

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Moléculaire et Cellulaire.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

**Estimation de la variabilité génétique du blé dur et du
blé tendre par des marqueurs biochimiques**

Présenté et soutenu par: AOURAGH Kenza et MEGREROUCHE Assia

Le : 28 / 06 / 2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : BELLIL. MCA- UFM- Constantine

Rapporteur : KHELIFI.D Professeur.-UFM- Constantine

Examinatrice : MOUAS.T.N MCA- UFM- Constantine

Année universitaire

2015 – 2016

Dédicace

On dédie ce travail

À nos familles

Nos amis

Et

Nos camarades

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

D'abord, nous remercions ALLAH, Le Tout Puissant, Omnipotent, Clément et Miséricordieux pour avoir guidé et soutenu nos pas et nous a donné le courage et la volonté pour mener à terme ce travail.

Nous tenons aussi à exprimer nos vifs remerciements à Monsieur le Professeur : Khelifi. De lui dire toute notre reconnaissance et notre gratitude d'abord pour son précieux apport scientifique dans son domaine de compétence tout au long de nos études universitaires et, ensuite pour son soutien, son aide constante et ses précieux conseils et orientations qui nous ont permis de mener à bien notre humble projet.

Nos remerciements vont également à Mme Bellile, I de présider ce jury. Ainsi qu'à Mme Mouas T.N. membres de ce jury.

Un grand merci à Mmes Imane Medoukali et Asma Medouri, Doctorantes au sein de notre Institut, pour leur accompagnement et leurs conseils, ainsi qu'à tout le personnel aussi bien au niveau des laboratoires qu'au niveau des services documentaires qui nous ont grandement aidé à la réalisation de notre travail.

Cet humble travail nous donne enfin l'occasion d'exprimer notre affection à la communauté universitaire, terroir de la connaissance, et notamment à nos camarades de promotion auprès desquels on a puisé notre énergie et notre volonté durant notre parcours universitaire.

Abréviations utilisées

µl : Microlitre

A° : Anganchtrome

ACID-PAGE : électrophorèses sur gel de polyacrylamide à pH acide.

Aps : Ammonium Persulfate

Bis : N, N'– Méthylène – bisacrylamide

Chr : chromosome

cM : centimorgans

Da : Dalton

FPM : faible poids moléculaire

HPM : haut poids moléculaire

IEF : isoélectrofocalisation

M : molaire

Ms : matière sèche

PV : poid pour volume

PH:potentiel hydrogène

PM: poids moléculaire

q.s.p : quantité suffisante pour

SDS : sodium- dodécyl – sulfate

SDS-PAGE : électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu SDS

SG : sous unité

T : Température

TCA : Acide trichlotoacétique

TEMED : N, N, N', N'-Tetramethylethylnediamine

Tris : (hydroxy- méthyl)aminométhane

V/V : volume pour volume

KDa : Kilo Dalton

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique des blés dur et tendre (Anonyme, 2011).

Tableau 2 : Composition chimique de grain de blé (Felliet, 2000).

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

Tableau 4 : La cotation de la qualité chez le blé selon la composition en sous unités gluténines. (Selon Branlard, résultat non publié). Indice gluténines = Coef 1A+ Coef 1B+ Coef 1D

Tableau 5 : Liste des variétés des blés durs et des blés tendres

Tableau 6 : composition allélique aux loci Glu-A1, Glu-B1 (codant pour les SG-HPM) et GluA3, Glu-B2, Glu-B3 (codant pour les SG-FPM) des 28 variétés de blé dur cultivées en Algérie.

Tableau 7 : types de diagrammes des sous unités de haut poids moléculaires observé chez la Collection de blé dur

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

Tableau 9 : Indices de similarité entre les 28 variétés des blés durs

Tableau 10 : fréquences allélique au niveau des loci Glu-A3, Glu-B3 et Glu-B2 des variétés des blés durs

Tableau 11 : composition allélique aux loci Glu -A1, Glu-B1, Glu-D1 codant pour les SG-HPM et Glu-B3, Glu-B3, Glu-D3 (codant pour les SG-FPM) des 13 variétés de blé tendre.

Tableau 12 : types de diagrammes des sous unités de haut poids moléculaires observé chez la Collection de blé tendre

Tableau 13 : fréquence alléliques des SH-HPM de la collection de blé tendre cultivée

Tableau 14 : Indices de similarité entre les 13 variétés des blés tendres cultivés.

Tableau 15 : fréquence alléliques des SG-FPM de la collection de blé tendre cultivée

Liste des figures

Figure 1: Coupe d'un grain de blé (Felliet, 2000).

Figure 2 : les différents constituants du grain de blé

Figure 3 : Schéma représentatifs de la structure des SG-HPM

Figure 4 : Structure de la sous unité gluténines de haut poids moléculaire

Figure 5: Hypothèse de structure du polymère de gluténines représentant le mode d'assemblage des différents monomères entre eux, par l'intermédiaire de ponts di-sulfures. (Anonyme, 2006).

Figure 6: Carte de la totalité des loci connu des gluténines et des gliadine (chez le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome A du groupe1. (Distances en centimorgans)

Figure 7: Carte de la totalité des loci connu des gluténines et des gliadine (chez le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome B du groupe1. (Distances en centimorgans)

Figure8 : Profils électrophorétiques de quinze accessions de blé dur

Figure 9 : Profils électrophorétiques de 13 accessions de blé dur

Figure 10: Dendrogramme exprimant la variabilité génétique de 28 variétés des blés durs construit selon logiciel Xlstat (version 2014).

Figure 11 : Profils électrophorétiques de 13 accessions de blé tendre

Figure 12: Dendrogramme exprimant la variabilité génétique de 13 variétés des blés tendre construit selon logiciel Xlstat (version 2014).

SOMMAIRE

Introduction.....	01
Revue bibliographique	
I.Généralité sur le blé.....	03
I.1.Origine et historique du blé dur et du blé tendre.....	03
I.2.Classification botanique et description morphologique.....	04
I.2.1. Classification botanique	04
I.2.2. Description morphologique	05
I.3. Importance économique du blé.....	07
II.Caractéristiques biochimiques des protéines du grain du blé	08
II.1. Le déterminisme de la composition du grain du blé	08
II.1.1.La composition chimique du grain du blé.....	08
II.2.2. Distribution des principaux constituants des blés.....	07
II.2. Caractéristiques biochimiques des protéines de réserve du blé.....	10
II.2.1. Classifications des protéines du blé.....	10
II. 2.2. Propriétés spécifiques des protéines de réserve.....	11
II.2.3. Structure physiques des protéines de réserve	12
II.2.4. La composition en acides aminés des gluténines.....	12
III.Les caractéristiques génétiques des protéines de réserve.	15
III1. Génome du blé et synthèse des protéines de réserve.....	15
III.1.1. Génome du blé	15
III.1.2. Déterminisme génétique des protéines de réserve.....	15
III.2. Le contrôle génétique de la synthèse des gliadines et des gluténines.....	17
III3. La nomenclature allélique des protéines de réserves.....	17
III.3.1. La nomenclature des gliadines	18
III.3.2.La nomenclature des gluténines.	18
III.4. Relation entre diversité de protéines de réserves et la qualité.....	19
Matériel et Méthodes	
I. Matériel végétale	21
II. Méthode d'étude	21
II .1. Définition d'électrophorèse	21
II.2. Principe de la SDS-PAGE	22
II3. Analyse des protéines de réserve du blé	22
II.3.1. Extraction séquentielle des gluténines.	22
II.3.2. Électrophorèse.	23
II.4. Préparation des gels	23

SOMMAIRE

II .5. Analyse statistique.	25
Résultats et discussion	
I. Diversité génétique des sous unités gluténines HPM des blés durs	26
I.1.variabilité du locus Glu A-1	26
I.2.variabilité du locus Glu B-1	26
I.3.diagramme type obtenu	30
I.4. calcul des fréquences alléliques	31
I.5.calcul des indices de similarité des diagrammes variétaux	32
II.Diversité génétique des sous unités gluténines FPM des blés durs	34
II.1.variabilité du locus Glu A3	34
II.2. variabilité du locus Glu B3	34
II.3.variabilité du locus Glu B2.	35
II.4.calcul des fréquences alléliques des diagrammes variétaux.....	35
III.Diversité génétique de sous unité gluténines HPM et FPM des blés tendres.	36
III.1. variabilité du locus Glu A-1	36
III.2. variabilité du locus Glu B-1	38
III.3. variabilité du locus Glu D-1	38
III.4.diagramme type obtenu.....	39
III.5. Calcul des indices de similarité des diagrammes variétaux.	40
IV.Diversité génétique de sous unité gluténine FPM des blés tendres.	42
IV.1. Variabilité du locus <i>Glu-A3</i>	42
IV.2. Variabilité du locus <i>Glu-B3</i>	42
IV.3. Variabilité du locus <i>Glu-D3</i>	42
Conclusion	44
Référence bibliographique	45
Annexes	
Résumé	

INTRODUCTION

Introduction

Le blé occupe actuellement la première place dans la production mondiale des céréales à l'égard de son importance nutritionnelle et économique considérable. Les humains consomment quotidiennement près de 50 000 tonnes de protéines du grain de blé (Glenn, 2003). Le blé demeure ainsi l'aliment de base dans l'alimentation animale et constitue une source principale d'acides aminés surtout pour les animaux d'élevage. Il s'agit d'un aliment hautement énergétique de par sa richesse en glucides et constitue une source de protéines primordiales. La consommation des protéines du grain de blé se fait sous forme de pain, de pâtes...etc.

La domestication et la culture des différentes espèces de blé (*Triticum* et *Aegilops*) a été un élément fondateur des premières civilisations humaines. Ces différentes espèces de blé ont subi des transformations au fil du temps, les faisant passer de l'état de graminées sauvages aux espèces cultivées. Deux principales espèces de blé sont encore cultivées : le blé tendre utilisé pour le pain et le blé dur pour les pâtes (Sakamura, 1918).

Ces différentes espèces de blé ont été générées par des événements successifs de polyploïdisation intervenant après des croisements interspécifiques entre trois espèces ancestrales diploïdes. Le premier événement, impliquant *Triticum monococcum* et *Aegilops speltoides*, a eu lieu il y a environ 500 000 ans et a conduit à l'apparition du blé dur tétraploïde: *Triticum turgidum* (ou blé à pâtes). Le deuxième événement de polyploïdisation a eu lieu au cours de la domestication, il y a environ 9000-12000 ans, entre le blé dur cultivé (tétraploïde) et un autre blé diploïde (*Aegilops tauschii*) et a donné *Triticum aestivum*, le blé tendre panifiable actuel (ou blé à pain). Il est hexaploïde, c'est-à-dire qu'il comporte 6 jeux de chromosomes (Bonjean, 2001).

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale du fait qu'ils occupent la majeure partie des terres cultivées. Cependant, la production est dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit par des variations importantes de la superficie agricole utile, de la production et du rendement. Ainsi, le manque et la mauvaise répartition des pluies pendant l'année expliquent en grande partie la forte variation de la production céréalière.

A l'égard de cette importance stratégique du blé, dans le monde, les aspects liés au rendement et à l'amélioration de la productivité ont toujours été favorisés pour des considérations socioéconomiques évidentes. L'intérêt de la variabilité de la qualité

Introduction

d'usage ne subit des recherches en génétique qu'à partir des dernières décennies .Les recherches sur les bases biochimiques et génétiques de la valeur d'utilisation ont alors été entreprises pour accroître l'efficacité de la sélection des blés de qualité. Or, à cette époque, on savait qu'une large part des différences génétiques de qualité était due au gluten.

Le gluten qui est un mélange de protéines combiné avec de l'amidon dans l'endosperme des céréales se compose de gliadine, de gluténines, d'acides gras et de glucides. Les gluténines et les gliadines ont la capacité unique de former un réseau visco-élastique lors de l'hydratation et jouent un rôle très important sur les caractéristiques rhéologiques de la pâte qui décrivent son comportement lorsqu'elle est soumise à une contrainte de déformation, sa ténacité, son élasticité, sa viscosité, etc.

L'objectif de notre travail vise à apprécier la variabilité génétique des variétés cultivées du blé dur et du blé tendre par les marqueurs biochimiques: les sous unités gluténines de haut et de faible poids moléculaire.

Le présent mémoire est structuré en trois parties : une première partie représente une synthèse bibliographique concernant les variétés de blé dur et de blé tendre, les caractéristiques biochimiques et génétiques des protéines de réserve. La deuxième partie est consacrée successivement à la description du matériel végétal et des méthodes d'analyse utilisées. La troisième partie traite des résultats obtenus lors de cette expérimentation et leur discussion.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur le blé

Les céréales constituent 45% des apports énergétiques dans l'alimentation humaine et leur utilisation organisée est à l'origine des civilisations. Il existe trois groupes de céréales majeures qui correspondent à 75% de la consommation céréalière mondiale. Un premier grand groupe de céréales est formé par le blé, l'orge, le seigle et l'avoine. Il émerge dans le triangle fertile, berceau des civilisations occidentales qui ont donc leur point de départ au Moyen Orient et au Proche Orient. Un deuxième grand groupe est formé par le maïs et un troisième grand groupe est ordonné autour du riz. Avec une production annuelle mondiale d'environ 600 millions de tonnes, le blé est la céréale la plus cultivée dans le monde et la plus consommée par l'homme (Ricrochet al., 2011).

Une des particularités du blé réside dans la forte teneur en amidon (70%) et en gluten (15%) de ses grains. De tous les types de blés, deux ont une importance économique majeure :

- Le blé dur (*Triticum durum*) est surtout cultivé dans les régions sèches et chaudes au sud de l'Europe et en Afrique du Nord. Riche en gluten, il est employé pour les semoules et pâtes alimentaires

- Le blé tendre (*T.aestivum*), le plus cultivé, est produit dans les zones plus tempérées comme le nord de l'Europe et du continent américain pour la confection de la farine panifiable (Sabbagh, 2006).

1.1. Origine et historique du blé dur et du blé tendre

Durant le développement de la civilisation indo-européenne, le blé est devenu la principale céréale des peuples occidentaux sous climat tempéré (Henry et De Buyser, 2001). Le blé est l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité. Sa culture précède l'histoire et caractérise l'agriculture néolithique, née en Europe il y a 8000 ans. La plus ancienne culture semble être le blé dur dans le croissant fertile de la Mésopotamie (Feillet, 2000). Le blé tendre est apparu entre 5000 et 6000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile puis s'est dispersé à partir de la Grèce en Europe (Doussinault et al., 1992). C'est à partir de cette zone que les blés ont été diffusés vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe. La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile (Boulal et al., 2007).

Revue bibliographique

En Algérie, Léon Ducellier (1878-1937) en particulier, parcourant le blé, fit au début du siècle le recensement d'une flore mal connue. Il découvrit et analysa les nombreuses variétés qui peuplaient les champs cultivés, recueillit les échantillons les plus caractérisés, les plus productifs, les plus résistants à la sécheresse ou à quelques maladies. Le blé tendre était inconnu en Afrique du Nord avant l'arrivée des français (Lery, 1982). Les blés ont d'abord évolué en dehors de l'intervention humaine, puis sous la pression de sélection qu'ont exercé les premiers agriculteurs (Henry et de Buyser, 2001).

D'après Sears (1954) in Auriou et al. (1992), Belaid (1996), Feillet (2000) et Henry et De Buyser (2001), les deux espèces des céréales les plus cultivées sont :

* le blé dur (*Triticum durum*) : AABB (2 n = 4 x = 28) Tétraploïde ;

* le blé tendre (*Triticum aestivum*) : AABB DD (2 n = 6 x = 42) Hexaploïde.

La filiation génétique des blés est complexe et incomplètement élucidée. Le croisement naturel *Triticum monococcum* (génome A) X *Aegilops* (*bicornis*, *speltoides*, *longissima* ou *searsii*) (génome B) a permis l'apparition d'un blé dur sauvage de type AABB (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoïdes*), qui a ensuite progressivement évolué vers *Triticum turgidum* ssp. *Dicoccum*, puis vers *Triticum durum* [blé dur cultivé]. Les blés tendres cultivés (AABBDD) seraient issus d'un croisement, également naturel, entre *Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (AABB) et *Aegilops squarrosa* (DD) (Feillet, 2000; Henry et De Buyser, 2001).

1.2. Classification botanique et description morphologique

1.2.1. Classification botanique

Le blé est une plante herbacée, monocotylédone appartenant au groupe des céréales à paille classée de la manière suivante voir (Tableau1).

Tableau 1. Classification botanique des blés dur et tendre (Anonyme, 2011).

Règne	Taxonomie
Embranchement	Spermaphytes
S/Embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf (blé dur)

1.2.2. Description morphologique

Il s'agit d'une graminée de hauteur moyenne dont la structure morphologique générale est la suivante :

- La tige est généralement cylindrique, dressée creuse et cloisonnée par des nœuds pleins et renflés : ce genre de tige a reçu le nom de chaume (Auriauet al., 1992). Vers la base, chaque nœud au contact du sol porte un faisceau de racines adventives et souvent une tige verticale non ramifiée. C'est ainsi qu'un seul grain peut donner naissance à plusieurs tiges. Le phénomène favorisé par les roulages de printemps a reçu le nom de tallage. Les feuilles qui prennent naissance au niveau des nœuds sont disposées en deux rangées opposées autour de la tige. C'est une plante annuelle, semée à l'automne (blé d'hiver) ou au printemps (blé de printemps).
- L'épi est composé de petits épis ou épillets. Chaque épillet est enveloppé de deux bractées protectrices appelées glumes. Il est composé de trois, quatre, cinq fleurs avec une fleur terminale stérile (Bozzini, 1988). Chaque fleur est elle-même entourée de deux petites bractées protectrices ou glumelles.
- La fleur est verdâtre et dépourvue de corolle : il n'y a pas de pétales colorés. Le calice est formé de deux minuscules écailles ou glumellules jouant le rôle de sépales (Bozzini, 1988).
- Le grain de blé est un fruit sec et indéhiscent, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments et formé principalement de trois régions (Figure 1) (Feillet 2000; Clerget, 2011)
- L'albumen qui représente 80-85 % du grain, constitué de l'albumen amylicé (au sein duquel subsistent des cellules remplis de granules d'amidon dispersés au milieu d'une matrice protéique et dont les parois cellulosiques sont peu visibles) et de la couche à aleurone.
- Les enveloppes de la graine et du fruit sont formées principalement de six tissus différents épiderme du nucelle, tégument séminal ou testa (enveloppe de la graine), cellules tubulaires, cellules croisées, mésocarpe et épicarpe.
- Le germe représente 3% du grain, composé d'un embryon, qui est formé d'une coléoptile, de la gemmule, de la radicule, du coléorhize et de la coiffe. Le grain est principalement constitué d'amidon (70%), de protéines (10-15%). Selon les variétés et les conditions de culture, et de pentosanes (8 à 10 %), les autres constituants,

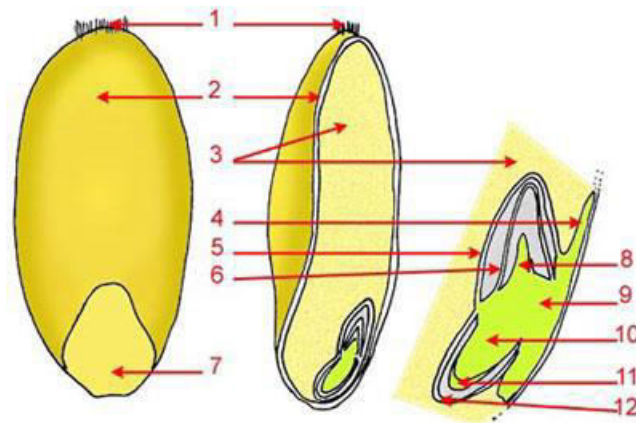


Figure 1. Coupe d'un grain de blé (Felliet, 2000).

1 : poils (stigmates) - 2 : téguments (écorce). Le caryopse est un fruit car l'écorce est le résultat de la fusion des téguments de la graine et de la paroi de l'ovaire. - 3 : albumen.- 4 : cotylédon unique. - 5 : épicotyle (capuchon recouvrant la gemmule).- 6 : première feuille. - 7 : scutelum. - 8 : gemmule. - 9 : tigelle. - 10 : racicule. - 11 : coiffe. - 12 : coléorhize (capuchon recouvrant la racicule).

pondéralement mineurs (quelques % seulement) sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines (Tableau 2). Ces constituants se répartissent de manière inégale au sein des différentes fractions histologiques du grain.

Tableau 2. Composition chimique dugrain du blé (Felliet, 2000).

Nature de composants	Teneur (% ms)
Protéines	10-15
Amidon	67-71
Pentosanes	8-10
Cellulose	2-4
Sucres libres	2-3
Lipides	2-3
Matières minérales	1.5-2.5

1.3. Importance économique du blé

Le blé est l'une des premières céréales cultivées et consommées dans le monde avec une production annuelle d'environ 600 millions de tonnes (Ricroch et al., 2011). Les échanges qui se multiplient entre les régions du monde font de cette céréale l'un des principaux acteurs de l'économie mondiale (Laberche, 2004). La production du blé est surtout localisée dans le bassin méditerranéen d'une part (Europe du Sud, Moyen orient, Afrique du Nord), et en Amérique du Nord d'autre part (Canada central et Nord des USA), où est produit le quart du blé dur mondial (Clerget, 2011).

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale du fait qu'ils occupent plus de 90% des terres cultivées. La consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d'environ 205kg/hab/an (Chehat, 2007). Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien, et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire (Djermoun, 2009). La production céréalrière en Algérie est fortement dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit d'une année à l'autre par des variations importantes de la superficie agricole utile, de la production et du rendement. Ainsi, le manque de précipitations, mais aussi la mauvaise répartition des pluies pendant

Revue bibliographique

l'année expliquent en grande partie la forte variation de la production céréalière (Djermoun, 2009).

2. Caractéristiques biochimiques des protéines du grain du blé

2.1. Le déterminisme de la composition du grain du blé

2.1.1. La composition chimique du grain du blé

Ses constituants se répartissent de manière inégale au sein des différentes fractions histologiques du grain. L'amidon se trouve en totalité dans l'albumen amylicé,

Les teneurs en protéines du germe et de la couche à l'eurone, les pentosanes sont particulièrement élevées. Les matières minérales abondent dans la couche à aleurone, les pentosanes sont les constituants dominants de cette dernière et du péricarpe, les lipides voisinent ou dépassent les 10% dans le germe et dans la couche à aleurone, le tableau suivant décrit mieux la composition du tissu du blé.

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

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

2.2.2. Distribution des principaux constituants des blés

Le grain de blé est un organe complexe, qui permet le développement de la future plante (germe) grâce aux substances de réserve de nature glucidique (amidon) et protéique de l'albumen. Les cellules de l'albumen sont délimitées par une paroi de nature essentiellement glucidique. Ces parois constituent également l'essentiel des différents tissus de protection du grain. L'amidon qui représente environ 70% du grain à maturité est le bio polymère majoritaire du grain avec les protéines de réserve et les polysaccharides des parois(Figure2).

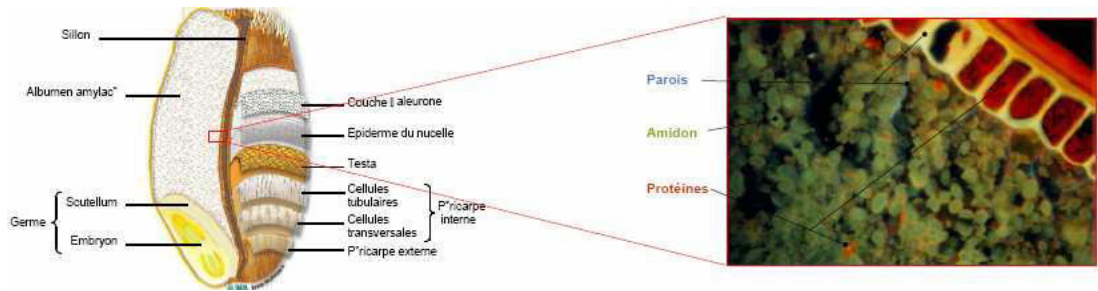


Figure 2. Les différents constituants du grain de blé

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

2.2. Caractéristiques biochimiques des protéines de réserve du blé

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

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

La classification d'Osborne bien que commode par sa simplicité ne s'avère pas totalement sélective vis-à-vis des substances non protéiques et ne les prend pas en considération.

Effectivement, les gluténines et les albumines sont associés à un taux significatif de substances non protéiques telle que les lipides, il y aurait donc des contaminations d'une classe protéique à une autre, la fraction la plus pure étant les gliadines (in cherdouh, 1999).

2.2.1. Classifications des protéines du blé

Depuis les travaux d'Osborne 1907, les protéines du blé sont classiquement réparties en quatre classes en fonction de leur solubilité : les albumines solubles dans l'eau, les globulines solubles dans les solutions salines, les prolamines solubles dans l'éthanol aqueux et les glutélines insolubles dans les solvants précédents.

Revue bibliographique

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

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

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

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

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

2.2.2. Propriétés spécifiques des protéines de réserve

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

- **Gliadines**

Revue bibliographique

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

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

• **Gluténines**

La ténacité et l'élasticité de la pâte s'expliquent par les propriétés très particulières des gluténines. Les agrégats de très haut poids moléculaire seraient les plus fonctionnels, de sorte que la détermination de la teneur totale en polymères protéiques n'aurait d'intérêt que si elle était complétée par une mesure de la distribution par taille de ces polymères. Au dessous d'un certain niveau d'agrégation, ces polymères ne contribueraient pas à la force de la pâte (Feuillet, 2000).

2.2.3. Structure physiques des protéines de réserve

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

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

2.2.4. La composition en acides aminés des gluténines

Les gluténines représentent 30 à 40% des protéines totales et à peu près la moitié du gluten. Elles sont un complexe de protéines de haut poids moléculaire constituées de nombreuses sous-unités polypeptidiques réunies à la fois par des liaisons covalentes et non covalentes (Bietz et Hueber, 1980). Les polymères sont associés par des ponts disulfures inter-chaines. La tendance à ces associations est

Revue bibliographique

surtout due à leur composition en acides aminés. L'acide aminé le plus dominant est l'acide glutamique sous la forme amide: la glutamine, qui fournit des liaisons hydrogènes.

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

Les SG-FPM comparativement aux SG-HPM se caractérisent par une teneur plus élevée en cystéine; leur richesse en acides aminés non polaires (Phénylalanine, Valine, Leucine, Isoleucine et Méthionine) les rend particulièrement hydrophobes. Les SG-HPM sont caractérisés par un taux élevé de proline glycine, mais faible en phénylalanine, et lysine.

Les SG-HPM consistent en trois domaines structuraux : un domaine N terminal non répétitif (A) comprend 80-150 résidus, un domaine central répétitif (B) comprenant 480-700 résidus et un domaine non répétitif C-terminal de 42 résidus (Shewry et al., 1992). (Figure 3) (Figure 4)

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

Des études moléculaires ont permis de donner une image claire de la structure des SG-HPM (Shewry et al., 1989,1997 in Anjum, 2007) .Tatham et al. (1985) propose un modèle pour les domaines répétitifs (B) ou les coudes β confèrent aux SG-HPM son élasticité distinctive. Contrairement au domaine central répétitif, la structure des domaines N et C terminal est globulaire en hélice α (Miles et al., 1991 in Anjum, 2007 ;Shewry et al., 1997) (Figure 4). Ainsi, les sous unités gluténines de HPM ont des séquences N-terminales d'acides aminés, différentes de celles des sous unités de FPM, au sein de ces deux groupes, les sous unités forment des polymères liés par des ponts disulfures mixtes et donc contribuent à l'élasticité du gluten (Figure5).

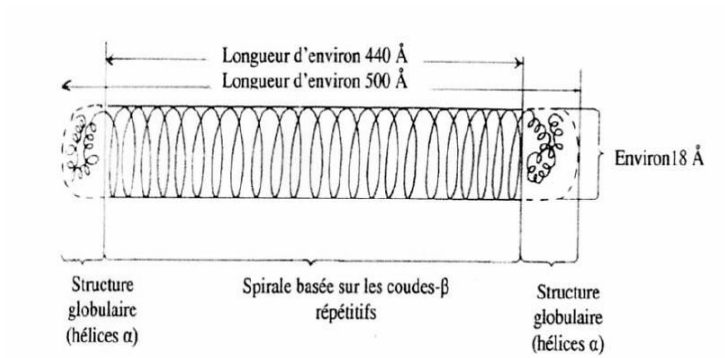


Figure 3. Schéma représentatifs de la structure des SG-HPM

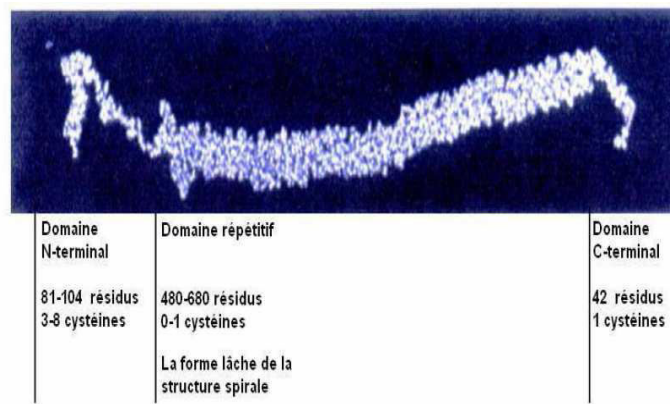


Figure 4. Structure de la sous unité gluténines de haut poids moléculaire

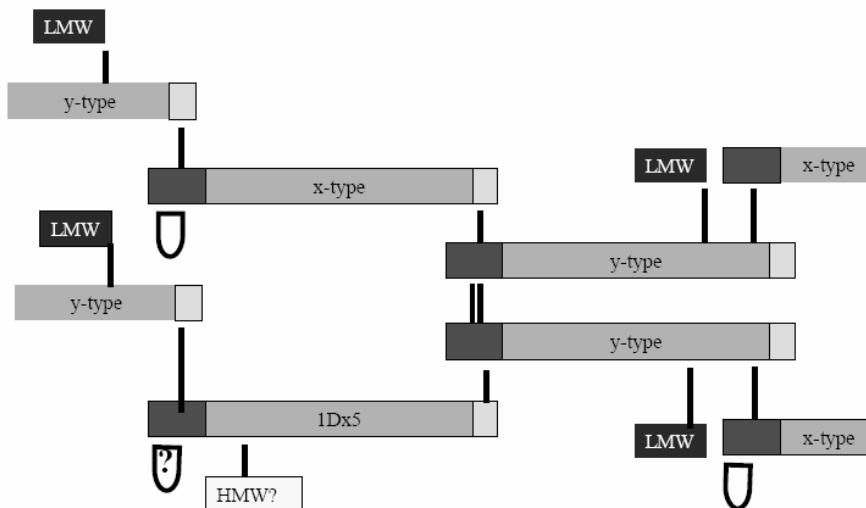


Figure 5. Hypothèse de structure du polymère de gluténines représentant le mode

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

3. Les caractéristiques génétiques des protéines de réserve

3.1. Génome du blé et synthèse des protéines de réserve

3.1.1. Génome du blé

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

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

Dans les années 80, les travaux de Payne et ses collaborateurs ont largement contribué à la connaissance biochimique et génétique des SG-HPM. De plus l'existence de lignées aneuploïdes d'une variété d'origine chinoise : Chinese Spring ont permis à Orth et Bushuk (1974) et Bushuk (1974) et Bietz et al. (1975) de localiser les gènes des SG-HPM de ce cultivar. Les loci des gènes codant pour les gliadines et les gluténines sont indiqués dans les figures 6 et 7.

3.1.2. Déterminisme génétique des protéines de réserve

L'analyse génétique de ces protéines est aujourd'hui bien avancée. Ainsi, sur les vingt et une paires de chromosomes du génome du blé tendre, six d'entre elles sont responsables de la synthèse des gliadines et trois de celles des gluténines. Chez le blé tendre (*T. aestivum*), ces protéines sont codées par des gènes situés sur douze principaux loci complexes (car pouvant être formés de plusieurs gènes très liés). Parmi ceux-ci citons ceux qui sont responsables de la synthèse des SG-HPM (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*), des SG-FPM (*Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3*), des α -gliadines (*Gli-A1*, *Gli-B1-Gli-D1*) et des α -, β -, γ -gliadines (*Gli-A2*, *Gli-B2* et *Gli-D2*). À ces douze

Revue bibliographique

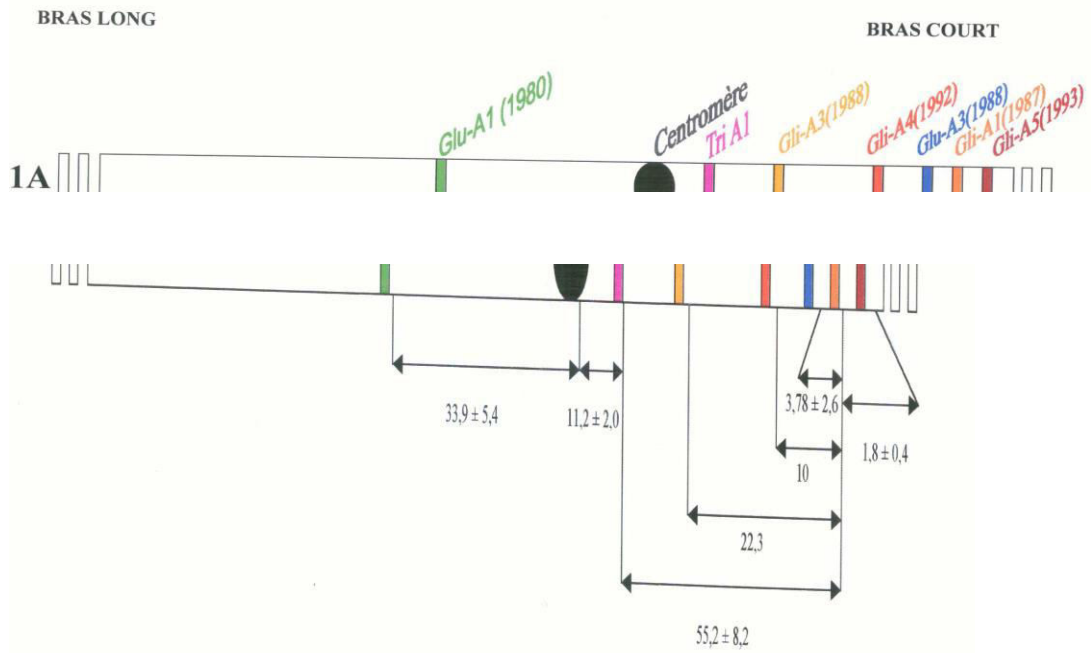


Figure 6. Carte de la totalité des loci connus des gluténines et des gliadines (chez le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome A du groupe 1. (Distances en centimorgans)

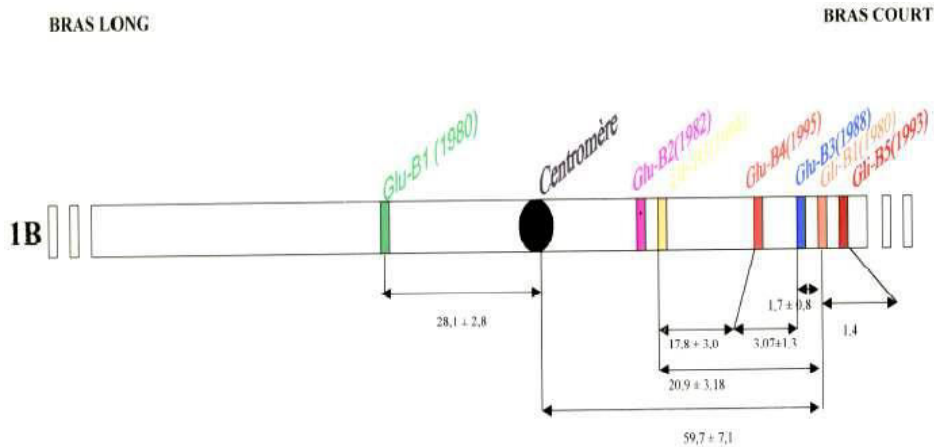


Figure 7: Carte de la totalité des loci connus des gluténines et des gliadines (chez le blé tendre et le blé dur) sur le chromosome B du groupe 1. (Distances en centimorgans)

loci viennent s'ajouter d'autres gènes liés (*Gli-5*, *Gli-6*) ou relativement éloignés (*Gli-3*) sur les chromosomes du groupe 6, le nombre de loci est nettement moins important que dans le cas du groupe 1. Cependant Félix a identifié deux nouveaux loci (*Gli-A7* et *Gli-B7*) à environ 5cM respectivement des loci *Gli-A2* et *Gli-B2*. (Branlard, 1999).

À chacun des loci des gliadines, se trouve un ensemble de gènes étroitement liés, pouvant être identiques ou différents (jusqu'à 12 gènes différents ont été dénombrés), conduisant à autant de protéines transmises en bloc alléliques. Le nombre de blocs alléliques observés à ce jour par électrophorèse monodimensionnelle des gliadines est au total, pour les six loci (*Gli-1* et *Gli-2*), voisin de 130 (Metakovsky, communication personnelle). La diversité alléliques des SG-HPM est moindre (environ 40 allèles répertoriés). Les sous-unités FPM des gluténines sont difficilement séparées, en totalité, par électrophorèse monodimensionnelle, de sorte que la quinzaine d'allèles connus est très largement sous estimée. (Branlard, 1999).

3.2. Le contrôle génétique de la synthèse des gliadines et des gluténines

Chaque locus *Glu-A1*, *Glu-B1*, et *GluD1*, codant pour les SG-HPM, comprend deux gènes *x* et *y* ; le poids moléculaire des sous-unités codées par les premiers est supérieur à celui des sous-unités codées par les seconds. Les variétés de blé tendre possèdent les six gènes codant pour les SG-HPM, mais trois, quatre ou cinq sous-unités gluténines seulement. Les différences observées entre le nombre de gènes et le nombre de sous-unités s'explique par la présence de gènes silencieux : le gène *A1-y* chez tous les blés, les gènes *B1-y* et /ou *A1-x* chez certains. Le polymorphisme de ces derniers a été particulièrement étudié, en raison des relations mises en évidence entre la présence de certaines sous-unités de haut poids moléculaire et la qualité d'utilisation des blés (Feuillet, 2000).

3.3. La nomenclature allélique des protéines de réserves

Le système de numérotation a été développé par Payne (1983) pour identifier les SG-HPM, aussi la provenance de la localisation des chromosomes des gènes est le système utilisable maintenant. D'origine, l'assignement pour l'accès aux numéros était relié à la mobilité sur le gel de SDS-PAGE, chaque numéro est associé à sa mobilité. Comme on a identifié de nouvelles sous-unités, il y a eu des difficultés de trouver l'ordre logique, et comme il y avait quelques sous-unités comme la 21, avec sa mobilité et un numéro le plus élevé que celui de la sous-unité originale. Quand

l'identification est numérique, tout le génome est automatiquement inclus et identifie d'où les sous unités proviennent et qu'elles indiquent le type x ou le type y. (Gianibelli et al., 2001).

3.3.1. La nomenclature des gliadines

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

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

3.3.2. La nomenclature des gluténines

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

Le deuxième système se base sur la génétique ou la classification des allèles portés sur les trois loci, c'est un système qui se repose sur la nomenclature des allèles correspondant aux sous unités de gluténines séparées par SDS-PAGE et non pas des chiffres (par exemple les sous unités 1 et 2* sont codées par des allèles Glu-A1a et Glu-A1b respectivement (Gianibelli et al., 2001).

Revue bibliographique

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

3.4. Relation entre diversité de protéines de réserves et la qualité

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

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

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

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

Revue bibliographique

Tableau 4. La cotation de la qualité chez le blé selon la composition en sous unités gluténines. (Selon Branlard, résultat non publié). Indice gluténines = Coef 1A+ Coef 1B+ Coef 1D.

Chromosome	A1	Chromosome	B1	Chromosome	D1
Sous-unité GLU	Coef	Sous-unité GLU	Coef	Sous-unité GLU	Coef
2*	30	13-16	40	5-10	30
1	15	7-9	20	2-12	7
Nul	0	17-18	18	2-11	7
		8-7	15	3-12	6
		7	8	4-12	5
		21	5		
		6-8	2		
		20	2		

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Références bibliographiques

Matériel et méthode

1. Matériel végétal

Cette étude porte sur une collection de 28 variétés de blé dur et 13 variétés de blé tendre. Cette collection provenant de l'ITGC (Khroub-Constantine) (Tableaux 5), fait partie de nombreux travaux sur la diversité des protéines de réserves du blé dur et blé tendre.

Tableau 5. Liste des variétés des blés durs et des blés tendres.

Blé dur		Blé tendre	
N° de variétés	Nom	N° de variétés	Nom
1	Heider	1	HIDHAB(HD1220)
2	MEXICALI(ACSAD65)	2	ANZA
3	CAPE III8	3	ARZ
4	WAHA	4	AIN ABID (AS)
5	SABIL-1	5	ZIAD
6	MRB 5	6	FLORENCE AURORE
7	MASSARA-01	7	SAHEL
8	REZZAK	8	GIZA 164
9	MRB17	9	WH542
10	TELSET	10	INQILAB91
11	SILLIANA	11	SAKHA69
12	CHEN'S'	12	CHAM-4
13	JORI C69	13	PASSTOR
14	SEBOU		
15	HAURANI		
16	SAHEL		
17	ARDENTE		
18	T,POLONICUM X ZB		
19	AGHTHE		
20	MOHAMED BEN BACHIR		
21	MONT PELLIER		
22	HEDBA-03		
23	BIDI 17		
24	OUD ZENATI		
25	DJENNAH-KHETIFA		
26	GLOIRE DE MONT GOLFIER		
27	BELYOUNI		
28	SIMETO (8)		

2. Méthode d'étude

2.1. Définition d'électrophorèse

C'est un procédé biochimique qui permet le fractionnement des molécules biologiques (protéine, acide nucléique) par le passage du courant électrique sur un support poreux en fonction de leur charge nette ou de leur poids moléculaire.

Matériel et méthode

Cette technique permet d'étudier une 20ème ou une 30ème d'individus et comparer entre eux l'expression de plusieurs gènes.

Concernant les protéines, elles ont la propriété de se charger électriquement lorsqu'elles sont en solution et placées dans un champ électrique, elles se déplacent vers l'anode ou la cathode selon leur charges (négative ou positive). La vitesse de migration dépend non seulement de la charge des protéines, de leur taille et leur forme, mais aussi des conditions expérimentales telles que le pH, la composition des solutions et le support électrophorétique. La révélation se fait après coloration des protéines avec du bleu d'aniline ou bleu de Coomassie en présence d'un fixateur acide le TCA (acide trichloracétique) ou par la coloration d'un composé chimique associé a la protéine comme dans le cas des glycoprotéines (réaction de SHIFF) et les lipoprotéines (réaction au noir de sodium) ou, dans le cas des enzymes, avec leur substrat en présence du coenzyme.

Le dispositif d'électrophorèse est constitué d'un gel dans lequel sont déposés des échantillons et dont deux extrémités opposées sont en contact avec une solution tampon dans laquelle baignent les électrodes.

On distingue différents types d'électrophorèse, l'électrophorèse milieu acide (acide-PAGE), l'électrophorèse en présence du sodium-Dodécyl-sulfate (SDS-PAGE), l'isoélectrofocalisation.

2.2. Principe de la SDS-PAGE

A été mise au point par Laemmli (1970) où la séparation des molécules se fait en milieu basique a pH= 8.8 en présence d'un détergent, le sodium -dodécyl-sulfate qui masque la charge des protéines par sa propre charge négative et permet donc de faire migrer les protéines selon leur poids moléculaires et leurs conformations uniquement.

2.3. Analyse des protéines de réserve du blé

2.3.1. Extraction séquentielle des gluténines

L'extraction des protéines est réalisée à partir de la farine d'un grain obtenue après broyage au mortier et recueillie dans un Ependorff de 1.5 ml ; La méthode d'extraction utilisée dans notre travail est la méthode d'extraction séquentielle décrite par Singh et al., (1991) qui consiste à extraire les protéines de réserves séquentiellement selon leur solubilité dans les 3 solutions d'extraction de base utilisée.

En premier lieu, on rajoute à la farine 1 ml d'une solution de 1-propanol à 50% (solution A) pour extraire les gliadines avec étuvage à 65°, pendant 30 min, entrecoupé de deux vortex intermédiaires toutes les 10 min. Ensuite, le surnageant est éliminé du tube et est récupéré dans un autre Ependorff après centrifugation à 1000 g pendant 1 min. On rajoute à la farine la

Matériel et méthode

solution A une seconde fois, on étuve à 65° pendant 30 min , cette fois sans vortex intermédiaire , puis on centrifuge à 10000 g durant 1 min et on élimine le surnageant puis on réintroduit 0.5 ml de la solution A une troisième et dernière fois. On vortex et on centrifuge à 10000 g pendant 5min, sans étuver, puis on élimine le surnageant par aspiration. Ces trois étapes d'extraction, à la solution A, ont pour but d'extraire et d'éliminer la quasi-totalité des gliadines.

En second lieu on va introduire 100 ul de la solution B1, qui est à base de 1-propanol à 50% (v/v) de tris HCl pH = 8 à 0.08 M et d'un réducteur le Dithiothréitol (DTT) à 1% (p/v) préparée extemporanément pour extraire et réduire les gluténines. Ensuite on vortex, on étuve à 65° pendant 30 min puis on centrifuge à 10000 g durant 5min.

En troisième lieu, on additionne 100 ul de la solution B2 (sans éliminer la solution B1) qui, elle, contient un alkylant le 4-vinylpyridine a 1,4% (v/v) à la place du DTT. Ensuite on incube sans vortex à 65° pendant 15 min et on centrifuge à 10000 g durant 2 min. La dernière étape consiste à récupérer 100 ul du surnageant obtenu et à additionner 100 ul de la solution C qui est constituée d'SDS à 2% (p/v), de glycérol à 40%(v/v), de bleu de bromophénol à 0.02%(p/v) et de 0.08M de tris Hcl pH=8. On vortex, on incube à 65° pendant 15 min et on centrifuge à 10000 g pendant 2 min. Cette dernière solution a pour rôle d'entourer les protéines de A charge négative de l'SDS, de densifier l'extrait protéique et de le colorer pour pouvoir suivre la progression du front de migration sur le gel.

Les gliadines, qui ont été récupérées dans la première étape, peuvent être séparées par SDS-PAGE dans un gel a T = 10,3% et c = 1.3% (ce qui n'a pas été fait dans ce travail). Après évaporation du surnageant, durant une nuit, on l'étuve à 65°, puis l'addition aux échantillons de 200 un de la solution C et l'étuvage à 65° pendant 15min et centrifugation pendant 5min à 10000 g.

2.3.2. Électrophorèse

Il s'agit d'une électrophorèse monodimensionnelle en présence du sodium Dodécyl Sulfate sur gel polyacrylamide (SDS-PAGE) selon la méthode de Laemmli (1970) modifiée par Singh et al, (1991)

2.4. Préparation des gels

Dans la méthode de séparation par SDS-PAGE nous devons préparer deux types de gels ; un gel de séparation qui permet de fractionner les différentes protéines et les sous unités protéiques, selon leur différent poids moléculaire, et un gel de concentration qui, lui, précède le gel de séparation et permet de donner à toutes les protéines un même point de départ. Grâce à ça, elles rentrent, toutes en même temps, dans le gel de séparation.

Matériel et méthode

Avant de préparer les gels on doit procéder au montage des cassettes. Après les avoir nettoyées à l'éthanol on va les placer l'une contre l'autre en les séparant avec deux espaceurs dont la largeur est choisie selon les paramètres recherchés. Dans notre cas on choisit des espaceurs de 1.5 mm.

-Le gel de séparation (runnig-gel)

Le gel est à T = 12.8% et C = ses dimensions sont de 180×160×1.5. Il est constitué d'acrylamide à 35% (p/v), de N-N'-Méthylén-Bisacrylamide à 2% (p/v), de tris HCl à pH=8.8 d'SDS à 10% (p/v) et d'eau distillée. La réaction de polymérisation est catalysée par l'ammonium persulfate (APS) à 1% (p/v) et le TEMED. Une fois tous les constituants mélangés (les catalyseurs sont ajoutés en dernier lieu), il est coulé, entre les cassettes (montrées auparavant), doucement, pour ne pas faire de bulles jusqu'à un niveau délimité sur la plaque, pour laisser la place au gel de concentration à 4cm de l'encoche) . Ensuite, on coule une fine couche de buthanol pour égaliser la surface du gel et pour éviter son contact avec l'air (pour faciliter la polymérisation). Au bout de 30 à 45 min le gel prend, on se débarrasse du buthanol et on rince à l'eau distillée.

-le gel de concentration (stacking gel)

Le gel est à T = 2.88% et C = 1.42% avec les dimensions 180×40×1.5 mm. Il est constitué de la même façon que le gel de séparation, avec une seule différence au niveau du tri HCl, qui a un pH de 6.8. Le gel est coulé sur le gel de séparation, les peignes sont posés bien centrés, entre les cassettes et sans faire de bulles. Le gel prend après 45 à 60 min, les peignes sont retirés, soigneusement, pour ne pas casser les puits. Enfin, on verse du tampon dans les puits est on fait les dépôts.

-Le tampon d'électrophorèse

Le tampon de migrations est constitué de glycine à 1.41%(p/v), de tris à 0,30 % (p/v) et d'SDS à 0,1 % (p/v).

- La migration

Après le dépôt des différents échantillons, la cuve d'électrophorèse est remplie, à un niveau suffisant, avec le tampon d'électrophorèse, c'est le bac inférieur. Ensuite, le bac supérieur situé entre les deux plaques (bien serrée contre les joints pour éviter les fuites) est rempli, lui aussi, avec le même tampon jusqu'à ce que les faces supérieures des gels soient immergées. Ensuite, ce dernier est placé dans la cuve d'électrophorèse pour que les faces inférieures des gels plongent dans le tampon.

Matériel et méthode

Enfin, la cuve est fermée et est reliée à un générateur qui va assurer le passage du courant électrique. La migration est menée à une intensité de courant de 40mA/gel et une tension maximale de 1200 v.

-Fixation et coloration

Après la sortie du front de migration (coloré en bleu), la migration est arrêtée, les gels sont démoulés et récupérés dans des bacs, en plastique, puis recouverts avec une solution de coloration. La solution de coloration est constituée d'un fixateur des protéines acides, le TCA (acide trichloracétique) à 60 % et d'un colorant, le bleu de coomassie R250. Les gels doivent être maintenus en agitation pendant 24 heures pour éviter que le colorant s'y dépose. Après ils sont décolorés dans l'eau jusqu'à ce que le front du gel devienne transparent.

2.5. Analyse statistique

Après la lecture génétique des sous unités gluténines de haut poids moléculaire ; nous avons calculé les fréquences alléliques, l'indice de similarité et tracer un arbre phylogénique ou dendrogrammes à l'aide du logiciel Xlstat (version 2014).

RESULTAT
ET
DISCUSSION

1. Diversité génétique des sous unités gluténines HPM de blé dur

1.1. Variabilité du locus *Glu-A1*

Une seule SG-HPM a été exprimée par ce locus, il s'agit de la sous unité 1. Selon la nomenclature de Payne et Lawrence (1983) complétée par Branlard et al. (1990), cette sous unité est codée par l'allèle *Glu-A1a*. Elle est rencontrée chez une seule variété (Beliouni) sur les 28 analysées (Figure 8). L'allèle *Glu-A1a* est lié à une bonne qualité pour la ténacité et la force de la pâte (Payne et al., 1987 ; Odenbach et mahjoub, 1988). Le deuxième allèle : *Glu-A1c*, désigné par la sous unité nulle (absence d'expression) caractérise 27 variétés sur les 28 variétés analysées (Figure 8 et 9). D'après Payne et al. (1987), cet allèle (*Glu-A1c*) est relié à une plus faible valeur d'utilisation. Aussi, Randhawa et al. (1997) ont étudié le polymorphisme des SG-HPM d'une collection, constituée de 144 espèces sauvages et cultivées, diploïdes et tétraploïdes, y compris 25 accessions de *T. diccocomet 13 T. durum*, et dans cette étude toutes les lignées *T. durum* montrent l'absence complète des sous unités codées par le locus *Glu-A1*.

1.2. Variabilité du locus *Glu-B1*

L'analyse électrophorétique des 28 variétés des blés durs a permis de distinguer les bandes suivantes : 6, 7, 8, 13, 14, 15, 16 et 20. Presque la quasi-totalité des SG-HPM sont exprimées par le locus *Glu-B1*. En se référant à la nomenclature de Branlard et al. (1990), on a observé l'apparition de différentes combinaisons entre les sous unités, citées précédemment. Le couple (7-8) est l'allèle *GluB1b* avec une fréquence de 28.57%, est présent chez 8 variétés (figure 8 et 9). Le couple (6-8) lié à la mauvaise qualité des blés, exprimé par l'allèle *Glu-Bd*, avec la fréquence de 7.1 %, représenté par 2 variétés. Le couple (14-15), codé par l'allèle *Glu-B1h*, est présent chez une seule variété sur 28 variétés et se trouve chez la variété Hedba-03 et fait la fréquence de 3.57%. Le couple (7-15) qui est l'allèle *Glu-B1 z(vii)* est présent chez une seule variété sur les 28 variétés et se trouve chez la variété Hardente avec la fréquence de 3.57%. Le couple (6-16) (allèle *Glu-B1ac(xiii)*) se trouve chez la variété Haurani, fait également la fréquence de 3.57 %. La sous unité (20x-20y) codée par l'allèle *Glu-B1e* est présent chez la moitié des variétés avec une fréquence de 50%. Le couple (13-16) (allèle *Glu-B1f*), exprimé chez la variété Mohammed ben bachir, sachant qu'il caractérise l'excellente qualité technologique de la pâte, alors que Khan et al. (1989) rapportent que les sous unités 7+8, caractérisent les blés de bonne qualité boulangère, et que les sous unités 6+8 sont associés aux blés de mauvaise qualité Tableau (6).

Résultats et Discussions

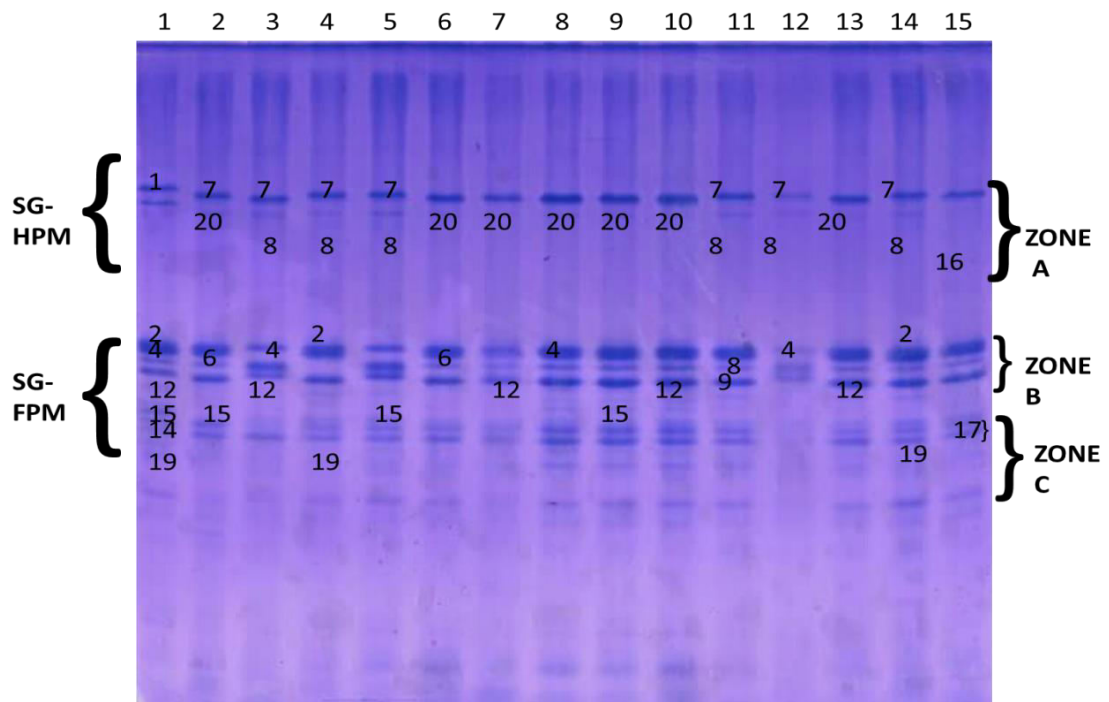


Figure 8 Profils électrophorétiques de quinze accessions de blé dur : (1)-Heider) ; (2)-Mexicali) ; (3) Cape III8-(4)-Waha ; (5)Sabil-(6)MRS-(7)MASSARA-01-(8)- *REZAK* (9)MRB17 -(10)TELSET-(11)SILIANA-(12)CHEN'S')-(13)JORIC69; (14)- SEBOU(15)-HAURANI

Résultats et Discussions

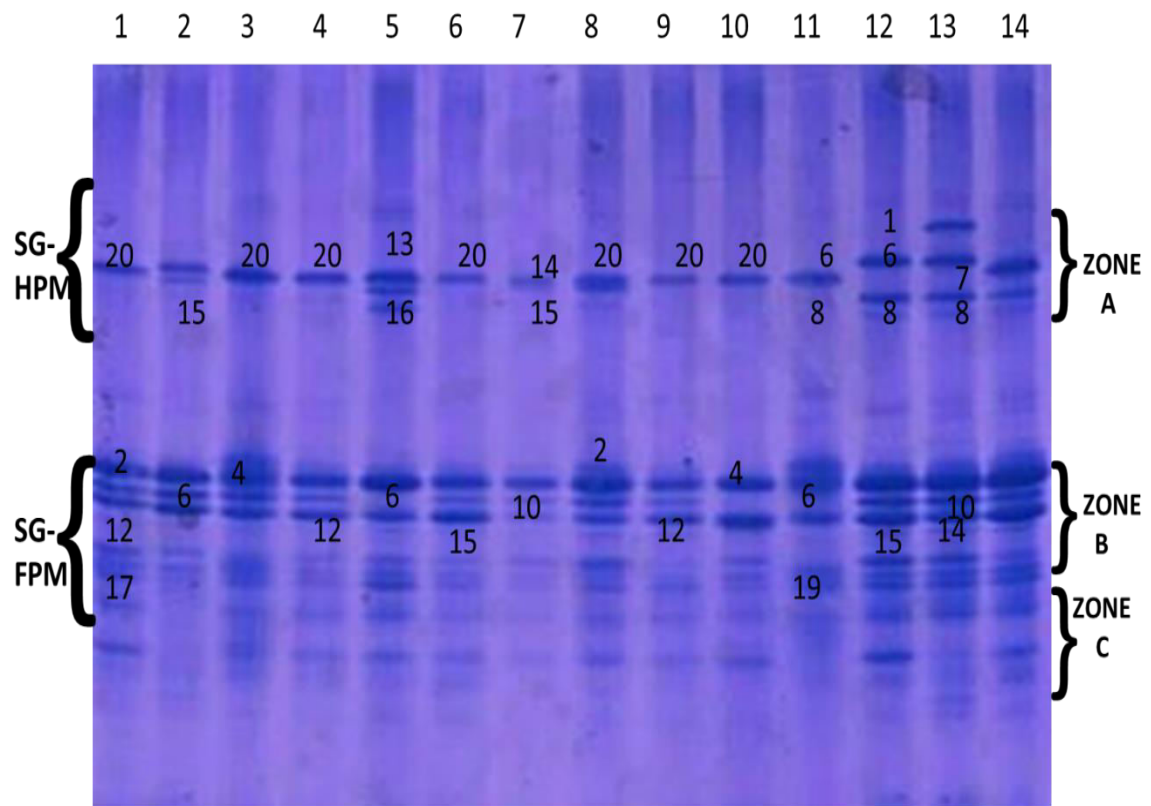


Figure 9. Profils électrophorétiques de 13 accessions de blé dur : (1)- SAHEL;(2)-Ardente ;(3)- *T.polanicum*1 (4)- AGHATHE; (5)-MOHEMED BEN BACHIR, (6)-MON PELIER ; (7)-Hedba3; (8)BIDI17-(9)- *OUED ZENETI*; (10)- *DJNEH KHTIFA*; (11)GOLOIR DE MON GOLFIER- (12)- *BELYOUNI*(13)-*SIMETO*(8)

Résultats et Discussions

Tableau 6. Compositionnelle aux loci *Glu-A1*, *Glu-B1* (codant pour les SG-HPM) et *GluA3*, *Glu-B2*, *Glu-B3* (codant pour les SG-FPM) des 28 variétés de blé dur cultivées en Algérie.

Cultivars	N°	SG-HPM		SG-FPM		
		Glu-A1	Glu-B1	Glu-A3	Glu-B3	Glu-B2
Heider	1	c	e	h	c	a
MEXICALI(ACSAD65)	2	c	b	a	a	a
CAPE III8	3	c	b	a	a	a
WAHA	4	c	b	b	b	a
SABIL-1	5	c	b	a	a	a
MRB 5	6	c	e	a	a	a
MASSARA-01	7	c	e	a	a	a
REZZAK	8	c	e	a	a	a
MRB17	9	c	e	a	a	a
TELSET	10	c	e	a	a	a
SILLIANA	11	c	b	b	b	a
CHEN'S'	12	c	b	a	a	b
JORI C69	13	c	e	h	new2	a
SEBOU	14	c	b	a	a	a
HAURANI	15	c	ac(xiii)	a	f	a
SAHEL	16	c	e	a	f	b
ARDENTE	17	c	z(vii)	e	f	a
T, POLONICUM X ZB	18	c	e	a	a	a
AGHTHE	19	c	e	a	a	a
MOHAMED BEN						
BACHIR	20	c	f	a	a	b
MONT PELLIER	21	c	e	c	a	a
HEDBA-03	22	c	h	a	a	a
BIDI 17	23	c	e	a	a	a
OUED ZENATI	24	c	e	a	a	a
DJENNAH-KHETIFA	25	c	e	a	a	b
GLOIRE DE MONT						
GOLFIER	26	c	d	a	a	a
BELYOUNI	27	a	d	a	a	a
SIMETO (8)	28	c	b	c	c	a

Résultats et Discussions

1.3. Diagrammes types obtenus

L'analyse des diagrammes électrophorétiques des 28 blés durs nous a permis de recenser un ensemble de 9 bandes de haut poids moléculaire de différentes mobilités relatives, y compris l'allèle nul. Chaque diagramme renferme, selon les variétés, de 1 à 3 bandes ; une ou deux codées par le locus *Glu-B1*, et zéro ou une codée par le locus *Glu-A1*. Au tableau (7), sont portés les différents types de diagrammes.

Tableau 7. Types de diagrammes des sous unités de haut poids moléculaires observé chez la collection de blé dur

Type	diagramme	Glu-A1	Glu-B1	Variétés
01	Nul, 6+8	c	d	Gloire de mon golfier
02	Nul, 7+8	c	b	MEXICALI (ACSAD65), CAPE III8, WAHA, SABIL1, SILLIANA, CHEN'S', SEBOU, SIMETO
03	Nul, 14+15	c	h	HEDBA-03
04	Nul, 13+16	c	f	MOHAMED BEN BACHIR
05	Nul, 20x-20y	c	e	HEIDER, MRB5, MASSARA-01, REZZAK, MRB17, TELSET, JORI C69, SAHEL, T, POLONICUM XZB, AGHTHE, MONT PELIER, BIDI 17, OUED ZENATI, DJENNAH-KHETIFA
06	1, 6+8	a	d	BELIOUNI
07	Nul, 7+15	c	z(vii)	ARDENTE
08	Nul, 6+16	c	ac(xiii)	HAURANI

L'analyse de ce tableau révèle l'existence de 8 types de diagrammes pour une collection de 28 variétés de blés durs. Le nombre, plus au moins élevé, des groupes et des bandes reflètent le grand polymorphisme des protéines de réserves de cette collection. Nous pouvons dire que la diversité des SG-HPM est importante et que les sélectionneurs peuvent introduire quelques sous unités pouvant améliorer ainsi la qualité technologique des blés durs.

Deux diagrammes sont les plus fréquents [(Nul, 7+8) et (Nul, 20x-20y)] avec une fréquence de 28.5 % et 50 %, respectivement. Un ensemble de huit variétés partagent le diagramme (Nul, 7+8) et un ensemble de 14 variétés partagent le diagramme (Nul, 20x-20y). Concernant les diagrammes : (Nul, 6+8), (Nul, 14+15), (Nul, 13+16), (16+8), (Nul, 7+15) et (Nul, 6+16) ils caractérisent chacun une seule variété qui sont respectivement : Gloire DE MON GLOFIER, HEDBA-03, MOHAMED BEN BACHIR, BELIOUNI, ARDENTE, HAURANI.

Résultats et Discussions

Les résultats obtenus, concordent avec ceux de plusieurs auteurs : les blés durs ne possèdent pas les mêmes allèles que les autres blés. Branlard et al.(1989) ont analysé, par SDS-PAGE, une collection de 502 variétés de blé dur. Ils ont enregistré 29 diagrammes types, 18 bandes de différentes mobilités et un total de 18 allèles. Ils ont observé que 83% de la collection analysée présente l'allèle nul «*Glu-A1c*», alors que l'allèle «*Glu-B1c*» codant pour le couple (7-9) très abondant chez les blés tendres, est presque absent de la collection étudiée. Dans une autre étude portant sur une collection méditerranéenne de 63 variétés autochtones du blé dur (Moragues et al., 2006). Trois allèles codant pour les SG-HPM localisés au locus *Glu-A1* et autres situés sur le locus *Glu-B1*, ont été répertoriés. Les plus fréquents sont les allèles «d», «e», et «b» codant pour les bandes (6+8), (20x-20y) et (7+8) respectivement.

1.4. Calcul des fréquences alléliques

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

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

Loci	Sous unités	Allèles	fréquences
Glu-A1	1	a	3.75
	Null	c	96.42
Glu-B1	7+8	b	28.57
	6+8	d	7.14
	20x-20y	e	50
	14+15	h	3.57
	13+16	f	3.57
	7+15	z (vii)	3.57
	6+16	ac (xiii)	3.57

Pour le locus *Glu-A1*, la distribution des deux allèles, dans la collection des 28 variétés des blés durs, a été 3.75 % pour l'allèle « a » exprimant la bande une (1) ; 96.42 % pour le troisième allèle répertorié sur ce locus qui est la « c » exprimant la bande nulle.

Pour le locus *Glu-B1*, l'allèle « e » présente une fréquence de 50 % suivi par l'allèle « b » avec une fréquence intermédiaire de 28.57 % et l'allèle « d » avec une fréquence de 7.14 %. En dernier lieu, les quatre formes alléliques : « h », « f », « z (vii) », « ac (xiii) », sont répandues de la même proportion et qui partagent la plus faible fréquence 3.57 %.

Résultats et Discussions

Nos résultats concordent avec ceux des autres auteurs, comme pour l'équipe de Chredouhet al. (2005) qui ont travaillé sur une collection de 5 variétés de blé dur, où, ils ont détecté 12 modèles de gluténines pour les HPM. La composition alléломorphe en *Glu-A1c* et *Glu-B1e* était prédominante avec une fréquence de 31 %.

1.5. Calcul des indices de similarité des diagrammes variétaux

Pour quantifier l'analogie ou la dissemblance des diagrammes, nous avons calculé un indice de similarité, inspiré de Didio, Kaltsikes et Larier (1996). L'indice de similarité (IRS) est calculé en rapportant l'IAS (indice de similarité absolue) au nombre total (N) des composants présents dans au moins l'un des diagrammes de variétés comparées, selon l'équation : $IRS = IAS / N \times 100$. L'IAS présente l'ensemble des bandes qui ne sont pas significativement différentes entre les deux diagrammes. On considère qu'une bande n'est pas significativement différente d'une autre lorsqu'elles sont de même mobilité et/ou qu'elles ne se distinguent pas par au moins deux classes de concentration.

L'indice de similarité entre les 28 variétés des blés durs est représenté dans le Tableau (9)

Tableau 9. Indice de similarité entre les 28 variétés des blés durs

	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
1	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	%	3%	100	33,3	33,3	100	33,3	33,3	100	100	100	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	
2	%	0%	3%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	%	3%	%	3%	3%	3%	3%	3%	100	100	100	100	100	
3	%	0%	3%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	%	%
4	%	0%	3%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	%	%	%
5	%	0%	3%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
6	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
7	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
8	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
9	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100	100	100	100	33,3	100	33,3	33,3	100	33,3	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
10	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
11	100	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
12	100	0,00	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
13	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100	100	100	100	33,3	100	33,3	33,3	100	33,3	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
14	100	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
15	3%	0%	3%	3,33%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
16	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
17	3%	0%	3%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
18	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
19	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
20	3%	0%	3%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
21	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
22	3%	0%	3%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
23	3%	0%	3%	0%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
24	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
25	3%	0%	3%	100%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
26	3%	3%	%	%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
27	0%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100
28	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	100	33,3	100	100	33,3	33,3	33,3	33,3	100	100	100	100	100

Résultats et Discussions

Les indices de similarité ont été calculés pour les différentes classes des 28 variétés des blés durs Tableau (9) Les résultats obtenus varient entre 33.33% et 100%. Des valeurs faibles signifient que les variétés présentent de nombreuses dissemblances et ont des origines génétiques éloignées : cas des variétés WAHA et HEDBA. Inversement, lorsque les valeurs des indices de similarité sont élevées les variétés sont similaires et ont des origines génétiques voisines donc un même diagramme type, c'est le cas de WAHA et CAPE118. L'analyse des diagrammes électrophorétiques, en calculant les indices de similarité, mettent en exergue le degré de parenté ou l'éloignement génétique des variétés. Seulement, il existe une autre représentation des résultats obtenus en établissant l'arbre phylogénique ou dendrogramme. Ce diagramme consiste à présenter des résultats fondés sur des caractères qualitatifs (absence ou présence d'un allèle ou d'une bande) en utilisant des données binaires (0 pour absence, 1 pour présence). Pour les dendrogrammes, les résultats montrent des degrés d'hétérogénéité différents dans les profils protéiques des blés durs. Une diversité caractérisée par un polymorphisme protéique entre les 28 variétés de blé dur (Figure 10).

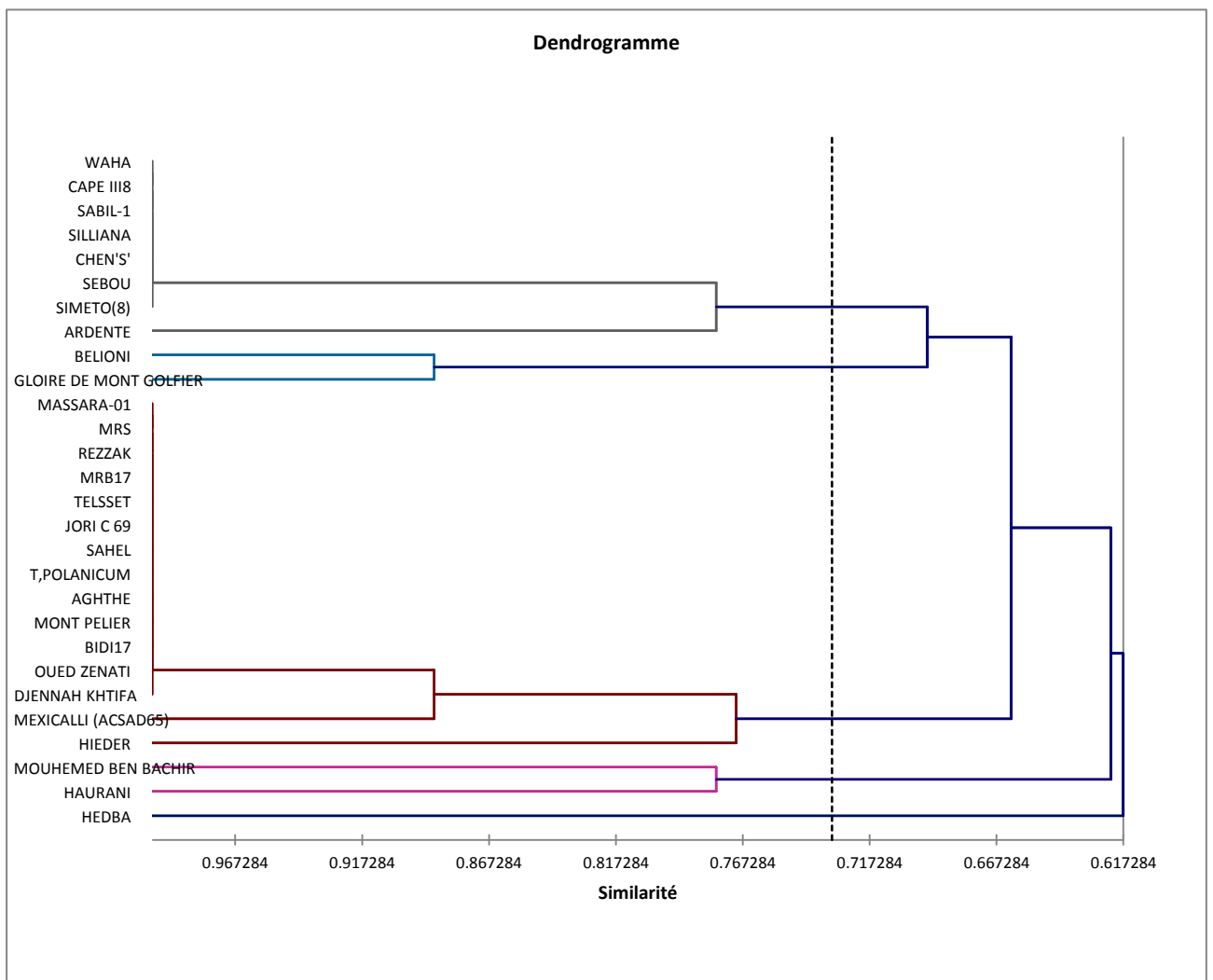


Figure 10: Dendrogramme exprimant la variabilité génétique de 28 variétés des blés durs construit selon logiciel Xlstat (version 2014)

Le présent dendrogramme est un arbre phylogénique de la collection des blés durs. L'arbre contient deux grands nœuds avec 2 mutants de distances différentes, le premier grand nœud est plus polymorphe que le deuxième. Le premier groupe contient deux sous groupes et chaque sous groupe contient des clades ou clusters qui contiennent, à leur tour, des feuilles et chaque feuille représente une variété. Chaque clade ou cluster représente un ensemble de variétés qui sont similaires et qui ont les mêmes caractéristiques et un diagramme type donné. Par exemple : le premier clade représente le 2^{ème} diagramme type avec 8 feuilles qui sont les variétés : CAPE III8, WAHA, SABIL1, SILLIANA, CHEN'S', SEBOU, SIMETO, MEXICALI (ACSAD65). Les variétés du 1^{er} cluster sont totalement différentes et dissimilaires avec celle du dernier. Malgré que le premier nœud est très polymorphe par rapport au 2^{ème}, mais les variétés à qui elles appartiennent ont des caractéristiques similaires.

2. Diversité génétique des sous unités gluténines FPM des blés durs

Le germoplasme de blé dur est caractérisé par un polymorphisme important des SG-FPM. Un ensemble de 12 allèles est identifié (Tableau 11) : 5 au locus *Glu A3* (*Glu-A3a*, *Glu-A3b*, *Glu-A3c*, *Glu-A3e*, *Glu-A3h*), 5 au locus *Glu-B3* (*Glu-B3a*, *Glu-B3b*, *Glu-B3c*, *Glu-B3f*, *Glu-B3-new2*) et le dernier codant pour 4+6*+12+15+15* est considéré comme nouveau, et deux au locus *Glu-B* (*Glu-B2a*, *Glu-B2b*). Toutes les sous unités de faible poids moléculaire obtenues, sont déjà décrites par Nieto-Taladriz et al. (1997), excepté la sous unité 6* (Figure 11) codée par l'allèle *Glu-B3new2* et identifié par Lerner et al. (2004). La composition allélique la plus fréquente est la *Glu-A3a*, *Glu-B3a* et *Glu-B2a*.

2.1. Variabilité du locus *Glu A3*

L'allèle le plus commun est le *Glu-A3a* (75 %), codant pour la sous unité 6. Cet allèle est présent dans la majorité des variétés analysées. Il est suivi par l'allèle 5 *Glu-A3b*, 6-10 *Glu-A3c*, nulle *Glu-A3h* qui possèdent la même fréquence de 7.14 %. Le dernier allèle 11 *Glu-A3e* présente une faible fréquence de 3.57 %

2.2. Variabilité du locus *Glu-B3*

L'allèle *Glu-B3a* est le plus fréquent (71.42 %), il est présent dans la majorité des variétés analysées. Il est suivi par l'allèle *Glu-B3f* avec une fréquence de (10.71 %), les autres allèles *Glu-B3b* et *Glu-B3c* présentent la même fréquence de (7.14%).

2.3. Variabilité du locus *Glu-B2*

Résultats et Discussions

L'allèle le plus commun est le *Glu B2a* (85.81%) codant pour la sous unité 12. Il est présent dans la majorité des variétés analysées. Il est suivi par l'allèle null/ *Glu B2b* qui présente une fréquence moyenne de (14.28 %).

La variabilité trouvée aux loci *Glu-A3*, *Glu-B3* et *Glu-B2*, est presque similaire à celle rapportée par Nieto-Taladriz et al.(1997) qui, en analysant une collection composée de 88 cultivars de blé dur cultivé en Espagne, ont trouvé que la composition allélique la plus commune est *Glu-A3a*, *Glu-B3a* et *Glu-B2a*.

De nombreuses compositions alléliques trouvées dans notre collection telles que *Glu-B3a* (2+4+15+19), *Glu-B3c*(2+4+14+15+19), *Glu-A3h (nul)* et *Glu-A3a* (6), apportent un effet positif sur la qualité Carriloe et al.(2000) et peuvent éventuellement être utilisées dans les programmes de sélection.

2.4. Calcul des fréquences alléliques

Les calculs des fréquences des différentes formes alléliques portés pour les loci *Glu-A3*, *Glu-B3* et *Glu-B2* ont donné des résultats résumés dans le Tableau (10).

Tableau 10. Fréquences alléliques au niveau des loci *Glu-A3*, *Glu-B3* et *Glu-B2* des variétés des blés durs

SG-FPM			
Locus	sous unités	allèles	fréquence(%)
Glu-A3	6	a	75
	5	b	7,14
	6_10	c	7,14
	11	e	3,57
	Null	h	7,14
Glu-B3	2-4-15-19	a	71,42
	8-9-13-16	b	7,14
	2-4-14-15-19	c	7,14
	2-4-15-17	f	10,71
	4+6*+12+15+15*	new2	3,57
Glu-B2	12	a	85,71
	Null	b	14,28

3. Diversités génétiques des sous unités glutenines HPM des blés tendres

Chez les espèces hexaploïdes trois génomes contribuent à l'expression des sous unités glutenines de haut poids moléculaire, c'est pour cela la variabilité détectée chez ces espèces est beaucoup plus importante que celle trouvée chez les espèces tétraploïdes (2 génomes) et diploïdes (un seul génome) avec quelques exceptions.

L'analyse électrophorétique des glutenines par la technique SDS-PAGE a donné des gels de bonne qualité avec une séparation des bandes très satisfaisante. La Figure (11) montre les profils de quelques variétés analysées. Au locus *Glu-1*, codant pour les SG-HPM, un total de 9 variantes alléliques est détecté. Trois, 6 et 5 allèles sont identifiés au *Glu-A1*, *Glu-B1* et *Glu-D1* respectivement. La composition et les fréquences alléliques sont présentées dans le tableau (12).

3.1. Variabilité du locus *Glu-A1*

L'allèle *Glu-A1b* codant pour la sous unité 2* est le plus répandu. On le trouve chez 7 cultivars soit une fréquence de (53.84 %). Vient en deuxième position, l'allèle *Glu-A1a* (sous unité 1) avec une fréquence de 38.46 %. Quant à l'allèle *Glu-A1c* (allèle nul), il est faiblement exprimé dans cette collection (7.69 %).

Résultats et Discussions

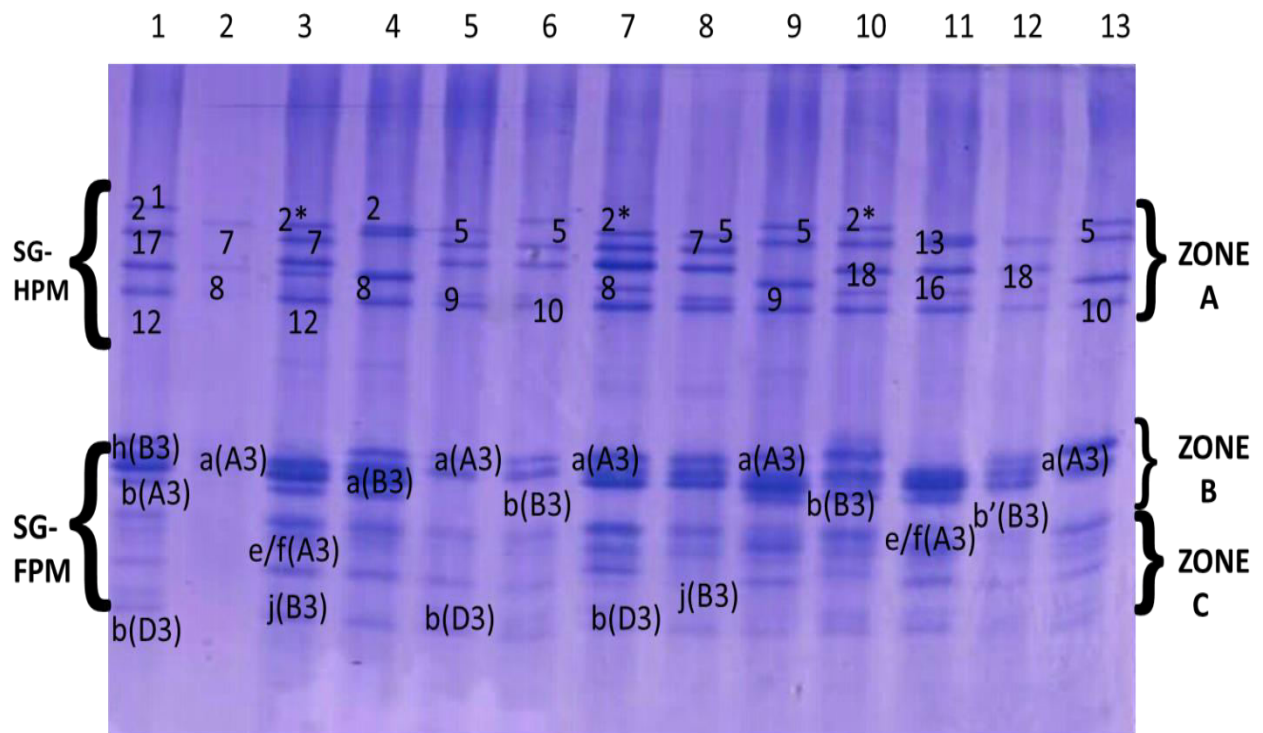


Figure 11 : Profils électrophorétiques de 13 accessions de blé tendre) : (1)-HIDHAB;(2)-ANZA(3)- ARZ; (4)-AIN ABID (5)-ZIAD (6)-FLORENCE AURENOF(7)-SAHEL; (8) GIZA164-(9)-WH564; (10)- *INQUILAB* (11) SAKHA69- (12)- *CHAM-4*(13)-*passtor*

Résultats et Discussions

Tableau 11. Composition allélique aux loci *Glu -A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* codant pour les SG-HPM et *Glu-B3*, *Glu-B3*, *Glu-D3* (codant pour les SG-FPM des 13 variétés de blé tendre.

Cultivars	N°	SG-HPM			SG-FPM		
		GluA1	Glu-B1	Glu-D1	GluA3	Glu-B3	Glu-D3
HIDHAB(HD1220)	1	a	i	a	b	h	b
ANZA	2	c	b	a	a	b	b
ARZ	3	b	b	a	e\ f	j	c
AIN ABID (AS)	4	a	b	a	a	a	b
ZIAD	5	a	c	d	a	j	b
FLORENCE- AURORE	6	b	c	d	a	b	b
SAHEL	7	b	b	d	a	b	b
GIZA 164	8	a	c	d	a	j	b
WH542	9	b	c	d	a	j	b
INQILAB91	10	b	i	a	a	b	b
SAKHA69	11	b	f	d	e\ f	j	c
CHAM-4	12	b	i	a	d	b'	b
PASSTOR	13	a	i	d	a	b	b

3.2. Variabilité du locus *Glu-B1*

Le locus *Glu-B1* présente une importance de variation allélique avec un total de 4 allèles identifiés. Les allèles *Glu-B1b* (codant pour 7+8), *Glu-B1c* (codant pour 7+9) et *Glu-B1i* (codant pour 17+18) sont les plus fréquents (chacun présente une fréquence de 30.76 %). Ils sont suivis par l'allèle *Glu-B1f* (13+16) trouvé dans 7.69 % de la collection.

3.3. Variabilité du locus *Glu-D1*

Nous avons dénombré deux formes alléliques : *Glu-D1a* (2-12) et *Glu-D1d* (5-10), avec une fréquence de 46.15% et 53.84 %, respectivement. Il a été démontré que ces allèles sont corrélés avec une bonne qualité technologique Payne et al. (1984)

La diversité des SG-HPM dans les variétés de blé tendre, décrite ici, est similaire à celle trouvée dans de nombreux germoplasme mondiaux. Plusieurs analyses effectuées sur germoplasmes mondiaux de blé tendre cultivé, révèlent que les allèles *Glu-B1c*, *Glu-B1i* sont les plus fréquents, ce qui concorde parfaitement avec nos résultats. Payne et al. (1984) ont

Résultats et Discussions

rapporté que les sous unités (17-18),(7-8) et (13-16) sont associés à une bonne qualité boulangère et technologique.

3.4. Diagrammetypes obtenus

L'analyse des diagrammes électrophorétiques des 13 blés tendres nous a permis de recenser un ensemble de 13 bandes de haut poids moléculaire de différentes mobilités relatives, y compris l'allèle nul. Chaque diagramme renferme, selon les variétés, de 1 à 3 bandes ; une ou deux codées par le locus *Glu-B1* et *Glu-D1*, et zéro ou une codée par le locus *Glu-A1*. Dans le tableau (12), sont portés les différents types de diagrammes.

Tableau 12. Types de diagrammes des sous unités de haut poids moléculaires observé chez la collection de blé tendre.

Type	Glu A1	Glu B1	Glu D1	Variétés
01	a	i	b	HIDAB
02	c	b	a	ANZA
03	b	b	a	ARZ
04	a	b	a	AIN ABID (AC)
05	a	c	d	ZIAD, GISA164
06	b	c	d	FLORENCE AURORE, WH542
07	b	b	d	SAHEL
08	b	i	a	INQILAB91, CHAM-4
09	b	f	d	SAKHA69
10	a	i	d	PASSTOR

L'analyse de ce tableau révèle l'existence de 10 types de diagrammes pour une collection de 13 variétés de blés tendres. Le nombre, plus au moins élevé, des groupes et des bandes reflète le grand polymorphisme des protéines de réserve de cette collection. Nous pouvons dire que la diversité des SG-HPM est importante et que les sélectionneurs peuvent introduire quelques sous unités pouvant améliorer ainsi la qualité technologique des blés tendres.

Trois diagrammes sont les plus fréquents et qui sont respectivement : (1, 7+9, 5-10), (2*, 7+9, 5-10), (2*, 17+18, 2-12) ; deux variétés partagent le diagramme (1, 7+9, 5-10), deux autres variétés partagent le diagramme (2*, 7+9, 5-10) et deux également partagent le diagramme (2*, 17+18, 2-12). Concernant les diagrammes (1, 17+18, 2-12), (Nul, 7+8, 2-12), (2*, 7+8, 2-12), (1, 7+8, 2-12), (2*, 7+8, 5-10), (2*, 13+16, 5-10) et (1, 17+18, 5-10), caractérisant chacun une

Résultats et Discussions

seule variété qui sont respectivement : HIDAB, ANZA, ARZ, AIN ABID (AC), SAHEL, SAKHA69, PASSTOR.

Tableau 13. Fréquence alléliques des SH-HPM de la collection de blé tendre

Locus	sous-unité	Allèles	fréquence(%)
Glu-A1	1	a	38,46
	2*	b	53,84
	Null	c	7,69
Glu-B1	7+8	b	30,76
	7+9	c	30,76
	17+18	i	30,76
	13-16	f	7,69
Glu-D1	02_12	a	46,15
	5_10	d	53,84

3.6. Calcul des indices de similarité des diagrammes variétaux

Selon Didio, Kaltsikes et Larier (1969). in Khelifi (1992), l'indice relatif de similarité (IRS) est calculé en rapportant l'indice absolu de similarité (IAS) au nombre total de composants présents dans l'un au moins des diagrammes des variétés comparées. Les indices de similarité ont été calculés pour les différentes classes des 13 accessions des blés tendres regroupés selon les 8 types de diagrammes recensés Tableau (14)

Tableau 14. Indices de similarité entre les 13 variétés des blés tendres cultivés.

	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
1	50%	0%	0%	50%	0%	20%	0%	0%	20%	50%	20%	20%	100%
2	0%	20%	0%	20%	20%	0%	20%	0%	0%	50%	50%	100%	
3	0%	50%	20%	50%	0%	0%	50%	20%	0%	50%	100%		
4	0%	20%	0%	20%	0%	20%	20%	0%	20%	100%			
5	20%	0%	20%	20%	50%	100%	20%	50%	100%				
6	20%	20%	50%	20%	100%	50%	50%	100%					
7	20%	20%	50%	20%	50%	20%	100%						
8	50%	0%	20%	0%	50%	100%							
9	20%	20%	50%	20%	100%								
10	20%	100%	20%	100%									
11	20%	50%	100%										
12	50%	100%											
13	100%												

Résultats et Discussions

Les résultats obtenus varient entre 0% et 100%. La valeur 0 signifie qu'il n'y a aucune ressemblance entre les diagrammes en question (Tableau 15), c'est le cas des variétés : FLORENCE AURORE et HIDHAB. Inversement, on trouve des valeurs moyennes telles que 20%, rencontrée chez les variétés : FLORENCE AURORE et PASSTOR. Et des valeurs élevées telles que 50% présentent une similarité moyenne entre les variétés c'est le cas de : FLORENCE AURORE et GISA164. Il existe ainsi, une valeur très élevée de 100% qui caractérise une similarité génétique voisine chez ces variétés c'est le cas de : FLORENCE AURORE et WH542.

A partir des IRS calculés, nous avons établi le présent dendrogramme (Figure 12) pour les 13 accessions des blés tendres. L'arbre est polymorphe.

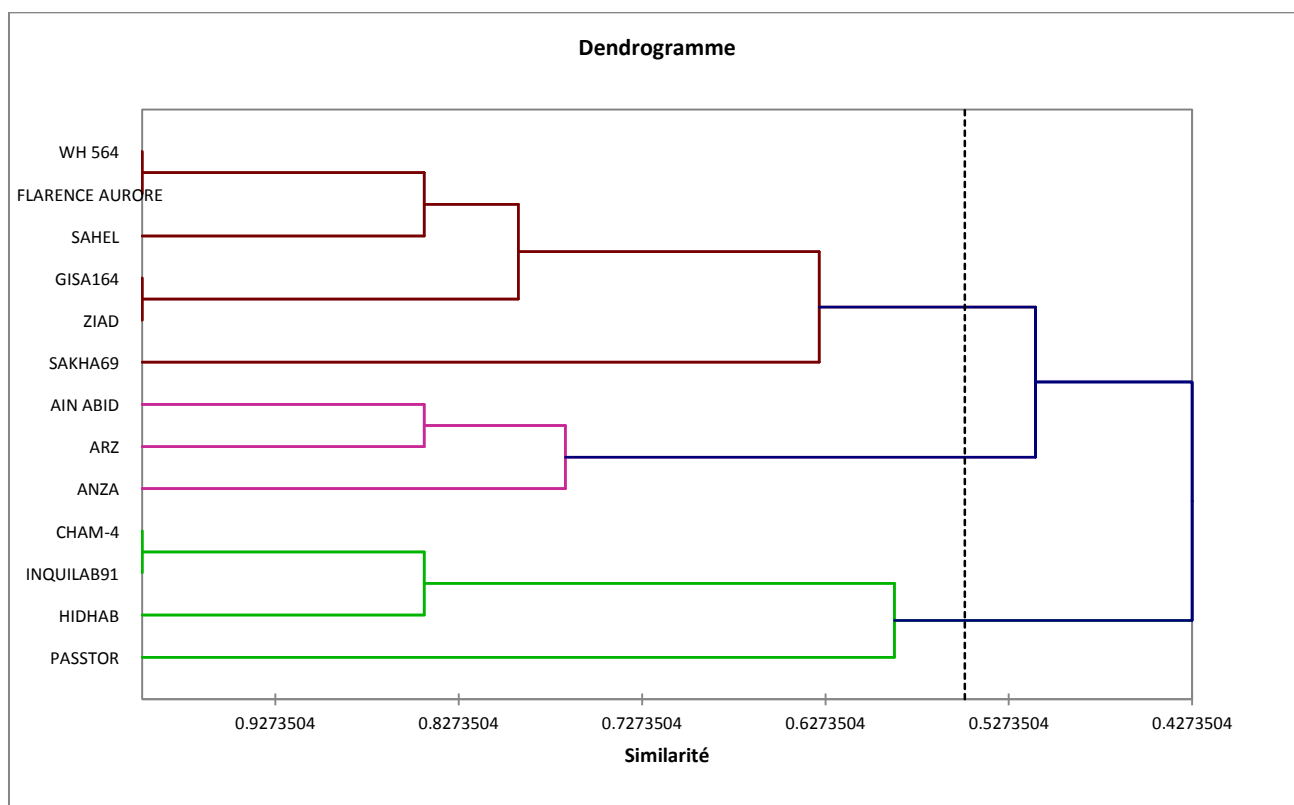


Figure 12. Dendrogramme exprimant la variabilité génétique de 13 variétés des blés tendres construit selon logiciel Xl stat (version 2014).

- Il existe 2 grands groupes, avec 2 mutants de distances différentes.
- Chaque groupe contient deux sous groupes, chaque sous groupe contient des clades ou clusters et chaque clade contient des feuilles qui représentent les différentes variétés.

Résultats et Discussions

- le premier groupe est plus polymorphe que le deuxième groupe, il contient plusieurs clades, donc plusieurs feuilles, se présente en 9 variétés, par rapport au deuxième groupe qui renferme 4 variétés.

- chaque clade ou cluster représente un ensemble de variétés qui sont similaires et qui ont les mêmes caractéristiques, donc un diagramme type donné. Par exemple, le premier clade représente le sixième diagramme type avec 2 feuilles qui sont les variétés suivantes : Florence aurore et WH564, le deuxième cluster représente le cinquième diagramme type avec 2 feuilles qui sont les variétés suivantes : (Gisa 164 et Ziad), le premier cluster du deuxième groupe représente le huitième diagramme type composé de Inquilab91 et Cham-4.

- Les variétés du premier cluster sont totalement différentes et dissimilaires avec celle du dernier. Malgré que le premier nœud est très polymorphe par rapport au deuxième ; mais les variétés à qui elles appartiennent ont des caractéristiques similaires.

4. Diversité génétique de sous unité gluténine FPM des blés tendres

Notre collection a montré une variabilité considérable des sous unités gluténines de faible poids moléculaire. Un ensemble de 11 allèles sont détectés aux différents loci. La composition et les fréquences des variantes alléliques aux loci *Glu-3* et *Glu-2* sont présentées dans le tableau 16.

4.1. Variabilité du locus *Glu-A3*

Quatre allèles sont dénombrés au locus *Glu-A3*, le plus fréquent est l'allèle a (69.23 %) suivi par les allèles b et d avec une fréquence de (7.69 %), et l'allèle e (15.38 %).

4.2. Variabilité du locus *Glu-B3*

Le locus *Glu-B3* est le plus polymorphe. Nous avons dénombré un ensemble de 5 allèles. Plus de 70.41 % des variétés étudiées possèdent les trois allèles *Glu-B3a*, *Glu-b3* et *Glu-B3h*. Les 2 allèles *Glu-B3b* et *Glu-B3j* sont très faiblement exprimés dans cette collection

4.3. Variabilité du locus *Glu-D3*

Deux allèles ont été identifiés au niveau de ce locus (*Glu-D3*). L'allèle le plus fréquent est *Glu-D3b* (84.61 %) suivi par l'allèle *Glu-D3c* (15.38 %).

Nos résultats concordent à moitié avec ceux trouvés dans la collection de blé tendre cultivé au Portugal (Igresais et al., 1999) dans les deux collections, où les allèles *Glu-A3a* et *Glu-B3b* et *Glu-B3j* sont très fréquents. Selon Jackson et al. (1996) de nombreux germoplasmes de pays européens sont caractérisés par l'abondance des allèles *Glu-A3a* ou *Glu-A3d*, et *Glu-D3c* aux loci *Glu-3* positionnés sur les bras courts des chromosomes 1D et 1A. Dans les cultivars

Résultats et Discussions

d'Algérie, comme leurs analogues des germoplasms d'Europe, l'allèle *Glu-A3a* est abondant, contrairement aux *Glu-A3d* et *Glu-D3c* qui sont complètement absents

Tableau 15. Fréquence alléliques des SG-FPM de la collection de blé tendre

Locus	Allèles	Fréquence(%)
Glu-A3	a	69,23
	b	7,69
	d	7,69
	e\ f	15,38
Glu-B3	a	7,69
	b	38,46
	b'	7,69
	j	38,46
	h	7,69
Glu-D3	b	84,61
	c	15,38

CONCLUSION

Références bibliographiques

Conclusion

L'objectif de cette étude est d'estimer le niveau de la variabilité génétique existant au sein des variétés cultivées du blé dur et du blé tendre par les marqueurs biochimiques (les sous unités gluténines de haut et de faible poids moléculaire).

Le travail réalisé nous a permis de :

- Décrire la diversité génétique des sous unités de gluténines, au sein de deux collections de blé dur et de blé tendre cultivés dans la région méditerranéenne.
- Identifier des variétés des blés durs et des blés tendres
- Démontrer un grand polymorphisme au niveau des sous unités de haut et faible poids moléculaire au sein de la collection des blés durs.
- Enregistrer de nouvelles bandes telles; ac(xiii)(6+16) dans la sous-unité SG-HPM et new2(4+6*+12+15+15*) dans la sous unité SG-FPM au niveau des blés durs, indiquant que les deux variétés qui portent ces nouveaux gènes ont subi des phénomènes génétiques.

- Déceler l'indice global de la diversité qui est plus au moins élevé pour la collection des blés durs et blés tendres et établir les diagrammes type variétaux et classer les génotypes dans un arbre phylogénique.
- Détecter la présence des protéines corrélées positivement avec la qualité des blés.

Référence bibliographique

Références bibliographiques

- Abecassiss J. (1993)** Nouvelles possibilités d'apprécier la valeur meunière et la valeur semoulière des blés. *Ind, Céréales* N° 81 : 35.
- Anonyme (2011)** Constantine un rendement de 40 à 45 quintaux à l'hectare céréales attendus cette saison. *Transaction d'Algérie*, le 4 février 2010.
- Anonyme (2006)** Conférence électronique sur la salinisation: *Extension de la salinisation et Stratégies de prévention et réhabilitation*. Organisée et coordonnée par: IPTRID du 6 février au 6 Mars 2006, 20 p.
- Auriau P., Doussinault G., Jahier J., Lecomte C., Pierre J., Pluchard P., Rousset M., Saur J.L et Trottet M. (1992)** Le blé tendre. In : Gallais A. et Bannerot H. (eds) *Amélioration des espèces végétales cultivées*. INRA Paris : 22- 38.
- Beccari J.B. (1745)** De Frumento. De Bononiensi Scientarium et Artium. *Instituto atque Academia commentari. Bologna*. 2: 122-127.
- Belaid D. (1996)** *Aspects de la céréaliculture algérienne*. INESD' Agronomie, Batna. P. 187.
- Bietz J.A. (1974)** Micro-kjeldhal analysis by an improved automated ammonia determination following manual digestion. *Anal. Chem.* 46: 1617-1618.
- Bietz J.A., Huebner F.R., Sanderson J.E. et Wall J.S. (1977)** Wheat gliadin homology revealed through N-terminal amino acid sequence analysis *cereal.chem* 52:513-532
- Boulal H., Zaghouane O., EL Mourid M. et Rezgui S. (2007)** *Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie)*. (eds) TIGC, INRA, ICARDA, Algérie. P. 176.
- Bonjean A., (2001)** Histoire de la culture des céréales et en particulier celle de blé tendre (*Triticum aestivum* L.). *Dossier de l'environnement de l'INRAN*°21 :29-37.
- Bozzini A. (1988)** Origin, distribution and production of durum wheat in the world. In: Fabriani G et Lintas C. (éd) *Durum: Chemistry and Technology*. AACC (Minnesota). Etats-Unis: 1-16.
- Branlard G., Khelifi D. et Lookhart G. (1990)** Identification of some wheat proteins separated by two-step acidic polyacrylamide gel electrophoresis and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis technique. *Cereal Chemistry*. 69: 677-678.
- Branlard G. (1999)** Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 50: 669-679.
- Bushuk W. et Zillman R.R. (1978)** Wheat cultivar identification by gliadine electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. *Can. J. Plant Sci.* 58: 505.

Références bibliographiques

- Carrillo P.M., Anumba C.J. et Kamara J.M. (2000)** *Knowledge Management for Construction Key IT and Contextual Issues*[enligne]. Disponible sur: Construction Informatics Digital Library <<http://itc.scix.net/paper/w78-2000-155.conten>>.[consulté le 10/06/2016]
- Chehat F. (2007)** *Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie*. Projet PAMLIM « Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation » Alger : 7-9 avril 2007.
- Cherdouh A., Khelifi D., Carrillo J.M. et Nieto-Taladriz M.T. (2005)** The high and low molecular weight glutenin subunit polymorphism of Algerian durum wheat landraces and old cultivars. *Plant Breeding* 124: 338-342.
- Ciaffi M., Benedettelli S., Giorgi B., Porceddu E et Lafiandra D. (1992)** Seed storage proteins of *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* and their effect on the technological quality in durum wheat. *Plant Breeding*. 107: 309–319.
- Clerget Y. (2011)** Biodiversité des céréales : Origine et évolution. Montbéliard d'accompagnement des Critères d'évaluation du risque environnemental. Agencedans Fabriani G. et C. Lintas. (eds) *Durum Chemistry and Technology*. AACCC (Minnesota), États-Unis : 1-16.
- Djermoun A., (2009)** La production céréalière en Algérie. les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie* 01: 45-53.
- Doussinault G., Kaan F., Lecomte C. et Monneveux P. (1992)** Les céréales à paille présentation générale. In: Gallais A. et Bannerot H. (eds) *Amélioration des espèces végétales cultivées*. INRA, Paris: 13-21.
- Ewart J.A.D. (1968)** A hypothesis for the structure and rheology of glutenin. *J. Sci. Food Agric* 19:617-623.
- Ewart J.A.D. (1990)** Comments on recent hypothesis for glutenin. *Food Chem* 38:159-169.
- Feillet. P. (2000)** Le grain de blé. (eds) *Composition et utilisation* INRA. Paris: p 312.
- Gianibelli M.C., Larroque O.R., MacRitchie, F. et Wrigley C.W. (2001)** Biochemical, Genetic, and molecular Characterization of Wheat Endosperm Proteins. *Cereal Chem* 78: 635-646.
- Glenn Lennox. (2003)** *L'importance du blé dans le monde* [en ligne]. Disponiblesur le site : <<http://pst.chezalice.fr/svtiufm/ble.htm>>.[Consulté le 10/06/2016]

Références bibliographiques

- Gordon A.L. (1974)** Varieties and variability of Antarctic Bottom Water. Colloques internationaux du Centre national de la recherche scientifique, 215, *Processus de formation des eaux océaniques profondes* : 33-47.
- Henry Y. et De Buyser J. (2001)** L'origine des blés. *In* : Belin. Pour la science. (eds) *De la graine à la plante*. Ed. Belin, Paris : 69-72.
- Huebner F.R. et Wall J.S. (1974)**. WeheatgluteninsubunitsI Perparative separation by gel filtration and ion. *Cereal chem* 51: 228
- Jackson P., Robertson M., Cooper M. et Hammer G. (1996)** The role of physiological understanding in plant breeding, from a breeding perspective. *Field Crops Research* 49: 11-37.
- Jackson E.A., Holt L.M. et Payne P.I. (1983)** Catalogue of allèles for the complex loci, Glu-AJ, Glu-BJ and Glu-DJ which code for highmolecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res Commun* 11:29.
- Jensen et Michael C. (1983)** Organization theory and methodology. *Accounting Review* 58: 319-339.
- Khan et Buschuk. (1979)** Studies of glutenin. XII. Coprison by SDS-Page of unreduced.
- Laberche J.C. (2004)**. La nutrition de la plante *In* : *Biologie Végétale*. Dunod. 2. (eds). Paris: 154 -163.
- Laemmli. (1970)** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259): 680-5
- Langridge P., Lagudah E.S., Holton T.A., Appels R., Sharp P.J. et Chalmers K.J. (2001)** Trends in genetic and genome analyses in wheat. *Aust. J. Agric. Res* 52: 1043–1077.
- Lawrence G.J. et Shepherd R.W. (1981)** Chromosomal location of genes controlling seed proteins in species related to wheat. *Theor Appel Genet* 59:25-31
- Lerner J.S., Small D.A et Loewenstein G.F. (2004)** Heart strings and purse strings Carryover effects of emotions on economic decisions. *Psychological Science* 15(5) : 337–341.
- Lery F. (1982)** L'agriculture au Maghreb ou pour une agronomie méditerranéenne. (eds) *Maisonneuve et Larose*. Paris: 338.
- Moragues M., Garcia L.F., Moralejo M. et Royo C. (2006)** Yield formation strategies of durum wheat landraces with distinct pattern of dispersal within the Mediterranean basin. I. Yield components. *Field Crops Res* 95: 194-205.
- Morris R., Schmid T.J.W. et Mattern P.J. (1966)** Chromosomal location of gene or flour quality in the wheat variety Cheyenne using substitution lines. *Crop Sci* 6: 119-122.

Références bibliographiques

- Nevo.E. et Payne P.I. (1987)** Wheat storage proteins: diversity of HMW gluténin subunits in wild Emmer from Israel. *Theor. Appl. Genet* 74: 827-836.
- Nieto M.T., Ruiz M., Martínez M.C., Vázquez J.F. et Carrillo J.M. (1997)** Variation and classification of B low-molecular-weight glutenin subunit alleles in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 1155–1160.
- Orth R.A. et Bushuk W. (1974)** studies of glutenin VI. Chromosomal location of genes coding for subunits of gluten of common wheat. *Cereal. Chem* 51:118-26
- Payne P. I. et Lawrence G. J. (1983)** Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for the high molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun. proteins. The secondary structures and thermal stabilities of α -, β -, and γ -gliadins. Journal of Cereal Science* 3: 103.
- Payne P. I., Holt I. M. et Lister P. (1988)** Gli-A3 and Gli-B3, two newly designated loci coding for some omega type gliadins and D subunit of glutenins. In: proceeding 7th international. (eds) *wheat genetics symposium*. Cambridge: 999-1002.
- Payne P.I., Holt L.M., Lawrence G.J. et Law C.N. (1982)** The genetics of gliadin and glutenin, the major storage proteins of the wheat endosperm. *Qual Plant Food Hum Nutr* 31: 229-41.
- Randhawa H. S. Dhaliwal H.S et Harjit S. (1997)** Diversity for HMW glutenin composition and the origin of polyploidy wheats. *Cereal Research Communications. Vol. 25 N° 111*:29-35.
- Ricroch A., Dattée Y. et Fellous M. (2011)** Biotechnologie végétale In: environnement, alimentation, santé. (eds) *du Vuibert*. Paris: 170-182.
- Sabbagh M.A., Xu F., Carlson S.M., Moses L. J et Lee K. (2006)** The development of executive functioning and theory-of-mind. *A comparison of Chinese and U.S. preschoolers. Psychological Science* 17: 74–81.
- Sadouki H. (2005)** Contribution à une meilleure compréhension des bases biochimiques de la qualité boulangère des blés tendres en vue de l'amélioration des variétés algériennes.
- Sakamura. (1918)** L'origine des blés. In: Gallais A, Bannerot H. (eds) (1992). *Amélioration des espèces végétales cultivées*. INRA Editions: 13-71.
- Sears E.R. (1954)** Theaneuploids of common wheat. *Res. Bull. Mo. Sta* 572: 1.
- Shewry P.R., Halford N.G., Belton P.S. et Tatham A.S. (2002)** The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Phil Trans R Soc Lond B* 357:133-142.
- Shewry P.R., Halford N.G et Tatham A.S. (1992)** High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science* 15: 105-120.

Références bibliographiques

- Shewry P.R., Halford N.G., Field J.M. et Thatam A.S. (1989)** The structure and functionality of wheat gluten proteins. Proc Aust Cereal Chem. Conf., 38th (Murray, L. (eds), R Aust.Chem.Inst., Melbourne.
- Shewry P.R., Tatham A.S. (1997).** Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci* 25: 207-227.
- Singh et al. (1991)** Genetic diversity in cultivated common bean I. Allozyme. *Crop Sci* 31: 19-23.
- Thatam A. S. Shewry P. S. Belton. (1990)** Structural studies of cereal prolamins including wheat glutenin. *Adv. Cereal. Sci. TECX*: 1-18.
- Thatam A.S., Mifflin B.J et Shewry P.R. (1985)** The B-turn conformation in wheat gluten proteins: Relationship with gluten elasticity. *Cereal Chem* 62: 405-412
- Wrigley. O. (1996)** The politics of Deafness. Washington: Gallaudet University Press.

Annexe

Annexes

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

200mg de farine ou 1 grain sans embryon broyé au mortier

- Introduire 1 ml de la solution A.
 - Vortexer toutes les 10 min.
 - étuver 30 min à 65°C.
 - Centrifuger 1 min à 10000g.
- Eliminer le surnageant
surnageant.
- Récupérer le
-
- Introduire 1ml de la solution A.
 - Vortexer
 - etuver 30 min à 65°C.
 - Centrifuger 1 min à 10 000.
 - sec avec
 - eliminer le surnageant.
 - solutionC.
- Evaporation du
- 1^e nuit à 65° C.
-
- introduire 0.5 ml de la solution A.
 - °C.
 - vortexer.
 - Centrifuger 5min à 10 000.
 - 10 000.
 - eliminer le surnageant par aspiration (trompe à eau).
- Reprendre le résidu
- 0.2 ml de
-
- introduire 0.1 ml de la solution B1.
 - Vortexer.
 - incuber 30min à 65°C.
 - gliadines sur SDS-PAGE
 - Centrifuger 5 min à 10 000.
- Vortexer.
- Etuver15 min à 65
-
- additionner 0.1 ml de la solution B2.
 - Incuber 15min à 65°C.
 - Centrifuger 2min à 10 000.
 - C=1.3 %
- Centrifuger 5min à 10 000
-
- Additionner 0.1 ml de la solution B2.
 - Incuber 15min à 65° C.
 - Centrifuger 2 min à 10 000.
- Révélation des
- T=10.3 % et

Annexes

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

-Révélation des gluténines HPM et FPM.

Sur SDS-PAGE.

T=12.52% et C=0.97 %

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

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

Solution A : (pour 41 échantillons)

Propanol-1	75ml
Eau permutée	qsp 150 ml

Conservation : à faire le jour même.

Tompan tris HCL 1M PH =8.0 :

Tris (hydroxyl methyl) amino méthan	6.057g
Ajuster à PH =8.0 avec HCL Fumant	3 ml
Eau permuté	qsp 50ml

Conservation : plusieurs semaines au frigo

Solution B :

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

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

Solution B1 : (solution B+1% DTT) pour 41 échantillons

Solution B	7ml
DL-Dithiothréitol	70ml

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

Solution B2 : (solution B +1.4 % 4-VP) pour 41 échantillons

Solution B	7ml
DL-Dithiothréitol	70ml

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

Solution c :

Sodium dodécyl sulphate	0.2g
-------------------------	------

Annexes

Glycérol	4ml
Bleu de bromophénol	0.002 g
Tris-HCL 1M ph = 8.0	0.8ml
Eau permutée	qsp 10ml

Conservation : plusieurs semaines à température ambiante.

Annexes

Tableau. Matrice binaires blé dur (1 pour présence d'allèle 1, 0 pour absence d'allèle)

vv	1	6	7	13	14	20	15	16	8
HIEDER	1	0	0	0	0	0	0	0	0
MEXICALLI (ACSAD65)	0	0	1	0	0	1	0	0	0
CAPE III8	0	0	1	0	0	0	0	0	1
WAHA	0	0	1	0	0	0	0	0	1
SABIL-1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
MRS	0	0	0	0	0	1	0	0	0
MASSARA-01	0	0	0	0	0	1	0	0	0
REZZAK	0	0	0	0	0	1	0	0	0
MRB17	0	0	0	0	0	1	0	0	0
TELSSET	0	0	0	0	0	1	0	0	0
SILLIANA	0	0	1	0	0	0	0	0	1
CHEN'S'	0	0	1	0	0	0	0	0	1
JORI C 69	0	0	0	0	0	1	0	0	0
SEBOU	0	0	1	0	0	0	0	0	1
HAURANI	0	1	0	0	0	0	0	1	
SAHEL	0	0	0	0	0	1	0	0	0
ARDENTE	0	0	1	0	0	0	1	0	0
T,POLANICUM	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AGHTHE	0	0	0	0	0	1	0	0	0
MOUHEMED BEN BACHIR	0	0	0	1	0	0	0	1	0
MONT PELIER	0	0	0	0	0	1	0	0	0
HEDBA	0	0	0	0	1	0	1	0	0
BIDI17	0	0	0	0	0	1	0	0	0
OUED ZENATI	0	0	0	0	0	1	0	0	0
DJENNAH KHTIFA	0	0	0	0	0	1	0	0	0
GLOIRE DE MONT GOLFIER	0	1	0	0	0	0	0	0	1
BELIONI	1	1	0	0	0	0	0	0	1
SIMETO(8)	0	0	1	0	0	0	0	0	1

Annexes

Tableau. Matrice binaires blé tendre (1 pour présence d'allèle 1, 0 pour absence d'allèle)

var bnd	HIDHAB	ANZA	ARZ	AIN ABID	ZIAD	FLARENCE AUREORE	SAHEL	GISA164	WH 564	INQUILAB91	SAKHA69	CHAM- 4	PASSTOR
1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1
2*	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0
2	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
5	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1
7	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
17	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
18	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
8	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
10	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1
12	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0

Résumés

Résumé :

Résumé

L'objectif de ce travail est d'appréhender la diversité génétique des sous unités gluténines de haut et de faible poids moléculaire, au sein de 28 variétés cultivées du blé dur (*Triticum Durum*) et 13 variétés de blé tendre (*Triticum aestivum*) en utilisant la technique d'électrophorèse sur le gel de polyacrylamide.

La technique SDS-PAGE nous a permis d'estimer une grande variabilité génétique des sous unités gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM) et de faible poids moléculaire (SG-FPM) des blés durs et blés tendres cultivés. Ainsi, de nouvelles bandes telles que ac (xiii) (6+16) dans les SG-HPM et new 2 (4+6*+12+15+15*) dans les SG-FPM du blé dur sont apparues. Tandis que, aucune nouvelle bande n'a été enregistrée chez les variétés de blé tendre.

Certaines sous unités gluténines de haut et de faible poids moléculaire ayant un rôle important dans les caractéristiques rhéologiques de la pâte ont été recensées.

Mots clés: *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, SDS PAGE, variabilité génétique, sous unités gluténines, électrophorèse

Résumé :

Abstract

The objective of this work is to understand the genetic diversity of sub-units high and low molecular weight glutenins , within 28 cultivated varieties of durum wheat (*Triticum durum*) and 13 variety of wheat (*Triticumaestivum*) using the electrophoresis technique on polyacrylamide gel.

The SDS- PAGE technique has allowed us to estimate the genetic variability of high molecular weight glutenins in units (SG- HMW) and low molecular weight (SG- FPM) of hard wheat and soft wheat grown. Thus, new bands such; ac (xiii) (6 + 16) in the SG- HPM and new 2 (4 + 6 + 12 + 15 + 15 *) in the SG- FPM durum appeared, indicating that the two varieties that carry these new genes have undergone genetic phenomena. This allows us to support the assumptions made about the origin of these two new genes. While no band was recorded in varieties of wheat.

The analysis of the relationship between diversity in high Glutenins units and low molecular weight of the two varieties studied and pulp quality, confirms the results obtained in other works. Which clearly shows that some proteins have an important role in the expression of rheological characteristics of the dough.

Key words: *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, SDS PAGE, genetic variability, under glutenins units, electrophoreses

Résumé :

ملخص

والهدف من هذا العمل هو لفهم التنوع الجيني للوحدات الفرعية العالية والمنخفضة جليوتينينالوزن الجزيئي ، عندالأصناف 28المزروعة من القمح القاسي (الحنطة القاسي) و 13 صنف من القمح اللين (الحنطة ايستيفوم) باستخدام تقنية الكهربيائي على هلام بولي أكريلاميد . وقدسمحت هذه التقنية SDS -PAGE لنا لتقدير التباين الوراثي لارتفاع glutenins الوزن الجزيئي في وحدات (SG- HMW) ، وانخفاض الوزن الجزيئي (SG- التيار الوطني الحر) من القمح الصلب و القمح اللين نمت . وهكذا ، والعصابات الجديدة مثل . ميلان (الثالث عشر) (6 + 16) على مستوىSG- HPM والجديدة 2 (4 + 6 + 12 + 15 *) في القاسي SG- التيار الوطني الحر ظهر ، مشيرا إلى أن الصنفين التي تحمل هذا جديدة خضعت الجينات الوراثية الظواهر . وهذا يسمح لنا لدعم الافتراضات حول أصل هذه الجينات الجديدين . في حين لم تسجل أي فرقة في أصناف من القمح . تحليل العلاقة بين التنوع في أعلى وحدات Glutenins وانخفاض الوزن الجزيئي لل نوعين دراستها و جودة اللب ، يؤكد النتائج التي تم الحصول عليها في أعمال أخرى . مما يدل على أن بعض البروتينات دورا هاما في التعبير عن خصائص الانسيابية من العجين بشكل واضح

الكلمات المفتاحية: تريتيكوم ايستيفوم قمح لين، تريتيكومدورومقمح الصلب، SDS PAGE ، التباين الوراثي، تحت وحدات Glutenins، الكترولفوريز.

Nom et Prénom : Aoureggh kenza et Megrerouche assia **Date de soutenance :** 28-06-2016

Thème : Estimation de la variabilité génétique du blé dur et du blé tendre par des marqueurs biochimiques

Diplôme Master en Biochimie Moléculaire et Santé.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'appréhender la diversité génétique des sous unités gluténines de haut et de faible poids moléculaire, au sein de 28 variétés cultivées du blé dur (*Triticum Durum*) et 13 variété de blé tendre (*Triticum aestivum*) en utilisant la technique d'électrophorèse sur le gel de polyacrylamide.

La technique SDS-PAGE nous a permis d'estimer une grande variabilité génétique des sous unités gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM) et de faible poids moléculaire (SG-FPM) des blés durs et blés tendres cultivés. Ainsi, de nouvelles bandes telles que ac (xiii) (6+16) dans les SG-HPM et new 2 (4+6*+12+15+15*) dans les SG-FPM du blé dur sont apparues. Tandis que, aucune nouvelle bande n'a été enregistrée chez les variétés de blé tendre.

Certaines sous unités gluténines de haut et de faible poids moléculaire ayant un rôle important dans les caractéristiques rhéologiques de la pâte ont été recensées.

Mots clés : *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, SDS PAGE, variabilité génétique, sous unités gluténines, électrophorèse

Laboratoire de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales - UFM

Jury

Président : Bellile.I

Rapporteur: Khelifi.D

Examinatrice : Mouas.T.N