

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département :** **Biologie et Écologie Végétale** **قسم :**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biologie et Génomique Végétales**

Intitulé :

---

**Etude du polymorphisme de différents génotypes de la variété  
*alexandrinum* du blé dur cultivé en Algérie.**

---

**Présenté et soutenu par : Mme Ait-Hamoudi Meriem**

**Le : 16/06/2015**

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury :** Mme YKHLEF Nadia (Professeur à l'université des frères MENTOURI - Constantine).

**Rapporteur :** Mme GHIOUA-BOUCHTAB Karima (Maitre Assistante à l'université des frères MENTOURI - Constantine).

**Examinatrice :** Mme BOUSBAA Ratiba (Docteur à l'université des frères MENTOURI - Constantine).

**Année universitaire  
2014 – 2015**

# **Dédicaces**

**Je Dédie ce mémoire**

**À mon père et ma mère**

**Mes tendres et douces tantes et grandes mères.**

**Mon Mari.**

**Mes sœurs Linda et Hiba et mes petits frères Bachir et  
Chakib.**

**Mes beaux frères Oussama et Moaad**

**A toute ma famille et mes Amis  
sans exception.**

# Remerciements

**Je remercie plus particulièrement Madame GHOUIA-BOUCHTAB Karima, maître assistante à l'université des frères MENTOURI- CONSTANTINE pour son accueil et pour les enrichissements qu'elle m'a apportée, pour son suivi et pour ses conseils tout au long du stage.**

**Je remercie Madame YKHLEF Nadia professeur à l'université des frères MENTOURI- CONSTANTINE, de m'avoir permis d'effectuer ce stage de fin d'étude au sein du laboratoire de biochimie, génétique et de biotechnologie végétales.**

**Je remercie également Madame BOUSBAA Ratiba d'avoir pris le temps d'examiner mon mémoire.**

**J'adresse également mes sincères remerciements à Madame BOUDOUR Leila, professeur, MOUALEF Adra, Maitre assistante, BOULDJEDJ Rima et Monsieur BELBEKRI Nadir, ingénieurs au sein du laboratoire, pour leur disponibilité.**

**Je remercie Kahlouche Imen et TABCHICHE Rima, amies de ma promotion pour leurs conseils avisés et leur bonne humeur.**

**Enfin, je tiens à exprimer ma reconnaissance à l'ensemble des personnes du laboratoire pour leur grande sympathie et pour avoir pris le temps de répondre à mes questions.**

# **Etude du polymorphisme de différents génotypes de la variété *alexandrinum* du blé dur cultivé en Algérie.**

## **Résumé**

Afin d'apprécier la diversité pouvant exister entre les 09 génotypes appartenant à la variété *alexandrinum* de blé dur cultivé en Algérie, on a utilisé les protéines totales des grains.

Les profils protéiques obtenus par la technique électrophorétique monodimensionnelle sur gel de polyacrilamide en présence d'un détergeant SDS ont permis de fractionner les protéines totales.

Le gel obtenu a montré au total 140 bandes différentes dont le poids moléculaire varie de 11,775 à 111,091 KDa avec une nette variation dans l'intensité des bandes

Le polymorphisme des protéines totales a permis d'établir un dendrogramme qui a révélé une variabilité intra-variétale.

**Mots clés :** Blé dur, Génotype, grains, polymorphisme et protéines.

## **Study of polymorphism genotypes *alexandrinum* variety of durum grown in Algeria.**

### Abstract

To appreciate the diversity that may exist between the 09 genotypes belonging to the variety *alexandrinum* durum wheat cultivated in Algéria, total protein grain was used.

Protein profiles obtained by the one-dimensional electrophoresis technique on polyacrylamide gel in the presence of SDS detergent allowed us to split the total proteins.

The gel obtained show a total of 140 different bands with molecular weights ranging from 11.775 to 111.091 kda.

The total protein polymorphism has permitted to establish a dendrogram, which revealed an intra-varietal variability.

Keywords: wheat, genotype, grain, polymorphism and proteins.

## Liste des abréviations

**APS** : Ammonium persulfate

**Bis** : N,N'-méthylène-bisacrylamide

**KDa** : KiloDalton

**MM** : Marqueur moléculaire

**PM** : Poids moléculaire

**SDS** : Dodécylsulfate de sulfate

**T** : Total

**TCA** : Acide trichloacétique

**TEMED** : N,N,N',N'-tétraméthyl-éthylène-diamine.

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition en protéines de la farine de blé (Feillet, 2000). .....	14
Tableau 2 : les caractéristiques de la variété "alexandrinum" du blé dur.....	20
Tableau 3 : Les composants des deux gels.....	22
Tableau 4 : Nombre de bandes présentes chez les génotypes étudiés à partir des polymorphisme protéique des graines.....	28
Tableau 5 : Matrice des Indices de similarité relatives (IRS) entre les 9 génotypes de la variété alexandrinum du blé dur (%)......	33
Tableau 6 : Composition du marqueur de taille ( low Molecular Weighth "LMW") .....	46

## Liste des figures

Figure 1: Représentation schématique de l'évolution historique des espèces de blé (Triticum et Aegilops) (Chantret et al., 2005).....	4
Figure 2 : le cycle de développement du blé dur (Bill, 2007). .....	9
Figure 3 : Structure du grain du blé (Remsesy et al., INRA 2009). .....	12
Figure 4 : les différents structures des protéines du grain du blé dur (Jarrige et al., 2006).....	15
Figure 5 : Le matériel de la technique d'électrophorèse " Bio-rade".....	24
Figure 6 : profils électrophoretiques des protéines totales des grains des 9 génotypes de la variété "alexandrinum" du blé dur par SDS-PAGE. ....	26
Figure 7 : Dendrogramme exprimant la variabilité génétique entre les neuf génotypes de la variété alexandrinum du blé dur.....	35

# Sommaire

Introduction.....	1
I. Revue Bibliographique.....	3
I.1. Historique et origine du blé.....	3
I.2. Description et classification botanique du blé.....	5
I.2.1. Morphologie de la plante.....	5
I.2.2. Classification botanique du blé dur.....	6
I.3. Cycle de développement du blé dur.....	6
I.4. Exigences de la culture du blé dur.....	9
I.5. Répartition et production du blé dur.....	10
I.5.1. A l'échelle mondiale.....	10
I.5.2. A l'échelle nationale.....	10
I.6. Description et composition de grain du blé dur.....	11
I.6.1. Description du grain de blé dur.....	11
I.6.2. Composition du grain de blé dur.....	12
I.7. Teneur en protéines.....	13
I.7.1. Structure des protéines.....	14
I.7.2. Classification des protéines du grain de blé.....	15
I.8. Polymorphisme biochimique des protéines végétales.....	17
I.9. Séparation des protéines par l'électrophorèse SDS-PAGE.....	17
II. Matériel et Méthode.....	20
II.1. Matériel végétal.....	20
II.2. Technique d'électrophorèse SDS – PAGE.....	20
II.2.1. Principe de la technique d'électrophorèse SDS – PAGE.....	20
II.3. Interprétation de l'électrophoregramme.....	24
III. Résultats et discussion.....	25
III.1. Analyse des profils électrophorétiques.....	25
III.2. Calcul de l'indice de similarité.....	31
III.3. Classification hiérarchique.....	34
Conclusion.....	36
Références bibliographiques	
Annexes	

# **Introduction**

### Introduction

Le blé est l'une des cultures les plus importantes des céréales à travers le monde en terme de production et d'utilisation. Il constitue une source majeure d'énergie, de protéines et de fibres dans l'alimentation humaine et animale.

Actuellement, environ 95% du blé cultivé dans le monde entier est le blé tendre hexaploïde, et les 5% restants étant blé dur tétraploïde. Ce dernier est principalement cultivé dans les pays du bassin méditerranéen à climat aride et semi aride, là où l'agriculture est confrontée à plusieurs contraintes liées aux paramètres climatiques difficiles à maîtriser et au choix variétal.

En Algérie, particulièrement le blé dur et ses dérivées constituent la base de l'alimentation de la population rurale avec une demande trois fois plus importante que la production nationale (**Djermoun,2009**). Cependant, depuis longtemps les rendements du blé connaissent une faible croissance comparativement à la consommation qui a fortement augmenté sous l'effet de la croissance démographique.

La plupart des travaux effectués sur le blé dur dans le cadre de l'amélioration génétique, se sont donnés pour objectif primordial l'adaptation et l'augmentation de la productivité, en se basant sur les performances agronomiques.

L'amélioration des rendements et de la valeur nutritionnelle des plantes cultivées doit être un objectif permanent, étant donné l'intérêt économique des protéines végétales. Pour atteindre ce but le sélectionneur doit agir sur la composition protéique des cultivars.

Les protéines de blé offrent une haute valeur nutritionnelle en complément ou remplacement des protéines animales, soit comme seul ingrédient de base, soit combiné avec d'autres protéines végétales, elles présentent aussi bien un intérêt nutritionnel que fonctionnel pour l'alimentation humaine et l'alimentation animale et également un rôle dans l'adaptation de la plante, de ce fait de nombreux chercheurs abordent l'étude du polymorphisme protéique soit des protéines de réserve, soit des protéines totales selon leur charge ou masse moléculaire par électrophorèse monodimensionnel intéressante et relativement peu coûteuse et rapide.

L'étude de la totalité du contenu en protéines du grain, leur structure et leur qualité s'avère utile pour utiliser le blé dans la production d'aliments riche en composants bénéfiques pour la santé.

Une connaissance plus détaillée de la variabilité des protéines et fractions protéiques accumulées parmi les variétés de blé dur, pourrait faciliter les efforts en cours visant à améliorer à la fois la quantité et la qualité des protéines de blé et pourrait influencer la sélection des meilleures variétés à cultiver. A cet effet le marquage biochimique et moléculaire des ressources génétiques et des obtentions de biotechnologie reste un outil de grand apport dans l'identification et l'amélioration génétique des céréales.

Pour répondre à cette préoccupation, nous nous sommes intéressés à étudier et à identifier le polymorphisme des protéines totales chez neuf (9) génotypes appartenant à la variété *alexandrinum* du blé dur cultivée en Algérie. L'objectif essentiel est de les comparer et de les classer en fonction de la qualité et de la quantité des protéines totales.

Ce travail comprend après l'introduction une partie sur la recherche bibliographique, une partie décrivant le matériel biologique et la méthode utilisée suivie de la partie résultats et discussion et pour terminer une conclusion.

**Revue**  
**Bibliographique**

## I. Revue Bibliographique

### I.1. Historique et origine du blé

Le blé fait partie des trois grandes céréales avec le riz et le maïs, sa découverte remonte à 15000 ans. A cette époque l'homme pratique déjà la cueillette et faisait ses débuts comme agriculteur, la période coïncidait avec un épisode climatique sec, qui a engendré la domestication progressive des plantes, associée à la création des premières communautés villageoises (**Wadley et Martin, 1999**).

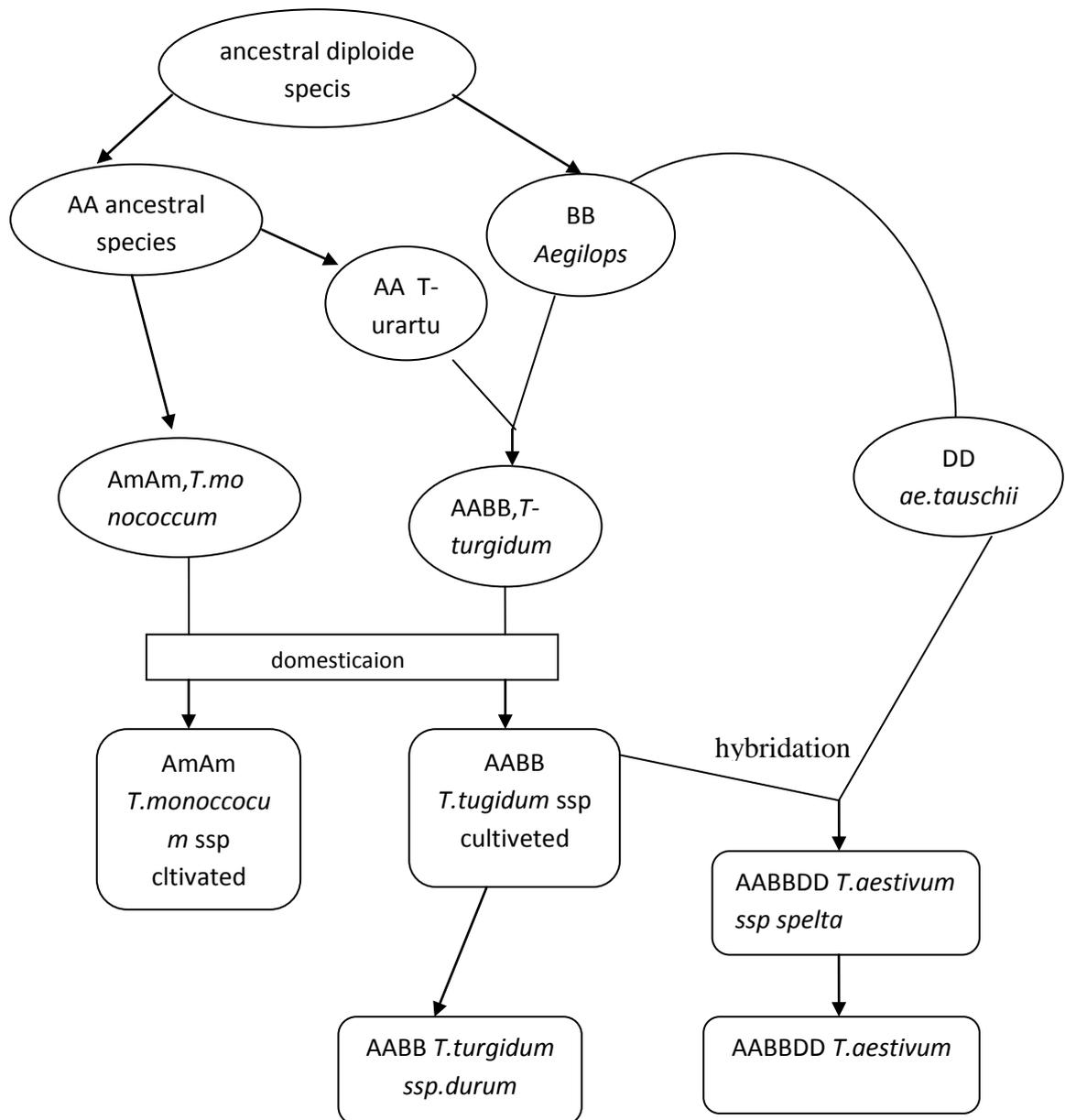
Les espèces de blé tirent leur origine génétique de croisements naturels entre *Triticum monococcum*, *Triticum urartu* et des espèces sauvages apparentées appartenant à *Aegilops* (*Aegilops speltaoides*) (**figure 01**).

Les différentes espèces de blé ont été générées par des événements successifs de polyploidisation intervenant après des croisements interspécifiques entre espèces ancestrales diploïdes. Le premier événement impliquant *Triticum monococcum* et *Aegilops speltaoides* a conduit à l'apparition du blé dur tétraploïde: *Triticum turgidum*.

Le deuxième événement de polyploidisation a eu au cours de la domestication entre le blé dur cultivé (tétraploïde) et un autre blé diploïde (*Aegilops tauschii*) et a donné *Triticum aestivum*, le blé tendre hexaploïde (**Chantret et al., 2005**).

Le génome de ces espèces est organisé en une série basique de 7 chromosomes (X=7 chromosomes), qui, au cours de l'évolution, a gardé une certaine homologie (synténie), malgré la spéciation chez la famille des *poaceae*.

Génétiquement, le blé dur est allotétraploïde (deux génomes: AABB), comptant au total 28 chromosomes ( $2n=4x=28$ ), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune des espèces souches donc, le génome A vient de *Triticum urartu*, alors que le génome B vient de *Aegilops speltaoides*. Ces deux génomes forment la constitution génomique du blé dur (*Triticum durum* Desf) (**Chantret et al., 2005**).



**Figure 1:** Représentation schématique de l'évolution historique des espèces de blé (Triticum et Aegilops) (Chantret et al., 2005).

## **I.2. Description et classification botanique du blé**

### **I.2.1. Morphologie de la plante**

L'appareil végétatif comprend l'appareil aérien et l'appareil racinaire.

#### **I.2.1.1. Système aérien**

Cette graminée annuelle de hauteur moyenne se compose de :

- feuilles dont le limbe est aplati, comprenant à la base une gaine qui entoure la tige et terminé par une extrémité pointue. Au point d'attache de la gaine se trouve une membrane mince et transparente (ligule) comportant deux petits appendices latéraux (oreillettes) (**Bozzini, 2004**).

- tige cylindrique, dressée, habituellement creuse et subdivisée en entre nœuds. La tige principale et chaque brin portent une inflorescence en épi terminal. Le nombre de brins dépend de la variété, des conditions de croissance et de la densité de plantation.

- l'inflorescence du blé dur est un épi muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entre nœuds (**Soltner, 2000**). Chaque épillet compte deux glumes (bractées) renfermant de deux à cinq fleurs distiques sur une rachéole. L'inflorescence en épi terminal se compose de fleurs parfaites, renfermées dans des structures semblables à des bractées, soit la glumelle inférieure (lemma ou lemme) et la glumelle supérieure (paléa).

Chaque fleur compte trois étamines à anthères biloculaires, un pistil à deux styles à stigmates plumeux et peut produire un fruit à une seule graine, soit le caryopse (**Bozzini, 2004**).

#### **I.2.1.2. Système racinaire**

Le système racinaire de type fasciculé comprend des racines séminales produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives qui se forment plus tard à partir des nœuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent(**Bozzini, 2004**).

### I.2.2. La classification botanique du blé dur

Le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *Durum*) est une espèce autogame de longs jours appartenant à la classe de Monocotylédones de la famille des *Poaceae*, de la tribu des Triticées et du genre *Triticum*. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

La classification du blé dur, selon **Brouillet et al., (2009) APG III** est la suivante :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous règne</b>	Tracheobionta
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes.
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes.
<b>Classe</b>	Monocotylédones.
<b>Ordre</b>	<i>Poales</i> .
<b>Sous ordre</b>	<i>Comméliniflorales</i> .
<b>Famille</b>	<i>Graminaceae</i> ou <i>Poaceae</i> .
<b>Genre</b>	<i>Triticum</i>
<b>Espèce</b>	<i>durum</i>

### I.3. Cycle de développement du blé dur

Afin de caractériser le cycle de développement du blé, différentes échelles de notation ont été développées portant soit sur des changements d'aspects externes, soit sur les modifications d'aspect interne des organes reproducteurs.

La Croissance et le développement sont mesurés selon plusieurs échelles dont celle de Feekes utilisée par la FAO, qui repose sur la description de la morphologie du maître brin (Large, 1999).

L'échelle de **Jonard et al.,(1952) in Oudjani, (2009)** est utilisée pour reconnaître les stades par des changements d'aspect externe (Levée, Montaison ...).

L'échelle de **Zadoks et al., (1974)** couramment utilisée sur le plan international pour reconnaître les stades par modification d'aspect interne (Différenciations de l'épi, stade épi 1 cm, ...).

Les modifications morphologiques résultent à la fois de processus de croissance et de processus de développement. Ces deux processus sont complémentaires et indissociables, ils aboutissent à la production de matière sèche, résultant de la transformation de ressources du milieu par l'intermédiaire de capteurs aériens (surfaces de photo synthèse) et capteurs souterrains (racines, capteurs d'eau et d'éléments minéraux).

Le cycle de développement du blé comprend trois principales phases : végétative, reproductrice et de maturation.

### **I.3.1. La période végétative, s'étend de la germination au tallage**

- **la phase de germination** : est l'ensemble des phénomènes par lesquels la plantule, en vie ralentie dans la graine mûre, commence une vie active et se développe grâce à ses réserves (**Boulal et al., 2007**).

Elle débute lorsque la graine commence à absorber de l'eau (**Bill,2007**) et se traduit par l'émergence du coléorizhe donnant naissance aux racines séminales et au coléoptile qui protège la sortie de la lière feuille fonctionnelle c'est la levée. La deuxième et la troisième feuille suivent après. Pendant cette phase, les jeunes plantes sont sensibles au manque d'eau qui provoque une diminution de leur nombre (**Karou et al, 1999**).

- **la phase de tallage** : comporte 03 principaux stades : début, plein et fin tallage. Cette phase s'amorce à partir de la quatrième feuille et se caractérise par l'entrée en croissance des bourgeons différenciés à l'aisselle de la première feuille, dont le bourgeon donnera le maître-brin (**Soltner, 1990**). La fin tallage est celle de la fin de la période végétative.

### **I.3.2. La période reproductrice**

- **la phase ébauche d'épillets** : Le début de cette phase est marqué par une différenciation de l'ébauche d'épillet sur l'apex et par une transformation du bourgeon végétatif en bourgeon floral. La fin de ce stade est repérée par l'apparition de deux

renflements latéraux qui apparaissent sur l'épillet, ce sont les ébauches des glumes (**Boulal et al, 2007**).

- **la phase montaison-gonflemen** : La montaison constitue la phase la plus critique du développement du blé. Cette phase s'achève une fois que l'épi prend sa forme définitive. Elle se distingue par la montée de l'épi sous l'effet de l'élongation des entrenœuds qui constitue le chaume.

- **la phase épiaison-floraison (anthèse)** : l'épiaison se détermine par l'apparition de l'épi hors de la graine de la dernière feuille. Les épis dégainés fleurissent généralement entre 4 à 8 jours après l'épiaison (**Bahlouli et al., 2005**).

### **I.3.3. La période de maturation**

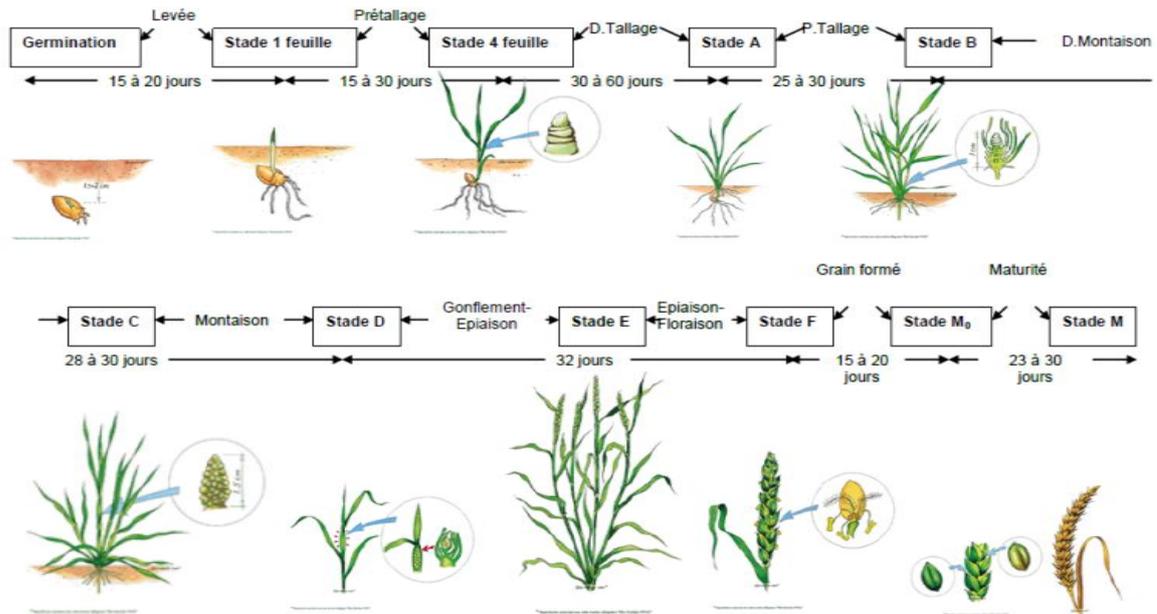
Au cours de cette dernière période, l'embryon se développe et l'albumen se charge de substance de réserves. Elle exige la chaleur et un temps sec et se fait en 3 étapes successives:

- la première étape est une phase de multiplication des cellules du jeune grain encore vert, qui se termine par le stade laiteux.

- la seconde étape concerne l'accumulation des assimilats, le poids frais des grains continu à augmenter alors que celui des tiges des feuilles diminue c'est le stade pâteux où le grain s'écrase en formant une pâte.

- la dernière étape qualifiée de phase de dessiccation où le grain devient dur et de couleur jaunâtre, c'est le stade de la maturation physiologique.

Cette période s'achève par la phase de dessèchement du grain qui perd de son humidité pour atteindre son poids sec final (**Wardlaw, 2002**) (Figure 2).



**Figure 2 : le cycle de développement du blé dur (Bill, 2007).**

#### I.4. Exigence de la culture du blé dur

Le blé dur n'a pas les mêmes exigences que le blé tendre et s'adapte à des sols et des climats variés, ses besoins en ensoleillement sont élevés. Il présente une faible résistance au froid et à l'humidité et sa sensibilité à certaines maladies cryptogamiques est plus grande que chez le blé tendre (**Bennasseur, 2003**).

- **le sol**: le blé dur exige, une terre saine, profonde, drainant bien et enrichie en fertilisants.

L'installation du blé dur dans les terres ressuyant mal, le rend plus sensible aux maladies cryptogamiques telles que le piétin et les fusarioses (**Bennasseur, 2003**). Il est aussi sensible au calcaire et à la salinité ; un ph de 6,5 à 7,5 semble approprié puisqu'il favorise l'assimilation de l'azote.

- **la température** : la température optimale est celle à partir de laquelle la croissance est considérée comme maximale pour le blé, elle est généralement de 20°C.

- **l'eau** : les exigences en eau du blé sont de l'ordre de 500 à 600 mm/an, bien répartis sur le cycle. Une bonne alimentation en eau est particulièrement importante entre l'épiaison et la floraison et entre les stades « grains laitieux » et « grains pâteux » (**Barotin, 2004**).

Le blé dur peut être cultivé dans toutes les régions, cependant, les pluies importantes au cours de la maturation peuvent affecter la qualité des grains.

## **I.5. Répartition et production du blé dur**

### **I.5.1. A l'échelle mondiale**

Quoique le blé tendre (*Triticum aestivum L.*), le maïs (*Zea mays L.*) et le riz (*Oryza sativa L.*) Soient les céréales les plus produites à travers le monde, il n'en demeure pas moins que le blé dur (*Triticum durum Desf.*) Occupe une place importante dans certaines régions du monde, notamment les zones semi-arides dont le climat est de type méditerranéen (Algérie, Maroc, Espagne, France, Italie, Grèce, Syrie) (**Pena et Pfeiffer, 2005**).

Le blé dur occupe 8 à 10% du total des terres réservées aux blés dur et tendre (**Ammar et al., 2006**).

Les plus grands producteurs de blé dur dans le monde sont l'Union Européenne avec une moyenne de production de 7,9 millions de tonnes (1999/2007) , répartie entre les quatre pays membres : l'Italie, la Grèce, la France et l'Espagne, avec une production moyenne annuelle respectivement égale à :4,1 ; 1,5 ; 1,4 et 0,9 millions de tonnes.

### **I.5.2. A l'échelle nationale**

En Algérie, le blé dur (*Triticum durum Desf.*), est la première céréale cultivée dans le pays. Les terres annuellement emblavées pour le blé représentent 3,6 millions d'hectares, dont la superficie occupée par le blé dur est, en moyenne de 1,3 millions d'hectares, durant la période 2000-2010 (**Madr, 2011**).

Les rendements en blé dur sont très bas, et ne couvrent que 20 à 25% des besoins du pays comparativement à la moyenne mondiale (**Fao stat, 2010**).

La cause principale de la faiblesse de la production du blé dur en Algérie( soit 9 à 11 quintaux/hectare). Est due à des contraintes abiotiques (pluviométrie surtout), biotiques (adventices, surtout) et humaines (itinéraires techniques appliqués etc...) (**Chellali, 2007**).

En effet l'Algérie reste le troisième importateur mondial de blé après le Brésil et l'Égypte.

Produire plus de blé dur est devenue une question préoccupante pour l'Algérie, dont les besoins, d'une population en pleine croissance, sont estimés à plus 111 millions de quintaux vers 2020 (Hervieu et al., 2006).

## **I.6. Description et composition de grain du blé dur**

### **I.6.1. Description du grain de blé dur**

Les grains du blé dur sont allongés souvent même pointus, leurs enveloppes sont assez minces et légèrement translucides, donnant moins de son que le blé tendre, leur farine plus riche en gluten se prête moins bien à la panification que le blé tendre.

On distingue 3 parties dans le grain de blé :

- Enveloppes ou écorce ou le son, représentent 17% du poids du grain et composées de protéine, lipide, vitamines et minéraux; le péricarpe est composé de fibres, vitamines et minéraux.

- l'albumen ou amande représente 80% du poids du grain et composé de grains d'amidon qui sont encerclés par un réseau protéique.

- Le germe ou embryon formé de la coléoptile, de la gemmule, de la radicule, le coléorizhe et de la coiffe et du scutellum. Il représente 3% du poids du grain et est composé de lipides et de protéines (Remsesy et al., INRA 2009).

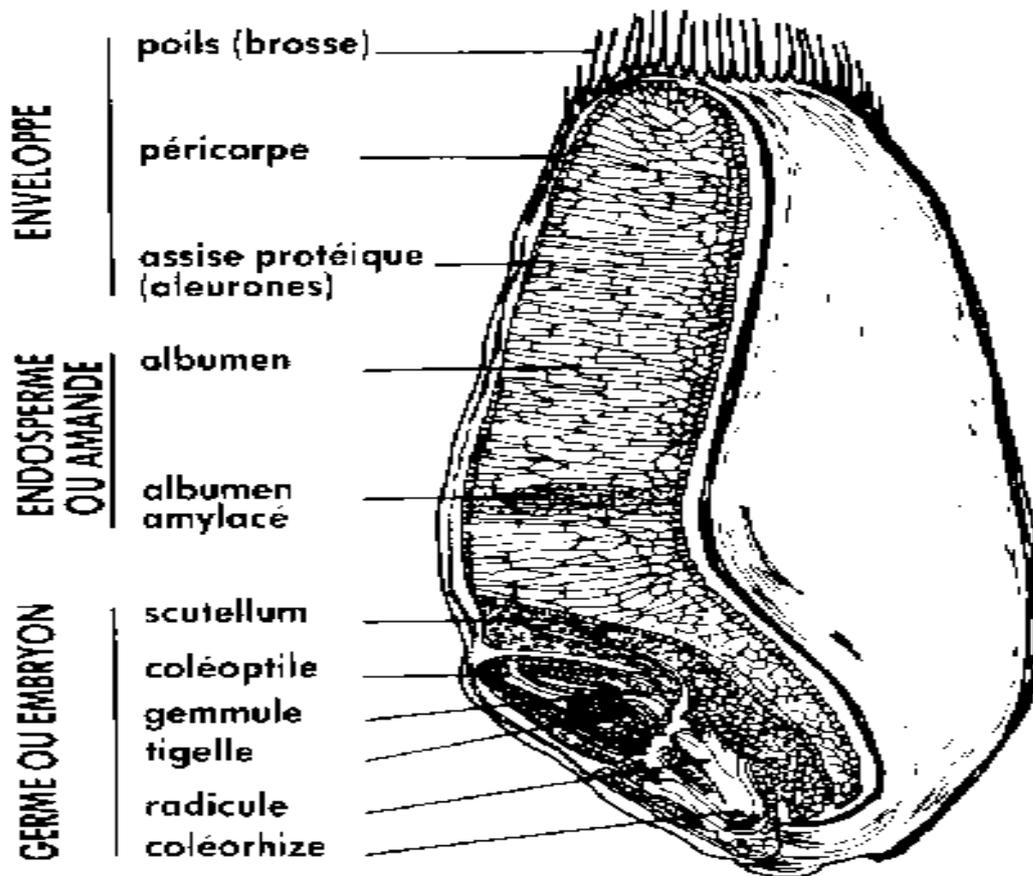


Figure 3 : Structure du grain de blé (Remsesy et al., INRA 2009).

### I.6.2. Composition du grain de blé dur

Le grain de blé est principalement constitué d'amidon (environ 70%), de protéines (10 à 15% selon les variétés et les conditions de culture) et de pentosanes (8 à 10%), les autres constituants, pondéralement mineurs (quelques % seulement) sont les lipides, la cellulose, les sucres libre, les minéraux et les vitamines (Feillet, 2000).

Le cotylédon du blé représente 82% à 85% du grain, il accumule toutes les substances nutritives nécessaires (glucides, les protéines, les lipides, les substances minérales et les vitamines) (Cretois et al., 1999). Parmi ces composants les protéines sont le deuxième élément important dans la farine et la semoule de blé, leur teneur varie selon le degré de maturité du grain, les variétés et les conditions de culture.

### I.7. Teneur en protéines

Les protéines jouent un rôle dans l'adaptation de la plante et de ce fait de nombreux chercheurs abordent l'étude de ces molécules (**Campalans et al., 1999**). **Schulze et al.,(2005)** ont rapporté qu'une partie des protéines ont une fonction directe dans l'augmentation de la tolérance au stress (protéines fonctionnelles), d'autres ont une fonction dans la chaîne de transduction (protéines régulatrices) qui aboutissent à la production de protéines fonctionnelles. Cependant, plusieurs autres protéines ont des fonctions inconnues et ne sont pas bien caractérisées[5].

Les protéines du blé sont les plus connues parmi les protéines des céréales, elles ont la propriété unique de former après hybridation une masse cohérente, insoluble et viscoélastique.

Sur le plan quantitatif la teneur en protéines dépend essentiellement des conditions agronomiques du développement de la plante. Sur le plan qualitatif, elle est basée sur les différences de propriétés des protéines, celles-ci étant liées au patrimoine génétique de la variété.

Les protéines du blé sont pauvres en acides aminés essentiels à cause d'un niveau limité de lysine et thréonine. Elles présentent 8 à 20% du poids du grain mûr et sec du blé, elles seraient regroupées dans deux familles principales (**tableau 1**) (**Benmberk, 2004**).

- les protéines solubles : sont les albumines et globulines (15 à 20 %). Elles comprennent de nombreuses protéines physiologiquement actives telles que des  $\alpha$ -amylases, des inhibiteurs de la protéase, les enzymes de régulation, des enzymes métabolique et des enzymes synthétiques (**Tao haiying et al., 2012**). Ces protéines participent à la formation du grain et à l'accumulation des réserves dans l'albumen.

- Les protéines insolubles: sont des gliadines et des gluténines, elles représentent 80 à 85 % et sont appelées aussi prolamines en raison de leur richesse en proline et en glutamine (**Amri, 2012**). Elles constituent le principal composant fonctionnel du blé, et la principale source des propriétés viscoélastique de la pâte.

De point de vue pratique, dans ces protéines il faut savoir différencier les protéines solubles et insolubles:

- ce qui fait la qualité technologique, c'est la qualité des protéines insolubles composées du complexe gluténines et gliadines.

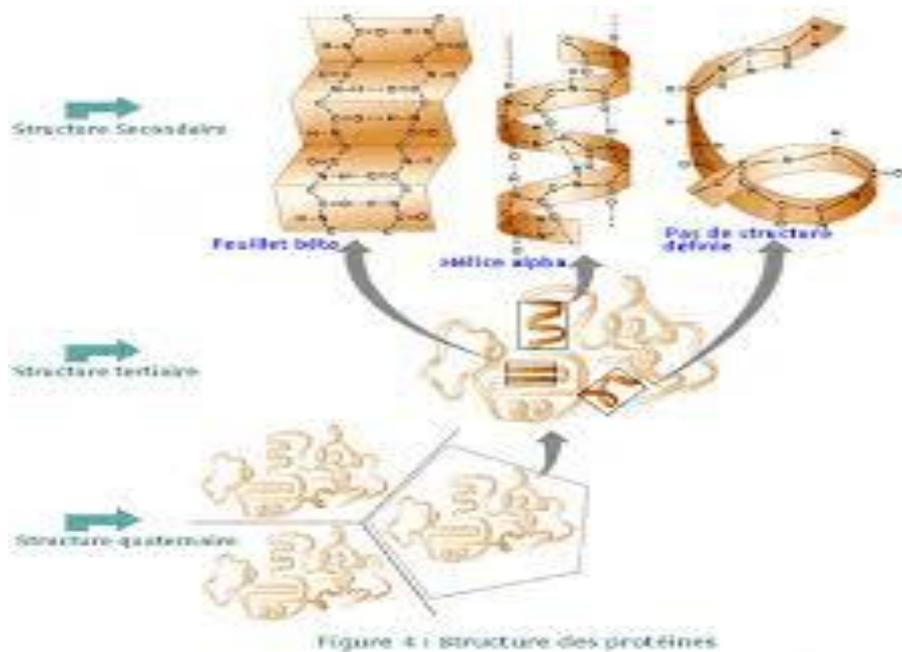
- ce qui fait la qualité nutritionnelle, ce sont les protéines solubles parce qu'elles contiennent un meilleur équilibre en acides aminés essentiels et surtout plus de Lysine.

**Tableau 1 :** Composition en protéines de la farine de blé (Feillet, 2000).

Solvant	Groupe protéique	Qualité : % des protéines totales	PM (Da)
Eau	Albumines	15	5 000 - 30 000
NaCl 0,5 N	Globulines	5	20 000 - 90 000
Ethanol 70%	Gliadines	30 - 40	25 000 - 75 000
Ac. Acétique 0,01 N	Gluténines solubles	15 - 20	≥ 100 000
Résidu insoluble	Gluténines insolubles	25 - 35	≥ 1 000 000

### I.7.1. Structure des protéines

Chaque protéine est caractérisée par une structure primaire qui désigne l'enchaînement linéaire des vingt acides aminés liés par liaison peptidique, de type covalent. La structure secondaire (figure 04) désigne quelques types de configurations spatiales régulières de tout ou de partie de ces chaînes (hélices, feuillets plissés). La structure tertiaire consiste dans la configuration spatiale tridimensionnelle et fait intervenir notamment des pontages inter ou intra-caténaux à partir des résidus cystéine de la protéine. Enfin dans la structure quaternaire, interviennent des interactions ioniques, des liaisons hydrogènes et hydrophobes (Jarrige et al., 2006).



**Figure 4 :** les différents structures des protéines du grain du blé dur (Jarrige et al., 2006).

### I.7.2. Classification des protéines du grain du blé

En tenant compte de leurs propriétés biochimiques et de leur origine génétique, la classification des protéines du grain du blé a été revue. L'appellation "prolamine" est réservée aux seules protéines de réserve dont les polypeptides sont solubles. Les prolamines ont été séparées en trois groupes (Ramanjulu et Bartels, 2002) :

- les prolamines riches en soufre ;
- les prolamines pauvres en soufre ;
- les prolamines de masse moléculaire élevée.

#### I.7.2.1. Protéines des graines

Traditionnellement, les protéines sont classées selon leurs caractéristique de solubilité. Dès 1907, Osborne propose une classification des protéines du blé en quatre types (Jeantet et al., 2008).

- **les albumines :** Elle représente 5 à 10% des protéines totales du grain du blé sont globulaires et solubles dans l'eau, essentiellement concentrées dans la périphérie du grain et dans le germe. La plupart de ces protéines présentent une activité biologique et sont relativement riches en acides aminés soufrés et en lysine.

- **les globulines** : Sont globulaires et solubles dans les solutions salines diluées. Elles représentent 5 à 10% des protéines totales du grain du blé. Ces protéines se concentrent comme les albumines dans les parties périphériques de la graine mais leur composition en acides aminés diffère: teneur en acides aminés soufrés et en lysine plus faibles, teneur en arginine plus élevée. Les globulines peuvent s'associer ou se dissocier suivant les conditions du milieu, ce qui explique leur comportement assez particulier en fonction de la force ionique et la nature des ions présents (**Jarrige et al., 2006 ; jeantet et al., 2008**).

- **Les gliadines** : Elles présentent un grand polymorphisme, tel qu'on peut le voir sur les électrophorèses en gel de polyacrylamide , qui révèlent de 20 à près de 40 constituants. Chez le blé, il n'y a que 4 gliadines ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\omega$ ) dont la masse moléculaire varie de 30 000 à 80 000 daltons et qui présentent le polymorphisme génétique (**Bozzini, 2004**).

Ces protéines sont très riches en glutamine et en proline, mais pauvres en acides aminés basiques (**Chellali, 2007**).

- **Les gluténines** : Selon **Schulze et al., (2005)** les gluténines sont le dernier groupe des protéines des graines, leur teneur en résidus lysine, glycine, alanine, sérine et tyrosine est fortement supérieure à celle des gliadines tandis que leur teneur en acide glutamique, proline et cystéine est inférieure. Traditionnellement, on distingue selon leur masse moléculaire trois types de gluténines :

- celles ayant une masse moléculaire supérieure à 200 000 Da dont la composition est voisine des albumines et globulines ;

- celles dont la masse moléculaire est comprise entre 100 000 et 200 000 Da et qui contiennent une proportion élevée d'acide glutamique, de glycine ;

- celles dont la masse est inférieure à 50 000 Da et qui présentent une hydrophobicité voisine des gliadines.

### **I.8. Polymorphisme biochimique des protéines végétales**

Étant donné l'intérêt économique des protéines végétales, l'amélioration des rendements et de la valeur nutritionnelle des plantes cultivées doit être un objectif permanent. Pour atteindre ce but, le sélectionneur doit agir sur la composition protéique afin d'obtenir les propriétés favorables de qualité. Il est donc nécessaire de connaître quels sont les gènes qui contrôlent les protéines, leurs teneurs respectives et comment elles agissent sur la qualité.

Le polymorphisme génétique représente le potentiel et la capacité à répondre aux changements environnementaux, à la fois sur le court terme (faculté d'adaptation) et sur le long terme (potentiel d'évolution) (Mahnane, 2012).

Or, on s'est rendu compte que le polymorphisme biochimique des protéines est beaucoup plus considérable qu'on ne le supposait il y a quelques années. À cela, il faut ajouter que la technique électrophorétique sous-estime la variabilité réelle d'un facteur 2 en moyenne.

Cependant, l'utilisation de cet outil analytique, même imparfait, a permis de résoudre le problème de l'identification des variétés chez de nombreuses espèces ou d'établir des relations entre des caractères agronomiques divers et des formes multiples.

Quand le déterminisme génétique des gènes de structure de toutes les protéines des céréales sera connu, il restera à connaître la chronologie de la biosynthèse de ces molécules. D'une façon générale, on peut affirmer que les protéines de réserve des céréales sont synthétisées avec un certain temps de latence après la fécondation de l'ovule puis suit une période d'accumulation rapide jusqu'à la maturation de la graine. Il en serait de même chez les *Fabacées* (Mahnane, 2012).

### **I.9. Séparation des protéines par l'électrophorèse SDS-PAGE**

L'électrophorèse est une technique extrêmement puissante pour séparer les acides nucléiques AN et les protéines. Parmi ses nombreuses applications, elle permet, entre autre, de vérifier la pureté des solutions obtenues par différentes techniques .

L'application de l'électrophorèse selon Laemmli, (1970) peut déterminer la diversité des génotypes par l'obtention des électrophorégrammes qui caractérisent ses protéines.

L'une des variantes la plus répandue de l'électrophorèses est l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence du sodium dodécyl sulfate (SDS-PAGE) décrite par Ulrich Laemmli en 1970 et qui est utilisée pour séparer les protéines en fonction de leur poids moléculaire (**Dicko, 2006**).

La technique SDS-PAGE est basée sur le fractionnement des protéines selon leur mobilité, en leur conférant une charge homogène par l'ajout d'un détergent le SDS qui charge négativement les protéines ( **Leonardines et al., 2007**).

Le principe général de cette méthode est de séparer (fractionnement) et d'analyser (caractérisation, identification, dosage ) de molécules sous la forme de particules chargées électriquement, suite à leur migration différentielle sous l'action d'un champ électrique.

Cette technique de criblage, utilisée pour distinguer le polymorphisme existant entre les génotypes et les variétés, est relativement rapide et peu couteuse.

**Matériel**

**et**

**Méthode**

## II. Matériel et Méthode

### II.1. Matériel végétal

L'étude a porté sur le polymorphisme biochimique des protéines totales pour caractériser les neuf (9) génotypes d'une population appartenant à la variété « alexandrinum » issue d'une collection de blé dur (*Triticum durum Desf*) cultivé en Algérie.

**Tableau 2 :** les caractéristiques de la variété "alexandrinum" du blé dur.

Couleur De l'épi	Couleur de barbe	Couleur du grain	Précocité	Compacité	Paille	Forme de l'épi
Rouge Glabre	Noire	Blanc, allongé bossu	Tardive	Compacte	Creuse à demi creuse	Fusifforme à pyramidal

### II.2. Technique d'électrophorèse SDS – PAGE

#### II.2.1. Principe de la technique d'électrophorèse SDS – PAGE

L'électrophorèse SDS-PAGE, repose comme toute technique électrophorétique, sur la séparation de molécules chargées dans un champ électrique.

Une cuve à électrophorèse est reliée à deux bornes (une cathode (-) et une anode (+)) alimentées par un générateur électrique : les molécules que l'on intercale dans ce champ migreront, selon leur charge, vers le pôle complémentaire.

La particularité de la SDS-PAGE est de soumettre les échantillons protéiques à un prétraitement dénaturant. Les protéines sont soumises à l'action de deux composés :

- le  $\beta$  mercaptoéthanol : composé qui exerce une action dénaturante sur les protéines oligomériques en rompant les ponts disulfures ce qui désorganise leur structure tridimensionnelle. Les sous unités des protéines sont aussi dissociés.

- le SDS (sodium dodécyl sulfate) : est un composé capable de se fixer sur la périphérie des chaînes de protéines tout en leur conférant une charge négative.

Ainsi les protéines recouvertes par le SDS auront donc toute une charge négative et migreront donc toutes vers l'anode (+) : la charge réelle des protéines n'est donc plus mise en jeu et donc seule leur masse moléculaire influencera leur migration.

Grâce à la SDS-PAGE, il est possible de déterminer assez finement la présence d'une protéine donnée dans un échantillon protéique. Une protéine sera caractérisée par sa masse moléculaire donnée.

La technique d'électrophorèse se déroule en 4 étapes :

- extraction des protéines totales à partir des demi-grains broyés.
- séparation des composés protéiques des extraits par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.
- Fixation des composés protéiques par l'acide trichloroacétique, suivie de leur révélation par le bleu de coomassie et la décoloration par l'eau de robinet ou bien la solution de décoloration.
- Interprétation des résultats obtenus par l'analyse du gel.

### II. 2.2 Etapes de la technique d'électrophorèse SDS-PAGE

#### a) Extraction des protéines totales

L'extraction des protéines totales du grains de blé dur est presque la même pour les feuilles et les racines se fait par la méthode de **Leonardis et al., (2007)** comme suit:

- le matériel de départ est un demi-grain de chaque génotype, broyé dans un mortier en une poudre fine, à l'aide d'un pilon. Le broyat est mis dans un tube Eppendorf.
- Introduction d'1ml de solution A de précipitation (**Annexe 1**) et homogénéiser dans le tube Eppendorf de 1.5 ml
  - Laisser reposer pendant 1h à -20°C.
  - Centrifuger à 13 000 rpm pendant 15 min à 4°C
  - Eliminer le surnageant délicatement en renversant le tube ( le culot ne doit pas décoller).
  - Laver les culots avec 1ml de la solution de rinçage solution B (**Annexe 1**).
  - Laisser reposer 1h à -20°C puis éliminer le surnageant délicatement.

- Sécher les culots dans un dessiccateur pendant 15 à 30min à 60°C.
- Reprendre la poudre dans un volume de 100µl du tampon de solubilisation *Laemmli buffer* (**Annexe 1**)
- Passer au vortex les tubes Eppendorf en mettant 5min à 100°C, afin de favoriser la dénaturation des protéines.
- Centrifuger les tubes Eppendorf à 10 000 rpm pendant 10 min à la température ambiante. Stocker à -20°C.

**b) 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, ce dernier permet de stocker des impuretés et de tasser les protéines. Et le premier permet le fonctionnement des protéines selon leurs poids moléculaires (**Tableau 3**).

**Tableau 3 :** Les composants des deux gels.

.Produits	[C] finale	Gel de séparation 12%	Gel de concentration 4%
Acry Bis 40%	40%	1.8ml	0.2ml
1.5M Tris hcl ph 8.8	0.375 M	1.5ml	/
0.5M Tris hcl ph 6.8	0.125 M	/	0.5ml
10% SDS	0.1%	60µl	20µl
10% APS	0.05%	30µl	10µl
TEMED	0.1%	6µl	2µl
H <sub>2</sub> O distillée	/	2.6ml	1.27ml
Total	/	6ml	2ml

Avant leur entrée dans le gel de séparation. Tout d'abord les cassettes sont nettoyées à l'éthanol et placées l'une contre l'autre, tout en les séparant par deux espaceurs de largeur choisie, puis elles sont montées

A l'aide d'une seringue, on coule le gel de séparation doucement entre les cassettes afin d'éviter la formation de bulles, à un niveau limité sur la plaque, on laisse 4 cm de l'encoche, le volume restant sera occupé par le gel de concentration.

On applique une couche de butanol, afin d'égaliser sa surface et faire une barrière contre l'air pour accélérer la polymérisation qui prendra 25 min.

Le gel de concentration est coulé au dessus du gel de séparation, on pose les peignes (nettoyés auparavant a l'éthanol) délicatement pour ne pas faire de bulles, bien au centre des cassettes. Le gel prend en l'espace de 35min, après les peignes sont retirés soigneusement pour ne pas détruire les puits fermés, on verse le tampon dans les puits et on fait les dépôts.

### **c) Dépôt des échantillons et migration**

On dépose 40µl de différents échantillons dans les puits. Un puits est réservé pour des standards le marqueur moléculaire connu.

Après chaque dépôt rincer la micro-seringue avec le tampon de migration.

La cuve d'un bac supérieur portant la plaque est remplie d'un tampon d'électrophorèse (**Annexe 2**) à un niveau dépassant les gels, et on le place dans la cuve d'électrophorèse ou bac inférieur. On ferme la cuve et on branche les électrodes de la cuve qui sont reliées au générateur.

La migration démarre à une intensité constante de 110ma/gel.

Une fois la migration terminée, il faut attendre jusqu'à ce que le front de migration atteigne le bord inférieur des plaques (approximativement 2h 15min).

### **d) Coloration et décoloration du gel**

On prépare une solution de coloration qui contient un fixateur de protéines le TCA (acide trichloroacétique) à 60% et un colorant, le bleu de coomassie R250 à 1% et de l'eau distillée (**Annexe 2**).

Dès la sortie du front de migration, on arrête la migration, les gels sont démoulés soigneusement et placés dans un bac en plastique et couverts de solution de coloration Ce bac est placé en agitation pendant 48h puis les gel sont décolorés dans une solution de décoloration et là il est prêt à la lecture.

Après lavage les protéines apparaissent comme des bandes sur un fond transparent. On peut alors déterminer le nombre des bandes qui présentent différentes protéines, ainsi que leur masse ( grâce au marqueur de taille).

Voici un aperçu du matériel utilisé au laboratoire de génétique, biochimie et biotechnologie végétale (Figure 05).

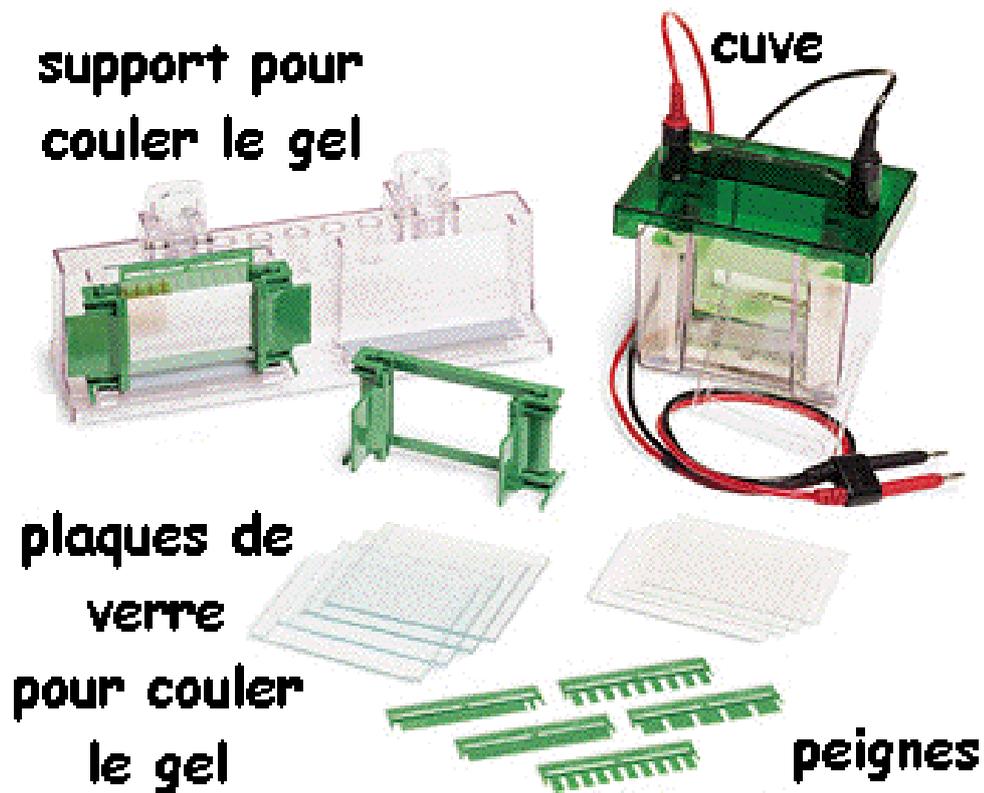


Figure 5 : Le matériel de la technique d'électrophorèse " Bio-rade".

### II.3. Interprétation de l'électrophoregramme

Le gel est photographié par un système d'imagerie au niveau du laboratoire de biochimie et biotechnologie végétal et l'analyse est réalisée à l'aide du logiciel E-capte qui a permis de visualiser les bandes et de calculer leur poids moléculaire en fonction du marqueur de taille. La présence des bandes est représentée par 1, et l'absence par 0, une matrice est à la base de l'élaboration de dendrogramme en utilisant le logiciel SPSS14.

**Résultats**

**et**

**Discussion**

### III. Résultats et discussion

A partir des protéines extraites des grains de blé des 9 génotypes de la variété *Alexandrinum* nous avons analysé d'une part les profils électrophorétiques, puis calculé l'indice de similarité et d'autre part nous avons effectué une classification hiérarchique à l'aide d'un dendrogramme.

#### III.1. Analyse des profils protéiques

L'étude biochimique à travers les protéines totales par la technique d'électrophorèse monodimensionnelle en présence de SDS implique une analyse sur le nombre de bandes et leurs poids moléculaire en fonction du marqueur de taille.

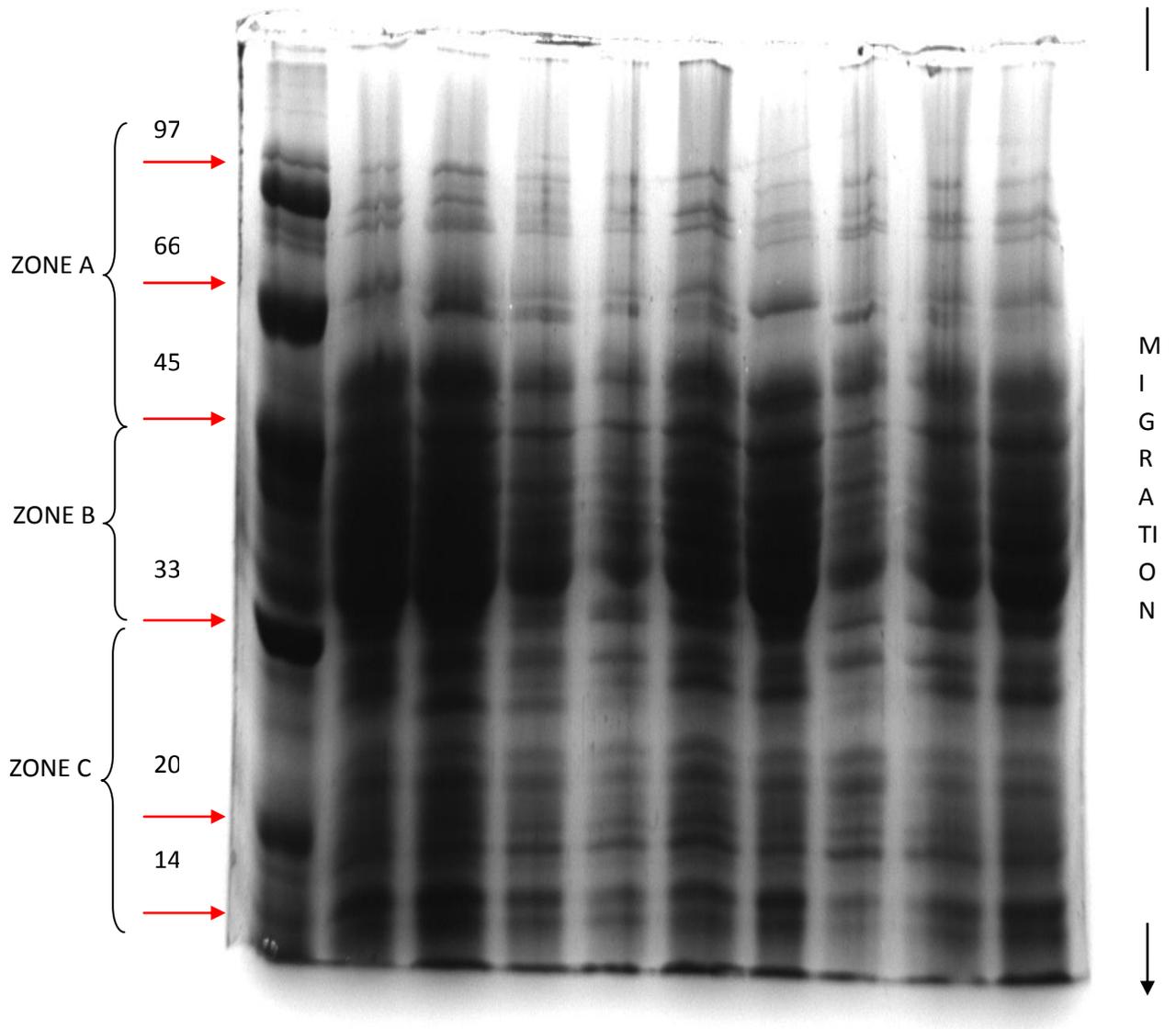
Les profils électrophorétiques obtenus chez ces génotypes présentent des bandes de bonne résolution (**Figure 06**). En effet, il existe une nette différence dans l'intensité des bandes qui est directement liée à la concentration de la protéine (Jasso et al., 2002).

L'analyse du gel (**Figure 06**) a mis en évidence trois groupes de bandes repartis selon leur mobilité (lente, moyenne et rapide) :

- **Les bandes lentes de la zone A:** apparaissent plus claires et distinctes pour les 09 génotypes, leur nombre se situe entre 7 et 9 bandes, d'un poids moléculaire allant de 111.091 à 52.586kda (entre la première et la troisième bande du marqueur de taille) selon le génotype.

- **Les bandes intermédiaires de la zone B:** sont proches les unes des autres pour tous les génotypes étudiés de la variété *Alexandrinum*, 3 à 5 bandes sont présentes d'un poids moléculaire variant de 48.802 à 25.005kda (entre la troisième et la cinquième bande du marqueur de taille).

- **Les bandes rapides de la zone C:** sont plus nombreuses et de bonne résolution, au nombre de 7 à 13 bandes d'un poids moléculaire de 25.005 à 11.775kda (entre la quatrième et la sixième bande du marqueur de taille).



**Figure 6 :** profils électrophoretiques des protéines totales des grains des 9 géotypes de la variété "*alexandrinum*" du blé dur par SDS-PAGE.

Le diagramme (tableau 05), montre au total 140 bandes de poids moléculaire variant entre 11.775 et 111.091kda, leur nombre diffère d'un génotype à l'autre (**tableau 4**). Ainsi on enregistre pour le génotype G1, le plus petit nombre de bandes de 15 d'un poids moléculaire variant entre 101.697 et 12.037kda suivi du génotype G2 qui présente 17 bandes d'un poids moléculaire allant de 102.323 à 12.112kda

Chez le génotype G3, on observe 25 bandes de poids moléculaire compris entre 101.384 et 11.925kda.

Les génotypes G4 et G5, présentent le même nombre de bandes égal à 23, de poids moléculaire situé entre 101.384 et 12.300kda.

Les génotypes G6 et G8, comprennent chacun 22 bandes mais avec des poids moléculaires différents, pour le premier ils se situent entre 107.020 et 12.300kda et pour le second entre 111.091 et 11.850kda.

Le génotype G7, contient le plus grand nombre de bandes par rapport aux autres génotypes, soit 27 d'un poids moléculaire allant de 111.091 à 12.150kda.

Le génotype G9, possède 20 bandes de poids moléculaires allant de 107.646 à 11.775kda.

Le diagramme (**Tableau 4**) laisse également apparaître des bandes communes:

- Une même bande chez les génotypes G2 G3 G4 G5 G6 de poids moléculaire de 13.05kda.
- deux bandes entre les génotypes G7 et G8 de poids moléculaires respectifs de 111.091 et 16.807kda,
- trois entre G5 et G6 de poids moléculaires respectifs 66.731 - 13.05 - 12.3kda
- trois bandes communes entre les génotype G4 G5 et G6 de poids moléculaire de 101.384 - 89.955 - 13.05kda respectivement.
- quatre entre G8 et G9 de poids moléculaire de 100.131 - 83.59 - 19.824 - 17.683 et 12.787kda respectivement.

Sur le même diagramme, on relève la présence de bandes uniques (spécifiques), leur nombre varie entre 6 bandes au minimum chez le génotype G2 à 15 bandes au maximum chez le génotype G7, ce qui reflète une variabilité assez marquée entre les 9 génotypes de la variété *alexandrinum*.

Le génotype G1 avec ses 7 bandes uniques suit le génotype G2 (6 bandes) dont les poids moléculaires respectifs des bandes des deux cultivars sont assez proches.

Le génotype G5 avec ces 14 bandes uniques n'est pas loin du génotype G7 (15 bandes).

Quant aux génotypes G3, G4, G6, G8 et G9, leur nombre total de bandes varie entre 9 et 12 de poids moléculaire compris entre 107.646 et 11.775.

**Tableau 4 :** Nombre de bandes présentes chez les génotypes étudiés à partir des polymorphisme protéique des graines.

PM(Kda)	Mrq	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9
111,091	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
107,646	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
107,02	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
102,323	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
101,697	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
101,384	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
100,131	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
99,818	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
97,626	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
97	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
94,206	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
93,857	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
93,16	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
92,465	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
92,117	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
90,385	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
89,007	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
88,663	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
87,978	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
87,295	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
89,955	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
85,263	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
83,59	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
82,266	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
75	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

73,514	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
72,641	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
72,067	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
71,219	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
70,662	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
70,387	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
67,992	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
67,229	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
66,731	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
66	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
66,485	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
62,012	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
61,65	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
61,467	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
58,586	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
58,178	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
57,553	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
56,695	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
56,031	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
53,678	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
52,412	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
49,39	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0
48,802	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
47,896	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
47,276	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
45	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
43,841	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
41,917	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
40,018	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
39,269	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
38,159	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
34,623	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
33,952	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
33,623	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
32,975	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
32,344	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
32,035	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
30,843	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
30	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29,204	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
28,699	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
27,979	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
27,302	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
26,466	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

26,268	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
25,005	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
24,681	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
23,94	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
22,727	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
22,427	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
21,986	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
21,829	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
21,481	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
21,246	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
20,999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
20,914	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
20,471	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
20,349	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
20,307	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
20,281	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
20,21	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
20,1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20,086	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
20,026	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
20,01	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
19,922	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
19,884	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
19,824	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
19,545	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
19,412	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
19,328	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
19,27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
19,241	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
19,088	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
19,025	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
18,96	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
18,011	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
17,89	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
17,808	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
17,725	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
17,683	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
17,078	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
16,943	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
16,807	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
16,716	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
16,485	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
16,156	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
16,108	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

15,869	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
15,725	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
15,628	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
15,385	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
15,287	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
15,14	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
15,042	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
14,795	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
14,548	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
14,499	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
14,4	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
14,287	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
14,137	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
14,1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
14,025	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
13,95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
13,725	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
13,05	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0
12,862	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
12,787	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
12,3	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
12,15	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
12,112	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
12,037	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
11,925	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
11,85	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
11,775	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Totale	6	15	17	25	23	23	22	27	22	20
Totale BS		6	7	10	10	14	10	15	13	10

1: présence d'une bande

0: Absence d'une bande.



Bande Commune



Bande Spécifique

### III.2. Calcul de l'indice de similarité

La variabilité génétique est estimée également par le biais des indices de similarité entre différents profils protéiques. Il s'agit d'une analyse qui montre le degré de similitude entre les 9 génotypes de la variété *alexandrinum* du blé dur .

L'indice de similarité est une expression du degré de similitude entre deux profils électrophorétiques. Il permet d'évaluer le polymorphisme phénotypique entre les différents individus.

Cette méthode d'analyse adoptée par plusieurs auteurs (**Pernes, 1984**) consiste à considérer que chaque bande électrophorétique, correspond à un caractère avec deux états possibles: présence ou absence. A chaque bande on donnera ensuite le numéro (1) pour la présence de bande et (0) pour l'absence de bande. On obtiendra ainsi une matrice de données qualitatives.

L'indice de similarité (IS) entre deux individus est calculé selon la formule suivante :

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

Sachant que :

- **IAS** : Indice absolu de similarité présentant l'ensemble de bandes qui ne sont pas significativement différentes entre les neuf génotypes. On considère qu'une bande est significativement différente d'une autre lorsqu'elles ne sont pas de même mobilité et/ou qu'elles se distinguent par au moins deux classes de concentration.

- **N** : présente le nombre total des bandes présentes dans le diagramme.

Pour voir l'étendue de la diversité entre les 09 génotypes, nous avons donc calculé l'IRS en utilisant le diagramme (**tableau 5**) fondé sur des caractères quantitatifs liés à la présence ou absence d'une bande.

En observant les indices de similarité sur le **tableau 5**, on constate que ceux-ci varient de 15.2 à 97.5%.

La plus grande similitude IRS égale à 97.5% est entre les génotypes G8 et G9. Ces génotypes présentent 12 bandes communes.

Les IRS les plus faibles sont compris entre 15.2 et 32.5% signifiant que le diagramme présente une dissimilitude dont les cas les plus représentatifs concernent les

génotypes G2 avec G7 (15.2%), les génotypes G1 avec G7 (17.6%) aussi les génotypes G3 et G7 (20.5%).

Ces génotypes présentent des profils protéiques différents sur le plan qualité des bandes.

Les IRS les plus élevés varient de 40.9 et 97.5% signifiant que les diagrammes présentent une forte homologie en nombre et en position des bandes. Cette similitude s’observe particulièrement chez le génotype G8 avec G9 dont l’IRS est de 97.5%.

**Tableau 5 :** Matrice des Indices de similarité relative (IRS) entre les 9 génotypes de la variété alexandrinum du blé dur (%).

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9
G1	0								
G2	91.1	0							
G3	42.0	69.1	0						
G4	52.2	71.4	79.2	0					
G5	33.4	43.1	63.6	69.8	0				
G6	61.5	87.3	61.2	78.5	43.8	0			
G7	17.6	15.2	20.5	32.7	61.5	32.5	0		
G8	23.0	29.8	54.5	44.5	87.2	57.7	40.9	0	
G9	21.8	23.3	42.3	50.2	72.3	45.5	54.5	97.5	0

 IRS le plus faible

 IRS le plus fort

### III.3. Classification hiérarchique

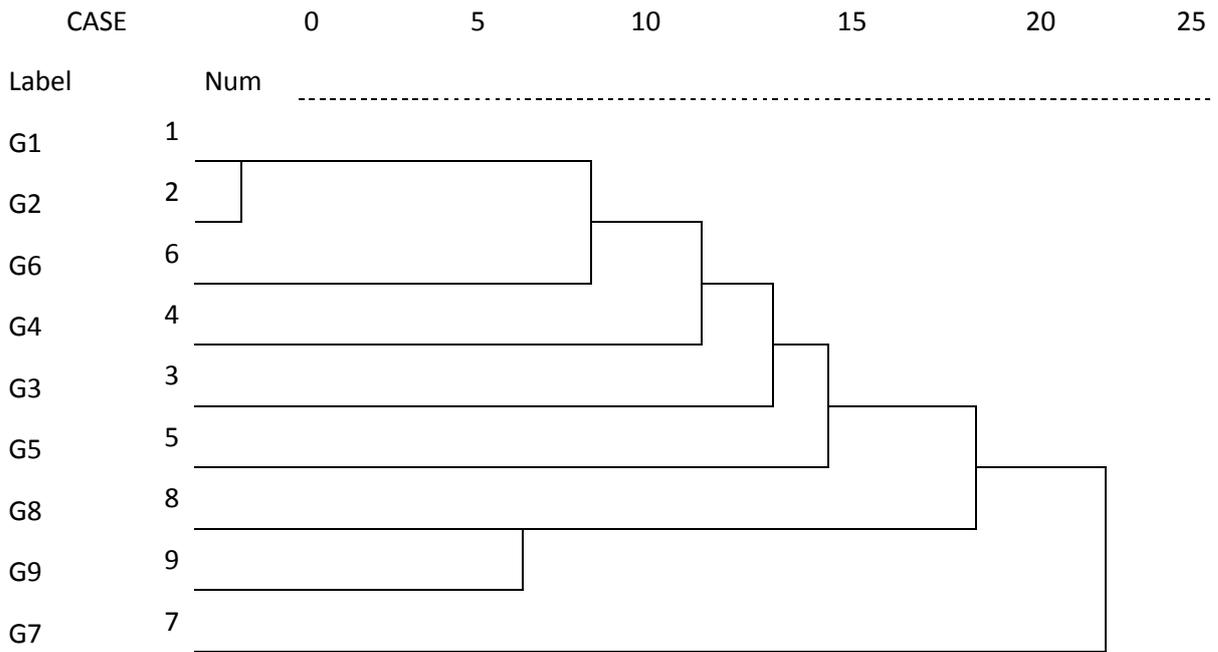
Pour mieux estimer les liens génétiques existant entre les 09 génotypes de la variété *alexandrinum* de blé dur et essayer de les classer, on a établi un dendrogramme à partir des indices de similarité calculés (IRS). Celui-ci a permis de répartir les génotypes en deux groupes selon leur degré de similarité ( **Figure 07** ) :

- le premier groupe formé du seul génotype G7, qui semble complètement différent des autres génotypes sur le plan génétique ce qui se vérifie par le nombre total de bandes de 27 et dont le nombre des bandes spécifiques est le plus élevé de 15.

- le deuxième groupe se divise en deux sous- groupes:

- un sous- groupe comprenant les génotypes G8 et G9 qui sont génétiquement proches et présente le plus grand degré de similitude 97.5%.
- un sous groupe qui se subdivise à son tour en quatre petits groupes, renfermant chacun un à deux génotypes, il s'agit:
  - du premier petit groupe formé des génotype G1 et G6 dans lequel s'intègre le génotype G2, ces 3 génotypes pourraient présenter quelques ressemblances liées à leur origine génétique.
  - du deuxième petit groupe formé du génotype G4.
  - du troisième petit groupe formé du génotype G3.
  - du petit quatrième groupe formé du génotype G5.

Chez ces derniers génotypes on constate une certaine homogénéité confirmée par l'IRS et le nombre de bandes communes.



**Figure 7 :** Dendrogramme exprimant la variabilité génétique entre les neuf génotypes de la variété *alexandrinum* du blé dur (logiciel SPSS14).

# Conclusion

## Conclusion

En Algérie, le blé occupe une place prépondérante vu sa richesse alimentaire, et ses caractéristiques agronomiques.

La prospection et la caractérisation du matériel génétique local des différents espèces constituent un axe stratégique pour l'amélioration de ces espèces.

Les protéines du grain de blé dépendent du génotype mais elles peuvent aussi être influencées par l'environnement. Ces facteurs agissent sur la vitesse et la durée du développement des grains de blé; l'accumulation des protéines et la déposition d'amidon.

Les résultats obtenues par l'étude biochimique portent sur les protéines totales extraites des grains des neufs génotypes de la variété *alexandrinum* de blé dur.

Ce travail de recherche a permis d'une part d'identifier les protéines totales dans les grains de blé des neufs génotypes et d'autre part d'estimer la diversité (polymorphismes) qui existent entre ces génotypes.

La présence d'une grande quantité de protéine atteste de la bonne qualité du blé qui pourrait présenter un intérêt économique certains, particulièrement dans les pays du tiers-monde.

Parmi nos neufs génotypes étudiés, c'est le génotype G7 qui semble synthétiser le plus de protéines sachant que celui-ci à montrer un total de 25 bandes. Alors que, le génotypes G1 se trouve en dernière position avec un total de 15 bandes.

Chez les génotypes restants (G2, G3, G4, G5, G6, G8 et G9) on a relevé un nombre intermédiaire de bandes situé entre 17 et 25 bandes.

On peut conclure qu'il existe un polymorphisme moyennement remarqué parce que les génotypes sont issue de la même variété "*alexandrinum*".

Les indices de similarité établis à partir du diagramme du profil électrophorétique a mis en évidence le degré de parentés ou d'éloignement entre les neufs génotypes. Les indices de similarités varient entre 15,2et 97,5 %.

Lorsque les valeurs des indices de similarités entre les génotypes sont élevées ceci signifie que les génotypes présentent de nombreuses ressemblances et peuvent avoir des origines génétiques très proche, comme le cas des génotypes 1 et 2 et celui des génotypes 8 et 9.

Par la suite, une autre représentation des résultats obtenus est réalisée sous la forme d'un dendrogramme, basé sur des caractères qualitatifs (absence/présence de bandes) en utilisant les données binaires qui ont abouti aux mêmes résultats que précédemment.

En effet les résultats confirment que les génotypes 8 et 9 sont les plus proches en protéines totales alors que les génotypes 1 et 7 sont les plus éloignés.

Cette variabilité ou le polymorphisme important peut être lié aux interactions entre l'environnement et les génotypes ou encore du aux mutations ou à la sélection naturelle.

# Références Bibliographiques

- Adjabi S., (2011).** 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 p.
- Ahn M.G., Teicher H.B. & Streibig J.C. (2004).** Linking fluorescence induction curve and biomass in herbicide screening. *Pest Manag. Sci.* **59**: 1303-1310 p.
- Ammar N., Gibson F., Rippke J., Soualmi B., Zarzariya F., (2006).** Agronomie moderne. Bases physiologiques et agronomiques de la production végétale. (éd). *AUPELF-UREF* : 544 p.
- Amri, B (2012).** Evaluation et utilisation des protéines de blé dur ( *Triticum durum* Desf ). Thèse de magister, Institut d'agronomie, université colonl ElHadj LaKdar, Batna, p80.
- Bahlouli F., Bouzarzour H., Benmhammed A., Hassous K L., (2005).** Etude des liaisons entre le rendement, la duré de vie de feuille et la vitesse de remplissage et la remobilisation des assimilats de la tige de blé dur ( *Triticum durum* Desf) sous climat méditerranéen Ed annales de L'INRA, El-Harrach, 27 :15-33.
- Barotin J., (2004).** Plant water relations as affected : A review. *Journal of Plant Nutrition*; Vol/Issue: 13:1; 1-37.
- Benberk H., (2004).** Diversité génétique des protéines de blé dur. Thèse de magister. Faculté des sciences de la nature et de vie. Université Farhat AAbbes.
- Bennasseur M., Gharbi M.S., Paul R. (2003).** L'amélioration variétale et les autres actions contribuant à la sécurité alimentaire en Tunisie en matière de céréales. *Sécheresse*.**10** :27- 33 p.
- Bill I., (2007).** La biologie de A à Z : 1100 définitions. Ed. Dunod, Paris, pp 123.
- Boulal H., Zaghouane O., El Mourid M., Rezgui S., (2007).** Gide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Ed. ITGC, INRA, ICARDA. 176P
- Bozzini A., (2004).** Origin, distribution and production of durum wheat in the world.
- Brouillet H., Boudin D., jayka., sureur N., lilasy J., (2009)** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments.V1, classificatin botanique de céréales. *Tec & Doc*. Paris .Lavoisier : 381 p.

**Campalans A., Messeguer R., Goday A. & Pagès M. (2005).** Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. *Plant*

**Chantret J.C., Cheftel H., Jessika B., (2005)** . Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments.V1. *Tec & Doc*. Paris .Lavoisier : 381 p.

**Chellali B. 2007.** Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire. <http://www.lemaghreb.dz.com/admin/folder01/une.pdf>. (31.05.2008).

**Cretois B., ( 1999).** MacRitchie, F. Physico-chemical properties of wheat proteins in relation to functionality. *Adv. Food Nutr. Res.* **1999**, *36*, 1–87.

**Cushman H., Bohnert J.,( 2005).** Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold stress are modulated by drought in a developmental and genotypedependent manner. *Plant Sci.* **172** : 1005 -1016 p.

**Dicko B., (2006).** *Wheat Grain Composition and Implications for Bread Quality*; DIAS report Plant Production no. 92; Danish Institute of Agricultural Sciences: Tjele, Denmark, 2003.

**Djermoun, B., (2009)** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. I.N.R.A. Paris : p.39-53.

**Dubos B.,( 2001).** Separation and characterization of wheat protein fractions by high-performance capillary electrophoresis. *Cereal Chem.* **1995**, *72*, 527–532.

**Fao stat, (2010).** Food and Agriculture Organization. FAOSTAT database. Available online:<http://www.faostat.fao.org> (accessed on 10 December 2010).

**Feillet P., ( 2000).** Le grain de blé : composition et utilisation. *INRA*. Paris.

**Mazouz S., (2006).** (éd). *Durum: Chemistry and Technology*. AACCC(Minnesota). Etats-Unis : 1-16 p.

**Hervieu, J Belderok, B.; Mesdag, J.; Donner, D.A. (2006)** *Bread-Making Quality of Wheat: A Century of Breeding in Europe*; Kluwer Academic Publisher: Dordrecht, The Netherlands, 2006; pp. 30–31.

**JarrigeMerlino, M.; Leroy, P.; Chambon, C.; Branlard, G. (2006)** Mapping and proteomic analysis of albumin and globulin proteins in hexaploid wheat kernels (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* **2009**, *18*, 1321–1337).

**Jasso D., De Rodriguez., Romero-Garcia J., Rodriguez-Garcia R. & Sanchez J. L., (2002).**Characterisation of proteins from sunflower leaves and seeds: Relationship of biomass and seed yield. *Trends in new crops and new uses*. ASHS Press. Alexandria.VA.

**Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. & Brulé G. 2006.** Science des aliments : Biochimie-Microbiologie- Procédés- Produits. V2. Technologie des produits alimentaires. (éd). *TEC & DOC*. Paris.

**Karou Kasarda, D.D.; Autran, J.C.; Lew, E.J.L.; Nimmo, C.C.; Shewry, (1999).** P.R. *N* terminal amino acid sequences of  $\omega$ -gliadins and  $\omega$ -secalins: Implications for the evolution of prolamin genes. *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, *747*, 138–150.

**Large,D(1999)** Comparison of some Indian and semi-dwarf Mexican wheat to unirrigated cultivation. *IndianJ.agric.Sci.* **40**: 421- 427 p. **1999**).

**Leonardines F., Abdel-Aal, E.-S.M.; Salama, D.A.; Hucl, P.; Sosulski, F.W.; Cao, W.** Electrophoretic characterization of spring spelt wheat gliadins. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2117–2123. **12.** Kirkman, M.A.; Shewry, P.R.; Mifflin, B.J.; The effect of nitrogen nutrition on the lysine content and protein composition of barley seeds. *J. Sci. Food Agric.* **1982**, *33*, 115–127.

**Madr R., (2011)** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique des céréales d'hiver. In : *l'amélioration des plantes pour l'adaptation au milieu arides*.(éd). *Aupelf-Uref. J. Eurotxt.L.* Paris: 165 -186 p.

**Mahnan K., (2012)** Improving the protein content and composition of cereal grain. *J. Cereal Sci.* **2007**,*46*, 239–250.

**Oudjani, (2009)**Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le blé dur. *Amélio plants.* **29** : 479 -492 p.

**Pena et Pfeiffer, 2005).** *Physiol. Biochem.* *37.* **5**: 327 - 340 p.

**RamanjuluS. & Bartels D. (2002)** Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant Cell* . **25**: 141-151 p.

**Remsesy S., Jangpromma N., Kitthaisong S., Daduang S., Jaisil P. & Thammasirirak S. 2009.** structure chimic of wheat grains and protein accumulation.*INRA. Paris.*

**Schulze E-D. Beck E. & Müller-Hohenstein K.(2005).** Plant ecology. *Springer.* Berlin:117-143p.

**Sladana Z L.B., Moskal W.A., Cameron K.D. & Bennett A.B. (2001).** MIP Genes are downregulated. *Plant Cell Physiol.* **42**:686-693 p.

**Soltner, D. (2000).** Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies.Sainte-Gemme-sur-Loire, Sciences et Techniques Agricoles.

**Tao haiying S., Müller, S.; Vensel, W.H.; Kasarda, D.D.; Köler, P.; Wieser, H. (2012),** Disulphide bonds of adjacent cysteine residues in low molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* **1998**, 27, 109–116.

**Wadley D., Martin B., (1999).** Plasmon analyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) analyses of organellar DNA. *PNAS.* **94**: 14570 - 14577 p.

**Wardlaw H., (2002).** Endosperm Proteins. In *Plant Gene Research: A Genetic Approach to Plant Biochemistry*; Blenstein, A.D., King, P.J., Eds.; Springer: New York, NY, USA, 1986; pp. 207–301.

**Zadoks K., (1974) Skerritt, J.H.; Devery, J.M.; Hill, A.S. (1974).** Gluten intolerance: Chemistry, celiac-toxicity, and detection of prolamins in foods. *Cereal Foods World*, **35**, 638–644.

# **Annexes**

## Annexe. 01

### Solutions de l'extraction des protéines totales

#### - Solution de précipitation (A)

TCA (100%)	10ml ( 10g TCA/100ml acetone)	→ 10%
B-mercaptoéthanol	70µl	→ 0.07%
Acetone qsp	100ml	

(Toujours placer au froid)

#### - solution de rinçage (B)

B-mercaptoéthanol	70µl	→ 0.07%
Acétone qsp	100ml	

( toujours placer au froid)

#### - Laemmli (tampon de dénaturation)

Tris-HCL6.8	12.5ml
SDS	2g
Glycérol	10ml
B-mércaptoéthamol	2ml
Bleu de bromophénol	0.005g
Eau qsp	100ml

#### - Solution de 20 ml de SDS à 10%:

Peser 2 g de SDS.

Ajouter 18 ml d'eau distillée et chauffer à 68°C.

Ajuster le ph à 7.2 avec du hcl.

Compléter le volume à 20 ml.

Stocker à température ambiante.

## Annexe 02

### - Solution et tampon utilisés pour SDS-PAGE

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

Acrylamide	35g
Eau distillée qsp	100 ml

#### Solution mère de bis acrylamide à 2% ( préparer avec gants et masque)

Bis acrylamide	2 g
Eau distillée qsp	100 ml

#### Solution stock de SDS à 10%

Sodium Dodécyl Sulfate	10 g
Eau distillée qsp	100 ml

#### Solution d'aps (Ammonium Persulfate) à 1%: préparer extemporanément

APS	0.1 g
Eau distillée qsp	10 ml

#### Tampon Tris-hcl ph 8.8 (à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris ( hydroxyméthyl aminomethan)	60.57 g
Eau distillée	400ml
Ajuster à ph 8.8 avec du hcl fumant	8 à 10ml
Eau distillée qsp	500 ml

#### Tampon Tris hcl ph 6.8 ( à préparer sous la hotte, avec gants et masque)

Tris (hydroxyméthyl aminomethan)	30.285 g
Eau distillée	200 ml
Ajuster à ph 6.8 avec du hcl fumant	19.5 ml
Eau distillée qsp	250 ml

#### Tampon d'électrophorèse

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

**Solution de coloration ( pour deux gels)**

TCA 60%	100 ml (60g TCA/100ml Eau distillée)
Solution mère de bleu de Coomassie R-250	25ml
Eau distillée qsp	500ml

**Solution mère de bleu de Coomassie R-250**

Bleu de Coomassie R-250	10g
Ethanol 95°qsp	1000ml

L'Ethanol doit être mis en agitation dans l'éprouvette, avec un barreau armenté. Le bleu de Coomassie est ensuite ajouté ( sinon le bleu de Coomassie prend en masse).

Laisser en agitation au moins 2heure , puis filtrer la solution.

**Tableau 5 : Composition du marqueur de taille ( low Molecular Weight "LMW")**

Protéine	Poids moléculaire (kda)
A -Lactalbumine	14.4
Inhibiteur de la trypsine	20.1
Carbonique anhydrase	30
Ovalbumine	45
Albumine sérique bovine	66
Phosphorylase b	97

**Nom : Ait-Hamoudi et Prénom : Meriem.**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de : Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biotechnologie Génomiques et Végétales**

**Thème : Etude du polymorphisme de différents génotypes de la variété alexandrinum du blé dur cultivé en Algérie.**

**Résumé :**

A fin d'apprécier la diversité pouvant exister entre les 09 génotypes appartenant à la variété 'alexandrinum' de blé dur, on a utilisé les protéines totales des grains.

Les profils protéiques obtenus par la technique électrophorétique monodimensionnelle sur gel de polyacrilamide en présence d'un détergeant SDS ont permis de fractionner les protéines totales.

Le gel obtenu a montré au total 140 bandes différentes dont le poids moléculaire varie de 11,775 à 111,091 KDa avec une nette variation.

Le polymorphisme de protéine totale a permis d'établir un dendrogramme qui a révélé une diversité, une variabilité intra-variétale.

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury :** Mme YKHLEF Nadia (Professeur à l'université des frères MENTOURI - Constantine).

**Rapporteur :** Mme GHIOUA-BOUCHTAB Karima (Maitre Assistante à l'université des frères MENTOURI - Constantine).

**Examinatrice :** Mme BOUSBAA Ratiba (Docteur à l'université des frères MENTOURI - Constantine).

**Année universitaire : 2014/2015**