

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

N d'ordre :.....

Série :.....

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de magistère

Ecole doctorale

Option biotechnologie végétale

Par Rima Hind BOUDCHICHA

VARIATION DES SOUS UNITES GLUTENINES DE HAUT POIDS MOLECULAIRE CHEZ LES ESPECES *AEGILOPS* DE LA SECTION *SITOPSIS*

Soutenu publiquement le 15 /10/2009.

Devant le jury :

Président : Mr Merghem R

Rapporteur : Mr Khelifi D

Examineur : Mr Bensegueni A

Examineur : Mr Chikhi A

Professeur à l'université Mentouri Constantine

Professeur à l'université Mentouri Constantine

Maître de conférence à l'université Mentouri Constantine

Maître de conférence à l'université Mentouri Constantine

A mes parents
A ma famille et tous mes proches
A mes amis (es)

REMERCIEMENTS

Je remercie d'abord le bon Dieu de m'avoir donné la patience, le courage d'accomplir cet humble travail.

Mes remerciements sinceres vont au Prof. KHELIFI Douadi qui a dirigé ce travail et qui est pour moi un model de compétence et de proffessionnalisme à suivre.

Je remercie également Mr. MERGHAM R professeur à l'université Mentouri Constantine de bien vouloir accepté de présider le jury.

Mes vifs remerciements sont adressés :

A Mr Bensegueni, maitre de conférence à l'université Mentouri Constantine, d'avoir examiner ce travail.

A Mr.Chikhi maitre de conférences à l'université Mentouri Constantine de bien vouloir juger ce travail.

Merci a Mde Bensuiki Fouzia d'avoir toujours été la pour moi et de m'avoir toujours bien orienté.

A Melle Hamdi Ouahiba d'avoir mis à ma disposition une documentation bibliographique qui a permit de centrer mes objectifs dans cette étude, ainsi que pour ses precieux conseils.

Un grand Merci a tous mes enseignants qui ont contribués à ma formation.

Merci à mes amis (es) et collègues de m'avoir bien soutenu et aidé.

A tous ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin, mes vifs remerciements

SOMMAIRE

TITRE **N° de page**

CHAPITRE I : Partie bibliographique

Introduction.....	7
1-Présentation du genre <i>Aegilops</i>	9
1-1 Description botanique du genre <i>Aegilops</i>	9
1-2 Classification taxonomique et génomique	9
1-2-1 Classification taxonomique.....	9
1-2-2 Classification génétique	9
1-2-2-1 Historique	9
1-2-2-2 Génome <i>d'Aegilops</i>	10
1-3 Aire de répartition d' <i>Aegilops</i>	13
2-La contribution des <i>Aegilops</i> dans la constitution du génome du blé	15
2-1 Origine du génome A	15
2-2 Origine du génome B	16
2-3 Origine du génome D	17
2-4 Origine du génome G	17
3- Intérêt des <i>Aegilops</i> dans l'amélioration des génomes des blés cultivés	18
3-1 Amélioration de la résistance et/ou la tolérance au stress biotique et abiotique ..	18
3-2 Amélioration de la qualité technologique	21
3-3 Introgression de caractère d'intérêt	23
4- Polymorphisme et la phylogénie des espèces appartenant à la section Sitopsis et les blés cultivés	25
4-1 Variations intraspecificque	27
4-2 Relation interspecificque	28
4-3 Du génome S au génome B	29
5- Les protéines du grain d' <i>Aegilops</i>	30
5-1 Classification	30
5-2 Le gluten	32
5-2-1 Les gliadines : composition en acides aminés, structure et conformation.....	34

5-2-2 Les gluténines : composition en acides aminés, structure et conformation.....	37
5-3 Déterminisme génétique des gliadine et gluténine	42

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

1- Matériel végétal	43
2- Technique d'électrophorèse.....	45
2-1 Principe.....	45
2-2 Méthodes d'extraction des protéines de réserve	45
2-3 Electrophorèse des gluténines par SDS-PAGE	46
2-3-1 Préparation des gels	47
2-3-2 La migration..	47
2-3-3 Coloration et décoloration des gels	48
2-3-4 Lecture des diagrammes	48

CHAPITRE III : Résultats et Discussion

1-Identification du polymorphisme des SG-HPM des 5 espèces revelé par SDS-Page.....	50
1-1 <i>Ae.bicornis</i>	50
1-2 <i>Ae.longissima</i>	51
1-3 <i>Ae.sharonensis</i>	54
1-4 <i>Ae.searsii</i>	55
1-5 <i>Ae.speltoides</i>	57
2- Indice de similarité des électrogrammes des 5 espèces	59
-Calcul des indices de similarité.....	59
3- La variation intersecifique et relation avec le blé.	61

CHAPITRE IV : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives.....	64
Références bibliographiques.....	66
Annexe I.....	76

Annexe II.....77
Annexe III.....78

INTRODUCTION

Depuis longtemps, les sous unités gluténines de haut poids moléculaire ont fait l'objet d'études intensives, cela est due principalement au rôle qu'elles jouent dans l'amélioration de la qualité technologique du blé. Les progrès effectués au niveau biochimiques et génétique ont permis une meilleure caractérisation et compréhension de leur mécanisme.

Rappelant toutefois que les gluténines sont séparées en deux sous unités par électrophorèse monodimensionnelle, les gluténines de haut poids moléculaire dont le poids apparent est compris entre 80 000 et 140 000 Daltons et les gluténines de faibles poids moléculaire avec un poids variant entre 30 000 et 45 000 Daltons.

Jusqu'à présent, les sous unités gluténine n'ont pas été suffisamment caractérisées chez les espèces apparentées au blé alors qu'elles pourraient présenter une ressource majeure de variabilité génétique. En effet, elles sont porteuses de gènes utiles et à fort potentiel économique pouvant être introduits dans les processus d'amélioration du blé. Cette variation peut aussi être utilisée dans les études phylogéniques à fin de déterminer les relations et l'évolution des espèces de la tribu Triticéae.

L'objectif de notre travail est d'analyser la variabilité des sous unités gluténines de haut poids moléculaire chez les cinq espèces diploïde du genre *Aegilops* appartenant à la section *Sitopsis*.

Les études qui suivent ont été conduites au laboratoire de biochimie génétique et biotechnologies végétales. Ce travail est rendu possible grâce à la coopération de l'Institut Techniques des Grandes Cultures d'El Khroub qui a mis à notre disposition une collection de 66 *Aegilops* de l'ICARDA¹.

Le premier chapitre résume les données bibliographiques, concernant les *Aegilops* de la section *Sitopsis* et les bases biochimiques et génétiques des protéines de réserve.

¹ International Center for Agricultural Research in The Dry Areas

Le matériel végétal et l'ensemble des méthodes qui ont été employées sont décrits au deuxième chapitre de ce mémoire.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation, l'interprétation et la discussion des résultats.

Chapitre I

Partie bibliographique

1-présentation du genre *Aegilops* :

Les propriétés curatives des *Aegilops* ont été reconnues et utilisées depuis le temps des grecques. En effet, ils ont été les premiers à l'avoir utilisée pour guérir une maladie oculaire des chèvres. *Aegilops* veut dire en grec Aegos=chèvre, ôps= œil.

1-1 Description botanique du genre *Aegilops* :

Quezel et Santa (1962) décrivent le genre comme suit : « Epis simple, articulés avec la tige et tombant à maturité d'une seule pièce. Epillets indépendants, sessiles et alternes, placés par une de leur faces dans des excavations du rachis et appliqués contre lui, à deux fleurs fertiles accompagnées de rudiments ou multiflore, l'épillet terminal fait exception et s'applique sur le rachis par le coté, glumes très difficile à détacher du rachis par le coté. Concaves, souvent plus au moins renflées par le milieu, non carénées, a sommet tronqué et portant 1 a 5 arêtes ou dents, toute fois mutiques, non carénées. »

1-2 Classification taxonomique et génomique :

1-2-1 Classification taxonomique :

Ce genre prend une position intermédiaire entre le genre *Triticum* et *Agropyrum* (Zhukovsky, 1928 in Raskina et al.,2004). Les *Aegilops* sont classés par Emberger et Chadeaud (1960) comme suit :

Règne : Végétale
Embranchement : Spermaphytes
S/ Embranchement : Angiospermes
Ordre : Glumiflorales
Classe : Monocotylédones
Famille : Graminée
Tribu : Triticeae
S/ Tribu : Tritinaceae
Genre : *Aegilops*

1-2-2 classification génétique :

1-2-2-1 Historique :

Carl Linnaeus fut l'un des premiers à décrire le genre *Aegilops* en 1737 (in Raskina et al., 2004), plus tard plusieurs auteurs ont classés le genre en groupes et sous groupes.

Longtemps après et en se basant sur les études des caractères morphologiques et la distribution géographique des espèces du genre *Aegilops*, Zhukovsky (1928) et Eig (1929) ont divisé le genre *Aegilops* en vingt espèces classées dans neuf sections.

A partir des années 30 et 40, les découvertes en cytologie et la génétique ont permis de proposer de nouvelles classifications marquées par les travaux de Kihara et Sears. En effet, Kihara (1940, 1954) propose une classification des *Aegilops* basées sur une analyse des génomes et a donné des formules pour les différents génomes qui ont été modifiés plus tard par Sears (1948 in Sarkar et Stebbins, 1956), Kihara et Tanaka (1970), Kimber et Tsunewaki (1988).

En 1956, Stebbins appuyé par Browden (1959) a suggéré d'associer les *Aegilops* et les *Triticum* en un seul groupe ce qui est fondé sur la possibilité d'établir des croisements entre les espèces des deux genres (absence de barrières génétiques). Et par conséquent, de nouveaux noms ont été donnés aux espèces diploïdes et polyploïdes (Morris et Sears, 1967 ; Kimber et Feldman, 1987).

Chennveeraiah, 1960 distingua les deux genres mais déplace la section *Sitopsis* au sein du genre *Triticum*.

En 1980, Hammer publia une révision complète du genre *Aegilops* en le divisant en trois sous genres (*Aegilops*, *Sitopsis* et *Amblyopyrum*) répartis en quatre sections, 21 espèces et 105 taxons.

La classification la plus récente est celle de Van Slageren (1994) établie à partir de la collection de l'ICARDA et l'examen de 20.000 échantillons d'herbier.

Cette classification rejoint celle de Mackey, 1966 (in Monneveux et al, 2000), elle regroupe 2 genres, le genre *Aegilops* qui est divisé en 5 sections (*Aegilops*, *comopyrum*, *Cylindricum*, *sitopsis* et *Vertebra*), 22 espèces et 5 variétés. Et le genre *Amblyopyrum* qui est représenté par une seule espèce. (Tableau 1)

1-2-2-2 génome d'*Aegilops* :

Les 23 espèces *Aegilops* peuvent être divisées en trois groupes sur la base de leur ploïdie : 11 diploïdes, 10 tétraploïdes et 2 hexaploïdes. Les diploïdes d'*Aegilops* sont divisés selon le type du génome en 7 groupes : C (*Ae. markgrafii*), M (*Ae. comosa*), N (*Ae. uniaristata*), D (*Ae.*

tauschii = *Ae. squarrosa*), U (*Ae. umbellulata*), T (*Ae. mutica*) et S (section sitopsis) (Van Slageren, 1994)

Tableau 1 : Classification génomique des *Aegilops* selon Van Slageren (1994)

Génome	Ploïdie	Espèce
Section <i>Aegilops</i>		
UM	4x	<i>Aegilops biuncialis</i> (Vis).
UM	-	<i>Aegilops geniculata</i> (Roth)
UM	4x et 6x	<i>Aegilops neglecta</i> (Req ex Bertol).
US	4x	<i>Aegilops peregrina</i> (Hack. In J.Fraser Marie et Weiller Var. <i>peregrina</i> Var. <i>brachyathera</i> (Boiss.)(Marie et weiller)
U	2x	<i>Aegilops umbellulata</i> (Zhuk).
UM	4x	<i>Aegilops columnaris</i> (Zhuk).
UC	-	<i>Aegilops triuncillis</i> L. Var. <i>triuncialis</i> Var. <i>persica</i> (Boiss.) (Eig)
US	-	<i>Aegilops kotschy</i> Boiss.
Section <i>Comopyrum</i> (Jaub. et Spach) Zhuk.		
M	2x	<i>Aegilops comosa</i> (Sm. In Sibth. Et Sm). Var. <i>comosa</i> Var. <i>subventricosa</i>
N	-	<i>Aegilops uniaristata</i> (Vis).
Section <i>cylindropyrum</i> (Jaub.et Spach) Zhuk.		
C	-	<i>Aegilops caudata</i> L.
DC	4x	<i>Aegilops cylindrica</i> (Host).
Section <i>Sitopsis</i> (Jaub et Spach) Zhuk.		
S	2x	<i>Aegilops bicornis</i> (Forssk.)(Jaub. et Spach) Var. <i>bicornis</i> Var. <i>anathera</i> (Eig)
S	-	<i>Aegilops longissima</i> (Schweinf. Et Muschl).
S	-	<i>Aegilops searsii</i> (Feldmen et Kislev ex Hammer)
S	-	<i>Aegilops sharonensis</i> (Eig)
S	-	<i>Aegilops speltoides</i> (Tausch) Var. <i>speltoides</i> Var. <i>ligustica</i> (Savign.)(Fiori)
Section <i>Vertebrata</i> Zhuk.emend. Kihara <i>Ae.juvenalis</i>(Thell).Eig		
D	2x	<i>Aegilops tauschii</i> (Coss).
DMS	6x	<i>Aegilops vavilovii</i> (Zhuk.)(Chenav)
DDM	4x et 6x	<i>Aegilops crassa</i> (Boiss).
DN	4x	<i>Aegilops ventricosa</i> (Tausch)
<i>Amblyopyrum</i> (Jaub. et Spach) Eig		
T	2x	<i>Amblyopyrum muticum</i> (Boiss.)(Eig) Var. <i>muticum</i> Var. <i>loliaceum</i> (Jaub. Et Spach)(Eig)

Tableau2 : Les synonymes les plus fréquents d'*Aegilops* (Van slageren,1994)

Génome	Espèces	Synonymes (<i>Aegilops</i>)	Synonymes (<i>Triticum</i>)
Genre <i>Aegilops</i>			
Section <i>Aegilops L.</i>			
UM	<i>Aegilops biuncialis</i> (Vis).	<i>Ae. lorenti</i>	<i>T. macrochaetum</i> (Shuttl.&Huet.Richter)
MU	<i>Aegilops geniculata</i> (Roth)	<i>Ae. ovata</i> L.	<i>T. ovatum</i> (L. Raspail)
UM ou UMN	<i>Aegilops neglecta</i> (Req ex Berto)l.(4x et 6x)	<i>Ae. triaristata</i> (Willd). (4x and 6x)	<i>T. triaristatum</i> (Willd. Godr.& Gren).
SU	<i>Aegilops peregrina</i> (Hack. In J.Fraser Marie et Weiller) Var. <i>peregrina</i> Var. <i>brachyathera</i> (Bois,Marie et weille)	<i>Ae.variabilis</i>	
U	<i>Aegilops umbellulata</i> (Zhuk).		<i>T.mbellulatum</i> (Zhuk. Bowden)
UMN	<i>Aegilops columnaris</i> (Zhuk).		<i>T. columnare</i> (Zhuk. Morris & Sears)
UC	<i>Aegilops triuncialis</i> L. Var. <i>triuncialis</i> Var. <i>persica</i> (Boiss.)(Eig)	<i>ssp. triuncialis</i> <i>ssp persica</i> (Boiss.) (Zhuk).	<i>T. triunciale</i> (L. Raspai)l
US	<i>Aegilops kotschyi</i> (Bois)s.		<i>T. kotschyi</i> (Boiss. Bowden)
Section <i>Comopyrum</i> (Jaub. et Spach) Zhuk.			
M	<i>Aegilops comosa</i> (Sm. In Sibth. Et Sm). Var. <i>comos</i>	<i>ssp. Comosa</i>	<i>T. comosum</i> (Sibth. & Sm. Richter)
N	Var. <i>subventricosa</i> <i>Aegilops uniaristata</i> (Vis).	<i>ssp heldreichii</i> (Boiss. Eig).	<i>T. uniaristatum</i> (Vis.Richter)
Section <i>cylindropyrum</i>(Jaub.et Spach) Zhuk.			
C	<i>Aegilops caudata</i> L.	<i>Ae.markgrafii</i> et <i>Ae.dichasians</i> (Browden)	<i>T. dichasians</i> (Zhuk. Bowden)
CD	<i>Aegilops cylindrica</i> (Hos)t.		<i>T. cylindricum</i> (Ces).
Section <i>Sitopsis</i> (Jaub et Spach) Zhuk.			
S ^b	<i>Aegilops bicornis</i> (Forss. Jaub. et Spach) Var. <i>bicornis</i> Var. <i>Anathera</i> (Eig)		<i>T. bicornis</i> (Forssk).
S ^t	<i>Aegilops longissima</i> (Schweinf. Et Muschl).		<i>T longissimum</i> (Schweinf. & Muschl.) (Bowden)
S ^s	<i>Aegilops searsii</i> (Feldmen et Kislev ex Hammer)		<i>T. searsii</i> (Feldman & Kislev. Feldman, comb. Nov).
S ^l	<i>Aegilops sharonensis</i> (Eig)		
S	<i>Aegilops speltooides</i> (Tausch) Var. <i>speltooides</i> Var. <i>ligustica</i> (Savign. Fiori)	<i>Ae. ligustica</i> (Savign. Coss).	<i>T. speltooides</i> (Tausch. Gren. Ex Richter)
Section <i>Vertebrata</i> Zhuk.emend. Kihara			
DMU	<i>Aegilops juvenalis</i> (Thell.Eig)	<i>Ae. Turcomanica</i> (Roshev).	<i>T. juvenale</i> (Thell) .
D	<i>Aegilops tauschii</i> (Coss).	<i>Ae. Squarrosa</i> L.	<i>T. tauschii</i> (Coss. Schmalh).
DMS	<i>Aegilops vavilovii</i> (Zhu. Chennav)		<i>T. syriacum</i> (Bowden)
DDM	<i>Aegilops crassa</i> (Bois)s. (4x et 6x)		<i>T crassum</i> (Boss. Aitch. & Hensl).
DN	<i>Aegilops ventricosa</i> (Tausch)		<i>T. ventricosum</i> (Ces).
Genre <i>Amylopyrum</i>(Jaub.et Spach) Eig			
T	<i>Amylopyrum muticum</i> (Boiss.)(Eig) Var. <i>muticum</i> Var. <i>loliaceum</i> (Jaub. Et Spach)(Eig)	<i>Ae. mutica</i> (Boiss). <i>var. mutica</i> <i>var. loliacea</i> (Jaub. & Spach) (Eig)	<i>T. tripsacoides</i> (Jaub. & Spach. Bowden)

* Kimber et Feldman (1987)

1-3 Aire de répartition d'*Aegilops* :

Selon Hammer (1980) le genre *Aegilops* est originaire de la Transcaucasie, l'espèce la plus primitive (*Ae.speltoides*) a été identifiée dans le centre de la région.

Kimber et Feldmen (1987) rapportent que tout les diploïdes (à l'exception d'*Aegilops tauschii*) ont une aire de distribution limitée alors que les tétras et hexaploïdes ont un potentiel d'adaptation plus grand et par conséquent ont une large distribution. Ces mêmes auteurs mentionnent que les *Aegilops* se développent en association avec d'autres graminées dans des environnements dégradés (pâturages, bords des routes et des champs cultivés, sur les formations d'arbrisseaux et les formations herbacées, etc.

D'après Van Slageren (1994), les 22 espèces *Aegilops* sont distribuées principalement dans le bassin méditerranéen et au centre et au sud-ouest de l'Asie (fig. 1). La plupart de ces espèces sont rencontrées à des altitudes comprises entre 500 et 1200 m et pouvant arriver jusqu'à 1800 m, le diploïde *Ae.longissima* est considéré comme la seule espèce du genre à être endémique à la Palestine et le sud du Liban.

Les espèces se répartissent également dans les régions centrales de l'Europe et au nord du Sahara en Afrique. Entre 10° à l'ouest et 85° à l'est, et entre 26° et 50° au nord. (Kimber et Feldmen 1987)

Raskina et al (2004), rapportent que la région du croissant fertile est considérée comme le centre primitif de la variabilité des espèces du genre *Aegilops* et *Triticum*. Effectivement, les populations locales des espèces sauvages progénitrices des blés cultivés révèlent une diversité génétique significative. Et jusqu'à maintenant ce centre préserve son potentiel de spéciation. (Zhucovsky, 1928 in Raskina et al.,2004)

Ces mêmes auteurs mentionnent que les zones de répartition des espèces *Ae.longissima*, *Ae.searsii* et *Ae.sharonensis* chevauchent la partie sud-ouest de la zone de répartition d'*Ae.speltoides*, il semblerait que ces espèces substituent *Ae.speltoides* dans le sud où l'environnement climatique et édaphique est particulier. Ces mêmes auteurs postulent *Ae.speltoides* comme espèce ancestrale de la section *Sitopsis*.

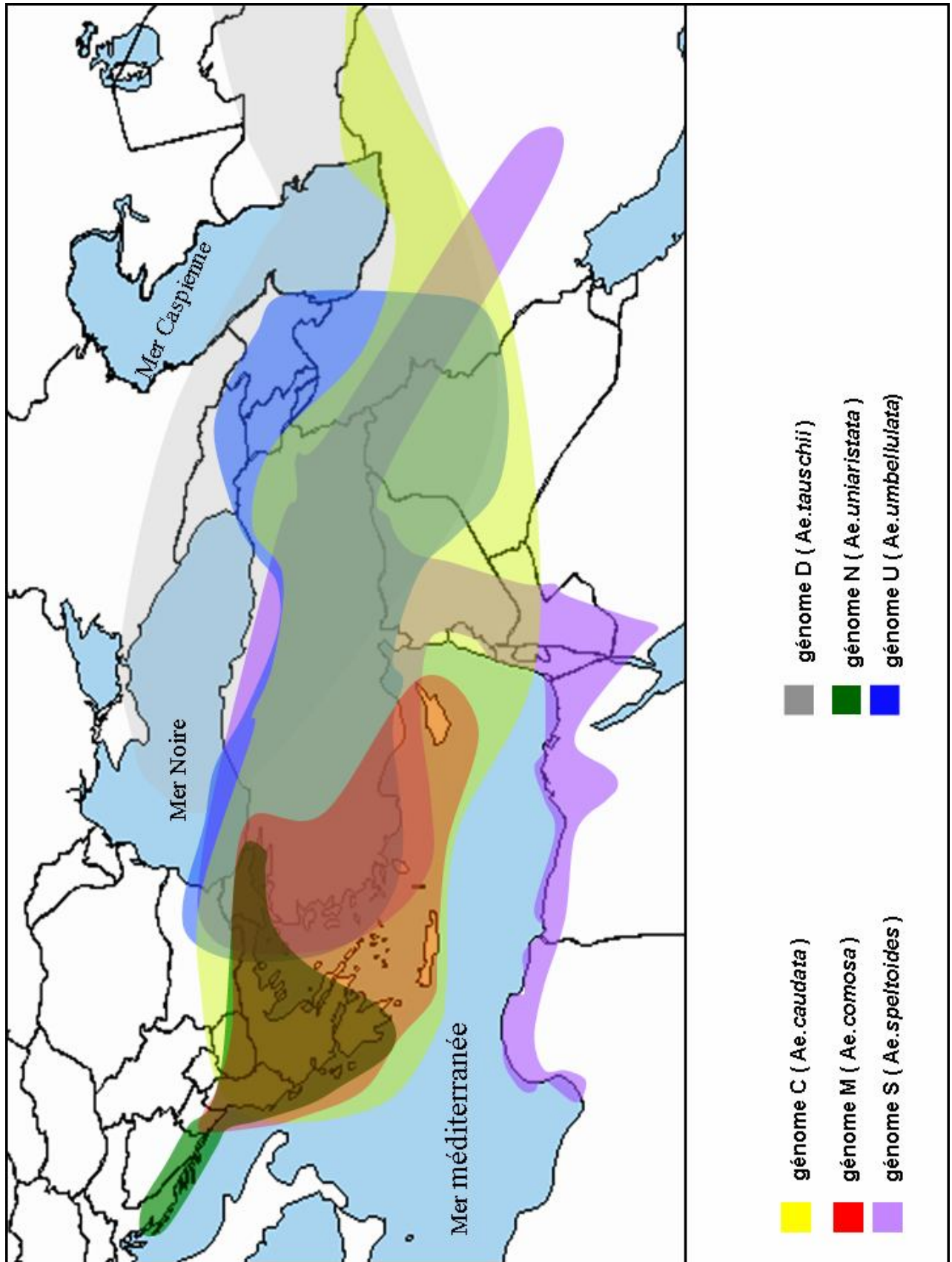


Figure1: Aire de distribution de espèces diploïde du genre *Aegilops* (d'après Van Slageren, 1994)

2-La contribution des *Aegilops* dans la constitution du génome du blé :

Les espèces du genre *Triticum* comme celles d'*Aegilops* existent comme des di- tétra ou hexaploïdes avec un nombre chromosomique de base $n= 7$. 4 génomes désignés comme A, B, D et G participent à la constitution du génome de toutes les espèces de la tribu des *Triticées*. (Lilienfeld et Kihara, 1934 in Golovkina et al., 2006).

Différents types d'études cytogénétiques, moléculaires et biochimiques fournissent un aperçu sur les origines des génomes A, B, D et G chez les espèces allopolyploïdes.

L'allopolyploïdie a jouée un rôle majeur dans l'évolution des céréales, l'un des allopolyploïdes les plus remarquable est le *T. aestivum* (blé hexaploïde ou blé tendre), son génome est AA BB DD ($2n= 6x= 42$), le blé tétraploïde est également issu d'allopolyploïdie.

Il existe cinq combinaisons génétiques au blé : AA ($2n = 2x = 14$) blés diploïdes, AABB et AAGG ($2n = 4x = 28$) blés tétraploïdes et AABBDD et AAAAGG ($2n = 6x = 42$) blés hexaploïdes.

Selon Hamdi (2003), Plusieurs critères sont utilisés pour désigner un ancêtre :

- La distribution géographique des centres d'origine des espèces, les unes par rapport aux autres (possibilité qu'il y est intercroisement).
- Les similitudes morphologiques, pathologiques, caryotypiques, cytoplasmiques, biochimiques ou moléculaires.
- Les possibilités d'appariements chromosomiques lors de méioses d'hybrides interspécifiques
- Les possibilités de synthèse artificielle par croisement des ancêtres potentiels.

2-1 Origine du génome A :

Les travaux de Kihara (1924) attribuent l'origine du génome A à *Triticum monococum* var. *boeoticum* ou var. *urartu*. En 1965, Riley propose *Ae. aegiloploïde* comme ancêtre du génome A. Les études cytologiques affirment que les blés tétraploïdes ainsi que les blés hexaploïdes ont reçus leur génome A du groupe Einkorns. (Sears, 1948 in Sarkar et Stebbins, 1956)

Selon Johnson (1972) le génome A des blés cultivés proviendrait d'un blé diploïde (AA) qui est *T.boeoticum* BOISS et son dérivé *T.monococum* L (il s'agit peut être de la même espèce).

L'affinité de ses génomes a été déduite à partir du nombre et du type de paires chromosomiques méiotique observés chez les hybrides F1 issus du croisement entre les espèces cultivars et leur supposés géniteurs diploïdes. Cela dit l'homologie entre le génome A des polyploïdes et celui des diploïdes reste incomplète (Kihara et Lilienfeld, 1932 in Sarkar et Stebbins, 1956) même si l'appariement méiotique peut être un très bon indicateur pour l'homologie de deux génomes.

Plus tard Kimber, Sears (1987) et Dvorak (1976, 1998) ont rapporté que *T. urartu* est le donneur du génome A mise à par la paire chromosomique 4A.

Par l'analyse cytogénétique des séquences nucléotidiques répétées du génome A chez les espèces : *T. turgidum*, *T. timopheevii*, *T. aestivum*, il a été confirmé que ces séquences ont peu de divergence par rapport à celles du génome A de *T. urartu*. Alors que chez *T. zhukovskyi* un des génomes provient de *T. urartu* et l'autre de *T. monococum*. (Hamdi, 2003)

Des études plus récentes notamment celles de Zhang et al (2001), Peterson (2006) et Wang et al (2007) approuvent *T. urartu* comme le donneur du génome A.

2-2 Origine du génome B :

Celle-ci reste jusqu'à ce jour controversée, Sarkar et Stebbins (1956) rapportent que l'origine du génome B reste un mystère. Plusieurs recherches ont tentées d'identifier les espèces parentales qui ont contribué à la formation du génome B du blé tétraploïde et hexaploïde par des méthodes cytologiques mais sans succès.

La cause principale de cet échec est due aux changements qui doivent avoir eu lieu au niveau du génome B lors de son incorporation dans les individus allopolyploïdes. (Sears, 1948 in Sarkar et Stebbins, 1956). Johnson (1975), observa les protéines des graines est propose *T. urartu* comme ancêtre du génome B.

Récemment les cinq espèces *Aegilops* appartenant à la section *Sitopsis* ont été successivement proposés comme donneurs potentiels du génome B : *Ae. bicornis*, *Ae. longissima*, *Ae. searsii*, *Ae. sharonensis*, et plus fréquemment *Ae. speltoides*. En effet, les premières constatations morphologiques faites par Sarkar et Stebbing (1956) Riley et al., (1958) attribuèrent l'origine du génome B à *Ae. speltoides*. Alors que l'utilisation du C-banding par

Gill et Kimber (1974 *in* Hamdi, 2003) montre que les chromosomes d'*Ae. speltoides* ne présentent pas d'homologie avec ceux du génome B.

Les difficultés rencontrées lors de la recherche d'un ancêtre diploïde BB amènent à se demander si le génome B n'a pas une autre origine.

2-3 Origine du génome D :

Kihara (1944), McFaden et Sears (1946 *in* Sarkar et Stebbins, 1956) confèrent l'origine du génome D à *Ae.squarrosa*, ce qui sera confirmé plus tard par Johnson (1972). Royburn et Gill (1987, *in* Monneveux et al 2000) rapportent que *Ae.tauchi* = *Ae.squarrosa* est bien le donneur du génome D. Yan et al (2002), montrent que les profils électrophorétiques obtenus par Acid-PAGE¹ du génome D chez les accessions d'*Ae.tauschii ssp strangulata* sont très proches des profils électrophorétiques de *T.aestivum*, et supposent donc la sous espèce *strangulata* comme progénitrice du blé cultivé.

Depuis longtemps l'origine du génome D reste indéniable et les études ne le cessent de le confirmer, Deng Eao (1997) a démontré qu'il existe une homologie complète des chromosomes d'*Ae.tauchii* avec ceux du génome D de *T.aestivum*. Récemment Boyko et al (2002), ont réussi à établir la carte génétique des 7 chromosomes de *Ae.tauchii* (coss) et ils ont confirmés qu'il est bien le donneur du génome D.

2-4 Origine du génome G :

L'identité du génome G reste controversée, il a été supposé que le donneur est *Ae.speltoides* (Shands et Kimber, 1976), cette hypothèse est appuyée par la technique C-banding réalisé par Gill et Kimber (1974) ainsi que par l'analyse du polymorphisme des protéines des graines (Cadwell et Kasarda, 1978 *in* Hamdi, 2003). Mori et al (1997) ont stipulés qu'*Ae.speltoides* est le donneur du génome G mais pas celui du génome B des blés cultivés.

Récemment, Provan et al (2004 *in* Golovnina et al., 2006) secondent cette hypothèse et rapportent que le donneur du génome G appartiendrait à la section *Sitopsis* et plus souvent *Ae.speltoides*.

¹Acid -Poly Acrylamide Gel Electrophoresis

3- Intérêt des *Aegilops* dans l'amélioration des génomes des blés cultivés :

Le blé est la céréale la plus importante et la plus cultivée dans le monde et cela depuis des milliers d'années, ceci est due principalement à deux raisons : la première c'est sa large distribution et sa capacité à s'adapter à différents types de climat, deuxièmement, à cause des propriétés de la farine du blé dans les domaines d'alimentation. La FAO¹ a estimé la production mondiale de blé à 2065 millions de tonnes durant l'année 2004 à 2005.

Les espèces du genre *Aegilops* constituent une bonne partie du génome du blé. En effet, les blés cultivés sont issus d'hybridation interspécifique entre ses espèces apparentées. De ce fait, une partie de la variabilité présente chez les *Aegilops* ne se trouve pas chez les blés cultivés. On conclut donc que les *Aegilops* sont une ressource génétique importante et des géniteurs éventuels pour l'amélioration des blés cultivés, elles portent des gènes à haut potentiel économique tel que : la tolérance au stress abiotique, résistance aux maladies, la qualité technologique, amélioration du rendement (Monneveux et al., 2000 ; Haider et Nabulsi, 2008 ; Zhang et al., 2001).

3-1 Amélioration de la résistance et/ou la tolérance au stress biotique et abiotique :

Les recherches ont permis d'identifier plusieurs espèces *Aegilops* porteuses de nombreux gènes de résistance aux agents phytopathogènes et aux bioagresseurs les plus nuisibles tout en respectant la santé et l'environnement. Il est question principalement des rouilles, de l'oïdium, du piétin verse, des fusarioses, des pucerons et des virus qu'ils transmettent et des nématodes. (Tableau 3)

En effet, selon Monneveux (2000) plusieurs accessions *Aegilops* ont été sélectionnées et utilisées pour introduire des caractères de résistance, de tolérance aux maladies, aux insectes nuisibles et au stress abiotique tels que : le froid, la chaleur, la sécheresse, la salinité, la toxicité et le déficit en ions...etc. (tableau 4)

Les *Aegilops* sont fréquemment utilisés dans les programmes d'amélioration de la résistance des blés cultivés et beaucoup de gènes d'intérêt sont transférés (tableau 5). La résistance du blé tendre au piétin verse conférée par le gène *Pch1* originaire d'une espèce apparentée au blé *Ae. ventricosa* est un modèle de transfert de gène de caractère pour l'amélioration du blé.

¹Food Agriculture Organisation

Tableau 3 : Liste des espèces *Aegilops* considérées comme source potentielle de résistance aux maladies et aux parasites (Van Slageren, 1994)

Maladie et parasites	Espèces	Génomes	Références
Rouille brune (<i>Puccinia recondidata</i>)	<i>Ae.speltooides</i>	SS	Pasquini, 1980; Hammer, 1985; Gill et al., 1985; Valkoun et al., 1985; Dhaliwal et al., 1986, 1993; Holubec et al., 1992, 1993 .
	<i>Ae.caudata</i>	CC	
	<i>Ae.tauschii</i>	DD	
	<i>Ae.comosa</i>	MM	
	<i>Ae.umbellulata</i>	UU	
	<i>Ae.geniculata</i>	MMUU	
	<i>Ae.neglecta</i>	UUMM	
	<i>Ae.biuncialis</i>	UUMM	
	<i>Ae.triuncialis</i>	UUCU	
Rouille noire (<i>Puccinia graminis</i>)	<i>Ae.speltooides</i>	SS	Pasquini, 1980 ; Hammer,1985 ; holubec et al.,1992, 1993.
	<i>Ae.caudata</i>	CC	
	<i>Ae.tauschii</i>	DD	
	<i>Ae.geniculata</i>	MMUU	
	<i>Ae.neglecta</i>	UUMM	
Rouille jaune (<i>Puccinia striiformis</i>)	<i>Ae.caudata</i>	CC	Valkoun et al., 1985 ; Dhaliwal et al., 1986; Mihova, 1988; Damania et Pectti, 1990; Holubec et al., 1992, 1993 ; Mamluk et Van Slageren, 1994
	<i>Ae.comosa</i>	MM	
	<i>Ae.umbellulata</i>	UU	
	<i>Ae.geniculata</i>	MMUU	
	<i>Ae.neglecta</i>	UUMM	
	<i>Ae.biuncialis</i>	UUMM	
	<i>Ae.triuncialis</i>	UUCU	
Oïdium (<i>Erisiphegraminis</i>)	<i>Ae.speltooides</i>	SS	Bochev et Kounovsky,1978 ; Pasquini, 1980 ; Bennet, 1984 ; Hamner,1985 ; Valkoun et al.,1985; Dhaliwal et al., 1986, 1993; Singh et al., 1988; Holubec et al., 1992, 1993
	<i>Ae.tauschii</i>	DD	
	<i>Ae.comosa</i>	MM	
	<i>Ae.umbellulata</i>	UU	
	<i>Ae.geniculata</i>	MMUU	
	<i>Ae.neglecta</i>	UUMM	
	<i>Ae.biuncialis</i>	UUCU	
	<i>Ae.triuncialis</i>	SSUU	
	<i>Ae.peregrina</i>	SSUU	
Piétin verse (<i>Cercoporellaherpotricoides</i>)	<i>Ae.ventricosa</i>	DDNN	Scott et al.,1976 ; Dosba et al., 1986
	<i>Ae.tauschii</i>	DD	
Carrie (<i>Tilletia indica</i>)	<i>Ae.tauschii</i>	DD	Dhaliwal et al., 1986, 1993; Waham et al., 1986; Pannu et al.,1994
	<i>Ae.caudata</i>	CC	
	<i>Ae.speltooides</i>	SS	
Fusariose (<i>fusarium culmorum</i>)	<i>Ae.tauschii</i>	DD	Saur, 1991
	<i>Ae.cylindrica</i>	CCDD	
Septoriose (<i>Septori nodorum</i>)	<i>Ae.tauschii</i>	DD	Jahier et Trottet, 1980; Hammer, 1985, Mamluk et Van Slageren, 1994
	<i>Ae.speltooides</i>	SS	
	<i>Ae.cylindrica</i>	CCDD	
Nématodes à kystes (<i>Heterodora avenae</i>)	<i>Ae.comosa</i>	MM	Rivoal, 1982; Dosba et al.,1986 ; Dosba et al., 1992
	<i>Ae.umbellulata</i>	UU	
	<i>Ae.unaristata</i>	NN	
	<i>Ae.ventricosa</i>	DDNN	
	<i>Ae.peregrina</i>	SSUU	
	<i>Ae.caudata</i>	CC	
	<i>Ae.cylindrica</i>	CCDD	
	<i>Ae.triuncialis</i>	UUCU	
	<i>Ae.geniculata</i>	MMUU	
Nématodes à galles(<i>Meloidogyne naasi</i>)	<i>Ae.umbellulata</i>	UU	Dosba et al., 1982 ;Person Dedyver et Jahier, 1985
	<i>Ae.peregrina</i>	SSUU	
Punaise du blé (<i>Schizaohis graminium</i>)	<i>Ae.tauschii</i>	DD	Hatchett et Gill,1981 ; Gill et al., 1985 ; Raupp et al., 1988
	<i>Ae.cylindrica</i>	CCDD	
	<i>Ae.ventricosa</i>	DDNN	
	<i>Ae.geniculata</i>	MMUU	
	<i>Ae.tauschii</i>	DD	Dhaliwal et al., 1993

Tableau 4 : Liste des espèces *Aegilops* considérées comme source potentielle de résistance aux stress abiotique (Monneveux et al., 2000)

Stress abiotique	espèces	Génomes	références
Stress salin	<i>Ae.tauschii</i>	DD	Farook et al., 1989 ; Gorham, 1990 ; Xu et al., 1993 ; Farook, 1994
	<i>Ae.comosa</i>	MM	
	<i>Ae.umbellulata</i>	UU	
	<i>Ae.cylindrica</i>	CCDD	
	<i>Ae.neglecta</i>	UUMM ou UUMMNN	
	<i>Ae.triuncialis</i>	UCC	
	<i>Ae.kotschyi</i>	SSUU	
	<i>Ae.crassa</i>	DDDDMM	
	<i>Ae.juvenalis</i>	DDMMUU	
	<i>Ae.vavilovii</i>	DDMMSS	
Froid	<i>Ae.tauschii</i>	DD	Barashkova, 1981 ; Liminet Fowler, 1981 ; Barashkova et Vavilov, 1991
	<i>Ae.umbellulata</i>	UU	
	<i>Ae.cylindrica</i>	CCDD	
	<i>Ae.neglecta</i>	UUMM ou UUMMNN	
	<i>Ae.triuncialis</i>	UCC	
Déficit hydrique	<i>Ae.tauschii</i>	DD	Mayoral et al., 1981 ; Shimshi et al., 1993 ; Rekika et al., 1995
	<i>Ae.sharonensis</i>	S ¹ S ¹	
	<i>Ae.longissima</i>	S ¹ S ¹	
	<i>Ae.kotschyi</i>	SSUU	
	<i>Ae.geniculata</i>	MMUU	
	<i>Ae.triuncialis</i>	UCC	

Tableau 5 : Transfert chez le blé de gènes de résistance aux maladies et aux parasites, issues de différents espèces du genre *Aegilops* (Zaharieva, 1996)

Maladies et parasites	Espèces	Génomes	Références
Rouille brune (<i>Puccinia recondita</i>)	<i>Ae.umbellulata</i>	Lr 9	Sears (1956) Dvorak, (1977); McIntoch et al., (1988).
	<i>Ae.speltoides</i>	Lr 28, Lr 35, Lr 36	
	<i>Ae.tauschii</i>	Lr 21, Lr 22, Lr 32, Lr 39, Lr 41	
Rouille noire (<i>Puccinia graminis</i>)	<i>Ae.speltoides</i>	Sr 32 Sr 34	McIntoch, (1988); McIntoch et al., (1982)
	<i>Ae.comosa</i>	Yr8	
	<i>Ae.comosa</i>		
Rouille jaune (<i>Puccinia striiformis</i>)			Riley et al., (1968)
Oïdium (<i>Erysiphe graminis</i>)	<i>Ae.speltoides</i>	Pm12	Miler et al., (1988)
	<i>Ae.longissima</i>	Pm13	Ceoloni et al., (1988)
<i>Pietin verse</i> (<i>Cercoporella herpochtrichoides</i>)	<i>Ae.ventricosa</i>	Ph1	Maia (1967) ; Dosba et Doussinault (1973,1977). Jahier et al.,(1978) ;Doussinault et al.,(1983)
Nématodes à kystes (<i>Heterodera avenae</i>)	<i>Ae.ventricosa</i>	Mn1	Dosba et Rivoal (1981) ; Rivoal et al., (1986b) Yu et al., (1990) Htchett et al.,(1981) ; Raupp et al., (1993)
	<i>Ae.pêgrina</i>	H13, H22, H23, H24	
Nématode à galle (<i>Meloidoginaasi</i>)	<i>Ae.tauschii</i>		
Cécidomyie (<i>Mayetiola destructor</i>)			
Punaise du blé (<i>Schizaphis graminim</i>)	<i>Ae.speltoides</i>	Gb5	Tyler et al., (1987)

Le gène Pch1 a été mis en évidence chez *Ae.ventricosa* par Sprague (1936, in Doussinault et al., 2002), différents croisements entre des blés tétraploïdes et *Ae.ventricosa* ont été effectués. *Ae.ventricosa* ($2n=28$, $D^vD^vM^vM^v$) peut en effet donner des hybrides fertiles par croisement avec les blés tétraploïdes ($2n=28$, AABB) et dédoublement du nombre de chromosomes de l'hybride F1 (ABD^vM^v).

On obtient des amphiploïdes à $2n=56$, $AABBD^vD^vM^vM^v$. Ainsi l'amphiploïde *Ae. ventricosa* × *T. persicum* a été obtenu par Ometz en 1953 puis croisé avec la variété blé tendre Marne, des lignées à 42 chromosomes ont été sélectionnées est appelés VPM. La première variété VPM a été inscrite cv.Roazon en 1978 (Jahier et al), le gène a été localisé sur le bras long du chromosome 7D (Doussinault et al.,2002).

3-2 Amélioration de la qualité technologique :

Branlard et Autran (1987) définissent la notion de qualité comme étant un caractère polygénique qui est à la fois dépendant des variétés, des conditions de culture et de l'interaction génotype × milieu.

Il est connu depuis longtemps que la qualité technologique de la farine du blé est influencée par les protéines du gluten qui se différencient d'une façon quantitative et qualitative d'un individu à un autre.

Les espèces sauvages apparentées aux blés sont des géniteurs potentiels dans l'amélioration de la qualité de ce dernier. En effet, les récentes recherches sur différentes et plusieurs accessions de blé hybride montrent un déficit considérable concernant la variabilité génétique des protéines du gluten par rapport à leur géniteurs ce qui a influencé négativement la qualité des produits finis (Shewry et al., 1994).

Ciaffi et al (1992) ont évalué les paramètres de qualité des graines issues d'une large collection de progéniteurs de blé (*T.boeiticum*, *T.urartu* et *T.dicoccoide Korn*) est ont étudiés la variation allélique au niveau des loci qui conditionnent la qualité du blé cultivé chez des blé diploïdes, tétraploïdes et amphiploïdes synthétiques (AA BB DD), ils conclurent que les propriétés du gluten ont une relation étroite avec les composantes protéiques et qu'il existe une plus grande variabilité allélique chez les espèces parentales par rapport à celle des espèces

cultivées. Ils ont donc proposé une nouvelle approche pour l'amélioration de la qualité des blés cultivés par l'augmentation de l'activité d'expression des SG-HPM grâce au remplacement des gènes du locus Glu-1 par les gènes équivalents provenant de différentes accessions de *T.urartu* et *T.dicoccoide*.

Dousinanlt et al.,(2002) rapportent que ce déficit de variabilité est du principalement aux programmes d'amélioration de la productivité et de la résistance portés par les variétés anciennes au détriment de la qualité.

Pour venir a bout de ce problème, les sélectionneurs ont eu recoure à l'exploitation des ressources génétiques que représentent les espèces apparentées, parmi les espèces connues porteuses des gènes contribuant dans l'amélioration de la qualité des protéines de réserve citons : *Aegilops*, *Agropyrum*, *Secale* (Law et al.,1984) et *Hordeum chilence* (Martin et Alvarez, 2001).

Malgré les progrès établis par les recherches portées sur les protéines de réserve du blé et leurs rôles dans la qualité technologique de la farine, les exigences pour une meilleure qualité ne cessent de s'accroître et rendent donc les connaissances actuelles insuffisantes.

Nevo et Payne (1987 in Shahid Masood et al., 2000) étudièrent la diversité des sous unités glutenines HPM chez les progéniteurs tétraploïdes du blé, et ont observé que *T.dicoccoide* contient plusieurs variantes alléliques de SG-HPM qui ne sont pas présents chez les blé cultivé, et qui peuvent donc servir dans l'amélioration de la qualité du gluten chez le blé.

Ces mêmes auteurs ont rapporté qu'*Ae.squarrosa* (*Ae.tauschii*) a fait l'objet d'études électrophorétique en utilisant la SDS-PAGE¹ par Lawrence et Shepherd (1981) pour ses sous unités gluténine HPM et le rôle quelles peuvent jouer dans l'introgréssion de gène de caractères.

D'ovidio et al (1992) ont détecté un haut taux de polymorphisme concernant les gènes des fractions gluténines et gliadines entre les espèces *Aegilops* et *Triticum*.

¹Sodium Dodecyl sulphat- Poly Acrilamide Gel Electrophoresis

Les études faites par Yan et al (2002) sur les gènes des gliadines ont rapportés qu'elles exprimées un haut degré de polymorphisme, 12 blocs de gliadines ont été codés par différents allèles apparemment exprimés et identifier chez 6 hémiploïdes synthétisés produits par hybridation (*T.durum* et *Ae.tauschii*), les mêmes auteurs caractérisent 42 combinaisons de sous unité gluténines HPM dans plusieurs accession d'*Ae.tauschii* pour les quelles plusieurs allèles ne sont pas présent chez le blé cultivé.

En 2003, Liu et al ont étudiés les SG-HPM de deux espèces *Aegilops* : *Ae.umbellulata* (UU) et *Ae.caudata* (CC) et rapportent que l'expression des gènes des SG-HPM est similaire à celle des blés hémiploïdes et par conséquent, les SG-HPM des deux espèces peuvent avoir un potentiel dans les processus d'amélioration des propriétés des blés hexaploïdes.

Récemment, Kan et al (2006) ont analysé les profils transcriptionnels d'*Ae.caudata*, *Ae.cylindrica* et *Ae.tauschii* et conclues qu'ils se rapproché des gamma-gliadine et des SG-FPM des blés hémiploïdes. Par conséquent, ils peuvent être une source d'approvisionnement de gène pour le blé. Durant la même année Sun et al identifèrent une nouvelle variante des SG-HPM chez *Ae.searsii*.

En 2008, Jiang et al ont réussis a identifié 4 nouvelles sous unité glutenine FPM du génome des espèces *T.dicoccoide*, *T.zhukovsky* et *Ae.longissima* qui sont associés a une bonne qualité du gluten et de la pâte.

Les protéines du blé sont pauvres en acides aminés essentiels à cause d'un niveau limité de lysine et thréonine (Garg et al, 2007), augmenter la proportion de lysine dans le blé conduirait à élever sa valeur nutritionnelle, les espèces de la section *Sitopsis* peuvent être utilisées comme source pour l'expression du génome B ou S qui code les sous unité de la triticine, une protéine riche en lysine et qui est présente chez les blés cultivés.

3-3 Introgression de caractère d'intérêt :

L'amélioration génétique d'une espèce cultivée repose en grande partie sur la gestion et l'exploitation de la variabilité qu'elle présente (Dosba et Doussinault, 1978), cependant cette variabilité peut être limitée (absente, ou restreinte) dans un taxon donné, pour surmonter ce problème les sélectionneurs ont adoptés la stratégie de l'hybridation interspécifique.

L'exploitation des hybrides issus du croisement interspécifique entre blé et ses espèces apparentées pour l'amélioration du blé est exemplaire, des milliers d'accessions d'*Aegilops* et *Triticum* ont été collectés et emmagasinés dans divers centres de ressources génétiques, ces ressources conduisent à des assortiments d'allèles utilisés pour son amélioration, et plusieurs gènes ont eu un impact important dans l'amélioration du blé. (Monneveux et al.,2000)

Chapman (1989 in Monneveux et al.,2000) a estimé que ces ressources ont été utilisées approximativement que 10% dans les croisements entre le blé et ses espèces apparentées. A ce jour, au moins 100 hybrides intergénériques concernant 10 genres ont été obtenus. Des croisements plus larges peuvent être plus efficaces dans les jours futurs.

Lorsqu'un trait intéressant est identifié, la difficulté de le transférer au blé cultivé constitue un véritable obstacle, de plus un transfert complet peut prendre plusieurs années. En effet le transfert d'information génétique étrangère dans les blés se heurte à de nombreuses difficultés qui concernent :

- L'hybridation elle-même : à cause des barrières d'isolement interspécifiques tels que l'absence de germination du pollen, l'arrêt précoce du développement de l'embryon et/ou de l'albumen, etc. Heureusement quelques approches nouvelles sont très efficaces le plus connu étant le sauvetage d'embryon par la culture in vitro.

- Stérilité de la descendance : les progénitures issues du croisement des hybrides F1 sont généralement stériles. L'obtention de descendance peut être envisagée par la production d'amphiploïdes à l'aide du doublement des chromosomes à la colchicine et le rétrocroisement des hybrides F1 par l'un des parents.

- L'expression des caractères recherchés chez l'hybride F₁ et ses descendants.

- L'intégration de l'information génétique étrangère au génome receveur. Deux situations à envisager :

- Lorsque les géniteurs sauvages sont les espèces progéniteurs des blés ou des *Aegilops* polyploïdes possédant dans leur formule le génome D, le passage des gènes d'intérêts vers les chromosomes de blé se fait sans difficulté majeure à la suite de crossing-over entre

chromosomes homologues. En effet, les chercheurs parmi eux Cox (1998) considèrent le génome D comme le biais le plus sûr pour l'introgession de nouveaux caractères, car c'est le génome le plus stable et celui qui n'a pas subi de translocation majeure durant l'évolution du blé.

- Lorsque les gènes « étrangers » sont portés par des chromosomes homéologues de ceux de blé, les introgressions par recombinaison méiotique ne peuvent être obtenues. Dans ce cas, on vise à recombiner des segments chromosomiques les plus courts possibles pour éviter d'introduire avec le gène d'intérêt des gènes délétères ou ayant un effet négatif sur la valeur agronomique. De plus, il est indispensable que les lignées d'introgession soient génétiquement équilibrées, ce qui revient à dire que le segment chromosomique introgressé doit prendre la place d'un segment homéologue qui par définition porte une information génétique similaire.

L'absence de recombinaison est due à un système génétique dont l'élément majeur est le gène Ph1. En neutralisant ou en éliminant ce gène par la création de lignée de blé Ph1-déficiente, il est possible d'induire des appariements et des recombinaisons entre les chromosomes de blé et la plupart de ceux de la tribu des Triticées.

4- polymorphisme et la phylogénie des espèces appartenant à la section *Sitopsis* et les blés cultivés :

Les études de phylogénie et les dendrogrammes établis indiquent que parmi les espèces *Sitopsis*, *Ae. speltoides* a la plus courte distance au *T.aestivum* et *T.turgidum*. En effet, Sasanuma et al (1996) rapportent que la distance génétique entre *Ae.speltoides* et le blé tétraploïde et hexaploïde est similaire à celle de *T.urartu* au blé tétraploïde et hexaploïde. Peterson et al (2006), Sallares et Brown (2004) rapportent que le génome d'*Ae.speltoides* devrait être désigné par B non pas par S.

Tandis que l'origine des génomes A et D des blés cultivés soit irréfutable, celle du génome B est soumise à plusieurs suppositions :

- Le génome B aurait une origine polyphylétique : Ogihara et Tsunewaki(1988) et Miyashita et al., (1994 in Wang et al.,2007) suggèrent une origine diphylétique d'un grand nombre de tétraploïdes à partir de deux types différents d'*Ae.speltoides* avec des contenus plasmiques différents (plasmotypes).

De plus, une séquence spécifique d'un chromosome existe seulement chez *Ae.searsii* et le blé et pas dans les autres espèces du génome S, ce qui suppose que l'origine du génome B soit polyphylétique, il est issu de recombinaison entre deux ou plusieurs espèces *Aegilops* diploïdes. (Liu et al, 2003)

Sarkar et Stebbing (1956) supposent que deux allotétraploïdes AX et AY, ayant chacun le génome A, ont pu s'hybrider et dans la descendance les génomes X et Y ont pu se réarranger pour donner naissance au génome B.

Wang et al (2007) rapportent que différentes espèces diploïdes *Aegilops* ont constitué à la formation de l'inhibiteur amylase (enzyme) chez le blé polyploïde par réarrangement de leurs gènes.

- Le génome B dériverait d'un autotétraploïde AAAA. Cette hypothèse semble peu probable à Kerbey et Kuspira (1987 in Hamdi, 2003).

Enfin, il est à envisager que le donneur du génome B soit une espèce pas encore découverte ou même éteinte.

D'autres auteurs proposent *Ae.searssi* comme donneur potentiel du génome B, parmi eux Feldman et Kislev (1977) qui ont expliqué qu'*Ae.searssi* est la seule espèce de la section *Sitopsis* à occuper les mêmes régions géographiques que *T. turgidum* et *T. monococcum*.

Selon Natarjan et Sarma (1974 in Fernandez-Calvin et Orellan, 1990) le C-banding indique que la distribution de l'hétérochromatine dans les chromosomes d'*Ae.sharonensis* est identique à celle observée dans les chromosomes du génome B contrairement à *Ae.longissima*.

En revanche, Ogihara et Tsunewaki (1982) ont rapportés que les profils de restriction du DNA chloroplastique chez *T.turgidum* sont identiques à ceux d'*Ae.longissima*. Konarev (1983 in Fernandez-Calvin et Orellan, 1990) a montré que quelques albumines et gliadines d'*Ae.longissima* et *Ae.searsii* sont identiques l'un à l'autre mais aussi à ceux contrôlés par le génome B chez le blé polyploïde.

Les études moléculaires et cytogénétiques qui ont été conduites sur cette section ont souligné 3 conclusions :

- *Ae.speltoide* est distinctivement séparée des autres espèces *Sitopsis*.
- *Ae.speltoide* présente plus de similarité avec le genre *Triticum* (commun AABBDD, Emmer AABB, Timopheevi AAGG).
- *Ae.speltoide* présente le plus haut taux de variation intraspecificque.

4-1 Variations intraspecificque :

A fin de clarifier les relations phylogénétiques des espèces de la section *Sitopsis*, plusieurs études ont été entrepris. Sasanuma et al (1996) se sont basés sur la variation existante au niveau du DNA nucléaire par la technique RFLP¹ et ont révélés un haut taux de variation intraspecificque chez *Ae. speltoides* par rapport aux autres espèces *Sitopsis*.

Le niveau de polymorphisme qui a été observé chez *Ae.speltoides* est apparemment plus élevé que celui reporté chez les espèces *Triticum* alors que les 4 autres espèces *Sitopsis* ont révélé plus au moins un taux similaire de variation intraspecificque à celui des espèces *Triticum*. Les mêmes auteurs proposent deux explications possibles du haut taux de variation intra spécifique chez *Ae.speltoides* :

- Cette variation est due à la différence du système de reproduction, *Ae. speltoides* est allogame alors que les autres espèces *Sitopsis* sont autogames, et les allogames présentent une plus grande variabilité que les autogames. Ce ci est approuvé par Goryunova et al (2008).
- Une autre possibilité, leur temps d'origine, *Ae. speltoides* est la plus primitive des espèces diploïdes d'*Aegilops*.

D'autre par, les études par RFLP du DNA chloroplastique (Ogihara et Tsunewaki, 1988 in Sasanuma et al.,1996), et le DNA mitochondrial (Graur et al., 1989 in Haider et nabulsi, 2008) montrent que le genre *Aegilops* présente une variation intraspecificque plus significative pour leur DNA moléculaire et mitochondrial alors que le DNA provenant du chloroplaste n'expose pas tellement de divergence car ce dernier est sans doute mieux conservé.

¹Restriction Fragment Length Polymorphism

Ogihara et Tsunewaki (1988 in Sasanuma et al.,1996) concluent que la majorité du DNA chloroplastique différerait au niveau diploïde et ne change pas après polyploidation.

Goryunova et al (2007) rapportent par analyse RAPD¹ du DNA nucléaire qu'*Ae.speltoïdes* est la plus polymorphe du groupe *Sitopsis*. *Ae.bicornis* et *Ae.searsii* sont les moins polymorphes et *Ae.longissima*, *Ae.sharonensis* sont intermédiaires.

L'étude des profils protéiques par SDS-PAGE faite par Fernandez-calvin et Orellana (1999) affiche les mêmes résultats, *Ae.bicornis* et *Ae.searsii* ne présentent pas de variabilité au niveau de ses bandes de sous unités gluténines HPM, *Ae.speltoïdes* est la plus variable, *Ae.longissima*, *Ae.sharonensis* présentent une mobilité électrophorétique intermédiaire.

4-2 Relation interspécifique :

Les analyse du DNA nucléaire (Sasanuma et al., 1996), du DNA chloroplastique (Haider et Nabulsi, 2007), et la technique RAPD (Goryunova et all, 2008), appuient Eig (1929) et Feldman (1978) et classent les 5 espèces de la section *Sitopsis* en deux groupes : sous section *Truncata* (comprenant *Ae. speltoïdes* = *Ae.aucheri*, ont des types morphologiques différents mais sont considérées comme une même espèce) et la sous section *Emarginata* (comprenant *Ae. bicornis*, *Ae. sharonensis*, *Ae. longissima* et *Ae.searsii*).

Parmi les 4 espèces, *Ae.searsii* est très différente des autres, elle possède une paire chromosomique satellifere (Feldman, 1978 in Sasanuma, 1996) ayant la même morphologie que le chromosome B1 et B6 de *T.aestivum*. Tandis que les analyses moléculaires et les comparaisons morphologiques indiquent des similarités entre *Ae. bicornis*, *Ae. longissima* et *Ae. sharonensis*, il a été démontré qu'*Ae. longissima* diffère de *Ae. sharonensis* par une translocation chromosomique des chromosomes 4 S et 7 S. (Zhang et al, 2001).

Le temps de divergence des deux sous section *Sitopsis* est d'environ $1.2-1.7 \times 10^6$ années, cette estimation indique que la divergence des espèces *Emarginata* peut avoir eu lieu en même temps que la divergence des sous sections. (Sasanuma et al.,1996)

¹Random Amplification of Polymorphic DNA

4-3 Du génome S au génome B :

Les allopolyploïdes dérivés d'hybridation inter et intraspécifiques contiennent 2 ou plusieurs génomes homologues différents, par l'hybridation et le dédoublement du matériel génétique, l'amphiploïde formé peut entrer dans un processus de spéciation qui contraint son génome combiné à quelques changements (Leitch et Bennett, 1997) qui le rendent différent.

Des séries d'études sur les allopolyploïdes des *Triticées* et particulièrement le complexe *Triticum-Aegilops* ont révélé des changements et modifications génétiques (Ozkan et al., 2001, Shaked et al., 2001 in Han et al, 2003) qui se réduisent à l'élimination de petites séquences de DNA répétées codantes ou non-codantes, par exemple, il a été prouvé qu'une séquence de DNA répétée chez *Ae. speltoides*, *Ae. sharonensis*, *Ae. longissima* (les 3 donneurs potentiels du génome B) n'est présente dans aucun blé synthétisé ayant pour parents ces espèces, ce qui suppose son élimination (Ananthawat-jonsson et Heslop-Harrison, 1993 in Han, 2005).

De plus une réduction significative dans le nombre de copie de *Spelt1*, une famille de DNA subtelomérique répétée qui représente 2% du génome *Ae. speltoides*, a été trouvée dans le blé tétra et hexaploïde naturel (*T. turgidum* et *T. aestivum*) (Pestsova et al., 1998, Salina et al., 2004). Aussi, une famille de DNA spécifique à *Ae. speltoides* a été rencontrée chez le blé. (Daud et Gustafson, 1996 in Han et al. 2003).

Pour finir, une comparaison globale de la valeur G (taille du génome) entre des *Triticum* polyploïdes synthétisés et leurs parents montre une baisse de la taille du génome.

Selon Han (2003), une affirmation de l'élimination des séquences présentes chez les ancêtres du blé n'est pas totalement acceptable tant qu'on ne connaît pas exactement les parents. Mais en utilisant l'hybridation fluorescente in situ (FISH¹), il conclut que les polyploïdes issus du complexe *Triticum-Aegilops* peuvent être accompagnés par une élimination rapide des séquences de DNA spécifiques aux parents. Ogihara et Tsunewaki (1988 in Haider et Nabulsi, 2008) ont observés plusieurs mutations dans le génome chloroplastique qui ont séparés *T. aestivum* d'*Ae. speltoides*.

¹ Fluorescent In Situ Hybridization

L'amplification PCR¹ a été utilisée afin d'obtenir des séquences informatives pour l'analyse phylogénétique à partir des gènes codants pour les gluténines de haut poids moléculaire chez le blé, la topologie de l'arbre était compatible avec les relations postulées entre les génomes A, B, D et G. L'origine des quatre génomes daterait d'environ 5-6.9 millions d'années tandis que la séparation des génomes B et G se serait produite il y a 2.5-3.5 millions d'années. (Allaby et al.,1999)

5- Les protéines du grain d'*Aegilops* :

Le grain d'*Aegilops* est comme celui du blé constitué de l'embryon, l'albumen (amande) et la couche à aleurone. L'amande broyée est constituée de : 70%-80% de glucides, 9 à 15 % de protéines essentiellement des protéines de réserve (Félix, 1996), 1.5%-2% de lipides et des enzymes.

5-1 Classification :

Les premières études menées autour des protéines de réserves remontent au XVIII^e siècle par Beccari (1745). En 1924, Osborne propose une classification devenue classique basée sur la solubilité des protéines de réserve dans une série de solvants, les albumines soluble dans l'eau, les globulines solubles dans les solutions salines, les prolamines solubles dans des mélanges hydro-alcooliques, et les gluténines qui sont solubles dans des solutions basiques ou acides.

La classification d'Osborne bien que commode par sa simplicité ne s'avèrent pas totalement sélective vis-à-vis des substances non protéiques et ne les prend pas en considération. Effectivement, les gluténines et les albumines sont associées à un taux significatif de substances non protéiques telles que les lipides, il y aurait donc des contaminations d'une classe protéique à un autre, la fraction la plus pure étant les gliadines (Feillet, 1965 *in* Cherdouh, 1999)

¹Polymerase Chain Reaction

En 1983, Bright et Shewry adoptent une classification basée sur les propriétés fonctionnelles des protéines dans la graine, cette classification est plus appropriée que celle faite par Osborne et les classent en deux groupes :

-protéines cytoplasmiques ou métaboliques : caractérisées par les albumines et les globulines qui constituent 12 à 20% des protéines totales, et regroupant aussi les enzymes, les protéines membranaires, les protéines de régulation non enzymatiques, les protéines organelles, etc.(Lavollay, 1968 ; Bushuk et Wrighly, 1974 ; Pomeranz, 1984 *in* Cherdouh, 1999 ;Belitz et Grosh ,1987 *in* Hamdi, 2003).

-les protéines de réserve : correspondant aux prolamines regroupant les gliadines et les gluténines présentent dans l'albumen (Mosse, 1968 *in* Amieur, 1994), les gluténines constituent approximativement 40% des protéines totales, alors que les gliadines représentent la fraction la plus importante avec un pourcentage d'environ 50% des protéines totales. Shewry et al (1986 *in* Cherdouh, 1999) ont subdivisés cette classe en 3 groupes :

-prolamine de haut poids moléculaire.

-prolamine riche en soufre.

-prolamine pauvre en soufre.

Une autre classification basée sur la morphologie de la graine est possible où les protéines pourraient être divisées en trois groupes : protéines de l'albumen, protéines de la couche à aleurone et protéines de l'embryon.

Après une extraction séquentielle des gluténines et gliadines et une réduction des gluténines par le 2-mercaptoéthanol ou le dithiothreitol, la classification basée sur la mobilité électrophorétique est la plus utilisée (Khan et Bushuk, 1979 ; Payne et Corfield, 1979 *in* Cherdouh, 1999 ; Jackson et al., 1983 *in* Khelifi, 1991)

- Les sous unités gluténines de haut poids moléculaires (80.000-130.000 Da)
- Les sous unités gluténine de faible poids moléculaire (40.000-50.000 Da)
- Les α - gliadines PM 32.000 -36.000 Da

- Les β - gliadines PM 37.000 -38.000 Da
- Les γ - gliadines PM 38.000 -44.000 Da
- Les ω - gliadines PM 69.000 -78.000 Da

Les différentes possibilités de classification sont résumées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Les différentes classifications des protéines.

Selon la morphologie du grain	Selon la fonction biologique	Selon la solubilité	Selon la composition chimique
Protéines de l'albumen	Métaboliquement actives/ protéines cytoplasmiques	Albumines	Protéines simple
	Enzymes		
Protéines de la couche à aleurone	Protéines membranaires	Globulines	Protéines complexe
	Protéines des ribosomes		Lipo-protéines
	Protéines de régulation		Glyco-protéines
	Autres protéines	Prolamines	Protéines nucléaires
	Protéines de réserve		
FPM et HPM	Glutélines		

5-2 Le gluten :

Wieser (2006) a défini le gluten comme une masse caoutchouteuse obtenu après lavage pour éliminer la majeure partie de l'amidon et d'autres composants solubles dans l'eau, il contient 75 – 85% de protéines et 5-10% de lipide. La majeure partie de ces protéines correspond aux prolamines, d'autres protéines sont aussi présentes en petite quantité et peuvent avoir un impact important dans les propriétés fonctionnelles du gluten. (Kobrehal et al, 1991 in Shewry et al., 1996).

Le terme de gluten réfère directement aux protéines car elles sont responsables de la qualité du blé. En effet, Shewry et al (1996) rapportent qu'elles confèrent les caractéristiques de viscosité et d'élasticité à la pâte. La fraction du gluten est hautement cohésive et possède une combinaison de deux propriétés physiques, il est élastique mais aussi très extensible, ces propriétés et leurs combinaisons sont importantes pour déterminer l'utilisation du blé.

Le gluten du blé consiste en plus de 50 composants protéiques (Shewry et al, 1987) qui sont traditionnellement classés en 2 groupes : les gliadines et les gluténines, les propriétés

viscoélastiques sont liés à certaines composantes de ses protéines, pour simplifier, le gluten constituerait une glue où les gliadines jouent le rôle de solvant (masse élastique) pour les gluténines (masse visqueuse) (Wieser, 2006). Ses protéines sont caractérisées par leur composition en acides aminés, qui est riche en glutamine et en proline et pauvre en acide aminé chargés.

La structure du gluten est maintenue par des liaisons covalentes disulfure formant des ponts intra et inter moléculaires entre les composantes protéiques, la structure du gluten est maintenue aussi par des liaisons non covalentes : hydrophobes, hydrogènes et ioniques. Bien que les liaisons non covalentes soient moins énergiques que les liaisons covalentes, elles sont néanmoins impliquées dans l'agrégation des protéines du gluten et dans la structure de la pâte (Wieser, 2006). De plus, même si les propriétés visco-élastique sont principalement dues aux protéines, les interactions que peuvent avoir ses dernières avec d'autres composants non protéiques tels que les lipides peuvent jouer un rôle majeur dans les propriétés du gluten. (Belton et al., 1987 *in* Shewry et al., 1996)

Les gliadines et gluténines sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique et sont ensuite déposées dans des corps protéiques, sortes de petites vacuoles ayant environ 1 micron de diamètre. D'autres protéines sont transportées via l'appareil de golgi vers la vacuole où elles formeront des dépôts de protéines. (Shewry, 1999 *in* Anjum et al., 2007).

Au moment où les cellules de l'albumen se remplissent d'amidon, les corps protéiques fusionnent puis éclatent lors de la déshydratation du grain pour former une matrice qui va entourer d'une manière plus ou moins continue les granules d'amidon (Parker, 1980 *in* Shewry et al., 1996). Le rôle biologique des protéines du gluten est de fournir un stock d'acides aminés nécessaires pour la germination de l'embryon.

Pour chaque céréale des noms spécifiques ont été donnés à la fraction protéique. Pour les blés apparentés comme les blés cultivés, les prolamines sont nommées gliadines et les glutélines sont appelées gluténines.

5-2-1 Les gliadines : *composition en acides aminés, structure et conformation*

C'est la fraction protéique qui est défini par Osborne (1924) soluble dans les alcools, ils se présentent sous forme de monomères et ne forment que des liaisons disulfure intra moléculaires, si les résidus cystéines sont présents (Shewry et al., 1986 ;D'ovidio et Masci, 2004). Elle constitue 30 à 50% des protéines totales, et sont caractérisées par leur teneur élevée en résidus hydrophobes (Gly, Ala, Val, Leu et Ile) et la faible quantité d'acides aminés chargés (Lys, Arg, His, Asp et Glu). D'autres part, environ 85 à 95 % des résidus acides glutamiques et acides aspartiques sont sous forme amidée (Ewart,1983).

Ils sont classés en 4 groupes sur la base de leur mobilité électrophoretique : α -, β -, γ - et ω -gliadine selon l'ordre décroissant de leur mobilité électrophoretique. (Bietz,1979; Weiser et al.,1987 in Hamdi, 2003).

Les études sur les séquences en acide aminés montrent que la mobilité électrophorétique ne reflète pas toujours les relations entre les fractions protéiques et que les α - et les β - gliadines sont joints dans un seul groupe (α/β - gliadines) (Weiser, 2006). Tatham et al.,(1990) ont considéré que les α - et γ - gliadines peuvent être assimilées à une seule catégorie, et que aucune différences d'ordre génétique ou structurale ne les différencient.

De nouvelles méthodes telles que la 2D¹ ou RP-HPLC² permettent une séparation de la fraction gliadine en plus de cent composants. Wieser (1996) a classé les gliadines en 4 types différents : $\omega 5$ -, $\omega 1,2$ -, α/β et γ - gliadines en se basant sur la composition en acides aminés (tableau 7)

¹Électrophorèse bidimensionnelle

²Reserved Phase-Hight Performance Liquid Chromatography

Récemment, Wieser (2006) rapporte qu'une portion mineur des gliadines sont liés aux gluténines et apparaissent non seulement dans la fraction oligomère des gliadines soluble dans l'alcool mais aussi dans la fraction polymère des gluténine insolubles dans l'alcool; cette fraction d'oligomères est appelées : gliadine de haut poids moléculaire, gliadine agrégés ou gluténine soluble dans l'éthanol (Shewry et al.,1983 ; Huebner et Bietz, 1993). Cette fraction contient les α/β - et γ - gliadines et des sous unités FPM liés par des ponts disulfure inter moléculaires. Le poids moléculaire est d'environ 100 à 500 Kda.

Tableau 7 : caractérisation des types de protéines du gluten. (in Wieser, 2006)

Type	PM×10 ³ (Dalton)	proportion ^a	composition partielle en acide aminé (%)				
			Gln	Pro	Phe	Tyr	Gly
ω 5-gliadine	49-55	3-6	56	20	9	1	1
ω 1,2-gliadine	39-44	4-7	44	26	8	1	1
α/β -gliadine	28-35	28-33	37	16	4	3	2
γ -gliadine	31-35	23-31	35	17	5	1	3
x- SG-HPM	83-88	4-9	37	13	0	6	19
y- SG-HPM	67-74	3-4	36	11	0	5	18
SG-FPM	32-39	19-25	38	13	4	1	3

^a proportion par rapport aux protéines totales

Des différences dans la structure ou dans la composition en acides aminés des gliadines sont rapportées d'une sous unité à une autre et jusqu'au sein de la même sous unité, elles sont principalement due à la substitution, délétion ou encore l'insertion d'un résidu acide aminé, d'où la séparation des ω -gliadines en deux groupes par Wieser (2006), les ω -5 gliadines ont un poids moléculaire plus élevé que celui des ω 1,2 gliadines. Les ω - gliadines sont caractérisés par un haut taux de glutamine, proline et phénylalanine qui représentent ensemble environ 80% de la composition totale en acide aminé.

La majorité des ω -gliadine ne possèdent pas de résidus Cystéines ni de résidus Méthionine. Par conséquent, ils sont incapables de former des liaisons disulfures. Alors que les autres

classes et notamment les α -gliadines sont caractérisées par une teneur plus élevée en acides aminés basiques (Charbonnier et *al.*, 1980). Les α/β - et γ - gliadines ont un poids moléculaire d'environ ($\approx 28.000-35.000$) et leurs proportions en glutamine et proline est moins élevée que celles des ω - gliadines. (Tableau 7).

Les fractions α/β - et γ - gliadines ont des poids moléculaires qui se chevauchent et présentent une composition en acide aminé voisine par rapport aux ω - gliadines (tableau 1), c'est sur cette constatation que Shewry et al., (1986) ont classé les gliadines selon leur composition en acides aminés, les ω -gliadines appartiennent aux prolamines pauvres en soufre alors que les α -, β - et γ -gliadines appartiennent aux prolamines riches en soufre.

La structure des ω - gliadines consiste principalement en des séquences répétitives riches en glutamine et proline (Pro Gln Gln Pro Phe Pro Gln Gln). La composition en acides aminés des α/β -, γ - gliadines possèdent deux domaines différents le N-terminal (section I et II sur la figure 2) et le C-terminal (section III et V sur la figure 2).

Le domaine N-terminal est unique à chaque type, il consiste principalement en des séquences répétitives riches en glutamine, proline, phénylalanine et tyrosine (tableau 8), alors que les domaines C-terminal des α/β -, γ - gliadine sont homologues et sont caractérisés par des séquences non-répétitives, les résidus Cystéines sont localisés uniquement sur le domaine C-terminal et diffèrent d'un type à un autre par leur nombre.

En effet, les α/β - gliadines possèdent 6 résidus cystéines alors que les γ - gliadines ont en possèdent 8. Ces résidus forment 3 et 4 chaînes intramoléculaires respectivement. (Grosch et Weiser, 1999)

La structures secondaire des domaines N-terminal des α/β - et γ - gliadines est similaire à la conformation prise par les ω - gliadines en coudes β (Tatham et Shewry, 1985 *in* Weiser,2006), cette structure est stabilisée par les interactions hydrophobes entre les résidus d'acides aminés aromatiques (Phe- Tyr et Trp) et les liaisons hydrogènes se trouvant dans les résidus glutamines. Comme la teneur en cystéine est faible (voir nulle) pour les ω - gliadines,

les liaisons disulfures ne sont pas importantes pour leurs conformation. Le domaine non-répétitif des α/β - et γ - gliadines comprend une proportion considérable de hélices α et de feuillets β .

Tableau 8 : la composition en acide aminé des séquences N-terminal des gliadines.

Type	Domaine N-terminal ^a		Domaine C-terminal ^b
	Unité de répétition*	nombre de répétition*	
α/β - gliadines	QPQFPQQPYP ¹	5 fois	6 résidus Cystéines
γ - gliadines	QPQQFPF ²	plus de 16 fois	8 résidus Cystéines

* Rapporté par Weiser (2006).

^a section I et II sur la figure 2.

^b section III et V sur la figure 2.

5-2-2 Les gluténines : composition en acides aminés, structure et conformation

Les gluténines sont insolubles dans les alcools et se présentent sous forme de polymères stabilisés par des liaisons disulfures inter moléculaires. Elles constituent près de 30 à 40% des protéines totales.

La réduction de ces liaisons donne des sous unités solubles dans les mélanges eau/alcool et sont classées en deux types (Shewry et al.,1996) : les sous unités gluténines de haut poids moléculaire SG-HPM et les sous unités gluténines de faible poids moléculaire SG-FPM, ces dernières sont très complexe et leurs caractérisation reste jusqu'à présent incomplète.

Mais selon Lew et al (1992 in Shewry et al., 1996) et Wieser (2006), il est clair que ces composants sont très proches des α/β -, γ - et ω - gliadines (tableau 7), alors que les autres composants peuvent formés un groupe discret de sous unité FPM, ces fractions joueraient le rôle de terminateur lors de la polymérisation des gluténines.

¹Gln Pro Gln Pro Phe Pro Glu Glu Pro

²Gln Pro Gln Gln Pro Phe Pro

La SDS-PAGE a été utilisée à fin d'étudier la composition des gluténines, les premières études par Bietz et Wall (1972) montrent l'existence de 2 groupes : les sous unités gluténines de faible poids moléculaire (SG-FPM) où le poids moléculaire se situe entre 10 et 70 Kda et les sous unités gluténines de haut poids moléculaire(SG-HPM) avec un poids moléculaire variant entre 80 et 130 Kda. (Khan et Bushuk, 1979; Payne et Corfield, 1979 in Cherdouh, 1999; Jackson et al, 1983 in Khelifi, 1990).

Cependant, l'estimation réelle calculée à partir des séquences d'acides aminés indiquent que les SG-FPM ont un poids qui varie de 60 à 90 kDa (Anderson et al., 1988 ; Anderson et Green, 1989 in Anjum et al., 2007)

Sur la base de leur poids moléculaires, les gluténines ont été divisées en quatre groupes : le groupe A correspond aux SG-HPM, les groupes B et C (Payne et Corfield, 1979 in D'Ovidio et Masci, 2004) et le groupe D découvert en électrophorèse bidimensionnelle par Jackson et al.,(1983 in Khelifi, 1990) correspondant aux SG-FPM.

Actuellement, il est supposé que le groupe D est composé de ω - gliadines modifiés qui ont acquis un résidu Cystéine, alors que normalement les ω - gliadines n'ont pas ce ci expliquerait la présence de sous unités gliadines dans les polymères des gluténines (Masci et al.,1993, 1999 in D'Ovidio et Masci, 2004). Comme pour le groupe D, le groupe C est constitué de α/β – et γ – gliadines modifiées, il est fort probable qu'elles forment une partie de la fraction gliadine liée au polymère des gluténines, les clones des γ – gliadines provenant du blé dur et du blé tendre possèdent 9 cystéines au lieu de 8 (D'Ovidio et al.,1995 ; Scheets et Hedgcoth , 1988) alors que les α - gliadines auraient un nombre de résidu Cystéines différent de nombre 6, identifié par Anderson et al.,(1997)

D'Ovidio et Masci (2004) présentent les sous unité gluténine de Chinese Spring par la 2-D comment suit : groupe B (correspond au SG-FPM), groupe C (correspond aux α/β –, γ – gliadines modifiés). Enfin, le groupe D (correspond aux ω - gliadines modifiés)

Selon Weiser et al., (1990) la composition des gluténines en acides aminés est voisine à celle des α - et γ -gliadines (tableau 8). L'acide aminé le plus dominant est l'acide glutamique, sous

sa forme amidée (glutamine), il est à l'origine des liaisons hydrogènes qui unissent les gluténines au polymère. (Wellner et al ,1996 in Anjum et al, 2007)

Les SG-HPM sont caractérisés par un taux élevé de proline et glycine mais faible en phénylalanine, et lysine. Les SG-FPM ont une plus forte teneur en Cystéine que les SG-HPM, et peuvent donc formés des ponts disulfures intra et inter moléculaires. (Figure 2)

Les SG-FPM représentent 20% du taux totale des protéines du gluten (Weiser et Kieffer, 2001), et possèdent 8 résidus cystéines (Grosch et Weiser, 1999 ; Weiser, 2003). Leur intra structure consistent en 2 domaines N-terminal (section I sur la figure 2) et C- terminal (section III et V sur la figure 2), le domaine N-terminal contient des unités répétitives riches en glutamine et proline (QQQPPFS¹), le domaine C-terminal est homologue à celui des α/β - et γ -gliadine. Cette homologie mise en évidence par Kasarda et *al.*,(1984) indique que les gènes codant pour les gliadines et les gluténines FPM dériveraient probablement d'un gène ancestral unique.

Les 8 cystéines sont répartis comme suit : 6 ont une position homologue à celle des α/β - et γ -gliadine et sont supposés créer des ponts disulfures intra moléculaires (figure 2).les 2 autres cystéines sont localisées sur la section I et IV, selon Wieser (2006), ces résidus sont incapables de former des ponts intra moléculaire probablement pour des raisons stériques. Par conséquent, des ponts disulfures intermoléculaires avec des cystéines appartenant à différentes protéines du gluten sont générés.

Les SG-HPM consistent en 3 domaines structuraux (figure. 2) : un domaine N-terminal non répétitif (A) comprenant 80-150 résidus, un domaine central répétitif (B) comprenant 480-700 résidus et un domaine non-répétitif C-terminal de 42 résidus (Shewry et al, 1992 in Wieser, 2006).

¹Gln Gln Gln Pro Phe Ser

Les domaines A et C sont caractérisés par des résidus chargés et par la présence des cystéines. Tatham et al (1990) et Shewry et al (1989) rapportent que le domaine répétitif B est caractérisé par un hexa et nona péptide répété sur les SG du type- y et par un tri, hexa et nona péptide sur les SG du type- x.

Les résidus cystéines sont répartis comme suit (figure 2) : le type x possède 4 cystéines, 3 dans le domaine A et un dans le domaine C (Shewry et Tatham, 1997), les 2 cystéines du domaine A sont impliquées dans des liaisons intra moléculaire et les deux restantes par des liaisons intermoléculaires. Le type y possède 5 cystéines dans le domaine A et un dans chaque domaine B et C. Les ponts intermoléculaires ont seulement été trouvés sur les cystéines du domaine A qui sont liés à des SG-HPM du type y, et une cystéine du domaine B qui est reliée à une cystéine appartenant au SG-FPM.

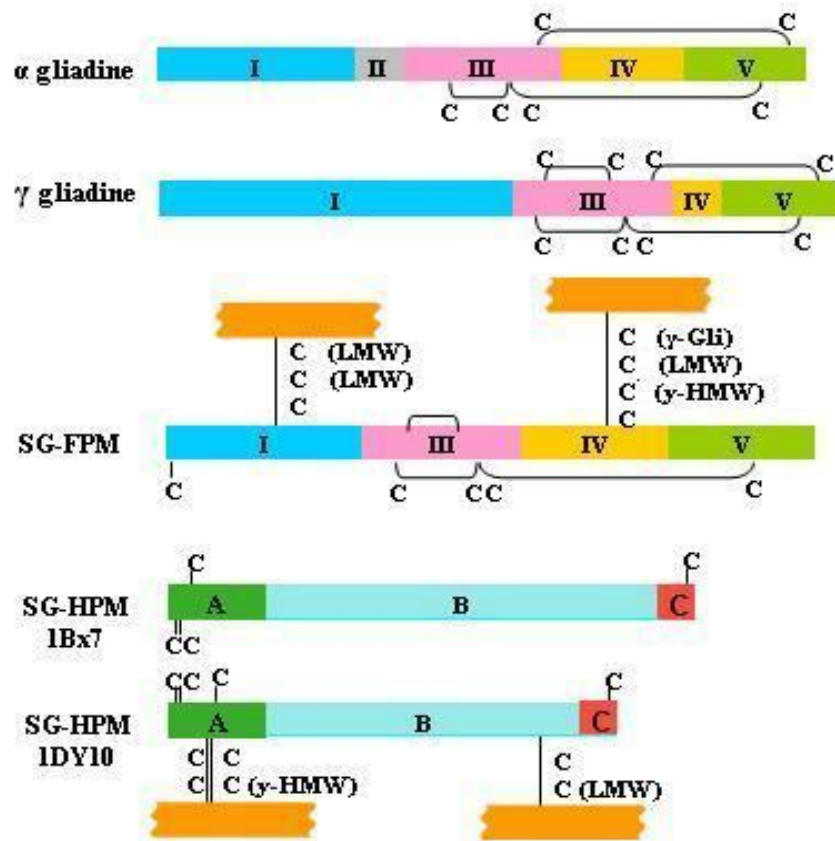


Figure2 : model structural des sous unités gluténines de haut poids moléculaire SG-HPM (d'après Grosch et Weiser,1999)

Des études moléculaires ont permis de donner une image claire de la structure des SG-HPM (Shewry et al 1989, 1997 in Anjum, 2007) (Figure. 3). Tatham et al (1985) propose un model pour les domaines répétitifs (B) où les coudes β - confèrent au SG-HPM son élasticité distinctive.

Contrairement au domaine central répétitif, la structure des domaines N et C-terminal est globulaire en hélice α (Miles et al 1991 in Anjum, 2007; Shewry et al 1997).

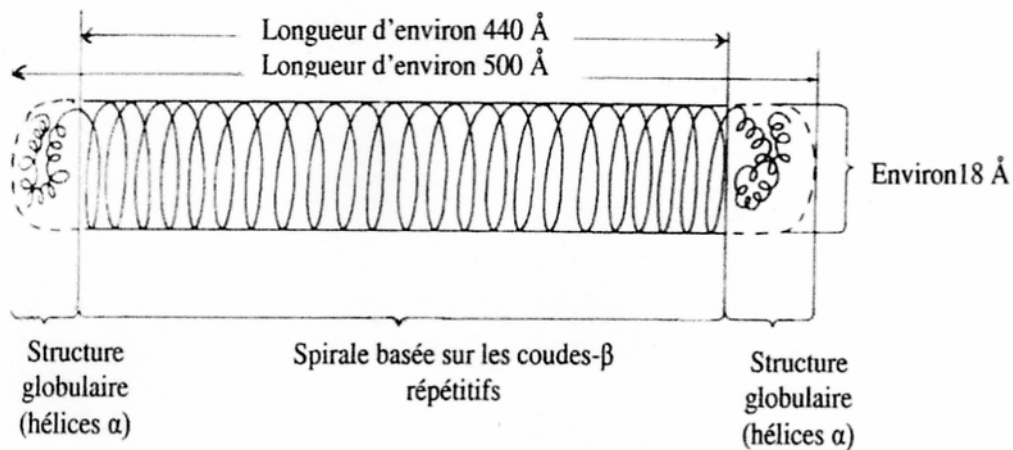
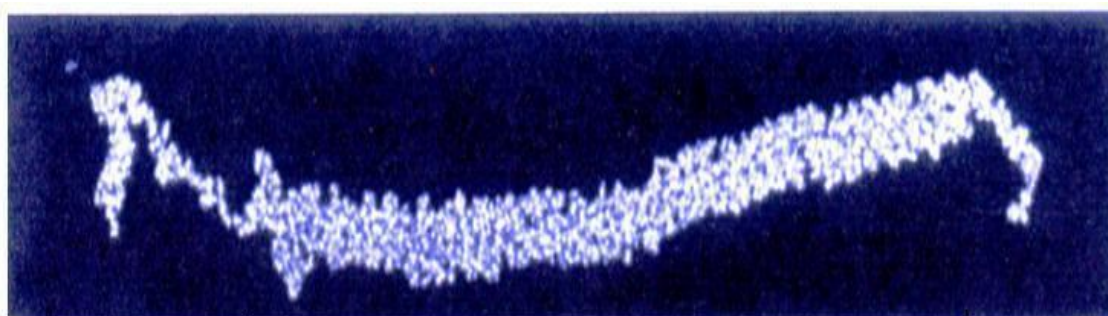


Figure 3 (a): Schéma représentatif de la structure des SG-HPM (d'après Kohler et al.,1996)



Domaine N-terminal	Domaine répétitif	Domaine C-terminal
81-104 résidus 3-8 cystéines	480-680 résidus 0-1 cystéines La forme lâche de la structure spirale	42 résidus 1 cystéines

Figure3 (b) : structure de la sous unité gluténine de haut poids moléculaire.

Cette image représente la structure de la sous unité 1Dx5, elle a été conçue par ordinateur en utilisant des logiciels de simulation et de graphisme (Shewry et al., 1997 in Anjum,2007)

5-3 Déterminisme génétique des gliadine et gluténine :

Due à l'importance des protéines du gluten, des études de caractérisation, d'isolement de ses protéines ainsi que des recherches sur leur déterminisme génétique ont été entrepris depuis les années 70. En effet, ces recherches ont permis d'établir la localisation chromosomique des gènes codant pour les fractions du gluten. Les SG-HPM sont codés au niveau des loci Glu-1 qui est localisé sur le bras long des chromosome homéologue du croupe 1 (A1, B1, D1) (Bietz et al., 1975 ; Payne et al., 1984, 1987). Les loci Gli-1 contrôlent la synthèse des ω -, γ - et quelques β - gliadines (Payne et al., 1982). La majorité des α -, β - et quelques γ - gliadines sont codées par les loci Gli-2 positionnée sur le bras court du groupe de chromosome 6 (Metakovsky, 1991). Les SG-FPM sont synthétisés par les loci Glu-3 (Singh et Shepherd, 1988).

Le blé possède plusieurs espèces apparentées appartenant au groupe des Triticées, il a été conclue que pour toute ses espèces la même nomenclature des gènes codant pour les protéines du gluten sont adoptées, par exemple, le locus Glu-R1 du riz (Lawrence et Shepherd, 1981 ; De Bustos et Jouve, 2003), le locus Glu-V1 de *Dasyphyrum villosum* (Montebove et al., 1987 ; Blanco et al., 1991), le locus Glu-E1 de *Elytrigia elongata* (Dvorak et al., 1986). Hor-3 de *Hordeum vulgare* (Shewry et al., 1983) ; Glu-U1 de *Ae. umbellulata* et Glu-C1 de *Ae. caudata* (Lawrance et shepherd, 1981 ; Lieu et al., 2003) sont postulés pour être les gènes codants les SG-HPM et sont localisés sur les chromosomes du groupe 1 correspondants à ceux du blé. (Zhang et al., 1998)

Ce même auteur a comparé les cartes génétiques d'*Ae. longissima* et *Ae. sharonensis* avec le blé hexaploide et a rapporté que les génomes de ces deux espèces sont colinéaires avec le génome D du blé hexaploide, Gli-S1, Glu-S3 et Glu-S1 sont localisé sur le chromosome S1.

Les SG-HPM sont des protéines de réserve conservées chez le blé et ses espèces apparentées, selon Sun (2006), la SDS-PAGE indique que les gènes des SG-HPM chez les *Aegilops* sont similaires au locus Glu-1 du blé, et qu'ils présentent aussi des gènes codant pour les sous unité de type x et y.

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

1- Matériel végétal :

Notre étude est basée sur 66 espèces d'*Aegilops* appartenant à la section *Sitopsis* : 13 accessions pour *Ae.bicornis*, 13 pour *Ae.longissima*, 2 pour *Ae.sharonensis*, 13 pour *Ae.searsii* et 25 accessions pour *Ae.speltoides*. Les électrophorègrammes de ses espèces ont été comparés avec 13 témoins constitués par des blés hexaploides.

Les différentes accessions proviennent pour la plus par de régions connues, localisées principalement au niveau du croissant fertile. Ces informations sont reportées sur le tableau 9.

La collection des 66 *Aegilops* provient en grande partie de l'ICARDA.

Tableau 9 : Liste de la collection des *Aegilops* appartenant a la section *Sitopsis*.

Constitution génomique	Nom latin	Pays d'origine	Provenance	Longitude	Latitude	Altitude	
S ^b	<i>Ae.bicornis</i>	Jordanie	Ma'an	E35 25	N29 36	700	
	<i>Ae.bicornis</i>	Egypte	Marsa-Matruh	E27 10	N31 21	10	
	<i>Ae.bicornis</i>	Cyprès	Kyrenia	E32 57	N37 17	50	
	<i>Ae.bicornis</i>	Jordanie	Ma'an	E35 24	N29 55	900	
	<i>Ae.bicornis</i>	Jordanie	Ma'an	E35 21	N29 56	900	
	<i>Ae.bicornis</i>	Egypte	Marsa-Matruh	E27 10	N31 20	-	
	<i>Ae.bicornis</i>	Egypte	Sinai du nord Kyrenia	E34 14	N31 14	10	
	<i>Ae.bicornis</i>	Cyprès	Limassol	E32 58	N35 17	50	
	<i>Ae.bicornis</i>	Cyprès	Paphos	E33 15	N34 47	220	
	<i>Ae.bicornis</i>	Cyprès	-	E32 38	N34 45	2	
	<i>Ae.bicornis</i>	Turquie	-	-	-	-	
	<i>Ae.bicornis</i>	Turquie	Samagusta	-	-	-	
	<i>Ae.bicornis</i>	Cyprès	-	E	N	40	
	S ^l	<i>Ae.longissima</i>	SUN	Izmir	E27 09	N38 26	-
		<i>Ae.longissima</i>	Palestine	Jérusalem	E34 58	N31 44	-
<i>Ae.longissima</i>		Jordanie	Amman	E35 46	N35 46	-	
<i>Ae.longissima</i>		Jordanie	Amman	E35 56	N31 57	-	
<i>Ae.longissima</i>		Jordanie	Zarqa	E36 00	N32 09	400	
<i>Ae.longissima</i>		Palestine	Jérusalem	E34 58	N31 44	-	
<i>Ae.longissima</i>		Palestine	Hadarom	E34 53	N31 01	-	
<i>Ae.longissima</i>		Palestine	hamerzak	E34 54	N32 14	-	
<i>Ae.longissima</i>		Palestine	-	-	-	-	

Tableau 9: Suite de la liste des *Aegilops* appartenant a la section *Sitopsis*.

Constitution génomique	Nom latin	Pays d'origine	Provenance	Longitude	Latitude	Longtude
S ^l	<i>Ae.longissima</i>	Jordanie	Amman	EE35	N31	893
	<i>Ae.longissima</i>	Jordanie	Karak	E35 47	N31 25	900
	<i>Ae.longissima</i>	Jordanie	Karak	E35 44	N31 08	900
	<i>Ae.longissima</i>	Jordanie	Amman	E35	N31	893
S ^s	<i>Ae.searsii</i>	Jordanie	Tafila	E35 37	N30 40	1.600
	<i>Ae.searsii</i>	Syrie	Sweida	E36 31 00	N33 06 00	700
	<i>Ae.searsii</i>	Syrie	Sweida	E36 35 50	N32 57 45	780
	<i>Ae.searsii</i>	Syrie	Sweida	E36 35 54	N32 57 05	1.200
	<i>Ae.searsii</i>	Syrie	Sweida	E36 24 00	N32 51 00	740
	<i>Ae.searsii</i>	Syrie	Damas	E36 05 32	N33 40 13	1.180
	<i>Ae.searsii</i>	Jordanie	Karak	E35 42	N31 22	1.000
	<i>Ae.searsii</i>	Palestine	-	-	-	-
	<i>Ae.searsii</i>	Liban	Baalbek	E36 10	N34 02	1.050
	<i>Ae.searsii</i>	Jordanie	Irbid	E35 52	N32 26	810
	<i>Ae.searsii</i>	Jordanie	AtTafilah	E35 38	N30 43	1.316
	<i>Ae.searsii</i>	Syrie	Hama	E36 51	N35 12	-
	<i>Ae.searsii</i>	Syrie	Sweida	E36	N32	861
	S ^{sh}	<i>Ae.sharonensis</i>	Palestine	-	-	-
<i>Ae.sharonensis</i>		SUN	Izmir	E27 04	N38 36	-
S	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Turquie	Diyarbakir	E40 00	N38 03	650
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Syrie	Alep	E37 01 57	N36 31 18	450
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Iraq	Ninawa	E43 22	N36 10	250
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Liban	Chouf	E35 27	N33 37	850
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Syrie	Tartous	E36 07 55	N34 44 21	210
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Syrie	Alhasakah	E40 47 55	N36 38 39	340
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Iran	Kordestan	E46 09	N35 30	-
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Irak	Ninawa	E43 25	N36 23	740
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Syrie	Alhasakah	E41 38 25	N37 00 52	495
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Syrie	Alhasakah	E41 38 25	N37 00 52	495
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Turquie	Hakkari	E44 28	N37 14	1.125
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Turquie	Hakkari	E44 28	N37 14	1.125
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Syrie	Idlib	E36 18 44	N35 47 24	475
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Syrie	Alep	E36 38 27	N36 42 59	690
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Bulgarie	Khaskovo	E26 32	N41 53	190
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Syrie	Lattakia	E35 59 41	N35 38 14	200
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Turquie	Diyarbakir	E40 00	N38 03	650
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Turquie	Diyarbakir	E40 00	N38 03	650
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Turquie	Gaziantep	E37 11 57	N36 53 02	840
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Turquie	Gaziantep	E37 23 25	N36 17 47	740
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Syrie	Alhasakah	E41 05 49	N37 02 42	495
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Syrie	Homs	E36 50 45	N34 56 32	470
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Iraq	Al-Sulaymania	E45 03	N35 52	780
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Ligustica</i>	Iraq	Arbil	E44 24	N36 30	580
	<i>Ae.speltoides</i> var. <i>Speltoides</i>	Iraq	Arbil	E44 17	N44 23	-
	<i>Ae.speltoides</i>	Syrie	Alhasakah	E40 47 55	N36 38 39	340

2- Technique d'électrophorèse :

2-1 Principe :

L'électrophorèse est une technique biochimique dont le principe est de fractionner des molécules protéiques selon leur mobilité différentielle en les soumettant à un courant électrique dans un support poreux. La migration des protéines tout au long du support est en fonction de :

- La taille des mailles du support électrophorétique.
- L'intensité du courant électrique.
- La température de l'électrolyte.
- La charge, la forme et la dimension de la protéine.

2-2 Méthodes d'extraction des protéines de réserve :

L'extraction est faite à partir de la farine de deux graines d'*Aegilops* broyées au mortier selon la méthode décrite par Singh et al., (1991), cette méthode est basée sur une extraction séquentielle des protéines de réserve selon leur solubilité dans trois solutions de base. (annexe 1)

- Solution A : constituée de 50% (v/v¹) de propan-1-ol.
- Solution B : faite à partir de 50 % (v/v) propan-1-ol et de Tris HCl (1 M) pH=8.
- Solution C : la solution tampon 2 % (p/v) SDS, 40 % (p/v) glycérol, 0.02% (p/v²) bleu de bromophénol et de Tris HCl (1M) pH=8.

Une extraction des gliadines est effectuée en premier lieu, en ajoutant 1ml de solution A et en incubant 30min à 65 °C, avec deux agitations intermédiaire toutes les 10 minutes puis une centrifugation finale à 10 000g pendant 1min. La fraction gliadine présente dans le surnageant est éliminée par aspiration, on introduit pour la deuxième fois 1ml de la solution A, on mélange au vortex et on porte à l'étuve à 65°C pendant 30 minutes, cette fois sans vortex intermédiaire. , puis centrifugé à 10 000 g pendant 1 minute, le surnageant est éliminé par aspiration.

¹v/v = volume pour volume

²p/v = poids pour volume

On réintroduit au résidu pour la troisième fois 0,5 ml de la solution A, on porte au vortex, on centrifuge à 10 000 g pendant 5 minutes sans étuver, cette étape constitue un lavage des gluténines pour une élimination complète des gliadines et à fin d'éviter toute contamination des préparations ultérieures. Le résidu obtenu forme le matériel de départ de l'extraction des gluténines (annexe 2)

En effet, elle consiste à l'introduction de 0.1 ml de la solution B1 obtenue à partir de la solution B à la quelle on ajoute 1% d'un agent réducteur qui est le dithiothreitol (DTT), on vortex, incube 15 min à 65 °C puis on centrifuge 5 min à 10 000g sans éliminer le surnageant.

Une avant dernière étape a pour but l'alkylation des protéines par l'ajout de 0.1 ml de solution B2 contenant l'agent alkylant en question, le 4 vinylpyridine. On porte à incubation 15 min sans vortex puis à centrifugation pendant 5 min à 10 000g.

Enfin, on récupère 100µl du surnageant dans un autre eppendorf dont le quel on ajoute 0.1 ml de solution C, le mélange est ensuite agité, incubé 15 min à 65 °C puis centrifugé 2 min à 10 000g. À ce stade les gluténines sont réduites, alkylées et mélangées au SDS, reste à révéler leurs composants (SG-HPM et SG-FPM) par SDS-PAGE.

2-3 Electrophorèse des gluténines par SDS-PAGE :

La séparation des gluténines est réalisée par une électrophorèse monodimensionnelle sur gel de vertical, discontinue, en présence d'un détergent anionique SDS¹ suivant la méthode Laemmli (1970) modifiée par Payne et al., (1979). Les ponts disulfures sont rompus par l'action du DTT et les liaisons faibles sont détruites par le SDS, ce qui aboutit à la formation d'un complexe SDS- protéine dénaturée, le SDS a pour but de masquer la charge des protéines par une charge négative, il annule ainsi le fractionnement en fonction de la charge électrique, et assure donc une séparation selon la taille, la conformation et la masse moléculaire.

¹ Sodium Dodecyl sulphate

2-3-1 Préparation des gels :

La technique SDS-PAGE nécessite la préparation de deux types de gels : un gel de séparation à $T^1=12.8\%$ et un gel de concentration à $T=2.8\%$. Ces deux gels sont préparés à base d'acrylamide à 35% (p/v), de N,N'-méthylène bis-acrylamide à 2 % (p/v), du SDS à 10% (p/v) et de Tris-HCl 1M, tamponnés à pH 8.8 pour le gel de séparation, et à pH 6.8 pour le gel de concentration. Ces deux gels sont polymérisés en présence de catalyseurs, le Temed² et de l'APS³.

Le gel de séparation (separating gel) permet la séparation des protéines selon leur poids moléculaire, alors que le gel de concentration (stacking gel) permet de stocker les impuretés et de tasser les protéines avant leur entrée dans le gel de séparation.

On prépare le gel de séparation en premier puis on le coule entre deux plaques de verre verticales, en laissant un vide d'environ 4 cm pour le gel de concentration, à fin de niveler la surface du gel de séparation et de le protéger de l'air, on ajoute une fine couche de butanol. La polymérisation s'effectue à une température ambiante pendant environ 45 minutes. Ensuite, le gel de concentration est préparé, bien mélangé puis coulé au dessus du gel de concentration après avoir éliminé la couche de butanol, puis des peignes à 15 puits sont délicatement insérés. Le gel de concentration prend en l'espace de 20 à 40 min, les peignes sont retirés soigneusement pour ne pas détruire les puits formés, on verse le tampon (annexe 3) dans les puits puis on procède au dépôt des échantillons à raison de 20 μ l.

2-3-2 La migration :

Le bac supérieur qui porte les deux plaques est rempli de tampon de migration (annexe 3) à un niveau qui dépasse celui des gels, on le place dans la cuve d'électrophorèse ou le bac inférieur, rempli au paravent de solution de tampon de telle sorte que les faces inférieures des gels soient immergées.

¹ $T = \frac{Mg \text{ (Acrylamide+Bisacrylamide)}}{100ml \text{ de gel}}$

² N,N,N',N'-tetraméthyléthylène diamine

³ Ammonium PerSulfate

La cuve d'électrophorèse est maintenue à une température constante à 10°C grâce à un système de refroidissement. Le gel de dimension 180 x 105 x 1.5 mm est soumis à une intensité constante de 80 mA, et une tension ne dépassant jamais le maximale de 1200 v. Les protéines chargées négativement migrent vers l'anode et sont séparées selon leur encombrement moléculaire. La migration est arrêtée généralement une 30min après la sortie du front coloré.

2-3-3 Coloration et décoloration des gels :

Les gels sont recouverts de solution de coloration contenant un fixateur de protéines le TCA¹ à 60% et le bleu de coomassie R250 à 1% (p/v) (annexe3), ils sont placés en agitation pendant 24h. Les gels sont ensuite décolorés par l'eau du robinet puis mis dans une solution de glycérol à 10% pendant au moins 1h d'agitation. Enfin, ils sont séchés et conservés entre deux feuilles de papier polyéthylène

2-3-4 Lecture des diagrammes :

Cette étude est basée sur une lecture phénotypique des gels qui tient compte seulement de la position des bandes. Pour ce faire, la mobilité relative de chaque bande est calculée à partir de la mobilité réelle (la distance parcourue par la bande entre le point d'application de l'échantillon et la position de la bande correspondante dans le gel) et à l'aide d'une bande témoin commune à toutes les accessions analysées, présente ici comme Chinese Spring.

¹acid TriChloroAcétique

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

La technique de Singh et al.,(1991) nous a permis d'estimer la diversité électrophorétique des sous unités gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM) des accessions *Aegilops* appartenant à la section *Sitopsis*. Cette technique basée sur une extraction séquentielle des gluténines, suivie d'une électrophorèse SDS-PAGE à pH 8,8 avec T=12.8%, révèle des bandes claires et bien distinctes, trois groupes de bandes avec des mobilités différentes sont démembrés : les bandes lentes correspondent aux sous unités gluténines HPM (zone A) tandis que les bandes intermédiaires et rapides correspondent aux sous unités gluténines FPM (zone B et C).

L'obtention de bandes bien distinctes est le résultat de l'étape de réduction suivie de l'alkylation en utilisant le 4-vinyl pyrimidine, ce dernier va empêcher les chaînes peptidique de se reliées et donc à la protéine native de se reformée.

Pour la lecture des diagrammes, nous nous sommes intéressés seulement aux sous unités gluténines de HPM (zone A). En effet, non seulement leur variation peut être utilisée pour l'identification de nouveaux gènes d'intérêt mais aussi, l'analyse comparative des SG-HPM peut apportée des informations additionnelles pour l'identification de l'espèce parentale putative du génome B.

D'après Autran et Boudret (1975), la lecture des diagrammes consiste à relever la mobilité relative de chacune des bandes présentées, pour tenir compte des variations de mobilités observées entre les gels.

Les électrophoregrammes obtenus montrent que la majorité des accessions de chacune des espèces *Aegilops Sitopsis* sont homogènes, sauf pour les accessions d'*Ae.longissima* et *Ae.speltoides*.

Pour toutes les espèces analysées, la lecture consiste à faire une analyse descriptive des diagrammes (nombre de bandes, mobilité relative, indice de similarité ect). Puis identifier les variations intra et interspécifique existantes entre ses espèces. Pour se faire les diagrammes obtenus sont comparés avec les diagrammes de 13 blés hexaploides.

1-Identification du polymorphisme des SG-HPM des 5 espèces révélé par SDS-PAGE :

Selon Frenandez-Calvin et Orellana (1990), les loci codant les SG-HPM des espèces *Aegilops* appartenant à la section *Sitopsis* sont équivalents à celles du blé.

1-1*Ae.bicornis* :

La figure (4) représente les électrophorègrammes obtenus pour l'ensemble des accessions d'*Ae. bicornis* analysées.

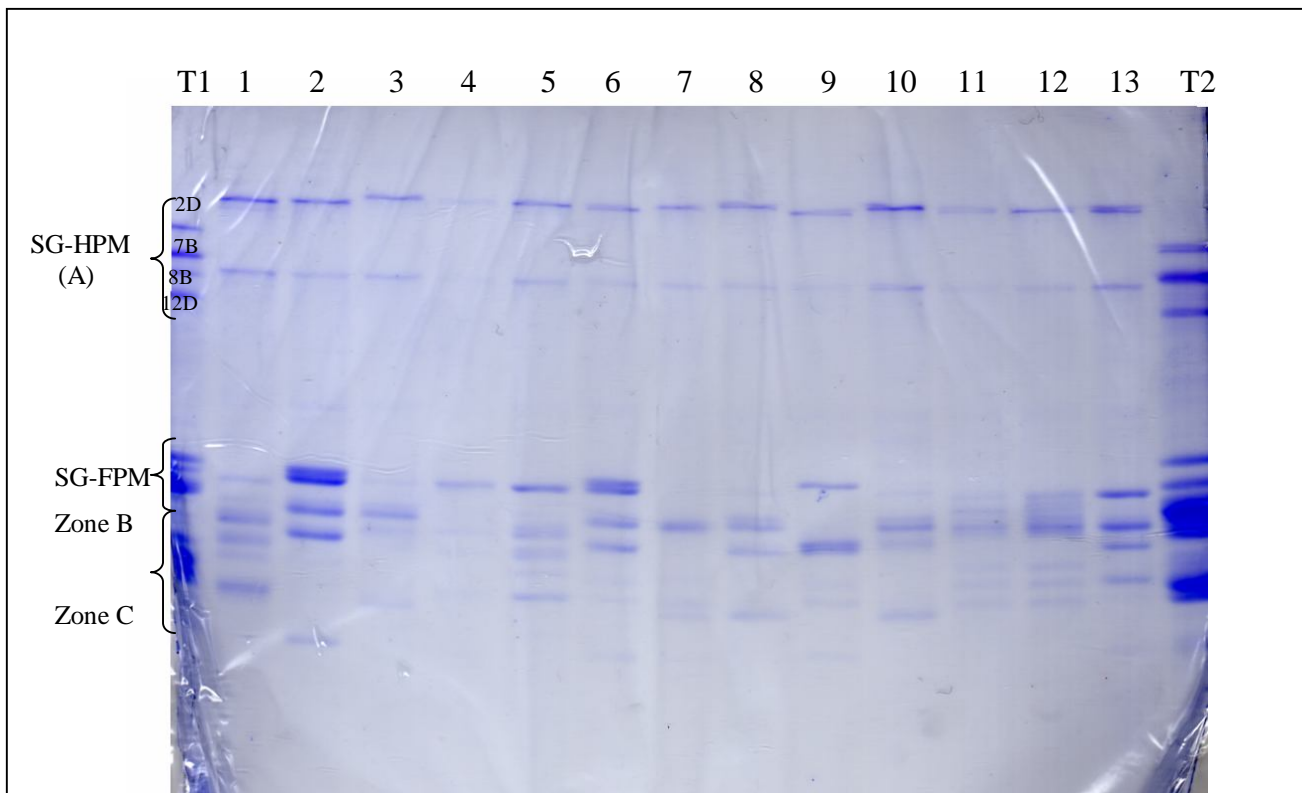


Figure 4 : spectre électrophoretique des sous unités gluténines de haut poids moléculaire chez l'espèce *Ae.bicornis*

T1(Chinese spring), 1.*Ae.bicornis* (Jordanie- Ma'an), 2.*Ae.bicornis*(Egypte-Marsa-Matruch), 3.*Ae.bicornis*(Cyprès-Kyrenia), 4.*Ae.bicornis*(Jordanie- Ma'an), 5.*Ae.bicornis*(Jordanie-Ma'an), 6.*Ae.bicornis*(Egypte), 7.*Ae.bicornis*(Egypte-Marsa-Matruch), 8.*Ae.bicornis*(Cyprès-Limassol), 9.*Ae.bicornis* (Cyprès- Paphas), 10.*Ae.bicornis*(Cyprès), 11.*Ae.bicornis*(Turquie), 12.*Ae.bicornis*(Turquie-Samagusta), 13.*Ae.bicornis*(Cyprès)

Les 13 accessions d'*Ae.bicornis* analysées montrent un profil électrophorétique constant, formé par deux zones de mobilités électrophorétiques différentes : une zone dont la mobilité électrophorétique est faible représentée par une seule bande dans le gel, sa mobilité dépasse de loin la bande 2 de Chinese-Spring. La deuxième est plus rapide et est localisé entre les bandes 7 et 8 du témoin.

Par analogie avec les profils électrophorétiques des blés témoins, la sous unité dont la mobilité est faible est probablement celle du type x-, alors que celles révélant une mobilité rapide représentent le type y-. Selon les spectres électrophorétiques de toutes les accessions les loci codants les SG-HPM : Glu1-S^bx et Glu-1S^by, sont tout deux exprimés et ne présentent pas de variation significative.

Fernandez-Calvin et Orellana (1990), ont rapportés les mêmes résultats et expliquent que la bande dont la mobilité électrophorétique est faible se positionne au même niveau que la bande 2.2 du blé hexaploïde (Danchi) ou la dépasse légèrement. Tandis que la bande possédant une mobilité plus rapide se situe entre les bandes 7 et 8 de la variété Danchi.

Ces mêmes auteurs rapportent que le poids moléculaire des bandes du type x- se situe entre 125 et 134 KDa et celui des bandes du type y- varie entre 90 et 98 KDa. Ces mêmes bandes ont été exprimées chez d'autres espèces d'*Aegilops* comme : *Ae.longissima*, *Ae.sharonensis* et *Ae.umbellulata*. (Rodriguez-Quijano et al.,2001).

1-2 *Ae.longissima* :

Les résultats obtenus pour les accessions d'*Ae.longissima* sont présentés dans la figure (5). On dénombre 9 profils électrophorétiques différents et l'expression des SG-HPM diffère par la présence d'une seule bande à quatre bandes (accession 6) pour les 13 accessions analysées.

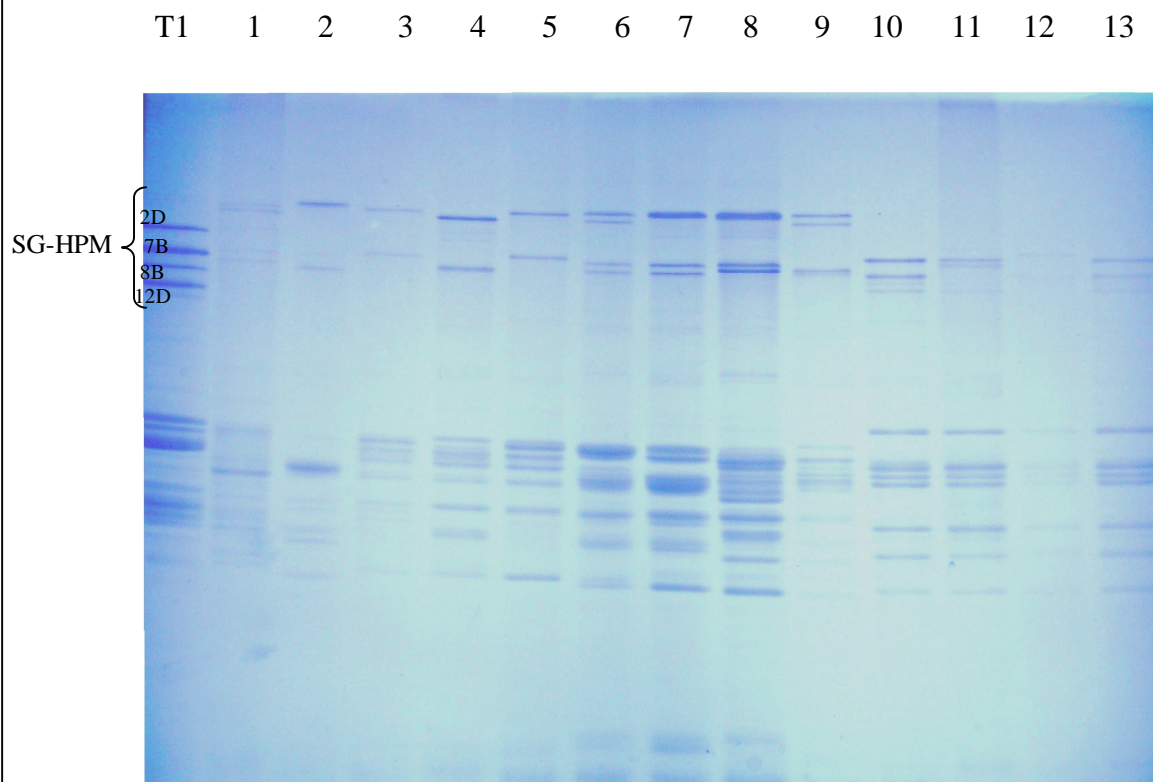


Figure 5 : spectre électrophorétique des sous unités gluténine de haut poids moléculaire chez l'espèce *Ae. longissima*

T1(Chinesesprine),1.*Ae. longissima*(Sun- Izmir),2.*Ae. longissima*(Paléستine- Jérusalem),3.*Ae. longissima*(Jordanie- Amman),4. *Ae. longissima*(Jordanie-Amman), 5.*Ae. longissima*(Jordanie-Zarqa), 6.*Ae. longissima*(Palestine- Jérusalem), 7.*Ae. longissima*(Paléستine-Hadarom), 8.*Ae. longissima*(Paléستine-Hamerzak), 9.*Ae. longissima*(Paléستine), 10.*Ae. longissima*(Jordanie-Amman), 11.*Ae. longissima*(Jordanie-Karak), 12.*Ae. longissima*(Jordanie-Karak), 13.*Ae. longissima*(Jordanie-Amman)

On constate que les électrophorègrammes sont plus variables, la majorité des accessions montrent deux zones de migration, la plus faible dépasse la bande 2 de Chinese-spring. Fernandez-Calvin et Orellana (1990) rapportent que cette zone est localisée entre 2.2 et 1 des blés hexaploïde variété Danchi et Hope, respectivement. Le poids moléculaire de cette zone varie entre 125 Kda et 140 Kda.

Chez toutes les accessions cette zone est présentée par une seule bande à l'exception des accessions 6 et 9 qui sont présentées par deux bandes. Alors que pour les accessions 10 à 13 la bande est absente.

Beaucoup d'études indiquent que chez la majorité des espèces diploïdes apparentées au blé, le locus Glu-1, comporte deux gènes étroitement liés : Glu 1-1 et Glu 1-2, le premier code pour

une ou très rarement deux sous unités du type x-, et le deuxième est responsable de l'expression d'une sous unité du type y- (Morrisson et *al.*, 2002). Ce ci expliquerait la présence de deux bandes pour les SG-HPM du type x-. Leur absence au niveau des accessions 10 à 13 est probablement du au silence du locus Glu-1-1.

La zone de mobilité plus rapide est composée de deux sous unités très proches situées entre les bandes 7 et 8 de Chinese-spring, à l'exception des accessions 1 à 5, 9, 11 et 12 qui sont présentées par une seule bande. Fernandez-Calvin et Orellan (1990) rapportent quelles diffèrent entre les bandes 7 et 12 de la variété Danchi, et ont poids moléculaire entre 80 Kda et 115 Kda.

Les deux sous unité gluténine HPM de type y- des accessions 6,7 et 8 apparaissent comme des doublets très proches, il a été suggéré par Holt et *al.*,(1981) que ces doublets sont soit les produits d'un même gène ou bien de deux gènes dupliqués étroitement liés, cette supposition est basée sur les résultats obtenus par la similarité des deux sous unité en électrophorèse bidimensionnelle, sur la composition en acide aminé, et sur les résultats des profils de digestion par les protéase (Galili et Feldman, 1985).

Levy et *al.*, (1988) ont trouvé les mêmes bandes chez des blés tétraploïdes et indiquent qu'elles sont contrôlées par un seule gène, puisqu'elles sont toutes deux présentes ou toute deux absentes. Tandis que si elles étaient contrôlées par deux gènes, cela se traduirait par une variation allélique. Ces mêmes auteurs expliquent que plusieurs mécanismes moléculaires peuvent produire deux polypeptides d'un même gène mais Fernandez et Orellana (1990) ont exclus cette supposition.

A partir de nos résultats on peut déduire que ces deux bandes sont contrôlées par deux gènes différents puisque les électrophorègrammes présentent une variation allélique (présence et/ou absence de l'une des deux bandes) pour les accessions 1 à 5 et 9, 11. De plus l'accession 10 présente deux bandes bien séparées qui ne peuvent être considéré comme des doublets.

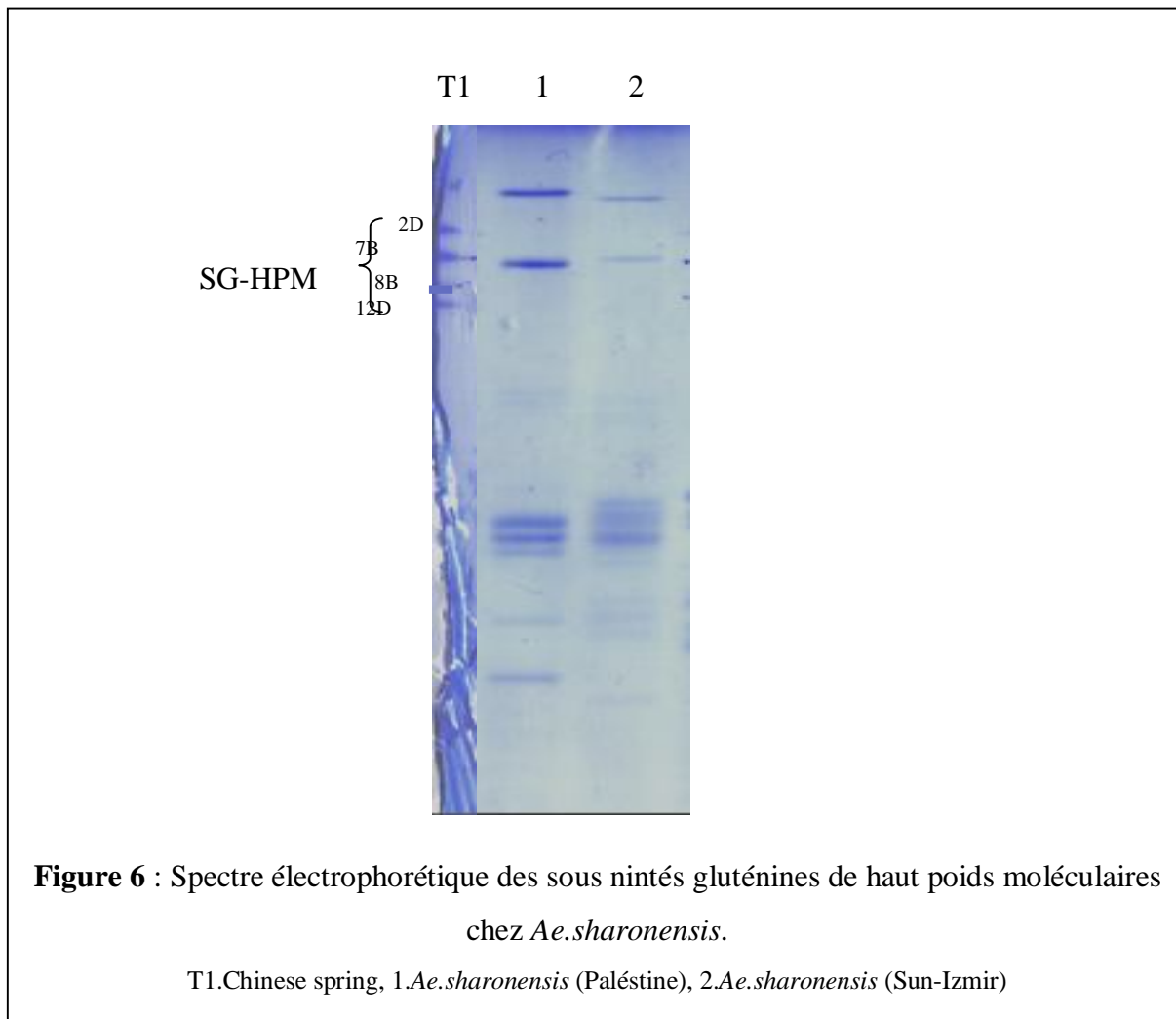
La présence de 3 et 4 bandes de SG-HPM peut aussi être expliquée par l'existence d'individus hétérozygotes pour les loci qui les expriment. Par conséquent, Fernandez-Calvin et Orellana (1990) ont soumis les plantes présentant plus de deux bandes à une autopollinisation, leur progénitures sont analysées par SDS-PAGE, dans tout les cas les profils sont similaires aux

parentaux, sauf pour les individus ayant deux sous-unités de type x- ou une ségrégation a été observée, ce qui confirme l'explication que nous avons donnée pour les accessions 6 et 9.

On conclut que chez *Ae.longissima* il existe au moins trois gènes codants les SG-HPM, nommés : x, y et z. Ce qui approuve les travaux de Fernandez-Calvin et Orellana (1990). Néanmoins, d'autres études génétiques doivent être entreprises pour encore confirmer l'hypothèse.

1-3 *Ae.sharonensis*:

La figure 6 représente les spectres électrophorétiques des deux accessions d'*Ae.sharonensis*.



Notre étude a porté sur seulement deux accessions d'*Ae.sharonensis*, on constate deux profils différents pour chacune des accessions même si ils sont assez proches. En effet, les spectres électrophorétiques présentent deux zones de mobilité différente. Type x- et type y-.

La première bande de type x- dépasse largement la bande 2 du témoin Chinese spring, la deuxième bande de type y- se place entre les bandes 7 et 8 du même témoin.

Fernandez-Calvin et Orellana (1990) ont étudiés un plus grand nombre d'accessions et ont localisés la bande de faible mobilité très près de la bande 2.2 de la variété Danchi, comme pour les accessions d'*Ae.bicornis*, Tandis que la bande ayant une mobilité rapide se situe entre les bandes 7 et 8 de la variété Danchi, son poids moléculaire varie entre 95 à 100 Kda. Ils ont également trouvés des profils similaires à ceux de *Ae.longissima* et conclurent donc que *Ae.sharonensis* possède au moins 3 gènes codants les SG-HPM.

1-4 *Ae.searsii* :

Les profils électrophoretiques obtenus des 13 accessions d'*Ae.searsii* sont présentés dans la figure 7.

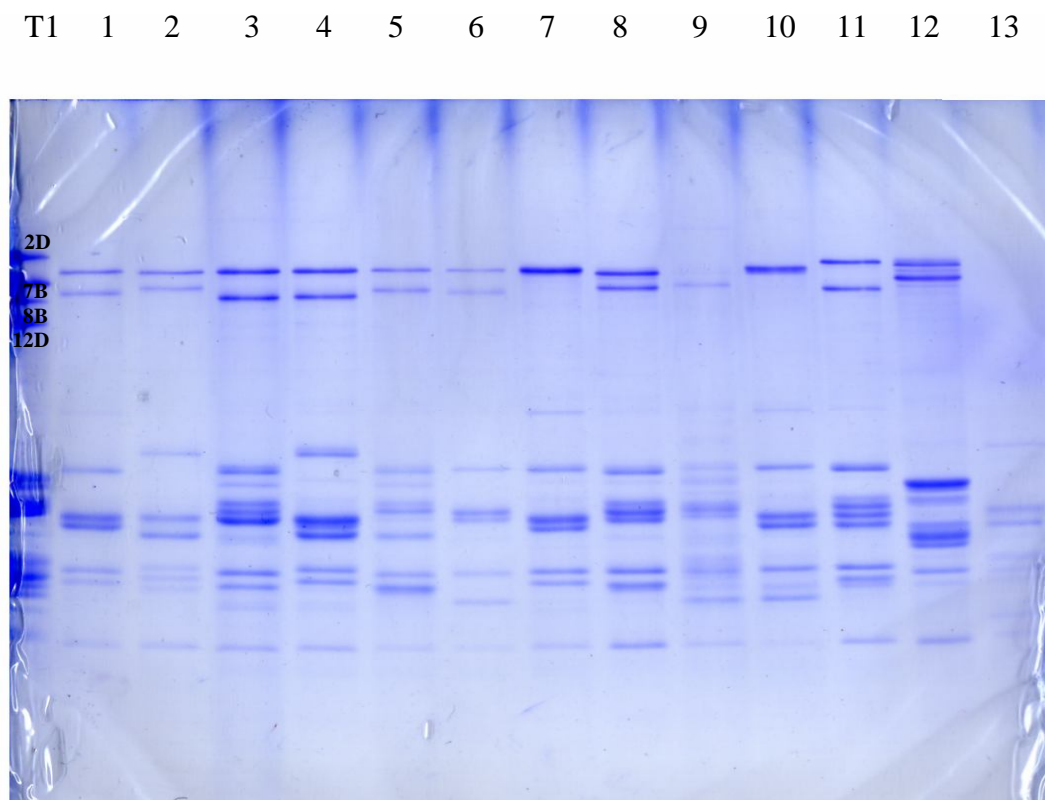


Figure 7 : Spectre électrophoretique des SG-HPM chez *Ae.searsii*

T1.Chinese spring, 1.*Ae.searsii*(Jordanie-Tafila), 2.*Ae.searsii*(Syrie-Sweida).3.*Ae.searsii* (Syrie-Sweida).4.*Ae.searsii*(Syrie-sweida). 5.*Ae.searsii*(Syrie-sweida).6.*Ae.searsii*(Syrie-Damas). 7.*Ae.searsii*(Jordanie-Karak). 8.*Ae.searsii*(Palésthine). 9.*Ae.searsii*(Liban-Baalbek). 10.*Ae.searsii*(Jordanie-Irbid). 11.*Ae.searsii*(Jordanie-At Tafila) . 12.*Ae.searsii*(Syrie-Hama). 13.*Ae.searsii*(Syrie-Sweida)

Les accessions affichent des spectres électrophorétique assez variants. En effet, contrairement aux électrogrammes obtenus par Feranande-Calvin et Orellana (1990) et Sun et al.,(2006) qui n'ont révélés aucune hétérogénéité chez les SG-HPM et ont indiqués que les deux sous unité sont exprimées chez toutes les accessions étudiées, nous avons démembrés 3 profils électrophorétiques : des accessions présentant deux sous unités différentes mais qui néanmoins sont proches (1 à 6, 8, 11 et 12), des profils totalement différents puisque l'une des sous unités sont absentes (7, 9, 10). Enfin, l'accession 13 où les deux sous unités sont absente.

On enregistre des profils SG-HPM parfaitement identiques au niveau : les accessions (1 et 11), les accessions (2, 8 et 12), les accessions (3 et 4), les accessions (7 et 10) tandis que les accessions 9 et 13 affichent des profils unique et différents.

La présence ou absence d'une ou des deux bandes gluténine est due au silence de l'un des gènes codants pour les SG-HPM, Glu-1S^sx ou Glu-1S^sy ou même les deux, comme il a été noté pour l'accession 13.

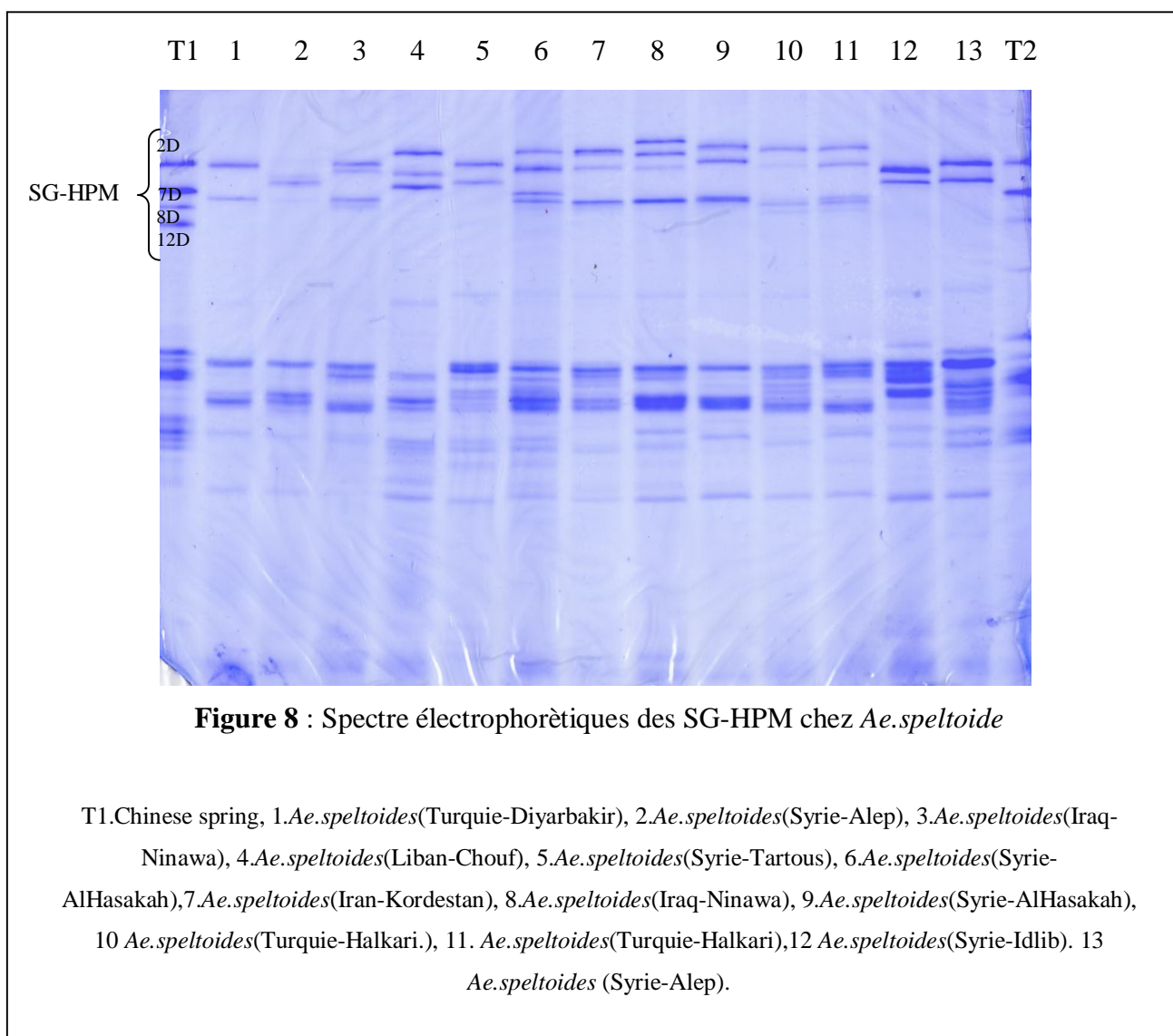
On constate qu'*Ae.searsii* présente un polymorphisme intra spécifique plus au moins important, pour des accessions ayant la même origine : *Ae.searsii* (Syrie-sweida) profile 2, 3, 4 et 13. Cette variation intra spécifiques interpopulation peut relever du concept d'adaptation. En d'autres mots le polymorphisme intra spécifique est déterminé par une interaction entre génotypes et milieu.

La zone de mobilité électrophorétique faible qui représente le type x- est localisée entre les bandes 7 et 2 de Chinese spring, alors que la zone de mobilité plus rapide se trouve au niveau des bandes 8 et 7 du même témoin.

Fernandez-Calvin et Orellana (1990) ont rapportés que la bande de type x- est positionnée entre les bandes 6 et 7 des variétés Hope et Danchi, respectivement. La bande du type y- est localisée entre les bandes 7 et 8 de Danchi, les poids moléculaire des deux sous unités varient entre 95 Kda et 115 Kda.

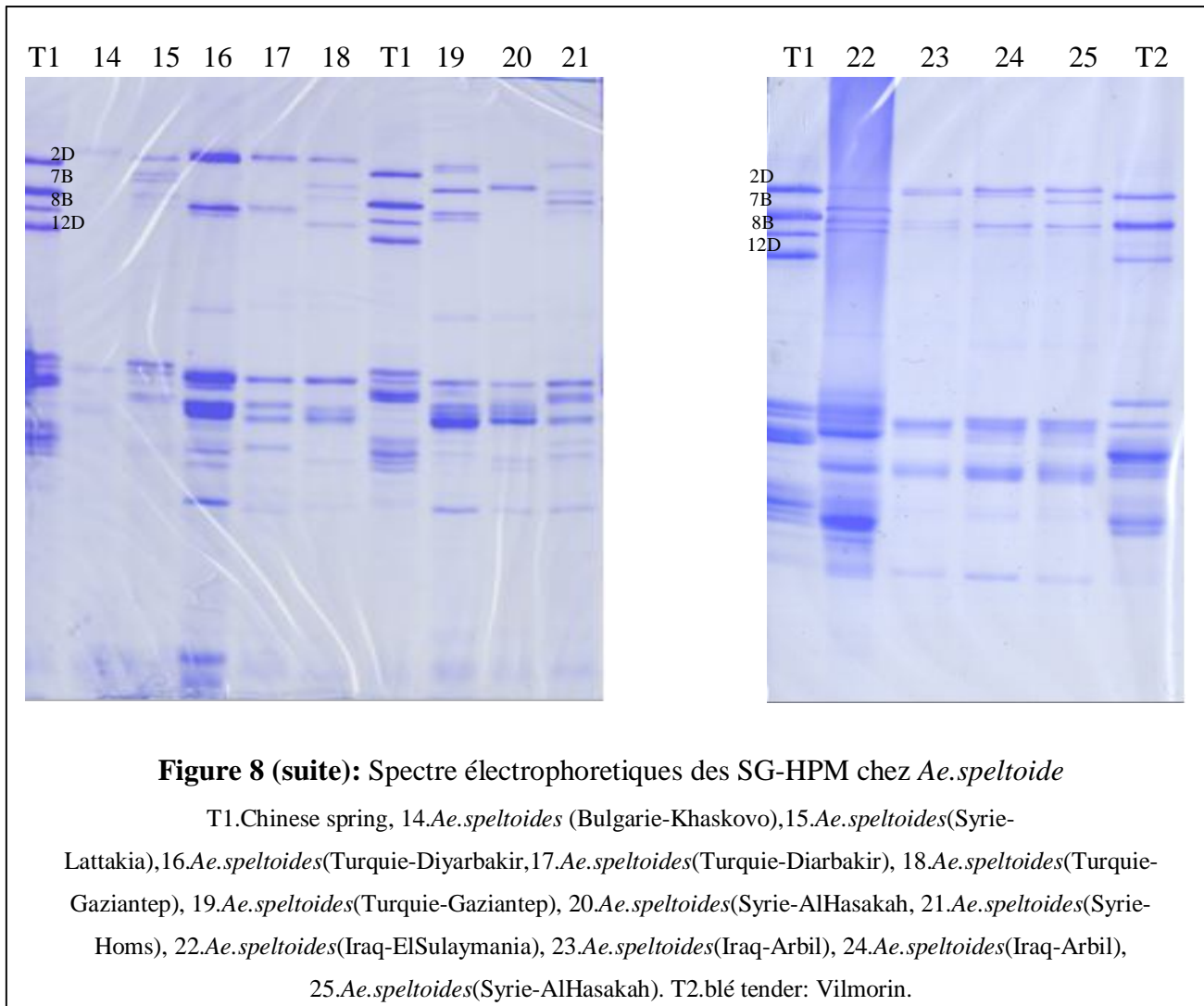
1-5 *Ae.speltoides* :

Les profils électrophorétiques des 25 accessions d'*Ae.speltoides* sont présentent dans la figure 8.



On remarque que l'espèce *Ae.speltoides* présente le profile électrophorétique le plus variable des espèces *Aegilops* appartenant à la section *Sitopsis*. En effet, un nombre élevé de profile formé par différentes sous unités a été trouvé, et aucune zone de mobilité électrophore tique spécifique ne peut être identifiée. Cependant les bandes des SG-HPM sont localisés entre la bande 8 et dépassent la bande 2 de Chinese spring.

Fernandez-Calvin et Orellana (1990) ont obtenu les mêmes résultats, ils ont rapportés que les bandes des SG-HPM des accessions *Ae.speltoides* varient entre les bandes 1 et 10 du blé hexaploïde Hope avec un poids moléculaire allant de 90 Kda à 125 Kda.



Les profils des SG-HPM chez les accessions d'*Ae.speltoides* varient de la présence d'une seule bande à quatre bandes. Cette variabilité peut être expliquée par le système de reproduction. En effet, parmi toutes les espèces *Aegilops* section *Sitopsis*, *Ae.speltoides* est la seule qui se reproduit par allogamie. En d'autres termes, la fécondation croisée entre deux individus distincts appartenant à la même espèce AA et BB donnera des individus présentant de nouvelles combinaisons alléliques AB. L'allogamie installée dans une population encouragera d'autant plus la variation génétique mais aussi l'hétérozygotie.

On peut supposer que cette variabilité est due au temps d'origine de l'espèce *Ae.speltoides* qui selon plusieurs auteurs est la plus primitive, en d'autres mots il n'y a pas eu de changement ou réarrangement important au niveau de son génome et donc elle garde un potentiel important de variabilité.

2- Indice de similarité des diagrammes des 5 espèces :

Pour quantifier la ressemblance (ou la dissemblance) des différentes accessions d'une espèce et entre des espèces différentes, nous avons calculé un indice de similarité (ou de dissemblance) inspiré de Didio, Kaltsikes et Lierier (1969)

L'indice de similarité (IRS) est calculé en rapportant l'indice de similarité absolue (IAS) au nombre total des composants présents dans les diagrammes des accessions comparées.

L'IAS présente l'ensemble des bandes qui ne sont pas significativement différents entre les deux diagrammes. On considère qu'une bande n'est pas significativement différente d'une autre lorsqu'elles sont de même mobilité et/ou qu'elles ne se distinguent pas par au moins deux classe de concentration.

$$\text{IRS} = \text{IAS} / \text{N} \times 100$$

-Calcul des indices de similarité :

Les valeurs des IRS calculées sont regroupées dans le tableau 10, on observe des indices de similarité variant entre 0 et 100%.

Les accessions présentant de nombreuses différences dans leurs diagrammes se traduisent par des valeurs IRS faibles, alors que celles ayant beaucoup d'analogie se présentent avec des indices élevés.

D'une manière générale, on remarque que les IRS sont élevés pour les diagrammes des accessions *Ae.bicornis*. En effet, les diagrammes montrent une homogénéité presque complète pour les SG-HPM.

Ae.speltoides étant l'espèce la plus variable, on retrouve des indices de similarité assez élevés entre ses accessions et celles des 4 autres espèces. En d'autres termes, pour chaque espèce il existe au moins 2 accessions ayant des ressemblances avec les diagrammes d'*Ae.speltoides*.

Tableau 10 : Indice de similarité de quelques espèces *Aegilops* Sitopsis analysées

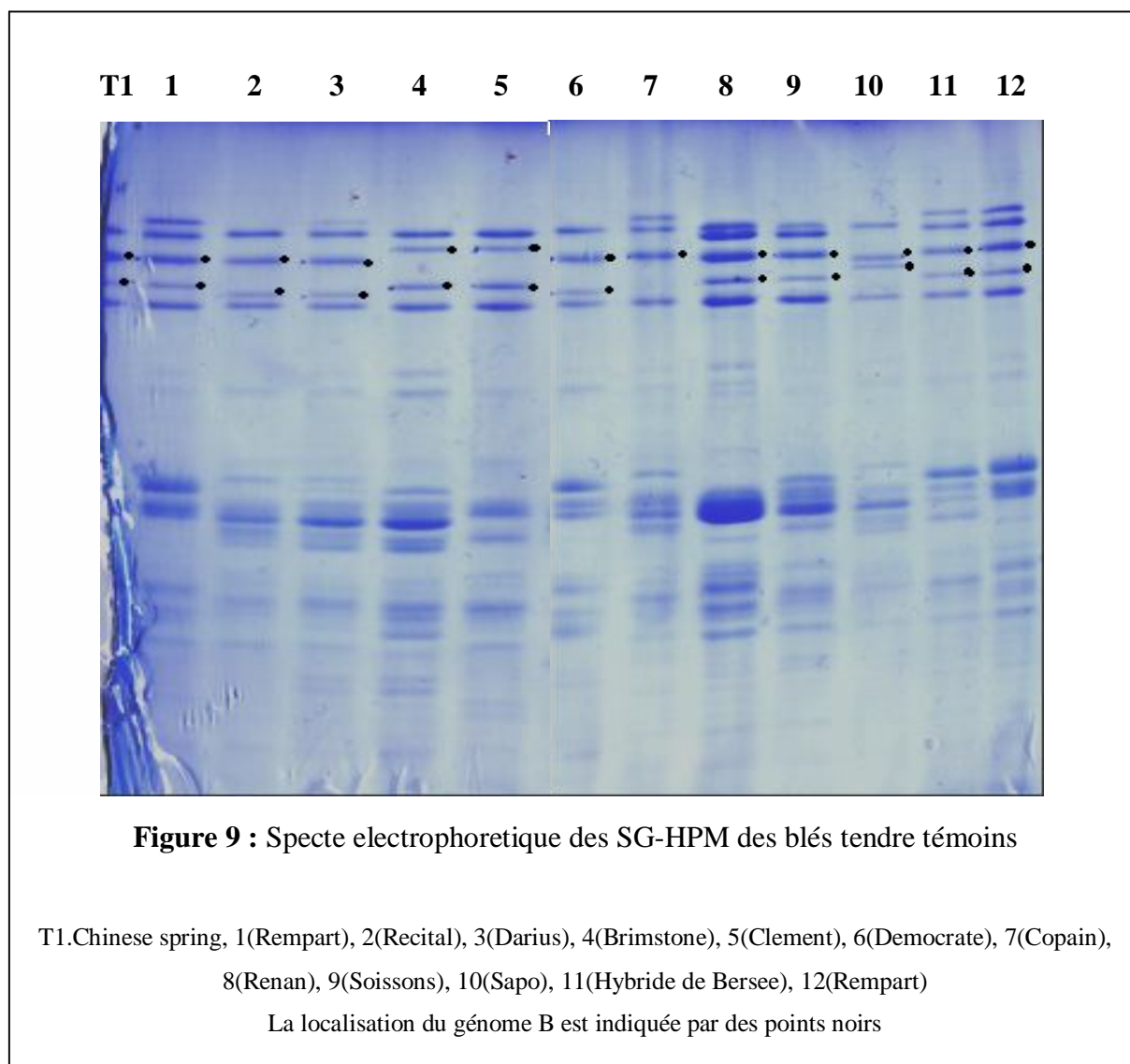
	66	65	64	63	60	56	52	50	49	48	47	46	44	40	38	37	35	32	30	29	27	26	25	22	20	18	15	14	12	10	8	7	4
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	50	0	0	0	0	0	0	100	50	100	100	100
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	50	0	0	0	0	0	0	100	50	100	100	
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	50	0	0	0	0	0	0	100	50	100		
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	50	0	0	0	0	0	0	50	100			
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	50	0	0	0	0	0	0	100				
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	50	80	50	100					
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	50	0	50	50	0	0	0	50	0	0	0	0	50	100					
18	0	0	0	0	0	40	40	0	33	28	33	28	0	0	40	0	0	0	0	0	0	40	0	33	33	100							
20	0	0	0	0	0	33	28	28	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	100								
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	0	33	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	100									
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	66	0	0	0	0	0	0	100									
26	0	0	0	33	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	66	66	100											
27	0	0	0	50	0	50	0	0	0	0	0	0	0	50	0	50	0	100	50	50	100												
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	66	0	66	50	0	50	100													
30	50	50	50	33	0	0	0	0	33	0	0	0	0	66	0	0	50	0	100														
32	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	66	0	50	0	100															
35	66	66	66	40	50	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	100															
37	0	0	0	0	40	66	0	0	33	40	33	0	0	0	0	100																	
38	0	0	0	33	0	33	0	33	40	33	50	40	66	0	100																		
40	0	0	0	0	0	33	0	0	0	0	0	40	0	100																			
44	50	50	50	33	0	33	0	66	40	33	46	0	100																				
46	50	50	50	66	0	0	0	40	33	0	0	100																					
47	33	33	33	25	57	57	50	57	50	57	100																						
48	0	0	0	0	66	85	33	33	57	100																							
49	33	33	33	25	28	50	0	57	100																								
50	40	40	40	28	0	28	40	100																									
52	0	0	0	25	0	25	100																										
56	0	0	0	0	57	100																											
60	40	40	40	28	100																												
63	66	66	66	100																													
64	100	100	100																														
65	100	100																															
66	100																																

Quelques accesions d'*Ae.bicornis*
 Quelques accesions d'*Ae.longissima*
 Quelques accesions d'*Ae.searsii*
 Quelques accesions d'*Ae.sharonensis*
 Quelques accesions d'*Ae.speltoides*

Les espèces de la section *Sitopsis* peuvent être groupé en 3 groupes : *Ae.speltoides* comme étant le groupe le plus polymorphe avec des IRS variant entre 0 pour des accession totalement différente et 100% pour des accessions identiques (exemple : 64, 65 et 66), *Ae.bicornis* le moins polymorphe possédant des IRS très élevé entre ses accessions, *Ae.longissima* et *Ae.searssii* comme groupe intermédiaire.

3- La variation interspécifique et relation avec le blé :

Les électrophorègrammes des différents blés hexaploïdes témoins sont représentés sur la figure 9.



La comparaison entre les profils électrophorétique trouvées chez les 5 espèces de la section *Sitopsis* indiquent qu'*Ae.bicornis* peut être exclue comme donneur du génome B des blés polyploïdes. Cette espèce présente un profil très constant et une localisation de bande de type x- dépassant celles de Chinese spring et se situant au niveau de la bande 2.2 de du blé hexaploïde Danchi (Fernandez-Calvin et Orellana, 1990)

De plus la persistance d'un profil constant n'est pas en accord avec la variabilité des SG-HPM rencontrée chez le génome B.

Ae.longissima montre un profil plus variable à celui d'*Ae.bicornis*, mais la majorité des bandes ont une mobilité dépassant la bande 2 de Chinese spring et similaire à la bande 2.2 de Danchi d'après Fernandez-Calvin et Orellana (1990). Par ailleurs, il est clair que *Ae.longissima* possède 3 gènes pour les SG-HPM alors que le génome B n'en possède que deux (Payne et al., 1982). Cependant, on ne peut exclure *Ae.longissima* comme donneur du génome B car des accessions avec des allèles nuls (accessions 10 à 13, figure 5) peuvent être impliqués dans l'évolution du génome B, comme il a été démontré pour le génome A de *T.monococcum* (Waines et Payne, 1987)

Le peu d'individus d'*Ae.sharonensis* étudiées nous empêche de donner une conclusion globale pour cette espèce. Cela dit, Fernandez-Calvin et Orellana (1990) ont rapportés des résultats similaires à ceux obtenus pour l'espèce *Ae.longissima*, et on conclue que même si il y a 3 gènes codants les SG-HPM, elle peut être à l'origine du génome B si des allèles nuls entre en jeux.

Les SG-HPM observés chez *Ae.searsii* sont assez variable et ils ont une mobilité électrophorétique très proche des SG- HPM observée au niveau du génome B chez les blés témoins. En effet, elles se localisent entre les bandes Glu-B7 et Glu-D2 de Chines spring. Fernandez-Calvin et Orellana (1990) les ont localisés entre la bande Glu- B5 et Glu-D10 de la variété hexaploïde Hope. Cependant, la variabilité présente chez cette espèce n'englobe pas celle trouvée au niveau du génome B.

Ae.speltoïdes est l'espèce la plus variable dans cette étude et présente un profil électrophorétique qui se démarque des autres espèces, les électrophoregrammes sont constitués de bandes différentes par leur nombre et leur positionnement. Selon Fernandez-Calvin et Orellana (1990), Il y a un grand nombre d'individus dont la mobilité

électrophorétique des SG-HPM est proche de celles du génome B, et sa grande variabilité pourrait expliquer celle trouvée chez le génome B des blés polyploïdes.

En effet, les mêmes auteurs ont comparé les bandes des HPM chez *Ae.speltoide* avec celles représentant le génome B et on a trouvé un pourcentage de 55.13% de similarité entre les SG-HPM qui possèdent la même mobilité électrophorétique du génome B des blés témoins utilisées lors de cette étude. Et un pourcentage de 46.55% pour *Ae.longissima*.

Dans notre étude, sur les 67 bandes exprimées par *Ae.speltoïdes*, on dénombre 25 sous-unités ayant une mobilité similaire à celle du génome B des blés hexaploïdes, soit 37.31% de similarité. Parmi les 27 bandes observées chez *Ae.longissima*, seulement 9 d'entre elles ont une mobilité similaire à celle trouvée chez les sous-unités du génome B, soit un pourcentage de 33.33%.

Ce faible pourcentage peut être expliqué par la faible variabilité des sous-unités gluténine HPM du génome B des blés témoins utilisés dans notre étude, puisque les diagrammes ne reflètent pas toute la variabilité génétique du génome B. Contrairement aux témoins utilisés par Fernandez-Calvin et Orellana(1990).

Probablement, la mobilité d'une autre sous-unité codée par le chromosome B peut coïncider avec la mobilité d'une quelconque autre sous-unité d'*Ae.speltoïdes* à cause du haut taux de polymorphisme qu'elle présente.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Ce travail de recherche avait pour objectif d'analyser la diversité des sous unités gluténines de haut poids moléculaire existante au sein des espèces *Aegilops* de la section Sitopsis et leur implication dans l'origine du génome B.

La technique de Singh et al.,(1991) nous a fourni des diagrammes claires et distincts, elle nous a permis :

- De distinguer trois groupes de variabilité différente chez la section Sitopsis. En effet, l'espèce *Ae.speltoides* a affiché des profils électrophorétique de grande variabilité, alors que l'espèce *Ae.bicornis* a affiché une homogénéité pour toutes ses accessions. *Ae.longissima* et *Ae.searsii* constituant le groupe intermédiaire avec néanmoins un degré de variabilité plus élevée chez la première espèce.
- D'apprécier la diversité des sous unités gluténine HPM chez les espèces *Ae.longissima* et *Ae.speltoides* qui présentent un polymorphisme assez important pour chaque espèce. Nous avons déduit qu'il existé au moins 3 gènes actifs codant les sous unités gluténines HPM chez le génome S d'*Ae.longissima*, nommés : x, y et z. Les nouvelles variations trouvées chez les espèces *Aegilops* étudiées peuvent jouer un rôle dans l'amélioration de la qualité technologique du blé, par le transfert de nouvelles sous unités et/ou augmenter le nombre de ces dernières en utilisant *Ae.speltoides*, *Ae.longissima* ou 3 gènes sont exprimés.
- D'appuyer les suppositions émises sur l'origine du génome B du blé polyploïde, et présenter *Ae.speltoides* comme le donneur le plus plausible, il est clair que le donneur du génome B doit être une espèce ayant une variabilité de sous unités HPM aussi importante que celles présentent à son niveau. Toutefois, on ne peut exclure *Ae.longissima*, *Ae.sharonensis* et *Ae.searssi*.

Cette étude sur le polymorphisme des sous unités gluténines de haut poids moléculaire des espèces de la section Sitopsis a déjà été conduite mais aucune n'a affiché une telle variabilité.

Les résultats doivent être confirmés par l'analyse d'une collection beaucoup plus importante et d'autres études approfondies doivent être entreprises pour affirmer l'hypothèse du donneur du génome B.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Allaby R.G., Banerjee M., Brown T.A., 1999.** Evolution of the high molecular weight glutenin loci in the A, B, D and G genomes of wheat. *Genome.*, **42**: 296- 307.
- **Amiour N., 1994.** connaissances des bases biochimiques et génétiques de la qualité technologique des blés cultivés en algérie. Thes.Magist.Uni.Constantine
- **Anderson O.D., Litts F.C., Greene F.C.,1997.** The α -gliadine gene family characterization on ten new wheat α -gliadin genomic clones, evidence for limited sequence conservation of flanking DNA, and Southern analysis of the gene family. *Theo Appl Genet.*, **95**: 50-58.
- **Anjum F.M., Khan R.M., Din A., Saeed M., Pasha I and Arshad M.U., 2007.** Wheat gluten: High molecular weight glutenin subunits-structure, genetics and relation to dough elasticity. *Journal of Food Science.* Vol 72. Nr 3.
- **Beccari, I. B. 1745.** De Bobniensi Scientarum et Artium Atque Academicis., **2** : 122-127.
- **Belton P.S., Duce S.L., Tatham A. S., 1987.** Nuclear magnetic resonance studies of wheat gluten. In: Cereals in European context. First European conference on Food Science and Technology. Eds, Morton I D. Ellis. Hordwood, Chichester, UK, pp 488-495.
- **Bietz J.A, Wall J.S., 1972.** Wheat gluten subunits: molecular weights determined by sodium sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis.*Cereal Chem.* **49**: 416-30.
- **Bietz J.A., Shepherd K.W., Wall J.S., 1975.** Single – Kernel analysis of glutenin: use in wheat genetics and breeding. *Cereal Chem.*, **52**: 513-32.
- **Blanco A., Resta P., Simeone R., Parmar S., Shewry P.R., Sabelli P., Lafiandra D., 1991.** Chromosomal location of seed storage protein genes in the genome of *Dasyphyrum villosum*. *Theo Appl Genet.*, **82**:358-362.
- **Boyko, E., Kalender, V. Korzun, J. Fellers, A. Korol, A. H.Schulman & Gill B.S. 2002.**A high-density cytogenetic map of the *Aegilops tauschii* genome incorporating retrotransposons and defense-related genes: insights into cereal chromosome structure and function. *Plant Molecular Biology.*, **48**: 767-790.
- **Branlard, G. & J.Autran. 1987.** l'amélioration génétique de la qualité technologique. *Culture Technique.*, **15** :132-144.

- **Bright S.W.J., Shewry P.R., 1983.** improvement of protein quality in cereals. in critical reviews in plant sciences, vol 1 (Ed BV congre) CRC press INC , BOCA.FLORIDA
- **Browden, M.W. 1959.** Taxonomy and nomenclature of the wheat, barleys, and ryes and their wild relatives. *Can. J. Bot.*, **37**:657-684.
- **Charbonnier, L., T.H. Terce-Laforgue & J. Mosse. 1980.** Some physiochemical properties of *Triticum vulgare* β , γ and ω gliadins. *Ann. Technol. Agric.* **29 (2)**: 175-190.
- **Chenneveeraiah, M.S. 1960.** Karyomorphologic and cytotaxonomic studies in *Aegilops*. *Acta HortiGotob.* **23**: 85-1787.
- **Ciaffi M., Dominici L., Lafiandra D and Porceddu E., 1992.** Seeds storage proteins of wild wheat progenitors and their relationship with technological properties. *Hereditas.*, **116**: 315-322.
- **Cox, T.S., 1998.** Deepening the wheat gene pool. *J. Crop Prod.* **1** : 1–25.
- **D'Ovidio R., Masci S., 2004.** The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. *Journal of Cereal Science.*, **39**:321-339.
- **D'Ovidio R., Simeone M., Masci S., Porceddu E., Kasarda D.D., 1995.** Nucleotide sequence of a γ - gliadin type gene from a durum wheat: correlation with a γ -type glutenin subunit from the same biotype. *Cereal Chemist.*, **72**; 443-449.
- **D'Ovidio R., Tanzarella O.A., Masci S., Lafiandra D and Porceddu E., 1992.** RFLP and PCR analyses at Gli-1, Gli-2, Glu-1 and Glu-3 loci in cultivated and wild wheat. *Hereditas.*, **116**: 79-85.
- **De Bustos A., Jouve N., 2003.** Characterization and analysis of new HMW-glutenin alleles encoded by the Glu-R1 locus of *Secale cereal*. *Theor Appl Genet.*, **107**:74-83.
- **Deng-Eao, L., Yen de chi., Jiang., L. Yang. 1997.** C banding de *Triticum aestivum* L. et *Triticum tauchii* Coss. (ressort chinois), Article de recherche, Service d'information de blé, **84**: 33-39
- **Dosba, F. & G. Doussivault. 1978.** Création de lignées de blé présentant les caractéristiques agronomiques favorables d'*Aegilops ventricosa*, *Ann. Amélior. Plantes.*, **28** : 27-44.
- **Doussivault G., Pavoine M.T., Jaudeau B., Jahaier J., 2002.** Evolution de la variabilité génétique chez le blé. Dossier de l'environnement de l'INRA, **21**:91-103.
- **Dvorak J., Kasarda D.D., Dielter M.D., Lew E-J.L., Anderson O.D., Lrris J.C., Shewry P.R., 1986.** Chromosomal location of seed storage protein genes in the genome of *Elytrigia elongata*. *Can. J. Gent. Cytol.*, **28**: 818-830.

- **Dvorak, J. 1976.** The relationship between the genome of *Triticum urartu* and the A and B genomes of *Triticum aestivum*. *Canad. Jour. Genet. Cytol.* **18**: 371-377.
- **Dvorak, J. 1998.** genome analysis in the *Triticum-Aegilops* alliance In: Proc.9th inter. Wheat Genet. Symp., Saskatchewan, Canada 2-7 August 1998. pp:8-11.
- **Eig, A. 1929.** Monographisch –Kritische Ubersicht der Gattung *Aegilops*. Repertorium Specierum Norvarum Regni Veetabilis. Vol. 55 Selb- Verlag, Berlin pp:1-228.
- **Emberger, L. & M. Chadeaud. 1960.** Traité de botanique systématique. Tome 2 fascicule 1 : les végétaux vasculaires. Ed : Masson Cie..pp: 178
- **Ewart, J .A .D . 1983.** Triplet β -gliadin from cappelle desperes. *J. Sci. Food. Agri* **34**: 653-656
- **FAO.2005.** OECD-FAO agricultural outlook: 2005-2014 global information and early warning system on food and agriculture.(GIEWS). Food Outlook No,4, December 2005.
- **Feldman M et Kislev M., 1977.** *Ae.searsii*, a new species of the section *Sitopsis* (*Plarysrachys*). *Isv. J. Bot.*, **26**: 190-201.
- **Félix I., 1996.** *Étude de la diversité allélique des protéines de réserve (gluténines et gliadines), en relation avec des tests de technologie appréciant la valeur d'utilisation du blé tendre.* Thèse Université Clermont-Ferrand, 146 p.
- **Fernandez-Calvin, B., & J. Orellana. 1990.** High-molecular-weight glutenin subunits variation in the *Sitopsis* section of *Aegilops*. Implications for the origin of the B genome of wheat. *Heredity* ., **65**: 455-463.
- **Garg M., Rao Y.S., Goyal A and Singh B., 2007.** Variation in seed storage protein-Triticin among diploid *Triticum* and *Aegilops* species., *Biotechnology.*, **3**: 444-446.
- **Golovnina K., Glushkov S., Blinov A., Mayorov V., Adkison L., Goncharov N., 2006.** Molecular phylogeny of the genus *Triticum* L. *Comparative and Evolutionary Genomics and Proteomics.* pp147-50.
- **Grosh W., Weiser H.,1999.** Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid.*J. Cereal Sci.*, **29**: 1-16.
- **Gu Y.Q., Coleman-Derr D., Kong X., Anderson O.D. 2004.** Rapid genome evolution revealed by comparative sequences analysis of orthologous regions from four Triceae genomes. *Plant physiology.*, **135**: 45-470.
- **Haider N et Nabulsi I., 2008.** Identification of *Aegilops* L. species and *Triticum aestivum* L. based on chloroplast DNA. *Gent Resour Crop Evolu.*, **55**: 537-549.

- **Hamdi O., 2003.** Etude biochimique et génétique de la diversité des sous unités gluténines de huit espèces du genre *Aegilops*. Thèse de magistère. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Mentouri Constantine.
- **Hammer K.,1980.** Vorarbeiten zur monographischen Darstellung von wild planzeln-Sortimenten: *Aegilops* L.kulturplanze., **28**: 33-180.
- **Han F. P., Fedak G., Ouellet T and Liu B., 2003.** Rapid genomic changes in interspecific hybrids and allopolyploids of Triticeae. *Genome.*, **46**: 716-723.
- **Han F., Fedak G., Guo W and Liu B. 2005.**, Rapid and repeatable elimination of a parental genome-specific Dann repeat (pGc 1R-1a) in Newly synthesized wheat allopolyplois. *Genetics.*, **170** :1239-1245.
- **Holt L. M., Astin R et Payne P., I.,1981.** Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin. 2. Relative isoelectric points determined by two-dimensional fractionation in polyacrylamide gels. *Theo appl. Genet.*, **60**: 237-243.
- **Huebner F.R. Bietz J.A.,1993.** Improved chromatographic separation and characterization of ethanol-soluble wheat proteins. *Ceral Chem.***70**: 506-511.
- **Jahier, J., R. Rivoal, M.Q. Yu, P. Abelard, A. M. Tanguy, &D. Barloy. 1998.** Transfert of genes for resistance to cereal cyst nematode from *Aegilops variabilis* Eig to wheat. *J. Gene. & breed.* **52**: 253-257.
- **Jiang C., Pei Y., Zhang Y., Li X., Yao D., Yan Y., MA W., Hsam S. L. K and Zeller F. J., 2008.** Molecular cloning and characterization of four novel LMW glutenin subunit genes from *Aegilops longissima*, *Triticum dicoccoides* and *T. zhukovsky*. *Hereditas.*, **145**: 92-98.
- **Johnson B.L. 1972.** Protein electrophoric profiles and the origine oft he B genome of wheat. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **69**: 1398-1402.
- **Johnson, B. L., 1975** Identification of the apparent B-genome donor of wheat. *Can. J. Genet. Cytol.* **17**: 21-39.
- **Kan Y., Wan Y., Beaudoin F., Leader D.J., Ewarts K., Poole R., Wang D., Mitchell R.A.C., Shewry P.R., 2006.** Transcriptome analysis reveals differentially expressed strage protein transcript in seeds of *Aegilops* and wheat. *Journal of Cereal Science.*, **44**: 75-85.
- **Kasarda D.D., Lafiandra D. , Morris R. , Shewry P.R. (1984).**Genetic relationships of wheat gliadin proteins.Kulturpflanz.**32** :33-52.

- **Kihara H., 1924.** Cytologische und Genetische studien bei wichtigen gatridearrten mit besondersnachtsicht anf das verhalten der chromosomen und die sterilidat in den bastarden. Mem. Coll. Sci, Kyoto. Imp. Uni, p 200.
- **Kihara H., 1940.** Anwendung der gznomanalyse für die Systematik von *Triticum* and *Aegilops*. *Jpn. J. Genet*; 309-320.
- **Kihara, H.& Tanaka., 1970.** Attendum to the classification of the genus *Aegilops* by means of the genome analysis. *Wheat Inf. Serv.*, **30**: 1-2.
- **Kihara, H., 1954.** Consideration on the evolution and distribution of *Aegilops* species based on the analyser method. *Cytologia*, **19**: 336-357.
- **Kihara, H., 1944.** Discovry of the DD analyser, one of the ancestors of *T.vulgare*. *Agr. Hortic.* **19**:13-14.
- **Kimber G.& Feldmen., 1987.** Wild wheat, an introduction.(Special Report of the College of Agriculture, University of Missouri, Columbia 353., pp:1-142.
- **Kimber G.,&Tsunewaki K., 1988.** Genome symbols and plasma type in the wheat group. Proc. Int. Wheat Genet. Symp., 7th .pp:1209-1211.
- **Kimber G et Sears E.R., 1987.** Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat . In: Wheat and wheat improvement, 2end (Heyne E.G, Ed). American Society of Agronomy, Madison,WI. pp 154-164.
- **Köhler, P.,B. Keck, S. Müller,& H. Wieser. 1996.** Disulfide bonds in wheat gluten, p.45-54. In Wheat KernalProteins , Molecular and functional Aspects. Viterbo, Italy.
- **Laemmli , U. K . 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.*, **227**: 680- 685.
- **Law, C.N., P.I. Payne, A.J. Worland, T.E. Miller, & P.A. Harris & J.W. Snape. 1984.** Studies of genetical variation affecting grain protein type and amount in wheat cereal grain protein improvement. IAEA, Vienna, pp:279-300.
- **Lawrence, G. J., & K. W. Shepherd. 1981.** Chromosomal location of genes controlling seed proteins in species related to wheat. *Theoritical and applied genetics.* **59**: 25-31.
- **Leitch I. J and Benett M. D., 1997.** Polyploidy in angiosperms.Ttrends Plant Sci., **2**, no12, pp. 470-476.
- **Liu Z., Yan Z., Wan Y., Liu K., Zheng Y., Wang D., 2003.** Analysis oft he HMW glutenin subunits and their coding sequences in two diploid *Aegiolps* species. *Theor. Appl. Gent.*, **106**: 1368-1378.

- **Maan S. S & Lucken K. A. 1971.** Nucleo-cytoplasmic interactions involving *Aegilops* cytoplasm and *Triticum* genomes. *J. Heredity.*, **62**:149-152.
- **Martin, L.M, & J. B. Alvarez. 2001.** use of interspecific hybridisation in quality improvement of cereals. *In* CIHEAM-Options Mediterraneenes pp:447-454.
- **Masood S.M., Okuno K and Anwar R.,2000.** Inter and intra-specific variation in SDS-PAGE electrophoregrams of total seed protein in wheat, barley, and their wild species. *Pakistan Journal of Biological Sciences.*,**12**: 2223-2225.
- **Metakovsky, E.V., & S.K. Baboev. 1992.** Polymorphism and inheritance of gliadin polypeptides in *T.monococcum* L. *Theor Appl Genet.* **84**: 971-978.
- **Monneveux P, Zaharieva M et Rekika D. 2000.** The utilisation of *Triticum* and *Aegilops* species for the improvement of durum wheat. CIHEAM- options mediterraneennes, pp 72-81.
- **Montebove L., De pace C., Jan CC., Scarascia Mugnozza GT., Qualset CO., 1987.** Chromosomal location of isozyme and seed storage protein genes in *Dasypyrum villosum* (L.). *Candargy. Theor.Appl.Genet.*, **73**: 836-845.
- **Mori N., Miyashita N. T., Terachi T and Nakamura C., 1997.** Variation in *CoxII* intron in the wild ancestral species of wheat. *Hereditas.*, **126**: 281-288.
- **Morris R., & Sears ER ., 1967.** The cytogenetics of wheat and wheat improvement. Edited by K.S. Quisenberry and L.P. Reitz. American society of agronomy, Madison, Wisconsin. Pp:19-87.
- **Morrison, L.A., O. Riera-Lizarazu, L. Crémieux, & C.A. Mallory-Smith. 2002.** Jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host) x Wheat (*Triticum aestivum* L.) Hybrids: Hybridation Dynamics in Oregon Wheat Fields. *Crop Sci.* **42**: 1863-1872.
- **Ogihara Y., Tsunewaki k., 1982.** Molecular basis of the genetic diversity of the cytoplasm in *Triticum* and *Aegilops*. I. Diversity of the chloroplast genome and its lineage revealed by the restriction patterns of ct-DNAs. *Jpn. J. Gent.*, **57**: 371-396.
- **Osborne T.B., 1924.** The vegetable proteins. 2nd ed. London: Longmans, Green and Co.
- **Ozkan H., Levy A.A., Feldman M., 2001.** Allopolyploidy induced rapid genome evolution in the wheat (*Aegilops- Triticum*) group. *Plant Cell.*, **13**: 1735-1747.
- **Payne O. I., 1983.** In: Seed Proteins. Daussant J., Moose J and Vaughan J., Eds. Academic Press New York, pp: 549-571.

- **Payne P.I., Holt L.M., Jackson E.A., Law C.N.,1984** . Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philos. Trans R Soc Lon B.*, **304**: 359-71.
- **Payne P.I., Holt L.M., Lawrance G.J., Law C.N.,1982**. The genetics of gliadin and glutenin, the major storage proteins of the wheat endosperm. *Qual Plant Food Hum Nutr.*,**31**: 229-41.
- **Payne, P.I. 1987**. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread making quality. *Annual Revue of Plant Physiology.*, **38**:141-153.
- **Pestsova E.G., Gongharov N.P and Salina E.A., 1998**. Eliminations of tandem repeat of telomeric heterochromatin during the evolution of wheat. *Theo. Appl.Genet.*, **97**:1380-1386.
- **Peterson G., Seberg O., Yde M., Berthelsen K., 2006**. Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*). *Molecular and Phylogenetics and Evolution.*, **39**: 70-82.
- **Raskina O., Belyayev A et Nevo E. 2004**. Quantum speciation in *Aegilops*: molecular cytogenetic evidence from rDNA cluster variability in natural populations. *PNAS.*,**101**: 14818-14823.
- **Rayburn A.L and Gill B.S.,1987**. Molecular analyses of the D genome of Triticeae. *Theor. Appl. Genet.*, **73**: 358-388.
- **Riley R., & Law C. N., 1965**. Genetic variation in chromosome pairing. *Adv. Genet.* **13**: 57-114.
- **Riley R., Unrau. J, & Chapman V.1958**. Evidence on the origin of The B genome of wheat. *J.Heredity.*, **49**:91-98.
- **Pomeranz Y., 1983**. Molecular approach to breadmaking: an update and new perspectives . *The bakers digest*: 72-86.
- **Sallares R et Brown T.A., 2004**. Phylogenetic analysis of complete 5' external transcribed spacers of the 18S ribosomal RNA genes of diploid *Aegilops* and related species (Triticeae, Poaceae). *Genetic Resources in Crop Evolution.* **51**:701-712.
- **Salina E.A., Numerova O.M., Ozkan H and Feldman M., 2004**. Alterations in subtelomeric tandem repeats during early stages of allopolyploidy in wheat. *Genome.*, **47**: 860-867.
- **Sarkar, P., and G. L. Stebbins, 1956**. Morphological evidence concerning the origin of the B genome in wheat. *Amer. J. Bot.* **43**: 297-304.

- **Sasanuma T., Miyashita N. T., Tsunewaki K., 1996.** Wheat phylogeny determined by RFLP analysis of nuclear DNA. 3. Intra- and interspecific variations of five *Aegilops Sitopsis* species. *Theor. Appl. Genet.*, **92**: 928-934..
- **Shands, H., G. Kimber. 1976.** in Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp., eds. Sears (Colombia Missouri) pp:101-108.
- **Sheets K., Hedgcoth C., 1988.** Nucleotide sequence of a γ -type gene: comparison with other γ -type sequences show the structure of γ -gliadin genes and the general primery structure of γ -gliadin.*Plant Science.*,**57**: 141-150.
- **Shewry P.R., Halford N.G., Tatham A.S.,1989.** The high molecular weight subunits of wheat, barley and rye: genetics, molecular biology, chemistry. And role in wheat gluten structure and functionality. In: Mifflin BJ. Editor. Oxford surveys of plant and molecular cell biology. London: Oxford University Press. p163-219.
- **Shewry P.R., Mifflin B. J., 1987.** seed storage proteins of economically important cereal *Adv.Cereal.Sci.Tec.*VII.,1-83.
- **Shewry P.R., Mifflin B.J., Lew E.J-L., Kasarda D.D.,1983.** The preparation and characterization of an aggregated gliadin fraction from wheat.*J. Exp.Bot.*, **34**: 1403-1410.
- **Shewry P.R., Tatham A. Lazzeri P., 1997.** Biotechnology of wheat quality. *J. Sci Food Agric.*, **73**: 397-406.
- **Shewry P.R., Tatham A.S., 1997.** Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci.*, **25**: 207-227.
- **Shewry, P.R., M.J. Miles, & A.S. Thatam.1994.** The prolamin storage proteins of wheat and related cereals. *Prog. Biophys.Mol.Biol.*, **61**: 37-59.
- **Shewry, P.R., N. G. Halford, & A.S Thatam. 1992.** High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science.*, **15**: 105-120.
- **Shewry P.R., Halford N.G., Field J.M and Thatam A.S.,1989.** The structure and functionality of wheat gluten proteins.*Proc Aust Cereal Chem. Conf.*, 38th (Murray, L.ed), R Aust.Chem.Inst.,Melbourne.
- **Singh, N. K., & K.W.Shepherd . 1988.** Linkage mapping of genes controlling endosperm storage protein in wheat. 1. Genes on the short arms of group 1 chromosomes. *Theor. Appl. Genet.*, **75 (4)**: 628-641
- **Singh, N.K., K.W. Sheferd,& G. B. Cornish. 1991.** A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *J.Cereal. Sci.*, **14**:203-208.

- **Stebbins GL.**, 1956. Taxonomy and evolution of genera, with special reference to the family Gramineae. *Evolution*, **10**:235-245.
- **Sun X., Hu S., Liu X., Qian W., Hao S., Zhang A., Wang D., 2006.** Characterization of the HMW glutenin subunits from *Aegilops searsii* and identification of a novel variant HMW glutenin subunit. *Theor. Appl. Genet.*, **113**: 631-641.
- **Thatam, A. S., P. R. Shewry, P. S. Belton. 1990.** Structural studies of cereal prolamins including wheat glutenin. *Adv. Cereal. Sci. TEC X*: 1-18.
- **Thatam, A.S., & P. R. Shewry . 1985.** The conformation of wheat gluten proteins. The secondary structures and thermal stabilities of α -, β -, and γ -gliadins. *Journal of Cereal Science.*, **3**: 103.
- **Thatam A.S., Mifflin B.J and Shewry P.R. 1985.** The B-turn conformation in wheat gluten proteins: Relationship with gluten elasticity. *Cereal Chem.* **62**: 405-412.
- **Van Slageren MW., 1994.** Wild wheat: A monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopurum* (Jaub. & Spach.) Eig.(poaceae). Wageningen Agricultural University, International Center for Agricultural Research in the Dry Areas: Veenman Drukkers, Wageningen, 512pp.
- **Waines J. G and Payne P. I., 1987.** Electrophoretic analysis of the high molecular weight glutenin subunits of *Triticum monococcum*, *T. urartu*, and the A genom of bread wheat (*T.aestivum*). *Theor Appl Genet.* **74**: 71-76.
- **Wang J.R., Yan Z.H., Jiang Q.T., Wie Y.M., Baum B.R., Zheng Y.L., 2007.** Sequence variation and molecular phylogenetic analyses of the HMW-GS genes from different genomes in Triticeae. *Biochemical Systematics and Ecology.*, **35**, 421-433.
- **Weiser H., 1996.** Relation between gliadin structure and celiac toxicity. *Acat. Aediatr.* **412**: 3-9.
- **Weiser H., 2007.** Chemistry of gluten proteins., *Food Microbiology.*, **24**:115-119.
- **Weiser H., Kieffer R., 2001.** Correlation of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a micro-scale. *J. Cereal Sci.*, **34**: 19-27.
- **Weiser, H., A. Modl, W. Seilmeier, & H.D. Belitz. 1987.** High-performance liquid chromatography of gliadins from different wheat varieties: amino-acid composition and N-terminal amino-acid sequences of components. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* **185**:371.

- **Yan Z.,Wan Y.,Liu K.,Zheng Y.,Wang D.,2002.** Identification of a novel HMW glutenin subunit and comparison of its amino acid sequences with those of homologous subunits. *Chin Sci Bull.*,**47**:220-225.
- **Zhang H., Reader S.M., Liu X., Jia J.Z., Gale M.D. 2001.** Comparative genetic analysis of the *Aegilops longissima* and *Aegilops sharonensis* genomes with common wheat. *Theo. App. Genet*, **103**: 518-525.
- **Zhang W., Qu L.J., Gu H., Gao W., Liu M., Chen J., Chen Z., 2002.** Studies on the origin and evolution of the tetraploid wheats on the internal transcribed spacer (ITS) sequence of nuclear ribosomal DNA. *Theo. App. Genet*, **104**: 1099-1106.
- **Zhang Z.Y.,Ma Y.Z., Xin Z.Y., Chen X., Wu D.L and Lin Z.S.1998.** Analysis of the chromosome constitution of wheat lines resistant to barley yellow dwarf virus by genomic in situ hybridization. *Scientia Agricultura Sinica*. 31(3):1-4.

Annexe 1

Solutions utilisées dans l'extraction des gluténines

Solution A

Propanol-1	50 ml
Eau distillée	qsp100 ml

Solution B (conservation environ 2 semaines, à 4°C°)

Propanol-1	10 ml
Tris HCl 1M pH 8	1.6 ml
Eau distillée	qsp20 ml

Solution B1 (à préparer ex temporairement)

Solution B	7 ml
Dithiotreitol	70 mg

Solution B2 (à préparer ex temporairement)

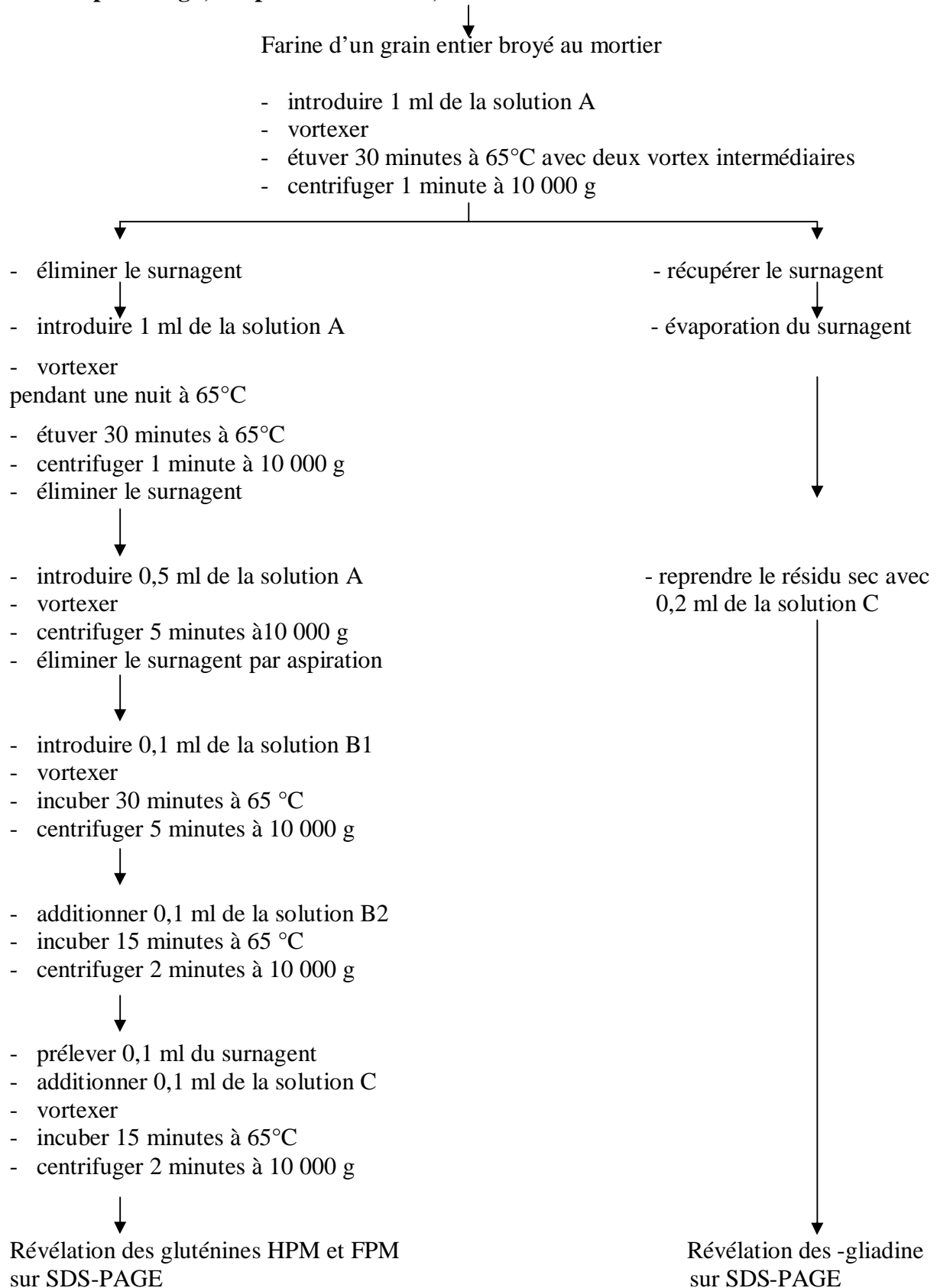
Solution B	7 ml
4-vinyl-pyridine	98 µl

Solution C (conservation environ 2 semaines, à 4°C°)

SDS	0.2 g
Glycérol	4 ml
Bleu de bromophénol	2 ml
Tris HCl 1M pH 8	0.8 ml
Eau distillée	qsp10 ml

ANNEXE 2

Extraction des gluténines HPM, FPM et ω -gliadines D'après Singh, Shepherd et Cornish, 1991. *Journal of cereal science*.14 :203-208



ANNEXE 3

Solutions pour la préparation des gels

Solution mère d'acrylamide à 35% (à préparer avec gants et masque)

Acrylamide	35 g
Eau distillée	100 ml

Solution mère de bisacrylamide à 2% (à préparer avec gants et masque)

Bisacrylamide	2 g
Eau distillée	100 ml

Solution stock de SDS à 10%

Sodium Dodécyl Sulfate	10 g
Eau distillée	100 ml

Solution d'APS (Ammonium PerSulfate) à 1% (à préparer extemporainement)

APS	0.1 g
Eau distillée	10 ml

Tampon Tris HCl pH 8.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	60.57g
Eau distillée	qsp400 ml
Ajuster à pH 8.8 avec du HCl fumant	8 à 10 ml
Eau distillée	qsp500 ml

Tampon Tris HCl pH 6.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	30.285 g
Eau distillée	qsp200 ml
Ajuster à pH 8.8 avec du HCl fumant	19.5 ml
Eau distillée	qsp250 ml

Tampon d'électrophorèse

Glycine	70.55 g
Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	15 g
SDS	5 g
Eau distillée	qsp 5000 ml

Solution de coloration (pour deux gels)

TCA 60%	100 ml
Solution mère de Bleu de Coomassie R250	25 ml
Eau distillée	qsp 500 ml

Solution mère de bleu de Coomassie R250

Bleu de Coomassie R250	10 g
Ethanol 95°	qsp 1000 ml

NB. L'éthanol doit être mis en agitation dans l'éprouvette, avec un barreau aimanté. Le bleu de Coomassie est ensuite ajouté (sinon le bleu prend en masse au fond du contenant). Laisser en agitation au moins deux heures, puis filtrer la solution.

VARIATION DES SOUS UNITES GLUTENINES DE HAUT POIDS MOLECULAIRE CHEZ LES ESPECES *Aegilops* APPARTENANT A LA SECTION *Sitopsis*

Résumé :

Cette étude est basée sur la variation des sous unités glutenines de haut poids moléculaire HPM de 66 accessions d'*Aegilops* appartenants a la sélection *Sitopsis*, nommé : *Ae.bicornis*, *Ae.longissima*, *Ae.sharonensis*, *Ae.seassii* et *Ae.speltoides*, en utilisant l'électrophorèse monodimensionnelle.

La présence de 3 bandes de SG-HPH chez *Ae.longissima* est serment due a l'existence d'au moins 3 gènes codant les SG-HPM du génome B chez les *Aegilops*.

La technique SDS-PAGE nous a permit d'estimer une grande variabilité génétique des SG-HPM chez *Ae.speltoides*. Ces résultats peuvent être utilisés dans l'amélioration de la qualité technologique du blé cultivé.

A partir de la comparaison des profils gluténines obtenus chez les espèces analysées et ceux observés chez le génome B des blés tendre. Il est peu probable que *Ae.bicornis* et *Ae.longissima* soient le donneur du génome B, contrairement à *Ae.Speltoides* .

Mots clés :

Aegilops Sitopsis, blé, protéines, diversité, électrophorèse

HIGH MOLECULAR WEIGHT GLUTENIN SUBUNIT VARIATION IN THE *Sitopsis* SECTION OF *Aegilops*

Abstract:

This study is based on the variation of subunits glutenin high molecular weight HPM of 66 accessions of *Aegilops* belonging to the section *Sitopsis*, called: *Ae.bicornis*, *Ae.longissima*, *Ae.sharonensis*, *Ae.seassii* and *Ae.speltoides*, using monodimensionnel electrophoresis.

The presence of 3 glutenin bands in several accessions of *Ae.longissima* seems to be evidence for the existence of at least 3 genes encoding the SG-HPM in the genome S of *Aegilops*.

The technic of SDS-PAGE has permitted us to estimate a high genetic variability of SG-HPM in *Ae.speltoides*. These results can be used in improving the technological quality of wheat.

From the comparison between the glutenin patterns found in the species analyzed and those band observed for the B genome of hexaploid wheat, it can be concluded that *Ae.bicornis* and *Ae.longissima* are unlikely donors of the B genome.

Key words:

Aegilops Sitopsis, wheat, proteins, diversity, electrophoresis.

تباين الجتوتينات ذات الوزن الجزيئي المرتفع عند الاصناف *Aegilops* ينتمون إلى الفرع *sitopsis*

الملخص:

تمت دراسة تنوع الجتوتينات ذات الوزن الجزيئي المرتفع HPM لمجموعة تتكون من 66 صنف *Aegilops* ينتمون إلى الفرع *Sitopsis* باستعمال الهجرة الكهربائية و هم :
Ae.speltoides و *Ae.searsii*, *Ae.sharonensis* , *Ae.longissima* , *Ae.bicornis*
وجود 3 أشربة HPM لدى الصنف *Ae.ongissimal* يدل على تواجد 3 جينات على الأقل يشفرون إل
HPM للجينوم S عند صنف *Aegilops*.
سمحت لنا تقنية PAGE-SDS من تقدير تباين وراثي كبير عند صنف *Ae.speltoides* يمكن استعمال هذه النتائج
لتحسين النوعية التكنولوجية للقمح المستهلك.
من خلال مقارنة الأنماط HPM الموجودة عند الأصناف *ilopsAeg* المدروسة و الأنماط HPM الملاحظة عند الجينوم
B للقمح اللين. يمكن استبعاد *Ae.longissima* و *Ae.bicornis* كجهة مانحة للجينوم B على عكس الأصناف
Ae.speltoides

الكلمات المفتاحية
القمح. البروتينات. التباين. الهجرة الكهربائية *Aegilops Sitopsis*

Nom : Boudchicha	Date de Soutenance : 15 /10/ 2009								
Prénom : Rima Hind									
Titre : VARIATION DES SOUS UNITES GLUTENINES DE HAUT POIDS MOLECULAIRE CHEZ LES ESPECES AEGILOPS DE LA SECTION SITOPSIS									
Diplôme : Magistère en biotechnologie végétale									
<p>Résumé : Cette étude est basée sur la variation des sous unités glutenines de haut poids moléculaire HPM de 66 accessions d'<i>Aegilops</i> appartenants à la sélection <i>Sitopsis</i>, nommé : <i>Ae.bicornis</i>, <i>Ae.longissima</i>, <i>Ae.sharonensis</i>, <i>Ae.seassii</i> et <i>Ae.speltoides</i>, en utilisant l'électrophorèse monodimensionnelle.</p> <p>La présence de 3 bandes de SG-HPH chez <i>Ae.longissima</i> est sûrement due à l'existence d'au moins 3 gènes codant les SG-HPM du génome B chez les <i>Aegilops</i>.</p> <p>La technique SDS-PAGE nous a permit d'estimer une grande variabilité génétique des SG-HPM chez <i>Ae.speltoides</i>. Ces résultats peuvent être utilisés dans l'amélioration de la qualité technologique du blé cultivé.</p> <p>A partir de la comparaison des profils gluténines obtenus chez les espèces analysées et ceux observés chez le génome B des blés tendre, il est peu probable que <i>Ae.bicornis</i> et <i>Ae.longissima</i> soient le donneur du génome B, contrairement à <i>Ae.Speltoides</i>.</p>									
<p>Mots clés : <i>Aegilops Sitopsis</i>, blé, protéines, diversité, électrophorèse</p>									
<p>Laboratoire de recherche : Génétique biochimie et Biotechnologie Végétale Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Mentouri Constantine</p>									
Directeur de recherche : Prof. Khelifi D									
<p>Jury de soutenance :</p> <table> <tr> <td>Président :Mr Merghem R</td> <td>Professeur à l'université Mentouri Constantine</td> </tr> <tr> <td>Rapporteur : Mr Khelifi D</td> <td>Professeur à l'université Mentouri Constantine</td> </tr> <tr> <td>Examineur : Mr Bensegueni A</td> <td>Maître de conférence à l'université Mentouri Constantine</td> </tr> <tr> <td>Examineur: Mr. Chikhi A</td> <td>Maître de conférence à l'université Mentouri Cosntantine</td> </tr> </table>		Président :Mr Merghem R	Professeur à l'université Mentouri Constantine	Rapporteur : Mr Khelifi D	Professeur à l'université Mentouri Constantine	Examineur : Mr Bensegueni A	Maître de conférence à l'université Mentouri Constantine	Examineur: Mr. Chikhi A	Maître de conférence à l'université Mentouri Cosntantine
Président :Mr Merghem R	Professeur à l'université Mentouri Constantine								
Rapporteur : Mr Khelifi D	Professeur à l'université Mentouri Constantine								
Examineur : Mr Bensegueni A	Maître de conférence à l'université Mentouri Constantine								
Examineur: Mr. Chikhi A	Maître de conférence à l'université Mentouri Cosntantine								