

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mentouri Constantine
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie végétale et d'écologie
Laboratoire de biochimie génétique et biotechnologies végétales

N° d'ordre :.....

N° de série :.....

MEMOIRE

**En vue d'obtention du diplôme de magister en génomique
et techniques avancées des végétaux**

THEME

**Appréciation de la variabilité génétique des blés durs et des blés
apparentés par les marqueurs biochimiques**

Présenté par : Melle Hamel Lylia

Soutenu le : 08 / 07 /2010

Devant le jury :

Présidente : Mme N.Khalfallah
Constantine

Professeur .Université Mentouri

Rapporteur : Mr D. Khelifi
Constantine

Professeur Université Mentouri

Examineur : Mr A.Benguedouer
Constantine

Professeur UniversitéMentouri

Examineur : Mr A.Hamidechi

Maitre de conférence.Université Mentouri



REMERCIEMENTS

Tout d'abord, louange à « ALLAH » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et qui m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes, sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance, ma profonde gratitude et mes remerciements à Monsieur le Professeur : D.Khelifi, qui a fait preuve d'une grande patience et qui a été d'une grande aide dans la réalisation de ce travail, ses conseils, ses orientations ainsi que son soutien moral et scientifique m'ont permis de mener à terme ce projet.

Je remercie également Mme Khalfallah, N. professeur à l'université Mentouri de Constantine de bien vouloir accepter de présider le jury.

Mes vifs remerciements sont adressés :

A Mr Benguadouer .A ; professeur à l'université Mentouri de Constantine de bien vouloir juger ce travail.

Merci à Mr Hamidechi.A ; maître de conférence à l'université Mentouri de Constantine d'avoir examiné ce travail et de m'avoir bien orienté.

Je tiens à remercier, tout le personnel de l'ITGC de Constantine pour leur collaboration.

A Melle Bellil Iness d'avoir toujours été là pour moi, et pour ses précieux aide et conseils.

Egalement, à Melle Hamdi Ouahiba qui m'a aidé dans la réalisation de ce travail au niveau du laboratoire. Ainsi à Melle Chaib Rania d'avoir mis à ma disposition une bonne documentation.

Des remerciements tout particuliers à mes parents et à toute ma famille, et à m'on mari qui avec, leur soutien moral permanent, m'on permis d'arriver à cette étape très importante de ma vie.

Dédicaces

*Je dédie ce travail
à mes parents
et mes enfants*

Liste des figures

Figure 1 : Lieux d'origine et diffusion de <i>Triticum monococcum</i> à travers le monde	16
Figure2: Lieux d'origine et diffusion de <i>Triticum turgidum</i> à travers le monde	17
Figure3: Les différents constituants du grain de blé.....	28
Figure 4 : Schéma représentatifs de la structure des SG-HPM (d'après Kohler et al. 1996).....	32
Figure 5 : Structure de la sous unité gluténines de haut poids moléculaire.....	33
Figure 6 : Hypothèse de structure du polymère de gluténines représentant le mode d'assemblage des différents monomères entre eux, par l'intermédiaire de ponts disulfures.....	33
Figure 7: Carte de la totalité des loci connu des gluténines et des gliadine (chez le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome A du groupe1.....	35
Figure 8: Carte de la totalité des loci connu des gluténines et des gliadine (chez le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome B du groupe1.	35
Figure 9 : Sous-unités de haut poids moléculaire des gluténines (HPM) : nomenclature des bandes et des allèles correspondants.....	52
Figure 10: Profils électrophorétiques de 12 variétés de blé dur (PI).....	53
Figure 11: Profils électrophorétiques de 12 variétés de blé dur (PII).....	53
Figure 12 : Dendrogramme exprimant la variabilité génétique de 24 variétés de blés durs cultivés construit avec l'algorithme Neighbor de SPSS. (Version9).....	59
Figure 13 : Profils électrophorétiques de huit accessions de blé dur apparenté (PI).....	61
Figure14 : Profils électrophorétiques de huit accessions de blé dur apparenté (PII).....	61
Figure 15 : Profils électrophorétiques de huit accessions de blé dur apparenté (PIII).....	63
Figure 16 : Profils électrophorétiques de huit accessions de blé dur apparenté (PIV).....	63
Figure 17: dendrogramme exprimant la variabilité génétique de 30 accessions de blés apparentés construit avec l'algorithme Neighbor de SPSS. (Version9).....	68

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes classifications des blés.....	20
Tableau 2 : La famille des <i>Gramineae</i>	21
Tableau 3 : la composition chimique du tissu d'un grain de blé. (Feuillet, 2000).....	27
Tableau 4 : La cotation de la qualité chez le blé selon la composition en sous unités gluténines. (Selon Branlard, résultat non publié.....)	41
Tableau 5 : liste des variétés de la collection des blés durs cultivés.....	43
Tableau 6 : liste des 30 accessions des blés apparentés.....	45
Tableau 7 : Types de diagrammes des SG-HPM observés chez la collection des blés durs cultivés.....	55
Tableau 8 : Fréquences alléliques au niveau du loci Glu-A1 et Glu-B1 des variétés des blés durs.....	56
Tableau 9 : Indices de similarité des 24 variétés des blés durs cultivés.....	58
Tableau 10 : Types de diagrammes des sous-unités gluténines de haut poids moléculaire observé chez la collection des blés apparentés.....	64
Tableau 11 : Les fréquences des allèles du locus Glu-A1 et Glu-B1 des accessions des blés apparentés.....	65
Tableau 12 : Indice de similarité entre les huit diagrammes types des blés durs apparentés.....	67

Tables des matières

Introduction.....	11
-------------------	----

- **Partie I : Revue bibliographique**

1- Importance du blé dans le monde.....	14
1-1- Importance de la culture du blé dans le monde.....	14
1-2- L'importance de la culture du blé dur dans le bassin méditerranéen.....	14
1-3- Historique et répartition éco géographique.....	15
- Origine du blé dur	16
- Culture du blé dur	17
1-4- Rôle de la sélection dans l'amélioration du blé	17
1-5- Accès et conservation des ressources génétiques du blé.....	18
2- Présentation du genre <i>Triticum</i>	19
2-1 - Classification génomique	21
2-2 -Classification taxonomique.....	21
2-3- Les caractéristiques botaniques	21
2-4- Les caractéristiques génétique.....	22
2-5- Le rôle de <i>Triticum</i> dans la constitution des blés	22
3- Rôle, intérêt et utilisation des espèces de blé dur apparentées	22
3-1- Utilisation des blés apparentés et recherche de source de résistance aux	

maladies.....	24
3-2- Introduction dans le blé d'information génétique nouvelle par hybridation interspécifique.....	24
-Hybridation des espèces et des genres	25
- Risque d'introgression des gènes de <i>Triticum turgidum</i> ssp. <i>durum</i> dans les espèces apparentées	25
3-3- Intérêt des blés apparentés dans l'amélioration des génomes des blés cultivés et la sélection de matériel résistant	26
4- Caractéristiques biochimiques des protéines du grain de blé	27
4-1- Le déterminisme de la composition du grain de blé.....	27
- La composition chimique du grain de blé	27
- Distribution des principaux constituants des blés.....	27
4-2- Caractéristiques biochimique des protéines de réserves du blé.....	28
- Classifications des protéines du blé	29
- Propriétés spécifiques des protéines de réserves	30
*- Structure physiques des protéines de réserves	31
*- La composition en acides aminés des gluténines	31
5- Les caractéristiques génétiques des protéines de réserves	34
5-1- Génome du blé et synthèse des protéines de réserves	34
- Génome du blé	34
- Le mécanisme de la synthèse des protéines de réserves	35
5-2- Le contrôle génétique de la synthèse des gliadines et des gluténines.....	36
5-3- La nomenclature allélique des protéines de réserves.....	37
- La nomenclature des gliadines.....	37

- La nomenclature des gluténines	38
5-5- Relation entre diversité de protéines de réserves et la qualité	39
• Partie II : Matériel et méthodes	
1- Matériel végétal	43
- Blés durs cultivés.....	43
-Blés durs apparentés.....	44
2- Méthodes	46
2-1- Méthode d'extraction séquentielle des gluténines pour l'étude du polymorphisme des « SG-HPM ».....	46
2-2- Electrophorèse des gluténines.....	47
- Préparation des gels.....	47
- Tampon d'électrophorèse.....	48
- Conditions de migration	48
- Coloration et décoloration	49
3- Analyse statistique.....	49
• Partie III : Résultats et discussion	
1-Diversité génétique des sous unités gluténines HPM des blés durs cultivés.....	51
1-1- Variabilité du locus Glu-A1.....	51
1-2- Variabilité du locus Glu-B1.....	54
1-3- Diagrammes types obtenus.....	55

1-4-Calcul des fréquences alléliques.....	56
1-5- Calcul des indices de similarités des diagrammes types.....	57
2- diversité génétique des gluténines HPM des blés durs apparentés.....	60
2-1- Variabilité du locus Glu-A1	60
2-2- Variabilité du locus Glu-B1.....	62
2-3-.Diagrammes types obtenus.....	64
2-4-Calcul des fréquences alléliques.....	65
2-5- Calcul des indices de similarités des diagrammes types.....	66
Conclusion	70
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

INTRODUCTION

L'amélioration des plantes consiste à créer une variabilité génétique nouvelle, puis sélectionner et fixer, parmi cette diversité, les génotypes intéressants. Pour répondre à cet objectif, les formes sauvages constituent des ressources importantes de gènes utiles pour l'adaptation des plantes cultivées aux contraintes environnementales.

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*, Desf.), représente environ 8% des superficies de blé. Il est cultivé approximativement sur 17 millions d'hectares dans le monde (Bohorova *et al.*, 2001). De cette surface 70 % est localisée dans la région du bassin méditerranéen (Nachit *et al.*, 1998). Dans cette région la sécheresse est le facteur, le plus important qui limite la productivité des plantes et l'amélioration pour la tolérance au manque d'eau est considérée, ces dernières années, comme l'un des premiers objectifs des programmes de sélection agronomique (Damania, 1991).

Souvent, l'amélioration génétique d'une espèce, telle que le blé dur, repose en grande partie sur l'apport continu, la gestion et l'exploitation de la variabilité qu'elle présente, mais cette variabilité peut être restreinte, voire absente pour certains caractères (Almoulem & Amleh, 1999).

Cependant, cette variabilité peut être recherchée chez les espèces sauvages apparentées aux blés dur cultivés tel que les *Triticum dicoccum* et *T.monococcum*.. De ce fait, la recherche de variabilité génétique pour l'adaptation aux contraintes environnementales (résistances aux maladies, la tolérance au froid, à la salinité, à la sécheresse et la qualité des protéines de réserve) a conduit de nombreux travaux à s'intéresser à l'utilisation des espèces sauvages qui possèdent des traits de résistances très intéressants et constituent un réservoir de gène important, si on prend en comptes l'adaptation de ces espèces à des environnements très différents (Wang, 1989 ; Chen *et al.*, 1992 ; Doussinault *et al.*, 2001 ; Ekmekci & Terzioglu 2005 ; Yunchao *et al.*, 2006 et Farooq & Azam 2006).

Face à la diversité des besoins et des procédés de fabrication à base de farine de blé, les technologues et généticiens ont compris l'importance de mieux connaître les caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et l'hérédité des propriétés fondamentales de la pâte.

Le caractère qualité est actuellement très recherché et est devenu l'un des objectifs principaux dans l'amélioration des blés. Les sous unités gluténines de ces blés apparentés sont peut étudier, malgré le rôle qu'elles jouent dans la qualité technologique de la pâte.

L'objectif de notre travail est d'analyser la variabilité des sous unités gluténines de haut poids moléculaire chez des espèces des blés durs et des espèces des blés apparentés aux blés durs qui sont dérivées principalement des *Triticum Polonicum* et les *Triticum dicocum*.

Les études qui suivent ont été conduites au notre laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies végétales à constantine. 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 deux collections : Une collection de 24 variétés des blés durs cultivé en Algérie ; et la deuxième de 30 accessions des blés apparentés ; ce sont des blés hybrides dont l'un des parents est un *Triticum dicocuum* ou *Triticum polonicum* par hybridations interspécifique.

Les données bibliographiques sont présentées dans la première partie de ce mémoire, avec une présentation générale du blé et de son importance dans le monde, les espèces apparentées ; leur utilisation et leur intérêt tout en mettant l'accès sur les caractéristiques biochimiques des protéines du grain de blé ainsi que les caractéristiques génétiques des protéines de réserve du blé. La deuxième partie décrit le matériel biologique et l'ensemble des méthodes utilisées dans notre étude. Les étapes suivies dans l'exploitation de nos résultats ainsi que leur discussion sont présentées dans la troisième partie. Une conclusion générale et des perspectives sont enfin données.

PARTIE I

Revue bibliographique

1- Importance du blé dans le monde

1-1- Importance de la culture du blé dans le monde

Les céréales, le blé en particulier occupe une place importante dans la production agricole et constitue la nourriture de base pour 35% de la production mondiale (Mebarkia *et al* ; 2005). De toutes les plantes cultivées, le blé est celle qui a pris le plus d'importance dans l'alimentation de l'être humain, c'est ce qui fait que c'est la plante la plus cultivée des céréales. La production mondiale de blé en 1990 était de: 595,5 millions de tonnes, la première céréale avant le riz (519,0) et le maïs (470,3) (la pomme de terre arrive ensuite avec 287 millions de tonnes et la patate douce 110) (Glenn Lennox, 2003). La Chine est devenue le premier producteur mondial devant l'union européenne, les pays de l'ex-URSS, les Etats-unis et l'Inde (Benseddik, 1983). On peut cultiver le blé sans irrigation avec moins de 50 cm de précipitations annuelles; seuls l'orge et le mil résisteraient mieux. Sa tolérance au froid est remarquable; il supporte la neige et le gel prolongé par plus de 600 de latitude nord. Il a conquis les pays humides et froids (Pays-Bas, Danemark) et donne les meilleurs rendements dans des contrées apparemment vouées à l'herbage (Henry *et al*, 2000).

1-2- L'importance de la culture du blé dur dans le bassin méditerranéen

Le blé dur occupe approximativement 20-30 millions d'hectares étendus sur plusieurs pays, et qui sont estimés à environ 8% du total de la superficie dans le monde. Il tient la première place dans la production mondiale des céréales (environ 40%) (Bozzini, 1988 ; Nouaille, 1991). L'union européenne (principalement l'Italie, l'Espagne et la Grèce) est le plus grand producteur de blé dur avec une récolte annuelle moyenne de huit millions de tonnes métriques. Le Canada arrive en deuxième rang avec 4.6 millions de tonnes métrique par année, suivi de la Turquie et des Etats-Unis, avec 4 et 3.5 millions de tonnes métriques respectivement (CIC, 2002).

Les quatre pays de l'Afrique du nord, soit l'Algérie, le Maroc, la Tunisie et la Libye, forment le plus grand marché d'importation de blé dur du monde (Glenn Lennox, 2003), comme le montre le tableau suivant:

Le blé dur est principalement employé pour la consommation humaine et davantage que la moitié de la surface cultivée se situe dans le bassin méditerranéen. Les régions de milieu et du

Proche Orient et l'Afrique du Nord sont considérées les centres d'origine et de la diversification du blé dur. (Vavilov, 1951).

En Algérie, on peut estimer à 1.200.000 hectares les superficies consacrées au blé dur. C'est par excellence une culture indigène, car il est particulièrement adapté au milieu, à la chaleur et au manque d'humidité. (Jean Blottière.M ; 1930)

1-3- Historique et répartition éco géographique

Le blé est l'espèce avec laquelle l'homme a commencé à manipuler la nature et gérer le milieu. (Anonyme, 2008) fait partie des trois céréales dont les grains sont utilisés pour la nourriture humaine ou animale; de la monocotylédone qui constituent la base alimentaire des populations du globe: blé, riz, maïs. L'origine du blé (*Triticum*), du maïs (*Zea*) et du riz (*Oryza*) semble être commune: étant donné les nombreux gènes communs deux à deux ou dans les trois genres, on pense que ces genres se sont diversifiés, il y a quelques 60 à 70 millions d'années (à la fin du secondaire) à partir d'une espèce ancestrale qui aurait contenu tous les gènes dispersés chez les trois espèces actuelles.

Le terme de blé vient probablement du gaulois *blato* (à l'origine du vieux français *blaie*, *blee*, *blaier*, *blaver*, d'où le verbe *emblaver*, qui signifie *ensemencer en blé*) et désigne les grains qui, broyés, fournissent de la farine, pour des bouillies (polenta), des crêpes ou du pain.

Les premiers indices d'une agriculture apparaissent vers 9.000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile. On trouve dans les villages du début du Néolithique l'engrain (*Triticum monococcum*), l'amidonnier (*Triticum dicoccum*), l'orge, la lentille, le pois, la vesce, le pois chiche et le lin. Les formes sauvages identifiées de ces diverses espèces (amidonnier sauvage, pois chiche sauvage, vesce sauvage) seraient originaire du Proche-Orient et du Moyen-Orient.

La céréaliculture se répand ensuite vers l'Europe, l'Asie et la vallée du Nil. Le froment est présent en Grèce il y a 6.000 ans avant Jésus Christ et se propage par la méditerranée et le Danube. Ainsi, en Bretagne, on a trouvé des grains datant d'environ 5.000 avant Jésus-Christ (Henry *et al*, 2000). Dans la figure qui suit est représentée l'ère de répartition du blé le *Triticum monococcum*.(figure1).



Figure 1 : Lieux d'origine et diffusion de *Triticum monococcum* à travers le monde.

Par la suite, les techniques de panification s'améliorent grâce aux Hébreux, Grecs, et enfin Romains qui en répandent l'usage à travers l'Europe. A la fin du XVIIIe siècle, le blé est exporté en Amérique du Nord par les Anglais et est rapidement adopté par les civilisations présentes comme matière première de base pour la fabrication du pain, en raison de sa composition en gluten supérieure aux autres céréales. A travers les siècles et les générations, le grain de blé a conservé toutes ses valeurs et reste un élément essentiel à notre alimentation. Aujourd'hui le blé fait partie de notre quotidien, présent dans de nombreuses compositions.

- Origine du blé dur

Les blés sauvages tétraploïdes sont largement répandus au Proche-Orient, où les humains ont commencé à les récolter dans la nature (Bozzini, 1988). Comparativement aux blés diploïdes, leurs grands épis et leurs gros grains les rendaient beaucoup plus intéressants pour la domestication. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman, 2001), comme le montre la figure suivante :



Figure2: Lieux d'origine et diffusion de *Triticum turgidum* à travers le monde (Vilmorin A ; 1880)

- Culture du blé dur

Le blé dur est bien adapté aux régions à climat relativement sec, où il fait chaud le jour et frais la nuit durant la période végétative, ce qui est typique des climats méditerranéens et tempérés. Les semences peuvent lever à aussi peu que 2 °C, même si la température optimale est de 15 °C (Bozzini, 1988). La plus grande partie du blé dur produit dans le monde est constituée de blé de printemps; toutefois, il existe des variétés de blé dur d'hiver (qui ont besoin de vernalisation pour amorcer la transition de la phase végétative à la phase reproductrice); ces variétés ont été évaluées en vue de la production dans le Sud des États-Unis (Domnez et coll., 2000; Schilling et coll., 2003).

1-4- Rôle de la sélection dans l'amélioration du blé

La sélection a joué un rôle déterminant dans l'accroissement de la production agricole au cours du siècle dernier, tant dans les pays développés que dans les pays en développement. (FAO, 2006). Les sélectionneurs de blé dur mettent l'accent sur l'amélioration simultanée et comportement agronomique, de la résistance aux maladies et des caractères qualitatifs du grain (ACIA, 2006).

Les sélectionneurs de blé dur tentent aussi de maintenir la résistance aux rouilles du blé et s'efforcent constamment d'intégrer une résistance stable aux taches foliaires, aux maladies transmises par les semences et à la fusariose de l'épi. Il existe des gènes de résistance aux ravageurs, notamment à la cécidomyie orangée du blé (*Sitodiplosis mosellana*), au cèphe du blé (*Cephus cinctus*) et à la mouche de Hesse (*Mayetiola destructor*) (Lamb et coll., 2000; Lamb et coll., 2002; Clarke et coll., 2002). La capacité de sélection est si importante pour les pays en développement car ils doivent accroître leur production pour garantir la sécurité alimentaire. Selon certaines estimations, la plupart des cultures dans les pays en développement ne sont exploitées qu'à 20% de leur potentiel. Ce déficit est dû pour l'essentiel aux : stress abiotiques - sols inadaptés, sécheresses ; le reste étant imputable au stress biotique, c'est-à-dire les maladies, les insectes ravageurs, les plantes adventices et la mauvaise nutrition des plantes. (FAO, 2006).

Pour comme la majorité des variétés de blé dur cultivées au monde sont des lignées pures obtenues, soit par des cycles répétés d'autofécondation, soit par haplo diploïdisation (Knox et coll. 2002). Le processus de création d'une nouvelle variété commence par la production d'hybrides F1 par croisement de deux parents ou plus. Les sélectionneurs doivent veiller à ce que tous les parents servant au croisement possèdent collectivement la majorité des caractères recherchés pour la nouvelle variété (ACIA, 2006).

1-5- Accès et conservation des ressources génétiques du blé

La mise au point d'une nouvelle variété céréalière peut prendre jusqu'à 12 ans, depuis les premières tentatives de croisement jusqu'à sa mise sur le marché finale. Il faut souvent de un à trois ans pour recueillir, évaluer et assembler une nouvelle diversité génétique prometteuse, puis plusieurs années de recombinaison et de sélection pour identifier de nouvelles lignées adaptées à la mise au point de variétés supérieures. Il faut ensuite 1 à 3 années encore pour multiplier les semences et les distribuer aux agriculteurs. (FAO, 2006).

Le développement agricole a conduit à des variétés très performantes mais s'est accompagné d'une réduction sensible de la diversité génétique. Il est donc nécessaire de constituer une "réserve génétique", comprenant des ressources très diversifiées susceptibles de répondre aux besoins futurs de l'homme. Ces ressources sont matérialisées sous forme de variétés, anciennes et modernes, de populations ou écotypes locaux et espèces sauvages proches des plantes cultivées.

Les ressources génétiques peuvent être conservées dans leur milieu naturel (conservation *in situ*), et la gestion *in situ* est surtout utilisée pour les espèces sauvages apparentées aux espèces cultivées, ou en dehors de leur habitat d'origine, de manière statique (conservation *ex situ*) : Leurs ressources génétiques peuvent être alors conservées de manière stable en dehors de leur habitat d'origine: sous forme de semences par exemple, grains de blé de différentes lignées; ou sous forme de plantes rassemblées en collection conservatoire au champ. (Gargominy.O, 2006).

Selon les derniers chiffres disponibles, les banques de gènes du monde entier ont conservé quelque 1,5 million d'échantillons uniques de cultures vivrières et de plantes sauvages apparentées aux espèces cultivées, offrant aux obtenteurs une source quasiment inépuisable de diversité génétique pour les programmes d'amélioration. (FAO, 2006).

2- Présentation du genre *Triticum*

- Classification génomique :

Les classifications indiquées dans le tableau ci-dessous figurent parmi celles qui peuvent être recommandées. Si on préfère une classification génétique, celle de GRIN, fondée sur les travaux de Van Slageren (1994) est probablement la classification à base génétique la plus utilisée actuellement. Et celle de Grin complétée de certains taxons reconnus par d'autres, est exhaustive. Si on préfère la classification traditionnelle, les travaux de Dorofeev donnent un schéma exhaustif qui concorde bien avec d'autres traitements moins complets. Le tableau 1 expose Les différentes classifications des blés.

Les blés vêtus sont appelés communément épeautre, le terme englobant trois espèces soit le petit épeautre ou engrain (*Triticum monococcum*), l'épeautre de Tartarie ou amidonnier (*T. dicoccum*) et le grand épeautre (*T. spelta*). La présente synthèse a pour but de décrire la culture de ces différents épeautres. (Peterson,1965). D'après Henry et al (2000) tous les blés sauvages sont vêtus. Le caractère grain vêtu ou grain nu est important dans la classification traditionnelle parce que les différentes formes sont habituellement cultivées séparément, et ont un traitement très différent après la moisson.

Tableau 1 : les différentes classifications du blé.

Nom vernaculaire	Génome	Génétique (GRIN ↓)	Traditionnel Dorofeev <i>et al.</i> 1979 ↓
Diploïdes (2x), sauvages, grains vêtus			
Engrain sauvage	A ^m	<i>Triticum monococcum</i> L. subsp. <i>aegilopoides</i> (Link) Thell.	<i>Triticum boeoticum</i> Boiss.
	A ^u	<i>Triticum urartu</i> Tumanian ex Gandilyan	<i>Triticum urartu</i> Tumanian ex Gandilyan
Diploïdes (2x), domestiqués, grains vêtus			
Engrain , petit épeautre	A ^m	<i>Triticum monococcum</i> L. subsp. <i>Monococcum</i>	<i>Triticum monococcum</i> L.
Tétraploïdes (4x), sauvages, grains vêtus			
Amidonnier sauvage	BA ^u	<i>Triticum turgidum</i> L. subsp. <i>dicoccoides</i> (Korn. ex Asch. & Graebn.) Thell.	<i>Triticum dicoccoides</i> (Körn. ex Asch. & Graebner) Schweinf.
Tétraploïdes (4x), domestiqués, grains vêtus			
Amidonnier , épeautre de Tartarie	BA ^u	<i>Triticum turgidum</i> L. subsp. <i>dicoccum</i> (Schrank ex Schubl.) Thell.	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübler
	BA ^u	<i>Triticum ispahanicum</i> Heslot	<i>Triticum ispahanicum</i> Heslot
	BA ^u	<i>Triticum turgidum</i> L. subsp. <i>paleocolchicum</i> A. Love & D. Love	<i>Triticum karamyshevii</i> Nevski
Tétraploïdes (4x), domestiqués, grains nus			
Blé dur	BA ^u	<i>Triticum turgidum</i> L. subsp. <i>durum</i> (Desf.) Husn.	<i>Triticum durum</i> Desf.
Blé poulard , blé barbu, gros blé	BA ^u	<i>Triticum turgidum</i> L. subsp. <i>Turgidum</i>	<i>Triticum turgidum</i> L.
Blé de Pologne	BA ^u	<i>Triticum turgidum</i> L. subsp. <i>polonicum</i> (L.) Thell.	<i>Triticum polonicum</i> L.
Blé de Khorassan	BA ^u	<i>Triticum turgidum</i> L. subsp. <i>turanicum</i> (Jakubz.) A. Love & D. Love	<i>Triticum turanicum</i> Jakubz.
Blé de Perse	BA ^u	<i>Triticum turgidum</i> L. subsp. <i>carthlicum</i> (Nevski) A. Love & D. Love	<i>Triticum carthlicum</i> Nevski in Kom.
Tétraploïdes (4x) - Groupe timopheevi			
Sauvages, grains vêtus			
	GA ^u	<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk . subsp. <i>armeniicum</i> (Jakubz.) Slageren	<i>Triticum araraticum</i> Jakubz.
Domestiqués, grains vêtus			
	GA ^u	<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. subsp.	<i>Triticum timopheevii</i>

		<i>Timopheevii</i>	(Zhuk.) Zhuk.
Hexaploïdes (6x), domestiqués, grains vêtus			

-Classification taxonomique :

Le blé appartient à la famille des graminées, et sa position taxonomique est présentée dans le tableau 2 : **Tableau 2** : La famille des *Gramineae*.

Famille	Sous-famille	Tribu	Sous-tribu	Genre	Nom commun (espèce)	
<i>Gramineae</i>	<i>Festucoideae</i>	<i>Triticeae</i>	<i>Triticineae</i>	<i>triticum</i>	Blé tendre	
		<i>Aveneae</i>			Blé dur	
				<i>secale</i>	Seigle	
				<i>hordeum</i>	Orge	
			<i>Oryzeae</i>		<i>avena</i>	Avoine
					<i>oryza</i>	Riz
		<i>Panicoideae</i>	<i>Tripsaceae</i>		<i>zea</i>	Maïs
						<i>sorghum</i>

2-2- Les caractéristiques botaniques

Les premiers blés domestiqués, engrain et blé amidonnier, étaient vêtus comme leurs ancêtres sauvages, mais avec des rachis qui ne se désarticulaient pas à maturité. Mais après les formes de blés nus ont évolué, avec des glumes légères et des rachis totalement coriaces. Le caractère grain vêtu ou grain nu est important dans la classification traditionnelle parce que les différentes formes sont habituellement cultivées séparément, et ont un traitement très différent après la moisson. Les blés vêtus nécessitent un traitement de décorticage supplémentaire pour ôter les glumes coriaces. (Henry et *al* ; 2000).

2-3- Les caractéristiques génétiques

Le genre *Triticum* comprend les espèces sauvages et domestiques généralement considérées comme du blé ce dernier est une espèce allopolyploïdes, provenant d'hybridations interspécifiques spontanées et d'un doublement du nombre chromosomique procurent un enrichissement génétique en rassemblant les génomes de différentes espèces (Hoyt, 1992). Ils sont groupés dans trois classes de ploïdie, dont le nombre haploïde de base est sept, le nombre chromosomique de ces espèces est également un multiple de ce nombre. Ils sont soit diploïdes ($2n=2x=14$; AA, BB, densité double) et il existe deux espèces : *Triticum urartu* et *Triticum boeoticum* et ce dernier, est l'ancêtre sauvage de l'engrain domestiqué ; *Triticum monococcum*. Ou tétraploïdes ($2n=4x=28$; AABB) ou hexaploïdes ($2n=6x=42$; AABBDD), et il n'existe pas de blé hexaploïdes sauvage, car le blé hexaploïdes ont évolué sous l'effet de la domestication (Van Slageren, 1994).

2-5- Le rôle de *Triticum* dans la constitution des blés

Le genre *Triticum* comprend les espèces sauvages et domestiques généralement considérées comme du blé. La filiation génétique des blés est complexe et incomplètement élucidée. Il est acquis que le génome A provient de *Triticum monococcum*, le génome B d'un *Aegilops* (*bicornis*, *speltoides*, *longissima* ou *searsii*) et le génome D d'*Aegilops squarrosa* (également dénommé *Triticum tauschii*).

Le croisement naturel *T.monococcum* x *Aegilops* (porteur du génome B) a permis l'apparition d'un blé dur sauvage de type AA BB (*Triticum turgidum* ssp, *dicocoides*) qui a ensuite progressivement évolué vers *L turgidum* ssp, *dicocum* puis vers *T durum* (blé dur cultivé). Les blés tendres cultivés (AA BB DD) seraient issus d'un croisement, également naturel, entre *T turgidum* ssp. *dicocum* (AA BB) et *Aegilops squarrosa* (DD).

3- Rôle, intérêt et utilisation des espèces de blé dur apparentées

Les variétés traditionnelles, les espèces spontanées et les espèces spontanées apparentées aux espèces cultivées dans la sous région, continuent d'être la source de nouveaux caractères recherchés pour l'amélioration de la production agricole mondiale. En outre, cette grande

diversité est menacée par l'érosion génétique, (ACIA, 2006). Vavilov a défini la sous région qu'elle est unique au monde par la diversité de ces ressources phylogénétiques car elle regroupe deux Centres d'Origines : Proche Orient et Méditerranée. (FAO, 1995).

Les anciennes variétés de blé sont douées de quelques qualités trouvées bonnes pour la consommation et l'adaptabilité vis à vis les conditions climatiques locales qui n'avaient pas pu changer leur résistance à plusieurs problèmes ravageurs. Ces variétés anciennes de blé obtiennent une bonne qualité boulangère employée dans la panification locale, ce qui explique la conservation de ces variétés de la part des agriculteurs pour les cultiver d'une année à l'autre (FAO, 1996).

Les blés sauvages tétraploïdes sont largement répandus au Proche-Orient, où les humains ont commencé à les récolter dans la nature (Bozzini, 1988). Comparativement aux blés diploïdes, leurs grands épis et leurs gros grains les rendaient beaucoup plus intéressants pour la domestication. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman, 2001).

Les précurseurs et les espèces spontanées apparentées des blés rencontrés dans la région méditerranéenne regroupent celles du blé (*Triticum boeoticum* et *T.dicoccoides*), d'Aegilops (*Ae. ovata*, *Ae. triuncialis*, *Ae. ventricosa*, *Ae.triaristata*, *Ae neglecta*, *Ae. geniculata*); (FAO, 1995).

La région méditerranéenne est très riche en variétés du terroir de plantes domestiquées diversifiées et ayant des caractéristiques uniques. Les variétés du terroir ont persisté in situ grâce à la nature des systèmes de culture pratiqués dans la région. (FAO ,1995). L'existence chez les espèces sauvages apparentées au blé d'un réservoir de gènes utiles est évidente si l'on considère l'adaptation de ces diverses espèces à des environnements très différents.

On les trouve dans une large gamme de régions climatiques allant des montagnes plutôt froides et humides aux vallées chaudes et sèches, de régions où la pluviométrie est supérieure à un mètre par an à des régions arides où elle n'est que de 100mm. Les espèces sauvages peuvent aussi croître sur différents types de sol, y compris sur des sols salins (Marhim. S, 2004).

3-1- Utilisation des blés apparentés et recherche de source de résistance aux maladies)

Les espèces sauvages apparentées constituent un important réservoir de gènes utilisable dans l'amélioration des formes cultivées. L'introduction de gènes étrangers dans le blé nécessite la réalisation d'hybrides interspécifiques et leur manipulation pour créer des blés à $2n=42$ ou 28 chromosomes contenant une nouvelle information génétique (Gallais.A, 1992).

Les caractéristiques de comportement de l'hybride (précocité, type de développement, maladie...) sont directement dépendantes des caractéristiques parentales et ce, en fonction de leur déterminisme génétique. Pour la résistance aux parasites obligatoires, contrôlée par des gènes majeurs dominants, l'hybride cumule les résistances parentales.

Aussi des essais rapportés par Oury et *al.* (1990a et b) qui ont travaillé sur le rendement de l'hybride ; ils précisent que dans leur expérimentation, les capacités de remplissage du grain de l'hybride sont plus importantes que celles des parents : à nombre de grain par m² égal, l'hybride a un poids de 1000 grains plus élevé ; l'indice de récolte n'est pas affecté : c'est toute la biomasse qui augmente. Ces hybridations sont possibles et même faciles dans le groupe des céréales; elles sont connues depuis environ 2 siècles, par contre ce sont les méthodes modernes qui ont permis de visualiser les arrangements chromosomiques, translocations, ajouts, pertes, qui avaient été réalisées lors de ces hybridations dirigées.. (Henry Y et *al.* ; 2000).

3-2- Introduction dans le blé d'information génétique nouvelle par hybridation interspécifique

L'introduction dans le blé d'une nouvelle variabilité a, jusqu'à présent, essentiellement été réalisée au travers de l'exploitation de la variabilité présente chez les espèces apparentées appartenant à la tribu des *Triticées*. Depuis un demi-siècle, ont été développés des outils et des méthodologies pour réaliser des hybrides interspécifiques ou inter-génériques entre le blé et des *Triticées* et sélectionner, dans leurs descendances, des introgressions intéressantes pour le sélectionneur. (Doussinault.G et *al.*, 2004).

Kerby et Kuspira (1987) ont fait la synthèse des travaux réalisés :

- le donneur du génome A est le blé diploïde *T. monococcum* ou *T. urartu* ;
- le génome B aurait été apporté par un *Aegilops* de la section *Sitopsis* ;

-le génome D a pour origine *A. squarrosa*. – (Doussinault.G et al, 2004)

Le nombre de chromosomes a été souvent celui attendu chez les hybrides interspécifiques. Soit 28 quand l'espèce sauvage tétraploïde est croisée au blé dur, et 35 quand celle-ci est croisée au blé tendre. Un doublement spontané des chromosomes a été noté chez les hybrides viables issus d'*Ae. squarrosa*. (El Khelifi O.K ,2003).

Il a été démontré que les chromosomes des génomes A, B et D présentent une similitude génétique bien qu'ils aient une origine différente. Sears (1954) a classé les 42 chromosomes du blé tendre en sept groupes, composés chacun de trois paires de chromosomes sur la base de leurs affinités. Les paires d'un même groupe sont dites homéologues. (Doussinault.G et al, 2004).

-Hybridation des espèces et des genres

Il importe de comprendre le développement possible des hybrides issus de croisements interspécifiques et inter génériques entre la culture et les espèces apparentées, Le blé dur et *T. turgidum* ssp. *paleocolchicum*, *T. turgidum* ssp. *polonicum*, *T. turgidum* ssp. *turanicum*, *T. turgidum* ssp. *carthlicum* et *T. turgidum* ssp. *turgidum* sont sexuellement compatibles et produisent des hybrides fertiles (ACIA ,2006). Bien que l'hybridation entre le blé dur et les espèces apparentées puisse survenir. Kimber et Sears (1987) se sont penchés sur l'hybridation au sein du genre *Triticum*.

- Risque d'introgression des gènes de *Triticum turgidum* ssp. *durum* dans les espèces apparentées

La stabilité du génome du blé dur est due aux gènes (*Ph1* et autres) qui limitent l'appariement des chromosomes aux chromosomes homologues. De plus, des techniques de laboratoire, comme la pollinisation manuelle, le sauvetage des embryons et le doublement artificiel des chromosomes au moyen d'inhibiteurs de la méiose, sont nécessaires pour obtenir des descendants fertiles, tandis que lorsque l'on évalue l'impact environnemental possible de la dissémination en milieu ouvert de *T. turgidum* ssp. *durum* génétiquement modifié.

Le développement d'hybrides pourrait entraîner l'introgression de caractères nouveaux chez les espèces apparentées, ce qui perturberait l'écosystème et accentuerait la nuisibilité de ces espèces.

3-3- Intérêt des blés apparentés dans l'amélioration des génomes des blés cultivés et la sélection de matériel résistant

Celui qui possède l'art des croisements interspécifiques sait apprécier la biodiversité à sa juste valeur. Parmi les espèces apparentées au blé, on trouve une abondance de gènes de résistance aux virus à la fusariose, à la sécheresse et aux maladies foliaires et racinaires. Ces gènes pourraient résoudre des problèmes d'échecs cultureux dans les pays du Sud et diminuer la pollution dans les pays plus fortunés. En réduisant les besoins de pesticides et d'engrais conventionnels. (Coméau, 2003).

La plupart des critères d'évaluation utilisés dans l'analyse morphologique et de résistance aux maladies, ont souvent permis de caractériser les différents hybrides. La résistance à la rouille noire et au mildiou, le port de la plante et la forme de l'épi, sont des caractères transmis à la majorité des hybrides, du parent sauvage. (EL Khelifi.O.K, 2003).

L'amélioration des techniques en matière de croisements interspécifiques a permis de croiser le blé avec une espèce de graminée sauvage ; *Aegilops ventricosa*. Ce croisement interspécifique a permis en 1970 d'introduire des résistances aux maladies et notamment le gène Pch1 responsable de la résistance au piétin-verse. (Site Gnis, 2002). Le gène Pch1 a été mis en évidence chez *Ae.ventricosa* par Spargue (1936, in Daussinaut et al. ;2002), différents croisements entre des blés tétraploïdes et *Ae.ventricosa* ont été effectués. *Ae.ventricosa* ($2n=28, DvDvMvMv$) 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 ($ABCvMv$).

Les gènes des espèces sauvages ont fait leurs preuves dans les régions soumises aux stress pendant des millions d'années ; il n'y a qu'à apprendre à mieux exploiter ce trésor négligé (Coméau, 2003).

4- Caractéristiques biochimiques des protéines du grain de blé

4-1- Le déterminisme de la composition du grain de blé

- La composition chimique du grain de blé

Ces constituants se répartissent de manière inégale au sein des différentes fractions histologiques du grain. L'amidon se trouve en totalité dans l'albumen amylopectine, les teneurs en protéines du germe et de la couche à l'aleurone, les pentosanes sont particulièrement élevées. Les matières minérales abondent dans la couche à l'aleurone, les pentosanes sont les constituants dominants de cette dernière et du péricarpe, les lipides voisinent ou dépassent les 10% dans le germe et dans la couche à l'aleurone, le tableau suivant décrit mieux la composition du tissu du blé.

Tableau 3 : la composition chimique du tissu d'un grain de blé. (Feuillet, 2000).

	Péricarpe %T	Aleurone%T	Albumen %T
Protéines	10	30	12
Lipides	0	9	2
Amidon	0	0	82
Sucre réducteur	0	0	1.8
Pentosane	43	46	1.6
Cellulose	40	3	0.1
Minéraux	7	2	0.5

Distribution des principaux constituants des blés

Le grain de blé est un organe complexe, qui permet le développement de la future plante (germe) grâce aux substances de réserve de nature glucidique (amidon) et protéique de l'albumen. Les cellules de l'albumen sont délimitées par une paroi de nature essentiellement glucidique (figure3). Ces parois constituent également l'essentiel des différents tissus de protection du grain - L'amidon qui représente environ 70% du grain à maturité est le bio polymère majoritaire du grain avec les protéines de réserve et les polysaccharides des parois.

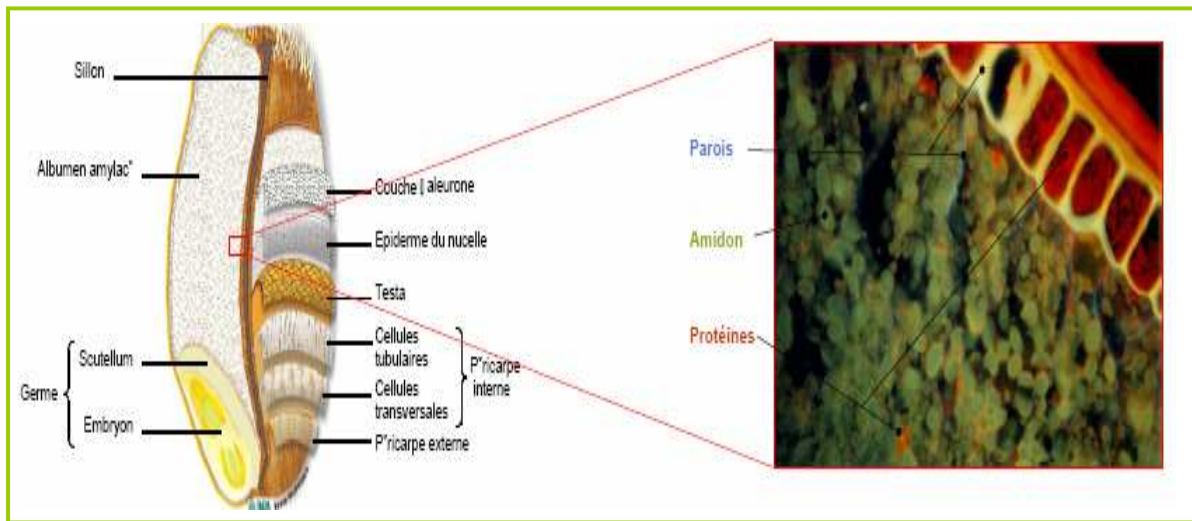


Figure3: Les différents constituants du grain de blé.

Le grain de blé (caryopse) montre une face dorsale (arrière) et une face ventrale (avant), un sommet et une base. La face ventrale est creusée d'un profond sillon qui s'allonge du sommet à la base. Le caryopse est surmonté d'une brosse, et l'embryon est situé au bas de la surface dorsale. L'embryon est constitué d'un scutellum (ou cotylédon), qui sécrète des enzymes qui dissolvent l'amidon de l'albumen pour nourrir l'embryon au cours de la germination un coléoptile, qui devient la première feuille à la germination et qui enveloppe les feuilles subséquentes en plus on observe une coléorhize qui loge la première racine ou la radicule.

4-2- Caractéristiques biochimique des protéines de réserve du blé

Appelées « gluten » c'est un polymère formé de gliadines gluténines, et considéré comme un matériel viscoélastique (feuillet, 2000). L'élasticité et la ténacité du gluten sont généralement des propriétés attribuées à la présence des gluténines alors que sa viscosité est associée aux gliadines (Shewry et al. ;2002).

Les premières études menées autour des protéines de réserves remontent aux XVIII 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 solubles dans l'eau,

les globulines solubles dans les solutions salines, les prolamines solubles dans les 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 associés à un taux significatif de substances non protéiques telle que les lipides, il y aurait donc des contaminations d'une classe protéique à un autre, la fraction la plus pure étant les gliadines (Feuillet, 1965 in cherdouh, 1999)
- Classifications des protéines de réserve

Depuis les travaux d'Osborne 1907, les protéines du blé sont classiquement réparties en quatre classes en fonction de leur solubilité :

Les albumines solubles dans l'eau.

Les globulines solubles dans les solutions saline.

Les prolamines : solubles dans l'éthanol aqueux.

Les glutélines ; insolubles dans les solvants précédents.

Ainsi que le montrent travaux de JENSEN et MARTEN (1983), Ces différentes protéines ne sont pas réparties uniformément dans le grain. Les protéines de l'albumen sont essentiellement de type protéines de réserve et celle du germe par exemple de type protéines à activité biologique

En 1986, Shewry a proposé une autre classification basée sur le degré de polymérisation et sur la teneur en acides aminés soufrés des protéines insolubles les gliadines forment la famille des prolamines monomériques de teneur variables en soufre;les prolamine pauvre en soufre et les prolamines riches en soufre. Egalement les gluténines riche en soufre sont regroupées dans la famille des prolamines polymériques constituées les sous unités de faible et de haut poids moléculaire.

Enfin la classification la plus utilisée est basée sur leur mobilité électrophorétique (Khan et Buschuk 1979, Payne et Corfield 1979 Jackson et al 1983 in Khelifi, 1992)

- Les prolamines polymériques :
 - Les sous-unités gluténines de haut poids moléculaire: SG-HPM (80000 et 130000 dalton).
 - Les sous-unités gluténines de faible poids moléculaire : SG-FPM (40000 et 50000 dalton).
- Et les prolamines monomériques :
 - Les α -gliadines PM de 32000 à 36000daltons.
 - Les β - gliadines PM de 37000 à 38000 daltons.
 - Les γ -gliadines PM de 38000 à 44000 daltons.
 - Les δ - gliadines PM de 69000 à 78000 daltons.

Sur la base de leur mobilité électrophorétique, les gluténines ont été divisées en 4 groupes: le groupe A correspondant aux SG-HPM, les groupes B et C d'après (Payne et Cofield ,1979) correspond aux SG-HPM et le groupe D découvert en électrophorèse bidimensionnelle par Jackson et al (1983) correspondant aux SG-FPM.

- Propriétés spécifiques des protéines de réserve

Il est admis que les gliadines sont responsables de la composante visqueuse du comportement rhéologique des pâtes et les gluténines de leurs composantes élastiques :

- Gliadines

Très extensible quand elles sont hydratées, (les gliadines qui posséderaient des propriétés plastifiantes) confèrent à la pâte son extensibilité, sa viscosité et sa plasticité, la teneur en protéines est en effet corrélée à ce caractère. En raison de leur comportement hydrophobe particulier, les β - gliadines pourraient constituer la fraction la plus fonctionnelle.

Dans le blé dur, la relation positive trouvée dans entre la présence de la α - gliadines45 (locus Gli-B1) et la force du gluten, elle-même reliée à la fermeté des pâtes cuites, s'explique par une liaison entre cette protéine et les SG-FPM placées sous le contrôle des gènes localisés sur le locus voisin Glu-B3.La α - gliadines 45 est un marqueur génétique des protéines fonctionnelles.

- Gluténines

La ténacité et l'élasticité de la pâte s'expliquent par les propriétés très particulières des gluténines. Les agrégats de très haut poids moléculaire seraient les plus fonctionnels, de sorte que

la détermination de la teneur totale en polymères protéiques n'aurait d'intérêt que si elle était complétée par une mesure de la distribution par taille de ces polymères. Au dessous d'un certain niveau d'agrégation, ces polymères ne contribueraient pas à la force de la pâte. (Feuillet, 2000).

*-Structure physiques des protéines de réserve

Par microscopie électronique, See King et Wolf 1970, observent que les gliadines ont une structure en film tandis que les gluténines forment des filaments. Orth *et al* (1973), ont étudié la structure des protéines par microscope électronique à balayage, en relation avec la qualité boulangère. Ils trouvent des différences dans les ultra structures des gluténines pouvant expliquer les différents comportements des farines de seigle, de triticales, de blé tendre et dur.

Crozet, Gordon et Coll (1974) rapportent que les fibrilles des gluténines ont un diamètre de 100 à 200 Å, et montrant que les structures des albumines et globulines apparaissent beaucoup plus proches des gluténines que des gliadines.

*- La composition en acides aminés des gluténines

Les gluténines représentent 30 à 40% des protéines totales et à peu près la moitié du gluten. Elles sont un complexe de protéines de haut poids moléculaire constituée de nombreuses sous-unités polypeptidiques réunies à la fois par des liaisons covalentes et non covalentes. (Bietz et Hueber, 1980). Les polymères sont associés par des ponts disulfures inter-chaines, la tendance à ces associations est surtout due à leur composition en acides aminés. L'acide aminé le plus dominant est l'acide glutamique sous la forme amide: la glutamine, qui fournit des liaisons hydrogènes.

La petite quantité d'acides aminés acides et basiques permet la dissolution des gluténines uniquement dans les solutions acides ou basiques, les groupes désulfures peuvent être clivés par le 2 mercapto-éthanol (Bietz *et al*, 1973) et ainsi les gluténines sont réduites jusqu'à plus de 15 sous unités différentes en deux groupes en SDS_PAGE (Hamazu et al., 1972, Huebner et wall 1974, Payne et Corfield, 1979), à savoir : les gluténines de HPM et les sous unités de FPM (Bietz et al. 1977, Payne et Corfield 1979).

Les SG-FPM comparativement aux SG-HPM se caractérisent par une teneur plus élevée en cystéine; leur richesse en acides aminés non polaires (Phénylalanine, Valine, Leucine, Isoleucine

et Méthionine) les rend particulièrement hydrophobes. Les SG-HPM sont caractérisés par un taux élevé de proline glycine, mais faible en phénylalanine, et lysine.

Les SG-HPM consistent en trois domaines structuraux (figure 4) : un domaine N terminal non répétitif (A) comprend 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).

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

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 5).Tatham et al (1985) propose un model pour les domaines répétitifs (B) ou les coudes β confèrent aux SG-HPM son élasticité distinctives. Contrairement aux 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 4).

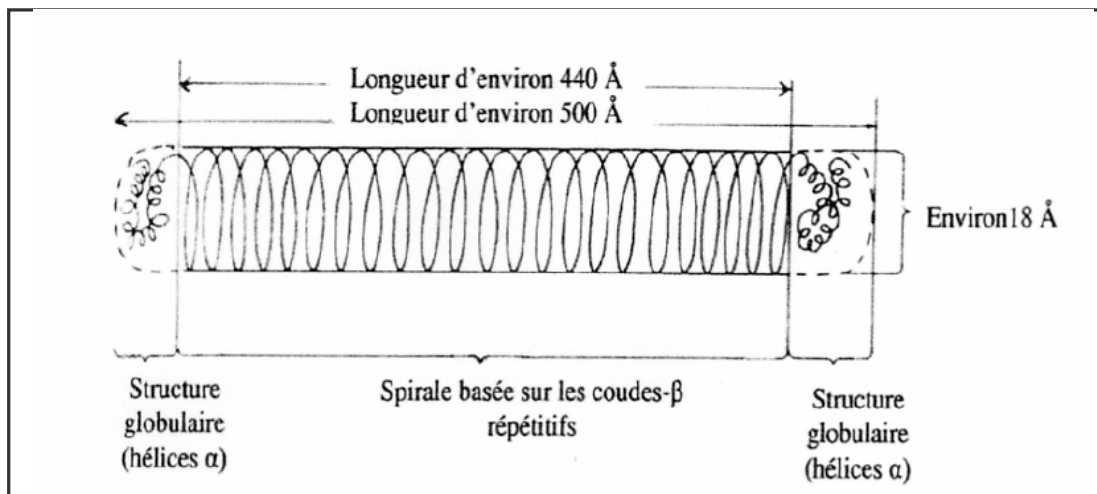


Figure 4 : Schéma représentatifs de la structure des SG-HPM (d'après Kohler et al. 1996)

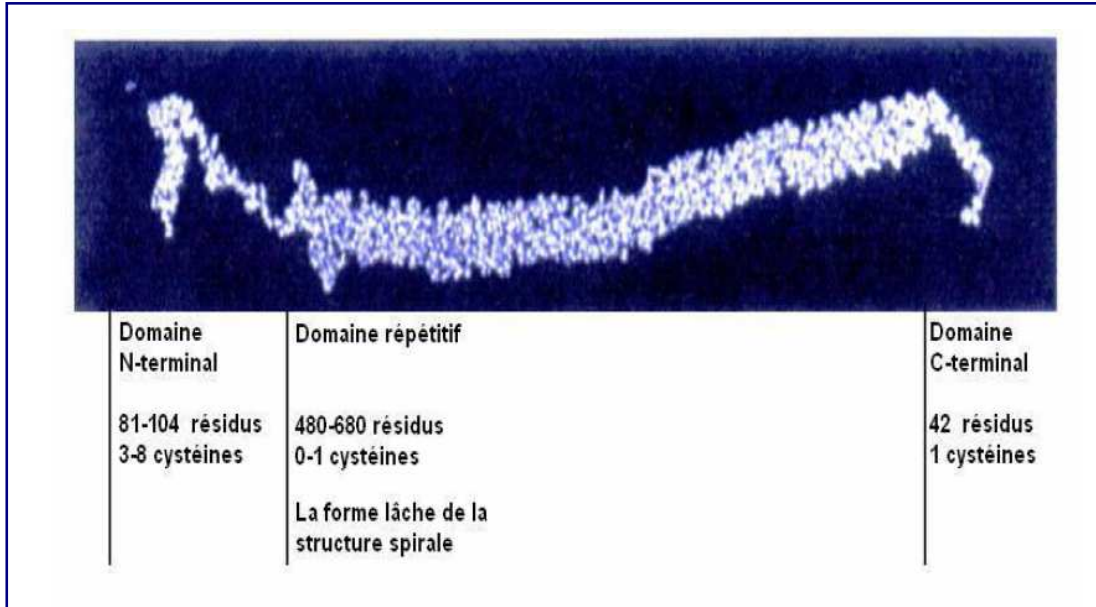


Figure 5 : Structure de la sous unité gluténines de haut poids moléculaire

Contrairement aux 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 5).

Ainsi, les sous unités gluténines de HPM ont des séquences n- terminales d'acides aminés, différentes de celle des sous unités de FPM, au sein de ces deux groupes, les sous unités forment des polymères liés par des ponts disulfures mixtes et donc contribuent à l'élasticité du gluten (figure 6).

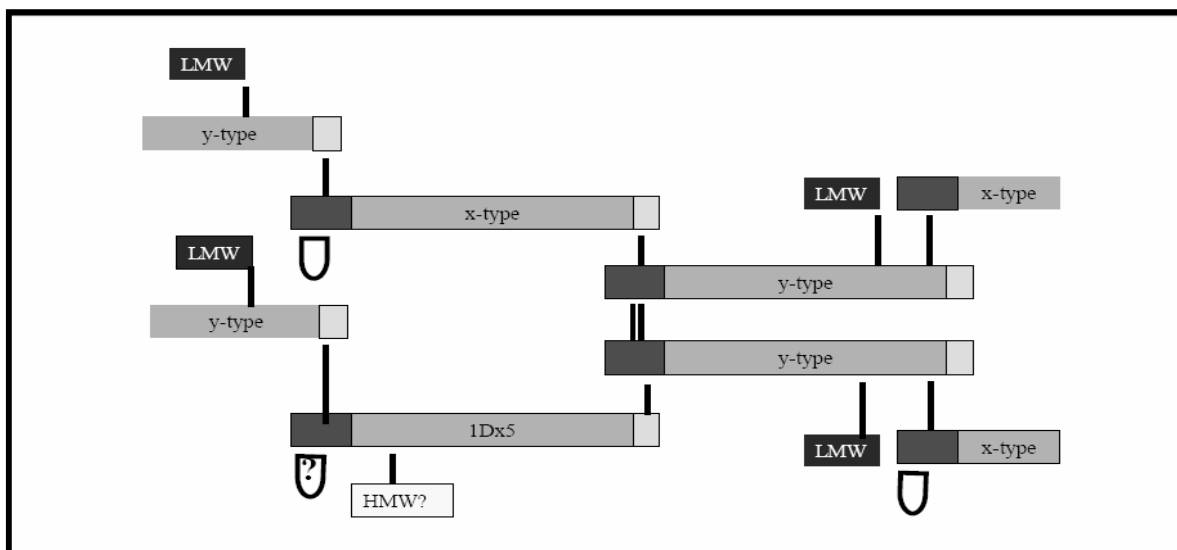


Figure 6: Hypothèse de structure du polymère de gluténines représentant le mode d'assemblage des différents monomères entre eux, par l'intermédiaire de ponts di-sulfures. (Anonyme, 2006).

Certaines de ces sous unités gluténines sont présente dans la fraction gliadines. Elles représentent environ 62% de la fraction gluénines totales (Bietz et Wall, 1973).L'aptitude des sous unités de gluténines à s'associer serait donc l'une des principales caractéristiques permettant d'expliquer la viscoélasticité de la pâte. (Ewart 1968,1990), mais le nombre, l'origine et les conditions de formation des liaisons ne sont pas encore connus.

5- Les caractéristiques génétiques des protéines de réserve

5-1- Génome du blé et synthèse des protéines de réserve

- Génome du blé

Le génome du blé contient 16 milliards de bases. Si l'on accepte d'assimiler les bases du code génétique à des lettres et le génome à un livre, le génome du blé formerait une bibliothèque d'environ 5000 livres de 1000 page chacun.

Un gène peut exister sous différentes formes et coder des protéines différentes : on parle d'allèles. L'emplacement d'un gène sur un chromosome est un locus. Il arrive que plusieurs gènes soient très proches les uns des autres et soient, de ce fait, transmis ensemble de génération en génération : ils forment un bloc de gènes au sein des quels des recombinaisons de gènes sont très rares ; on parle de blocs, ou de groupe alléliques (Feuillet, 2000).

Dans les années 80, les travaux de Payne et ses collaborateurs ont largement contribué à la connaissance biochimique et génétique des SG-HPM. De plus l'existence de lignées aneuploïdes d'une variété d'origine chinoise : Chinese Spring ont permis à Orth et Bushuk(1974) et Bushuk(1974) et Bietzet al. (1975) de localiser les gènes des SG-HPM de ce cultivar. Les loci de gènes codant pour les gliadines et les gluténines sont indiqués dans les figures suivantes. (Figure 7 et 8)

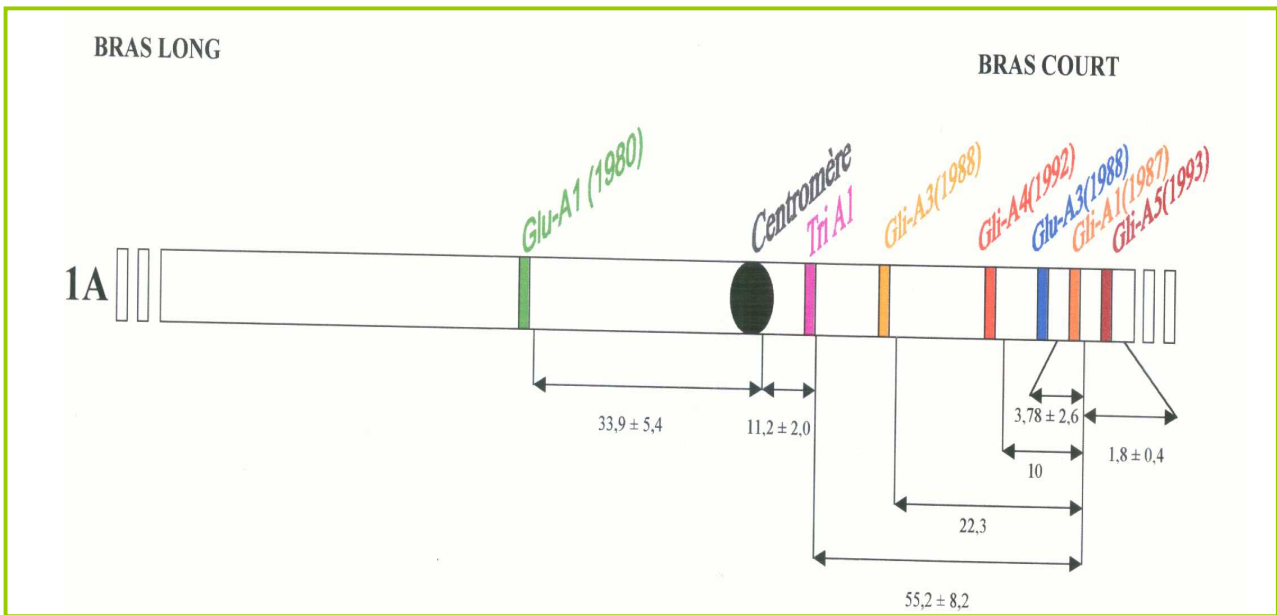


Figure 7: Carte de la totalité des loci connus des gluténines et des gliadines (chez le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome A du groupe 1. (Distances en centimorgans)

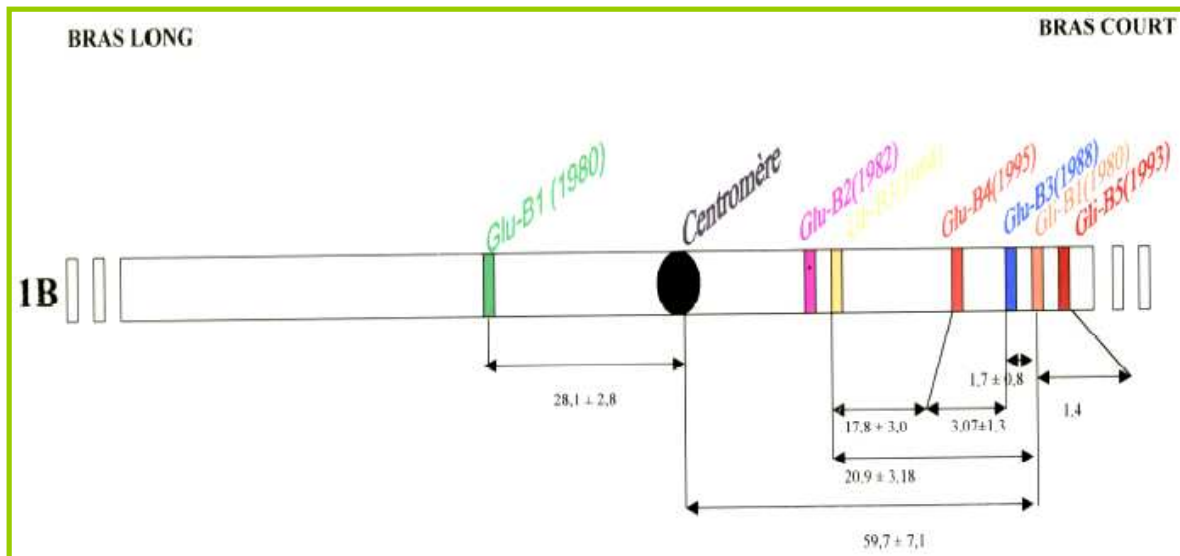


Figure 8: Carte de la totalité des loci connus des gluténines et des gliadines (chez le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome B du groupe 1. (Distances en centimorgans)

- Le mécanisme de la synthèse des protéines de réserves

L'analyse génétique de ces protéines est aujourd'hui bien avancée. Ainsi, sur les vingt et une paires de chromosomes du génome du blé tendre, six d'entre elles sont responsables de la

synthèse des gliadines et trois de celle des gluténines. Chez le blé tendre (*T. aestivum*), ces protéines sont codées par des gènes situés sur douze principaux locus complexes (car pouvant être formés de plusieurs gènes très liés). Parmi ceux-ci citons ceux qui sont responsables de la synthèse des SG-HPM (*Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1*), des SG-FPM (*Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3*), des α -gliadines (*Gli-A1, Gli-B1-Gli-D1*) et des α -, β -, γ -gliadines (*Gli-A2, Gli-B2 et Gli-D2*). À ces douze locus viennent s'ajouter d'autres gènes liés (*Gli-5, Gli-6*) ou relativement éloignés (*Gli-3*). Sur les chromosomes du groupe 6, le nombre de locus est nettement moins important que dans le cas du groupe 1. Cependant Félix a identifié deux nouveaux locus (*Gli-A7 et Gli-B7*) à environ 5 cM respectivement des locus *Gli-A2 et Gli-B2*. (BRANLARD, 1999).

À chacun des locus des gliadines, se trouve un ensemble de gènes étroitement liés, pouvant être identiques ou différents (jusqu'à 12 gènes différents ont été dénombrés), conduisant à autant de protéines transmises en bloc alléliques.

Le nombre de blocs alléliques observés à ce jour par électrophorèse monodimensionnelle des gliadines est au total, pour les six locus (*Gli-1 et Gli-2*), voisin de 130 (Metakovsky, communication personnelle). La diversité allélique des SG-HPM est moindre (environ 40 allèles répertoriés). Les sous-unités FPM des gluténines sont difficilement séparées, en totalité, par électrophorèse monodimensionnelle, de sorte que la quinzaine d'allèles connus est très largement sous estimée. (Branlard.G, 1999).

5-2- Le contrôle génétique de la synthèse des gliadines et des gluténines

La détermination de ces loci s'est appuyée sur l'étude des lignées aneuploïdes. Ce sont des lignées dont le génome diffère des lignées normales, qualifiées d'euploïdes, par l'absence ou la présence d'un ou plusieurs chromosomes ou morceaux de chromosomes ; par exemple une lignée monosomique est dépourvue d'un chromosome et une lignée nullisomique d'une paire de chromosome.

Ces variétés sont viables car les blés sont hexaploïdes et que la fraction de l'information génétique qui a été perdue reste présente sur les chromosomes apparentés à ceux qui ont été éliminés. (Feuillet, 2000). Le nombre de blocs alléliques connus est voisin de 120 pour les six loci gliadine, de 40 pour les loci SG-FPM et d'une quinzaine pour les loci SG - HPM. . Au sein d'une même variété de blé, on dénombre entre 15 et 20 gliadines, sept à 16 sous-unités

gluténines de faible poids moléculaire (SG-FPM) et trois à cinq sous-unités gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM).

Chaque locus Glu-A1, Glu-B1, et Glu-D1, codant pour les SG-HPM, comprend deux gènes x et y ; le poids moléculaire des sous-unités codées par les premiers est supérieur à celui des sous-unités codées par les seconds. Les variétés de blé tendre possèdent les six gènes codant pour les SG-HPM, mais trois, quatre ou cinq sous-unités gluténines seulement. Les différences observées entre le nombre de gènes et le nombre de sous-unités s'expliquent par la présence de gènes silencieux : le gène A1- y chez tous les blés, les gènes B1- y et /ou A1- x chez certains. Le tableau suivant dévoile schématiquement le positionnement de ces gènes et loci.

Le polymorphisme de ces derniers a été particulièrement étudié, en raison des relations mises en évidence entre la présence de certaines sous-unités de haut poids moléculaire et la qualité d'utilisation des blés (Feuillet, 2000).

Pour la localisation chromosomique des gènes codant pour les protéines du gluten des blés apparentés, le déterminisme génétique des protéines de réserve est très peu étudié. Généralement les études sont focalisées sur les espèces diploïdes et plus particulièrement celles qui ont contribué à la constitution des génomes des blés cultivés.

Lawrence et Shepherd (1981) ont confirmé la localisation de ces gènes dans leur loci par l'utilisation des lignées d'addition de quelques espèces de la tribu des *triticeés* avec le blé tendre: *Chinese spring*, ont reporté la localisation chromosomique des gènes codant pour les SG-FPM et les SG-HPM de l'espèce *Secale cereale* sur le chromosome (1R), de l'espèce *Hordeum vulgare* sur le chromosome (5H), de l'espèce *Aegilops umbellulata* sur le chromosome (1U) et pour *Aegilops comosa* sur le chromosome (1M) et pour l'espèce *Agropyrum elongatum* sur le chromosome (1^E).

5-3- La nomenclature allélique des protéines de réserves

Le système de numérotation a été développé par Payne (1983) pour identifier les SG-HPM aussi la provenance de la localisation des chromosomes des gènes est le système utilisable maintenant. D'origine, l'assignement pour l'accès aux numéros était relié à la mobilité sur le gel de SDS-PAGE, chaque numéro est associé à sa mobilité. Comme on a identifié de nouvelles sous-unités, il y a eu des difficultés de trouver l'ordre logique, et comme il y avait quelques sous-unités

comme la 21, avec sa mobilité et un numéro le plus élevé que celui de la sous unité originale. Quand l'identification est numérique, tout le génome est automatiquement inclu et identifié d'où les sous unités proviennent et qu'elles indiquent le type x ou le type y. (Gianibelli et al, 2001).

- La nomenclature des gliadines

Pour la lecture des gliadines, une approche s'est développée par Bushuk et Sapirstein (1991 in Sadouki, 2005) qui ont délimité les quartes zones (α , γ , δ , β et – gliadines) en prenant trois bandes arbitraires (40.4,53.2,68.6KDa) de la variété de référence (Neepawa) Deux procédures de nomenclature des gliadines sont utilisées, l'une est basée sur la mobilité relative (Bushuk et Zillman, 1978 in Gianibelli et al. 2001), l'autre est génétique, dans laquelle deux types de désignation alléliques sont recommandées.

Dans le premier type, chaque composante de gliadine est identifiée par le chromosome sur lequel son gène de codage est situé. Dans le second type un groupe de composantes de gliadines génétiquement liées est indiqué par un bloc alléliques en utilisant plusieurs lettres, c'est la désignation actuellement utilisées (Wrigley, 1996)

- La nomenclature des gluténines

Il y a au moins deux nomenclatures différentes qui sont utilisées pour les sous unités gluténines de haut poids moléculaire par les chercheurs (Sadouki, 2005). Dans le premier système de nomenclature, les sous unités de gluténines de HPM sont numérotées en fonction de leur mobilités du plus lent au plus rapide après séparation par SDS-PAGE, en leur attribuant des numéros croissants (1, 2, 3, etc.) (Payne et al, 1980). Mais la découverte de nouvelles sous unités de mobilités intermédiaires entre celles déjà décrites, il y a difficulté de suivre l'ordre logique. Ainsi, il y a quelques sous unités comme la 21, avec une mobilité inférieure et un nombre de nomenclature élevé (Gianibelli et al; 2001).

La numérotation de ces nouvelles sous unités HPM identifiées se fait par des numéros suivis d'astérisque (par exemple 2*,3*,21*...) ou par des chiffres décimaux (sous unités 2, 2 par exemple).

Le deuxième système se base sur la génétique ou la classification des allèles portés sur les trois loci, c'est un système qui se repose sur la nomenclature des allèles correspondant aux

sous unités de gluténines séparées par SDS-page et non pas des chiffres (par exemple les sous unités 1 et 2* sont codées par des allèles GLU-A1a et GLU –A1b respectivement) (Gianibelli *et al*, 2001).

La nomenclature des SG-FPM a été basé sur l'analyse génétique et sur l'endroit chromosomique des gènes codants .Elle a été décrite pour le blé tendre (*Triticum aestivum*) par Gupta et Berger 1990,(in Gianibelli *et al* ;2001). Récemment, Nieto-Taladriz *et al* (1997) ont décrit la variation alléliques des SG-FPM de la région B chez le blé dur mais qui reste toujours insuffisante du fait qu'elle ne couvre pas l'ensemble de polymorphisme génétique de ces protéines.

5-5- Relation entre diversité de protéines de réserves et la qualité

Depuis longtemps, on sait que les différences variétales de la qualité sont dues en majeure partie au gluten. Les propriétés de ténacité, d'élasticité et d'extensibilité de la pâte généralement différentes d'une variété à l'autre, résultent des caractéristiques des nombreuses protéines constitutives du gluten (Branlard.G ; 1999).

Beaucoup de travaux ont montrés l'influences des protéines du gluten sur la qualité (Payne *et al*, 1984 Payne *et al*, 1987 ; Morris, 1998 ; Gueguen *et al*.1999 ; Xu *et al*, 2001). La composition alléliques des sous-unités gluténines HPM de plusieurs milliers de variétés et cultivars de blé tendre, d'origines très diverses, ainsi que celle de près de cinq cents blés durs ont été déterminées et un catalogue a été constitué. Sur la base de ces résultats et aussi grâce aux travaux conduits au Plant Breeding Institute par Payne sur la génétique de ces sous-unités, l'utilisation en sélection a été entreprise en France dès 1983. (Branlard.G ; 1999). La qualité technologique du blé dur est appréciée par la valeur semoulière et la valeur postière (Abecassis, 1991 cités par Cherdouh, 1999 ; Feuillet, 2000).

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 les blés diploïdes,tétraploïdes et amphiploïdes synthétiques (AA BB DD),ils concluent 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.dicocoides*.

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

De nombreux chromosomes semblent impliqués dans l'expression de la qualité d'utilisation du grain. Ainsi (Morris et al ; 1966) à l'aide de lignées substituées de *Cheyenne* dans *Chinese Spring* ont pu conférer aux chromosomes 1B, 4B, 7B, 1A un rôle majeur dans l'expression de la qualité boulangère .La mise en œuvre d'aneuploidie et de lignées de substitution chromosomique a montré que les chromosomes 1A, 1B, et 1D portait des gènes impliqués dans la synthèse des sous unités gluténines de haut poids moléculaires et de faibles poids moléculaires. Et enfin il s'est avéré que les sous unités gluténines HPM qui semblent favorable à l'expression d'une bonne qualité d'utilisation. Par exemple, selon Branlard G., 1989, les sous unités HPM suivantes : 2*(chr, 1A), 7+9 (chr.1B), 5+10 (chr.1D) contribuent positivement à la force et à la ténacité des pâtes, tandis que les sous unités 1 (chr.1A), 13+16 et 17+18 (chr.1B) contribuent positivement à l'extensibilité des pâtes.

Différents auteurs proposent une cotation de qualité à l'aide de la composition d'un génotype en sous unités gluténines en attribuant à chaque sous unité une note, et le tableau suivant résume leur travaux :

Tableau 4: La cotation de la qualité chez le blé selon la composition en sous unités gluténines

(Selon Branlard, résultat non publié). Indice gluténines = Coef 1A+ Coef 1B+ Coef 1D.

Chromosome A1		Chromosome B1		Chromosome D1	
Sous-unité GLU	Coef	Sous-unité GLU	Coef	Sous-unité GLU	Coef
2*	30	13-16	40	5-10	30
1	15	7-9	20	2-12	7
Nul	O	17-18	18	2-11	7
		8-7	15	3-12	6
		7	8	4-12	5
		21	5		
		6-8	2		
		20	2		

PARTIE II

Matériel et méthodes

1- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude comprend deux collections : une collection des blés durs de 24 variétés, et la deuxième est une collection de 30 accessions des blés apparentés aux blés durs.

- blés durs

La collection utilisée dans notre étude comprend 24 variétés de différents blés durs. dans ce qui suit (tableau 5) on note respectivement la liste de la collection des blés durs.

Tableau 5: liste des variétés de la collection des blés durs.

N° de variétés	Génotype
1	Gloire de mon golfier
2	Beliouni
3	GTA*DUR
4	SEMETO
5	KUCUK
6	DUKEM-12/2*RASCON-21
7	PLATA-1/SNM/PLATA-9
8	GIDARA-2
9	SOOTY-9/RASCON-37
10	YAVAROS-79
11	AJAY-12/F3 LOCL (sel.ethio.135)//OLATA-13
12	BARBA DE LABC
13	KAKASU
14	JORDAN COLLECTION 86
15	NEDOUR
16	ORJANNE
17	OUM RABI
18	BOUSSELEM
19	AHLAL
20	CARNAVACA COLORADO
21	904'S'/LOG'S'
22	POGGIO
23	V1 CIMMYT
24	V2 CIMMYT

Quelques variétés de blé dur de profils connus sont utilisées comme témoins dans notre étude, et qui serviront dans l'établissement de la nomenclature alléliques des gluténines de haut poids moléculaire des variétés de notre collection des blés durs. Présentées comme suit : Chinesee spring, Atlas, Prinqual, Florial.

- Blés apparentés

La collection est un ensemble de lignées sœurs obtenues à partir de croisements interspécifiques entre deux variétés syriennes de blé dur cultivé (*T.durum*): Cham et Oum Rabi et deux espèces différentes du blé dur apparenté: *T.polonicum*, *T.dicoccum*, (AABB).provenant des banques de l'ICARDA, fournis par l'institut technique des grandes cultures (I.T.G.C) d'El Khroub, Constantine (Tableau 6). La collection comprend:

- 1^{er} croisement: *Triticum dicoccum*1 x *Cham*1 présenté par 8 accessions
- 2eme croisement: *T.dicoccum* 3x *Oum Rabi*5 présenté par 6 accessions
- 3eme croisement: *T.polonicum*9 x *Cham*1 présenté par 5 accessions.
- 4eme croisement: *T.polonicum* 1 x *Oum Rabi*5 présenté par 4accessions.
- 5eme croisement: *T.polonicum* 1x *Cham*1 présenté par 3accessions.
- 6eme croisement : *T.dicoccum* x *Cham*1 présenté par 4 accessions

Egalement, onze variétés connus de blé dur et blé apparenté et qui font les parents de nos accessions de blé durs apparentés, sont impliquées comme témoins dans notre étude de notre deuxième collection ;sont les suivantes : *T.dicoccum*, *T.dicoccum*3, Oum rabi5, Cham 1, Ardente, Mohamed Ben Bachir, Hedba3, Cocorit, Cirta, Hoggar.

Tableau 6 : la liste des 30 accessions de la collection des blés durs apparentés

N° de l'accession	Lignées	Pedigree	Génération
1	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-04
2	<i>T. dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-2K	F4-04
3	<i>T. dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-3K	F4-04
4	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-05
5	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-3K	F4-05
6	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-07
7	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-2K	F4-07
8	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-3K	F4-07
9	<i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-12
10	<i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-2K	F4-12
11	<i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-14
12	<i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-3K	F4-14
13	<i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-19
14	<i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-3K	F4-19
15	<i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-21
16	<i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-2K	F4-21
17	<i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-3K	F4-21
18	<i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-22
19	<i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-2K	F4-22
20	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-2K	F4-29
21	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-3K	F4-29
22	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-30
23	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>MRB</i> 5	MPT-OKB-OKB-OKB-2K	F4-30
24	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-1K	F4-34
25	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-2K	F4-34
26	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>Cham</i> 1	MPT-OKB-OKB-OKB-3K	F4-34
27	<i>T.dicoccum</i> X <i>Cham</i> 1	F7 BLE DUR APPA	F6-01
28	<i>T.dicoccum</i> X <i>Cham</i> 1	F7 BLE DUR APPA	F6-02
29	<i>T.dicoccum</i> X <i>Cham</i> 1	F7 BLE DUR APPA	F6-04
30	<i>T.dicoccum</i> X <i>Cham</i> 1	F7 BLE DUR APPA	F6-10

2- Méthodes :

Une méthode proposée par Laemmli (1970), le principe des techniques électrophorétiques est basé sur la séparation, sous l'effet d'un courant électrique, des molécules biologiques (protéines, acides nucléiques, ADN, ARN). La migration s'effectue sur des supports inertes filtrants ou non filtrants. La préparation se fait sur gel vertical en système discontinu, en présence d'un détergent anionique, le Sodium Dodécyl Sulfate (SDS).

2-1- Méthode d'extraction séquentielle des gluténines pour l'étude du polymorphisme des « SG-HPM »

Dans le but d'étudier le polymorphisme des SG-HPM des protéines des blés; on opte pour l'électrophorèse monodimensionnelle des gluténines; le polymorphisme des gluténines est utilisé comme marqueurs génétiques des variétés, afin d'évaluer leur variabilité génétique.

L'extraction de ces protéines est séquentielle, et se réalise grâce à 3 solutions de base :

- solution (A) 50% v/v 1- propanol
- solution (B) 50% v/v 1- propanol. 0.08 M Tris HCl pH=8.8
- solution (C) la solution tampon 2% p/v SDS, 40% P/V glycérol, 0.02% P/V bleu de bromophénol, 0.08 de tris HCl pH=8.

Dans un eppendorf contenant la farine d'un grain entier, on ajoute 1 ml de la solution A (50% propanol-1), et après avoir vortexé, étuve à 30° à 65°C et centrifuger à 10000g, et alors, les gliadines sont les premières à extraire, à cause de leur solubilité dans le propanol 1, ils sont éliminés avec le surnageant.

Pour ces extraits, on les recueille dans 1 ml de la solution (A), pendant 30 min à 60°C avec deux agitations intermédiaires toutes les dix minutes, suivi d'une centrifugation pendant 1 min. Le surnageant est ensuite récupéré dans un autre eppendorf et mis à l'évaporation toute la nuit à 65°C. On a enfin les gliadines. Pour le culot celui qui concerne les gluténines, le premier rinçage se fait dans 0.5 ml de la solution (A) à 65°C pour 30 min, et sans vortex intermédiaire puis centrifuger à 10 000g pendant 1 min et éliminé le surnageant par aspiration.

Un autre rinçage est réalisé pour notre résidu, avec l'ajout de 0.5ml de la solution (A), dans le but de s'assurer de l'élimination complète des gliadines on vortex, et on centrifuge à 10000g pendant 5min, et le surnageant contenant le reste des gliadines est éliminé par aspiration ; le résidu obtenu forme le matériel de départ de la procédure d'extraction des gluténines.

1(ml) de la solution (B) et un agent réducteur, dithiothreitol (DTT) à 1% sont ajoutés à notre résidu, pour l'extraction des gluténines. Un autre ajout de la solution (B) et un agent alkylant, le 4 vinylpyridine est réalisé après incubation et centrifugation.

Le mélange est incubé et centrifugé et un aliquote (0.1ml) de surnageant est transféré dans un autre eppendorf contenant de la solution (C), le mélange est bien agité et ensuite incubé pour un complexe d' SDS avec le polypeptide des gluténines réduites et alkyles.

Les échantillons sont donc prêts pour une révélation des SG - HPM par SDS page.

2-2- Electrophorèse des gluténines

En effet le DTT utilisé dans l'extraction dénature les protéines en rompant les ponts disulfures, et le SDS détruisant les liaisons faibles. Ceci aboutit à la formation d'un complexe SDS-protéines dénaturé avec une charge négative qui masque la charge des protéines et annule ainsi les différences de migration due à la charge électrique .Il permet donc une séparation selon la taille, la conformation, et le poids moléculaire. La vitesse de migration des protéines dépend surtout de la taille des mailles des gels et de la température de l'électrolyte.

- Préparation des gels

La séparation par la technique SDS-page nécessite la préparation de deux types de gels: un gel de séparation et un gel de concentration. Le gel de séparation permet le fractionnement des protéines selon leurs poids moléculaires, alors que le gel de concentration permet de stocker les impuretés (tamis, etc....) et de tasser les protéines, avant leur entrée dans le gel de séparation.

- Le gel de séparation (running gel)

Le gel est à T=12.8 % et ces dimensions sont:180 x 160x 1, 5mm. Vu que les solutions mères sont déjà préparées, on commence par le montage des plaques après les avoir nettoyées à

l'éthanol, les plaques sont placées l'une contre l'autre en les séparant avec deux séparateurs dont la largeur est choisie selon les paramètres recherchés. Ce gel est constitué d'acrylamide, de N,N'-méthylène-bis acrylamide (bis acrylamide), de tris HCL, de SDS, et d'eau.

On prépare le gel en respectant les mesures et en travaillant en continuité. La polymérisation de ces constituants est catalysée par (APS) et le TEMED, qui sont ajoutés en derniers. On applique le remplissage du gel par une seringue en plaquant sa queue contre la paroi de la première plaque, et on verse doucement le gel afin d'éviter la formation des bulles d'aires ; on s'arrête au niveau marqué (4cm), ce niveau sera rempli par le gel de concentration.

On applique une fine couche de butanol tout au long du gel, à l'aide d'une seringue, le butanol aplatisse le gel et fera une barrière contre l'air pour accélérer la polymérisation qui prendra 30 à 45 min, et éliminera les bulles d'air à la surface. Quand le gel se polymérise, on verse le butanol et on rince 3 fois à l'eau distillée.

- Le gel de concentration (stacking)

Ce gel est à T=2.8 % et ses dimensions sont: 180x40x1,5 mm ses constituants sont ceux du gel de séparation avec une différence au niveau des tris HCL qui a un PH de 6.8. On applique le remplissage du gel à l'aide d'une autre seringue, et on le coule au dessus du gel de séparation, d'une façon plus rapide que pour le premier gel.

Des pistes individuelles sont réalisées par l'utilisation d'un "peigne" qui sépare le gel en portions égales destinées à la migration de chaque échantillon. Le pourcentage choisi dépend de la taille de la protéine que l'on veut identifier ou de la sonde dans l'échantillon. ; Plus le poids connu est petit, plus le pourcentage devra être élevé. On pose les peignes délicatement, bien au centre des cassettes s'il y a des vides les remplir avec du gel.

- Tampon d'électrophorèse

Après polymérisation du gel, on verse la solution du tampon dans les puits. Le tampon d'électrophorèse contient de la glycine, du tri et le SDS, il contient beaucoup d'électrolytes. Cela permettra au courant électrique de passer dans la cuve et permettra aux protéines de migrer.

- Conditions de migration

La température de la cuve est maintenue aux environs de 10° grâce à un système de refroidissement qui lui est accordé. Pour une cuve de deux gels, la migration est menée à une intensité constante de 80Ma, avec une tension maximale de 1200v.

- Coloration et décoloration

Après la sortie du front de migration, le gel de concentration est éliminé, les gels sont démoulés et mis dans le bacs contenant une solution de coloration qui contient un fixateur de protéines, le TCA (acide trichloroacétique) à 60 % et un colorant, le bleu de coomassie R250 et d'eau distillée. Recouvrir les gels de solution de coloration, placer les sur l'agitateur pendant 24h, afin d'homogénéiser la coloration, puis décolorer les gels dans l'eau, et ils seront prêts à la lecture d'après la nomenclature de Branlard et al (1990).

3. Analyse statistique

Après la lecture génétique des sous unités gluténines de haut poids moléculaire ; nous avons calculé les fréquences alléliques, l'indice de similarité et tracer un arbre phylogénique ou dendrogrammes à l'aide du logiciel SPSS-9.

PARTIE III

Résultats et discussion

L'étude biochimique d'une collection de blé dur et des lignées hybrides entre blé dur et les espèces apparentées ; par une électrophorèse monodimensionnelle en présence de SDS (SDS-PAGE), nous a permis de séparer l'ensemble des sous unités gluténines et d'obtenir des profils électrophorétiques très clairs. Chaque profil est composé de trois groupes de bandes. On se basant sur la mobilité et la preuve génétique, le groupe de bandes à mobilité lente correspond aux sous unités gluténines de haut poids moléculaire (zone A) tandis que les bandes intermédiaires et rapides correspondent aux sous unités gluténines de faible poids moléculaire (zone B et C).

Notre étude a porté uniquement sur les gluténines de haut poids moléculaire (zone A) qui sont d'une importance majeure dans la détermination des caractères technologiques de la qualité des blés. Cette zone a fait l'objet de nombreuses études, portant sur des collections mondiales de blé cultivés, apparentés et sauvage, entre autre : les travaux de Branlard *et al.* ;(1997) et Yan *et al.* ;(2003).

Les blés durs et les blés apparentés sont des espèces tétraploïdes ayant le génome AABB. Les SG-HPM sont codée par les gènes localisés sur le bras longs des chromosomes homologues du groupe 1, les locis sont nommés Glu-A1 et Glu-B1 (Bietz *et al.* ;1975 in Gianebelli *et al.* ;2001). Le locus Glu-A1, comporte deux gènes étroitement liés :Glu-A1-1 et Glu-A1.2, le premier code pour une ou très rarement deux sous unités de type-x, et le deuxième est responsable de la sous unité dite de type-y, différentes par leurs mobilités relatives, les bandes de type-x sont plus rapides que celles de type-y.

Pour la lecture de nos gels, nous avons utilisé la nomenclature de Payne et Lawrence (1983) complétée par Branlard *et al.* ;(1990). (Figure9).

1- Diversité génétique des sous unités gluténines HPM des blés durs cultivés

1-1- Variabilité du locus Glu-A1

Une protéine seulement a été exprimée par ce locus, il s'agit de la sous unité 2* qui, selon la nomenclature de Branlard *et al.*;(1990), est codée par l'allèle Glu-A1b .et cette dernière qui est rencontrée chez une seule variété sur les 24 variétés analysées ; est la variété Belioni.(figure L'allèle Glu-A1b est aussi lié à une bonne qualité pour la ténacité et la force de la patte d'après Branlard 1987, Payne *et al.*; Odenbach et Mahjoub 1988.

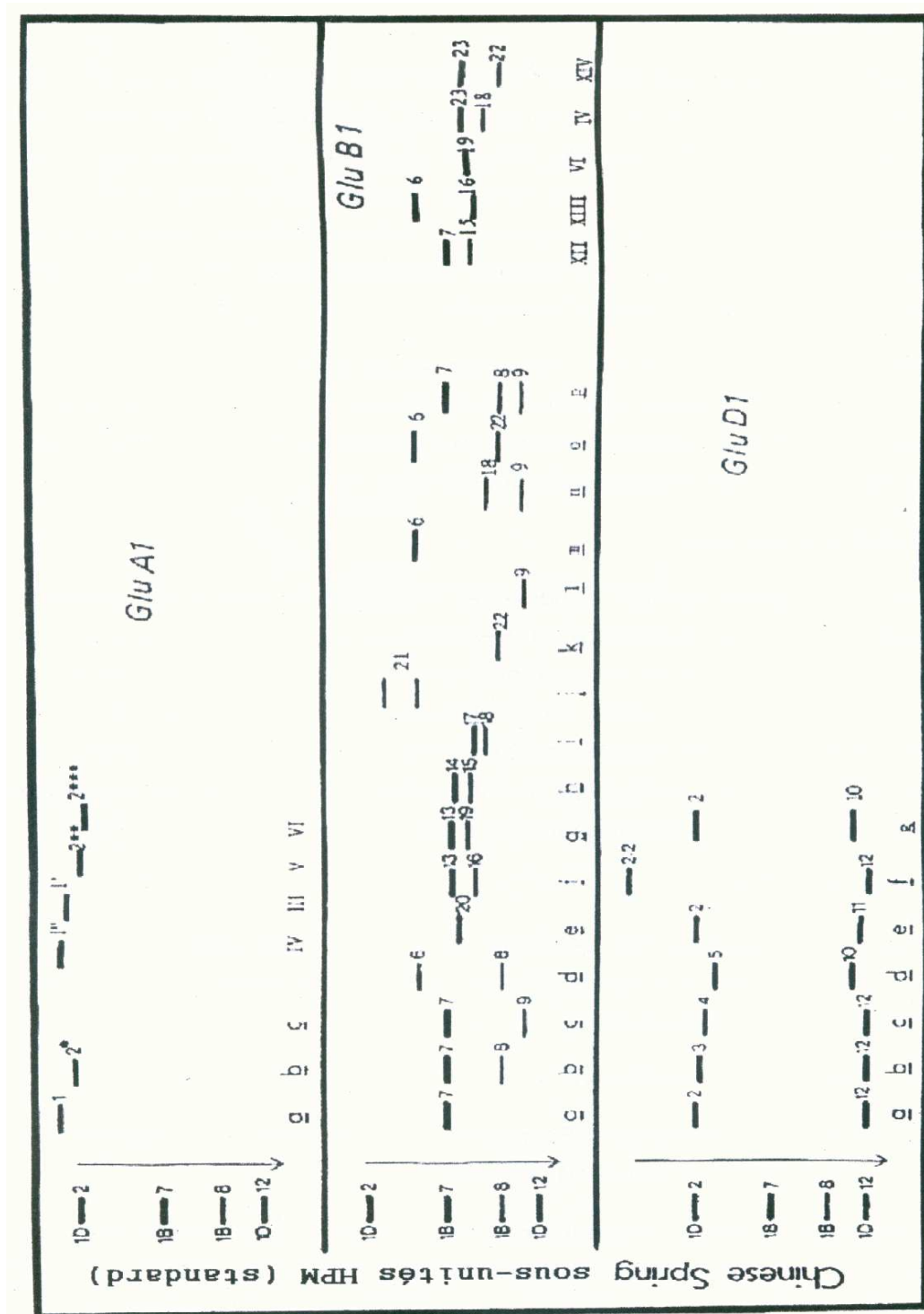


Figure 9 :Sous-unités de haut poids moléculaire des gluténines (HPM) : nomenclature des bandes et des allèles correspondants (Payne et Lawrence 1983, complété par Branlard et al ; 1990)

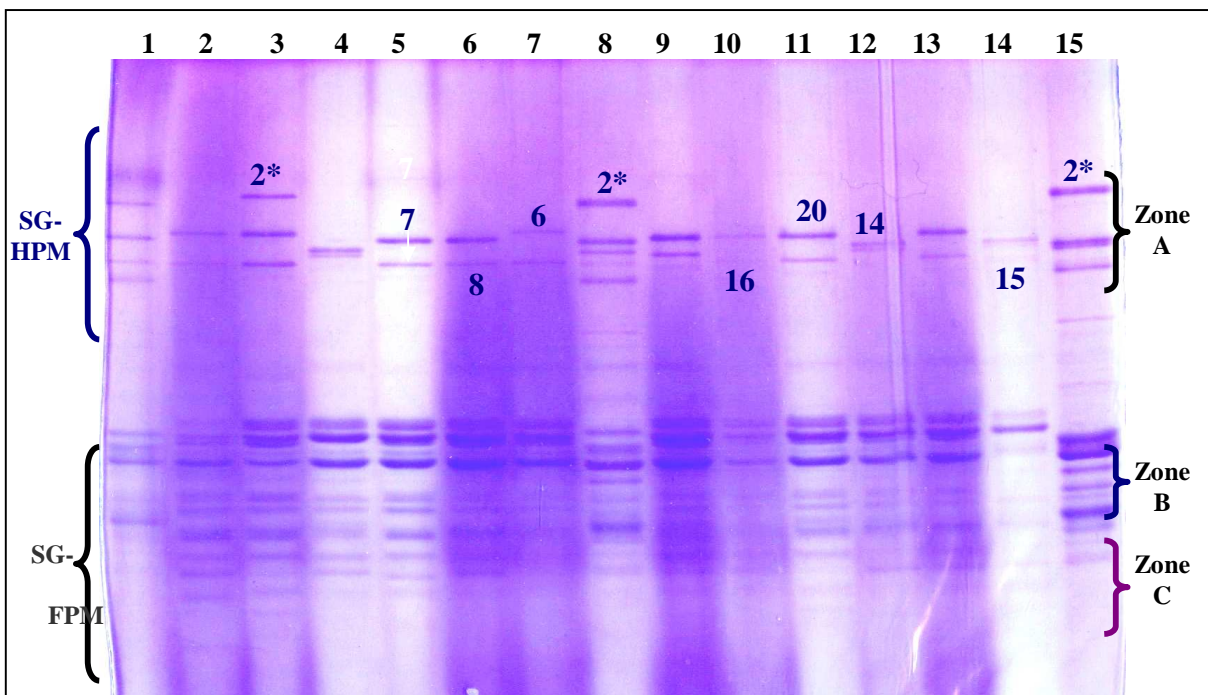


Figure 10: Profils électrophorétiques de 12 variétés de blé dur (PI) ; (1)-Shineese spring(témoin) ; (2)- Gloire de mon golfier ;(3)- Beliouni ; (4)- GTA*DUR ; (5)- SEMETO ; (6)- KUCUK ; (7) DUKEM-12/2*RASCON-21 ;(8)- Atlas (témoin) ;(9)- PLATA-1/SNM/PLATA-9 ; (10)-.GIDARA-2 ; (11)- SOOTY 9/RASCON-37 ;(12)- YAVAROS-79 ; (13)- AJAY-12/F3 LOC(sel.ethio.135)//OLATA-13 ;(14)- BARBA DE LABC ; (15)- Prinqual(témoin)

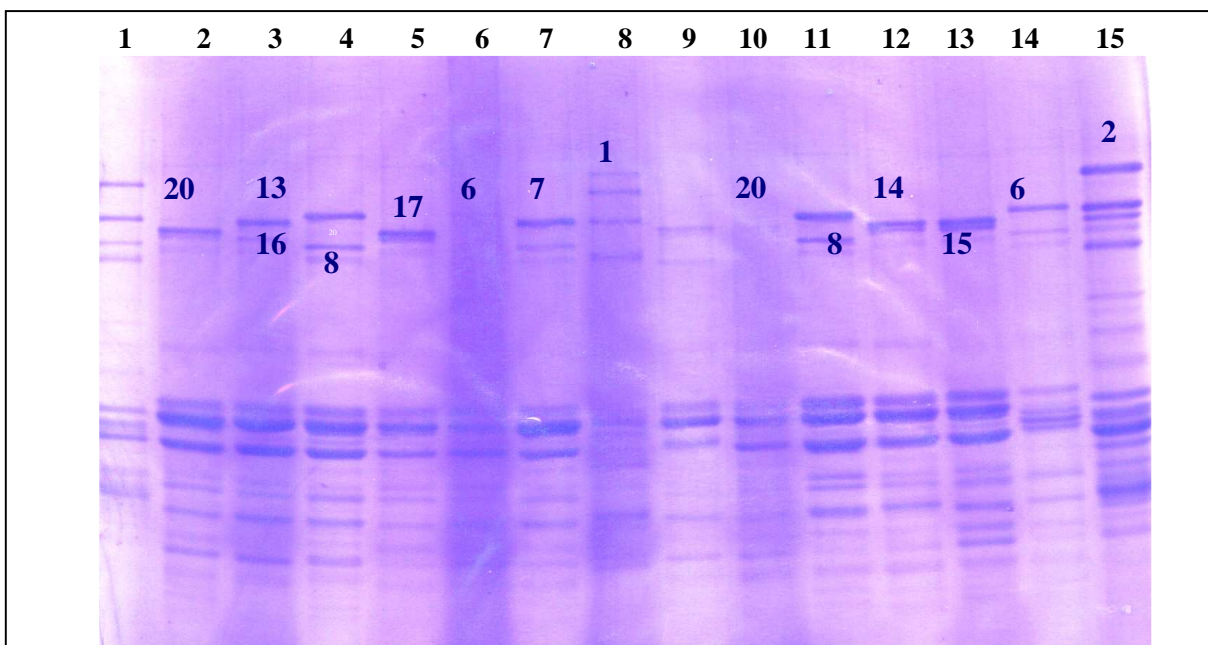


Figure 11 : Profils électrophorétiques de 12 accessions de blé dur (PII) ; (1)-Atlas(témoin) ; (2)- KAKASU ;(3)- JORDAN COLLECTION 86 ; (4)- NEDOUR ;(5)- ORJANNE ; (6)- OUM RABI ; (7)- BOUSSELEM ; (8)-Florial (témoin) ; (9)- AHLAL ;(10)- CARNAVACA COLORADO (11)- 904'S'/LOG'S' ; (12)- POGGIO ; (13)- V1 CIMMYT ; (14)- V2 CIMMYT ;(15)-Shineese Spring(témoin)

Le deuxième allèle est le Glu-A1c, désigné par la sous unité nulle (absence d'expression) qui caractérise 23 variétés sur les 24 variétés analysées (figure10 et 11), et d'après Payne et *al* 1987, Moonen et *al*.1983), cet allèle (Glu-A1c) est relié à une plus faible valeur d'utilisation.

Aussi, randhawa et al ; 1997 ont étudié le polymorphisme des SG-HPM d'une collection constituée de 144 espèces sauvages et cultivées, diploïdes et tétra, y compris 25 accessions de *T.diccocum* et 13 *T.durum* ; et dans cette étude toutes les lignées *T.durum* montrent l'absence complète des sous unités codées par le locus Glu-A1.

1-2- Variabilité du locus Glu-B1

L'analyse électrophorétique des 24 variétés des blés durs a permis de distinguer les bandes suivantes : 6, 7, 8, 13,14, 15,16, 17, 18,20. Presque la quasi-totalité des SG-HPM sont exprimées par le locus Glu-B1. En se référant à la nomenclature de Branlard *et al*. (1990) (figure), on a observé l'apparition de différentes combinaisons entre les sous-unités citées précédemment. Le couple (7-8) est l'allèle GluB1b avec une fréquence de 20.83%, est présent chez 5 variétés (figure 12 et13). Le couple (6-8) lié à la mauvaise qualité des blés, exprimé par l'allèle GluB1d avec la fréquence de 20.83% représenté par 5 variétés. Le couple (14-15) codé par l'allèle GluB1h ; est présent chez 5 variétés et fait la fréquence de 20.83%.

Le couple (13-16) (allèle Glu-B1f) ; exprimé chez la variété ; Jordan collection 86 sachant qu'il caractérise l'excellente qualité technologique de la pâte. Le couple (17-18) qui est l'allèle GluB1i; est rarement exprimé, caractérisé par l'assez bonne qualité des blés, et se trouve chez la variété Orjanne. Aussi la bande 20 ; qui code pour l'allèle GluB1e ; a fait la fréquence de 16.66%, cet allèle est présent chez 4 variétés, et toujours présent chez les blés durs.

Nous avons recensé 2 nouveaux allèles ; et qui sont déjà répertoriés chez des blés durs cultivés en Algérie (S.benarioua, 2001) : l'allèle (20-16) chez la variété PLATA-1/SNM/PLATA-9 qui a été également trouvé chez la variété MOHAMED BEN BACHIR et le deuxième allèle (6-16) chez la variété V2-CIMMYT ; et qui a été déjà trouvé chez la variété ardente.

1-3- Diagrammes types obtenus

L'analyse des diagrammes électrophorétiques des 24 blés durs nous a permis de recenser un ensemble de 10 bandes de haut poids moléculaire de différentes mobilités relatives, y compris la bande nul. Chaque diagramme renferme selon les variétés de 1 à 3 bandes ; une ou deux codées par le locus Glu-B1, et 0 ou une codée par le locus Glu-A1. Au tableau 7, sont portés les différents types de diagrammes.

Tableau 7 : Types de diagrammes des sous unités de haut poids moléculaire observés chez la Collection de blés durs cultivés

Type	Diagramme	Glu-A1	Glu-B1	Variétés
I	Nul,6+8	C	d	Gloire de mon golfier ,DUKEM-12/2*RASCON-21/ Nedour ,OUM RAB13,904'S'/LOG'S'/
II	Nul,7+8	C	b	SEMETO,KUCUK ,SOOTY-9/RASCON-37, AJAY-12/F3LOCL(sel.ethio.135)//OLATA-13, BOUSSELEM.
III	Nul,14+15	C	h	GTA*DUR,YAVAROS-79,BARBA de LABC,POGGIO, V1 CIMMYT.
IV	Nul, 20	C	e	GIDARA-2,KAKASU,AHLAL ,CARNAVACA COLORADO
V	2*,6+8	b	d	BELIOUNI
VI	Nul, 13+16	C	f	JORDAN COLLECTION 86
VII	Nul, 20+16	C	?	PLATA-1/SNM/PLATA-9
VIII	Nul, 17+18	C	I	ORJANNE
IX	Nul, 6+16	C	?	V2 CIMMYT

L'analyse de ce tableau révèle l'existence de 9 types de diagrammes pour une collection de 24 variétés de blés durs. Le nombre plus au moins élevé des groupes et des bandes reflète le grand polymorphisme des protéines de réserve de cette collection. Nous pouvons dire que la diversité des SG-HPM est importante et que les sélectionneurs peuvent introduire quelques sous unités pouvant améliorer ainsi la qualité technologique des blés durs.

Trois diagrammes sont les plus fréquents et qui sont respectivement (nul, 6+8), (nul,7+8), (nul,14+15) avec une fréquence de 20.83% ,un ensemble de cinq variétés partage chaque

diagramme de ces derniers. Vient après le diagramme (nul, 20) dont la fréquence est de 16.66%. Concernant les diagrammes (2*,6+8), (nul, 13+16), (nul, 20+16), (nul, 17+18), (nul, 16+16) caractérisant chacun une seule variété qui sont respectivement :Beliouni, Jordan collection.

Les résultats que nous avons trouvés se concordent à ceux trouvés par plusieurs auteurs, les blés durs ne possèdent pas les mêmes allèles que les autres blés ;Branlard *et al.* en 1989 ont analysé par SDS-PAGE une collection de 502 variétés de blé dur, ont trouvé uniquement 29 diagrammes types, 18 bandes de différentes mobilités et un total de 18 allèles sont identifiés et 83% de la collection analysée présente l'allèle nul « Glu-A1c » ,alors que l'allèle « Glu-B1c » codant pour le couple (7-9) très abondant chez les blés tendres, est presque absent de la collection étudiée.

Dans une autre étude portant sur une collection méditerranéenne de 63 variétés autochtones du blé dur, 3 allèles codant pour les SG-HPM localisés au locus Glu-A1 et 14 autres situés sur le locus GLU-B1 ont été répertoriés, les plus fréquents sont les allèles « d », « e », et « b » codant pour les bandes (6+8), 20, et (7+8) respectivement. (Moragues *et al.* ; 2006).

1-4- Calcul des fréquences alléliques

Les calculs des fréquences des différentes formes alléliques portées par les loci Glu-A1 et Glu-B1, ont donné des résultats résumés dans le tableau 8.

Tableau 8: Fréquences alléliques au niveau du loci Glu-A1 et Glu-B1 des variétés des blés durs

Loci	Allèle	Fréquence
Glu-A1	c (nul)	83.33%
	b (2*)	4.16%
Glu-B1	b (7+8)	20.83 %
	d (6+8)	20.83%
	h (14+15)	20.83%
	e (20)	16.66%
	f (13+16), i (17+18)	4.16%

Pour le locus Glu-A1, la distribution des trois allèles dans la collection des 24 variétés des blés durs a été 83.33% pour l'allèle « c » exprimant la bande nulle, 4.16% pour la deuxième forme allélique répertorié sur ce locus qui est la « b » codant pour la bande 2*.

Pour le locus Glu-B1, trois formes alléliques sont répondues de la même proportion était de 20.83% qui sont les allèles : « b », « d », « h », suivi par l'allèle « e » avec une fréquence intermédiaire de 16.66% ; et en dernier lieu les allèles « f », « i » qui partagent la plus faible fréquence de 4.16%

Nos résultats concordent avec les résultats des autres auteurs comme pour l'équipe de Cherdouh *et al* (2005) qui ont travaillé sur une collection de 5 variétés de blé dur Algérien ; des espèces de *Triticum turgidum L.* et également des espèces du blé sauvage ; dont ils ont détecté 12 modèles de gluténine pour les HPM. La composition alléломorphe en Glu-A1c et Glu-B1e était prédominante (31%) ce qui s'applique pour nos résultats.

1-5- Calcul des indices de similarité des diagrammes variétaux

Pour quantifier l'analogie ou la dissemblance des diagrammes, on calcule un indice de similarité ou de dis similarité inspiré de Didio, Kaltsikes et Larier (1996). L'indice de similarité (IRS) est calculé en rapportant l'IAS (indice de similarité absolue) au nombre totale (N) des composants présents dans l'un au moins des diagrammes de variétés comparées. L'IAS présente l'ensemble des bandes qui ne sont pas significativement différentes entre les deux diagrammes.

On considère qu'une bande n'est pas significativement différente d'une autre lorsqu'elle s sont de même mobilité et/on qu'elles ne se distinguent pas par au moins deux classes de concentration.

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

Les indices de similarité ont été calculés pour les différentes classes des 24 variétés des blés durs regroupées selon les 9 types de diagrammes recensés (tableau 9)

Tableau 9 : Indices de similarité des 24 variétés des blés durs cultivés.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12%	
100%	0%	25%	25%	41,70%	0%	25%	25%	16,70%	0%	0%	25%	1
	100%	75%	75%	58%	91,70%	75%	75%	83,30%	91,70%	75%	75%	2
		100%	50%	75%	66,70%	50%	50%	66,70%	66,70%	66,70%	50%	3
			100%	75%	75%	58,30%	58,30%	66,70%	75%	75%	58,30%	4
				100%	50%	33,30%	33,30%	41,70%	50%	50%	33,30%	5
					100%	75%	75%	91,70%	91,70%	91,70%	75%	6
						100%	100%	66,70%	75%	75%	58,30%	7
							100%	66,70%	75%	75%	58,30%	8
								100%	83,30%	83,30%	75%	9
									100%	100%	75%	10
										100%	75%	11
											100%	12

 Indices élevés  Indices faibles

Les résultats obtenus varient entre 0% et 100%. Des valeurs faibles signifient que les variétés présentent de nombreuses dissemblances et ont des origines génétiques éloignées : cas des variétés Beliouni et Orjanne. Inversement, lorsque les valeurs des indices de similarité sont élevées les diagrammes apparaissent voisins ; c'est le cas de « Gloire de mongolfier » et « OumRabi3 ».

L'analyse des diagrammes électrophorétiques en calculant les indices de similarité mettant en exergue le degré de parenté ou l'éloignement génétique des variétés. Seulement, il existe une autre représentation des résultats obtenus en établissant l'arbre phylogénique ou dendrogramme. Ce diagramme consiste à présenter des résultats fondés sur des caractères qualitatifs (absence ou présence d'un allèle ou d'une bande) en utilisant des données binaires (0 pour absence, 1 pour présence).

Pour les dendrogrammes les résultats montrent des degrés d'hétérogénéité différents, dans les profils protéiques des blés durs. Une diversité caractérisée par un polymorphisme

protéique entre les 24 variétés de blé dur (figure 13). Le présent dendrogramme est un arbre phylogénique de la collection des blés apparentés aux blés durs. L'arbre contient deux

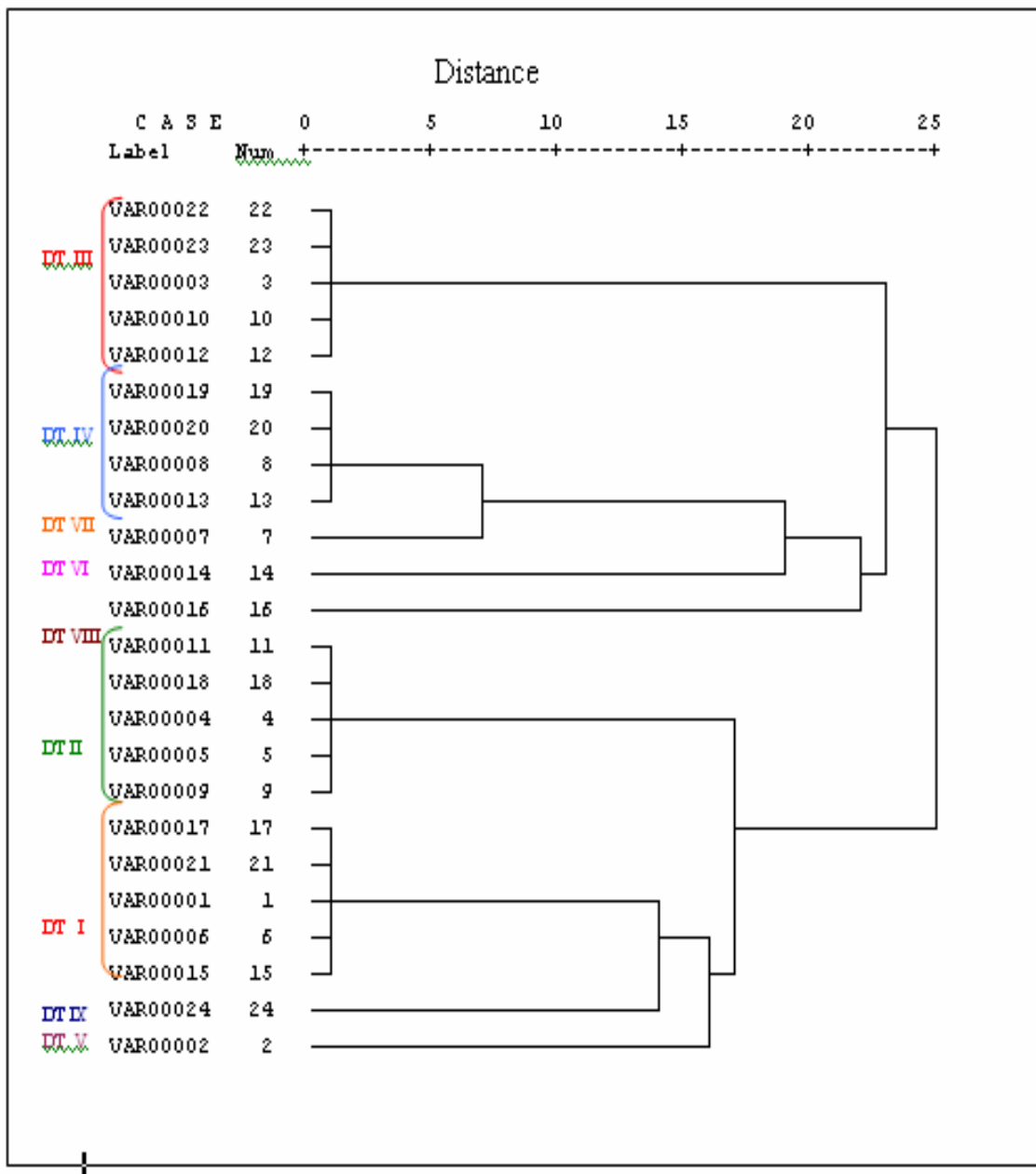


Figure 12 : Dendrogramme exprimant la variabilité génétique de 24 variétés de blés durs cultivés construit avec l'algorithme Neighbor de SPSS. (Version9)

grands nœuds ; avec 2 mutants de distances différentes, le premier grand nœud est plus polymorphe que le deuxième.

Le premier groupe contient deux sous groupes, et chaque sous groupe contient des clades ou clusters ; qui contiennent à leur tour des feuilles ; et chaque feuille représente une variété, donc, chaque clade ou cluster représente un ensemble de variétés qui sont similaires et qui ont les mêmes caractéristiques ; donc ; un diagramme type donné. Par exemple : le premier clade représente le 3eme diagramme type avec 5 feuilles qui sont les variétés : 28, 30, 7, 19,27.

Les variétés du 1^{er} cluster sont totalement différentes et dissimilaires avec celle du dernier. Malgré que le premier nœud est très polymorphe par rapport au 2eme ; mais les variétés à qui appartiennent ont caractéristiques similaires.

2- diversité génétique des gluténines HPM des blés durs apparentés

2-1- Variabilité du locus Glu-A1

D'après la nomenclature de Branlard et al ; (1990) ; on a remarqué l'expression de deux protéines par ce locus ; il s'agit des sous -unités « 1 » et « 1' » et qui sont codés par les allèles « a » et « III » respectivement. Les allèles « a » et « III » sont rencontrés chez 11 accessions sur les 30 analysés. En plus de ces deux allèles ; on a constaté l'apparition du troisième l'allèle nulle « c ».

Allèle « c » est l'allèle silencieux car il existe mais ne s'exprime pas, et cet allèle a caractérisé 19 accessions, et sa bande correspondante est nommée « la nulle ».

Allèle « a » qui code pour la bande «1 »qui est présent chez 10 accessions issues du croisement *T.dicoccum* x Cham. En analysant les témoins utilisés dans les croisements, le diagramme des SG-HPM de la variété Cham1 est composé d'une seule bande « la 20 », cette bande est pratiquement absente chez toute les accessions obtenues à partir des croisements effectués, on peut parler dans ce cas de la dominance des gènes provenant de l'espèce « *T.dicoccum* » Khan *et al.* ;(1989) ont montré que la sous-unité 1 est associée à la bonne qualité boulangère des blés.

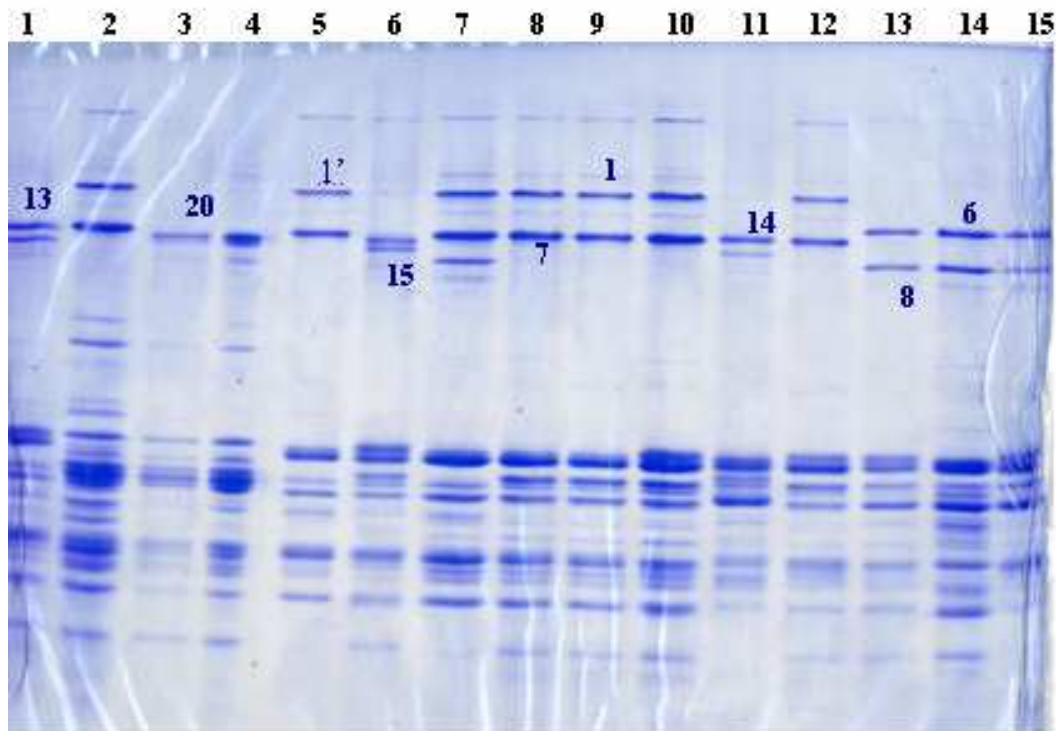


Figure 13 : Profils électrophorétiques de huit accessions de blé dur apparenté.
 (1)-Cocorit ;(2)-*T.dicoccum* (3)-(4) *Cham1*; (5)- *T.dicoccum* 3 x *Cham1* ;(6)- Hedba
 .(7),(8),(9),(10)*T.dicoccum* 1x *Cham1*; (11)-ardente; (12),(13),(14)- *T.dicoccum* x *Cham1*, (15) MBB

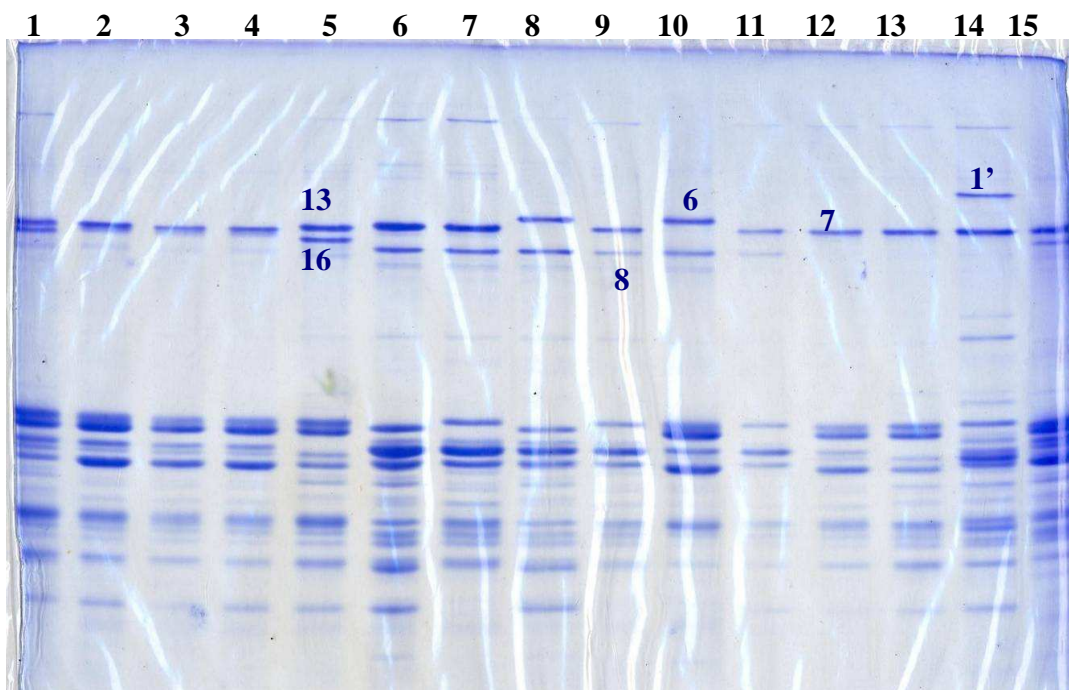


Figure 14 : Profils électrophorétiques de six accessions de blé dur apparenté :(1)- Hedba.; (2)-(3),(4)-
 Oum Rabi5,(5) cocorit; (6)- *T.dicoccum*3x MRB5,(7) waha ;(8),(9) .*dicoccum*3x MRB5; (10)- Mohamed
 Ben Bachir ;(11),(12),(13)- *T.dicoccum*3 x MRB5 ; (14)- *T.dicoccum* 3; (15)-ardente.

Concernant l'allèle III codant pour la bande « 1' », lui aussi exprimé par les gènes provenant de l'espèce « *T.dicoccum* » (tableau 6), il faut signaler que cet allèle est d'une très rare expression, on le trouve uniquement chez une seule accession. Les travaux de Garg *et al.* ;(2007) ont suggéré l'absence de l'expression de la bande 1' chez la quasi-totalité des variétés mondiales des blés dur. Ces mêmes auteurs ont signalé l'efficacité qu'elle apporte cette bande dans l'amélioration technologique des blés. Cette bande peut être introduite à partir des blés apparentés et sauvage, en effectuant des croisements interspécifiques ou inter génériques.

2-2- Variabilité au niveau du locus GLU-B1

Presque la totalité des SG-HPM sont exprimées par le locus Glu-B1. Un ensemble de cinq sous unités gluténines différentes sont codées par les allèles positionnés sur ce locus.

En se référant à la nomenclature de Branlard *et al.* ;(1990) il s'agit de : 6, 7, 8, 17,18. Selon ces mêmes auteurs, l'unité 7 peut s'exprimer seule dont l'allèle codant est le « a », ou avec la 8, est l'allèle codant est le « b ». Quant au bandes 6 et 8 viennent toujours ensemble, et elles sont exprimé par l'allèle « d ». C'est pareil pour les sous unités « 17 et 18 » dont l'allèle codant est nommé « i ». Nous pouvons donc recenser quatre allèles seulement sur un totale de onze déjà identifiés par Branlard *et al.* ;(1990).

Les bandes « 8 et 7 » sont communes à tous les diagrammes des variétés analysées avec des fréquences de 66.66% et 60% respectivement, ces deux bandes ont pour origine l'espèce « *T.dicoccum* », suivis de la bande 6 dont la fréquence est de 20%. Tandis que les bandes 17 et 18 sont rarement exprimées, on les trouve uniquement chez quatre accessions.

Perron *et al.* ;(1998) trouvent que les sous unités Bx7+By8 sont associés à une force des pâtes élevée (déterminées ou mixographe) comparées aux lignées possédant la combinaison Bx7+By9. Alors que Khan *et al.* ;(1989) et Cornish *et al.*, (2001) rapportent que les sous unités 7+8, caractérisent les blés de bonne qualité boulangère, alors que les sous unités 6+8 sont associées aux blés de mauvaise qualité (tableau 8).

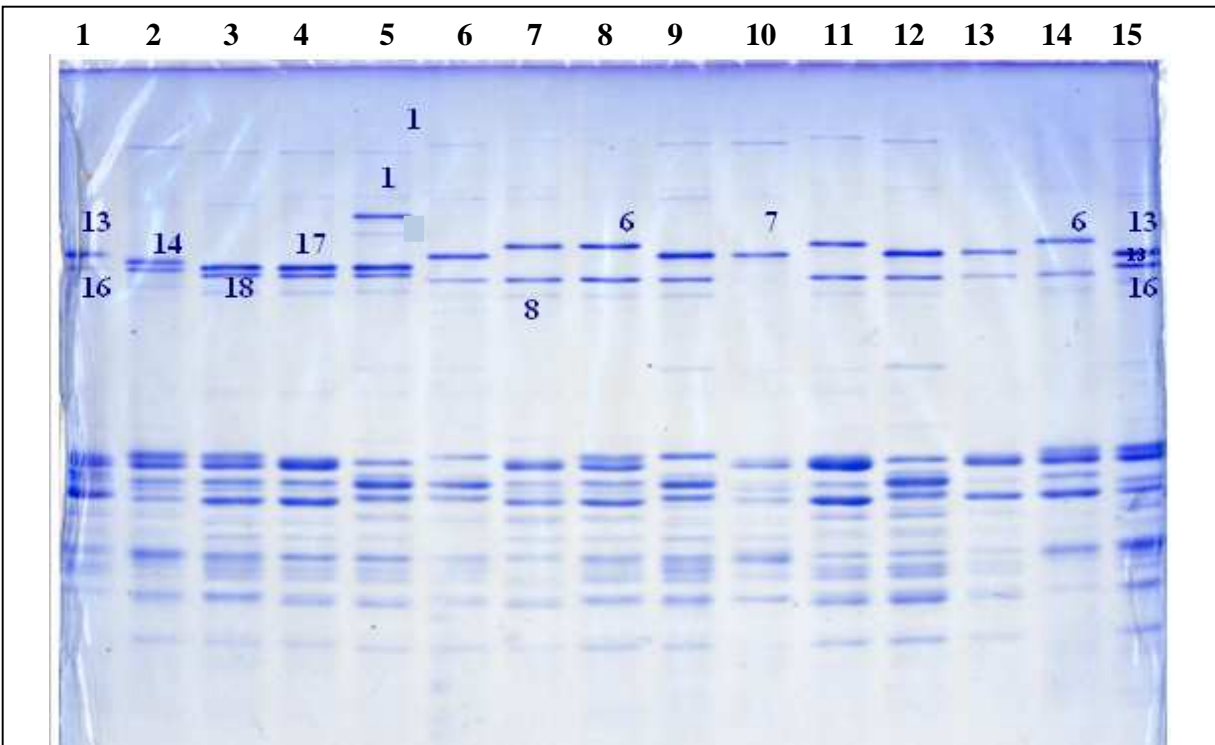


Figure 15: Profils électrophorétiques de onze accessions de blé dur apparenté :(1)-Cocorit(témoin) ; (2)- Mohamed Ben Bachir(témoin) ; (3)-(4)- *T.polinicum*1 x *Cham*1; (5)-(6)-(7)-(8)- *T.polinicum*1x *MRB* 5; (9)-(10)-(11)-(12)-(13)(témoin)- *T.polinicum* 9 x *Cham*1; (14)- Mohamed Ben Bachir(témoin); (15)- Ardente.

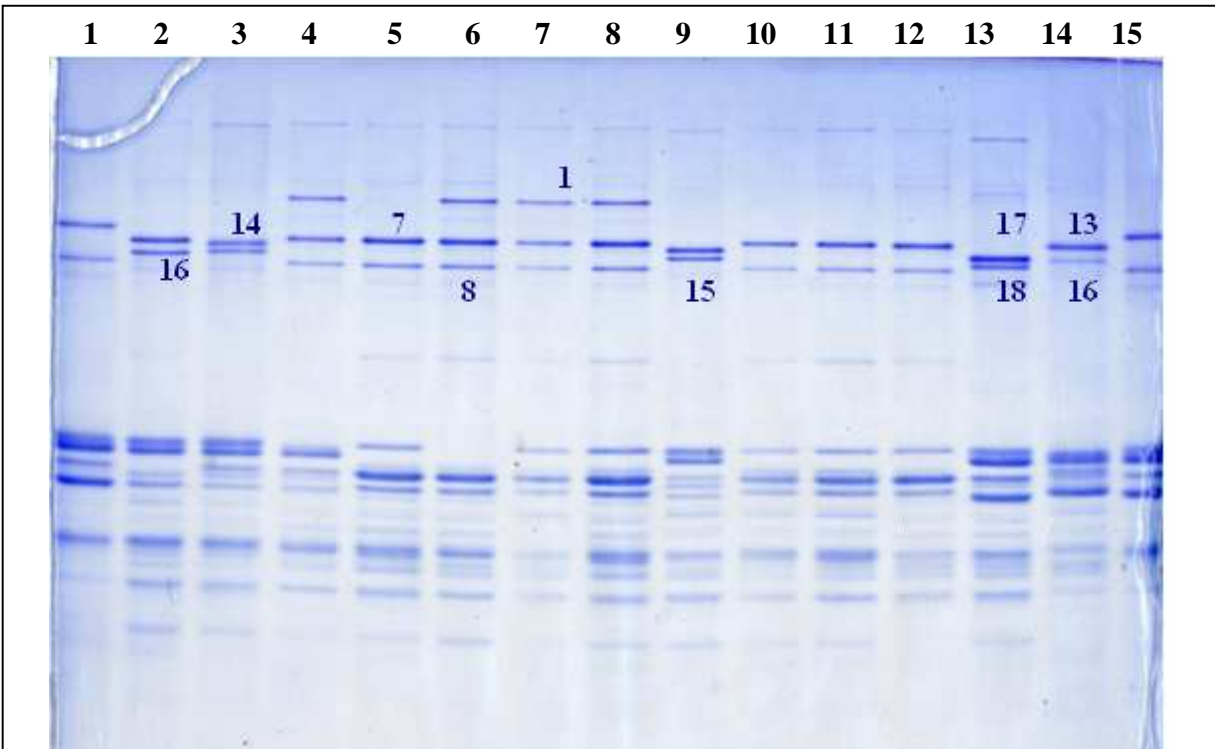


Figure 16 : Profils électrophorétiques de cinq accessions de blé dur apparenté(PVI) : (1)- Mohamed Ben Bachir (témoin);(2)-Ardente ;(3)- *T.polinicum*1 x *Cham* 1; (4)- Waha(témoin); (5)-Hoggar(témoin), (6)- Cirta(témoin); (7)-Hedba3; (8)-(9)- *T.dicoccum* x *Cham*1; (10)- *T.dicoccum*; (11)- (12)- *T.dicoccum* x *Cham* 1 ; (13)-Hedba ; (14)-Cocorit ; (15)- Mohamed Ben Bachir

2-3- Diagrammes types obtenus

L'analyse électrophorétique des 30 blés apparentés a permis de distinguer 8 types de diagrammes des SG-HPM, la diversité des bandes électrophorétiques est importante chaque diagramme a une forme selon les accessions de 1 à 3 bandes ; une ou deux codées par le locus Glu-B1 et 0 ou une codée par le locus Glu-A1.

Ainsi le nombre plus au moins élevé des groupes et des bandes reflète le grand polymorphisme des protéines de réserve de notre deuxième collection. On peut aussi dire que le multi allélisme qui en résulte, influence les propriétés rhéologiques de la pâte, et que les sélectionneurs ont réussi d'introduire quelques sous unités pouvant améliorer ainsi la qualité technologiques des blés durs. Le tableau 10 présente les huit types de diagramme rencontrés chez la collection de 30 accessions des blés apparentés.

Tableau 10 : Types de diagrammes des sous-unités gluténines de haut poids moléculaire observé chez la collection des blés durs apparentés

Type	Diagramme	Glu-A1	Glu-B1	Variétés
I	Nul, 7+8	c	B	<i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB5</i> (1K), <i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB5</i> (1K) <i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB5</i> (3K)(F19), <i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham1</i> ,(1K) <i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham1</i> (1K), <i>T.polanicum</i> 1 X <i>MRB</i> 5(1K). <i>T.dicoccum</i> X <i>Cham</i> 1
II	Nul, 6+8	c	D	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham1</i> (1k), <i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham1</i> (2k) <i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB5</i> (1k), <i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham1</i> (3k) <i>T.polanicum</i> 1 X <i>MRB</i> 5(2k), <i>T.polanicum</i> 1 X <i>MRB</i> 5(3k)
III	1,7+8	a	B	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1(2k), <i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham1</i> (2k) <i>T.dicoccum</i> X <i>Cham</i> 1(01), <i>T.dicoccum</i> X <i>Cham</i> 1(02). <i>T.dicoccum</i> X <i>Cham</i> 1(10).
IV	1,7	a	A	<i>T. dicoccum</i> 1 x <i>Cham1</i> (3k), <i>T. dicoccum</i> 1 x <i>Cham1</i> (4k) <i>T. dicoccum</i> 1 x <i>Cham1</i> (05), <i>T. dicoccum</i> 1 x <i>Cham1</i> (05), <i>T. dicoccum</i> 1 x <i>Cham1</i> (07).
V	Nul, 7	c	A	<i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB5</i> (1k), <i>T.dicoccum</i> 3 X <i>MRB5</i> (2k) <i>T.polanicum</i> 9 X <i>Cham1</i> (1k),
VI	Nul, 17+18	c	I	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>Cham</i> 1(1k), <i>T.polanicum</i> 1 X <i>Cham</i> 1(2k), <i>T.polanicum</i> 1 X <i>Cham</i> 1(3k).
VII	1,17+18	a	I	<i>T.polanicum</i> 1 X <i>MRB</i> 5(2k)
VIII	1',7	III	A	<i>T.dicoccum</i> 1 x <i>Cham</i> 1(3k)

Le diagramme le plus fréquents est le (nul,7+8) avec une fréquence de 23.33%, un ensemble de sept accessions partagent ce même diagramme. Vient après le diagramme (nul,6+8) dont la fréquence est de 20%. Concernant les diagrammes (1,7+8) et (1,7), on le trouve chez cinq et quatre variété respectivement, avec une fréquence de 16.66% et 13.33%.Quant aux diagrammes (nul,7) et (nul,17+18) l'un et l'autre, caractérisent trois accessions et partagent la même fréquence 10%. Les diagrammes (1,17+18) et (1',7) ont la plus faible fréquence 3.33% chacun de ces deux diagrammes est présenté par une seule variété.

Les résultats que nous avons trouvés sont validés par les travaux de Morgane *et al.* ;(2006) dans une étude portant sur une collection méditerranéenne de 63 variétés autochtones du blé dur,3 allèles codant pour les SG-HPM localisés au locus Glu-A1 et 14 autres situés sur le locus Glu-B1 ont été répertoriés, dont les plus fréquent sont les d, b et e codant pour les bandes (6+8),(7+8) et 20 respectivement.

Aussi, Randhawa *et al.* ;(1997).ont étudié le polymorphisme des SG-HPM d'une collection constituée de 144 blés de différentes espèces sauvages et cultivées, diploïdes et tétraploïdes y compris 25 accessions de *T.dicoccum* et 13 de *T.durum*. Dans cette étude, toutes les lignées du *T.durum* montrent l'absence complète des sous unités codées par le locus Glu-A1,alors que quelques accessions seulement de *T.dicoccum* présentent les deux bandes codées par le locus Glu-A1 (type x et type y) mais la majorité expriment uniquement les bandes de type x.

2-4- Calculs des fréquences alléliques

Les calculs des fréquences des différentes formes alléliques portées sur les loci Glu-A1 et Glu-B1, ont donnés des résultats résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 11 : les fréquences des allèles du locus Glu-A1 et Glu-B1 des accessions des blés apparentés.

	Allèle	Fréquences
Glu- A1	a (1)	33.3%
	III (1')	3.33%
	c (nul)	63.33%
Glu-B1	a (7)	23.33%
	b (7+8)	43.33%
	d (6+8)	20%
	i (17+18)	13.33%

Pour les locus Glu-A1, la distribution des trois allèles dans la collection des 30 accessions a été 63.33% pour l'allèle « c » exprimant la bande nulle, 33.33% pour l'allèle « a » qui code pour la bande 1 et 3.33% pour la troisième forme allélique répertoriée sur ce locus qui est « III » codant pour la 1'.

Pour le locus Glu-B1, l'allèle « b » est le plus répandu avec une fréquence de 43.33%. Suivi par les deux allèles : « a » avec 23.33% et « d » avec 20%. Vient en dernier lieu l'allèle « i » dont la fréquence est de 13.33%.

En comparant les fréquences alléliques de la collection que nous disposons à celles trouvées par d'autres auteurs travaillant sur des collections mondiales, nous remarquons qu'il y a peu de différence entre les blés apparentés de cette collection et ceux des autres pays. Autrement dit, la majorité des variétés et espèces des blés apparentés présentent surtout l'allèle « c » positionné sur le locus Glu-A1 et l'allèle « b » du locus Glu-B1.

2-5- Calcul des indices de similarités des diagrammes variétaux

Selon Didio Kaltskes et Larier (1969) in Khelifi (1992), l'indice relatif de similarité (IRS) est calculé en rapportant l'indice absolu de similarité (IAS) au nombre total de composants présents dans l'un au moins des diagrammes des variétés comparées. Les indices de similarités ont été calculés pour les différentes classes des 30 accessions des blés apparentés regroupés selon les 8 types de diagrammes recensés (tableau 12).

Tableau 12 : Indice de similarité entre les huit diagrammes types des blés durs apparentés

	8	7	6	5	4	3	2	1	
8	100%	0%	0%	33.33%	33.33%	25%	0%	25%	8
7		100%	50%	0%	25%	20%	0%	0%	7
6			100%	25%	0%	0%	20%	20%	6
5				100%	33.33%	25%	25%	66.66%	5
4					100%	66.66%	0%	25%	4
3						100%	20%	50%	3
2							100%	50%	2
1								100%	1

 Indice élevé  Indice faible

Les résultats obtenus varient entre 0% et 66.66%. La valeur 0 est rencontrée 9 fois dans le tableau de comparaison. Cette valeur signifie qu'il n'y a aucune ressemblance entre les diagrammes en question comme c'est le cas des diagrammes (1-7), (2-8), (2-7), (2-4), (3-6), (4-6), (5-7), (6-8), (7-8).

Inversement, on trouve des valeurs élevées telles que 66.66% qui est rencontrée deux fois dans le tableau entre les diagrammes (1-5) et (3-4) et la valeur 50% présente chez les diagrammes (1-3), (1-2) et (6-7). Ces valeurs élevées de l'indice de similarité signifie que les diagrammes sont très voisins.

Il existe aussi, une similarité moyenne entre les diagrammes type avec une valeur de 33.33% présente chez les diagrammes (4-8), (4-7) et (5-8) et des valeurs de 20 et 25% répétés 4 et 7 fois respectivement.

A partir des IRS calculé, nous avons établi le présent dendrogramme (figure 17) pour les 30 accessions des blés apparentés. L'arbre est polymorphe ; et il n'y a pas de dominance au niveau du polymorphisme des groupes

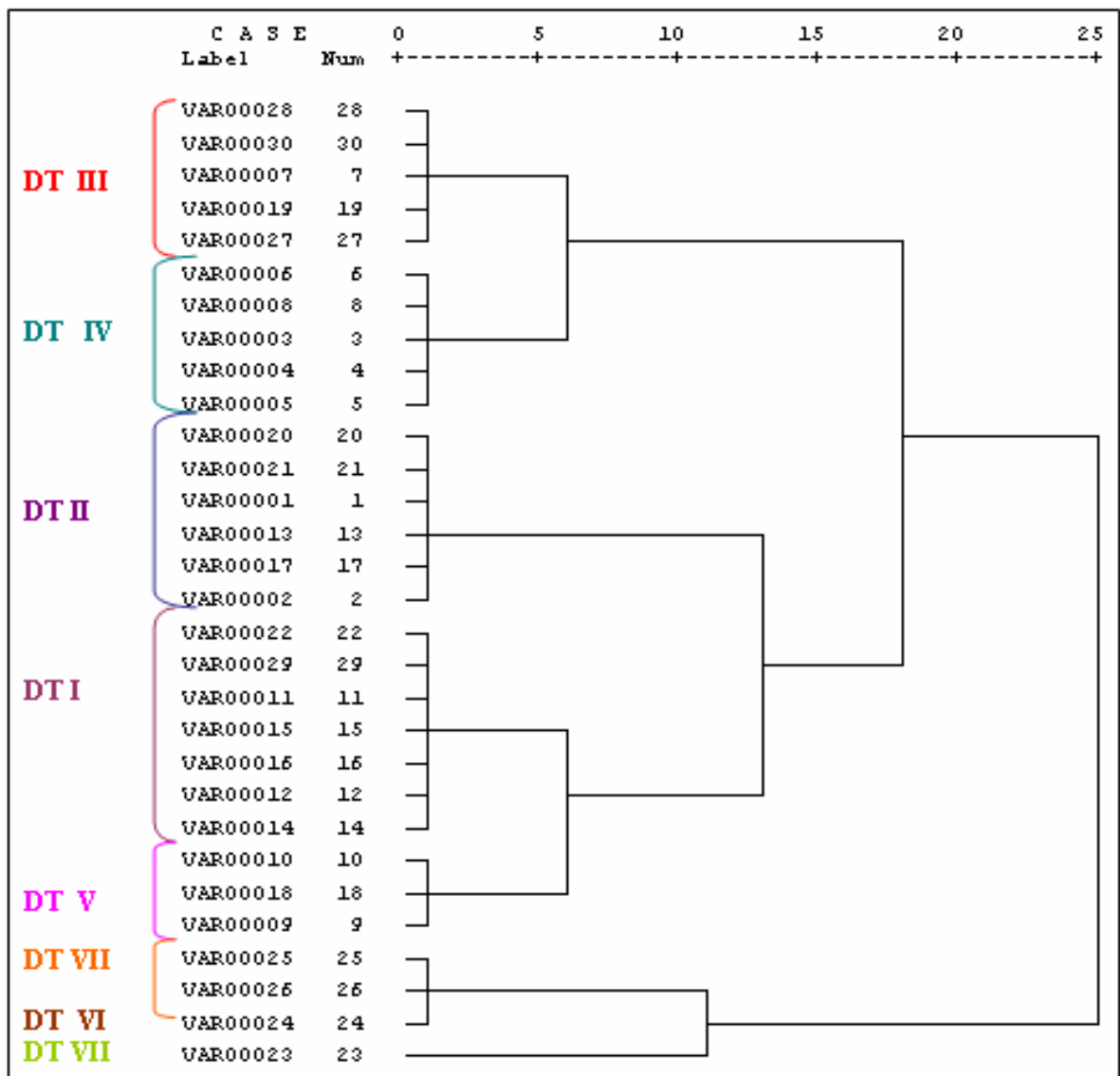


Figure 17: dendrogramme exprimant la variabilité génétique des 30 accessions des blés apparentés construit avec l’algorithme Furthest Neighbor de SPSS (Version 9).

DT : Diagramme type

- Il existe 2 grands groupes ; avec 2 mutants de distances différentes.
- Le 2eme mutant de chaque sous groupe est assez polymorphe par rapport au premier.
- Existence de 9 clades exprimant 9 diagrammes types de notre collection de blé dur apparentés.
- La présence de 5 clusters à une seule feuille, qui exprime que les 5 variétés sont très dissimilaires entre elles et par rapport aux autres diagrammes types.

Conclusion

Conclusion

Les variétés traditionnelles, les espèces spontanées et les espèces spontanées apparentées aux plantes cultivées dans la méditerranée, continuent d'être la source de nouveaux caractères recherchés pour l'amélioration de la production agricole mondiale. En outre, cette grande diversité est menacée par l'érosion génétique. (FAO, 1995).

Celui qui possède l'art des croisements interspécifiques sait apprécier la biodiversité à sa juste valeur. Parmi les espèces apparentées au blé, on trouve une abondance de gènes de résistance aux virus ; à la fusariose, à la sécheresse et aux maladies foliaires et racinaires. Ces gènes pourraient résoudre des problèmes d'échecs cultureux dans les pays du Sud et diminuer la pollution dans les pays plus fortunés.

Les résultats qui peuvent en être tirés sont regroupés dans les points suivants :

- Le travail que nous avons déjà réalisé nous a permis d'analyser les protéines de réserve ; donc des sous unités de gluténines existantes au sein de nos blés durs et blés apparentés ; donc du blé anciens sauvage et du blé domestiqué cultivé en méditerranée.
- L'identification des variétés de blé dur et apparenté, le calcul des indices de similarités et l'établissement d'un diagramme type variétal et les classer dans un arbre phylogénique a été effectué grâce à la diversité électrophorétique des gluténines révélés par la technique SDS-PAGE.
- La présence des protéines suivantes ; 1, 1', 2*, (13-16), (7-8), (17-18) qui sont corrélées positivement avec la qualité de la pâte dans les électrogrammes des blés durs et apparentés.
- L'analyse des sous unités de haut poids moléculaire, par la technique SDS-PAGE au niveau de la collection des blés durs ; nous montre qu'il existe un bon polymorphisme au niveau des loci Glu-A1, et Glu-B1 avec la présence de 9 allèles ; 2 allèles pour le loci Glu-A1 qui sont : l'allèle silencieux C qui est l'allèle nul de fréquence 83.20% et l'allèle b (2*) de fréquence :4.16% .Et 7 allèles pour le locus Glu-B1, qui sont :l'allèle d (6+8) , b(7+8), h(14+15) avec la fréquence de 20.83% pour chaque allèle, et 16.66% pour l'allèle e(20), et la fréquence de 4.16% pour chacun des allèles suivants : allèle f(13+16) et allèle i(17+18)

.Avec une constatation importante, la présence de deux nouveaux allèles ;jamais répertorié chez les blés cultivés en Algérie. Ce sont les bandes (20+16) ;chez la variété PLATA-1/SNM/PLATA-9 et les bandes (6+16) chez la variété V2 CIMMYT.

- Pour la collection des blés apparentés aux blés durs, l'analyse électrophorétiques avec SDS-PAGE a révélé la présence des allèles suivants : 7 allèles ; 3 allèles pour le loci Glu-A1 : qui sont : l'allèle nul(c), de fréquence de 63.33%, l'allèle(a) de fréquence 33.33% et l'allèle (III) avec 3.33% de fréquence. Aussi la présence de 4 allèles pour le loci Glu-B1 et qui sont : L'allèle b (7+8) avec 43.33%, et l'allèle a (7) de fréquence 23.33%, et 20% pour l'allèle d (6+8), et 13.33% pour l'allèle i (17+18).

La composition en gluténines des deux collections présente une large variabilité.

- L'indice globale de la diversité est plus au moins élevé est de 60.47% pour la collection des blés durs, il se situe entre 16.7% et 91.7% selon les variétés.
- Pour la collection des blés apparentés ; l'indice était de 28.10% ; et se situe entre 20% et 66.6%.

L'analyse des relations entre la diversité des sous unités gluténines de haut poids moléculaire et la qualité confirment les résultats obtenus par Khelifi et Branlard (1992), les résultats obtenus montrent nettement que certaines protéines ont un rôle important dans l'expression des caractéristiques rhéologique de la pâte.

- L'apparition de nouvelles bandes tels ;(16+20) et (6+16) dans les blés durs indique que les deux variétés qui portent ces nouveaux gènes ont subi des phénomènes génétiques. Ce qui nous permet d'appuyer les suppositions émises sur l'origine de ces deux nouveaux gènes.
- La dominance des gènes provenant de l'espèce *T.dicoccum* ; et l'appartenance de *T.dicoccum3* de l'allèle III qui exprime l'excellente qualité technologique des blés : confirme l'hypothèse du transfert des gènes entre les blés apparentés tels ;*T.dicoccum*, *T.polonicum* et les blés durs ;et met en considérations le rôle qu'elles jouent ces espèces apparentés dans l'amélioration de la qualité des blés durs.

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 intergénérique concernant 10 genres ont été obtenus. Des croisements plus larges peuvent être plus efficaces dans les jours futurs.

On peut dire que l'amélioration des blés durs par le biais des caractères présents dans les blés anciens mérite l'utilisation d'autres collections plus performantes, pour mieux mesurer le phénomène du flux de gènes qui en résulte après plusieurs sélections ; afin de cibler les gènes d'intérêts.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Anonyme. (2006). Le grain de blé. Journées portes ouvertes - Octobre 2006 ; BIA et Service communication de l'INRA. PARIS.

Anonyme. (2002). Les outils de la sélection variétale en sélection des céréales. : classiques ou innovants, ils permettent de franchir de nouvelles étapes. GNIS : Dossier céréales 2002.

Anonyme. (2005). Filière céréale à Paille A recherche a l'INRA et positionnement international. Département Plante et produit végétales. (Ed) INRA, France(2005)

Anonyme. (2006). La biologie de *Triticum turgidum* ssp. *Durum* (Blé dur) : Document d'accompagnement des Critères d'évaluation du risque environnemental. Agence

Benarioua S.(2001).Thèse Doctorat d'état .University Mentouri de Constantine.

Benseddik, B. (1983). Intégration céréaliculture élevage en zone subsonique : Cas de Saida.
Thèse Doctorat 3ème cycle, Montpellier III.

Bozzini A. (1988). « Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. » Dans Fabriani G. et C. Lintas (éd). *Durum: Chemistry and Technology*. AACC (Minnesota), États-Unis. p. 1-16.

Branlard,G (1989). La génétique de la qualité d'utilisation des farines et leurs caractéristiques biochimiques.dans : Gallais A, Bannerot Heds (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Editions: 13-7 1.p34.

Branlard G, ;Autran J C,Monneveux P.(1989).HMW glutenin subunits in durum wheat (T. durum). Theor Applied Genet. 78: 353-8.

Branlard, G., Autran, J.C., Rousset. Dardevet, M et Koenig,g,(1990).Catalogue des sous unités de haut poids moléculaire des gluténines des blés(*T.aestivum* et *T.durum*) INRA ed.60p.

Branlard. G (1999). Des protéines sélectionnées pour améliorer la valeur d'utilisation des blés. . INRA - Station d'amélioration des plantes, 63039 Clermont-Ferrand Cedex 03. Ed John Libbey Eurotext .Oléagineux, Corps Gras, Lipides.Volume6, Numéro6, 513-7, Novembre1999.

Browden,M. W.(1959).Taxonomy and nomenclature of the wheat , barleys ,and rayes and their wild relatives.Can .J.Bot.37:657-684.

Bushuk,W. Sapirstein,H.D. (1991).Modified nomenclature for gliadins. Page454-458 in: Gluten proteins 1990.W.Bushuk and R.TRACHUK,eds.Am.Assoc.Cereal Chem:St.Paul,MN.Cité dans (Sadouki, 2005) .

Bushuk, W. and Zillman, R.R. (1978). Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. Can. J. Plant Sci., 58: 505-515.

Cherdouh A, D Khelifi J, M. Carrillo, M.T. Nieto-Taladriz (2005). The high and low molecular weight glutenin subunit polymorphism of Algerian durum wheat landraces and old cultivars. *Plant Breeding*; 124:338-342.

C.N. Raciti a*, M.A. Doust a, G.M. Lombardo a, G. Boggini b, L. Pecetti. (2002). Dipartimento delle Scienze Agronomiche, Agrochimiche e delle Produzioni Animali, via Valdisavioia. Catania, Italy . in *European Journal Of Agronomy*.

CIC, Conseil International des Céréales. (2000). In : Le blé dur en Afrique du Nord. Le bulletin Bidimensionnel .Agriculture et Agroalimentaire Canada. Juin 2000. Vol13, N°11.

Clarke, J.M., W.A. Norvell, F.R. Clarke et T.W. Buckley. 2002. « Concentration of cadmium and other elements in the grain of near-isogenic durum lines. » *Can. J. Plant Sci./Revue canadienne de phytotechnie*, 82:27-33.

.Ciaffi M., Dominici L., Lafiandra D and Porceddu., 1992. Seeds storage protein of wild wheat progenitors and their relationship with technological properties. *hereditas*, 116:315-322.

Comeau., St-Pierre .C.A., Maes 0.2s3, Collin J.'. (2003). : Hybridation interspécifique chez le blé : progrès récents et perspectives d'avenir. *Agriculture et Agroalimentaire Canada*.

Donmez, E., R.G. Sears, J.P. Shroyer et G.M. Paulsen. 2000. « Evaluation of Winter Durum Wheat for Kansas. » Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. Publication No 00-172-S.

Doussinault G, Kaan F, Lecomte C, Monneveux P (1992). Les céréales à paille. In : Gallais A, Bannerot H eds. Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Editions: 13-71.

Doussinault 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, (1988). Cytogenetical and molecular inferences about the evolution of wheat. In: Miller, T.E. et R.M.D. Koebner (eds), *Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp*; Cambridge, UK. P.187-192.

El Khelifi O.K. BenLhabib O. Malki. (2003). Étude comparative d'hybrides interspécifiques issus de croisements entre quatre espèces d'*Aegilops* et des blés cultivés (*Triticum aestivum*, *T. durum*). *Faculté des Sciences Casablanca Ain Chock, Casablanca. Maroc*.

FAO, Food and Agriculture Organisation. (1995). Conservation et utilisation durable des ressources phytogénétiques pour la méditerranée ; Annexe du rapport de la réunion préparatoire sous-régionale pour la méditerranée. Octobre, 1995, Tunisie.

Feldman M. et Sears E. (1981). Les ressources génétiques naturelles du blé. *Science*, N°41, 79-89.

Feldman, M. (2001). Origin of Cultivated Wheat. Dans Bonjean A.P. et W.J. Angus (éd.) *The World Wheat Book: a history of wheat breeding*. Intercept Limited, Andover, Angleterre, p 3-58.

Feuillet.P. (2000).Le grain de blé.INRA.Pris.N°280168v.p :88, 81, 82, 83,199.

Gallais . A, Hubert B. (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées: objectifs et critères de sélection. (Ed) Quae, INRA. PARIS. ISBN 2738003834.

Gargominy,O,(2006) . Conservation des ressources génétiques végétales ; Centre d'Echange français pour la Convention sur la diversité biologique.

Giannibelli,MC ;Larroque,O.R.MacRitchie,F.etWrigley,C.W.(2001).Biochemical,genetic,and molecular Characterization of Wheat EndospermProteins.Cereal CHEM.78/635-646.

Glenn Lennox.(2003). L'importance du blé dans le monde.sur le site : (<http://pst.chez-alice.fr/svtiufm/ble.htm>).

Henry, Y; et B uyser, J.(2000).L'origine du blé. Pour la Science,Hors série.26 :60-62.

Hoyt, H.(1992).La conservation des plantes sauvages apparentées aux plantes cultivées (eds),BRGParis, France.Pp46.

Jackson,E.A;L.M.Holt,and P.I.Payne. (1983). Caracterisation of high molecular weight gliadin and low- molecular weight glutenin subunits of wheat endosperm by two dimentional electrophoresis and the chromosomal localisation of their controlling genes.

Jean Blotière.M.(1930).Les productions Algériennes dans : Cahier du centenaire de L'Algérie IX. Ed : Publication du comité nationale métropolitain du centenaire de l'Algérie.

Khan et Buschuk (1979). Studies of glutenin. XII. Coprison by SDS-Page of unreduced glutenin from various isolation and purification procedure.Cereal . Chem.56(2):63-68.

Kimber, G. et E.R. Sears. (1987). « Evolution in the Genus *Triticum* and the Origin of Cultivated Wheat ». In: Heyne, E.G. (éd), Wheat and Wheat Improvement. American Society of Agronomy, Madison (WI). P. 31.

Knox, R.E., J.M. Clarke et R.M. DePauw.(2000). « Dicamba and growth condition effects on doubled haploid production in durum wheat crossed with maize ». Plant Breeding, 119:289-298.

Lawrence ,G.J ;and K.W.Shephred.(1981).Chromosomal location of genes controlling seed proteins in species related to wheat: Theoretical and applied genetics.59:25-31.

Metakovsky EV, Chernacov VM, Upelniak VP, Redealli A, Dardavet M, Branlard G, Pogna NE (1996). Recombination mapping of storage protein genes in common wheat. 1 - Minor gliadin coding loci on the chromosome 1A : a revision. J Genet Breed, 50: 227-86.

Mac Fadden et Sears. (1946). L'origine des blés. In: Gallais A, Bannerot H eds (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Editions: 13-7 1.p23.

MacRitchie, F. Du Cross, D. I. ; AND wrigley, C. W. (1990). Flour polypeptides related to wheat quality. In : Pomeranz (Ed). *Advances in Cereal Science and Technology*, ol. 10 pp: 79-145.

Marhim, S. (2004). Les espèces sauvages apparentées, Réservoir de gènes pour l'amélioration du blé : Résistance aux maladies, résistance au stress hydrique. INRA RENNES. *Plantes sauvages, plantes cultivées : exploiter les ressources génétique*. 57-.

Massood S.M., Okuno Kand Anwar R., 2000. Inter et 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.

Masum ASMG Akond, Nobuyoshi Watanabe, Yoshihiko Furuta (2007). Exploration de la diversité génétique entre le Xinjiang et le *Triticum polonicum* par marqueurs AFLP. *Journal of applied Genetics* 48(1), 2007, pp. 25-33.

Macintosh. (1988). Le blé hybride. In : Gallais A, Bannerot H eds (1992). *Amélioration des espèces végétales cultivées*. INRA Editions: 13-7 1. p37.

Meziani L, Bammoun A, Hamou M, Brinis L, Monneveux P. 1992. Essai de définition des caractères d'adaptation du blé dans différentes zones agroclimatiques de l'Algérie. In. *Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé 1997*. Science et changement planétaires/secheresse. volume 12 N3, 167-74.

Morris et al ; (1966). La génétique de la qualité d'utilisation des farines et leur caractéristiques biochimiques. In : Gallais A, Bannerot H eds (1992). *Amélioration des espèces végétales cultivées*. INRA Editions: 13-7 1. p24.

Oury et al. (1990a et b). Le blé hybride. In : Gallais A, Bannerot H eds (1992). *Amélioration des espèces végétales cultivées*. INRA Editions: 13-7 1. p36.

Payne, P.I. et Lawrence, G.J. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-6B1 AND Glu-6D1 which code for the high molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.* 11: 29-35.

Payne, P.I. ; Jackson, E.A. et Holt, L.M. (1984). The association between gliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties : A direct causal effect or the result of genetic linkage? *J. Cereal Sci.* 2: 73-81.

Payne, P.I. et Lawrence, G.J. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for the high molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.* 11: 29-35.

Payne, P.I ; K.J. Corfield and G. A. Blackman. 1979. Identification of a high molecular weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread making quality in wheats of related pedigree. *Theoretical and applied Genetics* 55: 153-159.

Sadouki , H (2005). Contribution à une meilleure compréhension des bases biochimiques de la qualité boulangères des blés tenders en vue de l'amélioration des variétés algériennes. Thèse de doctorat d'Etat. INA El-Harrach, Alger.

Sakamura (1918). L'origine des blés. In: Gallais A, Bannerot H eds (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Editions: 13-7 1.p23.

Sears (1954) et Okamoto (1962). L'origine des blés. In: Gallais A, Bannerot H eds (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Editions: 13-7 1.p24.

Shewry, P.R. A.S Thatam, J .Forde? M. Kreis, and B.J.Milflin.1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. Journal of Cereal Science 4:97-106.

Surget et Barron ;(2005).Histologie du grain de blé, Industrie des céréales n 145, P4-7.

Van Slageren M.w.(1994). Wild wheats : a monograph of Aegilops L. And amblyopyrum(Jaub and Spach)Eig. (*Poaceae*).Agricultural University,Wageningen, the Netherlands.

Vavilov, N. I., 1951: The origin, variation, immunity and breeding .

Vilmorin Andrieux ; 1880). Les meilleurs blés. Paris. In-fol., VIII-175 p., pl. en coul.Wheat for Kansas. » Kansas State University Agricultural Experiment Station .

Wrigley , C.W. (1996). Giant proteins whit flour power. Nature 381,738-739.

Wrigley, C.; and shepherd,K.W. (1973).Electrophoresis of grain proteins from wheat genotypes. Ann. New York Acad.Sci.209:154-162.

Yi Chuan. L.cv.Ailanmail .2007 Apr ;29(4) :449-54.La biologie et des sciences college, L'université agricole de Sichuan, Yaan,625014 Chine.liaojiniqu630@yahoo.co

Annexe1 : Extraction des gluténines du blé dur et des blé apparenté d'après Singh,Shephered et Cornish 1991 (journal of Cereal Science14 203-208)

20mg de farine ou 1 grain sans embryon broyé au mortier

- Introduire 1ml de la solution A.
- Vortexer toutes les 10min.
- étuver 30min à 65°C.
- Centrifuger 1 min à 10000g.

Eliminer le surnageant

- Introduire 1ml de la solution A.
- vortexer
- Etuver 30min à 65°C.
- Centrifuger 1min à 10 000.
- Eliminer le surnageant.

- Introduire 0.5ml de la solution A.
- Vortexer.
- Centrifuger 5min à 10 000.
- Eliminer le surnageant par aspiration.

- Introduire 0.1ml de la solution B1.
- Vortexer.
- Incuber 30min à 65°C.
- Centrifuger 5 min à 10 000.

- Additionner 0.1ml de la solution B2.
- Incuber 15min à 65°C.
- Centrifuger 2min à 10 000.

- Prélever 0.1ml de surnageant(d'autres épendorfs).
- Additionner 0.1ml de solution C.
- Vortexer.
- Incuber 15min à 65°C.
- Centrifuger 2min à 10 000.

-Révélation des gluténines HPM et FPM.

Sur SDS-page.

T=12.52% et C=0.97%.

Coloration des gels dans 400ml d'une solution d'acide trichloroacétique à 60% et de bleu de coomassie à 10%.

-Récupérer le surnageant.

-

-Evaporation du surnageant.
1^e nuit à 65°C.

-Reprendre le résidu sec avec
0.2ml de solutionC.

-Vortexer.

-Etuver 15min à 65°C.

-Centrifuger 5min à 10 000.

Révélation des -gliadine.
Sur SDS-Page

T=10.3% et C=1.3%

Annexe 2 : Préparation des solutions pour l'extraction des gluténines.

Solution A : (pour 60 échantillons)

Propanol-1	75ml
Eau permutée	qsp 150ml

Conservation : à faire le jour même.

Tompan tris HCL 1M pH=8.0:

Tris (hydroxyl methyl) amino methane	6.057g
Ajuster à ph=8.0 avec HCL fumant	3 ml
Eau permuté	qsp 50ml

Conservation : plusieurs semaines au frigo

Solution B :

Propanol-1	10ml
Tris HCL 1ml ph=8.0	1.6ml
Eau permutée	qsp 20ml

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

Solution B1 : (solution B+ 1% DTT) pour 60 échantillons

Solution B	7ml
DL-Dithiothréitol	70ml

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

SolutionB2 : (solution B+ 1.4% 4-VP) pour 60 échantillons

Solution B	7ml
4-vinylpyridine	98ul

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

Solution C :

Sodium dodécyl sulphate	0.2g
Glycérol	4ml
Bleu de bromophémol	0.002 g
Tris-HCL 1M ph= 8.0	0.8ml
Eau permute	qsp 10ml

Conservation : plusieurs semaines à températures ambiantes.

Annexe 3 : Score qualité des types alléliques.

	Allèles	Sous unités de gluténines HPM	Score de POGNA et MILLINI (1986).	Score de POGNA et al. (1989)	Score de PAYNE et al. (1987)	Score de LUKOW et al. (1989).	Score de BRANLARD et al. (1992).
Glu-A1	a	1	3	3	3	3	15
	b	2*	5	5	3	3	30
	c	nul	2	2	1	1	0
Glu-B1	a	7	2	2	1	1	8
	b	7-8(7*-8)	4	4	3	3	18
	c	7-9	5	5	2	2	20
	d	6-8	1	1	1	1	2
	e	20	1	1	1	-	2
	f	13-16	-	-	3	-	32
	g	13-19	-	-	-	-	-
	h	14-15	-	-	-	-	-
	i	17-18	6	6	3	3	18
	j	21	-	-	-	-	5
Glu-D1	a	2-12	2	2	2	2	7
	b	3-12	-	-	2	2	9
	c	4-12	1	1	1	1	5
	d	5-10	6	6	4	4	30
	e	2-11	-	-	-	-	7

Appréciation de la variabilité génétique des blés durs et des blés apparentés par les marqueurs biochimiques

Résumé :

Cette étude est basée sur la variation des sous unités gluténines de haut poids moléculaire HPM de deux collections : des blés durs cultivés, et la deuxième des blés apparentés ; en utilisant l'électrophorèse monodimensionnelle.

La première collection est de blé dur de 24 variétés méditerranéennes. Et la seconde est un ensemble de 30 lignées sœurs obtenues à partir de croisement spécifique entre deux variétés syriennes de blé dur cultivé (*Triticum durum*) : *Cham* et *Oum rabi5* et deux espèces différentes du blé apparenté : *Triticum polonicum*, *Triticum dicoccum* (AABB), fournit par l'Institut Technique des Grandes Cultures d'El khroub.

La technique SDS-PAGE nous a permis d'estimer une grande variabilité génétique des SG-HPM chez les blés durs cultivés ; ainsi, L'apparition de nouvelles bandes tels ;(16+20) et (6+16) dans les blés durs indique que les deux variétés qui portent ces nouveaux gènes ont subi des phénomènes génétiques. Ce qui nous permet d'appuyer les suppositions émises sur l'origine de ces deux nouveaux gènes.

Aussi, pour les blés apparentés ; La dominance des gènes provenant de l'espèce *T.dicoccum* ; et l'appartenance de *T.dicoccum3* de l'allèle III qui exprime l'excellente qualité technologique des blés : confirme l'hypothèse du transfert des gènes entre les blés apparentés tels ;*T.dicoccum*, *T.polonicum* et les blés durs ;et met en considérations le rôle qu'elles jouent ces espèces apparentés dans l'amélioration de la qualité des blés durs.

Mots clés : *Triticum dicoccum*, *Triticum polonicum*, *Triticum durum*, SDS PAGE, variabilité génétique.

High molecular weight subunit glutenin variation in cultivated durum wheat and related wheat by biochemical marker

This study is based on the variation of glutenin subunits of higher molecular weight of two collections of cultivated wheat and the second collection of related wheat, by using dimensional electrophoresis. The first collection contains 24 varieties of cultivated durum wheat. And the second is a set of 30 lines derived from sisters passing between two specific varieties of Syrian durum wheat cultivation (*Triticum durum*): Cham and Oum Rabi5 and two different species of related wheat *Triticum polonicum*, *Triticum dicoccum* (AABB), provided by the Institut Technique of Great Cultures at El Khroub. The SDS-PAGE allowed us to estimate a large genetic variability in SG HPM-related wheats, and the dominance of genes was from the genus *Triticum*. Also the presence of new bands in cultivated wheat's, which puts us in question about its origin. These results can be used in improving the technological quality of wheat grown.

Key words:

SDS PAGE, genetic diversity, *Triticum durum*, *Triticum polonicum*, *Triticum dicoccum*.

تقييم التباين الوراثي من القمح القاسي و اللاقمح القريبة النسب عن طريق المعلمات البيوكيميائية

هذا العمل هو جزء من الاستراتيجيات الزراعية والوراثية المختلفة المتوخاة من أجل مشروع لتحسين إنتاجية القمح من أجل زيادة الكفاءة وتجنب الضغط الماء والحرارة. التحق في برنامج التحسين الوراثي لأنواع القمح القاسي العفوية ، والتي ستعزز التأكيد على الحيوية وغير الحيوية. الهدف من دراستنا هو التعرف على تعدد الأشكال الجينية لهذه القمح المتصلة القمح القاسي في المرحلة الكيمياء الحيوية ، والكيمياء الحيوية في مختبر علم الوراثة ، ولهذا نحن نقيم هذا التمحو لمجموعتين من الأصناف البحر الأبيض المتوسط ، وهو جمع 24 أصناف من القمح القاسي ، والثاني هو مجموعة من 30 خطوط الشقيقة عبر المستمدة من الضواري بين نوعين من سوريا زراعة القمح القاسي (قمح القاسي) : شام و OumRabi5 واثنين من الأنواع المختلفة من القمح الصلد ذات الصلة : *Triticum Polonicum* ، و *dicoccum (AABB)Triticum* التي يقدمها المعهد التقني للمحاصيل الكبرى 'الخروب ، قسنطينة. تحليل تعدد الأشكال جزيئات الوزن الجزيئي العالي من المجموعتين عن طريق أحد تقنيات الهجرة الكهربائية أحادية الأبعاد (*Laemli* ، 1970). وسمحت لنا صفحة SDS PAGE لتقدير التباين الوراثي لجزيئات HPM في القمح القاسي. ظهور عصابات جديدة من هذا القبيل ؛ (16+ 20) و (6+ 16) في القاسي وأشار إلى أن اثنين من أصناف التي تدرج تحت هذه الجينات الجديدة شهدت ظواهر الوراثة. وهذا يسمح لنا لدعم الافتراضات حول أصل هذه الجينات الجديدة. أيضا ، تتعلق ؛ هيمنة الجينات من الأنواع *T. dicoccum* ؛ وملكية الأليل الثالث ، والذي يعبر عن ذات جودة التكنولوجيا عالية من القمح: يؤكد فرضية نقل الجينات بين القمح ذات الصلة ؛ *T. dicoccum* ، *T. polonicum* ، والقمح القاسي ، ويضع في الاعتبار الدور الذي تلعبه هذه الأنواع المتصلة بتحسين نوعية القمح القاسي.

الكلمات المفتاحية

dicoccum قمح ، قمح *polonicum* ، القمح القاسي ، ، والتباين الجيني ،

SDS-PAGE