



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 Constantine1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétale

Intitulé :

Etude du polymorphisme protéique de cinq géotypes d'une variété de blé dur cultivée en Algérie

Présenté et soutenu par : *AHMED YAHIA Asma* et *HOURIA Cheima*

Le : 28 /06/2018.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme KACEM N. Sandra (MCB-UFM-Constantine1).

Rapporteur : Mme GHIOUA BOUCHTAB Karima (MAA-UFM-Constantine1).

Examineurs : Mme LOUALI Yamouna (MCB- UFM-Constantine1).

*Année universitaire
2017 - 2018*

Remerciements

C'est pour nous un réel plaisir de remercier toutes les personnes qui nous ont, de près ou de loin, d'une manière ou d'une autre, permis, par leur collaboration, et leur soutien de mener à bien ce modeste travail.

Nous aimerions en premier lieu remercier DIEU qui nous a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail, malgré toutes les contraintes.

*Nous tenons à remercier grandement notre directrice de mémoire Madame **Karima GHIOUA BOUCHTAB** de nous avoir encadrées, orientées, aidées et conseillées.*

Nous remercions également très chaleureusement tous les professionnels du Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt-Constantine), et très spécialement, le chef du laboratoire de Biologie Moléculaire Dr. Malik AYADI pour nous avoir acceptées dans son laboratoire, orientées et aidées Aussi son équipe administrative pour son accueil, durant toutes la période de réalisation des expériences.

*Nos remerciements s'adressent aussi aux membres du jury Mme **Karima GHIOUA BOUCHTAB** et Dr. **Yamouna LOUALI**, présidé par Dr. **Nadia Sandra KACEM** qui nous font l'honneur de juger ce mémoire.*

Aussi, nous réservons une pensée spéciale à tous les enseignants du département de biologie et écologie végétale qui ont su nous donner une formation enrichissante et appréciable durant tout notre cursus de formation. À la promotion 2016/2018 pour la sagesse qu'elle a fait preuve, et surtout aux brillantes étudiantes Mlle Samira et Mlle Halla.

*Merci encore à tout le staff pédagogique et administratif de notre département, et plus précisément, à Pr. **Leïla BOUDOUR** et Dr. **Adra MOUELLEF** pour leur attention, appui et temps.*

Enfin, nous remercions nos très chers parents, qui ont toujours été là pour nous, « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous nous avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Nous sommes redevables d'une éducation, dont nous sommes fières». Aussi, je remercie mon cher frère et ange gardien « Mouad », et ma chère cousine Dr. Sara BOUZERZOUR pour son encouragement et son soutien.

À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et toute ma gratitude.

A tous ces intervenants, Nous présentons nos remerciements, notre respect et toute notre gratitude.

A Mes Parents, Abdelouahab et Nora

A Mon Frère, Mouad

A Ma Cousine, Sarah

A Ghïoua Bouchtab Karïma



« puisqu'on ne peut être universel en sachant tout ce qui se peut savoir sur tout, il faut savoir peu de tout, car il est bien plus beau de savoir quelque chose de tout que de savoir tout d'une chose, mais s'il faut choisir il faut choisir celle-là . Et le monde le sait et le fait, car le monde est un bon juge souvent. », Pensées, Blaise Pascal (1623-1662)

« En essayant continuellement, on finit par réussir, donc : plus on rate, plus a de chances que ça marche. », Les Shado

Asma

A Mes Parents, Salah et Warda

A Mes Grands Parents, Youcef et Qinouba

A Mes Sœurs, Aya et Lina

A Mon Frère, Baraa

A Mes tentes et cousins

A Mon Mari, Walid Moncef

A Ghïoua Bouchtab Karïma



« puisqu'on ne peut être universel en sachant tout ce qui se peut savoir sur tout, il faut savoir peu de tout, car il est bien plus beau de savoir quelque chose de tout que de savoir tout d'une chose, mais s'il faut choisir il faut choisir celle-là . Et le monde le sait et le fait, car le monde est un bon juge souvent. », Pensées, Blaise Pascal (1623-1662)

« En essayant continuellement, on finit par réussir, donc : plus on rate, plus a de chances que ça marche. », Les Shado

Ghaima

Résumé

Le blé dur possède une teneur élevée en protéines dont la composition en acides aminés et la structure leur confèrent des propriétés fonctionnelles différentes de celles des autres céréales. Ce caractère génétique est d'importance capitale dans les stratégies d'amélioration variétales.

Dans ce travail nous avons évalué la diversité génétique basée sur les protéines totales chez cinq génotypes de la variété '*murciense*' du blé dur cultivée en Algérie en utilisant la technique d'électrophorèse SDS-PAGE.

Le gel obtenu a révélé un total de 43 bandes et chaque génotype à une bande spécifique et une bande commune. Cette analyse a montré un polymorphisme intra-variétal élevé de plus de 85.71%. De plus la classification hiérarchique illustrant les relations qui existent entre les cinq génotypes de la variété '*murciense*', a mis en évidence que seuls les génotypes (G8, G10) semblent proches, avec un taux de similarité égal à 51,21%, alors que chez le reste des génotypes plus ou moins éloignés, le taux de similarité enregistré est de l'ordre de 45%.

Il apparaît donc que ces protéines très informatives offrent un réel avantage quant à l'évaluation de la variabilité génétique liée au polymorphisme protéique.

Mots clés : blé dur, polymorphisme, protéines totales, marqueurs biochimiques, électrophorèse SDS-PAGE.

Abstract

The durum wheat has a high percentage of proteins whose composition in amino-acids and structure confer to them functional properties different from those of other cereals. This genetic character is of major importance in the varietal strategies for improvement.

In this work we evaluated the genetic diversity based on total proteins at five genotypes of the variety “murciense” of durum wheat cultivated in Algeria by using the technique of electrophoresis SDS-PAGE.

Freezing obtained revealed a total of 43 bands and each genotype with a specific band and a common band. This analysis showed a intra-varietal polymorphism raised of more than 85.71%. Moreover hierarchical classification illustrating the relations which exist between the five genotypes of the variety “murciense”, highlighted that only the genotypes (G8, G10) seem close, with a rate of similarity equal to 51.21%, whereas at the rest of the genotypes more or less moved away, the rate of similarity recorded is about 45%.

It thus appears that these very informative proteins offer a real advantage as for genetic variability.

Keywords: durum wheat, polymorphism, total proteins, biochemical markers, electrophoresis SDS-PAGE.

ملخص

يحتوي القمح على بروتينات تمنح له خصائص وظيفية تميزه عن الحبوب الأخرى . بحيث توفر له هذه الخصائص أهمية كبيرة في استراتيجيات التحسين الوراثي .

أدى تحليل البروتينات الكلية من خلال تقنية الرحلان الكهربائي *Électrophorèse* إلى كشف عدد مهم من الحزم تقدر ب 43 حزمة للأفراد الخمسة. ، بحيث يتراوح عدد الحزم للفرد الواحد من 6 إلى 12 حزمة و تبين أن الفرد G6 يحمل اكبر عدد من الحزم، و توجد حزمة واحدة مشتركة بين الأفراد الخمسة. يتميز هذا التحليل بالتنوع *Polymorphisme* بين الأنماط حيث يعطي نسب اكبر من 85.71%.

تبين شجرة القرابة *Dendrogramme* أن هنالك علاقة بين الأفراد الخمسة لصنف *'murciense'* حيث نجد أن الفردان G8 و G10 لهما صلة قرابة وراثية بتشابه يصل إلى 51, 21 % بينما يتضح عند الأفراد الأخرى أنهم ذات صلة متباعدة وراثيا تصل نسبتها إلى 45%.

إذن فهذه البروتينات الكلية تقدم معلومات قيمة لتقييم التنوع الوراثي المرتبط بالتنوع البروتيني .

الكلمات المفتاحية: القمح الصلب ، التنوع الجيني ، البروتينات الكلية ، الرحلان الكهربائي ، الواسمات الكيميائية.

Abréviations

APS : persulfate d'ammonium.

BBP : bleu de bromophénol.

C.R.Bt : centre de recherche en biotechnologie Constantine.

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid.

G: génotype.

KDa: kilo Dalton.

LMW: low molecular weight.

PMSF: fluorure de phenylméthanesulfonyle.

PVP : polyvinylpyrrolidone

SDS-PAGE : Sodium Dodécylsulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis.

T % : «concentration totale » Acrylamide + Bisacrylamide (g)/Total x 100.

TCA : acide trichloracétique.

TEMED : tétraméthyl-éthylène-diamine.

Tris : hydroxyméthyl-aminométhane.

Liste des figures et des planches

Figure 01 : Production mondiale de blé dur par pays en 2016 et projections en 2017.....	03
Figure 02 : Evolution de l'estimation de la production mondiale en millions de tonnes.....	04
Figure 03 : Production du blé dur en Algérie au cours de la période 2005-2016	05
Figure 04 : Représentation schématique de deux variétés de blé.....	09
Figure 05 : Schéma histologique d'une coupe longitudinale d'un grain de blé	11
Figure 06 : Classification des protéines du blé	17
Figure 07 : Concentration des protéines totales.....	24
Figure 08 : Gel électro-phorétique des protéines totales des grains de cinq géotypes de la variété ' <i>murciense</i> ' de blé dur.....	30
Figure 09 : Gel électro-phorétique des protéines totales des grains de cinq géotypes de la variété ' <i>murciense</i> ' de blé dur après traitement avec un système d'imagerie biorad GEL DOC XR+.....	30
Figure 10 : Dendrogramme d'après le profil électrophorétique des grains de 05 géotypes de la variété ' <i>murciense</i> ' (G6, G7, G8, G9, G10).....	36
Planche 01 :.....	23
Planche 02 :.....	27

Liste des tableaux

Tableau 01 : Distribution histologique des principaux constituants du grain de blé dur ...	12
Tableau 02 : Caractéristiques de la variété ‘ <i>murciense</i> ’	20
Tableau 03 : Dosage des protéines par Nanodrop.....	22
Tableau 04 : Composition du gel de séparation et du gel de concentration.....	25
Tableau 05 : Volumes ajoutés à l’échantillon pour le dépôt.....	25
Tableau 06 : Diagramme présence absence des bandes dans les grains des 5 génotypes de la variété ‘ <i>murciense</i> ’ de blé dur cultivé en Algérie.....	31
Tableau 07 : Taux de polymorphisme protéique des grains de cinq génotypes de la Variété ‘ <i>murciense</i> ’ de blé dur cultivé en Algérie.....	32
Tableau 08 : Poids moléculaires et rapports frontaux des différentes bandes.....	33
Tableau 09 : Niveau de similarité des cinq génotypes de la variété ‘ <i>murciense</i> ’ de blé dur cultivé en Algérie.....	35

Sommaire

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures et des planches

Liste des tableaux

Introduction.....01

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1- Production et utilisation du blé dur.....03

 I.1.1- Production du blé dur.....03

 I.1.2 - Utilisation du blé dur.....05

I.2- Caractéristiques génétiques du blé.....06

I.3- Classification du blé dur.....07

I.4- Description de blé dur.....08

I.5- Grain du blé dur : morphologie et composition chimique.....10

 I.5.1- Morphologie.....10

 I.5.2- Composition chimique.....11

I.6- Importance des protéines de blé dur.....12

I.7- Protéines du grain de blé dur.....13

 I.7.1- Protéines métaboliques (protéines solubles).....14

 I.7.2- Protéines de réserve (protéines insolubles).....15

I.8- Marqueurs biochimiques du blé dur : protéines totales.....18

Chapitre II: Matériel et méthodes

II.1-Matériel végétal.....	20
II.2- Extraction et électrophorèse des protéines totales	20
II.2.1-Définition et principe.....	20
II.2.2- Etapes de l'électrophorèse SDS-PAGE.....	21
II.2.2.1- Extraction des protéines.....	21
II.2.2.2- Préparation des gels	24
II.2.2.3-Dépôt des échantillons et migration dans le gel.....	25
II.2.2.4-Révélation des gels.....	26
II.3- Traitement des données.....	28

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1-Paramètre biochimique du blé dur : les Protéines totales.....	29
III.1.1- Etude de l'électrophoregramme.....	30
III.2- Poids moléculaires et rapports frontaux.....	32
III.3-Analyse hiérarchique des variables.....	34
III.3.1-Indice de similarité.....	34
III.3.2-Classification hiérarchique.....	35
Conclusion.....	37
Références bibliographiques.....	38
annexes.....	42

Introduction

Introduction

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*), symbole de la diète méditerranéenne, constitue la matière première de nombreux produits dérivés (pain, semoule, pâtes alimentaires, pâtisseries, biscuits). Il représente également une ressource privilégiée pour l'alimentation animale. Ses constituants sont extraits notamment comme source de carbone (amidon, glucose, sorbitol) ou de protéines (gluten, émulsifiants, plastiques).

Depuis toujours, le blé dur bénéficie d'une attention particulière, en raison de sa structure génétique qui varie entre les populations locales, de son adaptation à des environnements semi-arides, et de sa qualité technologique unique.

La distinction entre les variétés de blé n'est pas nouvelle car depuis plusieurs années des essais d'identification des genres, d'espèces ou de variétés ont été rapportés dans la littérature. Les critères morpho-physiologiques traditionnels utilisés pour la distinction ne suffisent pas toujours pour la reconnaissance des variétés, de plus ils présentent l'inconvénient d'être dépendants de l'environnement et parfois assez subjectifs. C'est pourquoi il semble inévitable de faire appel à des propriétés biochimiques de certains constituants du grain et tout particulièrement des protéines qui constituent un matériel de choix dans l'évaluation de la diversité génétique et interviennent donc comme marqueurs moléculaires de classification et de sélection des végétaux.

D'où l'objet de ce présent travail qui à travers la technique d'électrophorèse monodimensionnelle à la fois spécifique, simple et relativement rapide, nous a permis d'exploiter le diagramme électro-phorétique de la fraction des protéines totales du grain de blé observé chez les cinq génotypes de la variété '*murciense*' de blé dur cultivée en Algérie.

Notre mémoire est présenté sous forme de trois chapitres :

Le premier est une synthèse bibliographique sur le blé dur, les protéines totales de la graine utilisée comme des marqueurs protéiques chez le blé.

Dans le chapitre II, nous verrons successivement la description du matériel végétal et de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE.

Le troisième chapitre concerne la présentation des résultats obtenus et la discussion.

Le mémoire est achevé par une conclusion, suivie de la liste de références bibliographiques et des annexes.

Chapitre I

Revue bibliographique

I.1 - Production et utilisation du blé dur

En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, le blé dur est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre.

I.1.1-Production du blé dur

a- Dans le contexte international

Le blé en général est la première céréale cultivée au monde. Les superficies cultivées à travers les continents se mesurent en millions d'hectares et les récoltes en millions de tonnes.

Le classement de l'année 2016 des principaux pays producteurs du blé dur indique que l'UE est toujours en première position, le Canada en deuxième position alors que les Etats unis se situent en sixième position après le Mexique (Figure 01).

L'UE et le continent américain sont excédentaires en blé, ce qui leur confère un avantage économique et géopolitique indéniable. Au contraire, l'Asie et l'Afrique apparaissent déficitaires, ce qui renforce leur dépendance à l'égard des grands pays exportateurs.

Le marché mondial du blé dur est segmenté en différents groupes de pays qui ont diverses capacités de production et de consommation de blé, ce qui rend ce marché plus propice à la volatilité des prix. Seulement 19% de la production mondiale du blé est échangée et il s'agit d'un marché de surplus et d'excédent (Ansart, 2017).

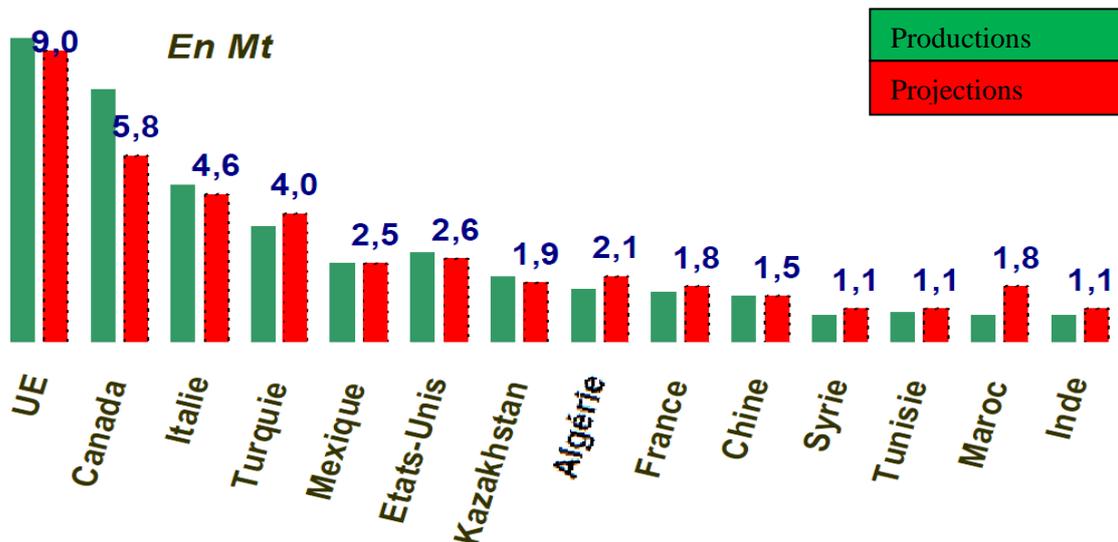


Figure 01 : Production mondiale de blé dur par pays en 2016 et projections en 2017

(Conseil International des Céréales, 2017).

La production mondiale de blé pour la campagne 2016/2017 atteindrait 753 millions de tonnes selon la FAO (figure 02), soit 23.592 kilos par seconde (compteur) une récolte un peu en baisse à cause de rendements moins importants que prévu dans l'Union européenne et en Russie.

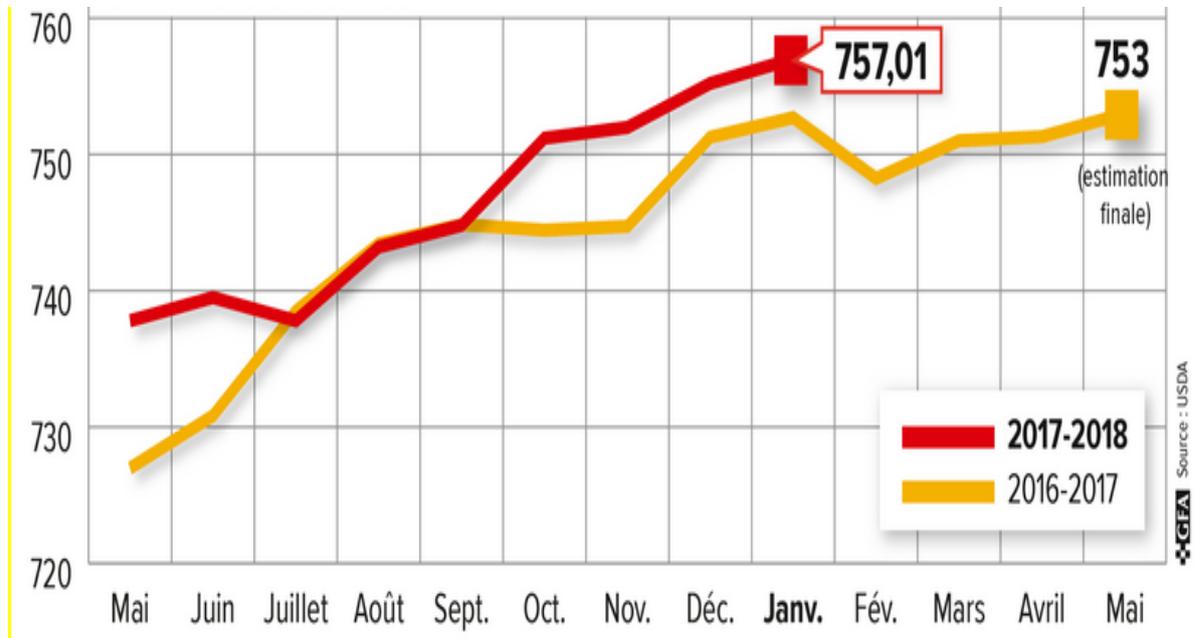


Figure02 : Evolution de l'estimation de la production mondiale du blé dur en millions de tonnes (Le Ministère Américain de l'Agriculture (USDA),2017).

Pour satisfaire la demande de l'humanité, selon la FAO, il faut augmenter d'au moins 60 % la quantité des produits agricoles disponibles, entre 2005 et 2050 (Gallais, 2015).

b- Dans le contexte national

La céréaliculture algérienne occupe une superficie de 3.5 millions d'hectares. Une nette amélioration dans la production des céréales a été enregistrée durant la saison 2016-2017, avec une production de plus de 34 millions de tonnes d'après l'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (OAIC, 2017).

Si on s'intéresse d'une manière plus précise au blé dur, on constate qu'il occupe une place très importante dans la structure spatiale de l'activité agricole. Il représente plus de 50% des superficies céréalières récoltées. Actuellement, la superficie moyenne du blé est de plus de 2,35 millions d'hectares (ha), avec une production de plus de 20,03 millions

quintaux (qx). La production de blé dur en Algérie au cours de la période (2005- 2016) est donnée en 1000t par la figure 03.

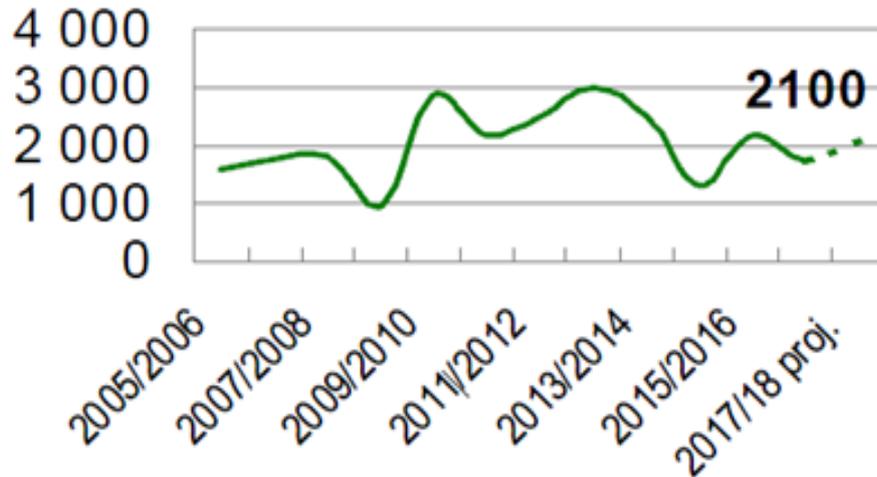


Figure 03: Production du blé dur en Algérie au cours de la période 2005-2016 (CIC, 2017).

Les variations de la pluviométrie contribuent jusqu'à 50% à la différence des rendements d'une année à l'autre, et où la céréaliculture est difficilement substituable nous pouvons confirmer que la culture du blé en Algérie est fortement tributaire des eaux de pluie.

I.1.2 - Utilisation du blé dur

Ce blé constitue l'épine dorsale du système alimentaire algérien. Il est la base du modèle de consommation alimentaire national, comme dans la plupart des pays méditerranéens.

Dans l'alimentation humaine ; les semoules de graines de blé dur, constituent la matière première utilisée en alimentation. La semoule issue du blé dur est également à l'origine de produits très divers, et aussi d'aliments traditionnels : couscous, pain, galette, pâtisserie (Feillet, 2000).

Dans l'alimentation animale; le blé est largement utilisé, du fait de ses sous-produits qui sont également valorisés : les sons et remoulages qui ne sont pas très utilisés en alimentation humaine. Leur consommation, sous forme de poudres ou de granules, est liée à leur richesse en vitamines, protéines et minéraux en quantités intéressantes (Canadas, 2006).

Aussi les utilisations de l'amidon par l'intermédiaire de la chimie, à de multiples usages. Par exemple dans l'industrie pharmaceutique, il est utilisé en tant que dragéifiant, liant ou encore principe actif tel que le sorbitol. Dans de moindres proportions, l'amidon transformé peut être employé dans la fabrication de papier, de carton mais aussi de détergents. L'amidon du blé tendre est également utilisé depuis plusieurs années comme matière première pour la fabrication de biocarburants.

Outre ses utilisations classiques, de nouvelles utilisations à échelle industrielle apparaissent depuis quelques années, telles que la fabrication de bioplastiques à base de gluten ou d'amidon. Les principaux débouchés sont les sacs plastiques, les plastiques agricoles, les emballages et certains produits d'hygiène. Ces bioplastiques ont l'avantage, par rapport à leurs homologues d'origine fossile, d'être biodégradables et renouvelables (Debiton, 2010).

I.2- Caractéristiques génétiques du blé

En général le blé regroupe de nombreuses espèces qui appartiennent, selon la classification hiérarchique des espèces, aux angiospermes (plantes à fleurs) de la famille des *Poaceae* (graminées), de la sous-famille des *Pooideae* et de la tribu des *Triticeae*. De nombreuses espèces de cette famille ont été domestiquées et représentent un intérêt agronomique majeur tels que : le riz, le maïs, le sorgho, l'avoine, le seigle, l'orge et le blé...etc (Charles, 2010).

La filiation génétique des blés est complexe et incomplètement élucidée. Le genre *Triticum* regroupe de nombreuses espèces présentant une large gamme de diversité morphologique et agro-écologique. Les espèces de blé tirent leur origine génétique de croisements naturels entre *Triticum monococcum*, *Triticum urartu* et des espèces sauvages apparentées appartenant au genre *Aegilops* (*Aegilops speltaoides*) (Huang et al., 2002).

On distingue deux espèces de blé principalement cultivées :

- Le blé tendre (*Triticum aestivum*L.) hexaploïde possédant trois génomes apparentés AA, BB et DD, comportant 42 chromosomes ($2n=6x= 42$), avec environ 16×10^9 pb, constitue un matériel difficile à étudier sur le plan génomique (Gupta et al.,

2002). Son albumen est relativement friable ce qui lui donne une aptitude à la transformation en farine.

- Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) tétraploïde, possédant deux génomes AA et BB, comportant 28 chromosomes ($2n=4x=28$) (Bataillon et al., 2006). Son albumen dur, le rend plus apte à donner des semoules, qui à leur tour sont utilisées pour la fabrication de pâtes alimentaires (Feillet, 2000).

I.3- Classification du blé dur

Le blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*) est une plante annuelle autogame de la classe des Monocotylédones de la famille des Graminées, c'est-à-dire des végétaux dont le nom étymologiquement, signifie producteur de grains. Les botanistes préfèrent le terme le plus précis de Poacées de la tribu des Triticées et du genre *Triticum*. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

L'organisation des différentes espèces du blé dur, n'est pas triviale. En effet, il existe de nombreuses classifications différentes, très inconsistantes selon qu'elles se basent sur des critères botaniques ou génétiques (Charles, 2010).

D'après la classification de Cronquist, (1981) et APGIII (2009), le blé dur est classé comme suit :

Classification de Cronquist, (1981)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous-classe	Commelinidae
Ordre	Cyperales
Famille	Graminées

Tribu	Triticeae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum Turgidum</i>
Sous-espèce	<i>Triticum Turgidum subsp.durum</i> (Desf.)
Synonyme	<i>Triticum durum</i>

Classification d'APG III, (2009)

Ordre	Poales
Famille	Poacées

I.4- Description de blé dur

Le blé dur est une plante de hauteur moyenne à racines fibreuses, à un système vivant qui peut être divisé en deux parties : Une souterraine assurant la communication sol/plante, c'est le système racinaire, et une partie aérienne qui permet les échanges plante-atmosphère, notamment les processus de photosynthèse et de transpiration (figure 04).

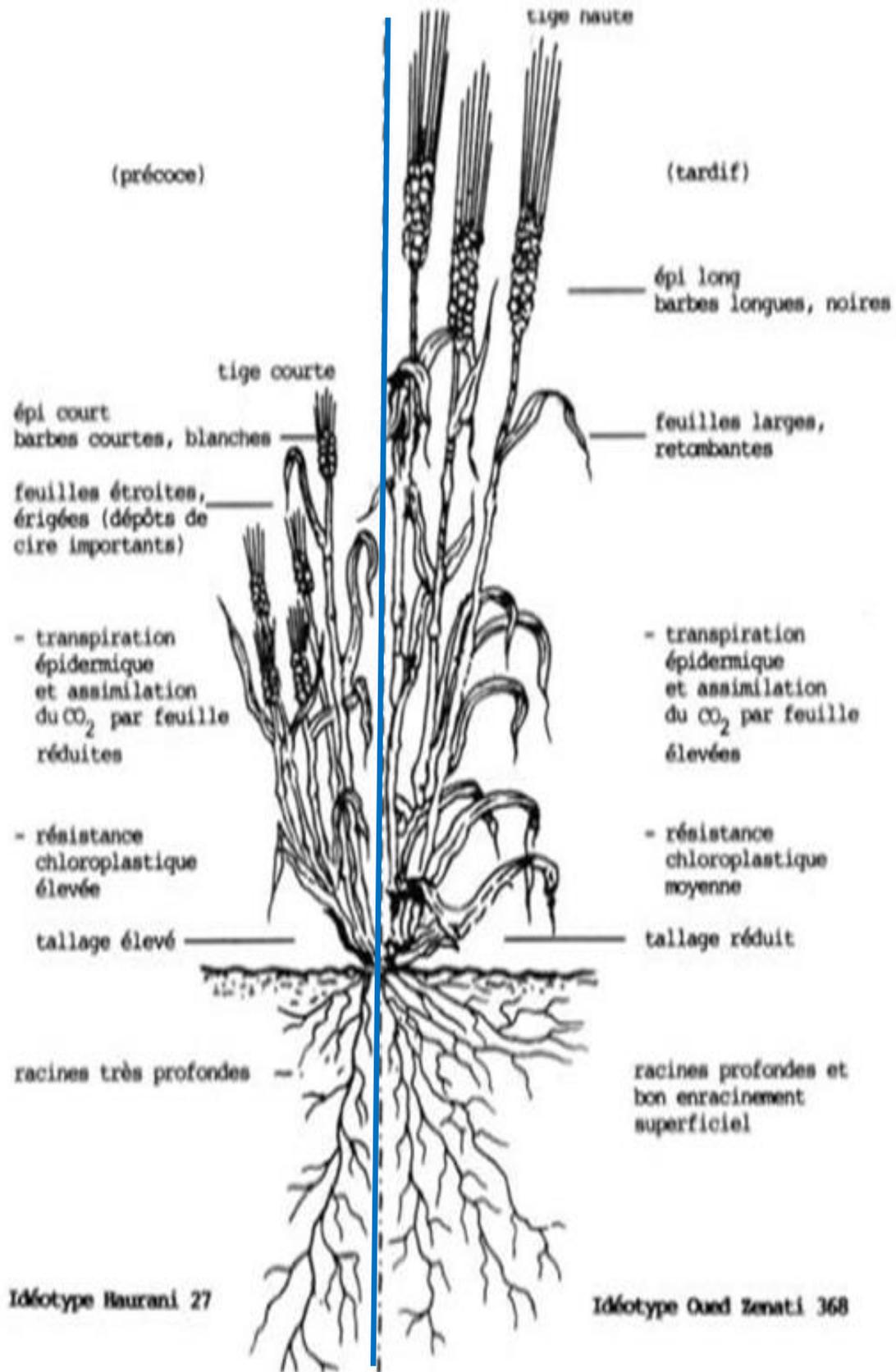


Figure 04 : Représentation schématique de deux variétés de blé dur (Dib et al., 1992).

Le blé dur comprend (Brink et Belay, 2006):

- une fleur à trois étamines constituant l'androcée et un ovaire supérieur se terminant par un petit appendice charnu et poilu à deux stigmates plumeux formant le gynécée.
- un épi dense à rachis solide, à glumes carénées jusqu'à leur base, à glumelle inférieure terminée par une longue barbe colorée. Le sommet de la tige porte un épi terminal à épillets organisés en quatre à sept fleurs bisexuées dont l'une ou les trois supérieures sont généralement rudimentaires.
- une tige cylindrique et haute, est généralement creuse, entrecoupée de nœuds où prennent naissance les feuilles. Ces dernières sont alternes distiques, simples et entières à limbe linéaire et à nervures parallèles.
- un grain très gros (45-60 mg), de section subtriangulaire, très riche en albumen et en gluten, de texture vitreuse, responsable de l'élasticité, la cohésion, l'extensibilité et la ténacité des pâtes d'où ses propriétés rhéologiques (Feillet, 2000).

I.5 - Grain du blé dur : morphologie et composition chimique

I.5.1- Morphologie

Sur le plan morphologique, le grain de blé est un fruit sec et indéhiscence, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments. Il est de forme ovoïde et caractérisé par la présence d'un sillon qui s'étend sur toute la longueur de la face ventrale. Sur la face dorsale, le germe s'étend du pôle basal jusqu'au tiers de la longueur du grain, et à l'opposé, sur le pôle apical le grain est coiffé d'une brosse à peine visible à l'œil nu.

La taille du grain varie de 5 à 7 mm de long, de 2,5 à 4 mm de large et de 2,5 à 3,5 mm d'épaisseur, et son poids est entre 20 et 50 mg (Surget & Barron, 2005).

Le grain de blé comprend 3 grandes parties les enveloppes, l'albumen et le germe (Figure 05) :

- Les enveloppes se composent de cinq tissus différents: le péricarpe externe, le péricarpe interne formé par la couche de cellules tubulaires et la couche de cellules croisées, la testa ou tégument séminal et la bande hyaline ou épiderme du nucelle.
- L'albumen est constitué de la couche à aleurone et de l'albumen amylicé. La couche à aleurone est le seul tissu restant vivant lorsque le grain a atteint sa

maturité. Lors du broyage, ce tissu reste accroché au péricarpe et ne se retrouve donc pas dans la farine.

Cet albumen amylicé constitué de cellules riches en granules d'amidon est englobé dans une matrice protéique.

- Le germe se compose de l'embryon et du scutellum ou cotylédon (Lesage 2011).

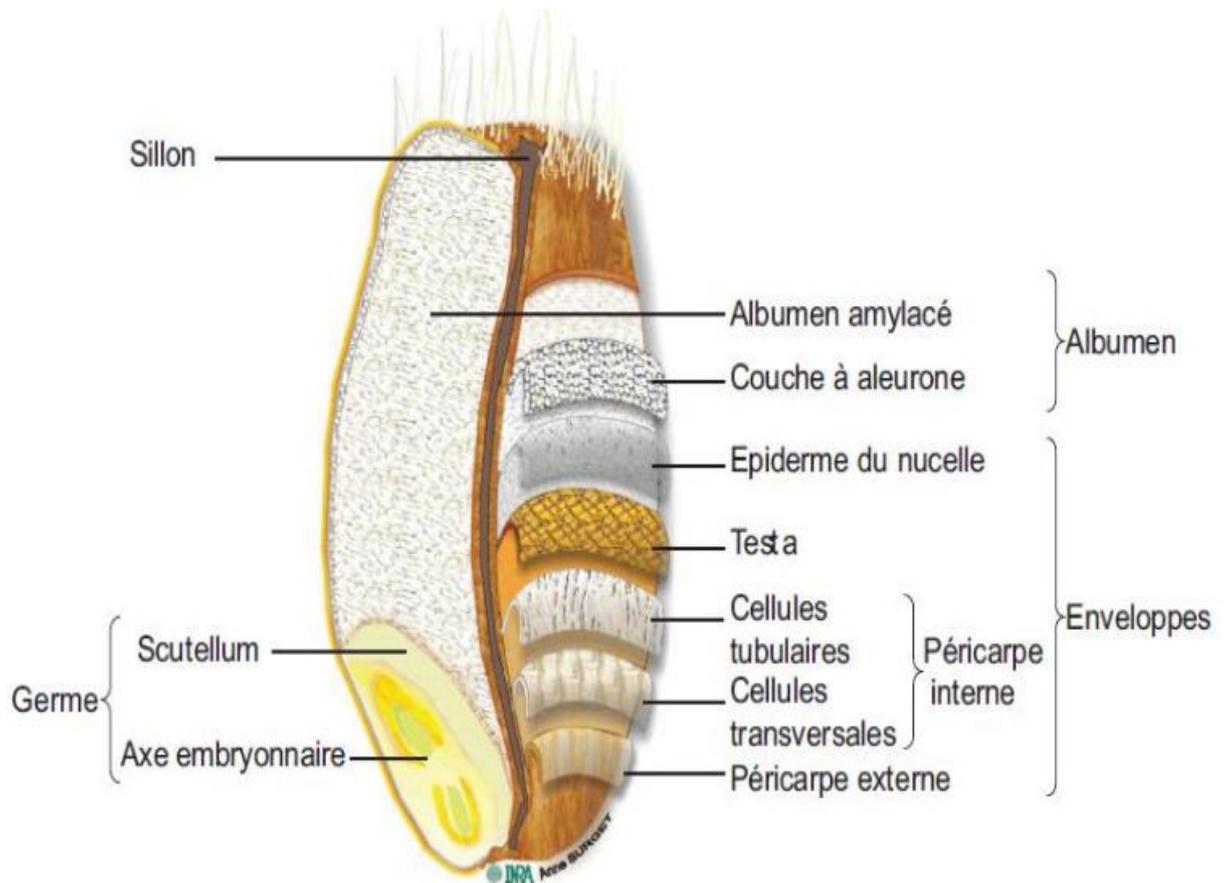


Figure 05: Schéma histologique d'une coupe longitudinale d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005).

I.5.2- Composition chimique

La connaissance de la composition chimique du blé donne une idée sur sa valeur nutritionnelle et technologique, globalement le grain du blé est composé d'eau, de glucides, de lipides, de minéraux, de vitamines et des protéines.

Les constituants les plus importants et leur répartition dans les différentes parties du grain sont résumés dans le tableau **01**.

Tableau 01 : Distribution histologique des principaux constituants du grain de blé dur (Feillet, 2000).

	% Grain	Part du constituant dans le tissu			
		% albumen	% aleurone	% péricarpe	% germe
Amidon	68.9	82	0	0	0
Protéines	13.7	12	30	10	31
Fibres	10.2	2	49	83	9
Lipides	2.7	2	9	0	12
Minéraux	1.9	05	12	7	6
Sucre réducteurs	2.4	1.8	0	0	30

I.6- Importance des protéines de blé dur

La teneur en protéines de blé dur est un critère très important qui influe fortement sur la qualité du blé dur compte tenu de ses relations étroites avec le taux de grains mitadinés et avec la qualité culinaire des produits de transformation (Babay, 2014).

Une teneur stable et élevée en protéines est également recherchée pour les blés destinés à l'alimentation animale où elle constitue une composante importante de sa valeur nutritionnelle. Et aussi est un caractère génétique d'importance capitale pour l'obtention de produits de qualité, mais elle est difficile à combiner avec d'autres caractères favorables des variétés modernes (Oury et *al.*, 2003).

Une teneur élevée en protéines est recherchée en panification, elle intervient à la fois dans le développement des propriétés viscoélastiques des pâtes cuites. Cette teneur élevée affirme que les protéines stockées dans le blé déterminent plusieurs caractéristiques de

l'évolution de la qualité de la semoule de blé, bien que la relation entre l'aptitude à la panification et la teneur en protéines dépende du génotype considéré du fait de l'existence d'une variabilité génétique pour la synthèse des protéines du grain sur le plan qualitatif (Pellerin, 2017).

Le type de protéines et le ratio des différentes fractions sur la quantité de protéines totales dépendent essentiellement des conditions agronomiques du développement de la plante, et représentent des facteurs importants pour la prédiction de la valeur d'utilisation des blés (Branlard et *al.*, 2001; Oury et *al.*, 2010).

D'autre part, des pénalités commerciales sont appliquées à l'exportation aux lots de blé présentant une teneur en protéines inférieure à 11%. Or, pour certains pays comme la France, le principal débouché des blés étant l'exportation pour l'alimentation humaine, la stabilité de la teneur en protéines est un impératif majeur. D'un point de vue agronomique, les performances génotypiques pour ces deux caractères dépendent potentiellement de nombreux facteurs tout au long du cycle de la plante : les facteurs génétiques, environnementaux ou le produit de leur interaction (Bogard, 2011).

I.7- Protéines du grain de blé dur

Le grain de blé contient entre 10 et 15% de protéines selon la variété. Ces dernières sont à la base de la qualité technologique du blé et de leurs débouchés que ce soit de première transformation (semoule, farine) ou de deuxième transformation (pâtes alimentaires, couscous, pain) ; elles contribuent donc à l'expression des caractéristiques culinaires (Battais et *al.*, 2007).

Le blé possède des protéines dont la composition en acides aminés et la structure leur confèrent des propriétés fonctionnelles différentes de celles des autres céréales (Jeant et *et al.*, 2007). Les protéines du blé sont divisées selon leurs caractéristiques biologiques et leur localisation dans le grain.

La teneur en protéine est un caractère polygénique complexe, influencées par plusieurs gènes repartis sur tous les chromosomes agissant probablement en interaction avec les conditions agronomiques et environnementales notamment l'alimentation en eau et la fertilisation azotée (Feillet, 2000 et Amallah, 2017).

Osborne en 1907, a été le premier à s'intéresser à la classification des protéines du grain de blé et en 1924, il définit quatre groupes de protéines caractérisés par leur solubilité dans différents milieux (Osborne, 1924):

- les albumines qui sont solubles dans l'eau ;
- les globulines qui sont solubles dans les tampons salins ;
- les gliadines qui sont solubles dans une solution d'alcool à 70% ;
- les gluténines qui sont solubles dans une base ou un acide ou des détergents en présence d'un réducteur.

Cette classification a été revue en 1986 par Shewry et collaborateurs qui ont proposé deux grandes catégories :

- les protéines métaboliques (protéines de structure et de fonction, environ 20% des protéines totales): les albumines et globulines (amphiphiles) ;
- les protéines de réserve : les gliadines et les gluténines (appelées prolamine ou gluten, sont riches en résidus proline et glutamine (Battais et *al.*, 2007). Elles sont synthétisées et accumulées dans l'amande au cours du développement de la graine pour sa germination éventuelle (Benmoussa, 1999).

I.7.1- Protéines métaboliques (protéines solubles)

Les albumines et globulines représentent 15-20% des protéines totales ce sont des monomères considérés comme de simples polypeptides à fonction métabolique et sont solubles respectivement dans l'eau et les tampons salins. Elles participent à la formation des grains et à l'accumulation des réserves dans l'albumen (Vensel et *al.*, 2005).

Elles sont constituées d'un grand nombre de protéines se différenciant par leurs propriétés physico-chimiques (poids moléculaire, point isoélectrique, acides aminés) et fonctionnelles (activités enzymatiques : α et β -amylase, protéases, oxydoréductases ; inhibiteurs enzymatiques, pouvoir émulsifiant et moussant).

Dans les enveloppes, les protéines solubles sont plus importantes puisqu'elles représentent 30% des protéines totales, composées surtout d'albumines et globulines aussi elles sont relativement riches en tryptophane par rapport aux protéines de réserve et pauvres en azote amidé, alors que les globulines sont pauvres en tryptophane et très riches en arginine (Dacosta, 1986 in Salmi et Merbah, 2015).

a- Les albumines

Leur poids moléculaire va de 12000 à 60000 Da, elles constituent 9% des protéines totales, et contiennent des glycoprotéines. La teneur en acides aminés des albumines est légèrement inférieure à celle des globulines. Elles renferment des teneurs élevées en acides glutamique et en tyrosine (Dacosta, 1986).

b- Les globulines

Elles constituent 8% des protéines totales, de poids moléculaire qui varie entre 20 000 et 21 000 Da. Elles contiennent des nucléoprotéines et sont mieux équilibrées en acides aminés que les autres fractions, elles comportent moins d'acides glutamique et de proline et d'avantage d'arginine et de lysine qui constituent le facteur limitant du gluten du blé.

I.7.2- Protéines de réserves (protéines insolubles)

Sont aussi appelées prolamines en raison de leur richesse en proline et en glutamine. Les protéines de réserve sont stockées dans l'albumen et couvrent 80 à 90% des protéines totales (Feillet, 2000). Elles sont traditionnellement divisées en gliadines et gluténines qui forment le gluten : Complexe viscoélastique responsable de la qualité de blé, obtenu après lixiviation saline d'un pâton préalablement formé. Il contient 75 à 85 % de protéines, 5 à 7% de lipides et des glucides, 5 à 10% du poids sec de la farine (Damidaux et al., 1978 ; Popineau, 1985 in Salmi et Merbah, 2015).

L'élasticité et la ténacité du gluten sont généralement des propriétés attribuées à la présence des gluténines, alors que la viscosité est associée à celle des gliadines (Benmoussa, 1999).

a- Les gliadines

Egalement appelées prolamine du blé, constituent 30 à 40 % des protéines totales (Feillet, 2000). Ce sont des protéines solubles dans l'éthanol aqueux à 70 % et ont un poids moléculaire qui varie de 30 000 à 80 000 Da (Alais et al., 2003).

Elles se concentrent surtout dans l'amande ou endosperme du grain de blé et confèrent au gluten ses propriétés viscoélastiques, riches en proline et en acide glutamique, elles donnent une masse extensible, molle et de faible élasticité (Collas, 2007).

Selon Gallais et bannerot (1992), les gliadines sont réparties en quatre classes : ω gliadines, β gliadines, α gliadines et γ gliadines ; et ce, en fonction de leur ordre de mobilité, déterminé par électrophorèse en milieu acide.

Il est généralement admis que les gliadines contrôlent les qualités viscoélastiques des pâtes, notamment l'extensibilité et le volume du pain (Sissous, 2008).

Trois groupes sont distincts selon leurs mobilités après la séparation électrophorétique en milieu acide à savoir : les α/β , les γ , et les ω -gliadines qui présentent respectivement 44-60 %, 30-46 %, et 6-20 % des gliadines totales (Amélie, 2007).

Sapirstein et *al.*, (2007) affirment que le blé dur qui possède la fraction 45- γ Gliadine se caractérise par une meilleure qualité des pâtes et volume de pain et une force élevée de gluten que le blé dur qui contient que 42- γ Gliadines.

b- Les gluténines

Elles représentent 40 à 50 % des protéines totales (Feillet, 2000). Ce sont des polymères monomériques composés de deux types de sous-unités :

- Les sous unités gluténines à faible poids moléculaires SG-FPM 30000-50000 Da ;
- Les sous-unités gluténines à haut poids moléculaires SG-HPM 95000-130000 Da.

(Amiour, 2002).

Ces unités sont liées entre elles par des ponts disulfures (Uthayakumaran et *al.*, 2000).

Les gluténines ont une teneur en lysine, glycine, fortement supérieure à celle des gliadines tandis que leur teneur en acide glutamique, en proline et en cystéine est faible (Charoles et *al.*, 2003).

Les gluténines gouvernent la ténacité et l'élasticité, donc le développement de la pâte

La répartition des protéines dans le grain de blé est récapitulée dans figure ci-dessous :

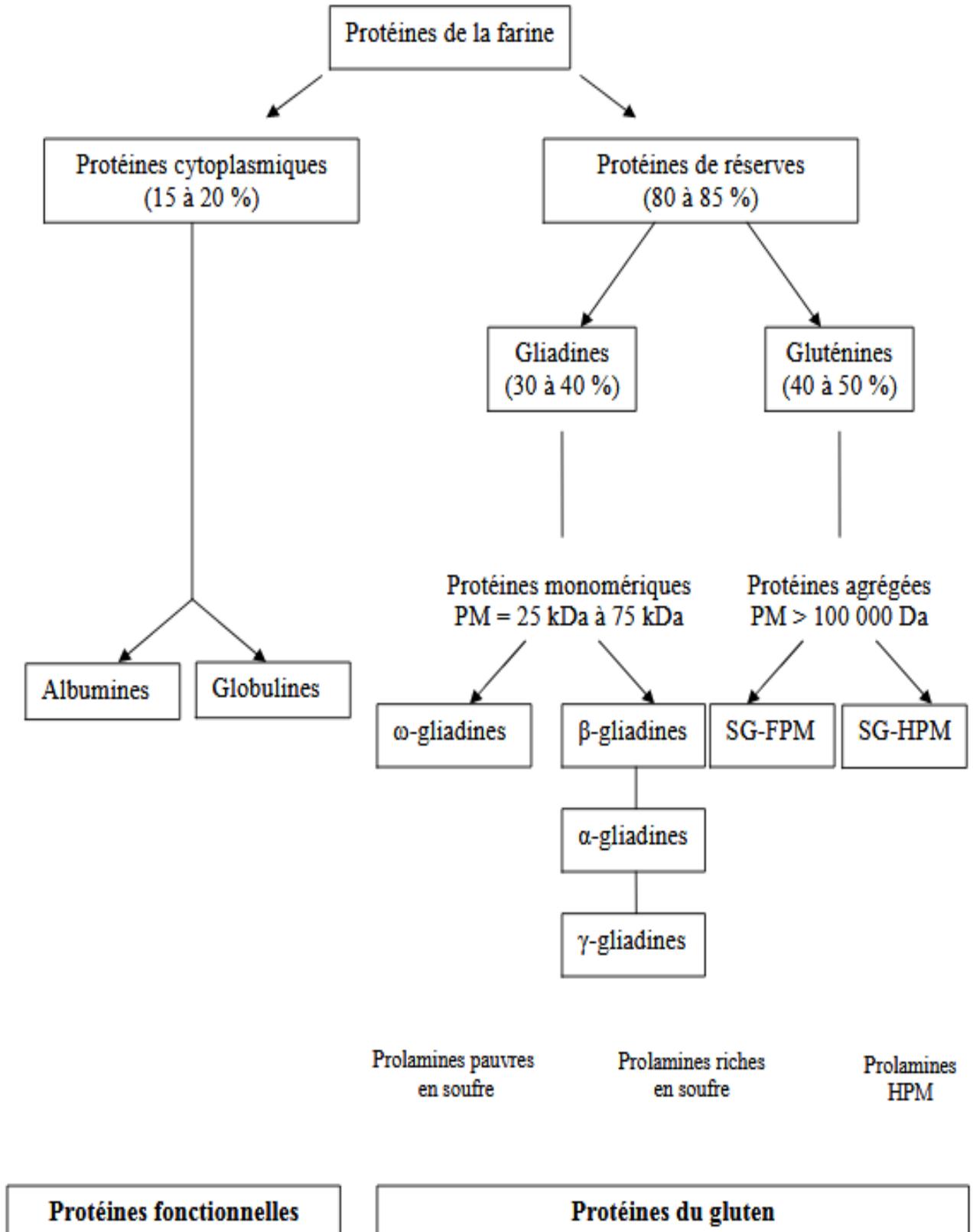


Figure 06 : Classification des protéines du blé (Osborne et Shewry, 1986).

I.8-Marqueurs biochimiques du blé dur : protéines totales

Pour assurer une agriculture durable, l'étude de la diversité et la caractérisation des ressources génétiques sont indispensables pour créer de nouvelles variétés ayant une bonne qualité, un rendement élevé, adaptées aux variations climatiques et résistantes aux maladies (Aguiriano *et al.*, 2006).

A ce propos, de nombreuses procédures permettant de quantifier et d'analyser la diversité génétique existent. Parmi ces techniques, la quantification et la caractérisation phénotypique des différentes ressources génétiques qui constituent une étape préliminaire et indispensable pour l'évaluation de l'érosion génétique dans le temps. Ces marqueurs phénotypiques reposent sur des critères simples et parfois assez subjectifs, ils ont l'avantage d'être immédiatement disponibles, ne nécessitant aucun équipement sophistiqué et permettant une mesure directe du phénotype. Ils ont déjà été appliqués avec succès dans beaucoup d'études sur la diversité morphologique du blé, cependant certains caractères présentent l'inconvénient d'être dépendent des facteurs environnementaux et peuvent varier (Amallah, 2016).

Pour dépasser la limite de nombreux caractères morphologiques, d'autres marqueurs récents et plus performants ont été développés aussi bien au niveau protéique qu'au niveau de l'ADN et offrent la possibilité d'aller plus loin dans la distinction. Ainsi les protéines (marqueurs biochimiques) représentent des compléments robustes de l'évaluation de la diversité.

Concernant les protéines totales qui sont les seconds constituants pondéraux après l'amidon chez le blé dur, leur identification est basée sur différentes techniques d'électrophorèse largement utilisées pour caractériser et différencier les variétés de blé. Ces outils sont étroitement liés au patrimoine héréditaire et particulièrement pour leur relation étroite avec la qualité du blé dur, et servent donc à mieux distinguer et valoriser la diversité génétique pour sa conservation et son utilisation. Cependant, les marqueurs protéiques sont aussi limités car ils peuvent être influencés par l'environnement et des modifications au cours des différents stades de développement (Mondini *et al.*, 2010).

Chez le blé dur, il existe aussi des marqueurs pour la qualité technologique notifié depuis deux ans au Comité Technique Permanent de la Sélection des plantes cultivées. Il s'agit de la présence du marqueur LMW2 (low molecular weight) ou LMW1, identifié au moyen d'une électrophorèse des protéines. La présence du marqueur LMW2 est un gage de qualité pour l'industrie des pâtes. La présence du marqueur LMW1 au contraire indique un risque qui se traduit chez la variété porteuse de ne pas être adaptée au procédé de fabrication des pâtes (Anonyme, 2016).

Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1-Matériel végétal

Le présent travail a porté sur cinq génotypes de la variété ‘*murciense*’ de blé dur (*Triticum durum* Desf.) cultivé en Algérie, gracieusement fournis à partir d’une collection étudiée par Boudour, (2006) sur lesquels une identification du polymorphisme des protéines totales a été réalisée.

Cette variété comprend les caractéristiques suivantes (tableau02).

Tableau 02: Caractéristiques de la variété ‘*murciense*’.

Caractères variété	Pubescent Glabre épi	Couleur épi	Couleur barbe	Couleur grain	paille	Compacité
<i>murciense</i>	Epi Glabre	Rouge	Rouge	Rouge gros bossu	Demi- creuse	lâche

II.2- Extraction et électrophorèse des protéines totales

La partie pratique soit la technique d’électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie moléculaire du Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt-Constantine).

II.2.1-Définition et principe

L’électrophorèse est une technique permettant de déplacer des ions (molécules ayant perdu leur neutralité électrique) sous l’effet d’un champ électrique. Ceux-ci migrent vers leur électrode respective: les anions (chargés négativement) migrent vers l’anode (potentiel positif) et les cations (chargés positivement) migrent vers la cathode (potentiel négatif). En ce qui concerne les molécules non chargées, il n'existe pas de migration.

Du fait de leurs caractéristiques propres et des conditions de l’électrophorèse, la vitesse de migration et la distance parcourue dans la matrice par ces ions différent. Cela permet ainsi de les séparer (Magniez, 2008).

Les gels de polyacrylamide sont le résultat de la polymérisation de monomères d’acrylamide (C₃H₅NO) en longues chaînes reliées par le bis-acrylamide (C₇H₉N₂O₂).

L'acrylamide et le bis-acrylamide, ensemble, forment des pores à travers lesquels les différentes protéines vont migrer selon leur taille moléculaire.

Le rôle du sodium dodecyl sulfate (SDS) est déneutraliser la charge des protéines pour leur permettre de migrer selon leur poids moléculaire seulement. La polymérisation est initiée en ajoutant du persulfate d'ammonium (APS) et du N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED), ce dernier jouant le rôle de catalyseur lors de la formation des radicaux libres du persulfate (Amallah, 2017).

En effet, un gel est un milieu poreux, si la taille des mailles est comparable à celle des protéines, il agit comme un filtre moléculaire. Leur séparation dépendra donc de leur densité, de leur charge et de leur taille.

L'électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS (SDS-PAGE) sert à vérifier la pureté d'une protéine et à en mesurer le poids moléculaire. Les complexes SDS-polypeptides ont des densités de charge égales et par conséquent, la migration dans le gel de polyacrylamide ne dépend plus que de la taille du polypeptide. On pourra donc déterminer les masses des polypeptides de l'échantillon en comparant leur mobilité avec celle des polypeptides de poids moléculaires connus sous les mêmes conditions d'électrophorèse.

La taille des pores (de quelques nm à plusieurs centaines de nm) est donc directement influencée par la concentration en acrylamide: plus la concentration augmente, plus la taille de ces pores diminue (Amallah, 2017).

II.2.2- Etapes de l'électrophorèse SDS-PAGE

L'électrophorèse se déroule en plusieurs étapes :

II.2.2.1- Extraction des protéines

L'extraction des protéines totales réalisée à partir de la farine d'un grain de blé dur se fait comme suit : (selon le protocole utilisé par le laboratoire)

- broyer à l'aide d'un mortier et d'un pilon la graine puis recueillir la farine dans un Ependorff de 1.5 ml.

- mesurer le poids de chaque graine à l'aide d'une balance de précision.
 - rajouter l'azote liquide dans un tube par échantillons puis les mettre dans l'appareille 'tissuelyser' pour assurer leur broyage.
 - rajouter le tampon d'extraction (annexe**01**). Ces étapes a pour but d'extraire les protéines.
 - centrifuger les tubes pendant 15 min à 4c°et à 13000rpm.
 - récupérer les surnageants dans d'autres tubes.
- (La centrifugation et la récupération des surnageants ont été répétées 3 fois).
- vortexer les tubes Eppendorf en mettant 5 min à 100°C, afin de favoriser la dénaturation des protéines (Planche. **01**).
 - passer au dosage des protéines au Nanodrop pour connaitre leurs qualités par la mesure de la concentration de chacune de nos préparations dans le but d'estimer la concentration des protéines qu'on doit utiliser ultérieurement voir tableau **03** et figure **07**.

Tableau 03: Dosage des protéines par Nanodrop.

Géotype	conc. (mg/ml)	Moy. conc. (mg/ml)	Ecart T
G 6	8,41	8,40	0,07
	8,46		
	8,32		
G 7	6,37	6,37	0,00
	6,37		
	6,37		
G 8	9,46	9,44	0,02
	9,44		
	9,42		
G 9	8,90	8,89	0,05
	8,93		
	8,83		
G 10	9,19	9,19	0,00
	9,18		
	9,19		

Planche 01



Photo.01: Broyage des échantillons à l'aide d'un mortier et d'un pilon



Photo.02: Prise de mesure du poids par une balance de précision.



Photo.03: Mettre les tubes dans l'appareil 'tissuelyser'



Photo.04: Mettre les tubes dans l'appareil de centrifugation.

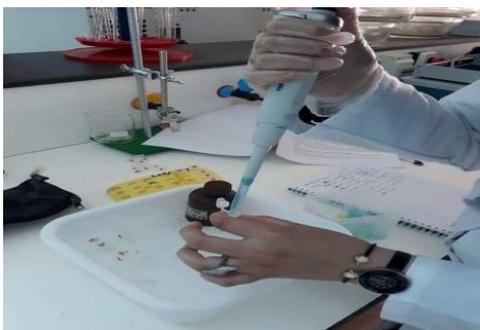


Photo.05 : ajout d'un tampon d'extraction.

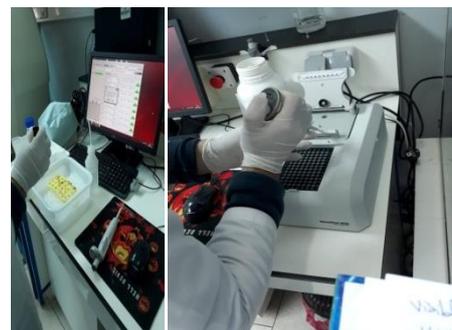


Photo.06: Dosage des protéines au Nanodrop.

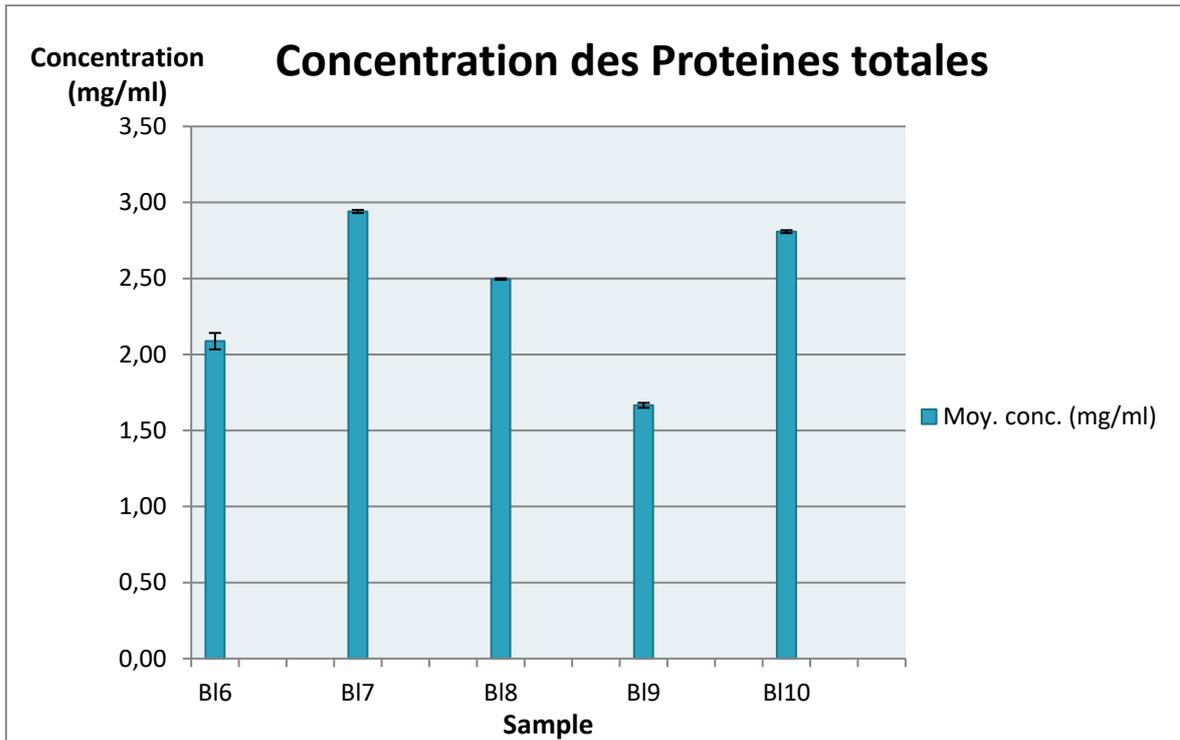


Figure 07 : Histogramme représente les concentrations des protéines totales.

II.2.2.2- Préparation des gels

Principe

La méthode de Laemmli, (1970) consiste à utiliser deux gels superposés de concentrations et de pH différents (Tableau04). Le gel supérieur (T = 4 %, pH = 6,8), appelé gel de concentration, permet de concentrer la solution de protéines en une fine bande tandis que le gel inférieur (T = 15 %, pH = 8,8) est le gel permettant de séparer les différentes protéines appelé gel de séparation.

Le tampon d'entraînement est composé de Tris-HCl, de SDS et de Glycine (Annexe 02).

Tableau04 : Composition du gel de séparation et du gel de concentration.

produits	4%	15%
A+B(acrylamide /bis-acrylamide)	0.39ml	2.5ml
H2O	Qsp	Qsp
1.5M tris HCL pH8.8	/	1.3ml
1M tris HCL pH6.8	0.38ml	/
10% SDS	30µl	50µl
10% APS	30µl	60µl
TEMED	10µl	34µl
VOLUME FINAL	3ml	5ml

Le système d'électrophorèse est constitué de deux plaques : une plaque 'réservoir' portant la cuve d'électrophorèse et une plaque gel portant le gel d'acrylamide. Les deux plaques doivent préalablement être nettoyées ; le système de coulage est monté selon la notice du fournisseur (Biorad).

Les plaques sont assemblées en plaçant un *spacer* de chaque côté et fixé à l'aide du pince.

II.2.2.3-Dépôt des échantillons et migration dans le gel

Le dépôt se fait en respectant les étapes suivantes :

- ajout de tampon de charge (Tris-HCL, SDS, Glycérol, 2-Mercaptoethanol pH=6.8) (annexe01) à chaque échantillons voir tableau 05.

Tableau 05 : Volumes ajoutés à l'échantillon pour le dépôt.

Génotype	conc. (mg/ml)	prot (25µg) µl	T.E (µl)	T.C (µl)
G6	8,40	2,98	17,02	4
G7	6,37	3,92	16,08	4
G8	9,44	2,65	17,35	4
G9	8,89	2,81	17,19	4
G10	9,19	2,72	17,28	4

- les échantillons sont mis dans l'étuve pendant 15 min.
- dépôt de 25 µl de chaque échantillon par puits à l'aide d'une micro-seringue tout en respectant l'endroit du dépôt de marqueur de taille (après chaque dépôt faire rincer la micro-seringue avec le tampon de migration).
- remplissage de la cuve d'électrophorèse avec un volume suffisant de tampon de migration (Annexe 02).
- remplissage du bac supérieur situé entre les deux plaques (bien serré contre les joints pour éviter les fuites) avec le même tampon jusqu'à ce que les faces supérieures des gels soient immergées. Ce dernier est placé dans la cuve d'électrophorèse pour que les faces inférieures des gels plongent dans le tampon.
- fermeture des électrodes de la cuve puis relié au générateur qui va assurer le passage du courant électrique. La migration est menée à une intensité constante de 80mA/gel.
- une fois la migration terminée, il faut attendre jusqu'à ce que le front de BBP (bleu de bromophénol) atteigne le bord inférieur des plaques (Approximativement 2-3h) (Planche 02).

La migration se fait de la petite molécule de polypeptide à la grande molécule, et le poids moléculaire est exprimé en KDa.

II.2.2.4-Révélation des gels

Après la sortie du front de migration, la migration est arrêtée. Les gels sont démoulés et récupérés dans des bacs en plastique puis recouverts avec une solution de décoloration constituée d'un fixateur des protéines, le TCA (acide trichloracétique) à 60% et d'un colorant, le bleu de Coomassie R250 (annexe 02) pendant toute une nuit à température ambiante sous agitation constante.

Les gels sont ensuite décolorés par plusieurs rinçages à l'eau distillée dans un mélange de méthanol et d'acide acétique (solution de décoloration) qui doivent être maintenus en agitation pendant 45min pour éviter le dépôt du colorant (Planche.02).

L'un des puits du gel est consacré au marqueur de poids moléculaire (Laemmli, 1970).

Planche 02



Photo.01 : dépôt des échantillons à l'aide de micro-seringue.

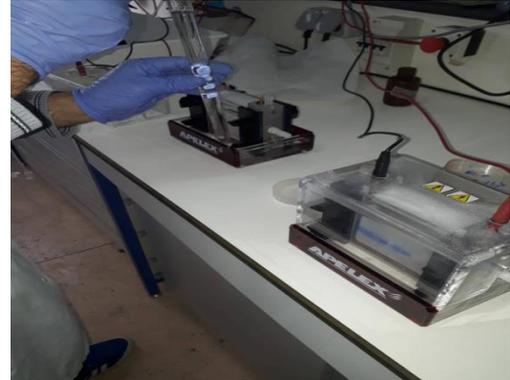


Photo.02: Remplissage de la cuve avec le tampon.

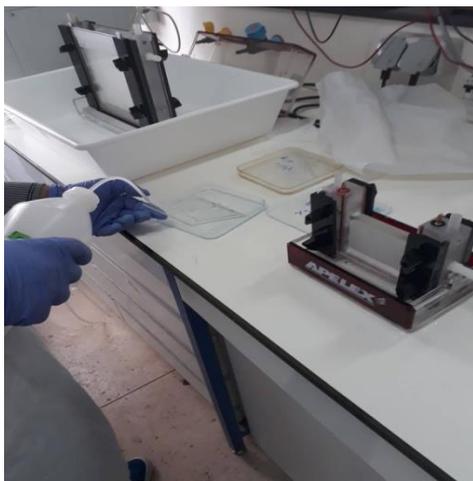


Photo.03: Démoulage et récupération du gel dans un bac en plastique.



Photos.04 : coloration du gel avec le bleu de Coomassie pendant une nuit.

II.3- Traitement des résultats

Le gel d'électrophorèse obtenu a été photographié par un système d'imagerie « Biorad : model Gel Doc™ XR+ » au niveau de laboratoire de biologie moléculaire de CRBt.

Son analyse est réalisée à l'aide du logiciel spécifique qui permet une bonne visualisation et une distinction des bandes ainsi que le calcul de leur poids moléculaires en fonction du marqueur de taille.

La présence des bandes est notée par « 1 » et leur absence par « 0 ».

Afin de pouvoir caractériser les liens de parenté qui existent entre les génotypes de la variété étudiée, un dendrogramme a été élaboré à l'aide d'un logiciel statistique 'Minitab18'.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1- Paramètres biochimiques : les protéines totales

Pour estimer la variation intra variétale existante entre les cinq génotypes de la variété ‘murciense’ de blé dur, à travers l’analyse électro-phorétique des protéines totales (nombre de bandes, poids moléculaire, indice de similarité, taux de polymorphisme).

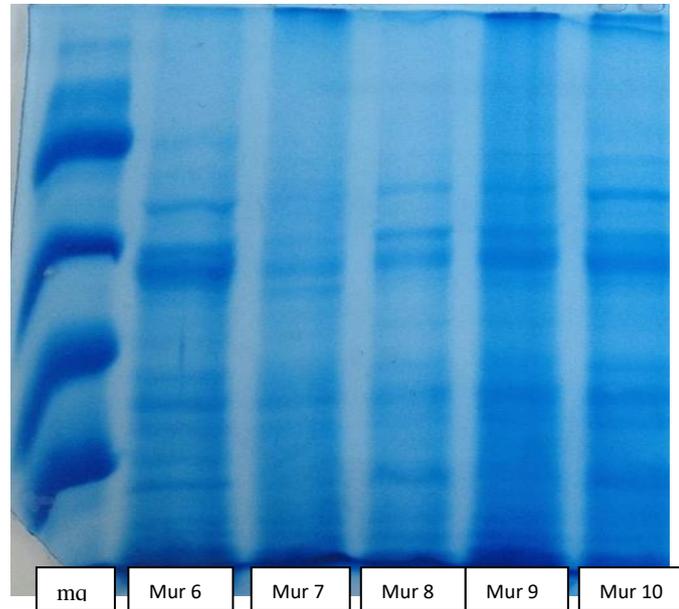


Figure 08: Gel électro-phorétique des protéines totales des grains de cinq génotypes de la variété ‘murciense’ de blé dur.

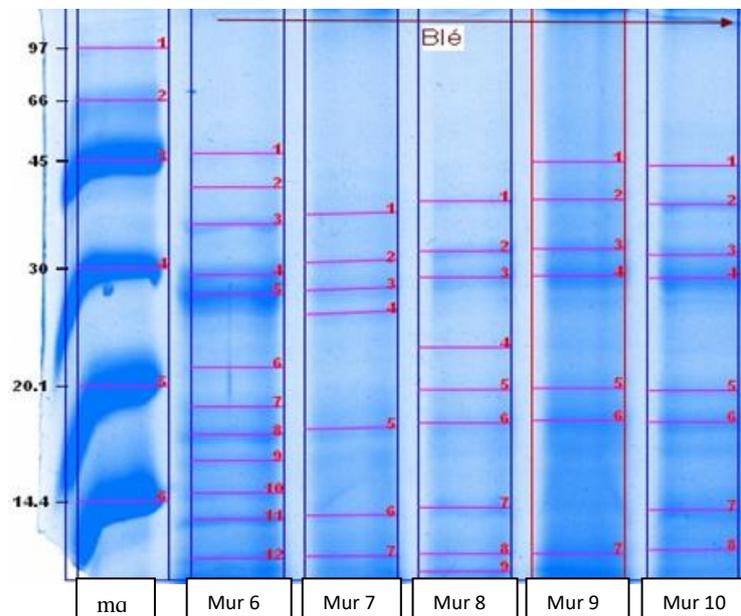


Figure 09: Gel électro-phorétique des protéines totales des grains de cinq génotypes de la variété ‘murciense’ de blé dur après traitement avec un système d’imagerie biorad GEL DOC XR+.

III.1.1-Etude de l'électrophoregramme

Tableau 06: Diagramme présence /absence des bandes protéiques des 5 géotypes de la variété 'murciense' de blé dur.

	PM	G6	G7	G8	G9	G10	
1	47,033212	1	0	0	0	0	U(+)
2	44,740098	0	0	0	1	0	U(+)
3	44,096891	0	0	0	0	1	U(+)
4	40,662091	1	0	0	0	0	U(+)
5	38,820846	0	0	0	1	0	U(+)
6	38,596633	0	0	1	0	0	U(+)
7	38,15208	0	0	0	0	1	U(+)
8	36,848913	0	1	0	0	0	U(+)
9	35,384704	1	0	0	0	0	U(+)
10	32,252703	0	0	0	1	0	U(+)
11	31,973689	0	0	1	0	0	U(+)
12	31,514017	0	0	0	0	1	U(+)
13	30,792248	0	1	0	0	0	U(+)
14	29,301535	1	0	0	0	0	U(+)
15	29,224938	0	0	0	1	0	U(+)
16	29,072344	0	0	1	0	0	U(+)
17	28,920549	0	0	0	0	1	U(+)
18	27,953011	0	1	0	0	0	U(+)
19	27,445503	1	0	0	0	0	U(+)
20	26,947212	0	0	0	0	1	U(+)
21	25,774417	0	1	0	0	0	U(+)
22	23,151623	0	0	0	1	0	U(+)
23	22,910488	0	0	1	0	1	P
24	21,403188	1	0	0	0	0	U(+)
25	19,966382	0	0	0	1	0	U(+)
26	19,877798	0	0	1	0	0	U(+)
27	19,833654	0	0	0	0	1	U(+)
28	18,928929	1	0	0	0	0	U(+)
29	18,18637	0	0	0	1	0	U(+)
30	18,1056810	0	0	0	0	1	U(+)
31	18,065473	0	0	1	0	0	U(+)
32	17,786497	0	1	0	0	0	U(+)
33	17,472938	1	0	0	0	0	U(+)
34	16,862309	0	0	0	0	1	U(+)
35	16,200821	1	0	0	0	0	U(+)
36	15,634648	0	0	0	1	0	U(+)
37	14,756508	1	0	0	0	0	U(+)
38	14,4	1	1	1	1	1	M
	Nb Total des bandes	11	6	7	9	10	T=43

0 : absence.**1** : présence.**U** : bande unique**P** : polymorphe**M** : monomorphe

Tableau 07 : Taux de polymorphisme protéique des grains de cinq génotypes de la Variété 'murciense' de blé dur cultivé en Algérie.

Génotype	Bandes monomorphes	Polymorphes		Total	Polymorphisme %
		Bandes uniques	Bandes non-unes		
G6	1	10	0	11	90.90
G7	1	5	0	6	83.33
G8	1	5	1	7	85.71
G9	1	8	0	9	88.88
G10	1	8	1	10	90

L'analyse des diagrammes consiste à révéler la mobilité relative de chacune des bandes observées sur le gel.

L'électrophoregramme obtenu présente des bandes claires, distinctes et bien séparées, d'intensité variable, un total de 43 bandes, de poids moléculaire variant de 14,4 à 97 KDa est observé.

On constate que cet électrophoregramme a révélé un polymorphisme important se résumant comme suit:

- chaque génotype présente de 6 à 12 bandes.
- pour chaque génotype, on observe une bande spécifique.
- présence d'une bande commune de 14.4 KDa chez les cinq génotypes.
- les génotypes G8 et G9 partagent une même bande commune dont la taille est de 22,91 KDa.
- le génotype G6 enregistre le plus grand nombre de bandes, soit 12 bandes de mobilité se situant entre 14,4 à 47,03 KDa avec un taux de polymorphisme de 90.90%.
- chez le génotype 7, 07 bandes ont été observées de mobilité se situant entre 14.4 à 36,84 KDa, se caractérisant par un taux de polymorphisme égal à 83.33%.

- le génotype 8 possède 09 bandes avec une mobilité comprise entre 14.4 et 38.59 KDa avec un taux de polymorphisme 85.71%.
- le génotype 9 comprend 07 bandes de mobilité comprise entre 14.4 et 44.74 KDa avec un polymorphisme de 88.88%.
- le génotype 10 révèle 08 bandes avec une mobilité comprise entre 14.4 et 44.09 KDa et se caractérise avec un polymorphisme de 90%.

D'après Jasso, 2002 l'augmentation de l'intensité des bandes est le résultat de l'augmentation des protéines, ce qui constitue un marqueur moléculaire important et c'est ce que nous avons remarqué pour certaines de nos bandes.

L'analyse d'électrophorégramme des protéines totales des grains des cinq génotypes de la variété étudiée '*murciense*' a montré un net polymorphisme contrairement à une des variétés '*melanopus*' de la même collection de blé dur Algérien (Chehili et al., 2017) qui a révélé un faible polymorphisme.

III.2- Poids moléculaires et rapports frontaux

Le calcul a été fait à l'aide d'un logiciel « Biorad : model Gel Doc™ XR+ » au niveau du C.R.Bt.

Tableau 08 : Poids moléculaires et rapports frontaux des différentes bandes.

	Band No.	Poids moléculaire (KDa)	Rapport frontal
Marqueur	1	97	0,07
	2	66	0,16
	3	45	0,27
	4	30	0,45
	5	20,10	0,66
	6	14,40	0,86
G6	1	47,03	0,25
	2	40,66	0,31
	3	35,38	0,38
	4	29,30	0,47

	Band No.	Poids moléculaire (KDa)	Rapport frontal
	5	27,44	0,50
	6	21,40	0,63
	7	18,92	0,69
	8	17,47	0,74
	9	16,20	0,79
	10	14,75	0,84
	11	14,40	0,89
G7	1	36,84	0,36
	2	30,79	0,44
	3	27,95	0,49
	4	25,77	0,53
	5	17,78	0,73
	6	14,4	0,88
G8	1	38,59	0,34
	2	31,97	0,42
	3	29,07	0,47
	4	22,91	0,59
	5	19,87	0,67
	6	18,06	0,72
	7	14,40	0,87
G9	1	44,74	0,27
	2	38,82	0,33
	3	32,25	0,42
	4	29,22	0,47
	5	23,15	0,59
	6	19,96	0,66
	7	18,18	0,72
	8	15,63	0,81
	9	14,40	0,95
G10	1	44,09	0,28
	2	38,15	0,34

Band No.	Poids moléculaire (KDa)	Rapport frontal
3	31,51	0,43
4	28,92	0,47
5	26,94	0,51
6	22,91	0,59
7	19,83	0,67
8	18,10	0,72
9	16,86	0,76
10	14,40	0,87

III.3- Analyse hiérarchique des variables

III.3.1- Indice de similarité

Pour quantifier la ressemblance (ou la dissemblance) des différents génotypes de la variété, nous avons calculé l'indice de similarité à l'aide d'un logiciel statistique «Minitab 18» (tableau 09).

Tableau 09 : Niveau de similarité des cinq génotypes de la variété '*murciense*' de blé dur cultivé en Algérie.

Nombre de groupe	Niveau de similarité	Niveau de distance	Groupes liés
4	51,2171	0,97566	3 5
3	49,0202	1,01960	2 3
2	46,4263	1,07147	2 4
1	44,1373	1,11725	1 2

Subdivision finale

Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5
G6	G7	G8	G9	G10

III.3.2- Classification hiérarchique

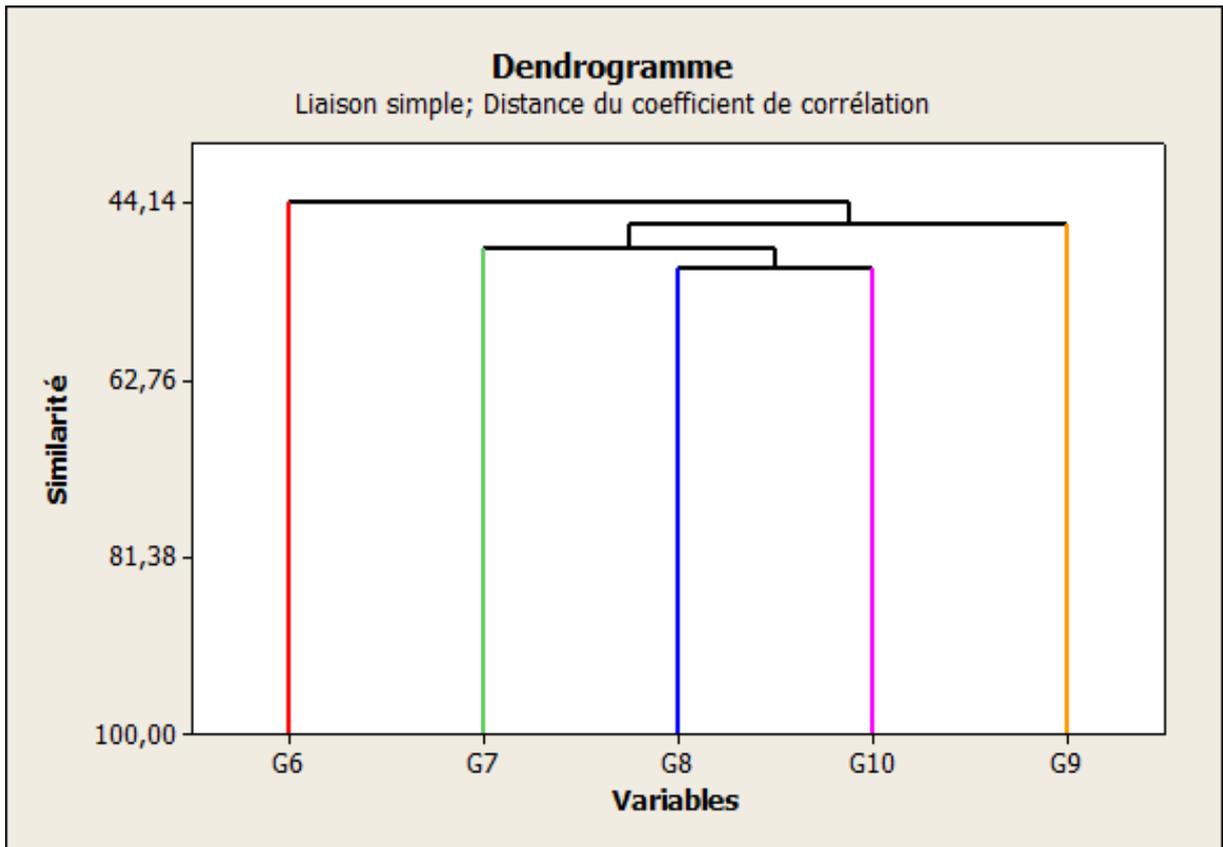


Figure10 : Dendrogramme d'après les profils électrophorétique des grains de cinq génotypes de la variété 'murciense' (G6, G7, G8, G9, G10).

La classification hiérarchique des protéines totales a permis d'établir un dendrogramme illustrant les relations entre les cinq génotypes de la variété 'murciense' de blé dur.

Sur la figure 08, on remarque que les différents génotypes se répartissent en deux groupes majeurs :

- le premier groupe majeur est formé uniquement du génotype G6, avec une similarité de 44,13% avec le deuxième groupe majeur comprenant les génotypes G7, G8, G10, G9. Ce deuxième groupe majeur se subdivise en 2 groupes :
- le premier groupe comprend seulement le génotype 09 qui représente une similitude de 46.42% avec le deuxième groupe constitué des génotypes G7, G8, G10. Ce deuxième groupe se divise à son tour en deux sous-groupes :

le premier sous-groupe représenté uniquement par le génotype G7 avec une similitude de 49.02% avec le deuxième sous-groupe formé des génotypes G8 et G10. Il apparait donc que ces deux génotypes (G8, G10) ne sont pas très éloignés et présentent un taux de

similarité égal à 51,21%, suggérant qu'ils sont génétiquement proches, contrairement aux autres géotypes plus ou moins éloignés avec un taux de similarité enregistré de l'ordre de 45%.

Pour le blé dur, la teneur en protéines est une caractéristique essentielle considérée comme un critère important d'appréciation de la qualité car les protéines représentent un intérêt technologique et nutritionnel intéressant (Gate, 1995 in Chehili et al., 2017).

Gerba, (2013) a affirmé que la qualité du blé dur dépend de sa composition en protéines et que ce taux de protéines est conditionné par le géotype et influencé par l'environnement.

Conclusion

Conclusion

Compte tenu de l'intérêt et de l'importance économique du blé dur, nous avons essayé d'apprécier les différences pouvant exister entre les cinq génotypes appartenant à la variété '*murciense*' de blé dur cultivé en Algérie en se basant sur l'étude des protéines totales contenues dans les grains car elles présentent à des degrés divers une certaine spécificité génétique. En effet la qualité du blé dur dépend de sa composition en protéines qui constituent de véritables marqueurs génétiques d'identification variétale en dépit des fluctuations résultant des conditions agro-climatiques.

Cette étude réalisée par la technique d'électrophorèse SDS-PAGE a révélé une nette hétérogénéité électrophorétique et donc nous a permis de différencier et d'apprécier la diversité génétique des génotypes considérés.

Les profils électrophorétiques des cinq génotypes obtenus révèlent un polymorphisme très important et présentent au total 43 bandes claires, distinctes, bien séparées, et d'intensité différente de poids moléculaires variant de 14.4 KDa à 97 KDa avec un taux de polymorphisme conséquent supérieur à 80%.

De plus la classification hiérarchique illustrant les relations entre les cinq génotypes de la variété '*murciense*', a montré que ces derniers sont généralement assez distants sauf les génotypes G8 et G10 qui sont proches et qui présentent un taux de similarité égal à 51,21%.

Les protéines totales constituent donc des marqueurs biochimiques performants qui s'avèrent très informatives sur l'aspect variétal du blé dur pour l'amélioration et la sélection.

Références

Bibliographique

- **Aguiriano E., Ruiz M., Fite R., Carrillo J. M., Genet. Resour. Crop Ev. (2006).** Allelic diversity at gliadin-coding gene loci in cultivars of spring durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Bred in Russia and former Soviet republics in the 20th century. SSN 1022-7954, Russian Journal of Genetics, 2009, Vol. 45, No. 10, pp. 1208–1214, p:1209-1213.
- **Amllah L., (2016).** Analyse de la diversité génétique d'une collection de blé dur par les marqueurs agro-morphologiques et biochimiques Genetic diversity analysis of durum wheat collection by agro-morphological and biochemical markers. *J. Mater. Environ. Sci.* 7(7) (2016). 2435-2444 Amallah et al. ISSN : 2028-2508 .Laboratoire de Botanique, Mycologie et Environnement, Université Mohamed V, p :2436.
- **Amallah L., (2017).** Structuration de la variabilité génétique d'une collection de blé dur au Maroc par les marqueurs agro-morphologiques, physico-chimiques, biochimiques et moléculaires et étude des associations marqueurs SSR – paramètres de qualité. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V, Rabat PES, p : 25-78.
- **Amelie B., (2007).** Approches biomimétiques de l'assemblage de protéines de réserve de blé. Thèse pour l'obtention d'un Grade Docteur, Université Bordeaux, p : 145.
- **Amiour N., Dardevet M., Khelifi D., Bouguennec A., and Branlard G., (2002).** Allelic variation of HMW and LMW glutenin subunits, HMW secalin subunits and 75 gamma-secalin hexaploid triticale. *Euphatica* 123 (2), p: 179-186.
- **Anonyme, (2016).** Utilisations des Marqueurs Biochimiques. Page consulté le 02.04.2018. <https://www.gnis-pedagogie.org/utilisation-de-marqueurs-proteiques.html>.
- **Ansart C., (2017).** CIC Conférence International des Céréales 2017. www.igc.int.
- **Babay E., M.hanana R., Mzid H., Ben haj-Salah M., Rodriguez-Quijano A., Ghorbelh., Amara S., (2014).** Genetic diversity analysis using SSR molecular markers with 28 primers on 27 varieties of Tunisian durum wheat. Laboratoire de Physiologie Moléculaire des Plantes. Centre de Biotechnologie de Borj-Cédria (CBBC), Tunisia, p : 13-20.
- **Battais F., Richard C., Leduc V., (2007).** Les allergènes du grain du blé, Département recherche, Laboratoire Allerbio, Groupe ALK-Abello, 51140 Van deuil, France *Revue française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique* 47, p : 171-174.

- **Benmoussa M., (1999).** Production d'une de glutenine à faible poids moléculaire dans les fluides à faible poids moléculaire dans la feuille de la luzerne et les tubercules de la pomme de terre. Thèse de Doctorat. Université Laval. Québec, p :4-16.
- **Brink M., Belay G., (2006).**Céréales et légumes secs (Ressources végétales de l'Afrique Tropicale 1).Fondation PROTA / Backhuys Publishers / CTA .Wageningen, Pays-Bas, p : 199-211.
- **Canadas D., (2006).** Evaluation de procédé oxygéné pour son potentiel dedécontamination en ocratoxine A du blé.les effets toxiques liés à une exposition sub-chronique à l'ocratoxine A ont-ils atténués? Thèse Doctorat. Université de Toulouse, N°2356, p :20-25.
- **Charles M., (2010).**Évolution des génomes du blé (genres *Aegilops* et *Triticum*) au sein des Poaceae : Dynamique rapide de l'espace occupé par les éléments transposables et conservation relative des gènes. Thèse de Doctorat. Université d'Évry-Val d'Essonne, p : 812.
- **Charoles A., Gulli L. et Aurant L., (2003).** Biochimie alimentaire 5ème édition de l'abrégé, p :129-138.
- **Chehili F., Boudour L., BouchtabK., (2017).**Etude de la variabilité Agronomique et Biochimique des quatre génotypes d'une variété de blé dur cultivée en Algérie (*Triticum durum Desf.*) European Scientific Journal March 2017 edition vol.13, No.9 ISSN: 1857 – 7881, p: 421.
- **CIC., (2017).**Conseils international des céréales. France AgriMer Marché du blé dur Campagne 2016/17 Projections 2017/18, p : 4-8.
- **Dacosta Y., (1986).**Le gluten de blé et ses applications. Ed : APRIA, Paris. in Salmi et Merbah, (2015). Etude de la qualité globale de semoules du commerce algérien. Mémoire d'ingénieur en agronomie, p : 20-45.
- **Damidaux R., AutranJC., Grignac P., Feillet P.,(1978).** Mise en évidence de relations applicables en sélection entre l'électrophoregramme des gliadines et les propriétés viscoélastiques du gluten de *Triticum durum Desf.* *Comptes Rendu de l'Académie. Sciences Séries D*, Vol. 287, 701-704 in Salmi et Merbah, (2015). Etude de la qualité globale de semoules du commerce Algérien. Mémoire d'Ingénieur en Agronomie, p : 20-45.
- **Debiton C., (2010).** Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum* L.) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et

par l'analyse protéomique de lignées isogéniques waxy. Thèse De Doctorat. Université Blaise Pascal, p : 210-225.

- **Dib A., Monneveux P., (1992).** Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur. I. Caractères morphologiques d'enracinement. Agronomie, EDP Sciences, 1992, 12 (5).hal-00885483, p : 371-379.
- **FAO (organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture), (2017).** Bulletin de la FAO sur l'offre et la demande de céréales, p : 7. Page consulté le 14.05.2018.<http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>.
- **Feillet P., (2000).** Le grain de blé: composition et utilisation. Editions Quae.INRA, p : 40-300.
- **Jasso D., De Rodriguez., Romero-Garcia J., Rodriguez-Garcia R., & Sanchez J. L., (2002).** Characterization of proteins from sunflower leaves and seeds: Relationship of biomass and seed yield. Trends in new crops and new uses. ASHS Press. Alexandria. VA, p: 143-149.
- **Jeanet R., Croguennec T., Schuck P., et Brule G., (2007).** Du blé au pain et aux pâtes alimentaires. In : Sciences des aliments, Biochimie-microbiologie- procédés produits. V2 : Technologie des produits alimentaires. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p : 137-180.
- **Huang S., Sirikhachornkit A., Su X., Faris J., Gill B., Haselkorn R., Gornicki P., (2002).** Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploidy wheat. Proceeding of the national academy of science of the USA 99, p:8133-8138.
- **Gallais A., (2015).** Structure des exploitations agricoles. Agreste - DRAAF Nord - Pas-de-Calais, p : 7-25.
- **Gate P., (1995).** Ecophysiologie du blé, de la plante à la culture. *Lavoisier Tec and Doc*. Paris, 430 p. In Chehili F., Boudour L., Bouchtab K., (2017). Etude de la variabilité agronomique et biochimique des quatre génotypes d'une variété de blé dur cultivé en Algérie (*Triticum durum Desf.*) European Scientific Journal March 2017 edition vol.13, No.9 ISSN: 1857 – 7881, p: 250-260.
- **Laemmli K., (1970).** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259), p: 680-685.

- **Lesage V., (2011).**Contribution à la validation fonctionnelle du gène majeur contrôlant la dureté/tendreté de l'albumen du grain de blé par l'étude de lignées quasi-isogéniques. Thèse de Doctorat.Université Blaise Pascal, p : 118.
- **l'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (OAIC, 2017).**Page consulté le 09.05.2018.<http://www.okbob.net/2017/09/oaic-office-algerien-interprofessionnel-des-cereales-image-description.html>.
- **Magniez.,(2008).**L'électrophorèse. Page consulté le 28.04.2018.<http://www.technobio.fr/article-21737522.html>.
- **Mondini L., Farina A., Porceddu E., Pagnotta M., (2010).**Analysis of durum wheat germplasm adapted to different climatic conditions. Ann Appl Biol, p:156, 211-219.
- **OsborneetShewry, (1907).** Proteins of the wheat kermel. Publ 84, Carnegie nst.Washington, p:1-30.
- **Oury F.X., Chiron H., Faye A., Gardet O., Giraud A., Heumez E., Rolland B., Rousset M., Trottet M., Charmet G., et Branlard G., (2010).**The prediction of bread wheat quality: joint use of the phenotypic information brought by technological tests and the genetic information brought by HMW and LMW glutenin subunits. Euphytica, p: 171, 87-109.
- **OuryF., Heumez E., Rolland B., Rousset M., Le bléhybride (2003).** Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Editions, p : 13-71,36.
- **Pellerin., (2017).** Industries des céréales l'INRA de Montpellier (UMR IATE), p : 10.
- **Sissous M.,(2008).** Role of durum wheat composition of pasta andbread, a Global science Books, p: 90.
- **Surget A., Barron C., (2005).** Histologie du grain de blé. Industrie des céréales 145, p: 4-7.
- **USDA (United States Department of Agriculture). (2017).** Page consulté le 11.05.2018.<http://www.pleinchamp.com/grandes-cultures/actualites/les-previsions-de-production-de-ble-2017-18-legerement-revues-a-la-baisse-usda>.
- **UthayakumaranS., Newbery M., KeentoKM.,StoddartF.,Lbekes F., (2000).**Basic rheology of bread dough with modified proteins content and glutenin to gliadine ratios. In: cereal chemistry, p: 744-749.
- **Vensel W.H., Tanaka CK., Cai N., Wong J.H., Buchanan B.B., HurkmanwJ.,(2005).**Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm.Proteomics 5, p: 1594-1611.

Annexes

Annexe 01

Solutions et tampons utilisés pour l'extraction des protéines totales

- Tampon d'extraction

pH=6.8

Tris	10mM
EDTA	20mM
PVP (polyvinylpyrrolidone)	1mM
PMSF (fluorure de phenylméthanesulfonyl)	1mM

- Tampon de charge

pH=6.8

Tris-HCL(0.5M)	0.125 M	1.25 ml
SDS 10%	4%	2 ml
Glycérol	20%	5 ml
2-Mercaptoethanol	0.04%	0.5 ml
Bleu de Bromophénol	1%	1ml
Eau distillée	/	10 ml

Annexe 02

Solutions et tampons utilisés pour SDS-PAGE

- **Tampon d'électrophorèse** pH=8.3

Glycine	1.92 M	43.2g
Tris (hydroxyméthyl amino Ethan)	0.25M	9.09g
SDS	0.1%	3g
Eau distillée qsp	/	1000ml

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

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

- **Solution mère de bleu de Coomassie R250**

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

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

Composition du Kit (FPM)

Phosphorylase b: rabbit muscle 67 μ g, molecular weight 97000

Albumin: bovine serum 83 μ g, molecular weight 66000

Ovalbumin: chicken egg white 147 μ g, molecular weight 45000

Carbonic anhydrase: bovine erythrocyte 83 μ g, molecular weight 30 000

Trypsin inhibitor: soybean 80 μ g, molecular weight 20 100

α -lactalbumin: bovine milk 116 μ g, molecular weight 14 400

**INTITULÉ : ETUDE DU POLYMORPHISME PROTÉIQUE DE CINQ GÉNOTYPES
D'UNE VARIÉTÉ DU BLÉ DUR CULTIVÉ EN ALGÉRIE**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en biotechnologie et génomique végétale.

Le blé dur possède une teneur élevée en protéines dont la composition en acides aminés et la structure leur confèrent des propriétés fonctionnelles différentes de celles des autres céréales. Ce caractère génétique est d'importance capitale dans les stratégies d'amélioration variétales.

Dans ce travail nous avons évalué la diversité génétique basée sur les protéines totales chez cinq génotypes de la variété 'murciense' du blé dur cultivée en Algérie en utilisant la technique d'électrophorèse SDS-PAGE.

Le gel obtenu a révélé un total de 43 bandes et chaque génotype à une bande spécifique et une bande commune. Cette analyse a montré un polymorphisme intra-variétal élevé de plus de 85.71%. De plus la classification hiérarchique illustrant les relations qui existent entre les cinq génotypes de la variété 'murciense', a mis en évidence que seuls les génotypes (G8, G10) semblent proches, avec un taux de similarité égal à 51,21%, alors que chez le reste des génotypes plus ou moins éloignés, le taux de similarité enregistré est de l'ordre de 45%.

Il apparaît donc que ces protéines très informatives offrent un réel avantage quant à l'évaluation de la variabilité génétique liée au polymorphisme protéique.

Mots clés : blé dur, polymorphisme, protéines totales, marqueurs biochimiques, électrophorèse SDS-PAGE.

Laboratoire de recherche : Centre de Recherche En Biotechnologie Constantine (C.R.Bt).

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mme. KACEM N Sandra* (MCB- UFM Constantine),
Rapporteur : *Mme. GHIOUA BOCHTAB Karima* (MAA- UFM Constantine),
Examineur : *Mme. LOUALI YAMOUNA* (MCB- UFM Constantine).

Date de soutenance : 28 /06/2018.