ا لجمهورية 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	جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie	كلية علوم الطبيعة و الحياة
Département : Biologie Et Ecologie Végétale	**قسم:** بيولوجيا و ايكولوجيا النبات.

مذكرة التخرج للحصول على شهادة الماستر

ميدان: علوم الطبيعة و الحياة

Filière : Science Biologique

التخصص: بيولوجيا و فيزيولوجيا التكاثر

عنوان البحث

دراسة التنوع البروتيني لأنماط وراثية لصنف ***mursience*** لنبات القمح الصلب (***Triticum durum*** **Desf.**) المنزرع بالجزائر.

من اعداد
بلايزي عبد الوحيد
بوجاجة نوفل

تاريخ: 30 جوان 2022

لجنة المناقشة:

المشرفة :	**بودور ليلى**	أستاذة التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
الممتحنة :	شايب غنية	أستاذة التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
الممتحنة :	حمودة دنيا	أستاذة التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1

Année universitaire 2021 - 2022

الفهرس

- **قائمة الأشكال**
- **قائمة الجداول**
- **قائمة المختصرات**
- **الملخصات**
- **المقدمة.....1**

إستعراض المراجع

1-اللمحة التاريخية.....3

1-1-تعريف القمح..... 3

1-2-الأصل الجغرافي..... 3

1-3-تصنيف القمح..... 5

1-3-1- التصنيف الوراثي للقمح.....5

1-3-2- التصنيف النباتي للقمح الصلب (APG III, 2009)..... 7

1-4- دورة حياة القمح..... 7

1- 4-1- الطور الخضري 7

1- 4-2- الطور التكاثري 8

1- 4-3- طور النضج و تشكل الحبة 8

1- 5- المقاييس البيوكيميائية 10

1- 5-1- التركيب النسيجي و الكيميائي لحبة القمح 10

1- 5-2- تصنيف البروتينات 12

1- 5-2-1- بروتينات الأيض 12

1- 5-2-2- بروتينات التخزين 13

1-6-تقنيات فصل البروتينات 16

1-6-1- الكروماتوغرافيا Chromatography 16

1-6-1-1- كروماتوغرافيا الاقصاء الحجمي 16

1-6-1-2- كروماتوغرافيا التبادل الايوني 16

1-6-1-3- كروماتوغرافيا التفاعل الكاره للماء..... 17

1-6-1-4- كروماتوغرافيا سائلة عالية الاداء..... 17

1-6-1-5- كروماتوغرافيا الانجذاب المناعي..... 18
1-6-1-6- كروماتوغرافيا انجذابي..... 18
1-6-2- فصل البروتينات بالرحلان الكهربائي Eléctrophorése 18

الطرق والوسائل

2- الطرق و الوسائل 22
2-1-المادة النباتية Matériel végétal 22
2-2- استخلاص البروتينات الكلية Extraction des protéines totales 23
2-2-1- تحضير محلول السريان Tampon d'éléctrophorése.....24
2-2-2- تحضير الهلام Préparation des gels.....24
2-2-3- تثبيت ،تلوين وإزالة التلوين.....25
3 -الدراسة الإحصائية Etude statistique 25

النتائج و المناقشة

3- النتائج و المناقشة..... 27
3-1- دراسة شجرة القرابة 33
3-2- مناقشة النتائج 34
4- الخاتمة 37

التشكرات

الحمد الله و الشكر الله الذي وفقني لإنجاز هذا البحث و جعلني من طلبة العلم و يسر لي الأمور حتى إتمام هذا البحث.

أتقدم بالشكر والإمتنان إلى الأستاذة الفاضلة بودور ليلى أستاذة التعليم العالي بجامعة قسنطينة1 التي أشرفت على إنجاز هذا البحث بصبر و لم تبخل علينا بنصائحها القيمة و توجيهاتها المفيدة فلها كل الشكر و التقدير.

أتقدم بخالص شكري وتقديري للأستاذة الفاضلة شايب غنية استاذة التعليم العالي بجامعة قسنطينة1 لتقبلها تقييم هذه المذكرة.

كما أشكر كثيرا الأستاذة الفاضلة حمودة دنيا أستاذة التعليم العالي بجامعة قسنطينة1 على تكرمها بقبولها تقييم هذا البحث.

ومن العرفان والتقدير اشكر الطالبة عطوي عائشة على كل ماقدمته لنا من دعم و نصائح و توجيهات.

في الأخير، أوجه تشكراتي إلى كل من ساهم من قريب أو من بعيد و كل من كان له يد العون أو النصيحة في بلورة و إتمام هذا البحث.

إهداء خاص

أتقدم بأسمى عبارات الامتنان و خالص شكري إلى والديي الكريمين الذين لم يتقاعصا يوما في مساعدتي و دعمي المستمر وكذلك أخواتي لدعمي ومساندتي وابن أختي الصغير يانيس لإدخال السعادة في قلبي وكل عائلة بلايزي.

بلايزي عبد الوحيد

أتقدم بخالص ألشكري والعرفان و امتناني لما امرنا الله بطاعتهما ولديى الكريمين جعلني الله ذخرا لهما يوم القيامة والى اخوة و اخوتي لدعمهم لي وابنت اخي الصغيرة لادخالها السعادة على قلبي ولكل عائلة بوجاجة.

بوجاجة نوفل

قائمة الأشكال

الشكل01: خريطة انتشار الأقماح الرباعية 04
الشكل02: التكوين النسيجي لحبة القمح 11
الشكل03: التركيب البروتيني للقمح 15
الشكل04 : مكونات جهاز الرحلان الكهربائي.....…… 23
الشكل (05): جهاز الرحلان الكهربائي أحادي البعد(SDS-PAGE),Monodimensionnelle..... 25
الشكل(06): الرحلان الكهربائي للبروتينات الكلية عند الأفراد المدروسة بطريقة Electrophorèse (SDS-PAGE).....29
الشكل(07) : شجرة القرابة (Dendrogramme) للأفراد العشرة المدروسة..... 33

قائمة الجداول

الجدول (01): يبين التصنيف الوراثي للقمح الصلب حسب(Mackey, 1966).....06

الجدول (02): الخصائص العامة لصنف *murciense* (Boudour,2006).....21

الجدول (03): مكونات هلام الفصل و هلام التركيز.....24

الجدول(04) : عدد الحزم و الأوزان الجزيئية الموجودة عند الأفراد العشرة..... 30

الجدول(05):. نسبة التنوع (Polymorphe) لـ 10 أنماط لصنف *mursience*..... 31

الجدول(06): توزيع الأفراد حسب المجموعات في شجرة القرابة..... 35

قائمة المختصرات

A-PAGE: Acidic Poly Acrylamide Gel Electrophoresis

APS : Persulfate d'ammonium.

HMW-GS: High molecular weight sub units.

LMW-GS: Low molecular weight sub units.

SDS-PAGE : Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis.

G:Genotype .

Tris : Tris-hydroxyméthyl-aminométhane.

TEMED : Tétraméthyl-ethylène-diamine.

T% : Concentration totale, Acrylamide + Bisacrylamide (g)/Total x 100.

C%: Cross-linking, Bisacrylamide (g)/ (Acrylamide+Bisacylamide) (g) x100.

TCA : Acide trichloracétique.

CAH : Classification ascendante hiérarchique .MW : Molecular weight .

Titre : Etude de la diversité protéique des génotypes d'un cultivar murscience pour le blé dur (*Triticum durum* Desf.) Cultivé en Algérie.

Résumé

Cette étude est réalisée au Laboratoire de Génétique, Biochimie et de Biotechnologie au Shaab Al-Rasas. De l'université de Constantine 1.

Afin de séparer les protéines totales de 10 génotypes de la variété mursience du blé dur (***Triticum durum* Desf.)** en utilisant la technique électrophorèse (SDS-PAGE).

Les résultats obtenus ont révélé 34 bandes au total de poids moléculaires différents allant de 10KDA à 250-KDa.

Les génotypes G1, G2 et G3 comprennent des bandes estimées au totale de 24,25 et 26.

Tandis que les génotypes G3, G5 et G7 se distinguent par des bandes de poids moléculaire avec un polymorphisme remarquable.

La classification Hiérarchique à montrer deux principaux groupes :

- Le premier grand groupe comprend deux sous-groupes :
  - Le premier sous-groupe est formé d'un génotype G4.
  - Le deuxième sous-groupe comprend deux sous sous-groupe :
    - Le premier est formé de deux génotypes G5 et G6 qui sont proches génétiquement à une similarité de 86%.
    - Le deuxième est constitué de trois génotypes G9, G8 et G10 sont proches avec une similarité de 87%.
- Le deuxième grand groupe est constitué de deux sous-groupes :
  - Le premier sous-groupe comprend un génotype G3.
  - Le deuxième sous-groupe est formé de deux sous sous-groupes :
    - Le premier sous sous-groupe est constitué d'un génotype G7.
    - Le deuxième sous sous-groupe est formé de deux génotypes G1 et G2 qui sont proches à une similarité de 87.5%.

En conclusion cette étude a montré polymorphisme remarquable entre les génotypes étudiés.

Mots clés : *Triticum durum- mursience-Genre* - protéines totales - Polymorphisme - Électrophorèse (SDS-PAGE).

Title : Study of the protein diversity of the genotypes of a wall cultivar murscience of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grown in Algeria

Abstract

This study is conducted at the Laboratory of Genetics, Biochemistry and Biotechnology at Shaab Al-Rasas. University of Constantine 1.

In order to separate the total proteins of 10 genotypes of the variety mursience of durum wheat **(*Triticum durum* Desf.)** using the electrophoresis technique (SDS-PAGE).

The results obtained revealed 34 bands in total with different molecular weights ranging from 10KDA to 250-KDa.

The G1, G2 and G3 genotypes include estimated total bands of 24,25 and 26. While genotypes G3, G5 and G7 are distinguished by molecular weight bands with remarkable polymorphism.

- The first major group includes two subgroups:
  - The first subgroup is formed by a G4 genotype.
  - The second subgroup includes two subgroups
    - The first one is formed by two genotypes G5 and G6 which are genetically close at a similarity of 86%.
    - The second consists of three genotypes G9, G8 and G10 are close with a similarity of 87%.
- The second major group consists of two subgroups:
  - The first subgroup consists of one G3 genotype.
  - The second subgroup consists of two subgroups:
    - The first subgroup consists of a G7 genotype.
    - The second subgroup is formed by two genotypes G1 and G2 which are close to each other at a similarity of 87.5%.

In conclusion this study showed remarkable polymorphism between the genotypes studied.

key words: *Triticum durum – mursience-Category* -total proteins – Polymorphisms - Electrophoresis (SDS-PAGE).

العنوان : دراسة التنوع البروتيني لأنماط وراثية لصنف *mursience* لنبات القمح الصلب المنزرع بالجزائر. (*Triticum durum* Desf.)

الملخص

أجريت هذه الدراسة في مخبر الوراثة و البيوكيمياء بمجمع شعب الرصاص بجامعة قسنطينة1.

بهدف فصل البروتينات الكلية ل 10 أنماط وراثية لصنف ***mursience*** المنتمي إلى نبات القمح الصلب (*Triticum durum* Desf.) باستعمال تقنية الرحلان الكهربائي(Electrophorèse (SDS-PAGE التي تعتمد على فصل البروتينات حسب وزنها الجزيئي تحت تأثير حقل كهربائي في هلام Polyacrylamide.

كشفت النتائج عن وجود 34 حزمة مختلفة الأوزان الجزيئية تتراوح بين KDa.250-0KDa.100 ، و اتضح وجود تنوع بين الأفراد المدروسة من حيث عدد الحزم، الحزم المشتركة و الحزم الخاصة و كذلك نسبة التنوع. تميزت الأفراد **G1**، G2 و G3 بوجود أكبر عدد من الحزم قدر ب 26.25.24 حزمة مع وجود حزمة خاصة لكل من الأفراد **G3**، **G5** ، **G7** التي كانت أوزانها الجزيئية 50,5KDA و 56,7KDA و 59,4KDA.

من خلال تحليل شجرة القرابة تبين وجود مجموعتين رئيسيتين ,كل مجموعة يشترك فيها أفراد يجمع بينهم تقارب وراثي حيث ضمت المجوعة الرئيسية الأولى فضمت كل من: **G6.G5** مع وجود صلة قرابة وراثية بين الأفراد بنسة86%.أما المجموعة الرئيسية الثانية كل من: **G10.G9.G8**مع وجود صلة قرابة وراثية بين الأفراد بنسبة87% .

ومن النتائج المتحصل عليها لدراسة التشابه تم تحديد التنوع بين الأفراد المدروسة وتصنيفها لمجموعات متقاربة وراثيا.

الكلمات المفتاحية :

Polymorphisme – البروتينات الكلية - صنف- *mursience* -*Triticum durum* -Electrophorèse (SDS-PAGE)

استعراض المراجع

المقدمة

يمثل القمح الأهمية الكبرى في قائمة مجموع محاصيل الحبوب الغذائية في العالم. ويشغل أكبر مساحة مزروعة بالنسبة للمحاصيل نظرا لقدرته العالية على التكيف في البيئات المعتدلة.

وتتجلى أهمية هذا المحصول في كونه المادة الأولية لإنتاج تغذية أكثر من مليار نسمة، أو ما يعادل 53 % من سكان العالم. تزداد أهمية هذا المنتوج مع ازدياد عدد السكان في العالم وتنامي احتياجاتهم الغذائية مما استدعى البحث عن طرق جديدة لرفع الإنتاجية مع تحسين الإنتاج وذلك باللجوء إلى البحوث العلمية لحل هذه المشاكل.

تواجه زراعة الحبوب في الجزائر عدة عوائق، أهمها التباين في المناخ خاصة منها كمية الأمطار المتاحة للمحصول و توزيعها أثناء الموسم الزراعي و ما ينجم عنها من عجز مائي متبوعا بتأثير درجات الحرارة المنخفضة الشتوية و الربيعية و إرتفاعها في آخر أطوار النبات ***(Annichiaro et al., 2005)***.

وهذا ما يؤدي إلى خفض المردود ولهذا توالت الدراسات من أجل العمل على التحسين في هذا المنتوج وذلك بالبحث الدائم باستخدام أساليب علمية متطورة في الزراعة وخدمة المحصول من جهة والبحث عن مصادر التنوع الوراثي لإستنباط أصناف عالية الإنتاج والمقاومة ضد الإجهادات من جهة أخرى، وهذا على أساس دراسة وفهم الآليات التي تمكن النبات من التأقلم مع الإجهادات والظروف البيئية والمتمثلة في الخصائص الفينومورفولوجية والفيزيولوجية و البيوكيميائية.

يهدف هذا البحث إلى دراسة التنوع البروتيني و الإختلافات الموجودة بين الأنماط من حيث عدد الحزم ووزنها الجزيئي لعشرة أنماط وراثية من صنف ***mursience*** الذي ينتمي إلى نبات القمح الصلب (*Triticum durum* Desf.) المنزرع بالجزائر وأعتمدت هذه الدراسة على عدة طرق تحليلية للتنوع الوراثي الموجود والتي تعتمد على الأسس الفينولوجية و البيوكيميائية من جهة، و الأسس البيوكيميائية من جهة أخرى.

1- اللمحة التاريخية

1-1-تعريف القمح

يعتبر نبات القمح عشبي حولي يتبع العائلة النجيلية Poaceés والجنس Triticum يحتوي نبات القمح على حوالي 15 نوع بعضها ثنائي الحول. يزرع القمح في جميع أنحاء العالم ماعدا المناطق الحارة الرطبة من المنطقة الاستوائية، وتقع أكبر مناطق زراعة القمح في نصف الكرة الشمالية بين خطي عرض 30°-80° ومع ذلك فهو يزرع قريبا من خط الاستواء في المناطق الجبلية من إفريقيا وأمريكا الشمالية ***(محمد 2000).***

1-2- الأصل الجغرافي للقمح

يعتقد أن الأصل الجغرافي للقمح يتمركز ضمن المناطق الغربية لإيران، شرق العراق، وجنوب شرق تركيا. و يعد القمح أحد أوائل المحاصيل التي زرعت و حصدت من قبل الإنسان منذ حوالي 7000 إلى 10000 سنة ضمن منطقة الهلال الخصيب بالشرق الأوسط (***Croston et .Williams, 1981***)

تم تقسيم الموطن الأصلي لمجموعات القمح حسب (***Vavilov, (1936*** إلى ثلاث مناطق:

منطقة سوريا وشمال فلسطين : تمثل المركز الأصلي لمجموعة الأقماح الثنائية.

المنطقة الأثيوبية : تعتبر المركز الأصلي لمجموعة الأقماح الرباعية.

المنطقة الأفغانية-الهندية : حيث تعد المركز الأصلي لمجموعة الأقماح السداسية.

تشير الدلائل التاريخية الحديثة إلى أن منشأ الأقماح البرية Einkorn (*T., monococcum*) والأقماح Emmer (*T. dicoccom*) كان ضمن موقع أبو هريرة على ضفاف نهر الفرات بدليل وجودها ضمن هذا الموقع حتى الآن. و تفيد الأثار بأن عملية زرع القمح قد تمت في ثلاثة مواقع متقاربة بمنطقة الهلال الخصيب حسب ماذكر ***(Hillman. ,2001)*** **(شكل1).**

الموقع الأول : تمركز ضمن موقع أبو هريرة في سوريا.

الموقع الثاني : تمركز في منطقة أريحا بالضفة الغربية في فلسطين.

الموقع الثالث : في منطقة cayonü بتركيا.

و قد انتشر القمح الصلب في المناطق الواقعة بين دجلة و الفرات في العراق و من ثمة ظهر في مناطق أخرى تعتبر أيضا مركزا لتنوعه مثل الشام، جنوب أوروبا و شمال إفريقيا و انتشر أيضا في السهول الكبرى في امريكا الشمالية والإتحاد السوفياتي ***(Grignac, 1978),(Elias, 1955)***

ويعتقد أن القمح الصلب جاء من نواحي تركيا، سوريا، العراق و إيران حسب ماذكر(***Feldman, 2001***)

الشكل (01): خريطة انتشار الأقماح الرباعية(Bonjean,2001)

1-3- تصنيف القمح

1- 3-1 التصنيف الوراثي للقمح

تم تصنيف أنواع جنس *Triticum* حسب عدد كروموزوماتها إلى ثلاث مجموعات رئيسية (كيال، 1979):

المجموعة الثنائية Diploïdes (2n=14) تحتوي الأقماح الثنائية *T.monococcum* على مجموعة صبغية أساسية (Genome) واحدة AA و تضم: *Triticum monococcum*

المجموعة الرباعية Tétraploïdes (2n=28): تحتوي الأقماح الرباعية

T. turgidum على مجموعتين صبغيتين أساسيتين AA BB و تضم

Triticum dicoccoides ، *Triticum persicum* ،*Triticum polonicum* ،*Triticum durum*

المجموعة السداسية Hexaploïdes (2n=42) تحتوي مجموعة الأقماح السداسية *T.aestivum* على ثلاث مجموعات صبغية أساسية AA BB DD و تضم

Triticum vulgare ، *Triticum compactum* ،*Triticum spelta*

و حسب (1996) ***Mackey*** تم تقسيم الجنس *Triticum* إلى 5 أنواع موزعة على ثلاث مجموعات المجموعة الثنائية، الرباعية و السداسية (جدول1) :

- *T. monococcum* : 2n = 14, AA (Diploïdes)
-*T. turgidum* : 2n = 28, AABB (Tétraploïdes)
-*T. timopheevi* : 2n = 28, AAGG (Tétraploïdes)
-*T. aestivum* : 2n = 42, AABBDD (Hexaploïdes)
-*T. zhukovski* : 2n = 42, AAAAGG (Hexaploïdes)

الجدول(01): التصنيف الوراثي للقمح حسب (Mackey, 1966)

	Mackey (1966)	Nomenclature usuelle	Génome
Diploïdes		*T. urartu* Tum.	AA
	T. monococcum L.		
	ssp. *boeoticum* (Boiss.) MK.	*T. boeoticum* Boiss.	
		spp. *aegilopoides*	AA
		spp. *thaoudar*	AA
	ssp. *monococcum*	*T. monococcum* L.	AA
		T. sinskajae A. Filat et Kurk.	AA
Tétraploïdes	*T. turgidum* (L.) Thell.		
	ssp. *dicoccoides* (Körn) Thell.	*T. dicoccoides* (Körn) Schweinf	AABB
	ssp. *dicoccum* (Schrank) Thell.	*T. dicoccum* (Schrank) Schulb.	AABB
	ssp. *paleocolchicum* (Men.) MK.	*T. paleocolchicum* Men.	AABB
	ssp. *turgidum*		
	conv. *polonicum* (L.) MK.	*T. polonicum* L.	AABB
	conv. *durum* Desf. MK.	*T. durum* Desf.	AABB
	conv. *turanicum* (Jakubz.) MK.	*T. turanicum* Jakubz.	AABB
	T. timopheevi Zhuk.		
	ssp. *araraticum* (Jakubz.) MK.	*T. araraticum* Jakubz.	AAGG
	ssp. *timopheevi*	*T. timopheevi* Zhuk.	AAGG
		T. militinae Zhuk. et Migusch.	AAGG
Hexaploïdes	*T. aestivum* (L.) Thell.		
	ssp. *spelta* (L.) Thell.	*T. spelta* L.	AABBDD
	ssp. *macha* (Dek. et Men.) MK.	*T. macha* Dek. et Men.	AABBDD
	ssp. *vavilovi* (Vill.) MK.	*T. vavilovi* (Tum.) Jakubz.	AABBDD
	ssp. *compactum* (Host.) MK.	*T. compactum* Host.	AABBDD
	ssp. *sphaerococcum* (Perc.) MK.	*T. sphaerococcum* Perc.	AABBDD
	ssp. *vulgare* (Will.) MK.	*T. aestivum* L.	AABBDD
	T. zhukovskyi Men. et Er.	*T. zhukovskyi* Men. et Er.	AAAAGG

1-3- 2- التصنيف النباتي للقمح الصلب (APG III, 2009).

-Clade : Angiospermae

-Clade : Monocotylédones

-Clade : Commélinidae

-Ordre : Poales

-Famille : Poaceae

-Genre : *Triticum*

-Espèce *: Triticum durum Desf.*

1-4 – دورة حياة القمح

1-4-1-الطور الخضري Période végétative: و ينقسم هذا الطور إلى ثلاثة مراحل:

- **مرحلة زرع – إنبات Phase semis-levée**

تبدأ هذه المرحلة بانتقال الحبة من حالة الحياة البطيئة إلى حالة الحياة النشيطة من خلال مرحلة الإنبات التي تترجم بإرسال الجذير، الجذور الفرعية وبروز غمد الورقة الأولى التي تتطاول باتجاه السطح (coléoptile)، وعند ظهور الورقة الأولى من الكوليوبتيل (coléoptile) يتوقف هذا الأخير عن النمو و يجف تماما **(*Masle, 1982*)، *(Boufenar et Zaghouane, 2006).***

- **مرحلة بداية الإشطاء Phase début tallage**

تبدأ مرحلة الإشطاء عند ظهور الورقة الثالثة للنبتة الفتية، وتتكون الساق الرئيسية في قاعدة الورقة الأولى والفرع الثاني في قاعدة الورقة الثانية وهكذا. و يتوقف عدد الإشطاءات المنتجة بنوعية الصنف، المناخ، التغدية المعدنية و المائية للنبات و كذلك كثافة الزرع (***Masle, 1981***).

- **مرحلة بداية الصعود Phase montaison**

تتميز هذه المرحلة بتشكل الأشطاء و بداية نمو البراعم المتميزة في إبط الورقة الأولى التي تعطي برعم الساق الرئيسية (***Soltner,1990***).

تمثل نهاية الإشطاء نهاية المرحلة الخضرية، و التي تشير إلى بداية المرحلة التكاثرية (***Gate,1995***).

1-4-2- الطور التكاثري Période reproductrice : و ينقسم هذا الطور إلى مرحلتين أساسيتين:

- **مرحلة الصعود والإنتفاخ Phase montaison – gonflement**

تتميز هذه المرحلة بتأثير تطاول السلاميات التي تشكل الساق (chaume). و أثناء هذه المرحلة تتنافس الأشطاء الصاعدة الحاملة للسنابل مع الأشطاء العشبية من أجل عوامل الوسط. و تؤثر هذه الظاهرة على الأشطاء الفتية و تؤدي إلى توقف نموها (***Masle, 1981***).

اعتبر ***Fisher et al., (1998)*** أن هذه المرحلة من اكثر المراحل الحساسة في نبات القمح و ذلك بسبب تأثير الإجهاد المائي و الحراري على عدد السنابل المحمولة في وحدة المساحة.

تنتهي مرحلة الصعود عندما تأخذ السنبلة شكلها النهائي داخل غمد الورقة التويجية المنتفخة والتي توافق مرحلة الإنتفاخ ***(Bahlouli et al., 2005)***

- **مرحلة الإسبال و الإزهار Phase épiaison – floraison**

تبدأ هذه المرحلة بمرحلة الإسبال والتي خلالها يبدأ ظهور السنبلة من خلال الورقة التويجية، تزهر السنابل البارزة عموما بين 4 إلى 8 ايام بعد مرحلة الإسبال (***Bahlouli et al., 2005***).وقد أشار ***Abbassenne et al., (1998)*** أن درجات الحرارة المنخفضة خلال مرحلة الإسبال تتسبب في إرجاع خصوبة السنابل.

1-4-3- طور النضج و تشكل الحبة Période de maturation et de formation du grain

هي آخر مرحلة من الدورة، وهي توافق تشكل احد مكونات المردود المتمثل في وزن الحبة، حيث تبدأ عملية امتلاء الحبة التي من خلالها تبدأ شيخوخة الأوراق و كذلك هجرة المواد السكرية التي تنتجها الورقة التويجية حيث تخزن في عنق السنبلة نحو الحبة حسب

(Barbottin et al.,2005)،(Gate,1995).

بين ***كيال،(1974)*** أن مرحلة النضج يمكن أن تتضمن 3 مراحل متمثلة في مرحلة تكوين الحبة، مرحلة التخزين و مرحلة الجفاف:

- **مرحلة تكوين الحبة**

يتكون الجنين بعد التلقيح، وتأخذ الحبة أبعادها النهائية المعروفة، بحيث تزداد نسبة المادة الجافة في الحبوب بشكل واضح خلال هذه المرحلة، كما يزداد محتواها من الماء حتى يصل من 60 إلى 65% من وزن الحبة.

- **مرحلة التخزين**

تبدأ هذه المرحلة من بدء ثبات محتوى وزن الماء داخل الحبوب وتنتهي مع بدء انخفاض وزن الماء داخل الحبوب، وتسمى بمرحلة التخزين الغذائي، ويزداد الوزن الجاف للحبوب خلال هذ ه المرحلة حتى يصل إلى أعلى مستوى له عند نهايتها أي عند مرحلة النضج الكامل.

- **مرحلة جفاف الحبة**

تصل الحبوب في هذه المرحلة إلى الوزن الجاف النهائي، و تتميز بتراجع محتوى الحبوب المائي، حيث تنخفض نسبة الماء من 45% في بدايته إلى 10% في نهايته.

قام Zadock`s et al., (4791) بتقسيم مرحلة النضج إلى عدة مراحل منها:

- **النضج اللبني**

و نميز ضمنه أربعة مراحل وهي:

- **المرحلة المائية** و يستمر من أسبوع إلى أسبوعين، و يتراوح فيها المحتوى المائي بالحبوب من 80% إلى 85% في بدايته و 65% في نهايته.
- **مرحلة النضج اللبني المبكر والنضج اللبني المتوسط** و يحدث في هاتين المرحلتين تراكم الذائبات الصلبة في خلايا الأندوسبرم. و تسمى المراحل الثلاثة السابقة بفترة امتلاء الحبوب.
- **مرحلة النضج اللبني المتأخر**: تمثل انخفاض في محتويات الحبة من الماء من 65% في بداية المرحلة إلى 38% في نهايتها
- **النضج العجيني** ونميز فيه ثلاثة مراحل:
- **النضج العجيني المبكر** يتسم بانخفاض المحتوى المائي قليلا عن النضج اللبني المتأخر حيث يصل المحتوى المائي إلى 35%، وتستمر هذه المرحلة مدة أسبوع واحد تقريبا.
- **النضج العجيني الطري** حيث تنخفض المحتويات المائية في الحبوب 30 إلى 35 % ويستمر حوالي عشرة أيام.
- **النضج العجيني الصلب** حيث تنخفض المحتويات المائية في الحبوب لتصل إلى 35 % وحتى % 25 من وزنها.
- **النضج التام** تصل نسبة الماء في الحبوب في نهايته إلى 15% وحتى 12%، ويتوقف انتقال المواد الغذائية إلى الحبة وتصبح الحبوب أكثر قساوة. ويتراوح طول الفترة من الإزهار وحتى النضج الفيزيولوجي التام من 30 إلى 40 يوما بالنسبة للأقماح الربيعية في المناطق الجافة

5-1 المقاييس البيوكيميائية

5-1- 1- التركيب النسيجي و الكيميائي لحبة القمح

تتكون حبة القمح من ثلاثة أنواع من الأنسجة (***Barron et al., 2007***):

- **جنين البذرة (L'embryon)**

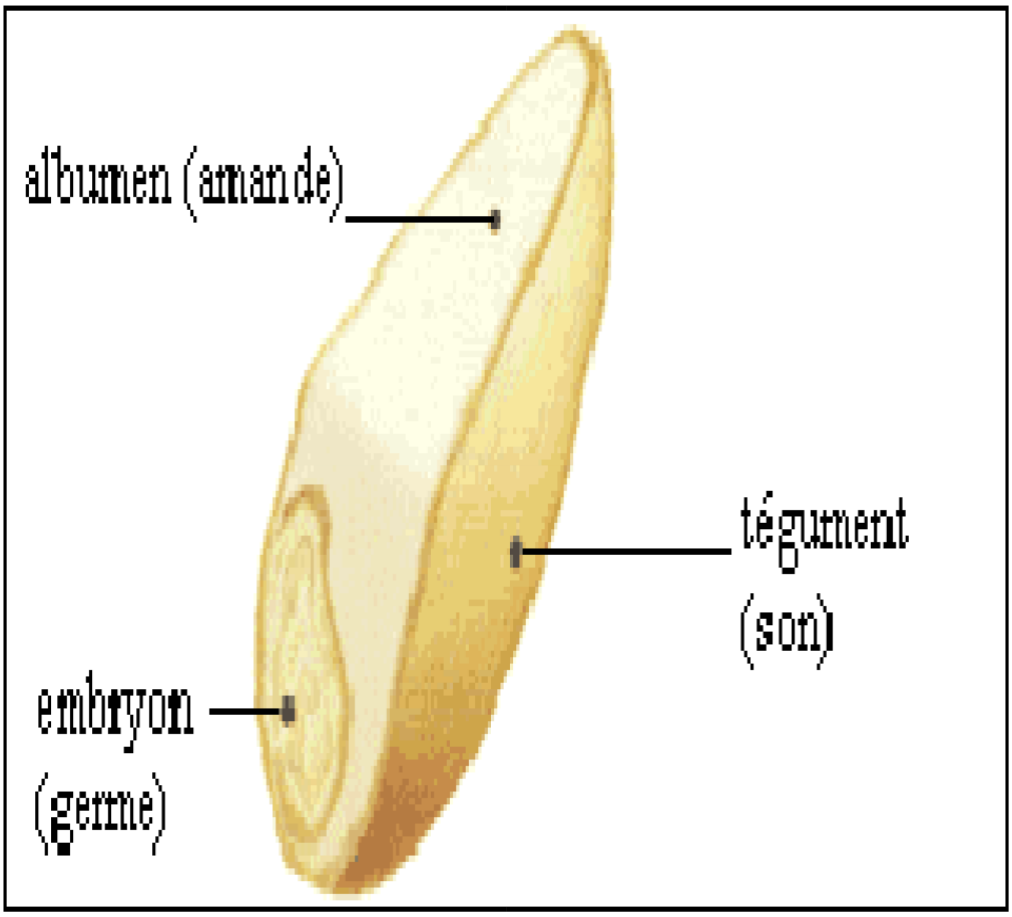
ناتج عن التحام الجاميطات الذكرية و الأنثوية حيث يحتوي جنين البذرة في الحبوب على أعلى نسبة من الليبيدات والفيتامينات كما يحتوي على أعلى نسبة من الرطوبة في الحبة الناضجة (***Song et al., 1998***).

- **الأغلفة (Les enveloppes)**

تتكون من 5 أنسجة متوضعة فوق بعضها، كل نسيج من هذه الأنسجة له سمك وطبيعة مختلفة (***Barron et al.,2007***). ويوجد على التوالي من السطح الخارجي إلى مركز الحبة: الغلاف الخارجي،الغلاف الداخلي المتكون من Mésocarpe و Endocarpe ، ثم la testa و طبقة Hyaline.

- **السويداء (L'albumen)**

وهو النسيج الأكثر وفرة في الحبة يتكون من Albumen amylacé و خلايا طبقة الألورون(Aleurone)



الشكل (02): *التكوين النسيجي لحبة القمح* ***(Soltner, 1998)***

تتكون حبة القمح أساسا من السكريات (65-75%) و المتمثلة في النشأ و الألياف، البروتينات و التي تختلف نسبتها حسب الصنف و ظروف الزرع وتتراوح بين (8- 17%)، الليبيدات (2-6%) ، ماء (12-14%) وعناصر غذائية صغيرة Micronutriments ***(Kent et Evers,1994)***.

أشار ***Feillet, (2000)*** أن هذه المركبات تتوزع بطريقة غير متساوية داخل مختلف الأجزاء النسيجية للحبة كما يلي:

- **السويداء Albumene**: تحتوي على الأميدون طبقة الالورون : غنية بالبروتينات و المواد المعدنية و هي المركبات السائدة في الجدار الخلوي .
- **غلاف الحبة Péricarpe:** يحتوي خصوصا على Celluloses و Pentosanes
- **جنين البذرة Embryon** : غني بالبرتينات و الليبيدات و السكريات الذائبة.

1-5-2- تصنيف البروتينات

أول باحث قام بتصنيف بروتينات حبة القمح هو ***Osborne سنة 1907***، وقد عرف أربع مجموعات من البروتينات تتميز بذوبانها في أوساط مختلفة (***Osborne,1924***).

الألبومينات Albumines: تذوب في الماء.

الغلوبيلينات Globulines: تذوب في المحاليل المالحة.

الغلياديناتGliadines: تذوب في محلول كحولي 70%.

الغلوتينينات Gluténines: تذوب في القواعد أو الأحماض.

تمت إعادة النظر في هذا التصنيف من طرف ***Shewry et al., (1986)*** بعد عدة أعمال اعتمدت على الخصائص الفيزيائية، الكيميائية و الوظيفية للبروتينات، و قد تم اقتراح مجموعتين كبيرتين من البروتينات تتمثل في:

- **بروتينات الأيض** التي تشمل Globulines وAlbumines و تحوي أنزيمات، بروتينات غشائية، بروتينات غير انزيمية...
- **بروتينات التخزين** و تشمل Gliadines و Gluténines و تتواجد في السويداء فقط.

1-5-2-1-بروتينات الأيض Protéines du métabolisme

يمثل كل من ال Albumine و ال Globulines 15 إلى 20% من البروتينات الموجودة في مسحوق القمح، تسمى أيضا بالبروتينات الذائبة. هذه المجموعة من البروتينات جد متنوعة من ناحية خصائصها الفيزيوكيميائية (تركيب الأحماض الأمينية، نقاط التعادل الكهربائي و الوزن الجزيئي).

تشارك هذه البروتينات في تكوين الحبة و تجميع المدخرات في السويداء، و تتواجد في مختلف أجزاء الحبة ***(Richard et al.,1996), (Vensel et al., 2005)***

- **Albumines**

يتميز بروتين ال Albumine بأنه بروتين قابل للذوبان في الماء. وزنه الجزيئي ضعيف ينحصر بين 10KDa و 100KDa. عموما تملك الألبومينات محتويات عالية من lysine، والأحماض الأمينية الكبريتية acides aminés soufrés، مثل méthionine و cystéine، كذلك كمية عالية من الجسور ثنائية الكبريت***(Vensel et al., 2005).***

- **Globulines**

يذوب بروتين ال globulines في المحاليل المائية الملحية. وزنه الجزيئي يمكن أن يصل إلـى عدة مئات من KDa (***Vensel et al., 2005***، ***(Mondoulet,2005)*** .

1-5- 2-2- بروتينات التخزين Protéines de réserve

تعرف بروتينات التخزين، بأنها أي بروتين يتراكم في الحبة، و يتحلل مائيا ليحرر مكوناته من الأحماض الأمينية، التي تستخدم كمصدر للنيتروجين من قبل البادرات أثناء الإنبات، و فـي المراحـل الأولى من النمو ***(Spencer, 1984)***.

تلعب بروتينات التخزين دورا مهما في التعبير عن نوعية القمـح، و تعتبـر مـن المركبـات البيوكيميائية الموجودة في حبة القمح الأكثر دلالة على مختلف الأنـواع ***(Khelifi et al., 2004)***. و تم استخدام بروتينات التخزين لتقييم الأصول الوراثية المختلفة، و تحديد هوية أصناف القمح الرباعيـة و السداسية، و انتشرت على نطاق واسع كونها غير مكلفة و بسيطة و ذات قدرة على الكشـف عـن التباينات الوراثية بين الأصناف الوراثية المختلفة ***(أشتر، 2009)***.

تتفاعل البروتينات المخزنة، في وجود الماء لتشكيل الغلوتين gluten، و هو معقد بروتيني مسؤول عن خاصيتي اللزوجة و المطاطية في القمح الصلب.

حسب ***Shewry et al., (1986)*** فإن الإختلافات في خصائص القمح ناتجة بالدرجة الأولى عن التغيرات في بنية، كمية، و نسبة مختلف بروتينات الغلوتين.

- **Gliadine**

هو البروتين المسؤول عن لزوجة ال gluten ويمكن تقسيمه إلى γ،β ،α و ω على أساس درجة الرحلان والحركية ضمن نظام الرحلان (A-PAGE) حسب ***(Porceddu et al.,1998)***.

و الغليادين عبارة عن خليط مزدوج من البيبتيدات وحيدة السلسلة ذات وزن جزيئي مرتفع يتراوح بين Da 30000 و Da 75000. تمثل الغليادينات المتوضعة على الذراع القصير لمجموعة الصبغيات 1 و 6 بواسطة الشفرةGli-1 (الغليادين γ و الغليادين ω) و Gli-2 (الغليادين α و الغليادين β)

(Shewry et al., 1986) .(***Wieser, 2000***)

- **Gluténines**

يعد ***Bietz et Wall, (1972)*** أول من سجل انفصال الغلوتينين إلى نوعين من الوحدات:

تحت الوحدات ذات الوزن الجزيئي المرتفع (HMW-GS).

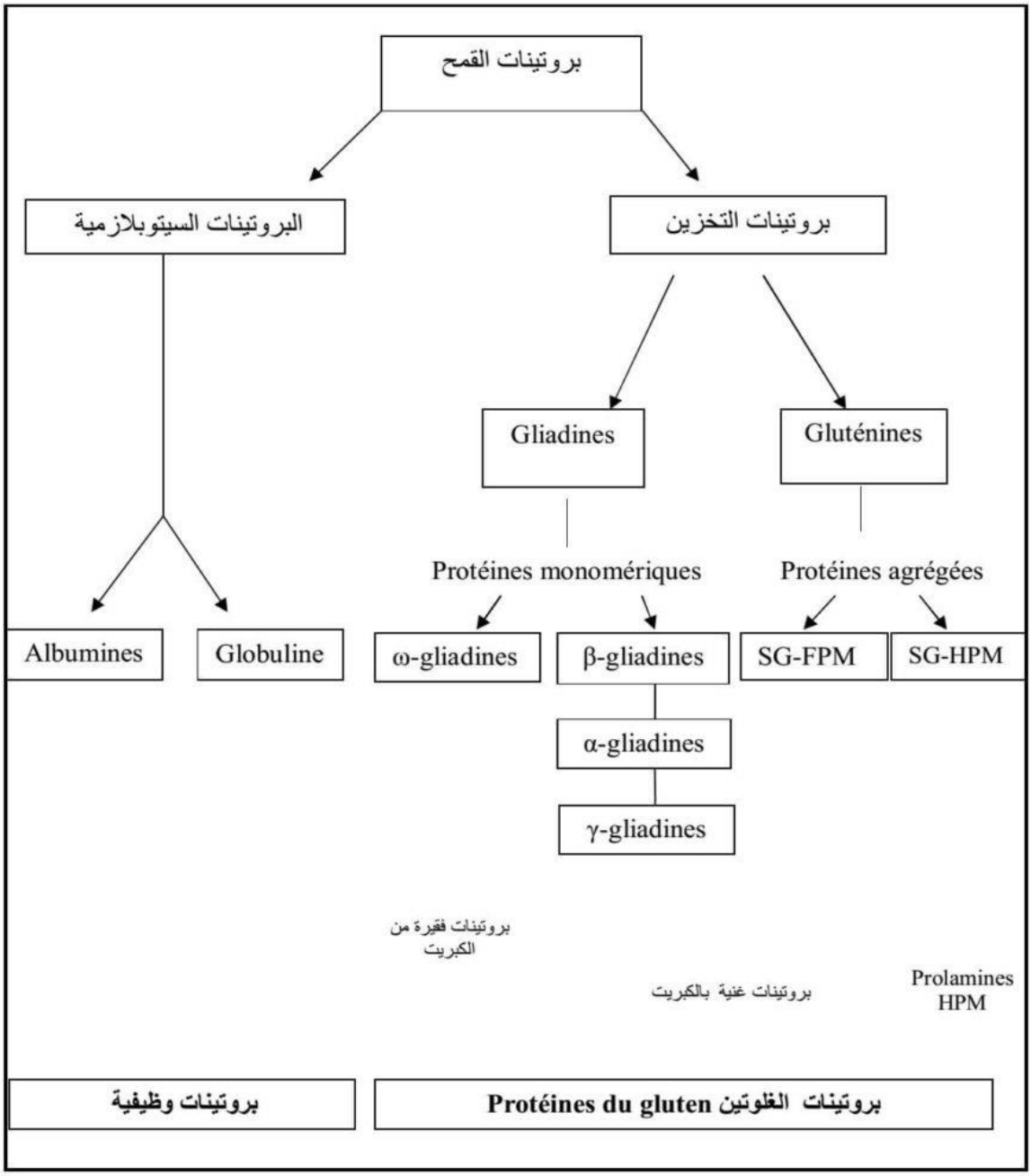
تحت الوحدات ذات الوزن الجزيئي المنخفض (LMW-GS).

تتضمن تحت الوحدات HMW-GS المجموعة A، أما تحت الوحدات LMW-GS تم تقسيمها إلى تحت الوحدات B،C، وD.

يعد هذا البروتين المسؤول عن صفة مطاطية الغلوتين. و يبلغ وزنه الجزيئي 40,000000Da حسب ***(Wieser, 2000)***، ***(Shewry et al., 1986)***

حسب (***Payne et Lawrence, (1983***) فإن الإختلاف الرئيسي بين مجموعتي بروتينات التخزين يكمن في التحليل الوظيفي لكل منهما، حيث أن الغليادين هو بروتين وحيد سلسلة البولييبتيدات، في حين أن الغلوتينين هو بروتين ذو بنية مركبة من عدة سلاسل من الببتيدات المرتبطة مع بعضها بروابط ثنائية الكبريت (S-S) و بالتالي يعتمد التفريق و التصنيف بين هذين النوعين من بروتينات التخزين على البنية الكيميائية لهما. و هذا التصنيف يعطي فكرة عن المورثات المسؤولة عن تشكيل و تركيب البولييبتيدات.

أعتبر (Ewart, (1990 أن الإختلاف الأساسي مابين الغلوتينين و الغليادين يكمن في القدرة بين الجزيئية لروابط ثنائية الكبريت.



الشكل (03): التركيب البروتيني للقمح حسب ***(shewry et al.., 1986), (osborne,1924)***

1-6-تقنيات فصل البروتينات

1-6-1 الكروماتوغرافيا Chromatography

كان المقصود بالكروماتوغرافيا هو فصل المواد الملونة(المعنى الحرفي للكلمة ألوان) أما اليوم فالمصطلح أصبح أوسع من هذا المفهوم الضيق.

ولتعريف عملية الكروماتوغرافيا بشكل عام هي طريقة فيزيائية للتحليل والفصل باستخدام طورين أحدهما الطور الثابت Stationary phase ذو مساحة سطحية كبيرة نسبيا والآخر متحرك Mobile phase الذي يتحرك عبر الطور الساكن ويحوي على النموذج المراد فحصهُ.

إن الإمكانية الواسعة لاختبار مواد كل من الطورين جعلت بالإمكان استخدام هذه الطرق لفصل المواد المتقاربة في الخواص الفيزيائية والكيميائية.

في أغلب الأحيان تكون الكروماتوغرافيا طرائق تحليلية مزدوجة حيث يمكن استخدامها كطرائق فصل وتقدير في نفس الوقت وتمتاز بالسهولة والسرعة اضافة الى انها تصلح لفصل وتقدير كمية صغيرة من النموذج.

1-1-6-1 كروماتوغرافيا الاقصاء الحجمي

يمكن استخدام الكروموتوغرافيا لفصل بروتين في محلول أو ظروف افساد باستخدام هلام مسامي. تعرف هذه التقنية بكروموتوغرافيا الإقصاء الحجمي.

مبدأها أن الجزيئات الأصغر عليها أن تعبر حجماً أكبر في النسيج المسامي. لذا ستحتاج البروتينات ذات القياسات المختلفة إلى كمية مختلفة من الشاطِف (المذيب)قبل أن تصل إلى الطرف الآخر من عمود الهلام وتجمع من هناك.

عند الحديث عن تنقية البروتينات، فعادة ما يجمّع الشاطف في أنابيب اختبار مختلفة. ويتم إهمال كل أنابيب الاختبار التي لا يوجد فيها أثر قابل للقياس من البروتين المطلوب. المحلول المتبقي يحوي البروتين المطلوب تنقيته، إضافة إلى بروتينات أخرى ذات حجم مشابه.

2-1-6-1 كروماتوغرافيا التبادل الايوني

تفصل كروماتوغرافيا التبادل الأيوني المكونات اعتماداً طبيعة وردجة شحنتها الأيونية. يتم اختيار العمود الذي سيستخدم اعتماداً على نوع وقوة الشحنة. تملك راتنجات التبادل الأنيوني شحنة موجبة وتستخدم لإبقاء

وفصل المركبات المشحونة سلبياً، في حين تملك راتنجات التبادل الكاتيوني شحنة سالبة وتستخدم في فصل الجزيئات المشحونة إيجابي اً.

قبل بدء الفصل يتم ضخ الصاد (buffer) عبر العمود لموازنة الأيونات المشحونة عكسياً. عند حقن العينة تتبادل الجزيئات الذائبة مع أيونات الصاد حيث أن كل منها يتنافس على أماكن الارتباط في الراتنج. مدة إبقاء كل محلول يعتمد على قوة شحنته. ستستخلص المكونات المشحونة بشكل ضعيف أولاً، يتبعها تلك المشحونة بشكل أكبر. وبسبب طبيعة آلية الفصل هذه، تلعب كل من درجة الحرارة وتركيز الصاد ونوعه و درجة pH أدواراً مهمة في التحكم بالفصل.

إن كروماتوغرافيا التبادل الأيوني أداة قوية جداً تستخدم في تنقية البروتين وتستخدم عادة في كل من الفصل التحضيري والتحليلي.

3-1-6-1 كروماتوغرافيا التفاعل الكاره للماء

يحوي وسط كروموتوغرافيا التفاعل الكاره للماء (HIC) أجزاء كارهة وأجزاء محبة للماء (amphiphilic) ، مما يسمح بفصل البروتينات اعتماداً على كرهها السطحي للماء.

التفاعلات بين الراتنج والأجزاء الكارهة للماء من البروتين تكون ضعيفة جداً، لكن يتم تحسين هذا التفاعل بوضع عينة البروتين في وسط HIC راتنجي في صاد (buffer) ذو قوة أيونية كبيرة. بعدها يتم تخفيف القوة الأيونية للصاد من أجل تخفيف الكراهية للماء لاستخراج البروتينات .

4-1-6-1 كروماتوغرافيا سائلة عالية الاداء

الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء أو الكروماتو غرافيا السائلة عالية الضغط هي نوع من الكروماتوغرافيا الذي يطبق ضغط عالي لدفع المحاليل خلال العمود بشكل أسرع مما يعني اختصار الإنتشار وتحسيد الدقة. أكثر الأنواع شيوعاً هو "الطور المعكوس"، حيث تكون مادة العمود كارهة للماء. يتم استخراج البروتينات عن طريق تدرج من كميات متزايدة من مذيب عضوي، مثل الأسيتونتريل. يستخلص هذا البروتينات حسب كراهيتها للماء.

بعد التنقية باستخدام HPLCيصبح البروتين في محلول يحوي فقط على مركبات تطايرية، يمكن تجفيدها بسهولة. تؤدي التنقية باستخدام HPLC إلى إفساد البروتينات المنقاة ولذ ا فلا يمكن تطبيقها إلا على البروتينات التي لا تنطوي مجدداً بشكل تلقائي ***(Regnier, 1983)***

1-6-1-5 كروماتوغرافيا الانجذاب المناعي

تستخدم كروماتوغرافيا الإنجذاب المناعي الارتباط النوعي للجسم المضاد مع البروتين الهدف لتنقية البروتين بشكل انتقائي. يتضمن الإجراء تثبيت الجسم المضاد في مادة العمود، والتي ترتبط فيما بعد بالبروتين بانتقائية، فيما يمر كلما تبقى خلال العمود. يمكن استخلاص البروتين عن طريق تغيير درجة pH أو الملوحة ***(Ehle et al., 0991)***

1-6-1-6 كروماتوغرافيا انجذابية

إن الكروماتوغرافيا الانجذابية هي تقنية فصل اعتماداً على التعديل الجزيئي، والذي كثيراً ما يستخدم راتنجات حسب التطبيق. تملك هذه الراتنجات ربائط (ligands) موجودة على سطحها وخاصة بالمركب المراد فصله.

غالباً ما تعمل بطريقة مشابهة لتفاعلات جسم مضاد-مستضد .يناسب هذا "المفتاح والقفل" بين الربيطة والهدف مما يجعلها خصوصيتها بالارتباط بالمركب المطلوب عالية، وعادة ما تكون على شكل قمة واحدة، في حيث لا يتم تخزين كل شيء متبقي في العينة.

العديد من الأغشية البروتينية هي بروتين سكري ويمكن تنقيتها بكروماتوغرافيا إنجذابية لليكتين (lectin) .يسمح للبروتينات المنحلة في المنظف بالارتباط بالراتنج الكروماتوغرافي الذي تم تعديله ليملك ليكتين مرتبط تشاركياً. في حين تغسل البروتينات التي لم ترتبط بالليكتين ثم يتم استخلاص البروتينات السكرية المرتبطة بإضافة تركيز عالي من سكر ينافس البروتينات السكرية المرتبطة في موقع ارتباط الليكتين.

تملك بعض الليكتينات انجذابية عالية للسكريات قليلة التعدد (oligosaccharides) للبروتينات السكرية مما يجعل من الصعب تنافسها مع السكريات، ويجب تحرير البروتينات السكرية المرتبطة عن طريق إفساد الليكتين.

1-6-2 فصل البروتينات بالرحلان الكهربائي Eléctrophorése

تستخدم تقنية الرحلان الكهربائي لفصل خليط البروتينات، وتعتمد هذه التقنية على الإختلاف في الشحنة الإلكترونية و الإزدحام الجزيئي الموجود في مركبات الخليط الخاضعة إلى حقل كهربائي، و تستخدم هذه التقنية للتمكن من دراسة التنوع الوراثي***(Branlard et Chevalet, 1984)*** . إذ تعكس المؤشرات البروتينية جزءا من المعلومة الوراثية للطراز الوراثي، و قد عرفت دراسة بروتينات التخزين في الحبوب انطلاقة معتبرة بفضل استعمال تقنيات الرحلان الكهربائي ***(Khelifi et Hamdi,2008).***

تعتمد عملية الرحلان الكهربائي أحادي البعد mono-dimensionnelle لفصل البروتينات على شحنة البروتينات عن طريق هجرة البروتينات تحت تأثير حقل كهربائي في هلامة Acrylamide أو الوزن الجزيئي للبروتينات. و تسمح هذه الطريقة بقراءة 30 إلى 50 حزمة بروتينية.

أشار ***Branlard et al., (1989)*** أن عملية الرحلان الكهربائي monodimensionnelle هي طريقة سريعة لتعريف مختلف الأنواع خصوصا في نباتات محاصيل الحبوب.

يستعمل في الرحلان الكهربائي ثنائي البعد Bidimensionnelle معيارين فيزيوكيميائيين غير مرتبطين هما: نقطة التعادل الكهربائي و الوزن الجزيئي، هذه الطريقة تسمح بفصل مثالي للبروتينات، حيث يمكن فصل عدة مئات من البروتينات في تجربة واحدة. ينتج الفصل الأولي حسب نقطة التعادل الكهربائي للبروتينات، و تتم هجرة البروتينات بحسب التدرج في درجة الحموضة pH، أما عملية الفصل الثاني فتكون بعد عملية الفصل الأول و تتم عن طريق الرحلان الكهربائي في هلامة Acrylamide حسب الوزن الجزيئي للبروتينات ***(Lesage,2011)***

سمحت نتائج ***Khelifi et al. (2004)*** بتوضيح تأثير الوسط على التنوع في نتيجة الرحلان الكهربائي(Polymorphisme éléctrophoretique) لبروتينات القمح و إظهار أن وسط الزرع يمكنه التدخل في تغيير كمية البروتينات المتواجدة على مستوى الأشرطة.

مما يؤكد تأثير الوسط على كمية الأجزاء البروتينية الموجودة في الحبة، حيث وضحت النتائج أن نوعية القمح المقدرة خلال مجموعة من الإختبارات تختلف حسب الأنواع و أيضا حسب أماكن الزرع.

أظهرت الدراسة التي قام بها ***Khelifi et al. (2004)*** بتحديد بعض المظاهر البيوكيميائية و التكنولوجية للأقماح المزروعة في المناطق الجافة من خلال التحليل الكمي للأجزاء البروتينية و المعايير المحددة للنوعية التكنولوجية، حيث أظهرت النتائج وجود اختلاف ضعيف في محتوى البروتينات الذائبة على عكس بروتينات التخزين التي أبدت اختلافات مهمة من صنف إلى آخر.

بينت نتائج ***Boudour, (2006)*** تنوع في نتيجة تحليل الرحلان الكهربائي للبروتينات الكلية عند 19 صنف من القمح الصلب المنزرع في الجزائر .*Triticum durum* Desf، حيث تميز كل صنف بعدد محدد من الحزم. و سمحت نتائج الرحلان الكهربائي بتجميع مختلف الأصناف بدلالة تواجد الحزم المشتركة.

استخدم ***Mouala et al., (2008)*** كلتا طريقتـي الـرحلان الكهربـائي

(A-PAGE) و (SDS-PAGE)

Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis

Acidic Polyacrylamide Gel Electrophoresis

لدراسة الإختلافات الوراثيـة داخـل ثلاثـة أصناف من القمح اللين و القمح الصلب. أظهرت النتائج وجود تباين وراثي في أغلبية المواقع لكل من الغليادين والغلوتينين في جميع الأصناف. حيث كانت الاختلافات في مواقع الغليادين أكبر منهـا فـي مواقع الغلوتينين. و أكدت النتائج ضرورة استخدام كلتا الطريقتين للحصول على فكـرة شـاملة عـن إختلافات بروتينات التخزين داخل الأصناف.

قام ***الطاهر و آخرون ، (2008)*** باستخلاص بروتينات التخزين من حبة القمح ، وتم الرحلان الكهربائي على هلامة الاكريلاميد (SDS-PAGE)، وذلـك لدراسـة الاختلافـات الـوراثي لهـذه البروتينات داخل و بين بعض الطرز الوراثية Génotypes للقمح الصلب.

أظهرت النتائج عدم وجود اختلافات وراثية داخل الطراز الوراثي الواحد مما يدل على النقاوة الصنفية. كما تبين وجود اخـتلاف وراثي بين الطرز المدروسة، مما يدل على إمكانية استخدام بروتينات التخـزين فـي بـذور القمـح كمؤشرات بيوكيميائية لدراسة الوصف الوراثي.

قام ***Hamdi et al., (2010)*** بدراسة الإختلاف الـوراثي و التنـوع الجغرافـي لبروتينـات التخزين في حبة القمح لمجموعة تتكون من 856 صنف من القمح الصلب المنـزرع فـي الجزائـر باستعمال تقنية SDS-PAGE، حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها تنوع كبير في الإخـتلاف بـين تحت الوحدات الكبيرة للغلوتينين HMW-GS و تحت الوحدات الصغيرة للغلوتينين LMW-GS.

و من الدراسة التي قامت بها كل من ***بلفارس، (2012)، نوي و نجاعي، (2013)*** للبروتينات الكلية لأصناف من القمح الصلب المنزرع في الجزائر *Triticum durum* Desf.، كشفت للبروتينات الكلية تنوع كبير بين الأفراد من حيث عدد الحزم و نسبة التنوع Polymorphisme.

الطرق و الوسائل

2- الطرق والوسائل العمل

2-1- المادة النباتية Matériel végétal

تتمثل المادة النباتية المستعملة في هذه الدراسة في مجموعة متكونة من 10 افراد من صنف *mursience* ، الذي ينتمي إلى نبات القمح الصلب المنزرع في الجزائر (*Triticum durum* Desf.,) (Boudour,2006)

الجدول(02): الخصائص العامة لصنف *murciense* (Boudour, 2006).

Variétés	السنبلة مزغبة او ملساء	لون السنبلة	لون السفاة	لون الحبة	القصب	التراص
murciense	**سنبلة ملساء**	**حمراء**	**حمراء**	**حمراء غليظة محدبة**	**مليئة فارغة**	**متباعدة**

تم انجاز هذه الدراسة في مخبر الوراثة و البيوكيمياء والبيوتكنولوجياء بمجمع شعب الرصاص بجامعة قسنطينة1.

استعملت في هذه الدراسة تقنية الرحلان الكهربائي أحادي البعد Monodimensionnelle, SDS-PAGE حسب طريقة (Laemmeli, 1970) المعدلة من طرف (Singh et al., 1991)، والتي تعتمد على فصل البروتينات حسب الوزن الجزيئي تحت تأثير حقل كهربائي في هلامة Polyacrylamide.

يكون الفصل على هلام بطريقة رأسية، مع الاهتمام بطبيعة المحاليل المنظمة لأنها تعمل على الاحتفاظ برقم هيدروجيني(pH) ثابتا أثناء زمن الفصل.

تعتمد طريقة الفصل الكهربائي للبروتينات على أساس أن البروتينات لديها شحنة كهربائية وتستطيع أن تتحرك تبعا لنوع الشحنة إذا وضعت في مجال كهربائي حيث حركة الجزيء ألبروتيني تتناسب طرديا مع شدة التيار(من السالب إلى الموجب) و تتناسب عكسيا الوزن الجزيئي للبروتين.

تحدث عملية تشويه Denaturation للبروتينات وتفقد شكلها المنتظم و شحنتها الكهربائية باستعمال المحلول المنظم (Tampon) المحتوي على مادة Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) . ويكتسب المعقد المكون من البروتين ومادةSDS شحنة سالبة بحيث يكون تحرك البروتين في المجال الكهربائي تبعا لوزنه الجزيئي فقط.

الشكل (04): مكونات جهاز الرحلان الكهربائيElectrophorèse

2-2- استخلاص البروتينات الكليةExtraction des protéines totales

تتم عملية استخلاص البروتينات الكلية :

- تسحق حبة قمح لكل فرد تحت الدراسة بواسطة هاون وتوضع في أنبوب Eppendorf.
- يضاف لها 100 µl من محلول الاستخلاص الذي يتركب من:

. 12.5% منTampon Tris HCl Ph 6.8

. 0.02% من Bleu de Bromophenol.

. 20% من Glycérol.

. 0.1% من SDS و 2.5% من Mercaptoéthanol.

. الماء المقطر Eaudistilléé.

يتم رج العينة جيدا بواسطة جهاز الرج الكهربائيVortex. ثم توضع في حمام مائي درجة حرارته 65 ° لمدة 30 دقيقة. بعدها يتم استعمال الطرد المركزي (12000دورة/دقيقة) لمدة دقيقة. ثم يؤخذ الجزء العائم و يحفظ المحلول في درجة حرارة(4° -)إلى غاية الاستعمال.

2-2-1- تحضير محلول السريان Tampon d’éléctrophorése

يتركب محلول السريان من(غليسين1.4 %، Tris 0.3%، SDS 0.1%).

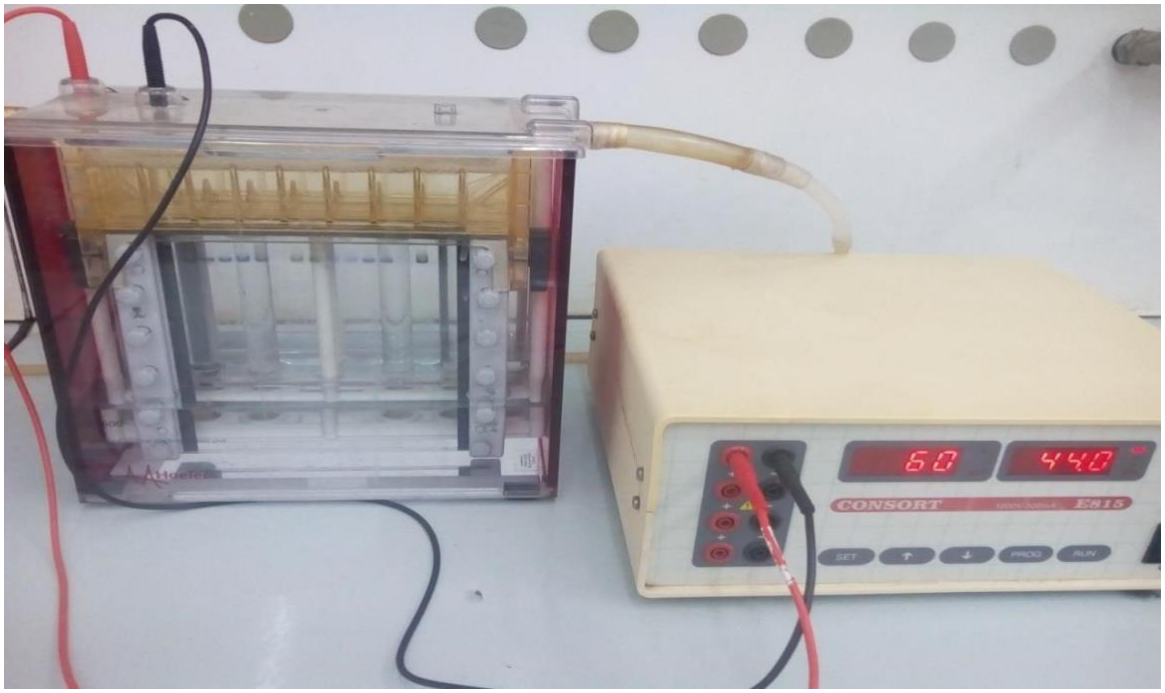
2-2-2- تحضير الهلام Préparation des gels

يتكون الهلام من هلام الفصل Gel de séparation و هلام التركيز Gel de concentration.

جدول(03): يمثل مكونات هلام الفصل و هلام التركيز

مكونات الهلام	هلام التركيز Gel de concentration C=1,4% ، T=2,88%	هلام الفصل Gel de séparation ، T=12,58% C=0,97%
Acrylamide (40%)	23.9مل	2مل
Bisacrylamide (2%)	4.4مل	0.6مل
ماء مقطر	16.5مل	20.4مل
Tris-HCl (pH=8.8)	29.3مل	-
Tris-HCl (pH=6.8)	-	3.4مل
APS (بتركيز1 %)	1.93مل	1.40مل
TEMED	0.093مل	28مل

- يتم تحضير هلام الفصل أولا ثم يوضع بين قطعتين زجاجيتين عل سمك 1.5 مم لمدة تتراوح بين 20 إلى 30 دقيقة.
- أضيفت طبقة من إيزوبروبانول Isopropanol من أجل التخلص من الفقاعات الهوائية.
- يتم سكب هلام التركيز بعد التخلص من طبقة Isopropanol.
- غمس المشط بسرعة في الهلام و يترك لمدة 30 دقيقة ثم يتم نزعه في الأخير للحصول على فراغات (عيون)على مستوى الهلام.
- أخذ 10µlمن العينات و وضعها في العيون (Puits).
- يملأ الحوض بمحلول السريان للفصل الكهربائي Tampon d’éléctrophorése.
- توضع الطبقة الزجاجية في حوض جهاز الرحلان الكهربائي الموصول مع مولد كهربائي بحيث يكون التوتر من 100 إلى 150 v، وشدة كهربائية 80mA.
- بعد تشغيل الجهاز تنتقل البروتينات ذات الشحنة السالبة إلى القطب الموجب حسب وزنها الجزيئي، وتنتهي هذه المرحلة بعد وصول صبغة Bleu de Bromophenolإلى أسفل الهلام.



الشكل (05): جهاز الرحلان الكهربائي أحادي البعد(SDS-PAGE),Monodimensionnelle

2-2-3- تثبيت ،تلوين وإزالة التلوين

بعد ظهور الحزم الناتجة عن الهجرة، ينزع الهلام و يوضع في حوض به محلول يحتوي على عامل تثبيت البروتينات TCA (Acide trichloracétique) بتركيز 60%. و محلول الصبغة

(Bleu de coomassie بتركيز 1%).

يعرض الحوض للتحريك مدة 24 ساعة، بعدها تنزع الصبغة و ذلك بوضع الهلام في ماء الحنفية مع الرج مدة 24 ساعة، و في الأخير يتم حفظ الهلام وتصويره.

يتم تحليل الهلام و تحديد الحزم مع إعطاء الوزن الجزيئي لها، و ذلك من خلال الوزن الجزيئي للمحدد Marqueur.

3 -الدراسة الإحصائيةEtude statistique

تمت معالجة النتائج المتحصل عليها من الدراسة باستعمال برنامج XLSTAT 2014 بتطبيق الطريقة الإحصائية التالية:

شجرة القرابة : **Dendrogramme** التي تبين العلاقات الوراثية اعتمادا على **Classification ascendante hiérarchique**

النتائج و المناقشة

3- النتائج و المناقشة

تم تسجيل النتائج المتحصل عليها من خلال هذه الدراسة في شجرة القرابة **Dendrogramme** اعتمادا على (CAH).

تم فصل البروتينات الكلية ل 10 أفراد من صنف *mursience* بواسطة تقنية الرحلان الكهربائي Electrophorèse (SDS-PAGE) ، قد اظهر التحليل وجود تنوع مهم في نتيجة الفصل، حيث بينت النتائج المتحصل عليها وجود اختلاف في الحزم و أوزانها الجزيئية .

من خلال تحليل صورة الهلام في الشكل (06) ، الجدول(04) و الجدول(05) ، تم التعرف على 36 حزمة تتراوح أوزانها ما بين 10 KDa -250.0KDa حيث سجلت الأفراد G1 ، G2 ، G3 اكبر عدد من الحزم مجموع 25 حزمة

سجل الفرد (G1) مجموع 25 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- -132 KDa- 130.1 KDa- -122KDa -90KDa- 83KDa- 82.2kda - 80kda- 78kda - 95.3 KDa - 77.2 KDa - KDa 59.4 - KDa 56.7- KDa 50.5 - KDa 46.6 - KDa 38.5 KDa 34.1- KDa 32.1- KDa 28.3 - KDa 25.2 - KDa 24.2 - KDa 21.7 - KDa 19.4- KDa 12.1). اظهر نسبة تنوع Polymorphisme قدرت ب 48%

اظهر الفرد (G2) مجموع 26 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- 132.5 KDa- 90.2 KDa- KDa 56.7- KDa 50.5 - KDa 46.6 - KDa 40.9 - KDa 38.5- 36.5KDa 34.1 KDa - 32.1KDa - 28.3 KDa - 25.2 KDa - 24.2 KDa - 21.7 KDa- 18.9 KDa- 11.3 KDa) اظهر نسبة تنوع Polymorphisme قدرت ب 50%

كشف الفرد (G3) عن وجود 24 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- 112.8 KDa- KDa 90.2- KDa 77.2 - KDa 59.4 - KDa 56.7- KDa 50.5 - KDa 46.6 - 40.9KDa - KDa 38.5 - KDa 34.1- KDa 32.1- 28.3KDa - 25.2 KDa - 24.2 KDa - 21.7 KDa - - KDa 18.9 KDa 10.0) اظهر نسبة تنوع Polymorphisme قدرت ب 45.82%

سجل الفرد (G4) مجموع 17 حزمة ذات أوزان جزيئية (59.4 KDa - KDa 56.7- KDa 50.5 - 40.9KDa - KDa 38.5 - KDa 34.1- KDa 32.1- -29.9KDa KDa 25.2 KDa -28.3--KDa 26.9 -26.4KDa - KDa 24.2 - KDa 21.7 - KDa 19.4- KDa 10.0). اظهر نسبة تنوع Polymorphisme قدرت ب 23.52%

أما الفرد (G5) فكشف عن وجود 22 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- 206.5KDa - 122.5KDa- 90.2 KDa - 77.2 KDa - 59.4 KDa - 56.7 KDa - 50.5 KDa - 46.6 KDa - 40.9KDa - 38.5 KDa - 34.1 KDa -32.1 KDa - 28.3KDa - 25.2 KDa - 24.2 KDa - 21.7 KDa - 19.4 KDa -12.1 KDa - 10.0 KDa) اظهر نسبة تنوع Polymorphismeقدرت ب 40.9%

أما بالنسبة للفرد (G6) فقد سجل مجموع 22 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- 122.5KDa- 97.8 KDa - 77.2 KDa - 56.7 KDa - 50.5 KDa - 46.6 KDa - 40.9KDa - 38.5 KDa - 34.1 KDa -32.1 KDa - 28.3KDa - 25.2 KDa - 24.2 KDa - 21.7 KDa - 19.4 KDa - 12.1 KDa) . اظهر نسبة تنوع Polymorphismeقدرت ب 40.9%

سجل الفرد (G7) مجموع 25 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- 216.6KDa - 122.5KDa- 97.8KDa - 77.2 KDa - 59.4 KDa - 56.7 KDa - 50.5 KDa - 46.6 KDa - 40.9 KDa - 38.5 KDa - 34.1 KDa -32.1 KDa - 28.3KDa - 25.2 KDa - 24.2 KDa - 21.7KDa - 19.4 KDa -11.3 KDa - 10.0 KDa) . اظهر نسبة تنوع Polymorphismeقدرت ب 48%

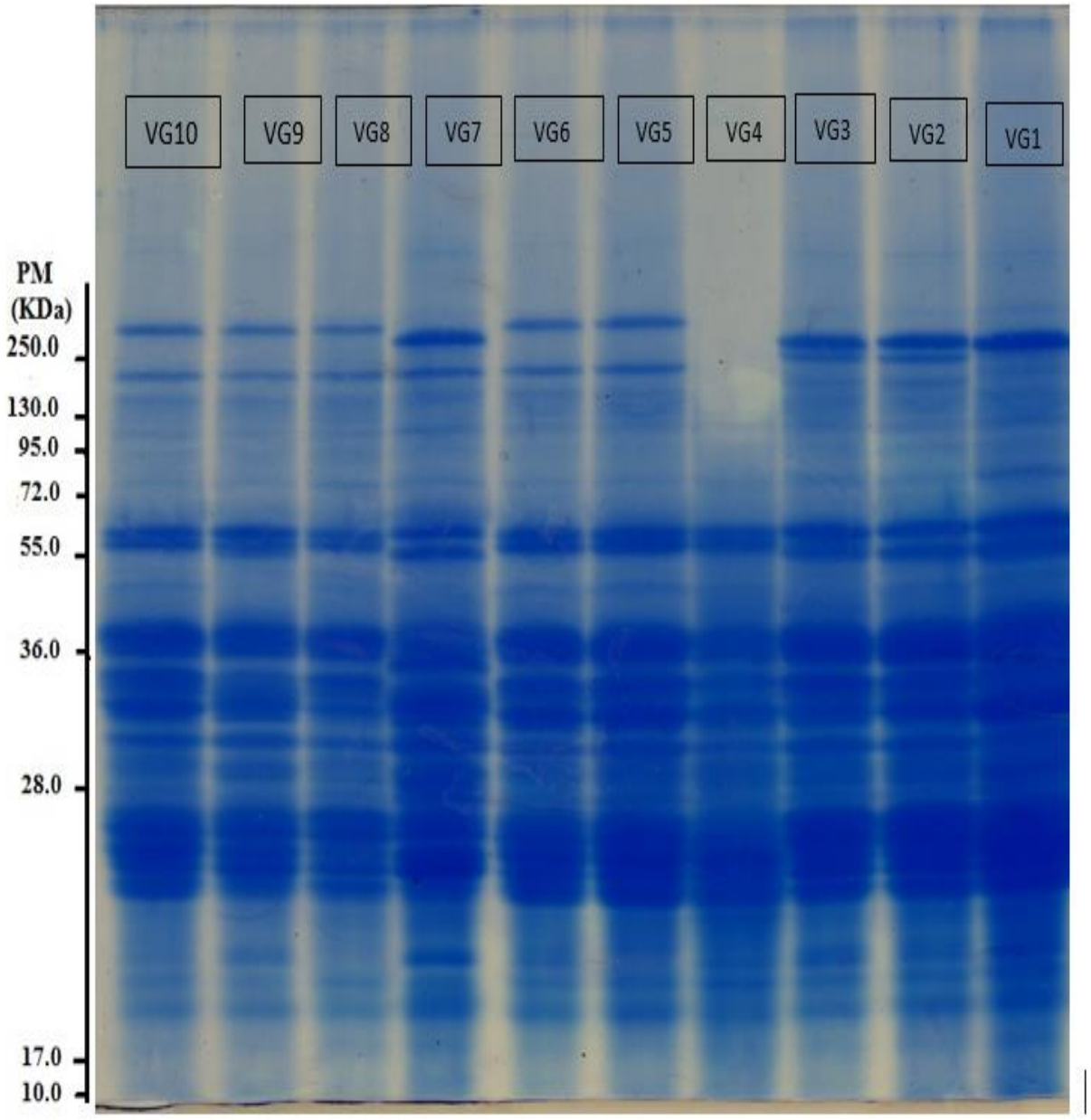
الفرد (G8) سجل مجموع 20 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- 184.6KDa - 122.5KDa- 97.8KDa - 77.2 KDa - 59.4 KDa - 56.7 KDa - 50.5 KDa - 46.6 KDa - 40.9 KDa - 38.5 KDa - 34.1 KDa -32.1 KDa - 28.3KDa - 25.2 KDa - 24.2 KDa - 21.7KDa - 19.4 KDa -11.3 KDa - 10.0 KDa). اظهر نسبة تنوع Polymorphismeقدرت ب 35%

الفرد (G9) سجل مجموع 20 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- 184.6KDa - 122.5KDa- 97.8KDa - 77.2 KDa - 59.4 KDa - 56.7 KDa - 50.5 KDa - 46.6 KDa - 40.9 KDa - 38.5 KDa - 34.1 KDa -32.1 KDa - 28.3KDa - 25.2 KDa - 24.2 KDa - 21.7KDa - 19.4 KDa -11.3 KDa - 10.0 KDa). اظهر نسبة تنوع Polymorphismeقدرت ب 35%

الفرد (G10) سجل مجموع 22 فقد سجل مجموع 22 حزمة ذات أوزان جزيئية (250.0 KDa- 122.5KDa- 97.8 KDa - 77.2 KDa - 56.7 KDa - 50.5 KDa - 46.6 KDa -

- 24.2 KDa - 25.2 KDa - 28.3KDa -32.1 KDa -34.1 KDa - 38.5 KDa - 40.9
- 21.7KDa) 12.1 KDa -19.4 KDa . اظهر نسبة تنوع Polymorphisme قدرت ب 40.9%

الشكل (6) : الرحلان الكهربائي للبروتينات الكلية عند الأفراد المدروسة بطريقة Electrophorse (SDS PAGE) .



الجدول (04) : عدد الحزم و الموجودة عند الأفراد العشرة

الحزم	الأفراد										
Nb	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G1	Statuts
01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
02	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	P
03	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	P
04	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	P
05	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	P
06	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	P
07	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	P
08	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	P
09	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	P
10	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	U-
11	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	U-
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
13	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	P
14	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	P
15	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	P
16	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	U+
17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
18	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	U+
19	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	U-
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
27	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	U+
28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
29	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	U+
30	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	P
31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M
33	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	P
34	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	P
Total	**25**	**26**	**24**	**17**	**22**	**22**	**25**	**20**	**20**	**22**	**223**

P : Polymorphe — غياب الحزمة : (–)

M : Monomorphe — وجود الحزمة : (+)

U : bonde unique

الجدول (05): نسبة التنوع (Polymorphe) لـ 10 أنماط لصنف *mursience*

الأفراد **(Génotypes)**	الحزم المشتركة **(Monomorphe)**	الحزم المتنوعة **(Polymorphe)**		مجموع الحزم	نسبة الحزم المشتركة
		Bonde unique	**Bonde non-unique**		
G1	13	0	12	25	48%
G2	13	0	13	26	50%
G3	13	1(+)	10	24	45.82%
G4	13	0	4	17	23.52%
G5	13	1(+)	8	22	40.9%
G6	13	0	9	22	40.9%
G7	13	2(+)	10	25	48%
G8	13	0	7	20	35%
G9	13	0	7	20	35%
G10	13	0	9	22	40.9%

1-3 دراسة شجرة القرابة Dendrogramme

سمحت صورة الرحلان الكهربائي للبروتينات الكلية الشكل (06) المدروسة بإنشاء شجرة القرابة الشكل (07) التي تبين العلاقات الوراثية بين تسعة أنماط وراثية من صنف *mursience* .

من خلال تحليل شجرة القرابة تبين وجود مجموعتين رئيسيتين في مستوى حوالي 30 % من نسبة التقارب (Similarité) ، كل مجموعة يشترك فيها أفراد يجمع بينهم تقارب وراثي (صلة قرابة) حيث ضمت المجموعة الرئيسية الأولى كل من:**G7.G3.G2.G1** مع وجود صلة قرابة وراثية بين الأفراد **G1.G2.G7** .

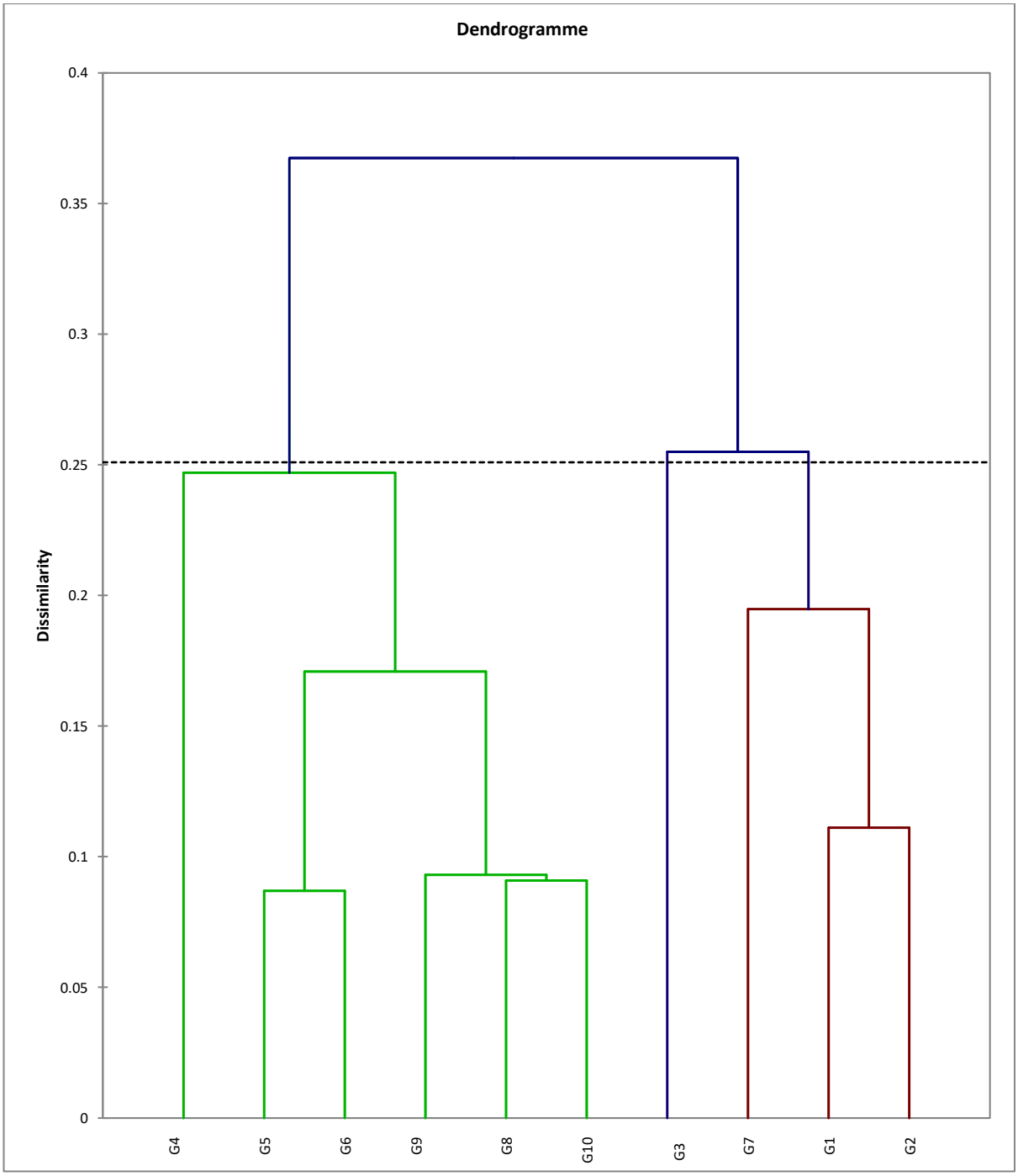
أما المجوعة الرئيسية الثانية فضمت كل من: **G10.G9.G8.G6.G5.G4** مع وجود صلة قرابة وراثية بين الأفراد **G5.G6** و **G8.G9**.

كل مجموعة رئيسية ضمت تحت مجموعات حيث أن المجموعة الرئيسية الأولى تحتوي على 2 تحت مجموعات:

- تحت مجموعة الأولى ضمت 3، تحت مجموعة الثانية ضمت G 7.G2.G1

أما المجوعة الرئيسية الثانية فتحتوي على تحت مجموعتين:

- تحت مجموعة الأولى ضمت 4، تحت مجموعة الثانية ضمت G10.G9.G8.G6.G5



الشكل (07) : شجرة القرابة Dendrogramme للأفراد 10 المدروسة لصنف *mursience*

الجدول (06): توزيع الأفراد حسب المجموعات في شجرة القرابة

المجموعات	المجموعة الرئيسية الأولى		المجموعة الرئيسية الثانية	
	تحت المجموعة 01	تحت المجموعة 02	تحت المجموعة 01	تحت المجموعة 02
الأفراد	G3	G7.G2.G1	G 4	G10.G9.G8.G6.G5

2-3 مناقشة النتائج

تعتبر تقنية الفصل الكهربائي من التقنيات الأكثر استخداما في فصل البروتينات ، تسمح هذه التقنية بفصل عدة أنواع من البروتينات عن بعضها البعض استنادا لأوزانها الجزيئية ، كما تستخدم طريقة الرحلان الكهربائي لتحديد هوية الكثير من أصناف القمح و يساهم استخدامها في الحصول على معلومات إضافية ذات موثوقية عالية.

أظهرت دراسة البروتينات الكلية لتسعة أفراد من صنف *mursience* و ذلك باستعمال تقنية الرحلان الكهربائي وجود 34 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية بين 250.0 KDa –10.0 KDa، كما كشفت الدراسة على وجود تنوع كبير بين الأنماط الوراثية المدروسة من حيث عدد الحزم ، الحزم المشتركة، الحزم الخاصة و نسبة التنوع .

قد قامت Boudour,(2006) تقنية الرحلان الكهربائي Electrophorèse (SDS-PAGE) بفصل البروتينات الكلية ل 11 فرد من صنف (*Melanopus*) حيث نتج عن هدا الفصل 48 حزمة منها 4 مشتركة و 5 خاصة .

حيث تميزت الأفراد G1، G2 و G3 بوجود أكبر عدد من الحزم قدر ب 26.24.25 حزمة مع وجود حزمة خاصة موجبة لكل من الأفراد G3 ، G7 ، G5 .

أمكن من خلال شجرة القرابة للأفراد المدروسة تقسيم مجموعتين رئيسيتين :

- **المجموعة الرئيسية الأولى : ضمت كل من الأفراد G6.G5**
- **المجموعة الرئيسية الثانية : ضمت كل من G10.G9.G8**

قام (2013),Lenka باستعمال تقنية التحليل الكهربائي Electrophorese (SDS-PAGE) بفصل بروتينات التخزين في 18 نمط وراثي لصنف (*Secale cereale*) ، حيث نتج عن هذا الفصل HMW (7.43%) ، (% 68.69) LMW و الوزن المتبقي يخص الالبومين و الغلولين (23.86%) .

كما قام (2014),Chnapek بنفس التقنية في فصل بروتينات التخزين ل 03 أصناف من القمح مختلفة الأصول الوراثية ، 102 فرد من (*Triticum aestivum*) ، 41 فرد من(*Triticum spelta*) ، 35 فرد (*Triticum durum*).) و تبين من دراسته أن الأنماط الجينية ل (*Triticum aestivum*) و (*Triticum durum*) متجانسة أما الأنماط (*Triticum spelta*) غير متجانسة ، و أن تنوع HMW-GS المتكون مرتبط بالعوامل البيئية .

وضح (2015),Chnapek من الدراسات التي قام بها بالاستعمال Electrophorèse (SDS-PAGE) أن هذه التقنية سريعة وغير مكلفة , و تزودنا بمعلومات عن جودة الحبوب. و مع ذلك، هنالك إمكانية التأثير البيئي على تخليق البروتين و لهذا السبب من الضروري الجمع بين هذه التحليلات و تحليل حمض ADN .

أجرى (2019), Eid دراسة توضيحية للنقاط البارزة و الفروق لصنفين من القمح مختلفين في درجة المقاومة فيما يتعلق بالتعبير الوراثي و التوصيف الجزيئي تحت الإجهاد الملحي و الجفاف ،

هذه الدراسة قائمة على الفصل البروتيني و المقارنة بين الحزم ,حيث بينت نتائج التحليل الكهربائي وجود بعض من الحزم في النبات الشاهد و غيابها في النبات المجهد تحت تأثير الإجهاد الملحي، في حين اختلفت النتائج تحت تأثير الجفاف أين ظهرت بعض الحزم الجديدة و اختفت بعض الحزم الدائمة.

تعد العوامل البيئية عاملا رئيسيا يؤثر على إنتاج القمح الصلب بالإضافة إلى كمية و نوعية البروتينات و هذا ما تمت ملاحظته من طرف (2020),Graziano من خلال دراسته لجودة القمح ومعرفة كيفية تأثير البيئة على احتياطي البروتينات على الصنفين *Iride* و *Svevo* من القمح الصلب *Triticum durum*.

الخاتمة

من خلال فصل البروتينات الكلية ل 10 أنماط وراثية لصنف ***mursience*** المنتمي إلى نبات القمح الصلب (Triticum durum Desf.) باستعمال تقنية الرحلان الكهربائي(SDS-PAGE) Electrophorèse التي تعتمد على فصل البروتينات حسب وزنها الجزيئي تحت تأثير حقل كهربائي في هلام Polyacrilamide.

اتضح من هده الدراسة وجود تنوع بين الأفراد المدروسة من حيث عدد الحزم، الحزم المشتركة، الحزم الخاصة و كذالك نسبة التنوع حيث كشفت النتائج عن وجود 34 حزمة مختلفة الأوزان الجزيئية تتراوح بين100 KDA -250 KDA ، حيث تميزت الأفراد G1، G2 و G3 بوجود أكبر عدد من الحزم قدر ب 26.24.25 حزمة مع وجود حزمة خاصة موجبة لكل من الأفراد G3 ، G7 ، G5

من خلال تحليل شجرة القرابة تبين وجود مجموعتين رئيسيتين ، كل مجموعة يشترك فيها أفراد يجمع بينهم تقارب وراثي (صلة قرابة) حيث ضمت المجموعة الرئيسية الأولى كل من:**G7.G3.G2.G1** مع وجود صلة قرابة وراثية بين الأفراد **G1.G2.G7** .

أما المجوعة الرئيسية الثانية فضمت كل من: G**10.G9.G8.G6.G5.G4** مع وجود صلة قرابة وراثية بين الأفراد **G5.G6** و **G8.G9**.

ومن النتائج المتحصل عليها من هذه لدراسة تم تحديد التنوع Polymorphisme بين األفراد المدروسة وتصنيف ألفراد في عدة مجموعات متقاربة وراثيا كل مجموعة رئيسية ضمت تحت مجموعات حيث أن المجموعة الرئيسية الأولى تحتوي على 2 تحت مجموعات:

- تحت مجموعة الأولى ضمت 3، تحت مجموعة الثانية ضمت G7.G2.G1

-أما المجوعة الرئيسية الثانية فتحتوي على تحت مجموعتين:

-تحت مجموعة الأولى ضمت 4، تحت مجموعة الثانية ضمت G10.G9.G8.G6.G5

و ختمت هذه الدراسة بتحديد التنوع Polymorphisme بين الأفراد المدروسة و تصنيف الأفراد في عدة مجموعات وراثية و الوصول إلى صلة التقارب التي تربطها.

من خلال هذه الدراسة يمكن أن نتطلع إلى دراسات أخرى معمقة:

-دراسة بروتينات التخزين لتحديد النوعية.

وتحديد التركيب الوراثي للمقارنة بين الأفراد .ADN-دراسة جزيئية معمقة من حيث تركيب

المراجع

- **المراجع بالغة الأجنبية**

-A-

- Abbassene F., (1997). Etude génétique de la durée des phases de développement et leur influence sur le rendement et ses composantes chez le blé dur (Triticum durum Desf). Thèse de magistère INA. El- Harrach, Alger, 81p

Angus Ed., (2001). The World Wheat Book: a history of wheat breeding. Intercept Limited, Andover, Angleterre, pp: 3-58.

-Annicchiarico P., Bellah F., Chiari T., (2005). Defining sub regions and estimating benefits for a specific adaptation strategy by breeding programs: a case study. Crop Sci., 45, pp: 1741-1749

-**APG III. (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society, 161: 105-121.

-B-

- Bahlouli F., Bouzerzour H., Benmahammed A., Hassous K.L., (2005).
- Selection of high yielding of durum wheat (Triticum durum Desf.) under semi arid conditions. Journal of Agronomy 4, pp: 360-365.

-Barron C., Surget A., Rouau X., (2007). Relative amounts of tissues in mature wheat (Triticum aestivum L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. Journal of Cereal Science 45, pp: 88-96. (Song et al., 1998)

Bietz et Wall, (1972) . Wheat gluten subunits:Molecular weights determined by sodium sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Cereal Chem. 1972. 49, pp: 416-430.

- **Boudour L., (2006).** Etude des ressources phyto-génétiques du blé dur (Triticumdurum Desf.) algérien : analyse de la diversité génétique et des critères d'adaptationau milieu.Thèse Doctorat d'Etat. Université Mentouri Constantine, 142p.

-Boufenar-Zaghouane F., Zaghouane O., (2006). Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC d'Alger, 1ère Ed, 152p.

- **Branlard G., Autran JC., Monneveux P.,** (1989). High molecular-weight glutenin subunit in durumwheat (Triticum-durum). Theoretical and Applied Genetics.78, pp: 353-358. Lesage,2011

- **Branlard G., Chevalet C.,** (1984). Sur la diversité des blés tendres cultivés en FranceI.n : Agronomie, 4, pp: 933-938.

-C-

-Croston R. P., Williams J.T., (1981). A world survey of wheat genetic resources.IBRGR. Bulletin / 80/59, 37 p.

- Croston R. P., Williams J.T., (1981). A world survey of wheat genetic resources.IBRGR. Bulletin / 80/59, 37 p. - Grignac P. (1978). Le blé dur: monographie succinte, Ann. Inst .Nat.Agr Harrach, 8 (2), pp: 83-97(Hillman et al. ,2001)

-E-

- **Ehle H., Horn A.,** (1990). "Immunoaffinity chromatography fenzymes". Bioseparation. 1 (2): 97–110.

-F-

- **Feldman M., (2001).** Origin of Cultivated Wheat. Dans Bonjean A.P. et W.J.

- Fisher MJ., Paton RC., Matsuno K., (1998). Intracellular signaling proteins as smart agents in parallel distributed processes.Bio-Systems 50 (3), pp:159-171

-G-

-Gate P., (1995). Ecophysiologie du blé ; Technique et documentation: Lavoisier, Paris. 429 p

- **Grignac P., (1978).** Le blé dur monographie succinte, Ann. Inst .Nat.Agr Harrach, 8 (2), pp: 83-97.

-K-

-**Kennedy RM., (1990**). "Hydrophobic chromatography.". Methods in enzymology. 182: 339–43.

-Kent NL,, Evers A.D., (1994). Technology of Cereals. Oxford: Pergamon Press -Feillet P., (2000). Le grain de blé : composition et utilisation. INRA. Paris.334P

- **Khelifi D., Hamdi W.,** (2008). Utilisation des marqueurs biochimiques et génétiques dans l'amélioration de la qualité des blés en Algérie. Laboratoire de Biochimie Génétique ,

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Mentouri Constantine Algérie. 22p.

- Khelifi D., Hamdi W., (2010). Utilisation des marqueurs biochimiques et génétiques dans l'amélioration de la qualité des blés en Algérie. Laboratoire de Biochimie Génétique, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Mentouri Constantine Algérie. 22p.

- Khelifi D., Hamdi W., Ben belkacem A., (2004). Caractéristiques Biochimiques et technologiques des blés cultivés en zon e semi-aride. In: Cantero-Mart nez C. (ed.), Gabi a D. (ed.). Mediterranean rainfed agriculture: Strategies for sustainability. Zaragoza: CIHEAM, Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens n: 60, pp: 189-192.

-M-

-Mackey J., (1966). Species relationship in Triticum. Proc.2nd Int. Wheat Genet.Symp., Lund 1965.Hereditas, suppl. 2: 237-276p.

- Masle Meynard J., (1981). Relation entre croisement et développement pendant la montaison d'un peuplement de blé d'hiver, influence des conditions de nutrition. Agronomie.1 (5), pp: 365-374.

- Masle Meynard J., (1982). mise en évidence d'un stade critique par la montée

-Mondoulet L., (2005). Diversité de la réponse IgE dans l'allergie à l'arachide.Caractérisation des allergènes et devenir de leur potentiel allergénique lors des traitements thermiques et des processus digestifs, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, 249p.

- **Mouala M., Mirali N., Kalhout A., Ashtar S., (2008).** Determining the Capability of A-PAGE and SDS-PAGE Electrophoresis Techniques to detect Heterogeneity within some Durum and Bread Wheat, Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (30) No. (3): 260p.

-O-

-Osborne T.B., (1924). The vegetable proteins, 1924, Green and Co. 125p.

-P-

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

- Porceddu E., Tuechetta T., Masci S., D'ovidio R., Lafiandra D., Kasarda D.D., Impiglia A., Nachit M.M., (1998). Variation in endosperm protein composition and technilogical quality properties in durum wheat. Euphytica. 11, pp:197-205.

-R-

-Richards GM., Turner PF., Napier JA., Shewry PR., (1996). Transport and deposition of cereal prolamins. Plant Physiology and Biochemistry 34, pp: 237- 243.

-S-

-Shewry PR., Tatham AS., Forde J, Kreis M, Miflin BJ., (1986). The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment. Journal of Cereal Science 4, pp: 97-106.

-Soltner D., (1980). Les grandes productions végétales. 11 Ed Masson P 20- 30.

- Soltner D., (1998). Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Sainte-Gemme-sur-Loire, Sciences et Techniques Agricoles.456P

-Spencer D., (1984). The Physiological Role of Storage Proteins in Seeds. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B 304, pp: 275-285.

-T-

- **Taher A., Al-Tinawi A., Abdelkader A., (2008.)** Caractérisation biochimique de certaines variétés de blé dur à l'aide de voyageurs électriques pour le stockage des protéines, 6e Conférence scientifique de l'Autorité générale de la recherche scientifique agricole, Département de biotechnologie, Université de Damas.334P

-V-

-Vavilov NI. , (1936) .studies on the origion of cultivated plants app-Botany and plant breeding .3-248pp.

-Vensel W.H., Tanaka C.K., Cai N., Wong J.H., Buchanan B.B., Hurkman W.J., (2005). Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. Proteomics 5, pp: 1594-1611.

-W-

- **Wardlaw I.F., Moncur L., (1995).** The response of wheat to high temperature follow in ganthesis.In:The rate and duration of grain filling .Aust J.Plant.Physiol:22,391 397.

- **Wieser H., (2000).** Comparative investigation of gluten proteins from different wheat 36 species. I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types. Eur Food Res Technol 211, pp: 262-268.

-Z-

- Zadock`s J. C., Chang T. T., Konzak C. F., (1974). A decimal code for growth stages of cereals. Weed Res. 14, pp: 415-421 .

- **المراجع بالغة العربية**

-ك-

كيال (1979) : نباتات و زارعة المحاصيل الحقلية ،محاصيل الحبوب و البقول .دمشق مديرية الكتب الجامعية ص 230

. كيال (1974) : محاصيل الحبوب والبقول(نظري)، جامعة دمشق سوريا، ص203

-م-

محمد (2000): زراعة القمح ، مؤسسة المعارف للطباعة و النشر بالإسكندرية –حمهورية مصر.272ص.

تاريخ المناقشة	الا سم و اللقب : بلايزي عبد الوحيد و بوجاجة نوفل
جوان 2022	

عنوان المذكرة

دراسة التنوع البروتيني لأنماط وراثية لصنف *mursience*

لنبات القمح الصلب (*Triticum durum* Desf) المنزرع بالجزائر.

مذكرة التخرج للحصو ل على شهادة الماستر

ميدان: علوم الطبيعة و الحياة

الفرع: علوم البيولوجيا

التخصص: بيولوجيا و فيزيولوجيا التكاثر

أجريت هذه الدراسة في مخبر الوراثة و البيوكيمياء و البيوتكنولوجيا بمجمع شعب الرصاص بجامعة قسنطينة1.

بهدف فصل البروتينات الكلية ل 10 أنماط وراثية لصنف ***mursience*** المنتمي إلى نبات القمح الصلب (*Triticum durum* Desf.) باستعمال تقنية الرحلان الكهربائي(Electrophorèse (SDS-PAGE التي تعتمد على فصل البروتينات حسب وزنها الجزيئي تحت تأثير حقل كهربائي في هلام Polyacrylamide.

كشفت النتائج عن وجود 34 حزمة مختلفة الأوزان الجزيئية تتراوح بين 250KDA – 100KDA ، و اتضح وجود تنوع بين الأفراد المدروسة من حيث عدد الحزم، الحزم المشتركة و الحزم الخاصة و كذلك نسبة التنوع. تميزت الأفراد **G1**، G2 و G3 بوجود أكبر عدد من الحزم قدر ب 26.25.24 حزمة مع وجود حزمة خاصة لكل من الأفراد **G3**، **G5** ، **G7**التي كانت أوزانها الجزيئية 50,5KDA و 56,7KDA و 59,4KDA على الترتيب.

من خلال تحليل شجرة القرابة تبين وجود مجموعتين رئيسيتين ,كل مجموعة يشترك فيها أفراد يجمع بينهم تقارب وراثي حيث ضمت المجوعة الرئيسية الأولى فضمت كل من: **G6.G5** مع وجود صلة قرابة وراثية بين الأفراد بنسة86%.

أما المجموعة الرئيسية الثانية فجمعت كل من: **G10.G9.G8**مع وجود قرابة لأنماط وراثية بين الأفراد بنسبة87% .

وتبين من النتائج المتحصل عليها تم تحديد تنوع ملحوظ بين الأفراد المدروسة وتصنيفها إلى مجموعات متقاربة وراثيا.

الكلمات المفتاحية :

***Triticum durum* - *mursience* - البروتينات الكلية – Electrophorèse (SDS-PAGE)- Polymorphisme**

مخبر الوراثة و البيوكيمياء و البيوتكنولوجيا بمجمع شعب الرصاص بجامعة قسنطينة1.

لجنة المناقشة:

المشرفة: بودور ليلى	**أستاذة التعليم العالي**	**جامعة الاخوة منتوري- قسنطينة-1**
الممتحنة: شايب غنية	**أستاذة التعليم العالي**	**جامعة الاخوة منتوري- قسنطينة-1**
الممتحنة : حمودة دنيا	**أستاذة التعليم العالي**	**جامعة الاخوة منتوري- قسنطينة-1**

السنة الجامعية:

2022 - 2021