

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université des Frères Mentouri Constantine**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire**

N° d'ordre.....

N° de série.....

## **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie  
Option Biochimie Appliquée

**Appréciation de la diversité génétique de  
l'espèce d'avoine tétraploïde *Avena insularis*  
par les marqueurs morphologiques,  
écogéographiques et biochimiques.**

**Présenté par :**

- BENAOUINA NOURHENE
- KECHROUD MAROUA

**Devant le jury :**

- Président : Prof. KHELIFI Douadi, ENSB
- Examineur : Dr. BECHKRI Sakina, ATRBSA
- Encadreur : Dr. BELLIL Inès, UFMC1

**Année universitaire 2018/2019**

## *Remerciements*

Avant toute chose, nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir guidé jusqu'à l'achèvement de ce mémoire, et de nous avoir donné la force, le courage et la patience.

Nos remerciements vont tout particulièrement au Maître de conférences BELLIL Ines qui a accepté de nous encadrer durant notre deuxième semestre de fin d'étude. C'est à elle que nous devons notre intégration dans le laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales(GBBV).

C'est ici madame que nous témoignons toutes nos reconnaissances pour le temps que vous avez consacré à la lecture et la correction de ce manuscrit que nous souhaiterions être un guide aux prochaines générations estudiantines.

Toutes nos gratitude doivent aller également au Professeur KHELIFI Douadi, la maître-de Conférences, BECHKRI Sakina d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous tenons également à remercier le doctorant BOUDARSSA Yasser de nous avoir promulgué de précieux conseils et d'être toujours souriant et de bonne humeur depuis l'initiation de notre mémoire ce qui nous a tellement aidé. Nous désirons vivement exprimer notre profonde gratitude et nos remerciements au maître- de Conférences DJOUDI Ibrahim pour ses profitables conseils.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos parents, frères et sœurs ainsi qu'à toute personne qui a contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Dédicace

*Je dédie ce modeste mémoire :*

*A mes très chers parents mon père **Cherif** et ma mère Zabida que je remercie dieu de  
les avoir protégé pour être témoins de ma réussite.*

*A mes frères "Seif Eddine " "Omar " et ma sœurs **mouchira** qui ont été un soutien  
morale généreux et précieux pendant toutes mes années d'études.*

*A mon neveu **Mimouet** ma Nièce **Nouna***

*A tous mes vrais ami(E)S "**Merieme**" et "**Mr.k houssem**" qui ont répondu(E)S Present*

*A Chaque Fois Que j'avais Besoin d'eux.*

*A ma tante **Salima***

*A la mémoire de mon oncle **Rabie***

*A mon oncle **Noureddine**.*

*Son Oublier Un Spéciale Dédicace A Mes Défunts Grands-parents Qui Auraient Eté*

*Si Fiers De Voir Ce Que Je Suis Devenue.*

**Maroua**

## Dédicace

*Je tien en tout premier lieu à remercier le bon dieu Allah le Tout puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.*

*A l'homme de ma vie mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir qui m'a élevé, éduqué et m'a donné les actes les plus nobles de ma vie pour grandir dans un environnement sain : Mon père **Fateh**.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur celui qui a fait beaucoup de sacrifices pour m'offrir les conditions propices à ma réussite : Ma mère **Hayet**.*

*Que Dieu vous garde et m'aide à vous rendre heureux et fiers de moi.*

*A ma moitié et ma très chère sœur **Ilhem**.*

*A mon trésor, mon petit frère **Mohamed Chafik**.*

*A mes amis proches et collègues d'études.*

*A Tous ceux qui utilisent la science pour le bonheur et la prospérité de l'humanité.*

**Nourhene**

## Liste des abréviations

- **ACP** : Analyse en Composante Principale
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **APS** : Ammonium Persulfate
- **ARN** : Acide Ribonucléique
- **av. J.-C** : années avant la naissance de Jésus-Christ
- **CP** : Composante Principale
- **DTT** : Dithiothrétiol
- **FAO** : Food and Agriculture Organization
- **IAS** : Indice de similarité absolue
- **IRS** : Indice de Similarité
- **GLU** : Glutélines
- **N** : nombre total
- **PAGE** : Poly Acrylamide Gel Electrophoresis
- **Q2** : Quotient d'Emberger
- **SDS** : Sodium Dodécyl Sulfate
- **SDS- PAGE** : Sodium Dodécyl Sulfate- Poly Acrylamide Gel Electrophoresis
- **TEMED** : Tétraméthyléthylènediamine
- **TCA** : Acide Trichloroacétique

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Description de la plante <i>Avena</i> .....	<b>04</b>
<b>Figure 02</b> : Production céréalière de la campagne 2012/2013 par espèce....	<b>08</b>
<b>Figure 03</b> : la structure générale de beta glucine.....	<b>11</b>
<b>Figure 04</b> : L'habitats des espèces tétraploïdes : <i>A.Magna</i> , <i>A. Murphyi</i> , <i>A. insularis</i> .....	<b>14</b>
<b>Figure 05</b> : Le Caryotype d' <i>Avena insularis</i> .....	<b>14</b>
<b>Figure06</b> : Distribution des sites sur la carte géographique.....	<b>17</b>
<b>Figure07</b> : Dendrogramme des distances euclidiennes basé sur les propriétés physiques du grain des accessions d' <i>Avena insularis</i> étudiées.....	<b>24</b>
<b>Figure 08</b> : Analyse en composantes principales basée sur 11 propriétés physiques du grain .....	<b>26</b>
<b>Figure 09</b> : Profils électrophorétiques des 13 accessions d' <i>Avena insularis</i> ...	<b>28</b>
<b>Figure 10</b> : Représentation schématique des 13 accessions d' <i>Avena insularis</i> . .....	<b>29</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : les trois niveaux de ploïdie du genre <i>Avena</i> .....	<b>05</b>
<b>Tableau 02</b> : Historique de la découverte des différent espèces du genre <i>Avena</i> .....	<b>06</b>
<b>Tableau 03</b> : la production de l'avoine dans quelque pays .....	<b>07</b>
<b>Tableau 04</b> : la production des céréales entre 2000 et 2010 .....	<b>08</b>
<b>Tableau 05</b> : le contenu des vitamines dans 100g d'avoine .....	<b>10</b>
<b>Tableau 06</b> :le contenu des minéraux dans les céréales.....	<b>10</b>
<b>Tableau07</b> : les compositions des acides aminées de l'avoine et le blé .....	<b>12</b>
<b>Tableau 08</b> : Liste des sites de collecte des accessions <i>d'Avena insularis</i> étudiées.....	<b>17</b>
<b>Tableau 09</b> : Moyennes des propriétés physiques du grain des accessions....	<b>22</b>
<b>Tableau 10</b> : Indices de similarité des 13 accessions <i>d'Avena insularis</i> .....	<b>23</b>
<b>Tableau 11</b> : Paramètres écogéographiques et bioclimatiques des sites de collecte .....	<b>27</b>
<b>Tableau 12</b> : composition protéique en sous unités glutélines des 13 accessions d'avoine tétraploïde <i>Avena insularis</i> collectées en Algérie.....	<b>30</b>
<b>Tableau 13</b> : Les diagrammes types des sous unités glutélines observées dans la collection d'avoine tétraploïde <i>Avena insularis</i> .....	<b>31</b>
<b>Tableau 14</b> : Fréquences des sous unités glutélines des 13 accessions <i>d'Avena insularis</i> .....	<b>31</b>
<b>Tableau 15</b> : Diagrammes types variétaux des accessions <i>d'Avena insularis</i> étudiées.....	<b>32</b>
<b>Tableau16</b> : Indices de similarité calculés pour les 13 accessions <i>d'Avena insularis</i> .....	<b>33</b>

## Sommaire

<b>Titre</b>	<b>page</b>
Introduction Générale	1
<b>Chapitre I</b>	
<b>Revue bibliographique</b>	
I - L'avoine	3
1. Histoire	3
2. Morphologie de la plante	3
3. Classification	5
4. Production et Rendement	6
5. Superficie et culture	8
6. Utilisation de l'avoine	9
7. La composition chimique et nutritionnelle de l'avoine	9
7-1 micromolécules	9
7-2 les macromolécules	11
II - L'espèce <i>Avenainsularis</i>	13
1. Origine et morphologie	13
2. Distribution et écologie	13
3. Le Caryotype et la méiose	14
III - Les marqueurs	15
1-les marqueurs moléculaires :	15
2- Les marqueurs traditionnels	15
2-1- Les marqueurs morphologiques	15
2-2- Les marqueurs cytologiques	16
2-3-Les marqueurs biochimiques	16
<b>Chapitre II</b>	
<b>Matériel et méthodes</b>	
1. Matériel végétal	17
2. Propriétés physiques du grain	18
3. Technique d'électrophorèse	18
3.1. Principe	18
3.2. Méthodes d'extraction des protéines de réserve	19
3.3. Electrophorèse monodimensionnelle desgluténines par SDS-PAGE	19

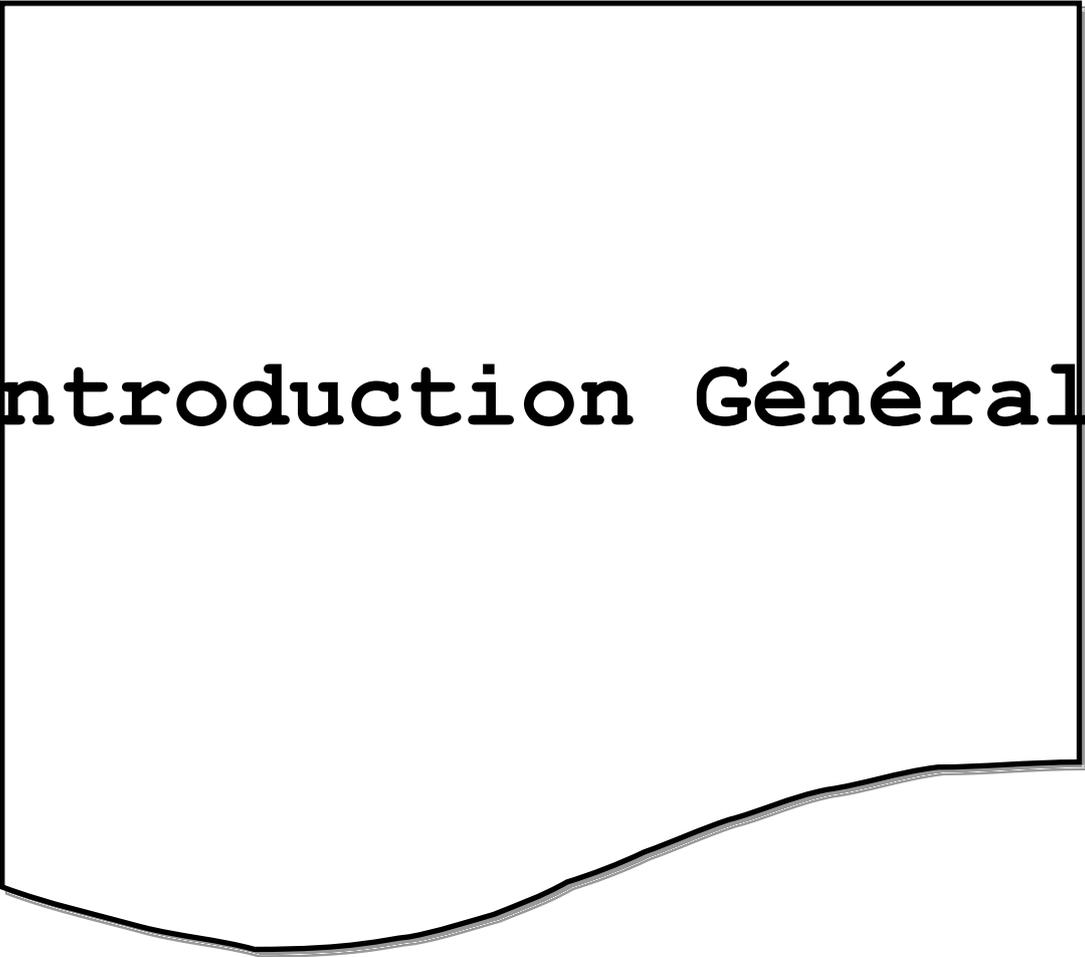
3.3.1. Préparation des gels	20
3.3.2. Conditions de migration	20
3.3.3. Coloration et décoloration	20
4. Lecture génétique des diagrammes	21
5. Analyse statistique des données	21

## **Chapitre III**

### **Résultats et discussion**

1. Analyse morphologique des accessions	22
1.1. Les propriétés physiques du grain	22
1.2. Calcul des indices de similarité basés sur les propriétés physiques du grain	22
1.3. Analyse en cluster basée sur les propriétés physiques du grain	24
1.4. Analyse en Composante Principale (ACP) basée sur les propriétés physiques du grain	26
2. Variabilité écogéographique	27
3. Diversité génétique des sous-unités glutélines de l'avoine tétraploïde <i>Avena insularis</i>	28
3.1. Variabilité des sous unités glutélines	29
3.2. Diagrammes types obtenus	30
3.3. Calcul des fréquences des sous unités glutélines	31
3.4. Etablissement des diagrammes types variétaux	32
3.5. Calcul des indices de similarité des diagrammes variétaux	33

<b>Conclusion</b>	34
Références Bibliographiques	35
Résumé	



# Introduction Générale

"La vie est d'abord une affaire de diversité"

- Robert Barbault-

Le monde vivant (les animaux, les plantes et les microorganismes) est d'une immense diversité représentée par de très nombreuses espèces. On pense en effet qu'il y a entre 8 et 9 millions d'espèces différentes ; nous n'en connaissons que 1,7 million. Cette diversité existe aussi à l'intérieur de chaque espèce, avec des différences entre les individus comme par exemple différentes tailles, formes, couleurs, rythmes de croissance ainsi que des adaptations diverses au milieu environnant et à ses changements. Cette diversité apparente de chaque individu est l'expression de la diversité génétique. Et c'est cette diversité qui constitue autant d'atouts pour le maintien et l'évolution, dans le temps et dans l'espace, des espèces.

L'homme a constamment recours à ces ressources génétiques comme par exemple dans l'agriculture et l'élevage, la médecine et l'industrie. Les ressources génétiques ont aussi un fort impact social et culturel car elles sont intimement liées à nos pratiques culturelles, à nos modes de vie et à la forme de nos paysages. Elles se rattachent à beaucoup de nos traditions, de nos techniques et savoir-faire. Elles impactent notre identité et appartenance sociale.

Les ressources génétiques sont donc d'une extrême importance pour l'humain et l'ensemble du vivant dont nous faisons partie. Ces ressources sont vivantes et évolutives ; elles sont aussi fragiles et menacées. Il convient de veiller sur ce patrimoine et de le gérer pour le long terme(**FRB.2018**).

Les Poacées (également dénommées Graminées) jouent un rôle au niveau mondial en produisant la base de précieux aliments.

Depuis toujours, les fruits des diverses céréales (blé, seigle, maïs, orge, avoine, riz et millet) ont été l'une des sources les plus importantes d'alimentation humaine et animale, à la fois comme fourrage et en tant que grain nutritif. En termes de quantité l'avoine se situe parmi les tout premiers produits alimentaires, c'est l'une des cultures céréalières les plus importantes dans le monde.

Les espèces d'avoine font l'objet de recherches approfondies pour préciser l'organisation complexe du genre *Avena* et indiquer les aspects de son évolution et les liens phylogénétiques entre les espèces (**Hansen, 1978; Youngset al., 1982**).

Le travail de ce mémoire s'inscrit dans ce contexte et a pour objectif l'appréciation de la diversité génétique de l'avoine tétraploïde *Avena insularis* par les marqueurs morphologiques et biochimiques.

Le présent travail est structuré en trois parties. Les données bibliographiques sont présentées dans la première partie de ce mémoire, avec une présentation générale de l'avoine suivie par une présentation de l'espèce *Avena insularis* tout en mettant l'accent sur les caractéristiques biochimiques des protéines du grain de l'avoine ainsi que les caractéristiques génétiques des protéines de réserve de l'avoine. La deuxième partie décrit le matériel biologique et l'ensemble des méthodes utilisées dans notre étude. Les étapes suivies dans l'exploitation de nos résultats ainsi que leur discussion sont présentées dans la troisième partie. Une conclusion générale et des perspectives sont enfin données.

# Chapitre I

## Revue bibliographique

## I - L'avoine

### 1. Histoire

L'avoine a toujours figuré parmi les cultures les plus anciennes de l'humanité. Des grains d'avoine datant de 10 500 av. J.-C. ont été trouvés dans les 'Grottes Franchthi' en Grèce (**Hansen, 1978; Youngset al., 1982**). Certaines archives sur l'avoine en tant que culture céréalière remontent à la période de l'occupation Romaine de l'Europe et d'autre à croire que l'avoine étaient connus en premier lieu par les anciens Chinois (**Mal'tzev, 1930**). Les Grecs connaissaient très bien l'avoine et lui confèrent le nom de cultures 'Vromos' ou 'Bromos' alors que les Romains l'appelaient 'Avena'. Le mot *Avena* était utilisé pour indiquer que l'avoine a été utilisée par les pays Latins bien avant 1753 et que Linnaeus a désigné *Avena* comme nom générique. Il semble probable que c'est un mot latin *Aveo* (désirer), c'est-à-dire désiré par tous les animaux. L'avoine est une culture céréalière de la Méditerranée (péninsule ibérique, nord-ouest Afrique) et du Moyen-Orient (Iran, Irak et Turquie). Les écrits du dix-huitième siècle décrivent l'avoine comme étant principalement un aliment pour les chevaux et le bétail en Angleterre et dans d'autres régions d'Europe. Bien que l'avoine était principalement utilisée pour l'alimentation des animaux, de 1500 à 1700, il était devenu une partie importante du régime alimentaire humain en Écosse, au pays de Galles, en Grande-Bretagne et en Irlande. Lorsque le blé et l'orge ont fait leur apparition dans le marché du continent Européen, la Grande-Bretagne et l'Asie de l'Est, l'avoine et le seigle étaient considérés comme des mauvaises herbes. En effet, la domestication de l'avoine est survenue beaucoup plus tard que celle du blé et de l'orge (**Murphy et Hoffman, 1992**).

### 2. Morphologie de la plante

L'avoine est une plante annuelle à racines fasciculées abondantes dans les dix premiers centimètres du sol. Elle peut produire des racines adventives au niveau des nœuds, aux pailles de 80 à 150 cm de la hauteur, simple ou ramifiée à la base et développe un tallage important, C'est une monocotylédone à tige cylindrique de 25 à 150 cm de haut. (**Clement et al. 1971**) ( figure 01) .La plante d'avoine se constitue principalement d'un :

**Appareil racinaire** : Un système racinaire fasciculé assez développé si on le compare à celui du maïs ou des graminées prairiales, notamment le dactyle, mais la profondeur de l'enracinement qui en résulte est souvent liée à la profondeur du plan d'eau (**Soltner, 1979**). On constate ainsi

que celui-ci est du type fasciculé peu développé, 55% des racines se trouvent entre 0 et 25 cm de profondeur, 17,5% entre 25 et 50 cm, 14,9% entre 50 et 70 cm, 12% au-delà (Clement et al, 1971.)

**Tiges :** Un pied d'avoine comprend généralement plusieurs tiges. Les plus grandes se terminent par des panicules. Sept ou huit feuilles s'insèrent sur autant de nœuds. On réserve le nom de chaume aux tiges comme celles de l'avoine rigides, dressées, grêles, non ramifiées et creuses sauf aux nœuds (Boulal et al., 2007).

**Feuilles :** Les feuilles d'un chaume sont alignées sur deux rangs (Boulal et al., 2007).

**Grains :** Le grain est un caryopse entouré de glumelle non adhérente mais restent fermés (Soltner et al, 2005).

**Fleurs :** Les fleurs sont hermaphrodites (les organes mâles et femelles sur les mêmes fleurs) Auto-pollinisées par le vent. Arrangées en épillets de deux à trois fleurs fertiles, mesurant de 20 à 25 mm de long, entourées de leurs glumelles supérieures et inférieures initialement partiellement masquées par les glumes supérieures et inférieures de l'inflorescence, ces dernières sont des panicules lâches, elles mesurent de 8 à 30 cm de long (Soltner, 1990).

**Les fruits :** L'avoine a des épis composés de 10 à 75 épillets (Soltner et al, 2005).

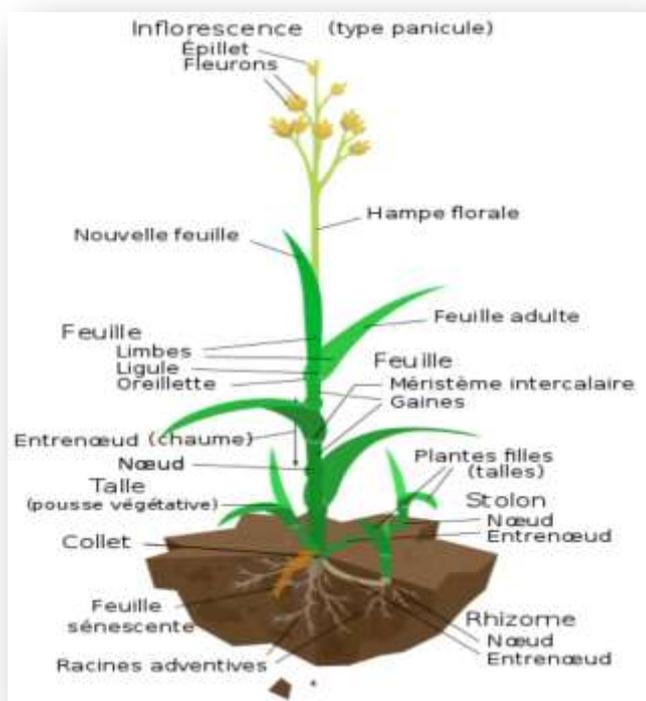


Figure 01 : Description de la plante *Avena* (<https://fr.m.wikipedia.org>).

### 3. Classification

L'avoine est un grain de céréale de la famille des Graminées (Poaceae), sous-famille des pooideae.

**Règne :** *Plantae*  
**Sous-Règne :** *Tracheobionta*  
**Subdivision :** *Spermatophia*  
**Division :** *Mangoliophita* :  
**Classe :** *Liliopsida* : *Monocotilidone*  
**Sous -classe :** *Commelinidae*  
**Ordre :** *Cyperales*  
**Genre :** *Avena*  
(Arendt, E. K., & Zannini, E. (2013).)

Ils se produisent à trois niveaux de ploïdie (diploïde, tétraploïde et hexaploïde) avec un nombre de chromosome de base  $x=7$  (tableau 1) (Youngset *al.*, 1982; Lásztity, 1998; Butt *et al.*, 2008).

**Tableau 01 :** les trois niveaux de ploïdie du genre *Avena*

Diploïde	$2n=4x=14$
Tétraploïde	$2n=4x=28$
Hexaploïde	$2n=6x=42$

La majorité de ces formulaires provenaient des centres d'origine, qui par définition montrent de grandes diversités des espèces d'*Avena*. La description des espèces du genre *Avena* a commencé dès le XVI<sup>e</sup> siècle et se poursuit jusqu'à aujourd'hui, plus tard un grand nombre d'espèces avait été décrit par un certain nombre d'auteurs depuis la mise en place de la nomenclature proposée par C. Linnaeus (Linnaeus 1753) (tableau 02).

**Tableau 02 : Historique de la découverte des différentes espèces du genre Avena**

Les espèces	ploidie	L'année de description	Reference
<i>A. fatua</i> L	6	1753	<b>Linneaus (1753)</b>
<i>A. sativa</i> L	6	1753	<b>Linneaus (1753)</b>
<i>A. sterilis</i> L	6	1762	<b>Linneaus (1753)</b>
<i>A. strigosa</i> Schreb	2	1771	<b>Schreber (1771)</b>
<i>A. barbata</i> Pott ex Link	4	1799	<b>Pott (1799)</b>
<i>A. hirtulaga</i>	2	1816	<b>Lagasca (1816)</b>
<i>A. M. Pilosa</i> Bieb	2	1819	<b>Marshall Bieberstein</b>
<i>A. clauda</i> Durieu	2	1845	<b>Durieu de Maisonneuve (1845)</b>
<i>A. longiglumis</i> Durieu	2	1845	<b>Durieu de Maisonneuve (1845)</b>
<i>A. accidentalis</i> Durieu	6	1845	<b>Durieu de Maisonneuve (1845)</b>
<i>A. byzantina</i> C. Koch	6	1848	<b>Koch (1848)</b>
<i>A. abyssinica</i> Hochst	4	1851	<b>Hochstetter (1852)</b>
<i>A. macrostachya</i> Balansa et Durieu	4	1854	<b>Balansa and Durieu Maisonneuve (1854)</b>
<i>A. ventricosa</i> Balansa	2	1854	<b>Balansa (1854)</b>
<i>A. wiestii</i> Steud	2	1855	<b>Steudel von (1855)</b>
<i>A. ludoviciana</i> Durieu	6	1855	<b>Cosson and Durieu de Maisonneuve (1855)</b>
<i>A. bruhnsiana</i> Gruner	2	1867	<b>Gruner (1867)</b>
<i>A. vaviloviana</i> (Malz) Mordv	4	1927	<b>Malzev (1930)</b>
<i>A. manga</i> Mirphy et Terrell	4	1964	<b>Radjathy et al. (1966)</b>
<i>A. murphyi</i> Ladizinsky	4	1971	<b>Ladizinsky (1971a)</b>
<i>A. prostata</i> Ladizinsky	2	1971	<b>Ladizinsky (1971b)</b>
<i>A. damascena</i> Rajhathy et Baum	2	1972	<b>Rajhathy and Baum (1972)</b>
<i>A. canariensis</i> Baum, Raihathy et Sampson	2	1973	<b>Baum et al (1973)</b>
<i>A. atlantica</i> Baum et Fedak	2	1985	<b>Baum and Fedak (1985a)</b>
<i>A. agadiriana</i> Baum et Fedak	4	1985	<b>Baum and Fedak (1985b)</b>
<i>A. insularis</i> Ladizinsky	4	1996	<b>Ladizinsky (1998)</b>

En 2011 des espèces ont été enregistrées qui sont : *A. brevis*, *A. hispanica*, *A. nuda*, *A. lusitanica*, *A. diffusa* Kole, CH. (2011).

#### 4. Production et Rendement

La production mondiale d'avoine, depuis 50 ans, atteignait 50 millions de tonnes, vu la mécanisation des fermes et la faible demande d'avoine pour la nourriture des chevaux cette dernière a diminué presque à la moitié (Planetoscope, 2012). Néanmoins, au cours des cinq

dernières années, la production d'avoine s'est stabilisée à un peu plus de 24 millions de tonnes (Tableau 03).

Aujourd'hui, la production de l'avoine occupe le sixième rang des statistiques mondiales de production, après le maïs, le blé, l'orge, et le mille (Tableau 04).

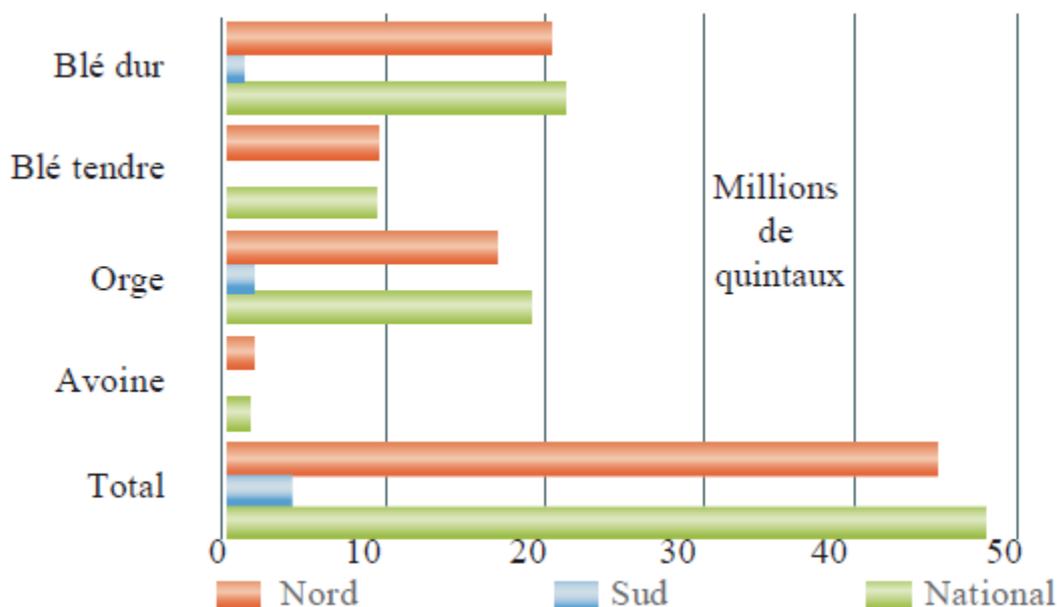
Elle représente 01% de la production céréalière totale. Les six premiers pays producteurs d'avoine dans le monde sont : Canada, États-Unis, Fédération de Russie, la Chine, la Finlande et la Pologne.

Le rendement dans la plupart des régions varie de 1,4 à 3,7% tonnes sèches / ha-1 et le rendement moyen mondial est de 2,24 tonnes sèches / ha-1. Le plus haut rendement est atteint en Irlande avec 7,1 tonnes sec / ha-1, soit trois fois plus que le rendement moyen mondial (FAO, 2012).

En Algérie il ya une nette augmentation de la production de l'avoine (FAO de 2000 a 2009) (tableau03), mais elle est faible par rapport a d'autre céréales. L'agriculture de l'avoine est presque nul au sud algérien vu le climat défavorable (chaud). (Figure 03).

**Tableau 03 : la production de l'avoine dans quelque pays (2000-2009)  
(FAO 2012)**

Albanie	208.8	209.1	214	246.2	340.5	340.4	357	303.2	405.3	358.4
Algérie	146.2	142.5	138	193.8	208.2	204.7	220	231	247.7	220.3
Argentine	103.1	121.1	116.2	172.4	250.8	349.2	375.5	463.7	540.3	180.6
Arménie	61.5	68.3	95.1	142	101.6	102.4	110.7	202.1	235.7	171.4
Australie	87.9	89.7	84.7	99.3	95.7	87.2	108	197.4	159.7	100
L'Autriche	101	69.4	80	94.9	103.7	103.1	132.9	139.7	144.8	172.8
Azerbaïdjan	73.2	56.2	50.4	46.5	55.5	57.8	59.5	68.9	105.6	77.8
Belarus	116.7	113.1	96	106.1	109.4	103.4	11.5	13.6	198.3	217.2
Belgique	141.2	135.3	125.9	120.4	119.7	120	123.3	131.1	176.3	183.7
Bolivia	169.6	211.4	142.9	199.1	215.5	212.1	75.5	331.5	416	210.7
Brésil	73.5	83.3	71.3	103.9	118.2	102.4	103.3	137.4	202.7	180
Bulgarie	59.3	82	117.2	102.1	93.9	95.8	112	151.5	184.6	128.5
Canada	120.5	99.4	122	127.9	113.6	133.1	154.3	233.7	255.5	199.1
Chili	49	72.4	109.1	159.6	141.6	141.2	188.1	322.1	367	395.3
Chine	93	126.1	116.4	156.2	178.6	150.7	141.8	192.5	294.8	182.4
Croatie	401.7	388.7	343.9	105.8	448.6	506.9	545.2	594.5	769.1	730.6
Chypre	98.1	121.5	140.2	169.8	155.6	137.9	145.7	177.4	250.4	147
République Tchèque	114.3	100.3	99.7	115.1	124.5	124.9	141.7	252.8	245.2	140.2
Equateur	57.5	58.8	65.5	79.9	107.4	103	129.8	202.6	95.2	77.1
Estonie	135.1	125.3	91	150	194.3	4	238	307.3	451.1	349.5
Ethiopie	109.1	99.6	97.9	103.8	108.2	192.5	134.4	205.6	202.1	119.4
Finlande	96.5	108.7	80.7	94.2	98.8	108.4	131.7	232.9	200.8	118.1
France	207	187.2	179	199.9	235.8	105.8	126.1	187.9	215.9	100.8
Géorgie	98.3	92.3	87.5	101.6	120.6	260.9	119.3	217.9	218.3	127.8
Allemagne	171.7	176.1	155	196.7	224.5	102.2	217.5	309.4	346.4	304.2
Grèce	88.4	85.4	82.9	113.6	116.3	234.7	104.9	224.6	196.7	134.3
Hongrie	97.1	87.5	91.3	120.8	124.3	91.1	160.7	259.1	191.9	156.9
Islande	333.6	325.8	322.1	371.8	379	132.1	422.4	432.6	665.3	255



**Figure 02 :** Production céréalière de la campagne 2012/2013 par espèce  
(Bilan ITGC 2012/2013).

**Tableau 04 :** la production des céréales entre 2000 et 2010  
(FAO, 2012)

Grain	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
maïs	592.4	615.5	604.8	645.1	728.8	713.4	706.6	789.6	826.7	818.8	840.3
blé	8	589.8	574.7	560.1	632.7	626.8	602.9	612.6	683.0	685.6	653.6
L'orge	585.7	143.9	136.7	142.5	153.8	138.6	139.5	134.11	154.7	152.2	123.5
sorgho	133.1	59.6	53.3	58.8	57.8	59.6	57.4	62.0	65.8	56.1	55.7
Millet	55.7	28.9	23.9	34.8	29.6	30.9	31.8	33.7	34.9	26.7	31.6
L'avoine	27.6	27.33	25.4	26.5	26.0	23.7	22.7	25.8	25.8	23.2	19.6
seigle	26.1	23.4	20.9	14.6	17.7	15.1	12.6	15.1	18.1	18.2	12.4

## 5. Superficie et culture

La superficie des terres destinées à la production d'avoine a diminué considérablement au cours des 40 dernières années, de 38 millions d'hectares en 1961 à un peu plus de 9 millions d'hectares en 2010 (FAO 2012). Cela dû au remplacement de la culture d'avoine par des cultures de plus grande valeur ; telles que le soja ou d'autres cultures d'oléagineux.

L'avoine est une céréale robuste considérée comme une culture qui s'adapte à tous types de sols, y compris alcalins (8.5) et acides (4.5) ; bien que le meilleur rendement se produit avec un

pH compris entre 5 et 6(Zwer, 2004).Elle est aussi résistante aux niveaux élevés de manganèse dans le sol (Planetoscope, 2012).

L'avoine a l'avantage de pouvoir être cultivée en utilisant peu de pesticides, ce qui en fait une céréale adaptée à une agriculture biologique. En revanche, particulièrement adaptée aux climats frais et humides, elle est très sensible au manque d'eau, car il faut 800 litres pour 1 kg d'avoine(Planetoscope, 2012).

## 6. Utilisation de l'avoine

L'avoine est l'une des sources les plus importantes d'alimentation animale et humaine dans le monde entier, à la fois comme fourrage et également utilisée dans la production de nombreux produits alimentaires destinés à la consommation humaine.

On sait depuis longtemps que l'avoine constitue le meilleur aliment ou concentré pour les rations des chevaux. La culture de l'avoine a diminué fortement avec la motorisation de l'agriculture et la disparition des chevaux de trait(Planetoscope, 2012).Mais a été largement adoptée comme aliment pour les bovins, vaches laitières et la volaille. Elle est aussi utilisée pour faire des appâts empoisonnés pour détruire les sauterelles et certains rongeurs gênants(Stanton, T. R. 1953).

Comme les temps ont bien changé, aujourd'hui l'avoine est appréciée sous différentes formes et surtout pour ses bienfaits que ce soit dans l'alimentation humaine (le son d'avoine, farine, flocons, lait et alcool d'avoine) ou fabrication pharmaceutique (produit de soin pour la peau comme le savon surgras au lait)(Planetoscope, 2012).

L'intérêt grandissant pour l'avoine comme aliment bénéfique pour notre santé s'est accru depuis plusieurs années grâce à sa composition chimique citée ci-dessous.

## 7. La composition chimique et nutritionnelle de l'avoine

### 7-1 micromolécules

- **les antioxydants** : L'avoine est riche en antioxydants, y compris en vitamine E, aux acides phénoliques, aux flavonoïdes, des stérols, de l'acide phytique ,et aussi les avenanthramides, qui sont uniques à l'avoine ,en plus de leur forte activité antioxydante prouvée in vitro et in vivo ,avenanthramides ont été récemment utilisés dans le traitement de l'hypertension artérielle ,ils ont une activité anti-irritante, qui pourrait offrir une protection supplémentaire contre les maladies coronariennes, le cancer du côlon et l'irritation de la peau.

- **Vitamines :** Les produits à base d'avoine apportent des vitamines à l'alimentation humaine,. Comparativement aux autres céréales Le tableau 05 montre les valeurs représentatives des vitamines dans l'avoine et les produits à base d'avoine, exprimée en mg de vitamines pour 100 g d'avoine sèche.

**Tableau 05 :** le contenu des vitamines dans 100g d'avoine

Eléments nutritifs	Noyaux d'avoine	Son d'avoine	Coques d'avoine
Tocophérol (mg)	1.60	3.30	–
Thiamine (mg)	0.70	0.10	0.15
Riboflavine (mg)	0.12	0.18	0.16
Niacine (mg)	0.9	0.9	1.04
Pyridoxine (mg)	0.23	0.15	–
Pantothenate (mg)	1.1	1.0	–
Folate (µg)	60	37	–
Biotine (µg)	21	38	–

- **oligo-élément :** La teneur en minéraux de l'avoine est généralement de 2 à 3 % (tableau 06), l'avoine est riche en magnésium,sélénium, phosphore qui favorisent l'endormissement et prévenir le stress, l'iode indispensable au bon fonctionnement de la thyroïde .

**Tableau 06:**le contenu des minéraux dans les céréales.

oligo-élément	L'avoine	blé	L'orge	seigle	riz	maïs	sorgho
Manganèse (Mn)	5	505	1.8	7.5	6	0.6	1.5
Cuivre(Cu)	0.4	0.8	0.9	0.9	0.3	0.2	0.5
Fer (Fe)	7	6	6	9	–	2	6
Magnésium(Mg)	140	180	140	130	90	140	150
Calcium (ca)	95	60	90	70	68	30	20
Potassium (K)	460	580	630	520	340	330	400
Phosphate(P)	340	410	470	380	285	310	405

## 7-2 les macromolécules

**Les fibres :** Le grain d'avoine contient de grandes quantités de polysaccharides non amylacés qui sont les principaux constituants des fibres alimentaires. De nombreuses études ont démontré

qu'une fibre particulière de l'avoine, nommé le bêta-glucane ( $\beta$ -glucane) (figure03) aurait des propriétés régulatrices sur la glycémie et sur le taux de cholestérol sanguin (Blog nutrition santé. 2010).

La teneur en  $\beta$ -glucane de l'avoine varie de 2 à 8 g/100 g d'avoine.

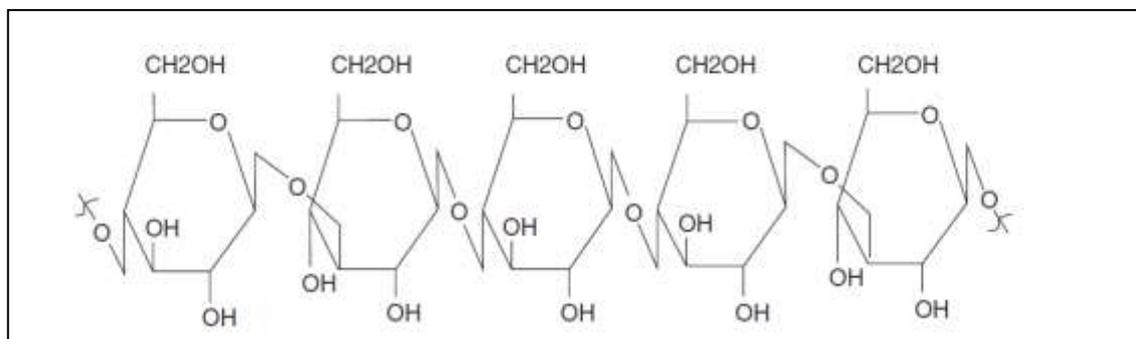


Figure 03 : la structure générale de beta glucine

- **lipide** :l'avoine contient des taux de lipides beaucoup plus élevés que ceux de toutes les autres céréales .ce qui en fait une excellente source d'émissions de l'énergie. la teneur en lipides du grain d'avoine varie de 3,1 à 11,8 %.
- **Les protéines** : Les protéines de réserves contribuent à la qualité nutritionnelle, à la santé et fonctionnalité de l'avoine, représentent environ 15-20 % en poids du gruau d'avoine, en fonction du génotype et de l'environnement de culture.

La protéine de réserve de l'avoine prédominante est classée dans la catégorie de la globuline, qui a une meilleure composition en acides aminés (pour la nutrition humaine et animale) que la prolamine, principale protéine de stockage de la plupart des autres céréales. La quantité et la qualité des protéines d'avoine sont considérées comme adéquates dans la plupart des cas, et à l'heure actuelle, il existe peu d'incitation à produire de nouveaux cultivars pour une concentration accrue en protéines ou une composition améliorée en acides aminés (tableau07).

Les protéines de semences sont généralement classifiées en quatre types en fonction de la solubilité : Albumine, Globuline, Prolamine et Glutéline(Francis, H *et al.*, 2011).

**Tableau07** : la compositions des acides aminées de l'avoine et le blé (Francis, H *et al.*, 2011).

<b>Acides Amines (g/100g protéine)</b>	<b>Grains d'avoine</b>	<b>Grains de blé</b>	<b>Besoin d'un adulte</b>
Histidine	2.2	1.2	1.5
Isoleucine	3.9	4.2	3.0
Leucine	7.4	7.6	5.9
Lysine	4.2	2.9	4.5
Méthionine	2.5	1.9	1.6
Cystéine	1.6	2.3	0.6
Phénylalanine	5.3	5.3	1.9
Tyrosine	3.1	3.3	–
Thréonine	3.3	2.7	2.3
Tryptophane	–	1.1	0.6
Valine	5.3	4.5	3.9

## II - L'espèce *Avena insularis*

### 1. Origine et morphologie

*Avena insularis* est une espèce d'avoine tétraploïde. Elle a été découverte en 1996 par Ladizinsky dans le sud de la Sicile.

Sur le plan morphologique, elle ressemble à deux espèces tétraploïdes  $2n=28$  (*Avena Murphy*, *Avena Magna*) et deux espèces hexaploïdes  $2n=42$  (*Avena Sterilis*, *Avena Sativa*) (Baum, B.R.1977).

*Avena insularis* est une plante annuelle, sa croissance juvénile prostrée à ériger. L'apparence de la couleur est verte. Elle se compose essentiellement des chaumes dressés. C'est une plante moyennement haute de 60 à 80 cm de hauteur,

Ligules aiguës à tronquer d'un point, la Panicule équilatérale à légèrement marqué de 8 à 12 cm de longueur.

La plupart des épillets sont reliés individuellement à l'axe de la panicule par un racème de 2–4 cm, sont de forme « V » de 2 à 2,2 cm de long sans les arêtes, chaque épillet a 2 - 3 fleurons. Les glumes égales ou presque de 24 à 50 mm de long, avec 9 à 10 nervies; seul le fleuron le plus bas se désarticule à maturité. Les cicatrices sont linéaires, Anneau de périphérie limité à  $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{3}$  de la cicatrice, Les arêtes sont insérées à peu près au plus bas  $\frac{1}{3}$  du lemme ou plus haut mais nettement en dessous du milieu. Structure de la lemme difficile ; pointes de la lemme bidentées à bisubulées de 1 à 3 mm; lemmes densément assoiffées de macro-poils, parfois très peu nombreux, ou lemmes glabres. Paléas avec 1 à 3 rangées de cils le long des carènes, principalement 2 paléas de dos semées de piquants. Lodicules de type *fatua*, portant très rarement quelques piquants. L'épiblast de type *fatua*.

### 2. Distribution et écologie

*Avena insularis* a été découverte pour la première fois en Sicile. Quatre populations ont été trouvées entre les villes de Gela et Butera dans la partie sud de l'île, où ils ont grandi dans des cenoses non perturbées sur les collines à une altitude de 50 à 150 m au-dessus du niveau de la mer sur les sols argileux alluviaux avec du sous-sol caillouteux – sable – argile et conglomérat, plus tard les populations de cette espèce ont été trouvées à Tunis (Temime et Bargon) (figure 04).

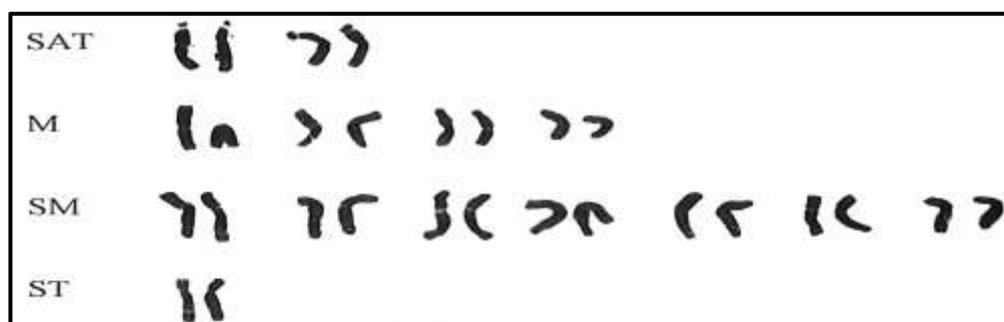


**Figure 04** : L'habitats des espèces tétraploïdes : *A.Magna* ,*A. Murphyi* , *A. insularis*  
 ( O. Yu. Shelukhina *et al.*, 2007)

### 3. Le Caryotype et la méiose

Le caryotype d'*Avena insularis* selon **levan et al (1964)**, consistait en deux paires de chromosomes satellitaires, quatre paires de métacentriques, sept paires de chromosomes sub-métacentriques et une paire de chromosomes subterminaux. Dans certaines cellules, une paire de chromosomes sub-métacentriques présentait un léger rétrécissement sur le tiers inférieur du bras long. Cette zone pâle était beaucoup plus étroite que le rétrécissement secondaire dans les deux paires de chromosomes satellites (figure 05).

A la méiose : 14 bivalents étaient régulièrement formés avec une moyenne de 26,13% chiasma par cellule.



**Figure 05** : Le Caryotype d'*Avenainsularis*  
 (Levan, A., K. Fredga & A.A. Sandberg. 1964)

### **III - Les marqueurs**

Les marqueurs génétiques sont utilisés pour faciliter les études de l'hérédité et l'estimation de la variation génétique. Ils peuvent être classés en deux catégories : des marqueurs traditionnels (classiques) et des marqueurs d'ADN appelés aussi marqueurs moléculaires (Medouri, A. 2016).

#### **1-les marqueurs moléculaires :**

Pendant longtemps, les caractères morphologiques ont été les seuls outils disponibles pour retracer l'histoire des populations. Toutefois, ce type de marqueurs ne rend souvent pas fidèlement compte de l'histoire des populations. En effet, il arrive fréquemment que les variations phénotypiques ne soient pas seulement liées à l'histoire évolutive des populations mais soient également déterminées par des facteurs tels que l'adaptation locale. Les marqueurs moléculaires, réputés neutres (n'agissant pas sur les caractères sélectionnés), s'affranchissent de ces facteurs confondants et peuvent permettre d'accéder à l'histoire des populations. L'analyse de la diversité génétique neutre permet de comprendre la structuration spatiale de la diversité et de construire des hypothèses sur les différents événements liés à la domestication et à la diffusion de la plante.

Les marqueurs moléculaires sont basés sur la mise en évidence de variations des séquences nucléotidiques dans l'ADN entre les individus. Ils présentent comme avantage d'être pratiquement en nombre illimité. Leur niveau de variation (polymorphisme) est plus grand que pour les autres types de marqueurs. D'autre part, ils ne sont pas modifiés par le milieu ambiant ni par la nature de l'échantillon prélevé chez un individu. Les marqueurs moléculaires se classent en trois grands groupes : les RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), les marqueurs basés sur la PCR (Polymerase Chain Reaction) et les SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) (Medoukali, I. 2016).

#### **2- Les marqueurs traditionnels**

Les marqueurs traditionnels renferment les marqueurs morphologiques, cytologiques et biochimiques.

##### **2-1- Les marqueurs morphologiques**

À la fin des années 1800, Gregor Johann Mendel proposait les lois de bases de génétiques en se basant des caractères morphologiques du poids de jardin (*Pisum sativum*). Les caractères morphologiques sont à l'origine des classifications taxonomiques des plantes et l'identification

des taxons. Certains d'entre eux sont liés à des critères agronomiques, par conséquent, ils peuvent être exploités dans les programmes de sélection végétale. Les mesures morphologiques ont l'avantage d'être immédiatement disponibles, de ne pas nécessiter d'équipement sophistiqué et d'être la mesure la plus directe du phénotype, donc être disponibles pour une utilisation immédiate, ce qui est un atout important. Néanmoins, les déterminations morphologiques doivent être réalisées par un expert de l'espèce, leur nombre est limité, sensiblement affectées par des facteurs environnementaux et peuvent varier selon les stades de développement. En outre, de nombreux marqueurs morphologiques ne sont pas associés à des traits agronomiques (ex., rendement et qualité) ou peuvent avoir des effets délétères sur les phénotypes.

## **2-2- Les marqueurs cytologiques**

En étudiant la morphologie, le nombre et la structure des chromosomes des espèces, plusieurs caractéristiques cytogénétiques peuvent être identifiées telles que ; les différents types d'aneuploïdie et les structures chromosomiques. Ceci est en faveur de leur utilisation comme marqueurs génétiques (localisation des positions relatives des gènes et la cartographie génétique). En cytologie, les caractéristiques structurales des chromosomes sont visualisées par le caryotype et le banding. Les techniques du banding (Q, G et R) montre la largeur, l'ordre et la position, et révèle la différence de distribution de l'euchromatine et l'hétérochromatine. Ces points de repères ne servent pas seulement à la caractérisation des chromosomes normaux et la détection des mutations, mais aussi pour la cartographie physique et l'identification des groupes de liaison en association avec des techniques moléculaires. L'utilisation des marqueurs cytologiques était très limitée dans les analyses de diversité génétique. Toutefois, ils sont très utiles dans les analyses phylogénétiques.

## **2-3-Les marqueurs biochimiques**

Les marqueurs protéiques sont généralement appelés "marqueurs biochimiques" mais, de plus en plus, ils sont considérés à tort comme une classe commune sous la dénomination "marqueurs moléculaires. Apparus vers les années 1970, ils ont été les premiers à avoir été utilisés pour étudier la variabilité génétique . Les plus utilisés sont les isozymes. Protéines ou isozymes, les marqueurs biochimiques sont des éléments génétiques issus de l'expression biochimique des gènes. Les protéines d'une cellule végétale peuvent facilement être extraites et analysées par électrophorèse. Néanmoins leur utilisation est limitée car ils peuvent être influencés par les différents stades du développement physiologique (Medouri, A. 2016).

# Chapitre II

## Matériel et méthodes

## 1. Matériel végétal

L'étude a porté sur l'espèce d'avoine tétraploïde *Avena insularis*. Les 13 accessions ont une origine géographique connue. Elles ont été collectées dans 13 sites différents dans le nord-est algérien (figure 06), présentant diverses conditions bioclimatiques et écologiques (tableau 08). L'identification taxonomique des accessions a été vérifiée pour la morphologie de la plante en utilisant la clé fournie par (Ladizinsky, G. 2012). La collection des 13 accessions d'*Avena insularis* provient du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales de l'Université Frères Mentouri Constantine 1.



**Figure06** : Distribution des sites sur la carte géographique.

**Tableau 08**: Liste des sites de collecte des accessions d'*Avena insularis* étudiées.

Accessions	Sites	Latitude	Longitude	Altitude (m)
1	Lac des Oiseaux (annaba)	36°46'21.54"N	8° 6'23.49"E	6
2	Berrihane (annaba)	36°50'30.98"N	7°58'9.02"E	8
3	Dréan (annaba)	36°40'5.05"N	7°43'34.59"E	20
4	Aïn El Assel (annaba)	36°47'34.37"N	8°22'32.82"E	26
5	El Bouni(annaba)	36°50'46.29"N	7°46'3.42"E	6
6	El Tarf	36°45'44.99"N	8°20'50.75"E	29
7	Besbas(annaba)	36°42'25.97"N	7°49'28.72"E	17
8	Annaba	36°52'24.85"N	7°43'22.46"E	0
9	Ben M'hidi(annaba)	36°45'43.03"N	7°54'46.61"E	7
10	El Kala	36°53'54.88"N	8°25'7.85"E	54
11	Echatt(annaba)	36°50'22.64"N	7°55'39.83"E	16
12	Bouteldja(annaba)	36°47'37.83"N	8°11'36.82"E	12
13	Berrahal(annaba)	36°49'47.81"N	7°28'14.28"E	32

## 2. Propriétés physiques du grain

Les grains ont été nettoyés manuellement. Les grains cassés et immatures sont éliminés.

Afin de déterminer la taille moyenne du grain, dix grains sont pris au hasard et leurs trois dimensions linéaires ; longueur L, largeur, W et épaisseur T ; sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse 0-150mm (6'') avec une précision de 0.01mm.

Le diamètre moyen du grain a été calculé en utilisant la moyenne arithmétique et la moyenne géométrique des trois dimensions axiales selon les relations suivantes (**Mohsenin 1970**) :

- $D_a = (L+W+T)/3$
- $D_g = (LWT)^{1/3}$

La sphéricité des grains a été calculée selon l'équation suivante (**Mohsenin 1970**) :

- $\Phi = (LWT)^{1/3}/L$

La surface du grain a été analysée par l'analogie avec la sphère du même diamètre moyen géométrique selon l'expression suivante, citée par **Olajide et Ade-Omowaye (1999)** :

- $S = \pi \cdot D_g^2$

Le volume du grain a été calculé selon **Subukola et Onwuka (2011)** comme suit :

- $V = (\pi \cdot LWT) / 6$

La moyenne carrée et les diamètres équivalents ont été calculés selon la formule de **Asoegwu et al (2006)** :

- $D_{sq} = ((LW+WT+LT)/3)^{1/2}$
- $D_e = (D_a+D_g+D_{sq})/3$

Finalement, le ratio de l'aspect du grain a été déterminé selon l'équation utilisée par **Seifi et Alimardani (2010)** :

- $R_{as} = W/L$

## 3. Technique d'électrophorèse

### 3.1. Principe

Toutes les techniques d'électrophorèse sont basées sur le principe de la mobilité séquentielle des molécules protéiques dans un support soumis à un courant électrique. Cette mobilité est fonction de :

- La charge électrostatique fournie par les cinq acides aminés acides ou basiques.
- La dimension et la forme des protéines.
- L'intensité du champ électrique (tension aux électrodes et conductibilité de support).

- La taille des mailles du support.
- La température de l'électrolyte.

### 3.2. Méthodes d'extraction des protéines de réserve

Les protéines de la réserve sont extraites à partir de la farine de 5 grains entier, selon la méthode de Singh et *al.*,(1991), adaptée de la méthode de **Marchyllo et al., (1989)**. Cette méthode se base sur l'extraction séquentielle et nécessite l'utilisation de trois solutions de base:

- Solution (A) 50 % v/v propan-1-ol.
- Solution (B) 50 % v/v propanol-1-ol, 0,08 M Tris Hcl pH 8,8.
- Solution (C) la solution tampon 2 % p / v SDS, 40 % p/v glycérol, 0,02% p/v bleu de bromophénol 0,08 de Tris Hcl pH=8

Les avénines sont extraites en premier dans 1 ml de la solution A , pendant 30 minutes à 60°C, avec deux agitations intermédiaires toutes les dix minutes, suivie d'une centrifugation pendant 1 minute. Le surnageant est ensuite récupéré dans un autre eppendorf et mis à l'évaporation toute une nuit à 65°C, on obtient ainsi la fraction avénine. D'un autre côté le résidu est lavé dans 0,5ml de la solution A, à 65°C pendant 30 minutes, cette fois sans vortex intermédiaire, puis centrifugé à 10000 g pendant 1 minute, le surnageant est éliminé par aspiration. Et pour s'assurer de l'élimination complète des avénines, et afin d'éviter toute contamination des préparations ultérieures des glutélines, on réintroduit au résidu, pour la troisième fois 0,5 ml de la solution A, on vortex, on centrifuge à 10000 g pendant 5 minutes, et le surnageant contenant le reste des avénines est éliminé par aspiration. Le résidu obtenu forme le matériel de départ de la procédure d'extraction des glutélines. Les glutélines sont extraites, en rajoutant au résidu 0,1ml de la solution B et d'un agent réducteur, le dithiothreitol (DTT) à 1 %. Après incubation et centrifugation, on rajoute encore de la solution A et un agent alkylant, le 4-vinylpyridine. Le mélange est incubé puis centrifugé. Et un aliquote (0.1 ml) de surnageant est transféré à un autre eppendorf contenant de la solution C, le mélange est bien agité et ensuite incubé pour une complexation du SDS avec le polypeptide des gluténines réduites et alkylées, et après une centrifugation les échantillons sont prêts pour une révélation des sous unités glutélines par SDS-PAGE.

### 3.3. Electrophorèse monodimensionnelle des gluténines par SDS-PAGE

La technique d'électrophorèse utilisée est celle proposée par **Laemli (1970)** modifiée par **Payne et al., (1979)**. La séparation se fait sur gel vertical en système discontinu, en présence d'un détergent ionisé, le Sodium Dodecyl Sulfate (SDS).

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

### **3.3.1. Préparation des gels**

Le support d'électrophorèse est formé d'un gel de séparation (separating gel) à T=12.8% et d'un gel de concentration (stacking gel) à T=2.8 %. Ces deux gels sont préparés à base d'acrylamide à 35% (p/v), de N,N'-méthylène bis-acrylamide à 2 % (p/v), du SDS à 10% (p/v) et de Tris-HCl 1M, tamponnés à pH 8.8 pour le gel de séparation, et à pH 6.8 pour le gel de concentration. Ces deux gels sont polymérisés en présence du Temed et de l'APS.

Le gel de séparation est préparé le premier, bien mélangé puis coulé entre deux plaques en verre, en laissant un vide de 4 cm pour le stacking gel. Une fine couche du butanol est ajoutée pour niveler le gel et pour le protéger de l'air. La polymérisation s'effectue à une température ambiante pendant environ 45 minutes. Ensuite, le gel de concentration est préparé, bien mélangé puis coulé, et des peignes à 15 puits sont rapidement insérés.

Après la polymérisation du stacking gel qui s'effectue dans plus de 60 minutes, les peignes sont enlevés en obtenant ainsi des puits servant pour le dépôt des extraits à raison de 15 µl chacun.

### **3.3.2. Conditions de migration**

La cuve d'électrophorèse est remplie à raison avec un volume suffisant de tampon de migration, et maintenue à une température constante à 10°C grâce à un système de refroidissement. Le gel de dimension 180 x 105 x 1.5 mm est soumis à une intensité constante de 40 mA, et une tension ne dépassant jamais le maximale de 1200 v. Les protéines chargées négativement migrent vers l'anode et sont séparées selon leur encombrement moléculaire. La migration est arrêtée généralement une demi-heure après la sortie du front coloré.

### **3.3.3. Coloration et décoloration**

Les protéines sont fixées dans une solution de TCA à 60%, au bleu de coomassie R250 à 1% (p/v) (annexe3), pendant 24 heures sous agitation. Les gels sont ensuite décolorés en les

plaçant dans l'eau du robinet pendant toute la nuit. Une fois les gels sont décolorés, ils sont placés dans une solution du glycérol à 10% pendant 1 heure d'agitation au minimum pour être, ensuite séchés et conservés entre deux feuilles de papier polyéthylène.

#### **4. Lecture génétique des diagrammes**

Elle consiste à établir une nomenclature génétique des sous unités glutélines en établissant une typologie de ces sous unités pour l'espèce *Avena insularis*. Pour ce faire les mobilités des différents composants révélées par électrophorèse sont calculées.

La mobilité de chaque bande est calculée, à partir de la mobilité réelle qui est la distance parcourue par la bande entre le point d'application de l'échantillon et la position de la bande correspondante dans le gel.

#### **5. Analyse statistique des données**

Après la lecture des sous unités glutélines, nous avons calculé les fréquences de toutes les bandes protéiques obtenues et les indices de similarités des accessions comparées deux à deux. Les distances euclidiennes et le regroupement des accessions ont été utilisés pour estimer la variabilité dans l'expression des sous unités glutélines au sein des accessions. La relation entre les accessions étudiées a été démontrée en établissant un dendrogramme à l'aide du logiciel Statistica version 6.0. La même méthode a été utilisée pour tracer le dendrogramme des propriétés physiques du grain. Pour montrer la relation entre les 11 propriétés physiques du grain étudiées et identifier les quelles contribuent le plus dans la séparation et la discrimination des accessions d'*Avena insularis*, une analyse des composantes principales a été effectuée.

**Chapitre III**

**Résultats et**

**discussion**

## 1. Analyse morphologique des accessions

L'étude de la morphologie de la plante a été réalisée en utilisant la clé fournie par **Ladizinsky, G. (2012)**. Les résultats de l'analyse des différentes parties de la plante n'ont révélé aucune différence entre les 13 accessions malgré les origines éco-géographiques différentes de ces dernières. Ces résultats nous ont conduits alors à analyser les propriétés physiques des grains qui présentaient des différences remarquables.

### 1.1. Les propriétés physiques du grain

Les moyennes des propriétés physiques des grains d'*Avena insularis* sont présentées dans le tableau suivant.

**Tableau 09** : Moyennes des propriétés physiques du grain des accessions.

Accessions		Les caractéristiques physiques										
N°	Sites de collecte	L (mm)	W (mm)	T (mm)	Da	Dg	$\Phi$ (%)	S (mm <sup>2</sup> )	V (mm <sup>3</sup> )	Dsq	De	Ras
1	lac des oiseaux	6.25	1.57	0.86	2.9	2.04	0.32	13,07	4,44	3,60	2,84	0,25
2	Berrihan	7.06	1.85	1.03	3.32	2.38	0.33	17,86	7,09	4,17	3,29	0,26
3	Drean	7.57	1.85	0.92	3.45	2.34	0.31	17,33	6,78	4,24	3,34	0,24
4	ain el assel	6.95	1.68	0.92	3.19	2.21	0.31	15,39	5,68	3,92	3,10	0,24
5	el bouni	7.45	1.88	1.03	3.46	2.44	0.32	18,75	7,63	4,31	3,40	0,25
6	el teref	7.22	1.88	1	3.34	2.34	0.32	17,29	6,76	4,13	3,27	0,24
7	besbas	6.5	1.73	1.06	3.1	2.28	0.35	16,46	6,28	3,92	3,10	0,26
8	annaba	6.7	1.62	0.95	3.09	2.17	0.32	14,91	5,41	3,81	3,02	0,24
9	ben mhidi	6.58	1.71	0.96	3.09	2.21	0.33	15,40	5,68	3,87	3,06	0,25
10	el kala	6.73	1.61	0.98	3.11	2.20	0.32	15,28	5,61	3,83	3,04	0,23
11	echaat	7.17	1.65	1.01	3.28	2.28	0.31	16,45	6,27	3,99	3,18	0,22
12	bouteldja	6.93	1.43	0.88	3.09	2.06	0.29	13,44	4,63	3,64	2,93	0,20
13	berrahal	6.87	1.75	1.01	3.21	2.30	0.33	16,63	6,37	4,01	3,17	0,25

L : Longueur, W : Largeur, T : Epaisseur, Da : la moyenne arithmétique, Dg : la moyenne géométrique,  $\Phi$  : la sphéricité, S : la surface, V : le volume, Dsq : la moyenne carré des diamètres, De : le diamètre équivalent, Ras : le ratio de l'aspect du grain.

### 1.2. Calcul des indices de similarité basés sur les propriétés physiques du grain

Pour quantifier l'analogie ou la dissemblance entre les accessions d'*Avena insularis* étudiées en fonction des caractéristiques morphologiques du grain, on calcule un indice de similarité ou de dis similarité inspiré de Didio, Kaltsikes et Larier (1996). L'indice de similarité (IRS) est calculé en rapportant l'IAS (indice de similarité absolue) au nombre total (N) des caractères présents au moins dans l'une des accessions comparées. L'IAS présente

l'ensemble des caractères morphologique qui ne sont pas significativement différentes d'une accession à une autre c'est-à-dire qu'ils ont la même caractéristique physique du grain.

$$IRS = (IAS / N) \times 100$$

Des fortes valeurs d'IRS indiquent que les accessions en fonction des caractères physiques des grains apparaissent très voisines et contrairement, lorsque les valeurs sont faibles elles présentent de nombreuses dissemblances.

Les indices de similarité ont été calculés pour les 13 variétés de l'avoine tétraploïde *Avena insularis* (tableau10), en utilisant des données binaires (0 pour absence, 1 pour présence).

**Tableau 10:** Indices de similarité des 13 accessions d'*Avena insularis*.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
100	4,76	15,78	22,22	9,52	10,52	10	37,5	22,22	15,78	10	46,66	5	1
	100	57,14	15,78	57,14	57,14	37,5	10	15,78	15,78	46,66	0	37,5	2
		100	29,41	40	46,66	22,22	22,22	29,41	22,22	29,41	4,76	37,5	3
			100	15,78	29,41	57,14	69,23	83,33	83,33	37,5	22,22	57,14	4
				100	69,23	15,78	15,78	15,78	10	29,41	0	29,41	5
					100	29,41	22,22	29,41	22,22	46,66	0	46,66	6
						100	37,5	57,14	57,14	57,14	10,52	46,66	7
							100	69,23	57,14	22,22	37,5	37,5	8
								100	83,33	37,5	22,22	57,4	9
									100	46,66	22,22	46,66	10
										100	4,76	46,66	11
											100	10	12
												100	13

Indices élevés     
  indices faibles

Les résultats obtenus varient entre 0% et 83.33%. Les valeurs faibles signifient que les variétés présentent de nombreuses dissemblances dans les caractéristiques physiques du grain cas des accessions 5 et12 provenant des sites de ElBouni et Bouteldja respectivement. Inversement, lorsque les valeurs des indices de similarité sont élevées, les accessions d'*Avena insularis* apparaissent voisines et leurs grains présentent les mêmes propriétés physiques; le cas des accessions 10 et 9 provenant de El Kala et Ben mhidi respectivement avec un IRS de 83.33%.

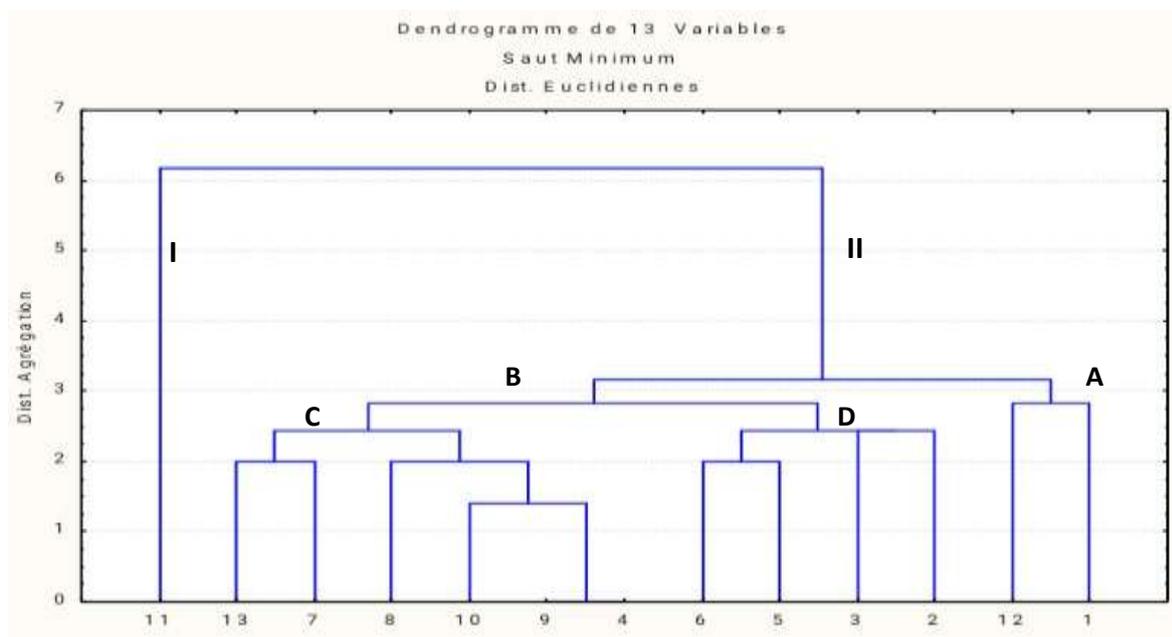
Des IRS allant jusqu'à 50% traduisent des grains moyennement différents. Des valeurs d'IRS supérieures à 50% indiquent que les accessions sont voisines et que les grains ont plus de ressemblances que de dissemblances.

L'analyse des caractères morphologiques en calculant des indices de similarité mettent en exergue le degré de parenté ou l'éloignement morphologique des variétés. Seulement, il existe deux autres

représentations des résultats obtenus en établissant l'arbre phylogénique ou dendrogramme et l'Analyse en Composante Principale (l'ACP).

### 1.3. Analyse en cluster basée sur les propriétés physiques du grain

Le dendrogramme généré à partir des propriétés physiques du grain est illustré dans la figure 07.



**Figure07** : Dendrogramme des distances euclidiennes basé sur les propriétés physiques du grain des accessions d'*Avena insularis* étudiées.

L'arbre contient des groupes, Chaque groupe contient des sous-groupes, et chaque sous-groupe contient des clades ou clusters ; qui contiennent à leur tour des feuilles ; et chaque feuille représente une accession, donc, chaque clade représente un ensemble d'accession qui sont similaires et qui ont les mêmes caractéristiques.

Le dendrogramme est composé de 2 groupes majeurs à la distance d'agrégation  $d = 6.25$ . L'accession 11 provenant de Echatt constitue un groupe à part. Cette accession présente alors des propriétés physiques du grain qui sont différentes de celles des autres accessions. Le second groupe renferme le reste des accessions et est divisé à son tour en deux sous-groupes (A et B) à la distance d'agrégation 3.25. Le premier sous-groupe ( $d = 2.75$ ) est composé des accession 1 et 12 provenant de Lac des Oiseaux et Bouteldja, respectivement, alors que le second (B) se subdivise à son tour en deux autres sous-groupes (C et D). Le C ( $d = 2.50$ ) est constitué de deux autres sous-groupes à la distance euclidienne  $d = 2$  renfermant les accessions 13 et 7 provenant de Berrahal et Besbas, respectivement dans un seul groupe et la seule accession 8 provenant de

Annaba qui est liée à la distance d'agrégation  $d= 1.5$  aux accessions 10, 9 et 4 provenant de El Kala , Ben Mhidi et Ain El Assel, respectivement, dans un autre groupe. Le sous-groupe D ( $d =2.5$ ) comprend les accessions 2 et 3 provenant de Berrihan et Drean respectivement et qui constitue chacune un groupe à part. ces dernières sont liées à la distance euclidienne  $d= 2$  aux accessions 6 et 5 provenant de El Taref et El Bouni , respectivement et qui forme un groupe entre elles.

La distance euclidienne la plus éloignée est observée entre l'accession 11 et 10 d'une part et avec les autres accessions d'autre part. En parallèle, la plus faible distance est observée entre les accessions 10 et 9 et 10 et 4. La distance  $d=0$  est observée entre les accessions 9 et 4. Ces dernières sont presque identiques et présentent des caractéristiques des grains similaires.

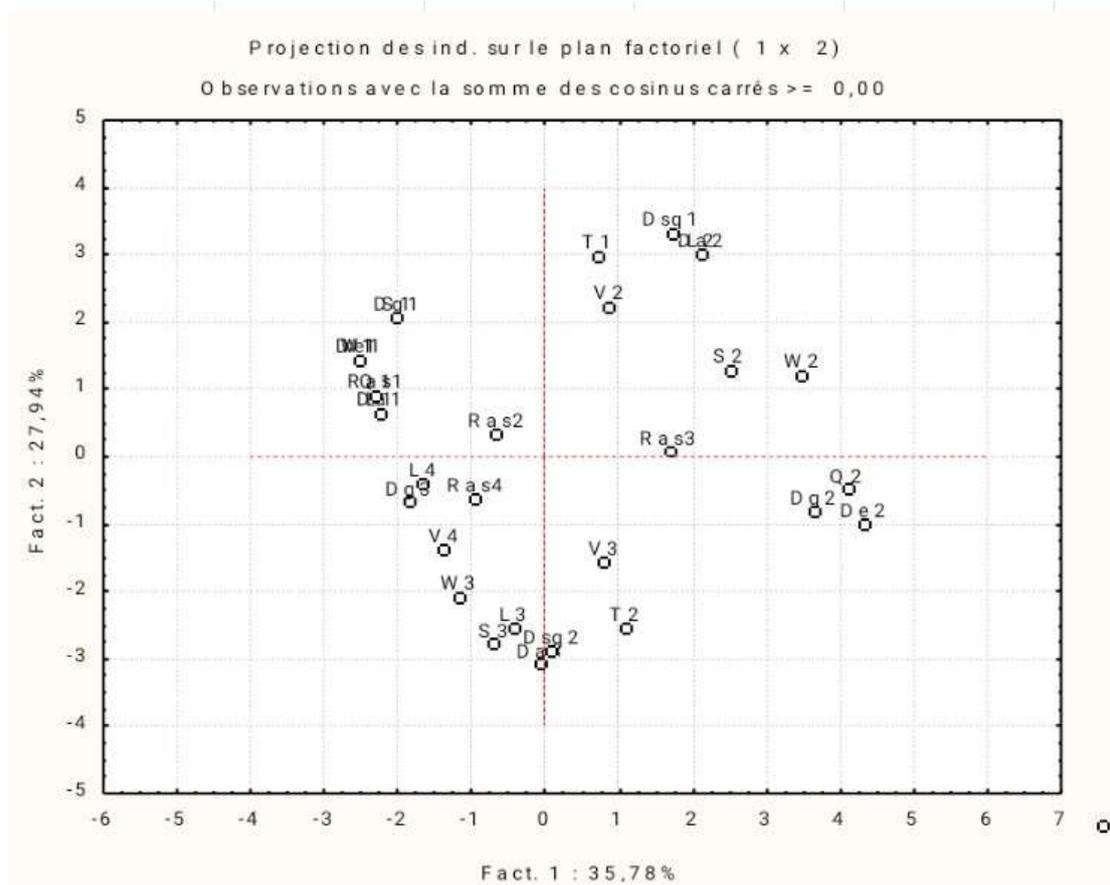
La variabilité de l'espèce *Avena insularis* entre les sites étudiés est examinée par la matrice de similarité (Tableau 10). La faible valeur de la distance euclidienne indique un haut niveau d'homologie dans le modèle de variation des caractères physiques du grain. Les accessions 10 et 9 et 4 qui proviennent de El Kala, Ben Mhidi et Ain El Assel respectivement, ont la faible distance ( $d=1.5$ ) sont presque identiques. 11 caractères physiques du grain sont identiques entre ces accessions sur les onze étudiés.

L'accession 11 appartenant au groupe I présente beaucoup de différences dans caractères physiques du grain par rapport à toutes les autres accessions.

La plus grande distance est observée entre les accessions 11 et 10 qui ont 8 caractéristiques physiques du grain différentes sur les onze étudiés.

#### 1.4. Analyse en Composante Principale (ACP) basée sur les propriétés physiques du grain

Afin de clarifier les relations entre les caractères physiques des grains et d'identifier ceux qui contribuent le plus à la séparation des accessions, une Analyse en Composante Principale (ACP) a été réalisée. Les résultats de l'ACP sont présentés dans la figure 8.



**Figure 08 :** Analyse en composantes principales basée sur 11 propriétés physiques du grain

Les résultats de l'ACP ont révélé que les 3 premiers facteurs représentaient 74.2 % de la variation totale avec 35.78% pour le facteur 1(PC1) ,27.94% pour le facteur 2 (PC2) et 10.53% pour le facteur 3(PC3). La représentation bidimensionnelle (2D) a été obtenue avec les deux premiers PCs.

Les caractères morphologiques qui ont fortement contribué à la formation du PC1 sont De2, Q2 suivi par Dg2 et W2 et ceux qui contribuent le plus à la formation du PC2 sont Dsq1, L2, Da2 suivi T1, V2. D'autres par, les caractères qui ont une faible charge dans la distinction et la discrimination des accessions sont W1, De1 et Q1, Rst1 pour PC1 et Da3 et Dsq2 pour PC2.

## 2. Variabilité écogéographique

Le but de ce travail ; en plus de l'appréciation de la diversité génétique des accessions de l'avoine tétraploïde *Avena insularis* ; est de collecter les données géographiques et écologiques des sites de collectes de cette espèce. Les données écogéographiques et bioclimatiques des sites de collecte sont présentés dans le tableau suivant.

**Tableau 11** : Paramètres écogéographiques et bioclimatiques des sites de collecte

Sites	Latitude	Longitude	Altitude (m)	P (mm)	m (°C)	M (°C)	Q2	Etage bioclimatique/m	M-m (°C)	climat	M+m/2 (°C)	climat
Lac des Oiseaux	36°46'21.54"N	8° 6'23.49"E	6	705	7,3	32,1	97,51	humide----chaud	24,8	littoral	19,7	modéré
Berrihane	36°50'30.98"N	7°58'9.02"E	8	727	7,5	31,7	103,04	humide----chaud	24,2	littoral	19,6	modéré
Dréan	36°40'5.05"N	7°43'34.59"E	20	684	6,9	31,3	96,15	humide----tempéré	24,4	littoral	19,1	modéré
Ain El Assel	36°47'34.37"N	8°22'32.82"E	26	719	7	32,8	95,59	humide----chaud	25,8	semi-continental	19,9	modéré
El Bouni	36°50'46.29"N	7°46'3.42"E	6	706	7,9	30,3	108,11	humide----chaud	22,4	littoral	19,1	modéré
El Tarf	36°45'44.99"N	8°20'50.75"E	29	694	7,1	32,9	92,26	humide----chaud	25,8	semi-continental	20	chaud
El Besbas	36°42'25.97"N	7°49'28.72"E	17	689	7	31,4	96,86	humide----chaud	24,4	littoral	19,2	modéré
Annaba	36°52'24.85"N	7°43'22.46"E	0	712	8,2	30,3	110,50	humide----chaud	22,1	littoral	19,25	modéré
Ben M'hidi	36°45'43.03"N	7°54'46.61"E	7	707	7,1	31,2	100,62	humide----chaud	24,1	littoral	19,15	modéré
El Kala	36°53'54.88"N	8°25'7.85"E	54	723	7,9	31,9	103,33	humide----chaud	24,0	littoral	19,9	modéré
Echatt	36°50'22.64"N	7°55'39.83"E	16	707	7,5	30,5	105,44	humide----chaud	23,0	littoral	19	modéré
Bouteldja	36°47'37.83"N	8°11'36.82"E	12	716	7,2	32,2	98,24	humide----chaud	25,0	semi-continental	19,7	modéré
Berrahal	36°49'47.81"N	7°28'14.28"E	32	734	7,2	31,4	104,03	humide----chaud	24,2	littoral	19,3	modéré

P : Pluviométrie ; m : Température moyenne minimale ; M : Température moyenne maximale ; Q2 : Coefficient d'Emberger.

Généralement, la carte de distribution sera utilisée pour formuler la politique de conservation et plus particulièrement dans la planification des missions de collecte. L'analyse des données écogéographiques et bioclimatiques ne donne pas un guide définitif pour chaque écogéographie d'une accession et ne peut pas être utilisée pour déterminer exactement où se trouvera un taxon particulier, mais élucidera l'emplacement géographique et écologique de chaque taxon.

Les résultats du tableau montrent que les accessions présentant des différences dans la morphologie des grains peuvent avoir un bioclimat identique et des altitudes proches comme dans le cas des accessions 8 et 10 provenant de Annaba et El Kala, respectivement .

En parallèle, il y a des accessions avec un niveau élevé d'homologie et appartiennent au même climat. Les accessions 7 et 13 provenant de Besbas et Berrahal, respectivement (tableau 11) illustrent bien ce cas de figure.

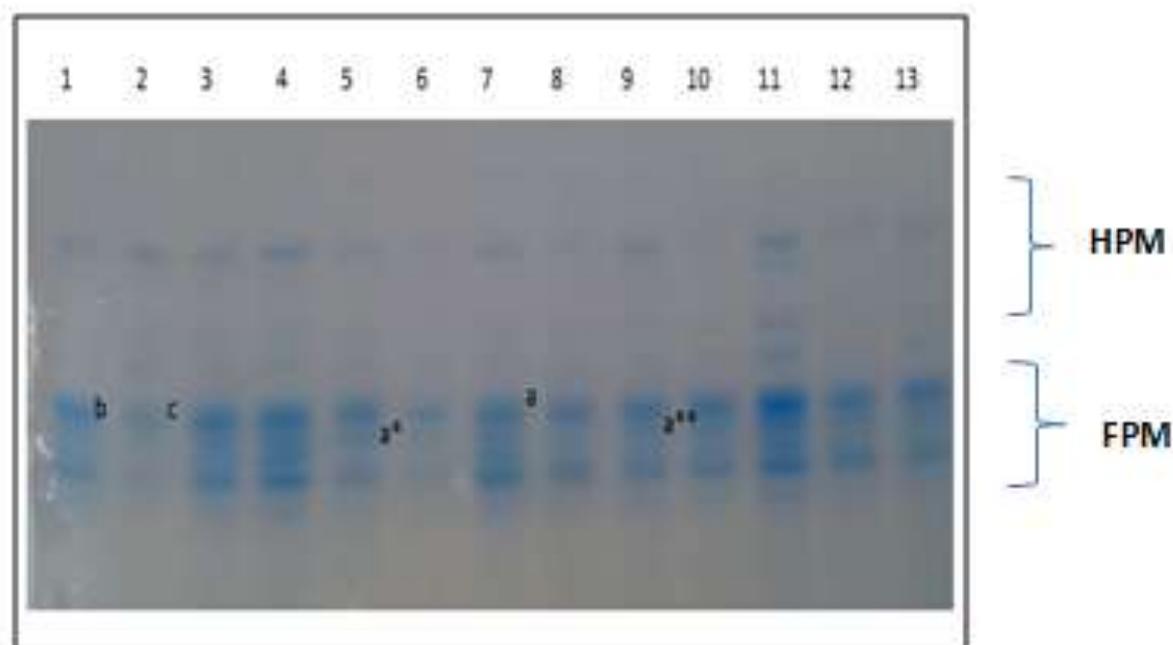
Deux accessions ou plus avec un niveau élevé d'homologie pourraient appartenir à des bioclimats différents comme le montrent les accessions 2 et 12 provenant de Berrihan et Bouteldja, respectivement ou les accessions 5 et 6 provenant d'El Bouni et El Taref, respectivement.

De ce fait, les données des paramètres écogéographiques ne permettent pas de diviser ou de classer d'une manière claire les accessions en fonction de leur localisation géographique. Cependant, il est nécessaire d'utiliser un plus grand nombre d'accessions de chaque emplacement géographique pour confirmer le modèle disponible.

### 3. Diversité génétique des sous-unités glutélines de l'avoine tétraploïde *Avenainsularis*

Dans les espèces tétraploïdes deux génomes contribuent à l'expression des sous-unités glutélines, c'est pour cela que la variabilité détectée chez ces espèces est beaucoup plus importante que celle trouvée chez les espèces diploïdes (un seul génome) avec quelques exceptions.

L'analyse électrophorétique des glutélines par la technique SDS-PAGE a donné des gels de bonne qualité et a permis de séparer l'ensemble des sous-unités glutélines et d'obtenir des profils électrophorétiques très clairs. La figure 09 montre les profils des accessions analysées.



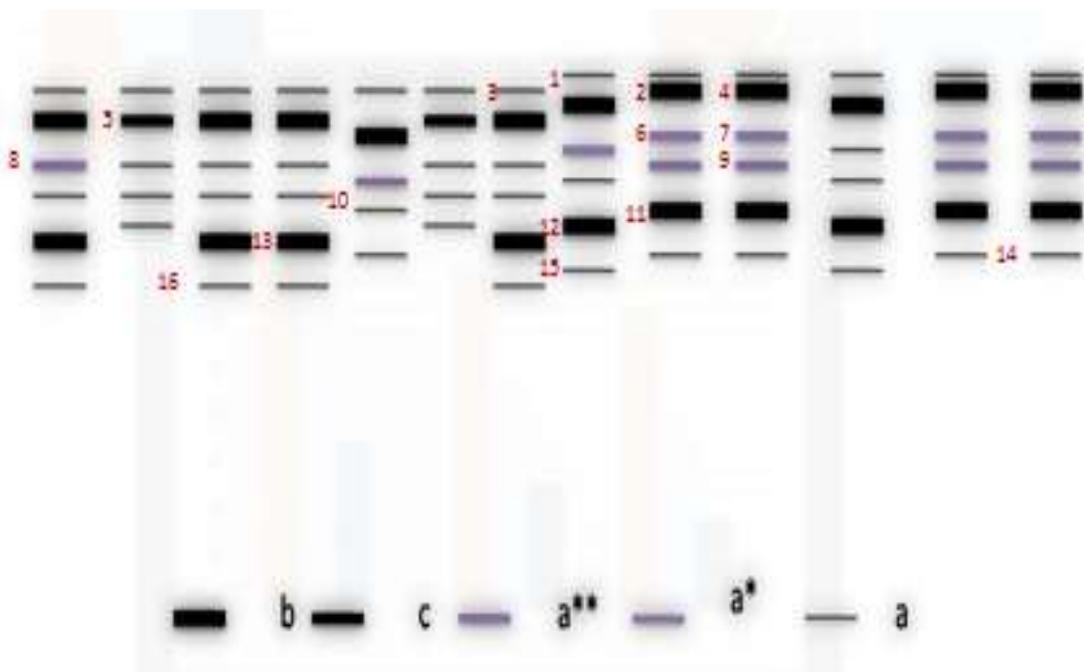
**Figure 09:** Profils électrophorétiques des 13 accessions d'*Avenainsularis*.

(1)Lac des oiseaux;(2)Berrihan;(3)Drean;(4)Ain El assel;(5)El Bouni;(6)El Taref;  
(7)Besbas;(8)Annaba;(9)Ben mhidi;(10)El kala;(11) Echaat; (12)Bouteldja; (13)Berrahal

En se basant sur la mobilité et la preuve génétique, les bandes lentes correspondent aux sous unités de haut poids moléculaire tandis que les bandes intermédiaires et rapides correspondent aux sous unités de faible poids moléculaire.

Pour la lecture des diagrammes, nous nous sommes intéressés aux sous unités glutélines de faible poids moléculaire qui renferment la majorité des bandes protéiques et représentent une diversité importante. Les électrophoregrammes obtenus montrent que toutes les accessions sont homogènes.

L'espèce *Avena insularis* fait partie des espèces tétraploïdes ayant le génome AACG. Pour toutes les accessions analysées, la lecture consiste à faire une analyse descriptive des diagrammes (nombre de bandes, mobilité, etc.). Puis une typologie a été faite pour les sous unités glutélines (figure 10). Pour ce faire les bandes sont désignées par ordre décroissant de poids moléculaire à partir de leurs mobilités.



**Figure 10** : Représentation schématique des 13 accessions *d'Avena insularis*.



### 3.2. Diagrammes types obtenus

L'analyse des diagrammes électrophorétiques des 13 accessions d'avoine tétraploïde *Avena insularis* nous a permis de recenser un ensemble de 16 bandes correspondant aux sous unités glutélines de différentes mobilités. Chaque diagramme renferme de 4 à 6 sous unités. Au tableau 13, sont portés les différents types de diagrammes.

L'analyse de ce tableau révèle l'existence de cinq diagrammes types pour une collection de 13 accessions d'avoine. Le nombre élevé des groupes de bandes et des bandes reflètent le polymorphisme des glutélines de cette collection.

Le diagramme le plus fréquent est le diagramme type A (1+2+6+8+11+14) et E (3+5+8+10+13+16) avec une fréquence de 30.76% chacun, un ensemble de 4 accessions sont représentées par ces diagramme. Viennent après les diagrammes B (1+4+7+9+12+15) et D (3+5+8+10) dont la fréquence est de 15.38% regroupant 2 accessions chacun. Une seule accession partage le diagramme C (3+6+9+11+14), ayant la plus faible fréquence de 7.69%.

**Tableau 13 :** Les diagrammes types des sous unités glutélines observées dans la collection d'avoine tétraploïde *Avena insularis*

N°	Types	Diagrammes	Accessions	Sites de provenance
1	A	1+2+6+8+11+14	9,10,12, 13	Berrihan, El kala, Annaba, Lac des oiseaux
2	B	1+4+7+9+12+15	8,11	Drean, Ain el assel
3	C	3+6+9+11+14	5	Berrahal
4	D	3+5+8+10	2,6	Echaat, Bouteldja
5	E	3+5+8+10+13+16	1,3,4,7	El teref, Besbas, Ben mhidi, El bouni

### 3.3. Calcul des fréquences des sous unités glutélines

Les calculs des fréquences des différentes bandes protéiques correspondant aux glutélines, ont donné les résultats résumés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 14** : Fréquences des sous unités glutélines des 13 accessions d'*Avenainsularis*

Sous unité	Mobilités (cm)	N° d'accessions	Accessions	Fréquence (%)
1	0.9	6	8,9,10,11,12,13	46.15
2	1	4	9,10,12,13	30.76
3	1.05	7	1,2,3,4,5,6,7	53.84
4	1.1	2	8,11	15.38
5	1.25	6	1,2,3,4,6,7	46.15
6	1.4	5	5,9,10,12,13	38.46
7	1.6	2	8,11	15.38
8	1.8	10	1,2,3,4,6,7,9,10,12,13	76.92
9	1.85	3	5,8,11	23.07
10	2.1	6	1,2,3,4,6,7	46.15
11	2.2	5	5,9,10,12,13	38.46
12	2.3	2	8,11	15.38
13	2.5	4	1,3,4,7	30.76
14	2.7	5	5,9,10,12,13	38.46
15	2.8	2	8,11	15.38
16	3	4	1,3,4,7	30.76

La distribution des bandes protéiques des sous unités glutélines, dans la collection des 13 accessions d'avoine tétraploïde *Avena insularis* a été de 76.92 % pour la sous unité 8 ; 53.84% pour la sous unité 3. Les sous unités 1, 5 et 10 caractérisent presque la moitié des accessions avec des fréquences et présentent la fréquence de 46.15% chacune, suivies des bandes 6, 11 et 14 avec une fréquence de 38.46% chacune. Les bandes 2, 13 et 16 présentent une fréquence de 30.76% suivies par la bande 9 avec une fréquence intermédiaire de 23.07%. En dernier lieu, 2 accessions partagent la plus faible fréquence de 15.38% correspondant aux sous unités 4, 7, 12 et 15 (tableau 14).

#### 3.4. Etablissement des diagrammes types variétaux

L'analyse des diagrammes électrophorétique et le calcul des indices de similarité mettent en évidence des différences variétales.

Par ailleurs, le diagramme type variétal est fondé sur un caractère qualitatif (absence ou présence d'un allèle ou d'une bande : 0 pour l'absence et 1 pour la présence)

Le tableau 18 des diagrammes types variétaux montrent que les accessions peuvent être distinguées sans ambiguïté à partir d'une ou plusieurs différences significatives dans les diagrammes. Donc, cette représentation nous permet de conserver une image réelle des gels

pouvant servir comme bases de données pour l'identification variétale en établissant un catalogue.

**Tableau 15 :** Diagrammes types variétaux des accessions d'*Avena insularis* étudiées

Accessions	Sous unités glutélines															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
2	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
3	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
4	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
5	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
6	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
7	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
8	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0
9	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
10	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
11	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0
12	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
13	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0

### 3.5. Calcul des indices de similarité des diagrammes variétaux

Pour quantifier l'analogie ou la dissemblance des diagrammes, on calcule les indices de similarité à partir d'une représentation type Présence/Absence (1/0) de bandes. L'indice de similarité (IRS) représente le nombre de cas de présence d'une bande simultanément dans deux diagrammes (IAS), divisé par le nombre de cas où elle apparaît chez au moins un seul des deux diagrammes comparés (N). **IRS= (IAS/N) x100**

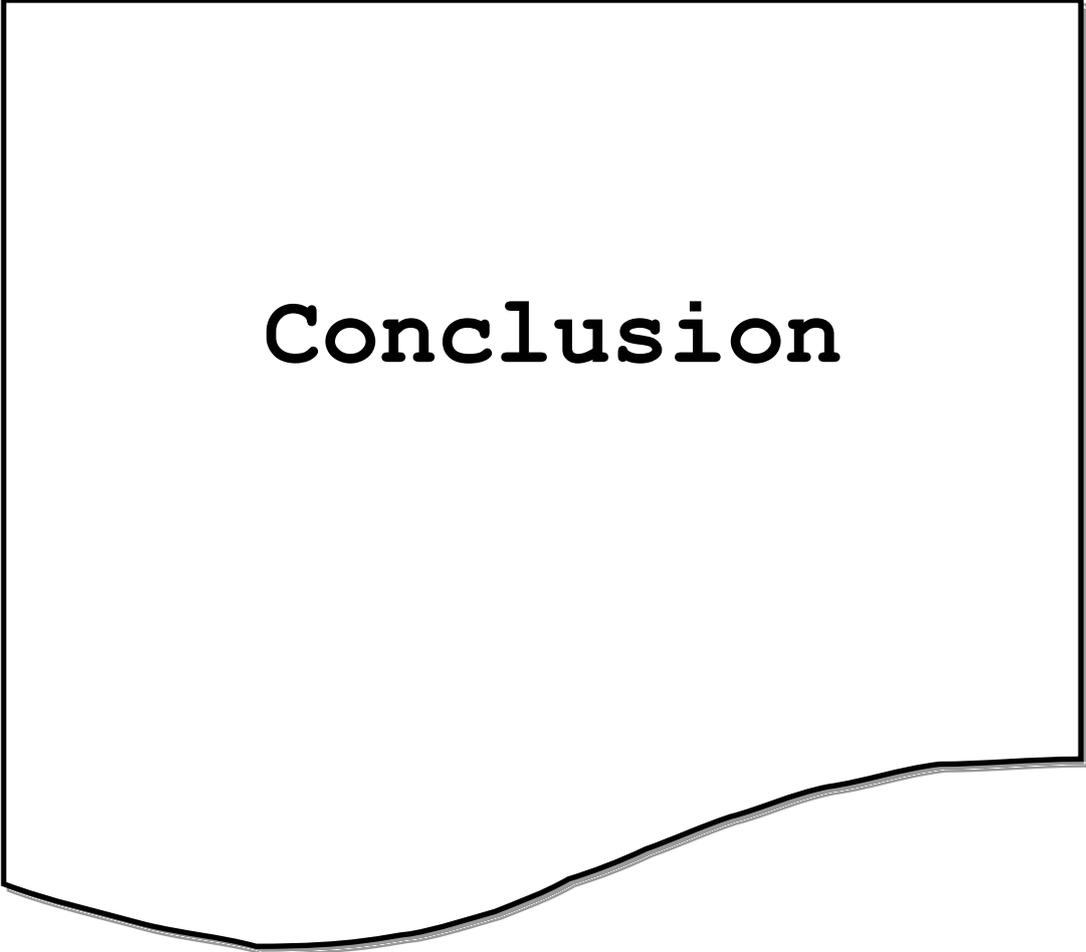
On considère qu'une bande n'est pas significativement différente d'une autre lorsqu'elles sont de même mobilité et/ou qu'elles ne se distinguent pas par au moins deux classes de concentration. Les indices de similarité ont été calculés pour les 13 accessions d'*Avena insularis* regroupées selon leur composition en sous unités glutélines (tableau 16)

Il en ressort que l'IRS se situe entre 25% et 100%. Des valeurs faibles signifient que les diagrammes présentent de nombreuses dissemblances et sont éloignés génétiquement. Les similarités les plus faibles sont enregistrées entre les deux accessions (2- 4,5, 7, 9, 10,11, 12, 13), (6-4,5, 7, 9, 10, 11, 12, 13) avec un IRS de 25%. Des IRS allant jusqu'à 50% traduisent des profils protéiques moyennement différents. C'est le cas des accessions présentant un IRS de

33.33% et 50%. Des valeurs d'IRS supérieures à 50% indiquent que les géotypes sont voisins comme le cas des accessions avec des IRS de 66.66% (tableau 16). Lorsque la valeur de l'IRS = 100%, cela signifie que les profils sont parfaitement similaires c'est le cas de certaines accessions (tableau 16).

**Tableau16 :** Indices de similarité calculés pour les 13 accessions d'*Avena insularis*

<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>		
100	33,33	66,66	66,66	66,66	33,33	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66	<b>1</b>
	100	33,33	<b>25</b>	<b>25</b>	100	<b>25</b>	33,33	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>2</b>
		100	66,66	66,66	33,33	33,33	100	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66	<b>3</b>
			100	50	<b>25</b>	100	66,66	100	100	100	100	100	100	<b>4</b>
				100	<b>25</b>	50	66,66	50	50	50	50	50	50	<b>5</b>
					100	<b>25</b>	33,33	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>6</b>
						100	66,66	50	100	100	100	100	100	<b>7</b>
							100	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66	<b>8</b>
								100	100	100	100	100	100	<b>9</b>
									100	100	100	100	100	<b>10</b>
										100	100	100	100	<b>11</b>
											100	100	100	<b>12</b>
												100	100	<b>13</b>



**Conclusion**

Cette étude récente sur l'espèce tétraploïde *Avena insularis* de 13 accessions collectées dans 13 sites différents dans le nord-est algérien, nous permet de conclure que :

- Le polymorphisme est restreint au niveau des marqueurs morphologiques de la plante car le territoire de la collecte est très limité et ne contient qu'un seul étage climatique.
  - Au contraire, au niveau propriété physique des grains et les marqueurs biochimiques (les protéines de réserves présentées par les glutélines), un polymorphisme important a été noté, et de différents degrés entre les deux marqueurs :
  - Phylogéniques : la distance entre les accessions : proche cas des accessions 10, 9 et 4 provenant de El Kala , Ben Mhidi et Ain El Asselà la distance d'agrégation  $d=1.5$ , et éloignée cas de l'accession 11 provenant de Echattà la distance d'agrégation  $d=6.25$ .
  - L'ACP : Les caractères morphologiques qui ont fortement contribué à la formation du PC1 sont De2, Q2 et ceux qui contribuent le plus à la formation du PC2 sont Dsq1, L2, Da2. D'autres par, les caractères qui ont une faible charge dans la distinction et la discrimination des accessions sont W1, De1 et Q1, Rst1 pour PC1 et Da3 et Dsq2 pour PC2.
  - La matrice de similarité des propriétés physiques des grains: le degré de similarité entre les accessions avec une faible similarité cas accessions 5 et 12 provenant des sites de El Bouni et Bouteldja, similarité élevées cas des accessions 10 et 9 provenant de El Kala et Ben mhidi.
  - L'analyse électrophorétique de 13 accessions d'*Avena insularis* a permis de distinguer un total de 16 bandes protéiques de glutélines de mobilités différentes avec un total de 5 niveaux d'intensité (a, b, c, a\*, a\*\*).
  - La matrice de similarité des diagrammes variétaux : varie entre 25 est 100%.

Pour obtenir plus d'information sur la diversité génétique, sa relation avec l'environnement et la distribution de cette espèce sur le plan intra-spécifique, il faut prendre un nombre élevé des accessions et cibler tous les étages écogéographiques. Il serait nécessaire également d'utiliser les marqueurs moléculaires afin d'apprécier le mieux et à l'échelle ADN cette diversité génétiques.

**Références**

**Bibliographiques**

**-A-**

**Arendt, E. K., & Zannone, E. (2013).** Oats. Cereal Grains for the Food and Beverage Industries, 243–283.

**Asoegwu, S. N., S. O. Ohanyere, O. P. Kanu and C. N. Iwueke. (2006).** Physical properties of African Oil Bean Seed (*Pentaclethra macrophylla*). Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal. Vol. VII.

**-B-**

**a-Balans, B ; Durieu de Maisonneuve, MC. (1854).** Bull de la Soc. Bot de Fr, 1 :318.

**b-Balans, B. (1854).** Bull de la Soc. Bot de Fr 1 :14.

**Baum, B.R. (1977).** Oats: Wild and Cultivated. A monograph of the genus *Avena* (Poaceae). Canada Dept. Agric. *Supply and Service*, Ottawa, Canada.

**Baum, BR., Fedak, G. (1985).** A new tetraploid species of *Avena* discovered in Morocco. *Can J Bot*, 63:1379–1385.

**Baum, BR., Fedak, G. (1985).** *Avena atlantica*, a new diploid species of the oat genus from Morocco. *Can J Bot*, 63:1057–1060.

**Baum, BR., Rajhathy, T., Sampson, DR. (1973).** An important new diploid *Avena* species discovered on the Canary Islands. *Can J Bot*, 51:759–762

**Blog nutrition santé. (2010).** <https://blognutritionssante.com/2010/12/05/les-bienfaits-de-lavoine-sur-notre-sante/>.

**Boual, H; Zerhouni, O; el Mourad, M and Reguli, S. (2007).** Guide pratique du conduit des céréales d'automne (blés, orge et l'avoine) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie), p20.

**Butt, M., Tahir-Nadeem, M., Khan, M., Shabir, R. And Butt, M. (2008).** Oat: unique among the cereals. *European Journal of Nutrition*, 47, 68–79.

**-C-**

**Clément-Grand court and prats. (1971).** Les céréales. Bailliére et co. Paris France. 351p.

**Cosson ME, Durie de Maisonneuve, MC. (1855)** Sur quelques espèces nouvelles d'Algérie. Bull Soc Bot France 2:364–368.

**-D-**

**Durieu de Maisonneuve, MC. (1845).** *Duch Rev Bot*, 1:360  
**Dielz SM (1928)** Inheritance of resistance in oats to *Puccinia graminis avenae*. *J Agric Res*, 37:1–23

**-F-**

**FAO. (2012).** The state of food and agriculture. food and agriculture organization of the united nations Rome.

**Fondation pour la recherche sur la biodiversité (FRB).**

**(2018).**<http://www.fondationbiodiversite.fr>. Consulté le 16/03/2019.

**Francis, H; Webster and wood, P. J. (2011).** OATS chemistry and technology branson, missouri, U.S.A.

**-G-**

**Gruner, LF. (1867).** Bull Soc Imp NaturalistesMoscou.xli. II. 458

**-H-**

**Hochstetter, CFF. (1852).** Schimp. Inter. Abyss. Sectio II. In: Plantae Abyssineae, Ed. II.

**Hansen, j. m. (1978).** The earliest seed remains from Greece: Palaeolithic through Neolithic at FranchthiCave.*Berichte der deutschenbotanischenGesellschaft*, 91,39–46.

**[https://fr.m.Wikipedia.org](https://fr.m.wikipedia.org). Consulté le 05/02/2019.**

**-I-**

**ITGC. (1991)et Septembre (2015).** La vesce ou le pois en association avec l'avoine .imprimerie atlas.

**-K-**

**Koch, K. (1848).**Beitragezueiner Flora des Orientes. Linneaea 21:289–443.

**Kole, CH. (2011).** Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Cereals.Springer-Verlag Berlin Heidelberg.518pp.DOI 10.1007/978-3-642-14228-4.

**-L-**

**Ladizinsky, G. (1971).**Avenamurphyi: a new tetraploid species of oat from southern Spain.*Isr J Bot*, 20: 24–27.

**Ladizinsky, G. (1971).** Avenaprostrata: a new diploid species of oat.*Isr J Bot* 20:297–301.

**Ladizinsky, G. (1998).**A new species of Avena from Sicily, possible the tetraploid progenitor of hexaploidoats.*Genet Res Crop Evol*, 45:263–269.

**Ladizinsky, G. (2012).** Studies in Oat Evolution A Man's Life with Avena.Springer Briefs in Agriculture. DOI: 10.1007/978-3-642-30547-4.

**Lagasca, SM. (1816).**Quaeautnovaesuntautnondumrectecognoscuntur.Genera et species plantarum, Madrid, p 4.

**Lásztity, R. (1998).**Oat grain – a wonderful reservoir of natural nutrients and biologically active substances.*Food Reviews International*, 14, 99–119.

**Levan, A., K. Fredga and A.A. Sandberg. (1964).** Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201–220.

**Linnaeus, C. (1762).** *Species plantarum*, 2nd edn. London, UK  
**Linnaeus C (1753)** *Species plantarum*. vol 1. A facsimile of the first edition. London, UK, pp 1957–1959.

**-M-**

**Marchyllo, B.A., Kruger, J.F., and Hatcher, D.W. (1989).** Quantitative reversed phase high performance liquid chromatography analysis of wheat storage proteins a potential quality prediction tool. *J. Cereal.Sci* 9 (2) : 113-130.

**Mal'tzev, A. I. (1930).** Wild and cultivated oats, section *euavena* Griseb. Bull. Appl. Bot., Genet. & Plant Breed. Sup. 522 pp.

**Malzev, A.I. (1930).** Wild and cultivated oats. Section *Euavena* Griseb. Works Appl Bot Plant Breed Suppl No: 38. Leningrad, USSR.

**Marshall Bieberstein, FA. (1819).** *Avenapilosa*. Flora Taur. -Cauc. III. Suppl. 84.

**Medoukali, I. (2016).** Les genres *Medicago* L. et *Trifolium* L. en Algérie : Diversité morphologique, biochimique et moléculaire. Université des Frères MENTOURI Constantine.

**Medouri. A. (2016).** Diversité génétique de l'espèce *Aegilops geniculatus* Roth en Algérie par approches morphologique, biochimique et moléculaire. Université des Frères MENTOURI Constantine.

**Mohsenin, N.N. (1970).** Physical Properties of Plant and Animal Materials. Gordon and Breach Science Publishers, New York.

**Murphy, j.p. and hoffmanl.a. (1992).** The origin, history, and production of oat. *In*: sorrells, m. e. and marshall, h. g. (eds) *Oat Science and Technology*. Madison, WI: American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, 1–28.

**-O-**

**Olajide, J. O., & Ade-Omowaye, B. I. O. (1999).** Some Physical Properties of Locust Bean Seed. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 74(2), 213–215.  
Doi:10.1006/jaer.1997.0243

**-P-**

**Planet scope.(2012).** La Production mondiale d'avoine. <https://www.planetoscope.com>.

**Pott, JF. (1799).** Schraw Journey II:315.

**-R-**

**Rajah, T., Zalinski, FJ., Hayes, JD. (1966).** A collection of wild oat Mediterranean region. Canadian Department of Agriculture, Ottawa.

**Rajah, T., Baum, BR. (1972).** Avena damascene: a new diploid oat species. Can J Genet Citol, 14: 645–654.

**-S-**

**Seifi, MR and Alimardani, R. (2010).** Comparison of Moisture-Dependent Physical and Mechanical Properties of Two Varieties of Corn (SC 704 and DC 370). *Australian Journal of Agricultural Engineering*. 1, 5.

**Singh, A. P and Rekib, A., (1991).** Feeding value of ammoniated tropical grass. *Ind. J. Anim. Sci.*, 61 (8): 864-868.

**Schreiber, JCD von. (1771).** Inter Avena saliva frequentsoccurit, neglectgriotiqueignite. SpecialismFloraeLupica. Leipzig.

**Solère, D. (2005).** Les grandes productions végétales. 20eme Edition. Collection science et techniques agricoles. 472p.

**Soltner, D. (1990).** Phytotechnie spécial, les grandes productions végétales. Céréales, Plantes sarclées, prairies ; Sciences et Technique.

Stanton, T. R. (1953). **Production, harvesting, processing, utilization and economic importance of oats.** *Economica Botany*, 11 7, 1, 43–64.

**Strudel, von EG. (1855).** Avena siestai. Synopsis PlantarumGlumacearum. Stuttgartiae. I. 231.

**-T-**

**Tournefort, JP. (1700).** Méthode pour reconnaître les Plantes. Institutionsreiterative, editionaltera, I.

**-Y-**

**Youngs, V. L., Peterson, D. M. And Brown, C. M. (1982).** Oat. In: pomeron, y. (ed.). *Advances in Cereal Science and Technology Vol 5*. St Paul, MN: AACC International, NC.

**Yu, O; Seljukian, E. D; Bada Eva, I. G; Lockton and V. A. Nuchal's. (2007).** A Comparative Cytogenetic Study of the Tetraploid Oat Species with the A and C Genomes: Avenainsularis, A; magna and Murphysi. *A Russian Journal of Genetics*, 2007, 43, 6, 613–626.

**-Z-**

**Zwier, p., k. (2004).** OATS. In: Wrigley, c., corked, h. and walker, c. (eds) *Encyclopedia of Grain Science*. Oxford: Elsevier.

Le genre *Avena* L. qui appartient à la famille des *Poaceae* comprenant une série de polyploïde (di, tétra et hexaploïde) de 31 espèces sauvages et cultivées que l'on trouve dans le monde entier dans presque tous les environnements agricoles. Comme les autres céréales, le polymorphisme génétique est un phénomène bien connu chez l'avoine.

Dans la présente étude nous avons étudié le polymorphisme chez l'espèce *Avenainsularis* (tétraploïde) collectée dans 13 différents sites avec différents facteurs climatiques (température et pluviométrie) et éco-géographiques (altitude, latitude et longitude). L'analyse des caractéristiques physiques des grains avec l'indice de similarité (IRS) a montré que ce dernier varie entre 0 et 83,33. L'analyse phylogénétique a donné un dendrogramme qui est composé de 2 groupes majeurs à la distance d'agrégation  $d = 6.25$ . L'accession de Echatt constitue un groupe à part, l'autre groupe est divisé à son tour sous-groupes. De plus une Analyse en Composante Principale (ACP) a été réalisée et a montré que les caractères morphologiques qui ont fortement contribué à la formation du PC1 est : De2 ,et Dsq1 pour le PC2.

Le polymorphisme des bandes électrophorétiques (SDS-PAGE) d'une fraction des protéines de réserves (les Glutélines) a permis de distinguer un total de 16 bandes protéiques de de mobilités différentes avec un total de 5 niveaux d'intensité (a, b, c, a\*, a\*\*). Le calcul de l'IRS a montré que ce dernier varie entre 25 est 100% ce qui signifie une similarité différente entre les 13 accessions.

---

**Mots clés:** *Avenainsularis* , SDS PAGE, variabilité génétique ,glutélines, marqueurs morphologiques.

The genus *Avena L.* which belongs to the family Poacea comprising a series of polyploids (di, tetra and hexaploid) of 31 wild and cultivated species found throughout the world in almost all agricultural environments. Like other cereals, genetic polymorphism is a well-known phenomenon in oats.

In this study, we studied polymorphism in the species *Avenainsularis* (tetraploid) collected from 13 different sites with different climatic (temperature and rainfall) and eco-geographical (altitude, latitude and longitude) factors. Analysis of the physical characteristics of the grains with the similarity index (SRI) showed that the latter varies between 0 and 83.33. The phylogenetic analysis gave a dendrogram which is composed of 2 major groups at the aggregation distance of  $d= 6.25$ . The accession of Echatt constitutes a separate group; the other group is in turn divided into sub-groups. In addition, a Principal Component Analysis (PCA) was carried out and showed that the morphological characteristics that strongly contributed to the formation of PC1 are: De2, and Dsq1 for PC2.

The polymorphism of the electrophoretic bands (SDS-PAGE) of a fraction of the reserve proteins (glutellins) made it possible to distinguish a total of 16 protein bands of different mobility with a total of 5 intensity levels (a, b, c, a\*, a\*\*). The IRS calculation showed that the latter varies between 25 and 100%, which means a different similarity between the 13 accessions.

ينتمي جنس *Avena* إلى العائلة *Poaceae* التي تضم سلسلة من *Polyploid* (*Di* و *Tetra* و *Hexaploid*) من 31 نوعاً برياً ومزروعاً توجد في جميع أنحاء العالم تقريباً في جميع البيئات الزراعية. مثل الحبوب الأخرى ، تعدد الأشكال الوراثية ظاهرة معروفة في الشوفان .في هذه الدراسة ، درسنا تعدد أشكال *Avena insularis* (رباعي الصبغيات) الذي تم جمعه في 13 موقعاً مختلفاً مع مختلف العوامل المناخية (درجة الحرارة وهطول الأمطار) والعوامل الجغرافية (الارتفاع والطول والعرض). تحليل الصفات الفيزيائية للحبوب بمؤشر التشابه (*IRS*) تدل على أن هذا الأخير يتراوح بين 0 و 83.33. التحليل التطوري قدم لنا شجرة فيلوجينية التي تتكون من مجموعتين رئيسيتين على مسافة التجميع  $D = 6.25$  ولاية الشط تمثل مجموعة منفردة ، أما المجموعة الأخرى تنقسم إلى مجموعات فرعية ، وقد تم إجراء تحليل (*PCA*) وأظهرت أن الصفات المورفولوجية التي ساهمت بقوة في تشكيل العامل 1 هو *De2* و *Dsq1* من أجل العامل 2. تعدد الأشكال في الشرائط البروتينية (*SDS-PAGE*) في البروتينات المخزنة (*Glutélines*) يتميز بمجموعات بروتينية يبلغ عددها 16 تختلف في الهجرة وبتبين أيضاً وجود 5 مستويات المتمثلة في  $a, a^{**}, a^{***}$  (*a, a^{\*\*}, a^{\*\*\*}) يتراوح بين 25 و 100 % مما يعني تشابهاً مختلفاً بين العناصر الثلاثة عشر.*

**الكلمات المفتاحية:** *Avena insularis*، *SDS PAGE*، التباين الوراثي، *Glutélines*، علامات

المورفولوجية.

Année universitaire : 2018-2019

Présenté par : BENAOUINA Nourhene  
KECHROUD Maroua

## Appréciation de la diversité génétique de l'espèce d'avoine tétraploïde *Avena insularis* par les marqueurs morphologiques, écogéographiques et biochimiques.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

**Résumé :**

Le genre *Avena* L. qui appartient à la famille des *Poaceae* comprenant une série de polyploïde (di, tétra et hexaploïde) de 31 espèces sauvages et cultivées que l'on trouve dans le monde entier dans presque tous les environnements agricoles. Comme les autres céréales, le polymorphisme génétique est un phénomène bien connu chez l'avoine.

Dans la présente étude nous avons étudié le polymorphisme chez l'espèce *Avenainsularis* (tétraploïde) collectée dans 13 différents sites avec différents facteurs climatiques (température et pluviométrie) et éco-géographiques (altitude, latitude et longitude). L'analyse des caractéristiques physiques des grains avec l'indice de similarité (IRS) a montré que ce dernier varie entre 0 et 83,33. L'analyse phylogénique a donné un dendrogramme qui est composé de 2 groupes majeurs à la distance d'agrégation  $d = 6.25$ . L'accession de Echatt constitue un groupe à part, l'autre groupe est divisé à son tour sous-groupes. De plus une Analyse en Composante Principale (ACP) a été réalisée et a montré que les caractères morphologiques qui ont fortement contribué à la formation du PC1 est : De2, et Dsq1 pour le PC2.

Le polymorphisme des bandes électrophorétiques (SDS-PAGE) d'une fraction des protéines de réserves (les Glutélines) a permis de distinguer un total de 16 bandes protéiques de de mobilités différentes avec un total de 5 niveaux d'intensité (a, b, c, a\*, a\*\*). Le calcul de l'IRS a montré que ce dernier varie entre 25 est 100% ce qui signifie une similarité différente entre les 13 accessions.

**Mots clés :** *Avena insularis*, SDS PAGE, variabilité génétique, glutélines, marqueurs morphologiques.

Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri Constantine 1

**Membres du jury :**

- Président : Prof. KHELIFI Douadi, ENSB
- Examineur : Dr. BECHKRI Sakina, ATRBSA
- Encadreur : Dr. BELLIL Inès, UFMC1

**Date de soutenance : 17/07/2019**