

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



جامعة الأخوة منتوري قسنطينة

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

**Utilisation des marqueurs morphologiques et
biochimiques pour l'analyse de la diversité
génétique de l'espèce d'avoine tétraploïde**
Avena magna

Présenté par :

- AKRICHE Imen
- MECHRI Rania

Devant le jury :

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

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

Avant toute chose nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

Nous envoyons nos remerciements les plus dévoués aux membres de jury : Dr BECHKRI Sakina et Dr KHELIFI Douadi parce qu'ils nous ont honoré avec leur présence et leur participation à ce jury.

Au terme de ce travail nous adressons également nos sincères remerciement à : Mme BELLIL Ines pour avoir dirigé ce travail et accepté de nous encadrer, pour ses conseil et ses orientations.

Nous remercions également tous les enseignants de faculté des sciences de la nature et de la vie.

A tous les étudiants de graduation « Master 2 » spécialité Biochimie Appliquée.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mes chers parents Abdelkrim et Akila, que nulle dédicace ne
puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leurs patiences illimitée, leurs
encouragement contenu, leurs aide, en témoignage de mon profond amour et
respect pour leurs grands sacrifices.*

*Mes chers frères : Imed et Kheireddine , pour leurs grands amours et leurs
soutiens qu'ils trouvent ici l'expression de mes hautes gratitudes.*

A ma très chère binôme : Rania que j'adore.

A mon fiancé MOKRANE Raouf

A mes amis et mes camarades,

Surtout BOUFENARA Nesrine

Et à toute ma famille.

*Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, ou du
secondaire.*

Dédicace

Dédicace Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail à tous qui me sont chers.

A ma mère Qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études, aucun dédicace ne serait exprimé mon respect, mon amour et mes sincères emontions.

A mon père Qui m'a assuré l'éducation, et le bien être et pour leur sacrifice, leur soutien je suis vraiment chanceuse d'être dans ma vie.

Et une dédicace plein d'amour à mes frères et mes jolies sœurs.

Une spéciale dédicace pour mon marie et mes chers beaux parents et mes beaux frères.

Un dédicace a tous qui m'a donné le courage et ma souhaité plus de succès, a tous qui m'a aimé et m'a aidé même avec une sourire.

Liste d'Abréviation

SDS : sodium – dodécyl – sulfate

Tris : (hydroxy – méthyle) aminométhane

DTT : le dithiothreitol

SDS-PAGE : électrophorèse sur gel de polyacrylamide

p/v : poids par volume

T : concentration du gel

TCA : acide tricholotoacétique

ACP : Analyse en Composante Principale

IRS : L'indice de similarité

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification taxonomique des espèces du genre <i>Avena</i>	7
Tableau 2 : Liste des sites de collecte des accessions d' <i>Avena magna</i> étudiées.....	15
Tableau 3 : Moyennes des propriétés physiques du grain des accessions.....	20
Tableau 4 : Indices de similarité calculés pour les 17 accessions d'avoine tétraploide étudié....	24
Tableau 5 : composition protéique en sous unités glutélines des 15 accessions d'avoine tétraploide <i>Avena magna</i> collectées en Algérie.....	26
Tableau 6 : Les diagrammes types des sous unités glutélines observées dans la collection d'avoine tétraploide <i>Avena magna</i>	27
Tableau 7 : Fréquences des sous unités glutélines des 30 accessions d' <i>Avena Magna</i>	28
Tableau 8 : Diagrammes types variétaux des accessions d' <i>Avena magna</i> étudiées.....	29
Tableau 9 : Indices de similarité calculés pour les 17 accessions d'avoine tétraploide étudié...	30

Liste des figures

Figure 1. Schéma de principe de la fleur d'avoine.....	4
Figure 2 : Distribution des sites sur la carte géographique.....	15
Figure 3. Dendrogramme des distances euclidiennes basé sur les propriétés physiques du grain des accessions d' <i>Avena magna</i> étudiées.....	21
Figure 4. Analyse en composantes principales basée sur 11 propriétés physiques du grain....	22

Sommaire

Introduction.....	1
Revue bibliographique	
I. L'avoine.....	2
1. Histoire et origine de l'avoine.....	2
2. La culture d'avoine dans le monde.....	2
3. Présentation du genre <i>Avena</i>	3
3.1. Caractéristiques botaniques de l'avoine.....	3
3.1.1. Diversité des caractéristiques botaniques.....	4
3.2. Les caractéristiques génétiques.....	5
3.3. Classification taxonomique.....	5
4. La composition chimique du grain d'avoine.....	7
4.1. Les protéines de réserve de l'avoine.....	8
5. L'intérêt nutritionnel de l'avoine.....	9
II. l'espèce <i>Avena magna</i> Murphy et Terrell	
1. Définition.....	10
2. Historique.....	10
3. Distribution.....	10
4. Classification taxonomique.....	11
5. Morphologie.....	11
6. Cytologie.....	12
III. Etude de la diversité génétique.....	13
1. Les marqueurs morphologiques.....	13
2. Les marqueurs biochimiques.....	14
3. Les marqueurs moléculaires.....	14
Matériel et méthodes	
1. Matériel végétal.....	15
2. Propriétés physiques du grain.....	16
3. Technique d'électrophores.....	16
3.1. Principe.....	16
3.2. Méthode d'extraction des protéines de réserve.....	17
3.3. Electrophorèse monodimensionnelle des gluténines par SDS-PAGE.....	18
3.3.1. Préparation des gels.....	18
3.3.2. Condition de migration.....	18
3.3.3. Coloration et décoloration.....	19
4. Lecture génétique des diagrammes.....	19

Sommaire

5. Analyse statistique des données.....	19
Résultats et discussion	
1. Analyse morphologique des accessions.....	20
1.1. Les propriétés physiques du grain.....	20
1.2. Analyse en cluster basée sur les propriétés physiques du grain.....	21
1.3. Analyse en Composante Principale (ACP) basée sur les propriétés physiques du grain.....	22
1.4. Indices de similarité morphologique.....	23
2. Diversité génétique des sous-unités glutélines de l'avoine tétraploïde <i>Avena magna</i>	25
2.1. Variabilité des sous unités glutélines.....	26
2.2. Diagrammes types obtenus.....	27
2.3. Calcul des fréquences des sous unités glutélines.....	27
2.4. Etablissement des diagrammes types variétaux.....	28
2.5 Calcul des indices de similarité des diagrammes variétaux.....	29
Conclusion.....	31
Référence bibliographique.....	32
Résumés	

INTRODUCTION

Introduction

L'avoine, de son nom latin *avena*, est une plante céréalière dont la première graine a été découverte en Egypte 2000 ans avant J-C, mais provenait certainement d'une plante sauvage puisque l'avoine n'était pas cultivée à cette époque. La plus ancienne avoine cultivée a été découverte dans des grottes en Suisse et daterait de l'époque de l'âge de bronze.

L'avoine a été considérée depuis longtemps comme une plante parasite des champs de blé et d'orge ; elle a été domestiquée beaucoup plus tard que ceux-ci, et était destinée à l'alimentation du bétail.

L'avoine compte 30 espèces, elle est cultivée presque partout dans le monde, mais surtout dans l'hémisphère nord (Amérique du nord, Europe, Asie) où les conditions s'adaptent à son adaptation et à son développement (climat frais et humide, sol acide ...), L'avoine est devenue ainsi la septième céréale la plus importante sur le plan économique.

On a découvert récemment son importance dans l'alimentation humaine compte tenu de sa valeur diététique et surtout l'absence d'allergie à sa consommation, elle est utilisée sous forme de son d'avoine, farine d'avoine ou flocon d'avoine. Elle est une source précieuse de glucides, mais elle contient également des protéines bien équilibrées, plusieurs vitamines essentielles, des acides gras et des fibres solubles.

En Algérie, nous cultivons de l'avoine, Mais malgré ses différentes qualités nutritionnelles, cette céréale est uniquement donnée aux animaux. Elle n'entre pratiquement pas dans l'alimentation humaine.

L'objectif de notre travail vise l'appréciation de la diversité génétique par les marqueurs morphologiques et biochimiques d'une des 30 espèces d'avoine recensées : *Avena magna*.

Afin d'arriver à réaliser l'objectif sus-cité on a procédé à l'étude des accessions d'*Avena magna* de 17 sites différents en Algérie, prélevés par le laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales de l'Université Frères Mentouri Constantine 1, en vue d'une étude comparative de la même espèce en fonction des sites.

Le présent mémoire est structuré en trois parties : la première partie représente une synthèse bibliographique des variétés d'avoine, en particulier *l'Avena magna*. La deuxième partie est consacrée successivement à la description du matériel végétal et des méthodes d'analyses utilisées. La troisième partie a été réservée aux résultats obtenus et à leur discussion.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. L'avoine

1. Histoire et origine de l'avoine

Le terme « avoine », qui vient du latin *Avena*, est apparu dans la langue française au XII^e siècle et s'écrivait alors « aveine », prenant sa forme définitive au XVI^e siècle. Certains croient que le terme latin est une modification d'un mot sanscrit fort ancien, *avana*, qui signifie « jouissance ».

L'avoine vient d'Asie. Comme il en existe de nombreuses espèces et sous-espèces, et qu'elle est botaniquement très proche d'autres graminées, son origine et son évolution restent obscures.

L'avoine a été domestiquée beaucoup plus tard que le blé et l'orge, bien qu'ils proviennent tous du Moyen-Orient. La culture n'a pas commencé avant 4000 ans (Zohary et Hopf, 1988). Les sites archéologiques ont indiqué que l'avoine est apparue initialement comme une mauvaise herbe dans les champs de blé et d'orge (Hansen et Renfrew, 1978 ; Hillman et al., 1989 ; Hopf, 1969 ; Renfrew, 1969).

L'avoine est originaire du nord-est de l'Europe (Autriche et Russie) et des plateaux de l'Éthiopie et de la Chine. Le plus ancien grain d'avoine a été découvert en Égypte dans les vestiges de la 12^e Dynastie, autour de 2000 avant J.-C., et devait probablement provenir de plantes sauvages, puisque l'avoine n'était pas encore cultivée à cette époque. La plus ancienne avoine cultivée a été découverte dans des grottes en Suisse et daterait de l'époque de l'âge de bronze. L'avoine a été introduite en Amérique en 1609 sur les îles Elizabeth, sur les côtes de l'État du Massachusetts et Georges Washington, premier président des États-Unis d'Amérique, en aurait semé 580 acres en 1786 (Gibson, 2002).

2. La culture d'avoine dans le monde

L'avoine est la septième céréale la plus importante sur le plan économique après le maïs, le riz, le blé, l'orge, le sorgho et le millet. Elle est cultivée dans le monde entier, mais la majorité de sa production est située dans l'hémisphère nord entre les latitudes 40° et 60°N en Amérique du Nord, en Europe et en Asie. La production mondiale d'avoine a atteint plus de 22 millions de tonnes en 2014. Les principaux producteurs sont la Russie, le Canada, la Pologne, l'Australie, la Finlande et les États-Unis (FAOSTAT, 2016).

L'avoine est mieux adaptée à un climat frais et humide et à des sols acides, mais elle est sensible au déficit en eau et à la chaleur pendant la formation et la maturité des graines (Murphy et Hoffman, 1992). Les rendements les plus élevés ont été enregistrés dans les pays nordiques

européens, ceux d'Amérique du Nord sont ~30% plus bas, alors qu'en Afrique le rendement moyen ne dépasse pas 30% du niveau européen (FAOSTAT, 2013).

En Algérie, nous cultivons de l'avoine. Mais curieusement malgré ses différentes qualités nutritionnelles, cette céréale est uniquement donnée aux animaux. Elle n'entre pratiquement pas dans l'alimentation humaine. Il y a pourtant différentes formes d'usage alimentaire pour ce produit aux hautes valeurs diététiques.

3. Présentation du genre *Avena*

C'est une céréale mineure, elle comprend un groupe d'espèces diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes qui sont annuelles et autogames. L'avoine est principalement utilisée comme aliment pour animaux. Cependant, la popularité de l'avoine dans l'alimentation humaine a augmenté en raison des rapports décrivant les propriétés nutritionnelles bénéfiques de l'avoine. Pendant longtemps, l'avoine a été en général consommée sous forme de farine d'avoine, mais aujourd'hui, l'avoine est présente dans les aliments suivants : céréales pour petit-déjeuner, boissons, pain et aliments pour nourrissons (Yao et al., 2006 ; Zhang et al., 2007).

3.1. Caractéristiques botaniques de l'avoine

L'avoine est une graminée annuelle dont les limbes sont plats ; les inflorescences sont ouvertes, effusées ou à panicule concave ou unilatérale avec des pédoncules d'épillets pédicellés. Les pédoncules de la partie inférieure de la panicule sont généralement plus longs et portent plusieurs épillets. Les épillets sont gros, une à plusieurs fleurs et hermaphrodites. Les glumes, inférieurs et supérieurs, sont égaux entre eux ou nettement inégaux, froissés et restent attachés à la panicule après la dispersion de la semence. Les lemmes sont coriaces à crustacés, poilus ou nus, à sept nerfs, à deux lobes ou entiers, avec une solide arête géniculé provenant de la surface dorsale. Les callosités des fleurons désarticulés ont des cicatrices verticales ou obliques. La palea est à deux quilles, avec des poils sur les quilles. Il y a trois étamines, l'ovaire est villosité, et il y a deux loges, ovales à lancéolées, acuminées, charnues en dessous (Figure 1). Les grains sont oblongs, poilus, adhérent au lemme et la palea, ou libre dans certaines cultures d'avoine. Les embryons font environ un huitième de la longueur du grain avec la colline basale.

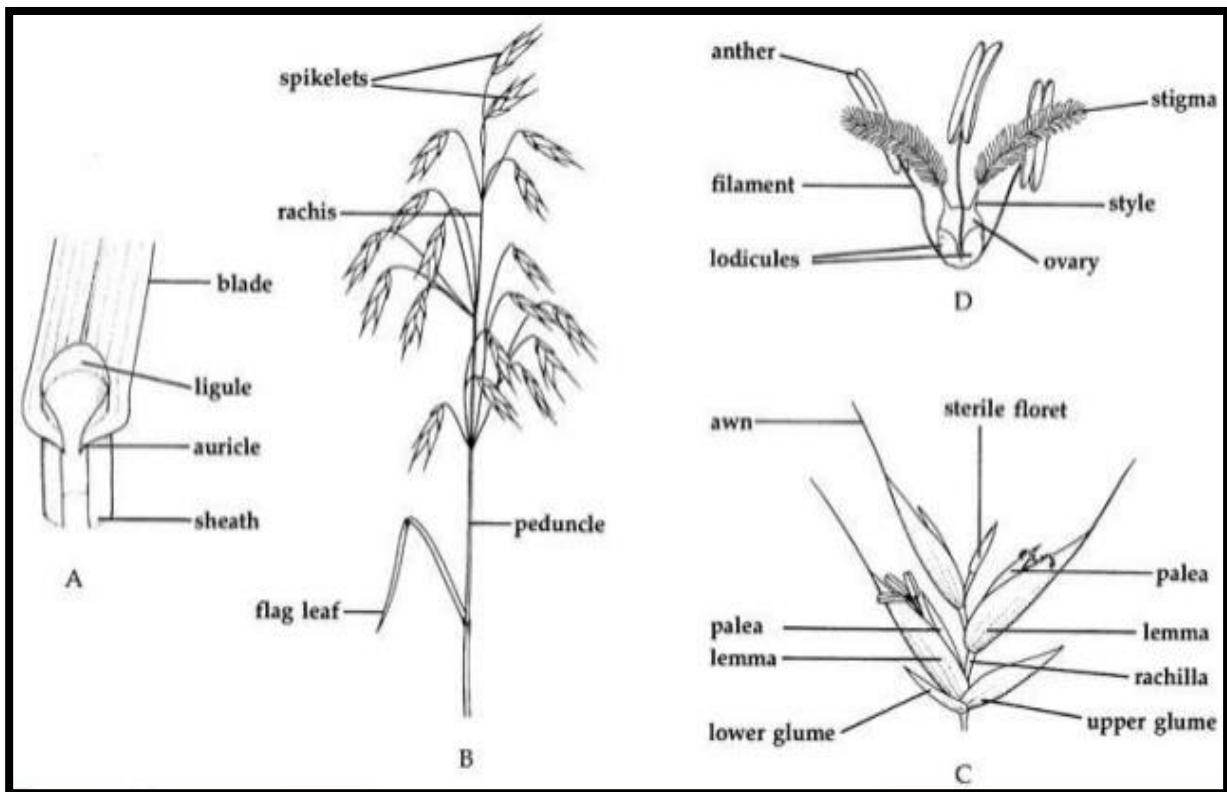


Figure 1. Schéma de principe de la fleur d'avoine.

3.1.1. Diversité des caractéristiques botaniques

La différenciation morphologique au sein du genre ainsi qu'au sein de l'espèce est très significative. Les plantes ayant la plus petite hauteur (30 cm) ont été observées chez *A. sterilis* et les plus grandes chez *Avena barbata* (210 cm). Sur les espèces signalées, 15 sont caractérisées par une tige à floraison érigée, 8 ont une tige géniculée, et dans 3 les deux types sont présents.

On observe également une différenciation dans la façon dont les plantes juvéniles poussent. Dans 10 espèces il est prostré, en 1 érigé, et dans les 15 autres il est variable. Dans *A. sativa*, *A. strigosa* et *A. longiglumis* se présentent sous forme de panicule de type uni- et équilatéral, tandis que les autres espèces ont une panicule équilatérale (12 espèces) ou unilatérale (11 espèces). Le nombre de fleurons varie de deux, par exemple chez *A. sativa*, *A. abyssinica*, *A. strigosa*, à huit chez *Avena macrostachya*.

La principale différence entre les espèces domestiquées et sauvages réside dans la séparation des fleurons des glumes. Les espèces cultivées n'ont pas de fleurons désarticulés et les espèces sauvages ont tous ou seulement des fleurons inférieurs désarticulés à la plante mature. Des variations morphologiques significatives se produisent également au sein des

espèces, par exemple chez *A. sativa*, 31 variétés botaniques ont été décrites, chez *A. byzantina* 14, et chez *A. strigosa* et *A. abyssinica*, 7 et 6 variétés, respectivement. La clé complète d'identification des espèces du genre *Avena* est incluse dans l'étude de Loskutov et Rines (2011).

3.2. Les caractéristiques génétiques

Le genre *Avena* forme une série polyploïde, dans lequel il y a un nombre variable d'ensemble de chromosomes, mais a un nombre chromosomique de base de $n = 7$. Trois niveaux de ploïdie d'origine naturelle sont connus dans le genre, les diploïdes où le nombre de chromosome est $2n = 2x = 14$, tétraploïdes où $2n = 4x = 28$ et hexaploïdes où $2n = 6x = 42$.

Quatre types de génomes de base, à savoir A, B, C et D, sont distingués. Sur la base de nombreuses études, on considère que les génomes A et C sont les plus initiaux (examinés par Loskutov et Rines (2011)). En outre, plusieurs variantes du génome A ont été identifiées alors que le génome C n'a subi que des modifications mineures (examinées par Loskutov et Rines (2011)). Sur la base des séquences d'ADN du génome du chloroplaste, il a été suggéré qu'une espèce diploïde du génome A pourrait être une espèce maternelle.

3.3. Classification taxonomique

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Tracheobionta*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Liliopsida*
- Sous-classe : *Commelinidae*
- Ordre : *Cyperales*
- Famille : *Poaceae*
- Sous-famille : *Pooideae*
- Tribu : *Aveneae*
- Genre : *Avena*

La méthode de classification des espèces et leurs noms varient selon les taxonomistes (tableau 1), puisque le nombre d'espèces distinguées varie entre 7 (Ladizinsky et Zohary, 1971) et 30 (Baum, 1977). La première tentative de classification de ce genre a été faite par (Linnaeus, 1753, 1762). La classification morphologique la plus détaillée a été préparée par Malzev (1930). Selon lui, le genre *Avena* contient deux sous-sections,

- *Aristulatae* Malz. et

Revue bibliographique

- *Denticulatae* Malz.

La première est divisée en trois sections, à savoir

- *Seriainae qualiglumis* Malz. contenant deux espèces, à savoir *Avena clauda* Dur. et *Avena pilosa* M. B.
- *Seria Stipitae* Malz. contenant *Avena longiglumis* Dur. et *Avena ventricosa* Balan.
- *Seria Eubarbatae* Malz. contenant une seule espèce, *A. strigosa* Schreb.

Dans la deuxième sous-section, deux espèces sont incluses, *Avena fatua* L. et *Avena sterilis* L. Ces deux espèces, ainsi que *A. strigosa* et *A. ventricosa*, sont divisées en sous-espèces.

Au total, le genre *Avena* contient 22 sous-espèces. La deuxième classification très importante et qui est souvent citée a été publiée par Baum (1977). Sur la base de 27 caractéristiques telles que le type de lodicules et le niveau de ploïdie, il a séparé 7 sections et y a localisé jusqu'à 30 espèces. A l'opposé de cette classification, il y a celle qui a été conçue 6 ans plus tôt par Ladizinsky et Zohary (1971), où seulement sept espèces dites "biologiques" avaient été coupées, à savoir *A. clauda* Dur, *A. ventricosa* Bal., *A. longiglumis* Dur., *A. strigosa* Schreb., *Avena magna* Murphy et Terrell., *Avena murphyi* Ladiz., et *A. sativa* L.

Selon la nouvelle découverte scientifique de Ladizinsky (2012), on reconnaît actuellement 13 espèces biologiques. La taxonomie la plus récente d'*Avena* a été préparée par Loskutov (2008). Dans cette étude, basée sur des caractères morphologiques détaillés, 26 espèces réparties en deux sous-genres, *Avenastrum* (C. Koch) Losk. et *Avena*, ont été identifiés. Les principales caractéristiques taxonomiques sont liées à la structure des organes génitaux. Les descripteurs complets pour identifier les espèces du genre *Avena* ont été publiés par Loskutov et Rines (2011).

Tableau 1. Classification taxonomique des espèces du genre *Avena*

Malsev (1930)		Baum (1977)		Ladzinsky et zohary (1971)
Espèces	Sous espèces	Section	Espèces	Espèces biologique
<i>A. clauda</i> Dur <i>A. pilosa</i> M.B. <i>A. longiglumis</i> Dur. <i>A. ventricosa</i> Balan.	<i>ventricosa</i> (Balan.) Malz. <i>bruhnsiana</i> (Grun.) Malz.	<i>Avenatrichon</i> (Holub) Baum <i>Ventricosa</i> Baum	<i>A. macrostachya</i> Bal. ex Coss. et Dur. <i>A. clauda</i> Dur. <i>Avenaeriantha</i> Dur. <i>A. ventricosa</i> Bal. ex Coss.	<i>A. clauda</i> Dur. <i>A. ventricosa</i> Bal. <i>A. longiglumis</i> Dur. <i>A. strigosa</i> Schreb. <i>A. magna</i> Murphy et Terrell
<i>A. strigosa</i> Schreb	<i>strigosa</i> (Schreb.) Thell. <i>hirtula</i> (Lagas.) Malz. <i>barbata</i> (Pott) Thell <i>wiestii</i> (Steud.) Thell.	<i>Agraria</i> Baum <i>Tenuicarpa</i> Baum	<i>Avenabrevis</i> Roth <i>Avenahispanica</i> Ard. <i>A. nuda</i> L. <i>A. strigosa</i> Schreb. <i>A. agadiriana</i> Baum et Fed. <i>A. atlantica</i> Baum <i>A. barbata</i> Pott ex Link <i>A. canariensis</i> Baum, Rajh. et Samp. <i>A. damascena</i> Rajh. et Baum <i>A. hirtula</i> Lag. <i>A. longiglumis</i> Dur <i>Avenalusitanica</i> Baum <i>Avenamatritensis</i> Baum <i>A. prostrata</i> Ladiz. <i>A. wiestii</i> Steud.	<i>A. murphyi</i> Ladiz. <i>A. sativa</i> L.
<i>A. fatua</i> L.	<i>vaviloviana</i> Malz. <i>abyssinica</i> (Hochst.) Thell. <i>septentrionalis</i> Malz. <i>nodipilosa</i> Malz. <i>meridionalis</i> Malz. <i>macrantha</i> (Hack.) Malz <i>fatua</i> (L.) Thell <i>sativa</i> (L.) Thell. <i>cultiformis</i> Malz. <i>praegravis</i> (Kraus.) Malz.	<i>Ethiopica</i> Baum	<i>A. abyssinica</i> Hochst.	

4. La composition chimique du grain d'avoine

L'amélioration de la qualité des grains, qui dépend de la composition en composés chimiques particuliers, est un autre aspect important de la sélection de l'avoine. La plus grande partie des grains d'avoine est utilisée pour l'alimentation animale, mais son importance dans l'alimentation humaine n'a cessé de croître. L'avoine, comme les autres céréales, est une source précieuse de

Revue bibliographique

glucides, mais il contient également des protéines bien équilibrées, plusieurs vitamines essentielles, des acides gras et des fibres solubles.

La valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g d'avoine est comme suit :

Apport énergétique	1378 kJ (326 kcal)
Glucides	55,70 g
Amidon	54,62 g
Sucres	1,08 g
Fibre alimentaire	9,67 g
Protéine	10,70 g
Lipide	7,09 g

4.1. Les protéines de réserve de l'avoine

L'avoine est considérée comme une source potentielle de protéines à faible coût ayant une bonne valeur nutritive. L'avoine a une composition protéique unique ainsi qu'une teneur élevée en protéines de 11 à 15 %. Les protéines de céréales ont été classées en quatre types en fonction de leur solubilité :

- albumines (solubles dans l'eau),
- globulines (solubles dans l'eau salée),
- prolamines (solubles dans une solution d'alcool dilué)
- glutélines (solubles dans les acides ou bases).

Les protéines d'avoine diffèrent non seulement par leurs propriétés structurales, mais aussi par la répartition de leur fraction protéique par rapport aux autres grains céréaliers. D'autres céréales comme le blé et l'orge ont une matrice protéique caractéristique qui manque à l'avoine. Dans le blé et certaines autres céréales, la protéine de stockage est insoluble dans les solutions salines, tandis que dans l'avoine, une grande partie des globulines solubles dans l'eau salée font également partie des protéines de stockage de l'endosperme (Klose et al. 2009).

L'avoine contient moins de prolamines (15 %) par rapport à la quantité élevée de globulines (80 %) des protéines d'avoine totales. Les prolamines (avenines) sont des fractions de faible poids moléculaire (30 KDa) des protéines d'avoine. Ces prolamines sont solubles dans 50 à 70 % d'alcool éthylique ou 40 % d'alcool 2-propylique.

Les prolamines ont un pourcentage élevé de glutamine et de proline et sont faibles en lysine par rapport aux autres protéines (Capouchova et al. 2004). Les Avenines, un type de prolamines, ont une fonction de stockage similaire à celle des prolamines d'autres céréales.

On rapporte que les valeurs de gluteline varient de 5 à 66 % des protéines totales, car il est difficile d'être complètement solubilisées et sont dépendantes de l'extraction et la concentration du solvant (Robert et al. 1985). De toutes les protéines métaboliquement actives de l'avoine, l'albumine hydrosoluble représente la majeure partie de la fraction. Les albumines représentent environ 1 à 12 % des protéines totales de l'avoine. En général, l'albumine et la globuline ont une teneur plus élevée en lysine. L'avoine est donc riche en lysine par rapport à d'autres céréales alors qu'elles ont une teneur en acide glutamique et en prolamine relativement plus faible (Lasztity 1996).

5. L'intérêt nutritionnel de l'avoine

La production d'avoine a fortement reculé depuis la Seconde Guerre mondiale avec l'accroissement de la mécanisation en agriculture qui a contribué à la disparition des cheptels chevalins et de la demande d'avoine pour cet usage. Cependant, depuis deux décennies, la reconnaissance des effets bénéfiques sur la santé de la consommation de cette graminée a mené à une augmentation de la transformation de l'avoine pour la consommation humaine par les industries meunières et alimentaires (Bailey, 2004).

Ces dernières années, l'attention des gens s'est surtout portée sur la santé et le bien-être à travers la consommation d'aliments sains. Les céréales, y compris l'avoine (*Avena sativa* L.), ont été reconnues comme aliments fonctionnels, car elles ont un effet bénéfique sur la santé du consommateur et diminuent le risque de diverses maladies.

La discussion sur la valeur diététique des grains d'avoine et leur aptitude à la production d'aliments fonctionnels est plus fréquemment mentionnée dans la littérature scientifique de Biel et al. (2009). L'avoine est un composant majeur des aliments pour nourrissons en raison de son profil nutritionnel élevé, de son manque d'allergénicité, de son goût agréable, de sa bonne durée de conservation, de sa stabilité et de son faible coût. Les utilisations alimentaires de l'avoine comprennent le son d'avoine, la farine d'avoine, et les flocons d'avoine qui sont principalement utilisés pour les céréales du petit déjeuner. La bouillie, les céréales chaudes, le pain, les biscuits, les aliments pour nourrissons, les barres muesli et granola sont quelques exemples de produits alimentaires à base d'avoine. La farine d'avoine est également utilisée comme épaississant dans de nombreux aliments pour nourrissons, a noté Ranhotra (1995).

II. L'espèce *Avena magna* Murphy et Terrell.

1. Définition

Une espèce annuelle d'avoine, décrite comme *Avena magna* Murphy et Terrell (sp. *nova*), est un tétraploïde, $2n = 28$. Elle est apparentée à l'hexaploïde bien connu *A. sterilis* des rives de la Méditerranée avec un centre d'origine et de dispersion en Asie Mineure. La nouvelle espèce a été trouvée, par Zillinsky, près de Rabat au Maroc, dans la zone d'*A. sterilis*.

Cette espèce peut avoir joué un rôle important dans l'évolution de l'hexaploïde *Avena sterilis*. Elle présente également un intérêt particulier parce qu'elle possède de grands grains à haute teneur en protéines, une résistance exceptionnelle à la rouille couronnée et une paroi épaisse de chaume.

Récemment, une forme domestiquée de cette espèce a été développée en transférant le syndrome de domestication de l'avoine commune à *A. magna* sauvage. En conséquence, la forme sauvage peut être considérée comme ssp. *magna* et la forme domestiquée comme ssp. *domestica*.

2. Historique

Avena magna Murphy et Terrell est une espèce d'avoine sauvage tétraploïde ($2n=28$). Elle a été découverte parmi le matériel d'*A. sterilis* collecté au Maroc (MURPHY & al., 1968) suite à des expériences d'hybridation avec l'hexaploïde cultivé ($2n=42$) *A. sativa*. Tous les hybrides étaient stériles et l'examen cytologique a révélé qu'il s'agissait de pentaploïdes ($2n=35$) et le parent sauvage contenait 28 chromosomes. D'autres études cytologiques (MURPHY & al., 1968 ; LADIZINSKY, 1969), ont indiqué que *A. magna* est le tétraploïde le plus proche parent de l'avoine hexaploïde, sauvage et cultivée.

Dans sa monographie du genre *Avena*, BAUM (1977) a traité *A. magna* comme un synonyme hétérotypique d'*A. maroccana* Gdgr. (GANDOGGER, 1908), au motif que l'holotype de ce dernier contient les caractéristiques morphologiques de *A. magna*. Ce faisant, Baum croyait mettre fin à la controverse sur le nom exact de l'avoine tétraploïde décrite par MURPHY & al., 1968).

3. Distribution

Avena magna (synonyme *A. maroccana* Gdgr.) est signalée comme espèce endémique au Maroc (El Oualidi et al., 2012). Les premiers échantillons de l'espèce *A. magna* ont été prélevés en 1964 sur la côte marocaine ; plus tard, de nombreuses populations ont été trouvées au sud de Rabat à une altitude de 1000-1300 m au-dessus du niveau de la mer, au sud-est de Casablanca à une altitude de 500 m et au nord-ouest de Fès sur les pentes des monts Atlas à une altitude de 600 m. C'est une espèce de mauvaises herbes typique formant des peuplements massifs avec *A.*

sterilis dans les champs de céréales sur un sol alluvial lourd auquel son grand épillet est bien adapté. Cependant, contrairement à *A. sterilis*, *A. magna* sarcle moins fréquemment les cultures cultivées. Comme les populations de cette espèce étaient trouvées dans une région de riches sols alluviaux intensément utilisés en agriculture, cela peut mener à l'éradication ou au déplacement de cette espèce d'avoine par un membre plus agressif de cette communauté, *A. sterilis* (Shelukhina et al., 2007). Leggett et al (1992) ont noté que dans les deux principales régions du Maroc où *A. magna* a été collectée, l'agriculture devient de plus en plus importante et plus intense. Dans la zone de collecte, cette espèce n'a été trouvée qu'en bordure des cultures, ne poussant jamais en concurrence avec les cultures associées. La gestion des plantes sera un réel danger pour l'existence de cette espèce, en particulier étant donné qu'une grande partie de l'habitat primaire a déjà disparu en raison du surpâturage, des changements dans les pratiques agricoles, ou les deux (Leggett et al., 1992).

4. Classification taxonomique

- Classe : *Liliopsida*
- Famille : *Poaceae*
- Genre : *Avena*
- Espèce : *Avena magna*

5. Morphologie

Avena magna est une plante de forme prostrée dont la hauteur est entre 65 – 100 cm. Les panicules sont équilatérales avec des pédicelles légèrement plus longs. Cette dernière contient des épillets à la longueur de 20 – 30 cm et avec 2 – 4 fleurons embrassés par deux glumes qui sont égales ou presque avec de 8 à 10 nervures; reliés avec un callus fortement pubescent arrondi. Les lemmes ou bien les fleurons sont plutôt avec une forte densité de poil brun foncé ou blanchâtre allant jusqu'à 7 mm de long (poils qui ne cachent pas la peau). A la fin des deux lemmes on trouve une partie qui s'appelle cicatrice de désarticulation, c'est une partie grande et elliptique. Le tiers supérieur des lemmes contient des arêtes (2 – 4) avec des extrémités aigues et bidenté.

6. Cytologie

La partie la plus excitante de la découverte de *A. magna* a été le nombre de chromosomes $2n=28$ qui est d'une importance biologique et diagnostique marquée.

Revue bibliographique

Les chromosomes de l'avoine sauvage tétraploïde (*Avena magna*), qui est morphologiquement similaire à l'espèce hexaploïde *A. sterilis*, ont une homologie plus étroite avec leurs chromosomes correspondants chez les espèces hexaploïdes (SADANAGA et al., 1968).

Il a été établi que le caryotype d'*A. Magna* diffère de ceux des autres espèces tétraploïdes et ne contient pas le génome B (Murphy et al 1968). Plus tard, ce génome a été désigné comme étant AC au lieu du génomeAD précédemment déterminé (Murray et al.1970).

Des croisements réciproques d'*A. magna* avec de l'avoine cultivée et d'autres espèces hexaploïdes ont démontré son rôle important dans l'évolution des espèces hexaploïdes (Ladizinsky 1988). Les résultats des croisements interspécifiques ont amené certains scientifiques à la conclusion que les tétraploïdes portant les génomes AC provenaient d'espèces diploïdes portant leurs composants, vraisemblablement *A. canariensis* (A) et *A. ventricosa* (C). Selon un autre avis, les génomes A du génome de *A. magna* et *A. strigosa* étaient identiques, et les génomes C de *A. magna* et *A. pilosa* étaient liés. Toutefois, plus tard, cette hypothèse a été écartée (Leggett et Markland 1995 ; Leggett 1998).

III. Etude de la diversité génétique

L'utilisation de la diversité génétique dans un programme de sélection passe inévitablement par son estimation et par le choix du type de marqueur susceptible de la traduire le plus fidèlement possible. Les marqueurs génétiques sont des caractéristiques héréditaires qui renseignent sur le génotype qui le porte (De Vienne 1998). On appelle un marqueur génétique tout marqueur biochimique, chromosomique ou moléculaire qui permet de révéler un polymorphisme. Le développement de la biochimie des protéines, de l'enzymologie puis de la biologie moléculaire du gène ont permis d'avoir accès soit au produit du gène, la chaîne peptidique, soit à la séquence du gène lui-même. Aussi, dans bien des cas, les analyses biochimique des protéines ou moléculaire du gène donnent accès à des polymorphismes sans traduction perceptible à l'échelle morphologique ou physiologique et permettent de percevoir, à cette échelle, un polymorphisme génétique non perceptible à l'échelle de l'organisme (Serre 2006). L'identification de formes de polymorphismes dans les espèces peut aider à comprendre leurs distributions et leur évolution historique et aussi bien leur mécanisme d'interaction et leurs coévolutions avec les autres espèces (De Moraes *et al.* 2007).

Un marqueur génétique « idéal » doit être polymorphe (la matière première du généticien est la variabilité), multi-allélique, codominant (l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents), non épistatique (son génotype peut être lu à partir de son phénotype quelque soit le génotype des autres loci), neutre (les substitutions alléliques au locus marqueur n'ont pas d'autres effets phénotypiques), insensible au milieu (le génotype peut être inféré à partir du phénotype quelque soit le milieu) (De Vienne 1998).

Trois types de marqueurs sont largement utilisés pour l'évaluation de la variabilité génétique, à savoir les marqueurs morphologiques, biochimiques et moléculaires.

1. Les marqueurs morphologiques

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 (Jiang 2013).

2. Les marqueurs biochimiques

Les marqueurs biochimiques ont été les premiers marqueurs à avoir été mis en œuvre pour étudier la variabilité génétique (Harry 2001). En 1966, deux avancées, l'une conceptuelle et l'autre technologique, ont permis d'appréhender pour la première fois la variabilité génétique.

En effet, l'étude des gènes pouvait être faite de façon indirecte au travers de l'étude de la séquence des acides aminés codés par ces gènes. En partant du principe que toute variation de la séquence d'acides aminés reflète une variation au niveau du gène codant pour cette protéine. L'avancée technologique repose sur la mise au point de l'électrophorèse des protéines (Harry 2001).

3. Les marqueurs moléculaires (marqueurs à ADN)

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Les marqueurs moléculaires correspondent donc au polymorphisme révélé au niveau de l'ADN. Plus précisément, un marqueur à ADN peut être défini comme un fragment d'ADN qui révèle les mutations et détecte le polymorphisme entre différents génotypes ou allèles d'un gène (délétion, insertion ou substitution) dans une séquence d'ADN donnée d'un pool génétique donné (individus, populations...etc.) (Xu 2010).

Les marqueurs moléculaires sont considérés comme des mesures objectives de la variation. En effet, ils s'adressent à l'ensemble du génome, qu'il soit ou non traduit en protéines. Le nombre de marqueurs observables est théoriquement illimité et le génotype d'une plante peut être déterminé à un stade très précoce, aussitôt que le matériel est disponible pour l'extraction de l'ADN. En outre, ils ne sont pas soumis aux influences de l'environnement et peuvent être réalisés tout au long du développement de la plante (Eagles et al. 2001 ; Langridge et al. 2001 ; Dekkers et Hospital 2002).

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).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Chapitre 2. Matériel et méthode

1. Matériel végétal

L'étude a porté sur l'espèce tétraploïde *Avena magna*. Les 17 accessions ont une origine géographique connue. Elles ont été collectées de 9 wilayas et 17 sites différents dans le nord algérien (figure 2).



Figure 2 : Distribution des sites sur la carte géographique

Ces informations sont portées dans le tableau 2. L'identification taxonomique des accessions a été vérifiée pour la morphologie de la plante en utilisant la clé fournie par BAUM 1974. La collection des 17 accessions d'*Avena magna* provient du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales de l'Université Frères Mentouri Constantine 1.

Tableau 2. Liste des sites de collecte des accessions d'*Avena magna* étudiées

Espèce	Wilaya	Sites	Latitude	Longitude	Altitude
<i>Avena magna</i>	Constantine	Constantine	36°20'23.05"N	6°37'10.97"E	612
		El khroub	36°16'54.87"N,	6°41'22.65"E	701
		Ain abid	36°14'21.37"N	6°57'46.15"E	882
		Hamma bouziane	36°24'16.19"N	6°34'50.38"E	395
		Didouche mourad	36°28'14.05"N	6°38'3.36"E	483
		Ibn ziad	36°23'25.03"N	6°28'29.42"E	404
	Mila	Ain tinn	36°23'46.66"N	6°19'48.33"E	614
	Guelma	Oued zenati	36°20'6.30"N,	7°9'25.93"E	631
		Hammem debgh	36°26'8.18"N	7°18'4.53"E	315
	Sidi belabes	Sidi belabes	35°10'32.43"N	0°34'50.00"O	484
	Mascara	Mascara	35°21'58.25"N	0°6'2.02"E	491
		Sfisef	35°13'34.51"N	0°16'21.24"O	559
		Tighniff	35°23'56.37"N	0°17'49.31"E	497
	Chlef	Chlef	36°7'56.54"N	1°21'59.37"E	156
	Médea	Médea	36°15'2.27"N	2°44'5.31"E	748
	Tlemcen	Meghnia	34°50'28.62"N	1°46'2.45"O	399
	Tairt	Rahuoia	35°32'13.89"N	1° 0'1.09"E	623

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 é été analysée par l'analogie avec la sphère du meme diamètre moyen géométrique selon l'expression suivante, citée par Olajide et Ade-Omowaye (1999) :

- $S = \pi. D_g^2$

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

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

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) :

- $Ras = W/L$

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.

Chapitre 2. Matériel et méthode

- 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 grain 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 surnagent 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 surnagent 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 surnagent 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 B et un agent alkylant, le 4-vinylpyridine. Le mélange est incubé puis centrifugé. Et un aliquote (0.1 ml) de surnagent 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.

Chapitre 2. Matériel et méthode

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 80% (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 μ l 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

Chapitre 2. Matériel et méthode

80 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), 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 magna*. 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 qui contribuent le plus dans la séparation et la discrimination des accessions d'*Avena magna*, une analyse des composantes principales a été effectuée.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Chapitre 03. Résultats et discussion

1. Analyse morphologique des accessions

L'étude de la morphologie de la plante a été réalisée en utilisant la clé de Baum 1974. Les résultats de l'analyse des différentes parties de la plante n'ont révélé aucune différence entre les 17 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 magna* sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 3. Moyennes des propriétés physiques du grain des accessions

Accessions		Les caractéristiques physiques										
N°	Sites de collecte	L (mm)	W (mm)	T (mm)	Da	Dg	Φ (%)	S (mm ²)	V (mm ³)	Dsq	De	Ras
1	Sidi belabes	8.05	1.97	1.4	3.81	2.25	0.29	15.94	11.67	1.82	2.62	0.24
2	médea	7.42	2.14	1.26	3.61	2.21	0.29	15.38	10.55	1.76	2.52	0.28
3	Tighniff	7.62	2.18	1.26	3.69	2.22	0.29	15.61	11.06	1.79	2.57	0.28
4	Ain Tinn	7.18	2.1	1.05	3.44	2.17	0.30	14.91	8.34	1.66	2.43	0.29
5	Ain abid	7.43	2.11	1.28	3.61	2.21	0.29	15.38	10.59	1.76	2.52	0.28
6	Sfisef	8.01	2.16	1.28	3.82	2.25	0.28	15.97	11.71	1.84	2.63	0.27
7	Constantine	7.78	2.04	1.21	3.68	2.22	0.28	15.58	10.09	1.75	2.55	0.26
8	El khroub	7	1.96	1.17	3.38	2.16	0.30	14.72	8.48	1.64	2.39	0.28
9	Rahouia	7.47	1.19	1.08	3.58	2.20	0.28	15.29	8.43	1.67	2.48	0.24
10	Mascara	7.86	2.18	1.27	3.77	2.24	0.28	15.85	11.52	1.82	2.61	0.27
11	Hamma bouziyan	6.96	2.04	0.93	3.31	2.15	0.30	14.52	6.96	1.58	2.35	0.29
12	Didouche mourad	7.36	1.98	1.11	3.48	2.18	0.29	15.03	8.52	1.66	2.44	0.26
13	Chlef	7.21	2.24	1.38	3.61	2.21	0.30	15.39	11.77	1.80	2.54	0.31
14	Hammem debagh	7.51	2.23	1.14	3.62	2.21	0.29	15.43	10.05	1.76	2.53	0.29
15	Meghnia	7.85	2.33	1.38	3.89	2.26	0.28	16.07	13.32	1.89	2.67	0.29
16	Ibn ziad	7.31	2.24	1.18	3.38	2.20	0.30	15.29	10.21	1.75	2.51	0.30
17	Oued zenati	7.46	2.22	1.32	3.61	2.22	0.29	15.54	11.48	1.80	2.56	0.29

L : Longueur, W : Largeur, T : Epaisseur, Da : la moyenne arithmétique, Dg : la moyenne géométrique, Φ : 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.

Chapitre 03. Résultats et discussion

1.2. Analyse en cluster basée sur les propriétés physiques du grain

Le dendrogramme généré à partir des propriétés physiques du grain est illustré dans la figure3.

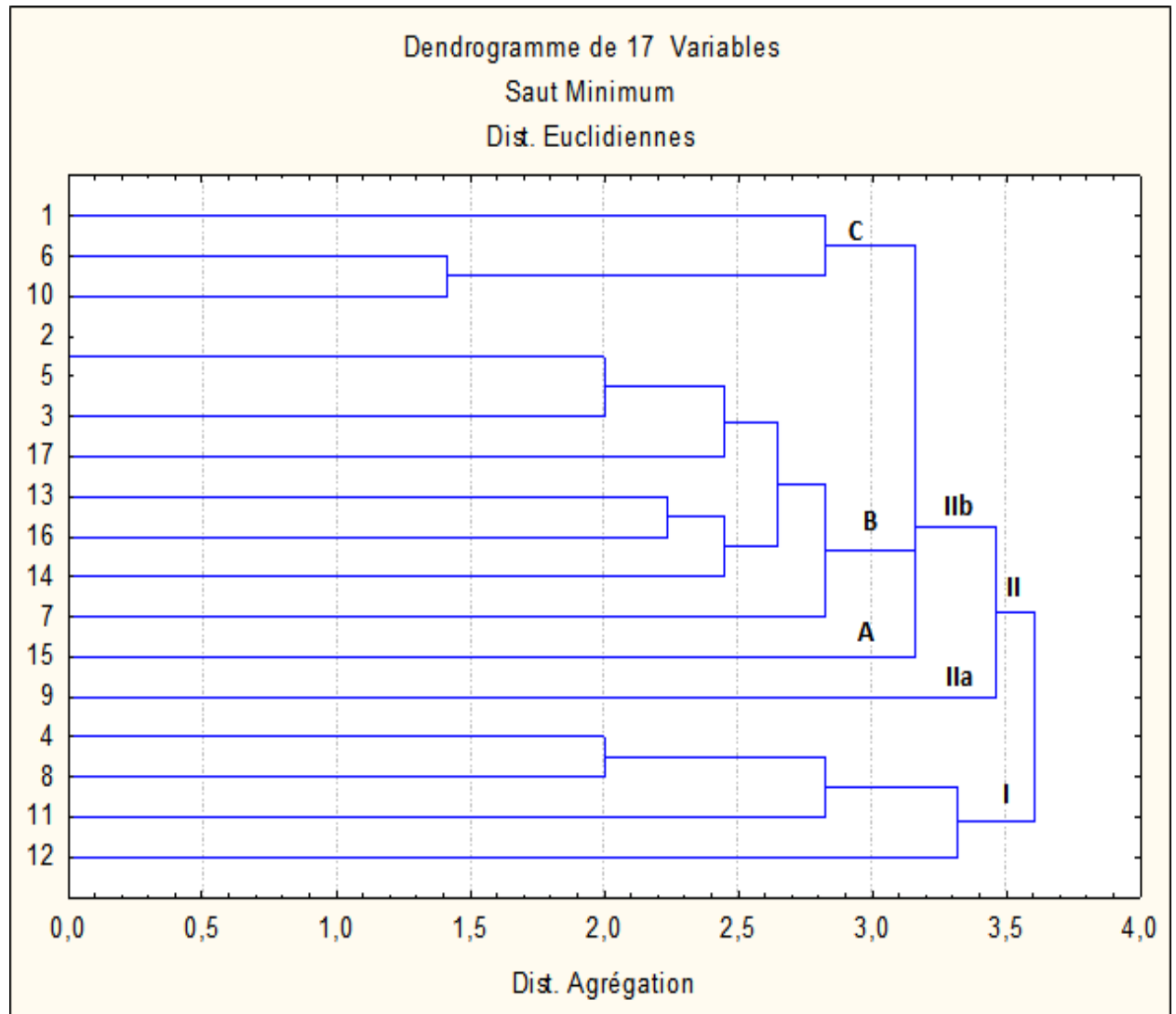


Figure 3. Dendrogramme des distances euclidiennes basé sur les propriétés physiques du grain des accessions d'*Avena magna* étudiées.

Le dendrogramme est composé de groupes majeurs à la distance d'agrégation $d = 3.6$. Les accessions 12, 11, 8 et 4 provenant de Didouche mouad, Hamma bouziane, El khroub et Ain tinn, respectivement, constituent le premier groupe. Le second groupe est divisé à son tour en deux sous groupes. Le premier sous groupe ($d = 3.45$) est composé de l'accession 9 provenant de Rahouia alors que le second se subdivise à son tour en trois autres sous groupes (A, B et C). Le A ($d = 3.15$) est constitué d'une seule accession (15) provenant de Maghnia. Le B ($d = 2.8$) comprend l'accession 7 provenant de Constantine liée avec les deux autres groupes. Le premier

Chapitre 03. Résultats et discussion

comprend les accessions 14, 16 et 13 provenant de Hamm debagh, Ibn ziad et Chlef, respectivement alors que le second renferme les accessions 17, 3, 5 et 2 provenant de Oued zenati, tigheniff, Ain abid et Médeaa, respectivement. Le C est composé à la distance $d=2.8$ de trois accessions où l'accession 1 provenant de Sidi belabes constitue un groupe à part liée à la distance $d= 1.4$ aux 2 autres accessions 6 et 10 provenant de Sfifef et Mascara, respectivement.

La distance euclidienne la plus éloignée est observée entre l'accession 12 et 10 d'une part et avec les autres accessions d'autre part. En parallèle, la plus faible distance est observée entre les accessions 6 et 10. La distance $d=0$ est observée entre les accessions 2 et 5. Ces dernières sont identiques et présentent des caractéristiques similaires.

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 6 et 10 qui proviennent de Sfifef et Mascara, respectivement, ont la faibles distances ($d=1.4$) sont presque identiques. Dix caractères physiques du grain sont identiques entre ces deux accessions sur les onze étudiés.

L'accession 12 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 10 et 12 qui ont dix caractéristiques physiques du grain différentes sur les onze étudiés.

1.3. 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 3.

Les résultats de l'ACP révèlent que les dix premiers axes représentaient 94.6 % de la variation totale avec 27.99% pour l'axe 1 (PC1) et 19.88% pour l'axe 2 (PC2). La représentation en deux dimensions (2D) a été obtenue en utilisant des deux premiers axes (PCs).

Les propriétés du grain qui ont fortement contribué à la formation du PC1 sont : Dg2, Da2, De3, et ceux qui ont le plus contribué à la formation du PC2 sont : Da3, L2, Dsq4. D'autre part, les caractères qui ont une faible charge dans la distinction et la discrimination des accessions sont V2, De4, et Da3 pour PC1 et W1, et Dsq1 pour PC2.

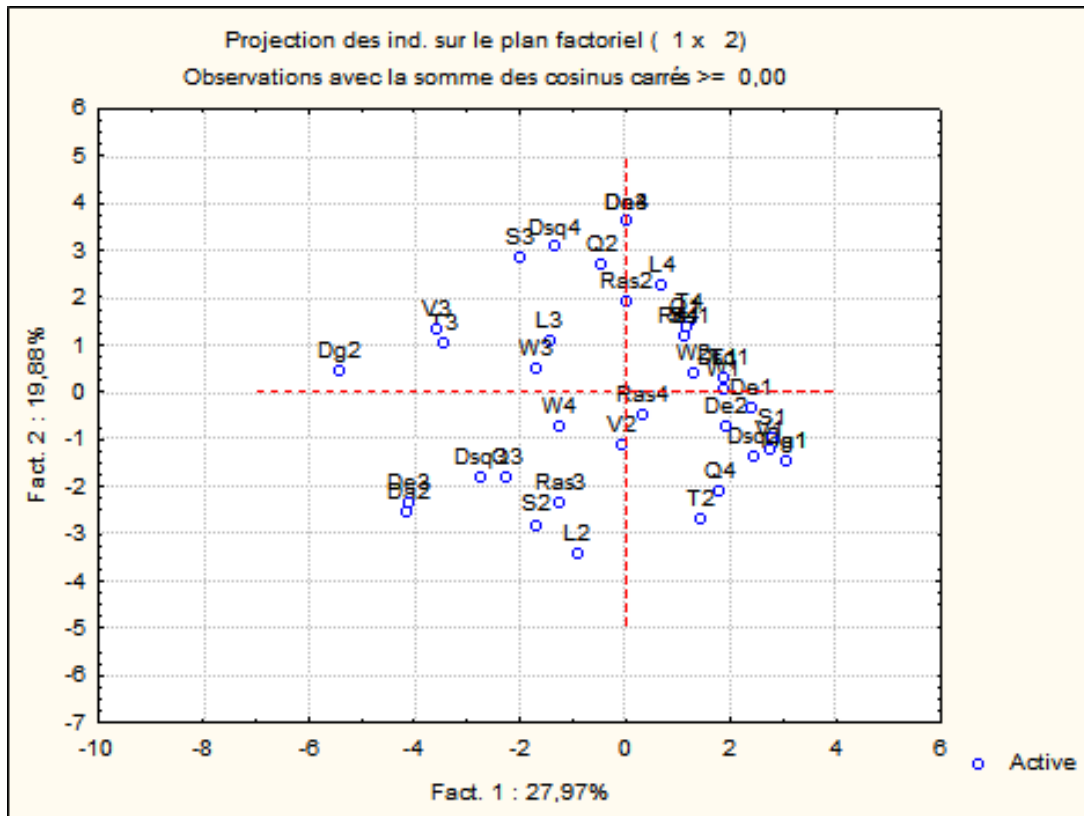


Figure 4. Analyse en composantes principales basée sur 11 propriétés physiques du grain.

1.4. Indices de similarité morphologique

Les résultats de IRD sont représentés dans le tableau 4.

Il en ressort que l'IRD se situe entre 0 et 4.69. Les valeurs hautes signifient que les accessions présentent de nombreuses dissemblances et sont différentes morphologiquement. Les similarités les plus hautes sont enregistrées entre les deux accessions (4-1), (4-7), (10-8) et (11-10) avec un IRS de 4.69. Les valeurs d'IRD faibles indiquent que leur morphologie est presque identique comme le cas des accessions (10-6) avec un IRS de 1.41 (tableau 4). Lorsque la valeur de l'IRD = 0, cela signifie que leurs morphologies sont parfaitement similaires c'est le cas des accessions (5-2) colorés en rouge sur le tableau.

Chapitre 03. Résultats et discussion

Tableau 4. Indices de similarité calculés pour les 17 accessions d'avoine tétraploide étudié

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	0,00	4,24	4,00	4,69	4,24	2,83	4,24	4,47	4,00	3,16	4,69	4,36	3,87	4,47	3,46	4,47	3,74
2		0,00	2,00	4,00	0,00	3,74	3,46	4,24	4,00	3,74	4,47	4,12	3,00	2,83	4,24	3,16	2,45
3			0,00	4,24	2,00	3,46	2,83	4,47	4,00	3,16	4,47	4,58	3,61	2,83	4,00	3,74	2,45
4				0,00	4,00	4,47	4,69	2,00	3,74	4,47	3,16	3,32	4,12	4,24	4,47	4,00	4,24
5					0,00	3,74	3,46	4,24	4,00	3,74	4,47	4,12	3,00	2,83	4,24	3,16	2,45
6						0,00	3,46	4,69	4,24	1,41	4,69	4,58	3,87	4,47	3,46	4,47	3,46
7							0,00	4,69	3,74	3,16	4,47	4,36	3,87	3,16	4,00	3,46	3,46
8								0,00	3,74	4,69	2,83	3,32	4,12	4,24	4,47	4,00	4,24
9									0,00	4,00	4,47	3,61	3,87	3,46	4,00	3,74	4,24
10										0,00	4,69	4,58	3,87	4,24	3,16	4,47	3,46
11											0,00	4,36	4,36	4,47	4,47	4,47	4,47
12												0,00	4,24	3,87	4,58	3,87	4,36
13													0,00	3,32	3,87	2,24	2,65
14														0,00	3,74	2,45	3,16
15															0,00	4,24	3,74
16																0,00	3,46
17																	0,00

2. Diversité génétique des sous-unités glutélines de l'avoine tétraploïde *Avena magna*

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 avec une séparation des bandes très satisfaisante. La figure 5 montre les profils des accessions analysées.

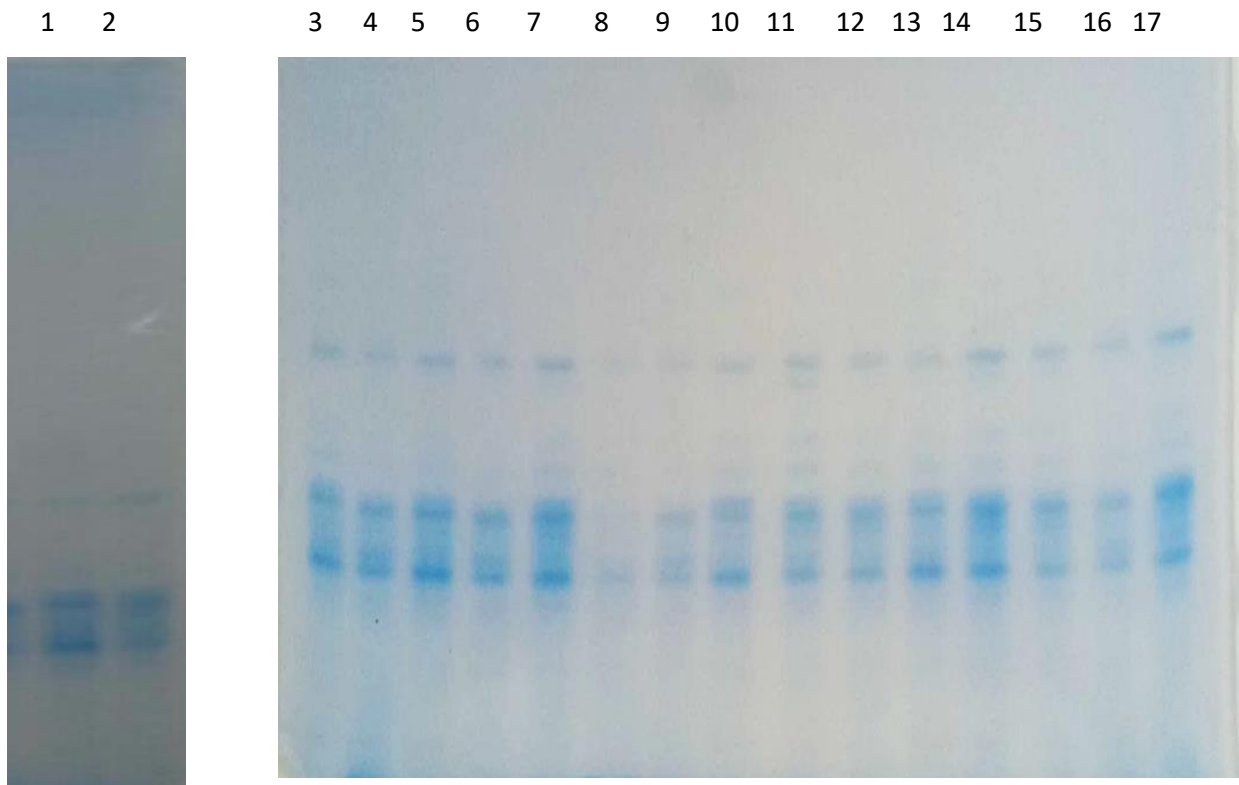


Figure 5. Electrophérogramme de 17 accessions *d'Avena magna* analysées.
(1)Sidi belabes;(2)Médea;(3)Tigheniff;(4)Ain tinn;(5)Ain abid;(6)Sfisef;(7)Constantine;
(8)El khroub;(9)Rahouia;(10)Mascara;(11)Hamma bouziane;(12)Didouche
mourad;(13)Chlef;(14)Hammem debagh ; (15)Maghnia ; (16)Ibn ziad ;(17)Oued zenati.

Chapitre 03. Résultats et discussion

2.1. Variabilité des sous unités glutélines

L'étude des sous unités glutélines a porté sur 17 accessions d'avoine tétraploide (*Avena magna*) provenant de différentes régions du territoire national.

L'analyse électrophorétique de 17 accessions d'*Avena magna* a permis de distinguer un total de 6 bandes protéiques de glutélines de mobilités différentes (tableau 5).

Les bandes 2, 4 et 5 avec des mobilités de 5.5, 6.3 et 6.4, respectivement sont les plus fréquentes et caractérisent les 17 accessions (Tableau 5). La bande 3 de mobilité 6 cm, est rencontrée chez 15 accessions, suivie de la bande 1 avec une mobilité de 5.4 cm, qui est présente chez 12 accessions. La bande 6 qui a une mobilité de 6.5 cm est relativement moins fréquente et est rencontrée chez 6 accessions.

Tableau 5 : composition protéique en sous unités glutélines des 17 accessions d'avoine tétraploide *Avena magna* collectées en Algérie.

Accession	Sites de provenance	Sous unités glutélines					
1	Sidi belabes	1	2	3	4	5	6
2	Médea	1	2	3	4	5	6
3	Tigheniff	1	2	3	4	5	6
4	Ain tinn		2		4	5	
5	Ain abid	1	2	3	4	5	
6	Sfisef	1	2	3	4	5	6
7	Constantine	1	2	3	4	5	
8	El khroub	1	2	3	4	5	
9	Rahouia	1	2	3	4	5	
10	Mascara	1	2	3	4	5	
11	Hamma bouziane		2	3	4	5	
12	Didouche Mourad		2		4	5	
13	Chlef	1	2	3	4	5	6
14	Hammem debagh		2	3	4	5	
15	Moghnia	1	2	3	4	5	6
16	Ibn ziad		2	3	4	5	
17	Oued zenati	1	2	3	4	5	

Chapitre 03. Résultats et discussion

2.2. Diagrammes types obtenus

L'analyse des diagrammes électrophorétiques des 17 accessions d'avoine tétraploïde *Avena magna* nous a permis de recenser un ensemble de 6 bandes correspondant aux sous unités glutélines de différentes mobilités. Chaque diagramme renferme de 3 à 6 sous unités. Au tableau 6, sont portés les différents types de diagrammes.

Tableau 6. Les diagrammes types des sous unités glutélines observées dans la collection d'avoine tétraploïde *Avena magna*

N°	Types	Diagrammes	Accessions	Sites de provenance
1	A	1+2+3+4+5+6	1,2,3,6,13,15	Sidi belabes, Médea, Tigheniff, Sfisef, Chlef, Maghnia
2	B	1+2+3+4+5	5,7,8,9,10,17	Ain Abid, Constatine, El Khroub, Rahouia, Mascara, Oued zenati
3	C	2+3+4+5	11,14,16	Hamma Bouziane, Hammem Debagh, Ibn Ziad
4	D	2+4+5	4,12	Ain Tinn, Didouche Mourad

L'analyse de ce tableau révèle l'existence de quatre diagrammes types pour une collection de 17 accessions d'avoine. Le nombre moins élevé des groupes de bandes et des bandes ne reflètent pas le polymorphisme des glutélines de cette collection.

Le diagramme le plus fréquent est le diagramme type A (1+2+3+4+5+6) et B (1+2+3+4+5) avec une fréquence de 35.29% chacun, un ensemble de 6 accessions sont représentées par ces diagramme. Vient après le diagramme C (2+3+4+5) dont la fréquence est de 17.65% regroupant 3 accessions. Un ensemble de 2 accessions partagent le diagramme D (2+4+5), ayant la plus faible fréquence de 11.77%.

2.3. 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.

Chapitre 03. Résultats et discussion

Tableau 7. Fréquences des sous unités glutélines des 30 accessions d'*Avena Magna*

Sous unité	Mobilités (cm)	Nombre d'accessions	Accessions	Fréquence (%)
1	5.4	12	1,2,3,5,6,7,8,9,10,13,15,17	70.58
2	5.5	17	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17	100
3	6	15	1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13,14,15,16,17	88.23
4	6.3	17	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17	100
5	6.4	17	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17	100
6	6.5	6	1,2,3,6, 13,15	35.29

La distribution des bandes 2, 4 et 5 est de 100%, suivie de la bande 3 avec une fréquence de 88.23%. La bande 1 caractérise un ensemble de 12 accessions avec une fréquence de 70.58%. En dernier lieu, 6 accessions partagent la plus faible fréquence de 35.29% correspondant à la sous unité 6 (tableau 7).

2.4. 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 8 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.

Chapitre 03. Résultats et discussion

Tableau 8. Diagrammes types variétaux des accessions d'*Avena magna* étudiées

Bandes	Accessions																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0

2.5. 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).

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

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

Les indices de similarité ont été calculés pour les 17 accessions d'*Avena magna* regroupées selon leur composition en sous unités glutélines (tableau 9).

Il en ressort que l'IRS se situe entre 50% et 100%. Des valeurs faibles signifient que les diagrammes présentent de nombreuses dissemblances et sont éloignés génétiquement. Les similarités les plus faibles et ou moyennes sont enregistrées entre les deux accessions (4-1,2,3,6), (12-1,2,3,6), (13-4,12) et (15-4,12) avec un IRS de 50%. Des IRS allant jusqu'à 50% traduisent des profils protéiques moyennement différents. Des valeurs d'IRS supérieures à 50% indiquent que les génotypes sont voisins comme le cas des accessions avec des IRS de 80% et 83.3% (tableau 9). Lorsque la valeur de l'IRS = 100%, cela signifie que les profils sont parfaitement similaires c'est le cas des accessions colorés en jaune sur le tableau.

Chapitre 03. Résultats et discussion

Tableau 9. Indices de similarité calculés pour les 17 accessions d'avoine tétraploïde étudié

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	100	100	100	50	83,3	100	83,3	83,3	83,3	83,3	66,7	50	100	66,7	100	66,7	83,3
2		100	100	50	83,3	100	83,3	83,3	83,3	83,3	66,7	50	100	66,7	100	66,7	83,3
3			100	50	83,3	100	83,3	83,3	83,3	83,3	83,3	50	100	66,7	100	66,7	83,3
4				100	60	50	60	60	60	60	75	100	50	75	50	75	75
5					100	83,3	100	100	100	100	80	60	83,3	80	83,3	80	100
6						100	83,3	83,3	83,3	83,3	66,7	50	100	66,7	100	66,7	83,3
7							100	100	100	100	80	60	83,3	80	83,3	80	100
8								100	100	100	80	60	83,3	80	83,3	80	100
9									100	100	80	60	83,3	80	83,3	80	100
10										100	80	60	83,3	80	83,3	80	100
11											100	75	66,7	100	66,7	100	80
12												100	50	75	50	75	60
13													100	66,7	100	66,7	83,3
14														100	66,7	100	80
15															100	66,7	83,3
16																100	80
17																	100

CONCLUSION

Conclusion

L'objectif de notre étude vise l'appréciation de la diversité génétique par les marqueurs morphologiques et biochimiques d'une des 30 espèces d'avoine recensées : l'*Avena magna*.

Ce travail nous a permis :

- Noter l'absence de différence dans les différentes parties de la plante entre les 17 accessions malgré les origines éco-géographiques différentes de ces dernières.
- Remarquer des différences remarquables dans les propriétés physiques des grains.
- Décrire la diversité génétique des sous unité de glutéline au sein des différentes plantes d'*Avena magna*.
- On a distingué un total de 6 bandes protéiques de glutélines de mobilités différentes.

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

Références bibliographiques

A

Anderson JW, Chen W-JL. In: Webster FH, (1986) ed. Oats, Chemistry and Technology. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists:309.

Anderson JW, Deakins DA, Bridges SR. In: Kritchevsky D, Bonfield C, Anderson JW, eds. Dietary Fiber: Chemistry, Physiology and Health Effects. New York, NY.

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

BAUM, B. R. (1977) Oats: Wild and Cultivated. Cannada Department of Agriculture. Ottawa.

Biel, W., Bobko, K., Maciorowski, R., (2009). Chemical composition and nutritive value of husked and naked oats grain. Journal of cereal science 49, 413-418.

C

Capouchova I, Petr J, Tlaskalova Hogenova H, Michalik I, Famera O, Urminska D, Tuckova L, Knoblochova H, Borovska D (2004) Protein fractions of oats and possibilities of oat utilization for patients with celiac disease. Czech J Food Sci 22(4):151–162

D

De Vienne D (1998) Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. INRA, Paris.

Dekkers J.C.M., Hospital F. (2002). The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. Nature Reviews Genetics. 3 (1): 22-32

E

Eagles H.A., Bariana H.S., Ogonnaya F.C., Rebetzke G.J., Hollamby G.J., Henry R.J., Henschke P.H., Carter M. (2001). Implementation of markers in Australian wheat breeding. Australian Journal of Agricultural Research, 52: 1349-135

El Oualidi, J., Khamar, H., Fennane, M., Ibn Tattou, M., Chauvet, S., Taleb, M., (2012). Checklist Des Endémiques Et Spécimens Types de la Flore Vasculaire De l'Afrique Du Nord25Universite Mohammed V-Agdal, Rabat.

F

FAOSTAT, F.A.O., (2013). Agriculture data. Food and Agriculture Organization, Rome (Italy). FAOWIEWS. Available from: http://apps3.fao.org/wiews/germplasm_query.htm?i_l=EN (accessed 16.09.2014.).

FAOSTAT (2016). (Statistics division of food and agriculture organization of the United Nations). http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E.

Références bibliographiques

G

G. Ladizinsky, (2012). Studies in Oat Evolution, SpringerBriefs in Agriculture, DOI: 10.1007/978-3-642-30547-4_1, _ page 1 et 2

GANDOGGER, M. M. (1907) **Florule de Ceuta (Maroc)**. **Bull. Soc. Bot. Fr.** 54: 77-81. — (1908) Flore du litoral meditenaneen du Maroc. **Bull. Soc. Bot. Fr.** 55: 656-659.

GIBSON, Lance et Garren BENSON (2002). Origin, History, and Uses of Oat (*Avena sativa*) and Wheat (*Triticum aestivum*). Iowa State University, Department of Agronomy.

H, J, K

Hansen, J., Renfrew, J., (1978). Palaeolithic–Neolithic seed remains at Franchthi Cave, Greece. *Nat. Biotechnol.* 271, 349–352.

Harry M (2001) Génétique moléculaire et évolutive. Editions Maloine, Paris.

J. Mike Leggett and Hugh Thomas Oat evolution and cytogenetics pp 120/121

Klose C, Schehl BD, Arendt EK (2009) Fundamental study on protein changes taking place during malting of oats. *J Cereal Sci* 49:83–91

L

Laemli , U. K . 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680- 685.

Langridge P., Lagudah ES., Holton TA., Appels R., Sharp P.J., Chalmers K.J. (2001). Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52: 1043-1077

Lasztity R (1996) The chemistry of cereal proteins. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA

Leggett, J., Ladizinsky, G., Hagberg, P., Obanni, M., 1992. The distribution of nine *Avena* species in Spain and Morocco. *Can. J. Bot.* 70 (2), 240–244.

Leggett JM, Markland GS (1995) The genomic structure of *Avena* revealed by GISH. *Proc Kew Chrom Conf* 4:133–139

Leggett JM (1998) Chromosome and genomic relationship between the diploid species *Avena strigosa*, *A. eriantha*, and the tetraploid *A. maroccana*. *Heredity* 80:361–367

Linnaeus, C., (1753). *Species Plantarum*, vol. 1, London.

Linnaeus, C., (1762). *Species Plantarum*, London.

Références bibliographiques

Loskutov, I., (2008). On evolutionary pathways of *Avena* species. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55 (2), 211–220.

Loskutov, I., Rines, H., (2011). *Avena*. In: Kole, C. (Ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 109–183.

M

Malzev, A., (1930). *Wild and Cultivated Oats Sectio Euavena Griseb*, vol. 38, Leningrad.

Marchyllo, B.A., J.F.Kruger, & D.W.Hatcher. (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.

Mohsenin, N. N. (1970). *Physical Properties of Plant and Animal Materials*. Gordon and Breach Science Publishers, New York, 51-83.

Moraes PLR, Nehme CJ, Alves MC, Teresa M, Derbyshire MT, Cavalheiro AJ (2007) Chemical composition of flavonoids and styrylpyrones and the genetic variability of isozymes in natural populations of *Cryptocarya mandiocana* Meisner (Lauraceae). *Biochemical systematics and Ecology* 35: 233-244.

Murphy, J., Hoffman, L., (1992). The origin, history, and production of oat. In: Marshall, H., Sorrells, M. (Eds.), *Oat Science and Technology*. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 1–28.

MURPHY, H. C., K. SADANAGA, F. J. ZILLINSKY, E. E. TERRELL & R. T. SMITH (1968) *Avena magna*: An important new tetraploid species of oats. *Science* 159: 103-104.

Murray BE, Craig JL, Rajhathy T (1970) A protein electrophoretic study of three

O, P

Olajide, J. O., & Ade-Omowaye, B. I. O. (1999). Some physical properties of locust bean seed. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 74, 213–215.

Payne, P.I., & K.G. Corfield. (1979). Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in dissociating medium. *Planta* 145: 83-88.

R, S, V

Ranhotra, G. S., and Gelroth, J. A., (1995). Food uses of oats, in „*The Oat Crop: Production and Utilization*” Welch, R. (ed.). London: Chapman and Hall.

Robert LS, Nozzolillo C, Altosaar I (1985) Characterization of oat (*Avena sativa* L.) residual proteins. *Cereal Chem* 62:276–279

Références bibliographiques

Seifi, M. R. and R. Alimardani (2010). The moisture content effect of some physical and mechanical properties of corn. *Journal of Agric. Science, Canadian Centre of Science and Education* 2(4):125-134

Serre JL (2006) *Génétique des populations*. Edition Dunos, Paris.

Shelukhina, O., Badaeva, E., Loskutov, I., Pukhal'sky, V., (2007). A comparative cytogenetic study of the tetraploid oat species with the A and C genomes: *Avena insularis*, *A. magna*, and *A. murphyi*. *Russ. J. Genet.* 43 (6), 613–626.

Singh, N. K., & K.W.Shepherd . (1988). Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. 1 . genes on the short arms of group 1 chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 75 (4): 628-641

Subukola, O. P. and Onwuka, V. I. (2011). Effects of moisture content on some physical properties of locust bean seed (*Parkia fillicoides*). *Journal of Food Process Engineering* 34: 1947-1961.

Vita Sternaa*, Sanita Zuteb, Linda Brunavaa, (2015). Oat grain composition and its nutrition benefice. Florence “Sustainability of Well-Being International Forum”. 2015: Food for Sustainability and not just food, FlorenceSWIF

X, Y, Z

Xu, Y. (2010). *Molecular plant breeding*. CAB International, CIMMYT Mexico, pp.734

Yao, N., Jannink, J., Alavi, S., White, P.J., (2006). Physical and sensory characteristics of extruded products made from two oat lines with different beta-glucan concentrations. *Cereal Chem.* 83, 692–699.

Zhang, H., Onning, G., Oste, R., Gramatkovski, E., Hulthen, L., (2007). Improved iron bioavailability in an oat-based beverage: the combined effect of citric acid addition, dephytinization and iron supplementation. *Eur. J. Nutr.* 46, 95–102.

ANNEXE

Annexe

Annexe1 : Extraction des glutélines du blé dur et blé tendre d'après Singh,Shephered
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

-Récupérer le surnageant.

-Introduire 1ml de la solution A.

-Evaporation du surnageant.

-Vortexer

1 nuit à 65° C.

-etuver 30 min à 65°C.

-Centrifuger 1 min à 10 000.

-Reprendre le résidu sec avec

-eliminer le surnageant.

0.2 ml de solution C.

-Vortexer.

-introduire 0.5 ml de la solution A.

-Etuver15 min à 65°C.

- vortexer.

-Centrifuger 5min à 10 000.

-Centrifuger 5min à 10000.

-eliminer le surnageant par aspiration (trompe à eau).

-introduire 0.1 ml de la solution B1.

-Vortexer.

Annexe

- incuber 30min à 65°C.
 - Révélation des avénines sur SDS-PAGE
 - Centrifuger 5 min à 10 000.
 - additionner 0.1 ml de la solution B2.
 - Incuber 15min à 65°C.
 - Centrifuger 2min à 10 000. T=10.3 % et C=1.3%
 - Additionner 0.1 ml de la solution B2.
 - Incuber 15min à 65° C.
 - Centrifuger 2 min à 10 000.
 - 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 glutélines 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 glutélines.

Solution A :

Propanol-1 75ml

Annexe

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)

Solution B	7ml
DL-Dithiothréitol	70ml

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

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

Solution B	7ml
DL-Dithiothréitol	70ml

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

Solution c :

Sodium dodécyl sulphate	0.2g
Glycérol	4ml

Annexe

Bleu de bromophéno1 0.002 g

Tris-HCL 1M ph = 8.0 0.8ml

Eau permutée qsp 10ml

Conservation : plusieurs semaines à température ambiante.

Annexe 3 :

Ghd (mm)	GhR	GhH (cm)	GhU	GhC	GhJ	GhL	Code or characters
diameter (Ghd)	upper most node (GhR)	Height (GhH)	Culm (GhU)	appearance (GhC)	Juvenile growth (GhJ)	Longevity (GhL)	
6 ± 1	Medium	73 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Belabes
6 ± 1	Medium	74 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Médéa
6 ± 1	Medium	74 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Tigheniff
6 ± 1	Medium	74 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Ain Tinn
6 ± 1	Medium	74 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Ain Abid
6 ± 1	Medium	73 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Sfisef
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Univ Cne1
6 ± 1	Medium	73 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	El khroub
6 ± 1	Medium	74 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Rahouia
6 ± 1	Medium	73 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Mascara
6 ± 1	Medium	74 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Mamma
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Bouziane
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Droucne
6 ± 1	Medium	74 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Mourad
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Chlef
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Mammam
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Debagh
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Moghnia
6 ± 1	Medium	74 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Ibn Ziad
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Oued
6 ± 1	Medium	75 ± 22,5	Erect	Glaucous	Prostrate	Annual	Zenati

Annexe

Cl (mm)	CS	SW (mm)	SL (mm)	SP	SSt	Ssf	FD	DD	GP	GNI	Gnu
Length (Cl)	Shape (CS)	Width (SW)	Length (SL)	Periphery ring (SP)	third floret scar (SSt)	floret scar (Ssf)	disarticulation (FD)	disarticulation (DD)	Presence of keels (GP)	lower glume (GNI)	upper glume (Gnu)
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9
3,5 ± 1	Round	4	10 ± 1	confined to ¼ of scar	Does not exist	Oval to round	disarticulation (FD)	Disarticulation (DD)	Without keels	7 to 9	7 to 9

RÉSUMÉS

Résumé

L'objectif de notre travail est d'appréhender la diversité génétique par les marqueurs morphologiques et biochimiques de l'avoine tétraploïde *Avena magna*.

Afin d'arriver à réaliser l'objectif sus-cité, nous avons procédé à une prospection de l'espèce *Avena magna* dans 17 sites différents en Algérie, en vue d'une étude comparative de la même espèce en fonction des sites.

L'étude de la morphologie de la plante a été réalisée en utilisant la clé de Baum 1974. Les résultats de l'analyse des différentes parties de la plante n'ont révélé aucune différence entre les 17 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.

Sur le plan biochimique, l'analyse électrophorétique des glutélines par la technique SDS-PAGE a donné des gels de bonne qualité avec une séparation des bandes très satisfaisante. On a distingué un total de 6 bandes protéiques de glutélines de mobilités différentes.

Mots clés : *Avena magna*, diversité génétiques, marqueurs, SDS PAGE, glutélines.

Abstract

The objective of our work is to understand genetic diversity through the morphological and biochemical markers of *Avena magna* tetraploid oats.

In order to achieve the above objective, we carried out a survey of the *Avena magna* species in 17 different sites in Algeria, with a view to a comparative study of the same species according to the sites.

The study of the morphology of the plant was carried out using the Baum 1974 key. The results of the analysis of the different parts of the plant revealed no difference between the 17 accessions despite the different eco-geographical origins of the latter. These results led us to analyze the physical properties of grains that showed remarkable differences.

Biochemically, the electrophoretic analysis of glutellins by the SDS-PAGE technique yielded good quality gels with very satisfactory band separation. 6 protein bands of glutellins of different mobility were distinguished.

Keywords: *Avena magna*, genetic diversity, markers, SDS PAGE, glutellins.

ملخص

الهدف من عملنا هو فهم التنوع الوراثي بواسطة العلامات المورفولوجية والكيميائية الحيوية للرباعي الشوفان (افينا مانيا).

من أجل تحقيق الهدف المذكور أعلاه، قمنا بإجراء التنقيب عن الأنواع افينا مانيا في 17 موقعًا مختلفًا في الجزائر، بهدف دراسة مقارنة لنفس النوع وفقًا للمواقع

أجريت دراسة مورفولوجيا النبات باستخدام مفتاح بوم 1974. كشفت نتائج تحليل الأجزاء المختلفة من النبات عن عدم وجود فرق بين 17 مدخلًا على الرغم من اختلاف الأصول الجغرافية للنبات. هذه الأخيرة. ثم قادتنا هذه النتائج إلى تحليل الخواص الفيزيائية للحبوب، والتي أظهرت اختلافات ملحوظة.

من الناحية الكيميائية الحيوية ، أعطى التحليل الكهربائي للجلوتينين بواسطة تقنية الرحلان الكهربائي التي تعطينا مواد الهلامية ذات النوعية الجيدة مع فصل شريط مرضٍ للغاية ، وتم تمييز ما مجموعه 6 نطاقات بروتينية من الغلوتين من مختلف أنواع الحركة.

الكلمات المفتاحية / التنوع الوراثي ، علامات ، خطوط الغلوتين. الرحلان الكهربائي. افينا مانيا

Année universitaire : 2018-2019

Présenté par : AKRICHE Imen
MECHRI Rania

Utilisation des marqueurs morphologiques et biochimiques pour l'analyse de la diversité génétique de l'espèce d'avoine tétraploïde *Avena magna*

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

Résumé :

L'objectif de notre travail est d'appréhender la diversité génétique par les marqueurs morphologiques et biochimiques de l'avoine tétraploïde *Avena magna*.

Afin d'arriver à réaliser l'objectif sus-cité, nous avons procédé à une prospection de l'espèce *Avena magna* dans 17 sites différents en Algérie, en vue d'une étude comparative de la même espèce en fonction des sites.

L'étude de la morphologie de la plante a été réalisée en utilisant la clé de Baum 1974. Les résultats de l'analyse des différentes parties de la plante n'ont révélé aucune différence entre les 17 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.

Sur le plan biochimique, l'analyse électrophorétique des glutélines par la technique SDS-PAGE a donné des gels de bonne qualité avec une séparation des bandes très satisfaisante. On a distingué un total de 6 bandes protéiques de glutélines de mobilités différentes.

Mots clés : *Avena magna*, diversité génétiques, marqueurs, SDS PAGE, glutélines.

Mots clés : *Avena magna*, diversité génétiques, marqueurs, SDS PAGE, glutélines

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
- Encadrante : Dr. BELLIL Inès, UFMC1

Date de soutenance : 17/07/2019