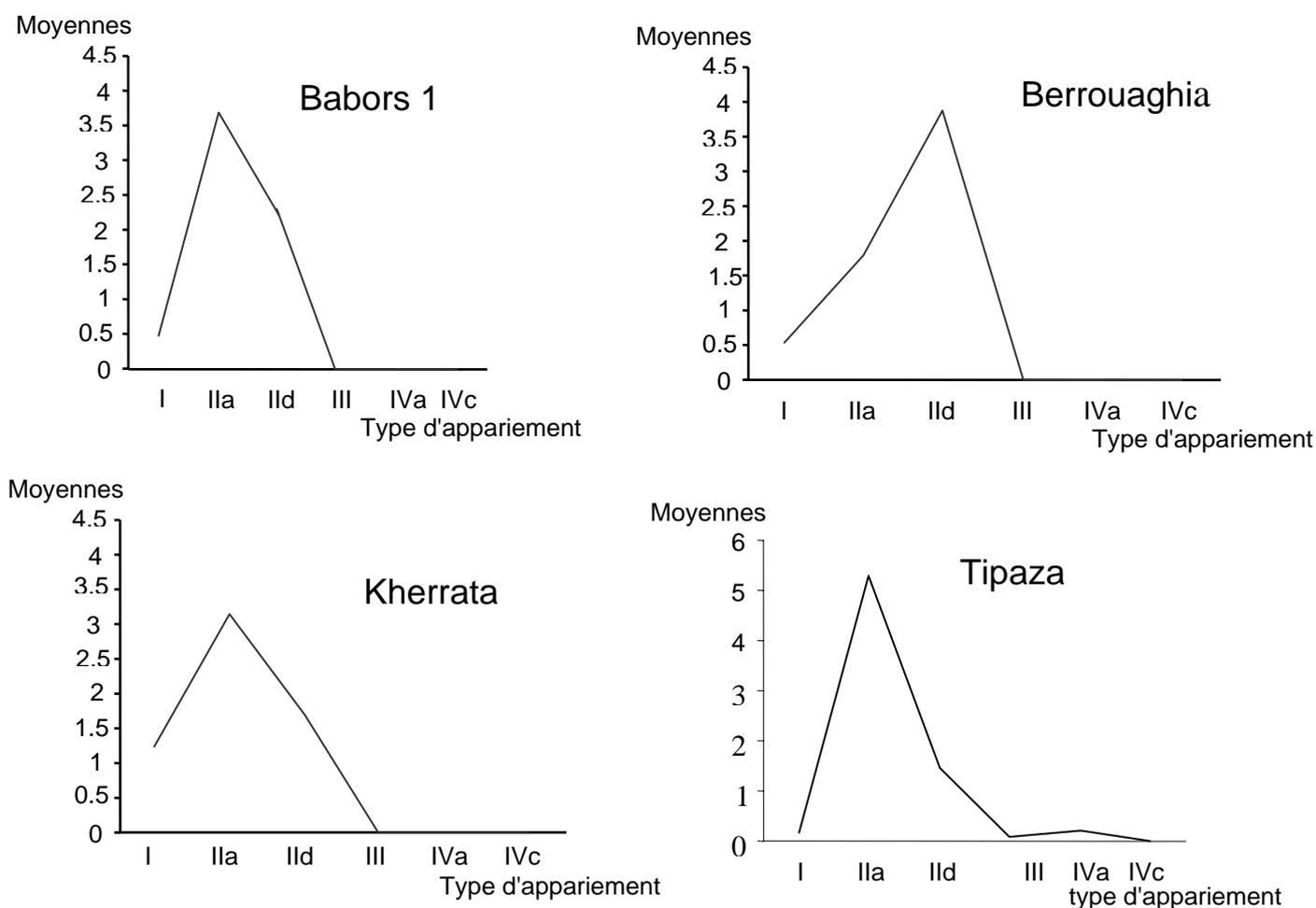


Figure 6. Distribution des différentes configurations méiotiques en fonction de leurs moyennes pour les populations diploïdes.

La présence d'univalents (planche II) a été notée chez toutes les populations: Babors1, Berrouaghia, Tipaza et Kherrata Dmaireiaiei. Cette dernière, montre la valeur la plus élevée soit 1.6 univalent par cellule.

Tipaza est la seule population chez laquelle nous avons observé des valeurs très faibles de multivalents avec 0.02 tétravalents et 0.07 trivalents (planche II). La formule méiotique du cytotype diploïde est de:

$$0.44I + 5.3II + 0.04III + 0.010IV + 2B.$$

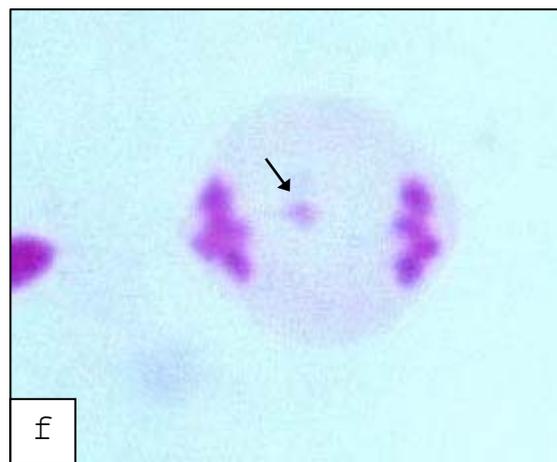
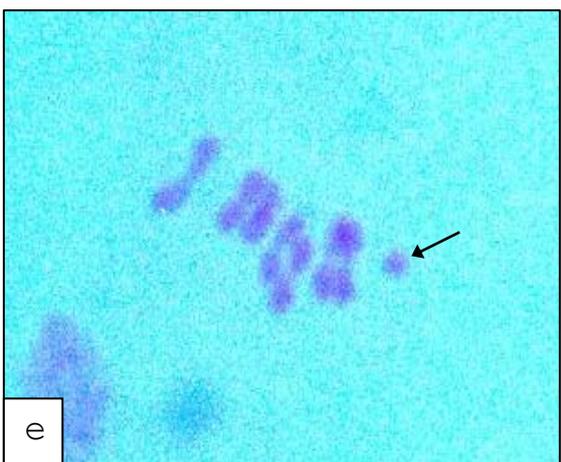
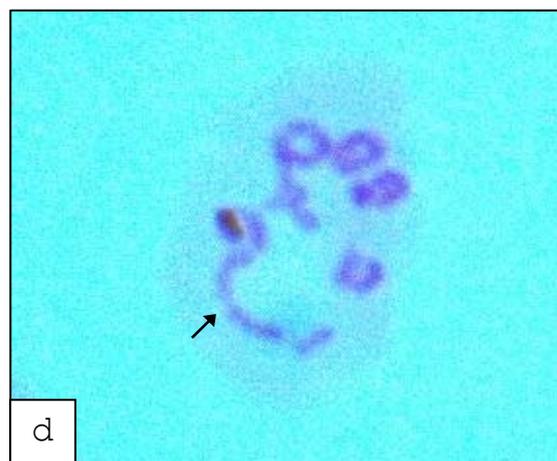
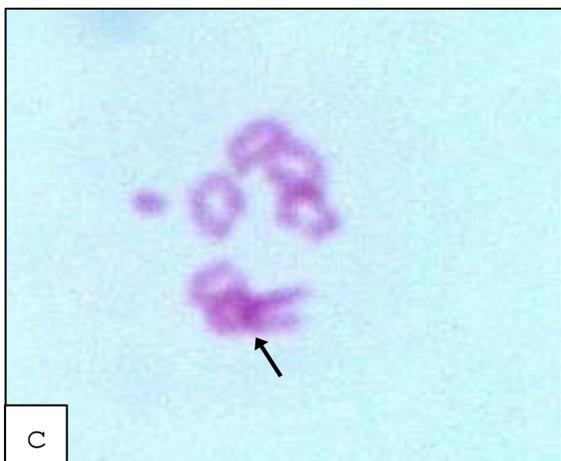
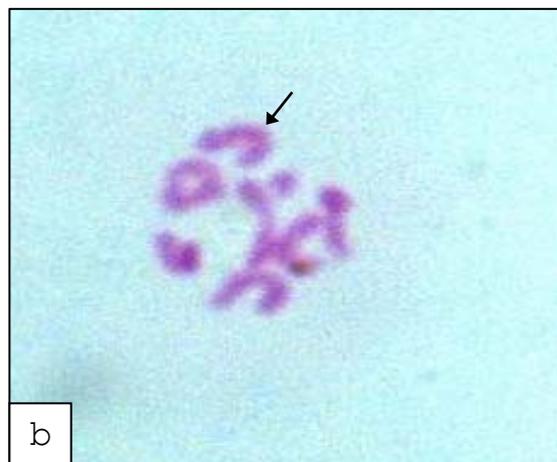
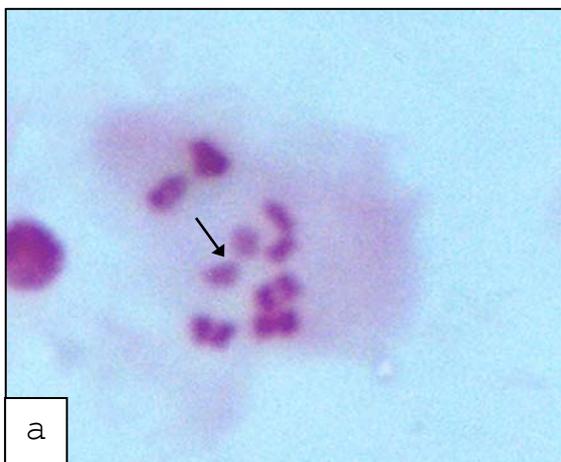
La moyenne des chiasmas par cellule des différentes populations varie de 8.68 (population de Berrouaghia) à 11.95 (population de Tipaza). Leur taux par bivalent diffère de 1.30 à 1.83 pour les mêmes populations (tableau IV).

Tableau IV. Moyenne des chiasmas par cellule et par bivalent des populations diploïdes.

Populations	Moyenne de chiasmas par cellule	Moyenne de chiasmas par bivalent
Babors1	10.82	1.59
Berrouaghia	8.68	1.30
Kherrata Dmairei	10.41	1.64
Tipaza	11.95	1.83

Des chromosomes B et retards (planche II) ont été observés au niveau de ce cytotype diploïde avec un nombre variant entre 1 et 2.

Planche II



Irrégularités méiotiques des populations diploïdes

a. Diacynèse (prophase I) avec deux univalents: $5IIa + 1IIId + 2I$.

b. Diacynèse (prophase I): $1IIa + 6IIId$.

c; d. Diacynèse (prophase I) avec tétravalents: $5II+1IV+1B$;
 $4IIa+1IIId+1IV+2B$.

e. Métaphase I avec chromosome B.

f. Anaphase I avec chromosome retard.

La distribution des configurations méiotiques des populations tétraploïdes de la figure 7 montre:

Une courbe unimodale pour Ziama avec une nette dominance de bivalents en anneau. Soixante cinq pour cent (65.29%) des cellules renferment des bivalents dont la moyenne est de 10.84. Babors2 par contre, fait apparaître une courbe bimodale avec un pique représentant le taux des bivalents en anneau (30% des cellules renferment des bivalents) et un second pique exprimant le taux de tétravalents en anneau (15%).

Les autres formes de multivalents confondus, trivalents, pentavalents et hexavalents, sont présents en faible pourcentage, 14.70% chez Ziama et 15% chez Babors2. Toutefois, 26.47% des cellules de Ziama et 40% de Babors2, possèdent des univalents.

La formule méiotique pour l'ensemble des populations tétraploïdes est de:

$$1.40I + 10.08II + 0.4III + 1.12IV + 0.07V + 0.03VI.$$

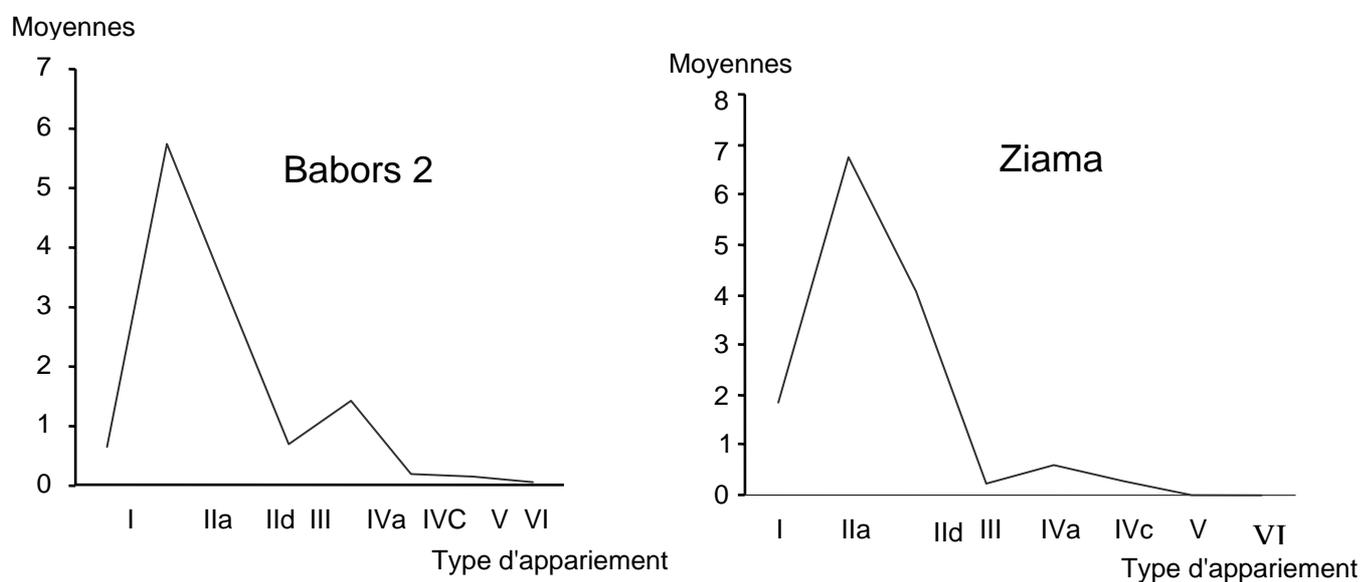
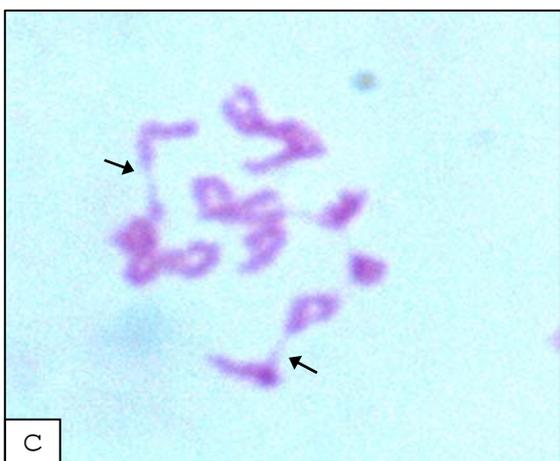


Figure 7. Distribution des différentes configurations méiotiques en fonction de leurs moyennes pour les populations tétraploïdes.

Planche III



Configurations méiotiques du cytotype tétraploïde.

a. Cellules en prophase I.

b. Fin de prophase I: 4IIa + 2IIId + 4IV

c. Début de diacinèse (prophase I) avec apparition de traînées:
2I + 6IIa + 3IIId + 2IV.

d. Diacinèse (prophase I): 4IIa + 1IIId + 2I + 4IV

e. Diacinèse (prophase I): 1IIa + 5IIId + 4 IV.

f. Metaphase I: 12IIa + 1IVa

Les moyennes de chiasmas sont de 21.47 à 23.1 par cellule et de 1.90 à 2.72 par bivalent (tableau V)

Tableau V. Moyenne des chiasmas par cellule et par bivalent chez les populations tétraploïdes.

Populations	Moyenne de chiasmas par cellule	Moyenne de chiasmas par bivalent
Babors2	23.1	2.72
Ziama	21.47	1.90

Corrélations de ces différents caractères

Afin de mettre en évidence les affinités entre les caractères, nous avons établi des coefficients de corrélation.

La figure 8a montre une corrélation positive chez les populations diploïdes, entre les caractères: Bivalent en anneau /chiasmas; Bivalent droit / chiasmas et chromosome B / chiasmas, dont les coefficients de corrélation sont respectivement: 0.832, 0.712 et 0.238, pour $p < 0.05$. Par contre la corrélation ne semble peu significative entre les univalents et les chromosomes B.

Chez les populations tétraploïdes, la corrélation est significative (figure 8b) pour les caractères: Bivalent en anneau /chiasmas; Bivalent droit / chiasmas et tétravalent en anneau / bivalent en anneau, avec des coefficients respectifs: 0.599, 0.864 et 0.467, au seuil de sécurité $p < 0.05$. Cependant, les caractères: Bivalent droit / tétravalent en chaîne et tétravalent en chaîne / chiasmas présentent des corrélations peu significatives.

En définitive, nous pourrions dire que l'ensemble des populations, diploïdes et tétraploïdes favorisent la formation de bivalents particulièrement en anneaux. Ces derniers semblent avoir une étroite relation avec les fréquences des chiasmas.

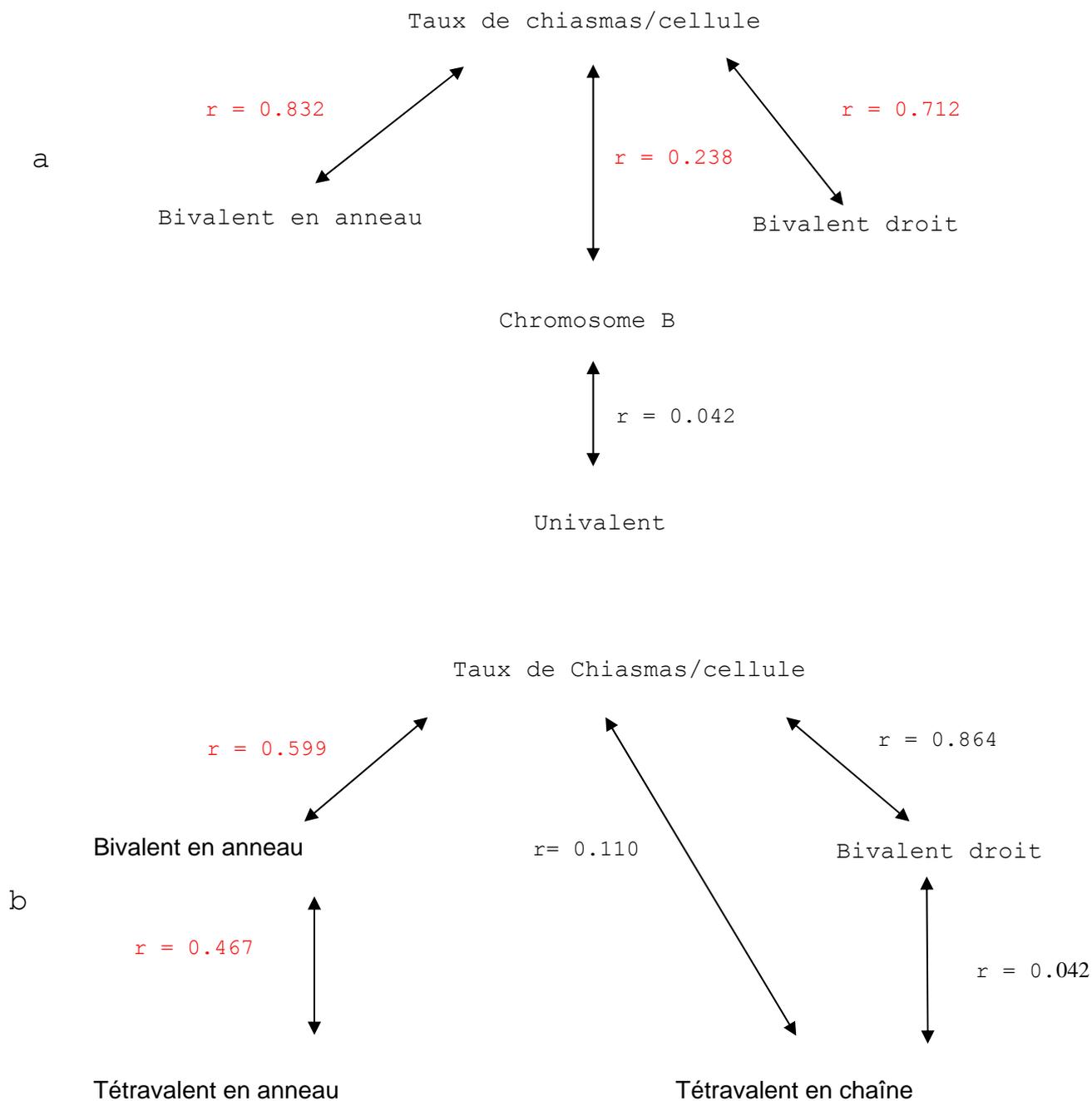


Figure 8. Coefficients de corrélation entre les caractères méiotiques chez les populations diploïdes (a) et tétraploïdes (b). La couleur rouge indique la corrélation significative pour $p < 0.05$

1.3. Analyses statistiques multivariées

1.3.1. L'analyse en composante principale (ACP)

L'analyse en composante principale ou ACP est généralement étudiée sur les premiers axes (annexe III). Les 3 premiers axes donnent 53.13% d'informations. L'axe 1, 2 et 3 donnent respectivement, 22,8, 19,04 et 11,29.

Bien que l'axe 1-2 (figure 9b) fournit en général le plus de d'information (41.32%), dans notre cas la distribution des individus selon l'axe 1-3 nous a permis une meilleure interprétation.

La figure 9a représente la répartition des individus selon l'axe 1-3. Deux nuages sont observés, l'un paraissant très homogène, étendue le long de l'axe 1, occupant les cotés positifs et négatifs de part et d'autre de l'origine. La majorité des points-individus sont localisés dans la partie négative de l'axe 3. Ce nuage correspond au cytotype diploïde déterminé par les caractères, bivalent en anneau et chromosome B (figure 10). Le deuxième nuage est hétérogène, il se disperse dans la partie positive de l'axe 3 et s'étend le long de l'axe 1. Les individus de ce deuxième nuage correspondent au cytotype tétraploïde. Ils semblent se distribuer selon les caractères, multivalent et bivalent droit (figure 10).

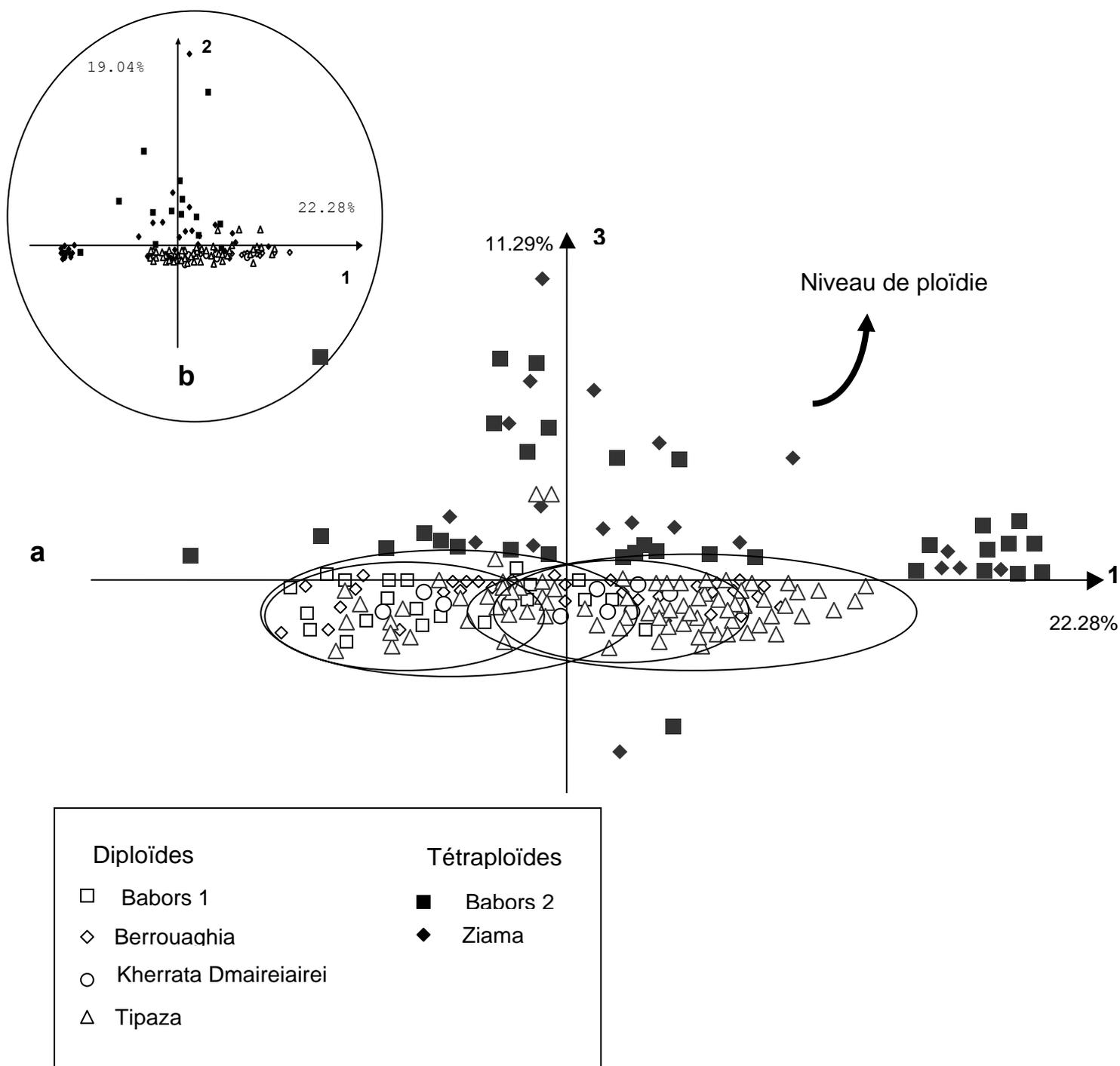


Figure 9. Répartition des individus des deux cytotypes selon l'axe 1-3 (a) et 1-2 (b) de l'ACP.

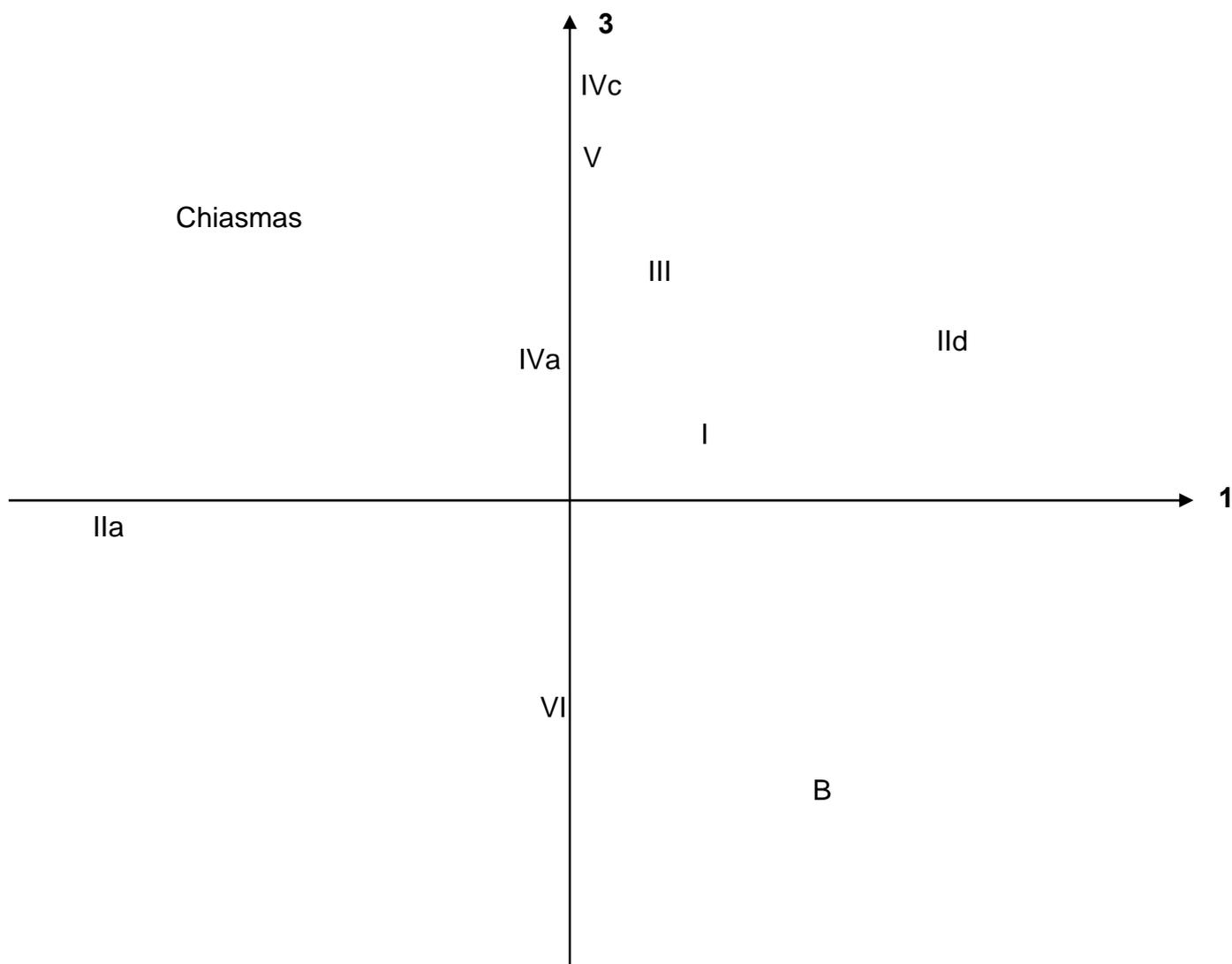
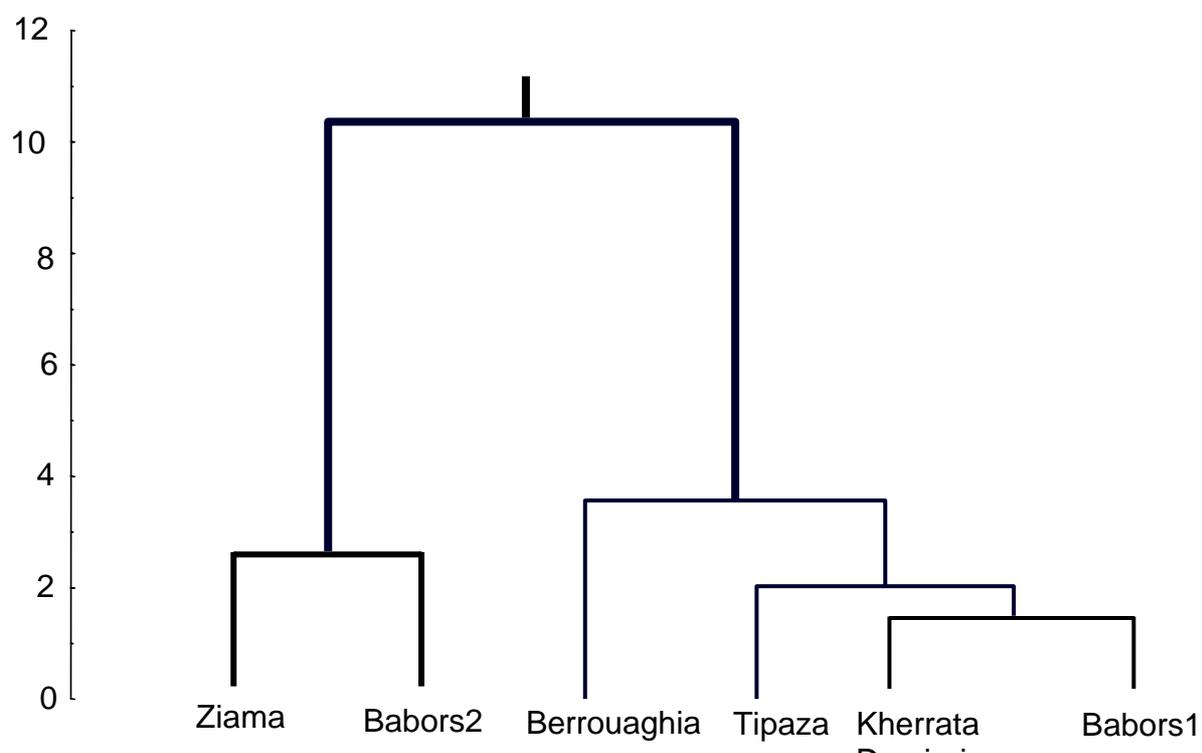


Figure 10. Représentation des caractères selon l'axe 1-3 de l'ACP.

1.3.2. La classification ascendante hiérarchique (CAH)

Le dendrogramme de la figure 11 distingue nettement deux groupes selon leur niveau de ploïdie. Le premier, regroupe les populations tétraploïdes de Ziama et Babors2 et le second, rassemble les populations diploïdes de Babors1 et Kherrata Dmairei ainsi que Tipaza et Berrouaghia. La répartition des populations concorde avec celle de l'Analyse en Composante Principale.



2. Biométrie du pollen

Figure 11. Dendrogramme des six (06) populations du dactyle construit à partir de la distance euclidienne.

Le grain de pollen ou gamétophyte mâle des angiospermes est un organisme haploïde bicellulaire ou tricellulaire. Il contient généralement deux gamètes et son diamètre varie entre 8 μ et 200 μ (Camefort, 1971).

Chez les Graminées notamment le dactyle, le grain de pollen est léger, de taille petite variant de 10 μ m à 25 μ m (Robert *et al.*, 1994) et sa dissémination est de type anémophile. Une fois émis hors de l'étamine, le gamète mâle protégé par l'exine est en vie ralentie. Sa durée de vie est généralement courte et son pouvoir germinatif ne persiste que quelques heures, 12 à 24 heures après l'émission (Gorenflot, 1997)

2.1. Taille du pollen

Les résultats biométriques des mesures du diamètre du pollen pour les individus diploïdes et tétraploïdes sont indiqués dans le tableau VI.

La taille moyenne du grain de pollen varie de 26.14 μ m à 30.14 μ m pour les diploïdes et de 31.58 μ m à 32.76 μ m pour les tétraploïdes (tableau VI).

Tableau VI. Paramètres statistiques de la taille du pollen et pourcentages du pollen diploïde pour les individus diploïdes.

Populations	N° ind	Niveau de ploïdie	X μm	σ μm	IC	CV	% Pollen 2n
Berrouaghia	072	14	27.19	3.21	27.19±0.336	0.118	0.25
Lakhdaria	087	14	27.27	1.89	27.27±0.269	0.069	0
	088		30.08	3.88	30.08±0.369	0.129	3
	091		29.97	2.95	29.97±0.269	0.098	0.5
Ténès	062	14	30.14	2.27	30.14±0.589	0.075	0.25
Tipaza	251	14	26.14	3.34	26.14±0.678	0.128	1.5
	252		28.09	2.43	28.09±0.236	0.086	0
Ziama	004	28	31.58	2.51	31.58±0.678	0.079	0
	009		32.76	2.89	32.76±0.678	0.088	0
	220		32.45	2.31	32.45±0.678	0.071	0
Kherrata	039	28	32.69	3.29	32.69±0.678	0.100	0

La représentation graphique du diamètre du pollen en fonction des fréquences pour toutes populations confondues montre une courbe bimodale (figure 12) avec apparition de deux pics. L'allure générale de la courbe indique une hétérogénéité de la taille du pollen entre les populations.

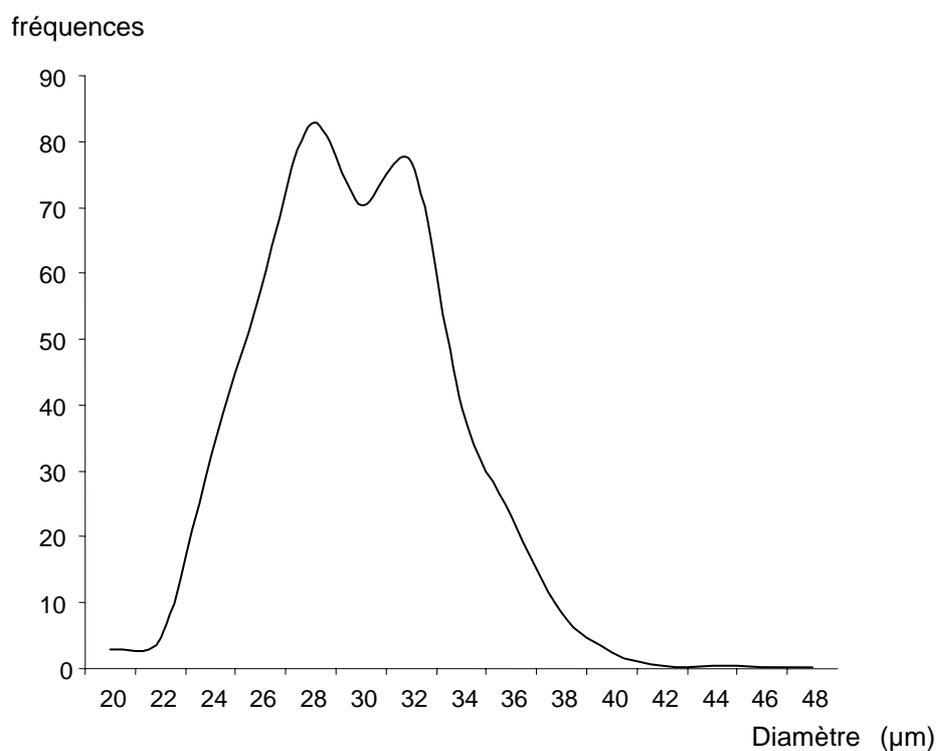


Figure 12. Distribution des fréquences de la taille du pollen chez les populations du dactyle.

L'établissement des courbes exprimant la distribution des fréquences de la taille du pollen chez les deux cytotypes (figures 13, 14) montrent une distribution normale unimodale avec cependant l'apparition de points d'inflexion chez certains individus diploïdes. La figure 13 montre que la taille varie entre 20µm et 48µm pour les diploïdes.

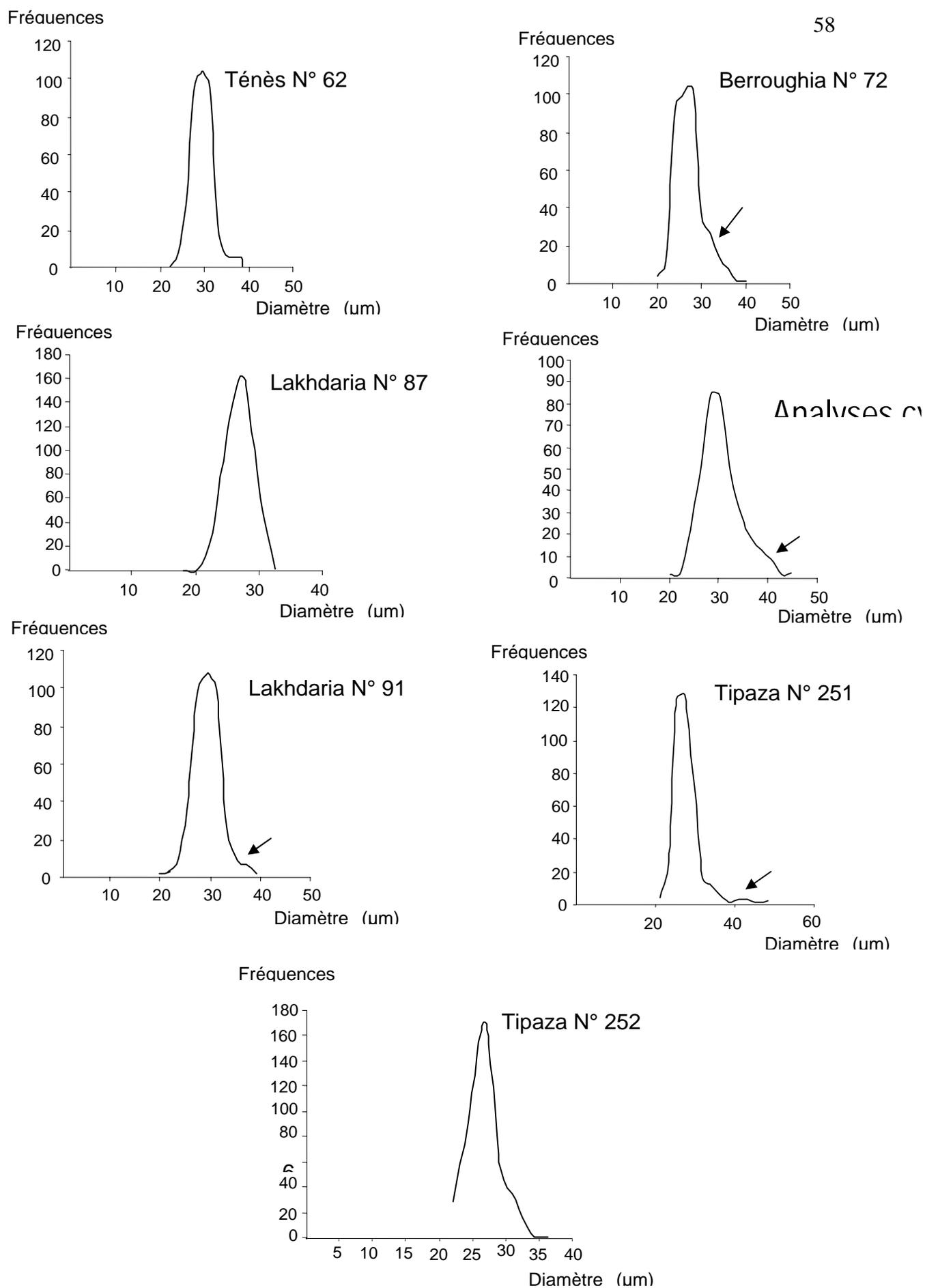


Figure 13. Distribution des fréquences de la taille du pollen chez les diploïdes.

La figure 14 donne pour les tétraploïdes une taille variant entre 22 μ m et 48 μ m

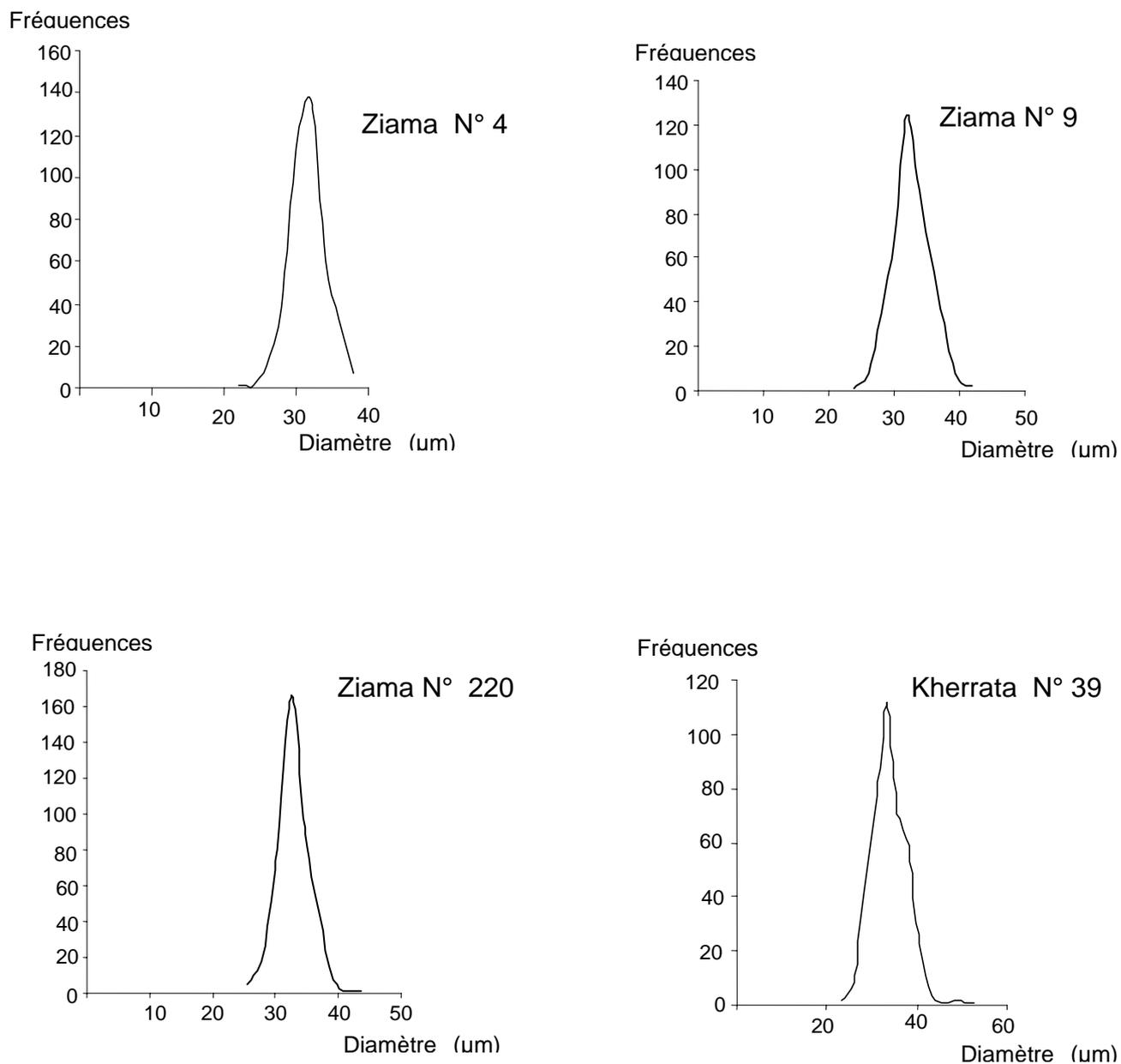


Figure 14. Distribution des fréquences de la taille du pollen chez les tétraploïdes.

Les coefficients de variation établis montrent une variation du diamètre du pollen d'une population à l'autre, notamment chez le cytotype diploïde. En effet, certains individus présentent des coefficients de variation notables, allant de 11.8% à 12.9%. Ces valeurs traduisent une variabilité interpopulation.

Les intervalles de confiance de la figure 15 confirment cette variabilité et indiquent la présence d'une variabilité intrapopulation, notamment pour la population de Lakhdaria où l'individu 87 présente une différence nettement significative avec les deux autres individus (88 et 91). Les individus de Tipaza 251 et 252 présentent une différence nettement significative entre eux et avec l'individu de Berrouaghia 72.

L'étude des intervalles de confiance montre que les deux cytotypes sont nettement différenciés sur la base du critère taille du pollen.

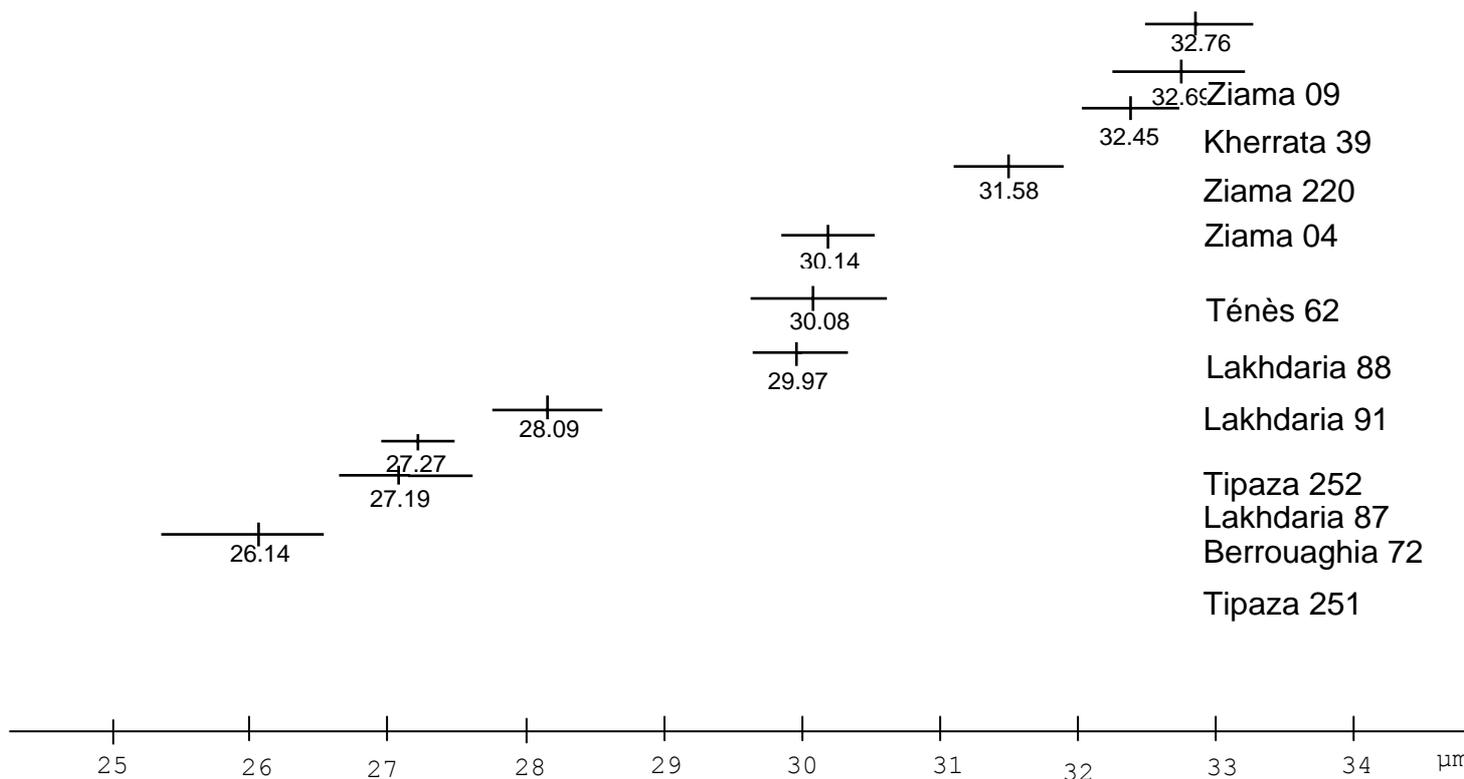


Figure 15. Intervalles de confiance des deux cytotypes.

2.2. Recherche des individus diploïdes produisant du diplo-pollen

Les résultats obtenus à partir des coefficients de variation et des intervalles de confiance, nous ont incité à observer de plus près la taille du pollen chez ces individus. Une variabilité importante est mise en évidence entre les populations avec des différences intra et inter populations.

Ce fait est du à la présence de deux types de pollen, l'un de petite taille et l'autre de plus grande taille (figure 16). Nous avons procédé au calcul du pourcentage du pollen dont le diamètre est supérieur à 38 μm (tableau VI). Ce calcul a été réalisé à partir des fréquences absolues.

Les différents auteurs (Maceira, 1990; Falistocco *et al.*, 1994; Falistocco *et al.*, 1995) considèrent qu'un pollen d'une taille supérieure à 37-38 μm est un pollen «anormal» ou encore un pollen diploïde.

Le tableau VI montre que ce diplopollen est produit en quantité réduite (29 grains de pollen sur 2800) avec des pourcentages allant de 0.25% à 3%. Les individus producteurs de pollen non réduits sont: Tipaza 251, Berrouaghia 71, Ténès 62 et Lakhdaria 91 et Lakhdaria 88. Ce dernier serait le plus grand producteur avec un pourcentage de 3%.



Figure 16. Micrographie du pollen du cytotypage diploïde. La flèche indique un pollen de grande taille.

Discussion

1. Différenciation des populations et configurations méiotiques

Populations diploïdes.

L'étude des méioses a révélé une prédominance des bivalents en anneaux (6.71) pour l'ensemble des populations à l'exception de Berrouaghia qui montre des bivalents droits.

Les taux de chiasmas varient de 8.68 à 11.95. Guignard (1980), Amirouche (1987), Lumaret (1988), mentionnent des valeurs similaires pour les bivalents par contre Amirouche (1987) rapporte des valeurs plus élevées, 12.67 et 13.50 pour les échantillons algériens de Tikjda et de Larhat. Les plus faibles valeurs, 9.60 et 10.32, ont été mentionnées par Jones (1962) pour la sous espèce *santai*. Des moyennes aussi faibles, 8.60, ont été mentionnées par Zarchi *et al.*, (1972) chez le blé (*Triticum speltoides*).

Shah (1964) estime que la baisse de la fréquence des chiasmas serait à l'origine d'une augmentation du taux des univalents. Le même auteur note qu'une augmentation du taux des chiasmas traduit une grande régularité des méioses.

En effet, les populations de Berrouaghia et Kherrata Dmairei qui présentent des taux remarquables d'univalents, 0.63 et 1.60 sont celles qui ont des taux de chiasmas assez faibles, 8.68 et 10.41 respectivement.

Gorenflot et Raicu (1980) et Jackson (1984) ont noté que la baisse de la fréquence des chiasmas serait liée aux chromosomes B. Ces derniers résulteraient de variations structurales comme des délétions, translocations, inversions ou autres, au niveau des autosomes. Ils semblent déterminer une importante variabilité au sein des populations. En fait, ils auraient tendance à réduire le taux des chiasmas et à favoriser la formation des univalents. Selon Jackson et Casey (1982) et Jackson (1984) la présence des univalents serait causée par des gènes situés au niveau des chromosomes B.

Les chromosomes B sont présents chez toutes les populations étudiées avec un nombre allant de 1 à 2. Leur présence, chez *Dactylis glomerata* a été mentionnée par plusieurs auteurs, Jones (1962), Lumaret (1988), Lumaret et al., (1992), Amirouche (1987); Maceira (1990), Maceira et al., (1992).

Le taux de chiasmas est également fonction du taux des bivalents en anneaux et droits. Guignard (1980) a noté qu'un taux important de bivalents en anneau induirait une augmentation dans le taux de chiasmas. Par contre une moyenne élevée en bivalents droits serait à l'origine d'une diminution dans le taux chiasmique. En effet, la plus grande fréquence de chiasmas de nos échantillons, a été trouvée chez Tipaza, 11.95 avec le taux le plus élevé de bivalents en anneau, 5.29. Berrouaghia présente la plus faible moyenne de chiasmas, 8.68 et le plus fort taux de bivalents droits, 4.5.

Les multivalents sont en général absents chez les diploïdes, toutefois nous avons noté des taux de 0.07 de trivalents et 0.02 de tétravalents chez de la population de Tipaza. Aissat et Aït Ouferoukh (2004) signalent le même phénomène chez la même population avec 0.055 trivalents et 0.095 tétravalents.

Ces multivalents seraient une conséquence des intenses remaniements entre cytotypes diploïdes et tétraploïdes au niveau de la zone de Tipaza. Il serait très probable que nos échantillons sont le résultat d'une hybridation. Ces derniers se produisent fréquemment dans la nature (Lumaret, 1988; Thompson et Lumaret, 1992).

Les résultats méiotiques ont montré que les populations diploïdes se différencient en deux ensembles, les populations de Babors1 et Kherrata Dmairei d'une part et Tipaza et Berrouaghia d'une autre part. Babors1 et Kherrata Dmairei sont proches géographiquement et montrent un comportement similaire avec le même taux de bivalents en anneaux. Berrouaghia et

Tipaza adoptent un comportement différent entre elles et par rapport aux autres. Il semblerait donc que chaque entité du dactyle algérien tend à s'équilibrer en développant des mécanismes spécifiques.

Les populations tétraploïdes

La méiose des deux populations étudiées est régulière où 65.29% des cellules présentent en moyenne 10.08 bivalents. La moyenne des tétravalents varie entre 0.76 et 1.6, tandis que les taux de chiasmas varient de 21.47 à 23.10.

Amirouche (1987), cite 1.4 et 2.57 de tétravalents pour les populations algériennes de Marsa, Gouaraya, Ténès et Senalba. Doroszevska (1963) note des valeurs entre 1.9 et 2.4 tétravalents chez les individus tétraploïdes de la sous espèce *woronowii*. Lumaret (1988) indique 2.5 et 3.8 pour les sous espèces, *glomerata*, *hispanica* et *marina*. Les moyennes de tétravalents observées chez nos échantillons sont légèrement inférieures à celles signalées par les auteurs. Cependant, les taux de chiasmas sont similaires à ceux rapportées par Amirouche (1987) et qui sont de 22.64 à 23.60 et par Jones (1962) qui mentionne 22.83 chez la sous espèce *glomerata* et 23.53 pour la sous espèce *hispanica*.

Par ailleurs, nos observations ont révélé 1.4 univalents. Ce résultat est appréciable pour des populations naturelles. Cette présence des univalents serait en relation avec la diminution de la moyenne de tétravalents chez les tétraploïdes (Mc Collum, 1958). D'autre part, la diminution des taux de tétravalents suivie par une diminution de la fréquence des chiasmas provoque une augmentation de la fréquence des bivalents en anneaux. Ceci est dû à des affinités particulières entre chromosomes appelées *appariements préférentiels* (Jackson, 1984; Sybenga, 1975, 1984).

Selon Sybenga (1975), la position distale des chiasmas est un facteur favorisant l'augmentation du taux des bivalents en anneaux. Lavania (1995), note que l'emplacement des chiasmas dans la partie terminale Chez les tétravalents pourrait mener à une cassure à ce niveau. Par conséquent, deux bivalents droits pourraient se former et par la suite ils se lieraient en bivalents en anneaux. Ceci pourrait expliquer les grandes proportions de bivalents en anneaux retrouvées chez nos échantillons.

Bien que les analyses multivariés (ACP et CAH) montrent une nette divergence entre les deux cytotypes en fonction de leur niveau de ploïdie. Une certaine homogénéité apparaît dans leurs comportements méiotiques. Les chromosomes chez les diploïdes s'apparient habituellement en bivalents, alors que les tétraploïdes tendent à revenir à l'état diploïde, en favorisant un appariement en bivalents. La diploïdisation des polyploïdes est très souvent citée par les auteurs (Bretagnolle *et al.*, 1998; Soltis et Soltis, 2000; Wendel, 2000; Jenczewski et Alix, 2004)

2. Pollen diploïde et polyploïdisation

L'étude de la taille du pollen chez le dactyle algérien nous a permis de montrer l'existence de pollen de grande taille chez le cytotype diploïde dont le diamètre varie de 20 à 48 μ m.

Falistocco *et al.*, (1994) notent que la moyenne du diamètre du pollen varie entre 29 μ m et 33.1 μ m chez la sous espèce diploïde *lusitanica*. Sur la base du calcul du coefficient de variation, ils ont considéré que les individus producteurs de pollen hétérogène sont ceux qui présentent des coefficients de variation allant de 12% à 15%.

Maceira (1990) et Maceira et al., (1992) ont subdivisé les sous espèces diploïdes du complexe *Dactylis glomerata* en deux groupes: *himalayensis*, *lusitanica* et *parthiana*, pour le premier groupe produisant du pollen de petite taille dont la limite supérieure est de 33 µm; et *aschersoniana*, *juncinella*, «type galicien» caractérisés par du pollen de grande taille dont la taille limite supérieure est de 37 µm. Le pollen de ce second groupe est le plus fréquent. D'autre part, Wagenvoort et al., (1992) estiment que le diplopollen chez *Lolium perenne* est celui dont le diamètre est supérieur à 38.5µm.

Sur la base de ces recherches (diamètre et coefficients de variation) nous pouvons dire que le pollen ayant un diamètre variant entre 40 et 48µm serait du diplopollen. Par conséquent, sur les 2800 grains de pollen mesurés 29 sont diploïdes. Ceci expliquerait les points d'inflexion apparus chez certains individus. Cependant, cette production de pollen non réduit reste faible. (Lumaret, 1988) mentionne cette faible production comme un phénomène normal et serait probablement influencée par les facteurs de l'environnement ou par des facteurs génétiques (Maceira et al., 1992). De ce fait la polyploidisation par voie sexuelle existe mais demeure réduite.

2. Relation méiose - diplopollen

Le mécanisme de la formation du pollen diploïde chez le genre *Dactylis* a fait l'objet de plusieurs recherches se basant particulièrement sur le déroulement de la méiose et la présence d'irrégularités méiotiques chez les individus impliqués.

L'analyse du comportement méiotique effectuée a mis en évidence deux populations diploïdes présentant des irrégularités méiotiques, les populations de Berrouaghia et de Tipaza. Elles présentent des univalents, des chromosomes retardataires et B. Ces résultats peuvent être rapportés aux fréquences de pollen non réduit (0.25% à 3%) signalées chez

ces deux populations. En effet, Lumaret *et al.*, 1992; Maceira, 1990; Maceira *et al.*, 1992, signalent que la présence de chromosomes retardataires ainsi que celle des univalents au cours de la diacinèse ou métaphase I pourrait induire la formation de diplopollen (figure 17).

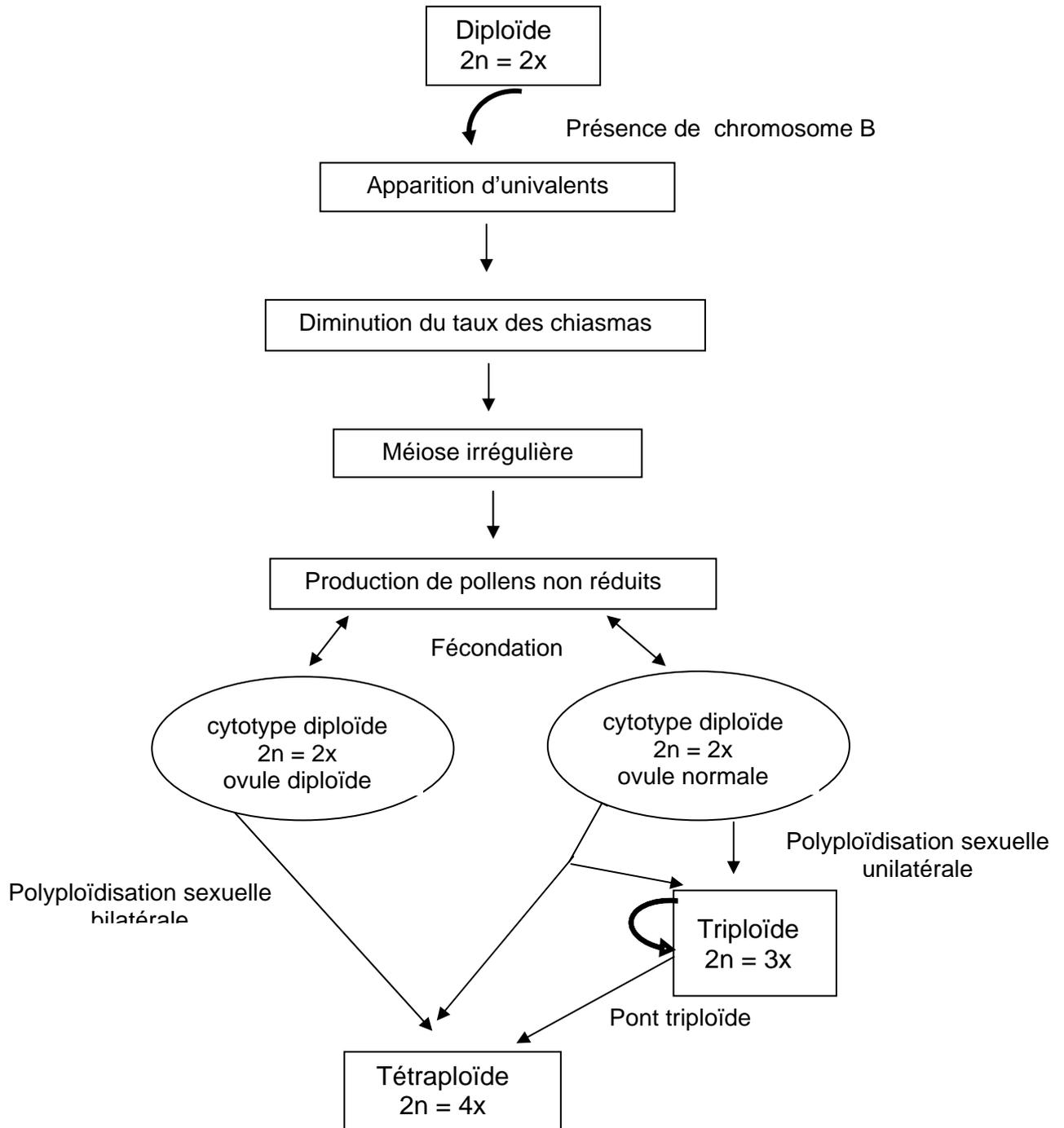


Figure 17. Schéma résumant l'origine de la polyploïdie par voie sexuée (diplogamètes)

Conclusion générale

Ce travail est consacré à la caractérisation des populations diploïdes et tétraploïdes de *Dactylis glomerata* par leur comportement méiotique et par des analyses biométriques du pollen en vue de rechercher le diplopollen.

Ces études portent sur des échantillons de différentes origines bioclimatiques: des Monts Babors (Babors 1, Babors 2), les gorges de Kherrata (Kherrata Dmairei, Kherrata) et de Lakhdaria à Ziama, Berrouaghia, Ténès et Tipaza.

L'analyse globale multivariée, prenant comme variables les différentes associations chromosomiques de la diacinèse et de la métaphase I, a montré une forte ségrégation entre les deux cytotypes diploïde et tétraploïde.

Le cytotype diploïde constitue un groupe d'individus restreint. Le deuxième ensemble est plus large, il renferme les individus des deux populations tétraploïdes de Ziama et Babors 2.

L'analyse cytogénétique des diploïdes montre un taux moyen de bivalents en anneaux variant entre 4.10 et 6.71 tandis que celui des bivalents droits est de 1.40 à 2.54. La population de Berrouaghia se distingue par un nombre moyen élevé de bivalents droits (4.5) et par conséquent un nombre de chiasmas par cellule relativement faible (8.68).

Par contre, La population de Tipaza montre, de façon inattendue chez un diploïde, une présence de multivalents (trivalents et tétravalents) et donc un nombre de chiasmas élevé (11.95).

Une corrélation significative a été noté entre les bivalents, en anneaux et droits et les taux de chiasmas.

Le nombre moyen des univalents est remarquable et varie de 0.15 à 1.60 par cellule.

La présence des chromosomes surnuméraires (chromosomes B) est attestée chez les populations diploïdes. Leur nombre est de 1 ou 2. Leur existence influe sur les taux de chiasmas en augmentant le taux des univalents. Ils semblent porter des gènes ayant un effet sur l'appariement chromosomique (Zarchi *et al.*, 1972, Jackson, 1984). Une corrélation peu significative entre les taux de chiasmas et les chromosomes B a été notée.

Chez les tétraploïdes, le comportement méiotique est plus homogène. Le nombre moyen des bivalents est de 10.08. La fréquence moyenne des univalents chez les populations tétraploïdes est de 1.4 par cellule. Les tétravalents représentent la forme la plus courante avec néanmoins une valeur moyenne plus ou moins faibles de 1.12 tétravalents.

La présence de multivalents chez les tétraploïdes, va dans le sens de l'hypothèse de l'origine par autopolyploïdie (Lumaret *et al.*, 1989). L'appariement préférentiel des chromosomes en bivalents, taux relativement élevé pour un autotétraploïde, indiquerait la manifestation du phénomène de diploïdisation (Bretagnolle *et al.*, 1998; Soltis et Soltis, 2000; Wendel, 2000; Jenczewski et Alix, 2004).

L'étude biométrique du pollen montre un diamètre moyen de $28.41 \pm 0.107 \mu\text{m}$ chez les diploïdes; il est de $32.37 \pm 0.132 \mu\text{m}$ chez les tétraploïdes. La variabilité intra et inter-population n'est importante que chez les populations diploïdes. L'observation de pollen supérieur à $38 \mu\text{m}$ est l'indication de diplopollen selon les normes admaireises par les spécialistes (Maceira, 1990; Maceira *et al.*, 1992; Falistocco *et al.*, 1994). Les taux de ces $2n$ -pollens chez les diploïdes représentent entre 0.25% et 3% des observations. Les individus producteurs de pollen non réduit proviennent de Lakhdaria (88 et 91), de Ténès (62), de Berrouaghia (72) et de Tipaza (251).

Si une certaine homogénéité est apparente chez les tétraploïdes qui s'expliquerait par un régime de reproduction essentiellement allogame, nos résultats montrent en revanche, une différenciation remarquable entre les populations diploïdes. Cette différenciation porte à la fois sur l'apparition d'univalents et surtout de multivalents rares chez les diploïdes, mais aussi sur la taille du pollen. Parmi ces populations, celles de Berrouaghia d'un côté et celle de Tipaza d'un autre côté, se singularisent.

Des analyses plus approfondies basées sur des techniques cytogénétiques telles que le Banding, l'hybridation in situ et autres marqueurs moléculaires devraient permettre de cerner la différenciation des génomes diploïdes ainsi que l'origine et la nature des tétraploïdes.

Références bibliographiques

- Abdi N., 1998. Etude cytogénétique du genre *Dactylis* L. Analyse de populations sympatriques de l'Est Algérois. Mémoire de DES. ISN. USTHB. 30p.
- Aissat S. & Aït Ouferroukh N., 2004. Etude de la méiose de deux populations du *Dactylis glomerata* L. Mémoire de DES. FSB. USTHB. 30p.
- Amirouche N., 1987. Contribution à l'étude biosystématique du genre *Dactylis* en Algérie. Thèse de magister ISN. USTHB. 172p.
- Amirouche N., 1988. Recherche biosystématique sur le genre *Dactylis* L. *Ann. Inst. Nat. Agro.* (El-Harrach, Alger), 12 (1): 159-177.
- Ardouin P; Jay M. & Lumaret R., 1987. Etude d'une situation de sympatrie entre diploïdes et tétraploïdes de *Dactylis glomerata* L. sur la base du polymorphisme enzymatique et phénolique. *Can. J. Bot.*, 65: 526.
- Baumel A., 2001. Contexte phylogénétique et conséquences génomiques de l'hybridation et de la polyploïdie: Les enseignements d'une jeune espèce, *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poacées). Thèse de Doctorat. Univ. Rennes1. France. 166p.
- Bayer R.J., 1999. New perspectives into the evolution of polyploid complexes. In L.W.D. Van Raamsdonk & J.C.M. DEN Nijs (Eds.). *Plant Evolution Man-Made Habitats. Proc VIIth. Symp.* I.O.P.B. Amsterdam. pp 359-373.
- Bretagnolle F; Felber F; Calame G.F. & Küpfer P., 1998. La polyploïdie chez les plantes. *Bot. Helv.*, 108: 5-37.
- Bidault M., 1971. Variation et spéciation chez les végétaux supérieurs. Notions fondamentales de systématique moderne. Ed. Doin, Paris. 145p.

- Borrill M., 1978. Evolution and genetic resources in cocksfoot. *Ann. Rep. Welsh Plant Breeding Station*. pp. 190-209.
- Brubaker C.L; Paterson A.H. & Wendel J.F., 1999. Comparative genetic mapping of allotetraploid cotton and its diploid progenitors. *Genome*, 42: 184-203.
- Camefort H. & Boué C., 1994. Reproduction et biologie des végétaux supérieurs: Bryophytes, Ptéridophytes, Spermaphytes. Ed. Doin. Paris. 436p.
- Carputo D; Frusciante L. & Peloquin S.J., 2003. The role of 2n gametes and Endosperm Balance Number in the origin and evolution of polyploids in the tuber-bearing *Solanums*. *Genetics*, 163:287-294.
- Chen C; Sleper D.A; Chao S; Johal G.S. & West C.P., 1997. RFLP detection of 2n pollen formation by first and second division restitution in perennial Rygrass. *Crop Sci*, 37: 76-80.
- Doroszevska A., 1963. An investigation on the diploid and tetraploid forms of *Dactylis glomerata* ssp. *Woronowii*. *Act. Bot. Bohem.*, 14: 3-147.
- Doyle J.J; Doyle J.L; Rauscher J.T. & Brown A. H., 2003. Diploid and polyploid reticulate evolution throughout the history of perennial soybeans (*Glycine* subgenus *Glycine*). *New phytol.*, 161: 121-132.
- Falistooco E; Càceres M.E. & Falcinelli M., 1994. Meiotic mechanism of 2n pollen formation in *Dactylis glomerata* subsp. *lusitanica*. *J. Genet & Breed.*, 48:41-45.
- Falistooco E; Tosti N. & Falcinelli M., 1995. Cytomyxis in Pollen Mother Cell of Diploid *Dactylis*, one of Origin of 2n Gametes. *J of heredity*, 86:448-453.
- Gorenflot R & Raicu P., 1980. Cytogénétique et évolution. Ed. Masson. Paris. 198p
- Gorenflot R., 1997. Biologie végétale. Plante supérieures: appareil reproducteur. 4^e Ed Masson. Paris. pp. 100-101.

- Grant V., 1981. Plant speciation. Columbia Univ. Press, New York.
- Grishchuk A.L. & Kohli J., 2003. Five RecA-like Proteins of *Schizosaccharomyces pombe* are involved in meiotic recombination. *Genetics*, 165, 1031-1
- Guignard G., 1980. Contribution à l'étude du genre *Dactylis* dans le massif armoricain. Thèse 3ème Cycle. Rennes.169p
- Hamrani L., 1997. Comportement méiotique de populations expérimentales de *Dactylis glomerata* L. Mémoire de DES. ISN. USTHB. 33p.
- Harlan J.R. & De Wet J.M., 1975. The origins of polyploidy. *Bot. Rev.*, 41: 361-390.
- Henry Y. & De buyser J., 2000. L'origine des blés. *Pour la science*, hors série, 26: 60-62.
- Husband B.C. & Saraba H.A., 2003. Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid pogenitors in fire weed, *Chamerion angustifolium* (Onagraceae) *New phytol.*,161: 703-713.
- Husband B.C. & Shmeske D.W., 2000. Ecological mechanisms of reproductive isolation between diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium*. *J. of Ecology*, 88: 689-701.
- Jackson R.C. & Casey J., 1982. Cytogenetic analysis of autopolyploids: models & methods for triploids to octoploids. *Am. J. of Botany*, 69 (4): 487-501.
- Jackson R.C., 1984. Chromosome pairing in species and hybrids. *in* Grant W.(ed.): *Plant systematics*. pp
- Jahier J; Chevre A.M; Delourme R; Eber F.S. & Tanguy A.M., 1992. Techniques de cytogénétique végétale. Ed. INRA Paris. 184p.
- Jenczewski E. & Alix K., 2004. From diploids to allopolyploids: The emergence of efficient pairing control genes in plant. *Crit. Rev. of Plant Sciences*, 32 (1): 21-45.

- Jones K., 1962. Chromosomal status, gene exchange and evolution in *Dactylis*. 2. The chromosomal analysis of diploid, tetraploid and hexaploid species and hybrids. *Genetica*, 32: 272-295.
- Kashkush K; Feldmaireien M. & Levy A.A., 2002. Gene loss, silencing and activation in a newly synthesized wheat allotetraploid. *Genetics*, 160: 1651-1659.
- Lamotte. M, 1971. Initiation aux méthodes statistiques en biologie. 2ème Ed. Masson & Cie.144p.
- Lavana U.C., 1995. Genesis of high bivalent pairing in autotetraploids and autotriploids and reduction in bound arm associations over generations in Brandham P.E. & Bennett M. D. *Kew chromosome conference IV* pp. 397-406.
- Leitch L.J. & Bennett M.D., 1997. Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Science*, 2 (12): 470-475.
- Levy A.A. & Feldmaireian M., 2002. Up date on polyploid. The impact of polyploidy on grass genome evolution. *Plant physiol.*, 130:1587-1593.
- Lumaret R., 1988. Cytology, genetics and evolution in the genus *Dactylis*. *Crit. Rev. in Plant Sciences*, 7 (1): 55-91.
- Lumaret R; Bowman C.M. & Dyer T.A., 1989. Autopolyploidy in *Dactylis glomerata* L. : Further evidence from studies of chloroplast DNA variation. *Theor. Appl. Genet.*, 78: 393-399.
- Lumaret R; Bretagnolle F. & Maceira OM., 1992. 2n gamete frequency and bilateral polyploidisation in *Dactylis glomerata* L. in Mariani A. and Tavoletti S. (eds.), 1992. Proceeding of the workshop: Gametes with somatic chromosome number in the evolution and breeding of polyploid polysomic species: Achievements and perspectives. 9-10 April. P 15.
- Luping Q; Hancock J.F. & Whallon J.H., 1998. Evolution and autopolyploid group displaying predominantly bivalent

- pairing at meiosis: genomic similarity of diploid *Vaccinium darrowi* and autotetraploid *V. corymbosum* (Ericaceae) *Am. J. of Botany*, 85 (5): 698-703.
- Maceira O.M., 1990. Signification évolutive de la polyploidie: Mécanismes et conséquences. Exemple de *Dactylis glomerata* L. (Graminacées) Thèse de Doctorat. Univ. Montpellier II. Sciences et Techniques du Languedoc 123p.
- Maceira O.M.; De Haan A.A.; Lumaret R.; Billon M. & Delay J., 1992. Production of 2n gametes in diploid subspecies of *Dactylis glomerata* L. 1. Occurrence and frequency of 2n pollen. *Ann. of Botany*, 69: 335-343.
- Maceira O.M.; Jackard P. & Lumaret R., 1993. Competition between diploid and derivative autotetraploid *Dactylis glomerata* L. from Galicia. Implications for the establishment of novel polyploid populations. *New phytol.*, 124: 321-328.
- Maire R., 1955. Flore de l'Afrique du Nord. Ed. Le Chevalier. Paris. Vol. III: 65-69.
- Mc Collum G.D., 1985. Comparative studies of chromosome pairing in natural and induced tetraploid *Dactylis*. *Chromosoma*, 9: 571-605.
- Mercier R.; Vezon D.; Bullier E.; Motamayor J.C.; Sellier A.; Lefève F.; Pelletier G. & Horlow C., 2001. SWITCH1 (SWI1): a novel protein required for the establishment of sister chromatid cohesion and for bivalent formation at meiosis. *Genes Dev.*, 5: 1859-1871.
- Myers W.M. & Hill H.D., 1943. Increased meiotic irregularity accompany inbreeding in *Dactylis glomerata* L. *Genetics*, 19: 237-267.
- Nur U. & Zohary D., 1959. Distribution pattern of diploid and tetraploid forms of *Dactylis glomerata* L. in Israel. *Bull. Res. Coun of Israel*, 7D: 13-22.
- Parker P.F., 1968. Genetic variation in diploid *Dactylis* 1. Cross compatibility and seedling characters. *Heridity*, 23 (3): 369-387.

- Paterson A.H; Bowers J.E; Burow M; Dray X; Elsik C.G; Jiang C.X; Katsa K.S; Lan T.H; Lin Y.R; Ming R. & Wright R.J., 2000. Comparative genomics of plant chromosomes. *Plant cell.*, 12: 1523-1540.
- Petit C; Bretagnolle F. & Felber F., 1999. Evolution consequences of diploid-tetraploid hybrid zones in wild species. *Tree*, 14 (8): 306-310.
- Quezel P.& Santa S., 1962. Nouvelle flore de l Algérie et des régions désertiques et méridionales. Ed. CNRS. Tome I: pp. 135-136.
- Ramanna M.S., 1992. The use of 2n gamete in breeding polysomic polyploid species. in Mariani A. and Tavoletti S. (eds), 1992. Proceeding of the workshop: Gametes with somatic chromosome number in the evolution and breeding of polyploid polysomic species: Achievements and perspectives. 9-10 April. P 91.
- Ramsey J. & Schemske D.W., 1998. Pathways, mechanisms and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst*, 29: 467-501.
- Raven H.P; Evert R.F. & Eichhorn S.E., 2000. Biologie végétale. Ed. De Boeck université. 944p.
- Robert D; Dumas C. & Bajon C., 1994. La reproduction. Ed. Doin. Paris.389p
- Santos J.L; Alfaro D; Sanchez-Moran E; Armstrong S.J; Franklin F.C.H. & Jones G.H., 2003. Partial diploidization of meiosis in autotetraploid *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 165: 1533-1540.
- Shah S.S., 1964. Studies on a triploid, a tetrasomic triploid and a trisomic plant of *Dactylis glomerata* L. *Chromosoma*, 15: 469-477.
- Sneath P.H.A. & Sokal R.R., 1973. Numerical taxonomy. Freeman W.H. & Cie. San Fransisco. 573 p.

- Soltis D.E. & Soltis P.S., 1993. Molecular data and dynamic nature of polyploid. *Crit. Rev. in Plant Sciences*, 12 (3): 243-273.
- Soltis D.E. & Soltis P.S., 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Tree*, 14 (9): 348-352.
- Soltis P.S. & Soltis D.E., 2000. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. in *Variation and evolution in plants and microorganisms*, 310-326.
- Stebbins G.L., 1947. Type of of polyploids their classification and significance. *Adv. in genetic*, 1: 403-429.
- Stebbins G.L., 1950. Variation and evolution in plants. Columbia Univ. Press, New York. 641p.
- Stebbins G.L., 1956. Cytogenetics and evolution of the grass family. *Am. J. of Botany*, 43: 890-905
- Stebbins G.L. & Zohary D., 1959. Cytogenetics and evolutionary studies in genus *Dactylis*. I: morphology distribution and interrelationships of diploid subspecies. Univ. California *Pub. Bot.*, 31 (1): 1-39.
- Stebbins G.L., 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Ed. Arnold E. London. 216p.
- Stewart P., 1974. Un nouveau climagramme pour l'Algérie et son application au barrage vert. *Bull. Soc. His. Nat. Afrique du nord*, 65 (1-2): 239-248.
- Sybenga J., 1975. Meiotic configuration. Monographs on the theoretical applied genetics, 1. Springer edition. Berlin. 251p.
- Sybenga J., 1984. Preferential pairing in *Dactylis glomerata*? *Can. J. of Genet. and Cytol.*, 25 (5) p640.
- Sybenga J., 1994. Preferential pairing estimates from multivalent frequencies in tetraploids. *Genome*, 37: 1045-1055.

- Sybenga J., 1996. Chromosome pairing affinity and quadrivalent formation in polyploids: do segmental allo-polyploids exist? *Genome*, 39: 1176-1184.
- Sybenga J., 1999. What makes homologous chromosomes find each other in meiosis? A review and hypothesis. *Chromosoma*, 108:209-219.
- Torche W., 2000. Cytogénétique et biologie de la reproduction de *Dacylis glomerata* (Poaceae) . Mémoire de DES. FSB. USTHB. 40p.
- Wagenvoort M. & Den Nijs A.P.M., 1992. Implication of 2n pollen for breeding tetraploids species. in Mariani A. and Tavoletti S. (eds.), 1992. Proceeding of the workshop: Gametes with somatic chromosome number in the evolution and breeding of polyploid polysomic species: Achievements and perspectives. 9-10 April. P 5.
- Wendel J.F., 2000. Genome evolution in polyploid. *Plant Molecular Biology*, 42: 225-249.
- Wu S; Wu R; Maa C.X; Zengc Z.B; Yanga M.C.K. & Casella G., 2001. A multivalent pairing modele of linkage analysis in autotetraploids. *Genetics*, 159: 1339-1350.
- Zarchi Y; Simchen J; Hillel J. & Schaap T., 1972. Chiasmata and the breeding system in wild population of diploid Wheats. *Chromosoma*, 38: 77-94.

Annexes

nexe I

Réactif de schiff

Pour un litre de solution

4g de fuschine basique

800 ml d'eau distillée

120 ml de HCL 1N

12g de métabisulfite de potassium

Faire bouillir l'eau distillée dans un erlenmeyer de 2 litre, éteindre la source de chaleur, attendre l'arrêt total de l'ébullition et verser lentement la fuschine.

Agiter puis laisser refroidir jusqu'à 50°C.

Ajouter l'acide chlorhydrique.

Filtre (sous vide à l'aide d'un filtre à plaque de verre) puis ajouter le métabisulfite de potassium.

Agiter fortement (agitateur magnétique) pendant 2mn puis filtrer.

La conservation se fait à l'obscurité dans un flacon en verre fumé bien bouché pendant 48heures.

Carmin acétique

10g de carmin

1 litre d'eau acétique 45%

Dans un grand erlenmeyer (2 litre) porter l'eau acétique à ébullition.

Verser le carmin et faire mijoter la solution pendant 5mn puis filtrer.

La solution de carmin acétique obtenue se conserve très longtemps dans un flacon en verre fumé.

Annexe II

Tableau VII. Données brutes des différents caractères traités pour l'analyse cytogénétique.

Individus	I	IIa	IIb	III	IVa	IVc	V	VI	Chiasmas	B	Régions
1	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Babors1
2	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Babors1
3	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
4	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
5	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
6	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Babors1
7	0	6	1	0	0	0	0	0	13	0	Babors1
8	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Babors1
9	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
10	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
11	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Babors1
12	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Babors1
13	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Babors1
14	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Babors1
15	0	7	0	0	0	0	13	0	14	1	Babors1
16	0	0	7	0	0	0	0	0	7	0	Babors1
17	0	6	1	0	0	0	0	0	13	0	Babors1
18	2	6	0	0	0	0	0	0	12	0	Babors1
19	0	5	2	0	0	0	0	0	12	1	Babors1
20	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Babors1
21	2	4	2	0	0	0	0	0	10	0	Babors1
22	2	3	3	0	0	0	0	0	9	0	Babors1
23	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Babors1
24	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
25	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
26	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
27	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Babors1
28	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Babors1
29	0	0	7	0	0	0	0	0	7	0	Babors1
30	0	3	4	0	0	0	0	0	10	2	Babors1
31	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Babors1
32	10	0	2	0	0	0	0	0	2	0	Babors1
33	2	2	4	0	0	0	0	0	8	2	Babors1
34	2	1	5	0	0	0	0	0	7	2	Babors1
35	2	1	5	0	0	0	0	0	7	1	Babors1
36	0	4	10	0	0	0	0	0	18	0	Babors2
37	0	13	1	0	0	0	0	0	27	0	Babors2
38	0	13	1	0	0	0	0	0	27	0	Babors2
39	0	4	0	0	4	1	0	0	27	0	Babors2
40	0	5	4	2	1	0	0	0	22	0	Babors2
41	1	1	3	1	4	0	0	0	23	0	Babors2
42	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Babors2
43	0	13	1	0	0	0	0	0	27	0	Babors2
44	1	3	4	3	1	0	0	0	20	0	Babors2
45	1	4	2	1	2	1	0	0	23	0	Babors2
46	0	2	5	2	1	1	0	0	20	0	Babors2

47	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Babors2
48	2	3	7	2	0	0	0	0	17	0	Babors2
49	0	0	0	0	0	0	0	0	28	0	Babors2
50	2	6	2	2	0	0	0	0	22	0	Babors2
51	0	2	5	0	0	0	0	1	22	0	Babors2
52	1	1	4	0	3	0	1	0	22	0	Babors2
53	2	4	7	0	1	0	0	0	19	0	Babors2
54	0	4	4	1	0	1	1	0	21	0	Babors2
55	3	5	3	0	1	0	1	0	21	0	Babors2
56	0	1	6	0	0	0	0	0	8	0	Berrouaghia
57	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Berrouaghia
58	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Berrouaghia
59	0	1	6	0	0	0	0	0	8	2	Berrouaghia
60	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Berrouaghia
61	0	7	0	0	0	0	0	0	14	1	Berrouaghia
62	0	1	6	0	0	0	0	0	8	0	Berrouaghia
63	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Berrouaghia
64	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Berrouaghia
65	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Berrouaghia
66	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Berrouaghia
67	0	2	5	0	0	0	0	0	9	1	Berrouaghia
68	2	1	5	0	0	0	0	0	7	0	Berrouaghia
69	0	2	5	0	0	0	0	0	9	1	Berrouaghia
70	0	1	6	0	0	0	0	0	8	2	Berrouaghia
71	0	2	5	0	0	0	0	0	9	2	Berrouaghia
72	4	0	5	0	0	0	0	0	5	0	Berrouaghia
73	4	1	4	0	0	0	0	0	6	0	Berrouaghia
74	0	1	6	0	0	0	0	0	8	0	Berrouaghia
75	0	1	6	0	0	0	0	0	8	2	Berrouaghia
76	2	0	6	0	0	0	0	0	6	0	Berrouaghia
77	2	1	3	0	0	0	0	0	5	1	Berrouaghia
78	0	6	1	0	0	0	0	0	13	0	Kherrata Dmairei
79	10	2	0	0	0	0	0	0	4	0	Kherrata Dmairei
80	4	2	3	0	0	0	0	0	7	1	Kherrata Dmairei
81	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Kherrata Dmairei
82	0	3	5	0	0	0	0	0	11	1	Kherrata Dmairei
83	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Kherrata Dmairei
84	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Kherrata Dmairei
85	2	5	1	0	0	0	0	0	11	0	Kherrata Dmairei
86	0	5	2	0	0	0	0	0	12	1	Kherrata Dmairei
87	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Kherrata Dmairei
88	0	3	7	0	1	1	0	0	20	0	Ziama
89	0	2	4	0	4	0	0	0	24	0	Ziama
90	2	2	5	0	1	2	0	0	19	0	Ziama
91	2	3	5	2	0	1	0	0	20	0	Ziama
92	4	5	7	0	0	0	0	0	17	0	Ziama
93	0	8	4	0	1	0	0	0	24	0	Ziama
94	2	4	5	0	0	2	0	0	19	0	Ziama
95	2	5	4	0	2	0	0	0	22	0	Ziama
96	0	2	10	0	1	0	0	0	18	0	Ziama
97	8	3	7	0	0	0	0	0	13	0	Ziama

98	0	1	9	1	0	0	1	0	17	0	Ziama
99	0	6	4	0	2	0	0	0	23	0	Ziama
100	0	6	6	0	1	0	0	0	19	0	Ziama
101	0	1	1	2	3	0	0	1	24	0	Ziama
102	0	7	5	0	0	1	0	0	23	0	Ziama
103	7	2	5	1	1	0	0	0	15	0	Ziama
104	4	4	8	0	0	0	0	0	16	0	Ziama
105	0	4	5	2	0	1	0	0	20	0	Ziama
106	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
107	26	1	0	0	0	0	0	0	2	0	Ziama
108	4	5	7	0	0	0	0	0	17	0	Ziama
109	0	6	6	0	0	1	0	0	21	0	Ziama
110	0	7	7	0	0	0	0	0	21	0	Ziama
111	2	2	5	0	0	0	0	0	21	0	Ziama
112	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
113	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
114	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
115	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
116	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
117	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
118	0	1	13	0	0	0	0	0	15	0	Ziama
119	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
120	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
121	0	14	0	0	0	0	0	0	28	0	Ziama
122	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
123	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
124	0	7	0	0	0	0	0	0	14	2	Tipaza
125	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
126	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Tipaza
127	0	5	2	0	0	0	0	0	2	0	Tipaza
128	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
129	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
130	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
131	0	6	1	0	0	0	0	0	13	0	Tipaza
132	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
133	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
134	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
135	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
136	0	6	1	0	0	0	0	0	13	0	Tipaza
137	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Tipaza
138	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
139	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
140	0	6	1	0	0	0	0	0	13	0	Tipaza
141	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Tipaza
142	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
143	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
144	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
145	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
146	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
147	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
148	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza

149	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
150	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
151	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
152	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
153	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
154	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
155	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
156	2	0	6	0	0	0	0	0	6	0	Tipaza
157	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Tipaza
158	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
159	0	6	1	0	0	0	0	0	11	0	Tipaza
160	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
161	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
162	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Tipaza
163	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
164	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
165	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
166	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
167	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
168	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
169	2	3	3	0	0	0	0	0	9	0	Tipaza
170	2	6	0	0	0	0	0	0	12	0	Tipaza
171	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Tipaza
172	0	6	1	0	0	0	0	0	13	0	Tipaza
173	0	7	0	0	0	0	0	0	14	0	Tipaza
174	0	3	4	0	0	0	0	0	10	0	Tipaza
175	0	3	4	0	0	0	0	0	10	2	Tipaza
176	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Tipaza
177	0	5	2	0	0	0	0	0	12	2	Tipaza
178	0	5	2	0	0	0	0	0	12	0	Tipaza
179	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Tipaza
180	0	3	4	0	0	0	0	0	10	2	Tipaza
181	0	2	5	0	0	0	0	0	9	1	Tipaza
182	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Tipaza
183	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Tipaza
184	0	4	3	0	0	0	0	0	11	0	Tipaza
185	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Tipaza
186	0	2	5	0	0	0	0	0	9	1	Tipaza
187	2	2	4	0	0	0	0	0	8	2	Tipaza
188	2	6	0	0	0	0	0	0	12	1	Tipaza
189	0	2	5	0	0	0	0	0	9	0	Tipaza
190	0	5	2	0	0	0	0	0	12	1	Tipaza
191	0	2	5	0	0	0	0	0	9	2	Tipaza
192	2	6	0	0	0	0	0	0	12	0	Tipaza
193	0	3	2	0	0	1	0	0	11	0	Tipaza
194	0	2	2	2	0	0	0	0	10	1	Tipaza
195	0	3	2	0	0	1	0	0	11	0	Tipaza
196	0	2	2	2	0	0	0	0	10	0	Tipaza
197	0	2	2	2	0	0	0	0	10	2	Tipaza
198	0	3	4	0	0	0	0	0	10	2	Tipaza
199	0	4	3	0	0	0	0	0	11	1	Tipaza

Annexe III

Tableau VIII. Valeurs propres des contributions des dix (10) premiers axes de l'ACP.

Axes	ValPropres	% Total	Cumul	Cumul
		Variance	ValPropres	%age
1	2,22303484	22,2303484	2,22303484	22,2303484
2	1,83946555	18,3946555	4,06250038	40,6250038
3	1,10086396	11,0086396	5,16336434	51,6336434
4	1,04232425	10,4232425	6,20568859	62,0568859
5	0,98462186	9,84621863	7,19031045	71,9031045
6	0,79697748	7,96977483	7,98728794	79,8728794
7	0,72761767	7,27617673	8,71490561	87,1490561
8	0,67500778	6,75007779	9,38991339	93,8991339
9	0,5435262	5,43526199	9,93343959	99,3343959
10	0,06656041	0,66560412	10	100