

PARTIE TECHNIQUE

L'identification des variétés de blés ⁽¹⁾

Par Jean-Claude AUTRAN,

Docteur ès Sciences, Chargé de Recherches à l'I.N.R.A. - Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés, E.N.S.M.I.C., 16, rue Nicolas-Fortin, Paris (13^e).

Avec la collaboration technique de Ginette GOBIN.

Depuis quelques années, la production et l'industrie de transformation des blés attribuent une importance croissante au facteur variétal, qu'elles considèrent comme l'un des meilleurs critères susceptibles de garantir un niveau donné de qualité. On ne peut cependant concevoir une généralisation des transactions sur cette base que dans la mesure où l'on dispose d'un moyen de contrôler la nature des variétés. Il est donc évident que la mise au point d'une méthode d'identification correcte, simple et rapide des principales variétés cultivées, aiderait grandement au classement qualitatif des récoltes ainsi qu'à l'approvisionnement des industriels en qualités de blé définies.

Le présent exposé tente précisément de répondre à la question : « Sait-on actuellement reconnaître la variété qui constitue un lot de blé ? ».

— Une **première partie** est consacrée à un bref rappel historique sur les méthodes proposées jusqu'ici pour identifier les variétés.

— Dans une **deuxième partie** nous exposons le principe d'un procédé tout différent, fondé sur la spécificité de l'hétérogénéité électrophorétique de certaines protéines du blé, procédé que nous considérons actuellement comme l'un des plus aptes à résoudre le problème posé.

— Dans une **troisième partie** nous examinons les résultats pratiques obtenus par cette dernière méthode et nous discutons des possibilités de son exploitation, de sa vulgarisation ainsi que des limites de ses réponses.

I. — METHODES ANTERIEUREMENT DECRITES POUR RECONNAITRE LES VARIETES DE BLES.

Le problème de l'identification des variétés, sous leur forme commerciale qu'est le grain, n'est pas nouveau. Plusieurs tentatives pour le résoudre ont été rapportées depuis plusieurs dizaines d'années. Les différents caractères utilisés à cette fin, dont la valeur systématique a été étudiée par REBISCHUNG et KARSKA (1952), peuvent être classés en trois catégories concernant respectivement la morphologie du grain, l'aspect et le développement de la plantule, les tests chimiques.

Parmi les caractères fondés sur la **morphologie du grain**, on peut citer : la couleur (roux ou blanc), la texture (farineux ou vitreux), le poids de 1.000 grains, les rapports : largeur du grain / longueur du grain, longueur du scutellum / longueur du grain, longueur de la brosse / longueur du grain,...

D'après l'**examen de la plantule**, on connaît : la pilosité de la première feuille, le port des 3 premières feuilles, la coloration du coléoptile en lumière artificielle (qui traduit des différences de pigmentations anthocyaniques : vert, rose-rouge, pourpre), la résistance aux insecticides et herbicides (dont la réponse est différente selon la variété).

Pour ce qui est des **tests chimiques**, on utilise essentiellement le test à l'acide phénique qui donne, selon la variété, un résultat échelonné entre le noir et le très peu coloré en passant par différentes nuances de brun.

La connaissance de ces différents critères est évidemment fort intéressante et d'ailleurs, l'emploi

(1) Exposé présenté le 24 mai 1973 à la Bibliothèque de Massy, à l'occasion de l'Assemblée Générale de l'Association des Chimistes, Cadres et Ingénieurs des Industries Agricoles et Alimentaires (A.C.I.A.).

parallèle de plusieurs d'entre eux permet théoriquement, au moyen de clés de détermination, de retrouver une variété. Néanmoins, ces tests présentent plusieurs types d'inconvénients :

— Pour certains d'entre eux, le temps de réponse est élevé : plusieurs jours ou plusieurs semaines pour les examens de la plantule.

— Dans la plupart des cas, la spécificité est faible : on ne distingue souvent que des classes de variétés et non des variétés uniques. Cela conduit à ne pouvoir formuler que des réponses négatives, telles que : « Tel lot n'est pas du Cappelle, mais on ignore sa variété », ou bien : « Tel lot appartient à la même classe que Cappelle, mais il n'est pas certain que ce soit Cappelle ».

— En outre, ce qui est plus grave, contrairement aux variétés anciennes qui donnaient des réponses assez diversifiées, de nombreuses variétés nouvelles répondent de façon similaire à certains tests.

— Enfin, on note une dépendance parfois très forte à l'égard des facteurs externes (c'est-à-dire le lieu de culture, l'année, le type de fertilisation, etc...). C'est le cas notamment des mensurations du grain et du poids de 1.000 grains. En raison de tout ceci, la vulgarisation des méthodes d'identification variétale n'est pas apparue possible, de sorte que l'utilisation des tests cités reste encore l'affaire de spécialistes. D'où la nécessité de proposer de nouvelles techniques, fondées sur des principes différents et ne possédant pas la plupart des défauts inhérents aux premières méthodes.

Précisément, le procédé que nous décrivons ci-dessous apparaît à la fois rapide, relativement simple, très spécifique et totalement indépendant des facteurs externes, car fondé sur un caractère génétiquement stable. Ce caractère n'est autre que la spécificité de l'hétérogénéité électrophorétique de certaines protéines et tout particulièrement, d'une fraction du gluten : la gliadine.

II. — POSSIBILITES D'IDENTIFICATION VARIETALE AU MOYEN DE L'HETEROGENEITE ELECTROPHORETIQUE DES GLIADINES DU BLE.

Rappelons que l'électrophorèse est une technique de séparation des différents constituants d'un mélange de protéines, sur la base de leur charge électrique et de leur encombrement moléculaire. Ainsi, à partir de protéines naturelles comme, chez le blé, l'albumine ou la gliadine (qui sont, en fait, des mélanges d'espèces moléculaires différentes), on obtient un diagramme de fractionnement sur lequel chaque bande représente, en principe, une espèce moléculaire déterminée.

L'hétérogénéité électrophorétique ainsi mise en évidence, peut être, selon les protéines considérées, plus ou moins spécifique.

On connaît ainsi des **protéines non spécifiques** telles que le cytochrome c ou l'histone IV. La **figure 1** fournit ainsi, dans le cas du blé, l'exemple d'un tel type de protéine : l'histone de germe. Entre les 6 variétés examinées, aucune différence n'apparaît (AUTRAN et BOURDET, 1971). On sait même que certains des composants de cette histone sont pratiquement identiques, qu'il s'agisse du sérum humain, du foie de rat ou de la racine de pois.

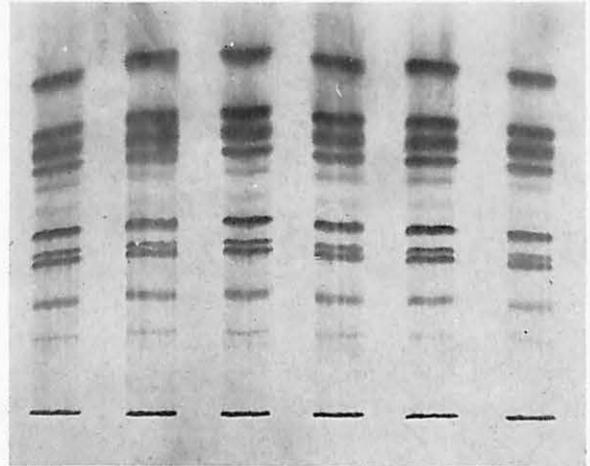


Fig. 1

Exemple de protéine non spécifique : l'histone de germe. Diagrammes électrophorétiques (gel de polyacrylamide) des histones isolées de 6 variétés de blé.

Il existe certaines **protéines dont l'hétérogénéité est fonction de l'espèce**. Les « protéines solubles » des blés (albumines-globulines) entrent dans cette catégorie. Elles permettent de distinguer les blés tendres des blés durs (PENCE et al., 1954 ; FEILLET et BOURDET, 1967 ; FEILLET et KOBREHEL, 1972), mais non pas de différencier les variétés d'une même espèce.

On connaît enfin le cas plus rare de **protéines dont l'hétérogénéité est fonction de la variété**. C'est évidemment le type qui apparaît le plus intéressant pour résoudre le problème d'identification variétale. Chez les céréales, de telles protéines existent : ce sont les prolamines (appelées gliadines, dans le cas du blé), que l'on définit à partir de leur caractère de solubilité dans les alcools dilués.

Ce sont des équipes américaines (ELTON et EWART, 1962), anglaises (COULSON et SIM, 1961) et australiennes (LEE et WRIGLEY, 1963) qui ont démontré, voilà plus de 10 ans, que ces gliadines

présentent en électrophorèse une hétérogénéité de type variétal. En France, dès 1963, BOURDET et FEILLET publiaient une note précisant ce caractère au niveau des blés français et signalaient déjà les possibilités intéressantes apportées par l'électrophorèse pour caractériser les variétés.

La figure 2 donne ainsi un exemple des fractionnements obtenus régulièrement au laboratoire et montrant les différences à la fois quantitatives et qualitatives entre les diagrammes de quelques variétés. Pour obtenir ces diagrammes, les conditions expérimentales sont, avec de légères modifications, celles retenues par FEILLET (1965). Elles consistent simplement :

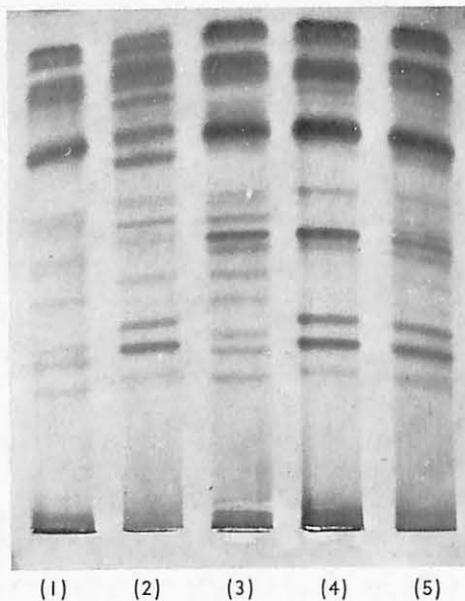


Fig. 2

Diagrammes électrophorétiques (gel d'amidon) des gliadines de 5 variétés de blés tendres : (1) César ; (2) Régulus ; (3) Boulo ; (4) Flinor ; (5) Péguy.

1) En une extraction directe à partir d'une faible quantité de grain broyé ou de farine (1 gramme ou moins, si nécessaire ; 1 grain à la limite), d'une fraction contenant la totalité des gliadines, au moyen d'éthanol dilué ou de glycol monochlorhydrine.

2) En une électrophorèse en gel d'amidon, tampon lactate d'aluminium, urée 0,5 M, pH 3,2 et coloration des protéines par la nigrosine en milieu trichloracétique. La migration obtenue est de l'ordre de 15 cm en 4 h 30 et 16 à 21 composants sont révélés, selon les variétés.

La durée totale des opérations est d'environ 7 heures et le résultat est lisible après 24 heures.

Il a été confirmé que les diagrammes obtenus constituent un caractère génétiquement stable. Ainsi, par exemple, la figure 3 met en évidence l'absence totale d'influence du traitement azoté. On a montré de même, que le lieu de culture, l'année,... ne modifie en rien le diagramme gliadine, ce qui autorise l'utilisation de ce dernier pour caractériser véritablement une variété.

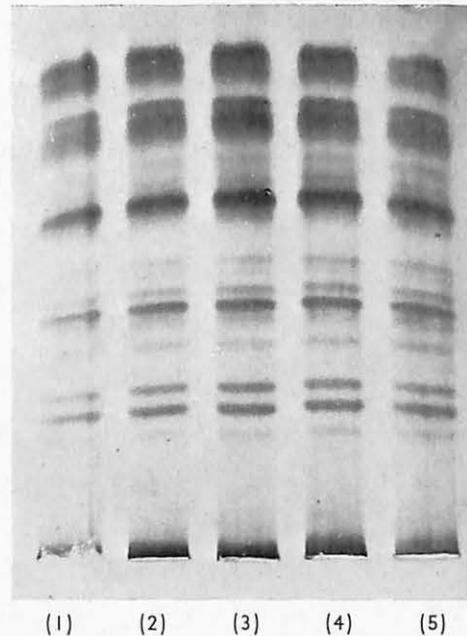


Fig. 3

Absence d'influence du traitement azoté sur le diagramme des gliadines ; variété Capitole, (1) et (5) témoin non traité ; (2) 100 unités azote ; (3) 150 unités azote ; (4) 200 unités azote.

Cependant, si ces renseignements étaient depuis longtemps plus ou moins connus, s'il était permis de constater des différences variétales, la question qui demeurait posée était celle de leur exploitation à des fins pratiques. En fait, on ne savait pas vraiment utiliser les données de l'électrophorèse en raison, d'une part, de la grande complexité des diagrammes et d'autre part, des fluctuations d'ordre expérimental dont on pouvait craindre qu'elles limitent parfois la signification des différences variétales.

Pour tenter de résoudre cette question et d'aboutir finalement à une caractérisation significative des variétés, nous avons choisi d'utiliser deux voies d'approche complémentaires :

Tout d'abord, il convenait de préciser davantage certaines conditions opératoires, notamment au niveau de la coloration des gels, afin d'améliorer la qualité et la reproductibilité des diagrammes. Dans ces conditions, il est devenu possible d'établir pour chaque variété un diagramme gliadine type (en effectuant la moyenne de plusieurs répétitions), qui rend compte de la mobilité des différents composants et de leur concentration relative obtenue par densitométrie.

Dans un second temps, ce diagramme-type a été schématisé (figure 4) en exprimant les concentrations relatives sous la forme d'un nombre de croix : 0, tr., +, ++, +++ et en convenant qu'il n'y aura de différence significative entre deux variétés que si l'écart est de 2 unités au moins, pour un composant donné. Par exemple 0 et +, ou tr. et ++, ou + et +++.

Interprétation du diagramme électrophorétique des gliadines

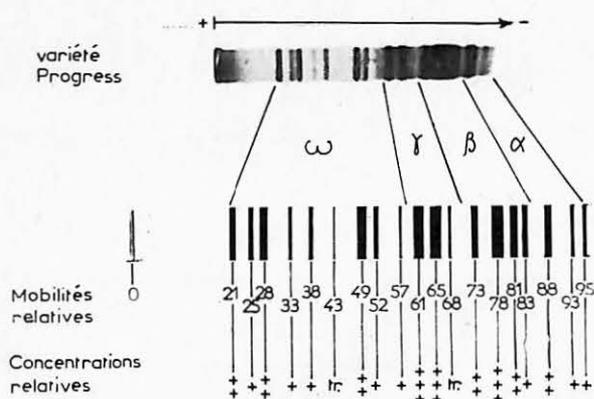


Fig. 4

Etablissement et schématisation du diagramme-type gliadine.

La figure 4 montre en outre, qu'au sein du diagramme de la gliadine totale, on a l'habitude de distinguer 4 régions : les alpha, bêta, gamma et oméga gliadines (WOYCHICK et al., 1961). L'interprétation peut alors être conduite soit sur le diagramme complet, soit (ce que nous avons choisi de faire généralement) en se limitant à la région des oméga-gliadines pour laquelle les différences variétales sont les plus nettes.

La figure 5, qui est ainsi limitée aux diagrammes-types oméga-gliadines, illustre la signification des différences variétales observées entre les 2 blés tendres Cappelle et Rex ainsi qu'entre les 2 blés durs Lakota et Oued-Zénati.

Il a été enfin possible (figure 6) de quantifier les ressemblances et les dissemblances entre les diagrammes, pris 2 à 2, au moyen d'un indice de

Mobilité relative		22	26	30	34	37	39	44	47	49	51	54	57
Blés tendres	Cappelle	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+
	Rex	+	+	+	0	0	0	+	+	+	0	0	+
Blés durs	Lakota	0	0	0	+	0	+	+	0	+	+	+	+
	Oued Zénati	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0	+	+

Fig. 5

Comparaison des diagrammes-types oméga gliadines de 4 variétés de blé : mise en évidence de différences significatives entre les deux blés tendres Cappelle et Rex, ainsi qu'entre les deux blés durs Lakota et Oued Zénati.

Aronde	Alys	Cappelle	Capitole	Champain	Etoile de Choisy	Florence Aurore	Moisson	Progress	Rex	
100	50	83	75	67	92	75	75	42	42	ARONDE
	100	67	75	67	67	83	67	33	50	ATYS
		100	100	92	100	92	100	58	67	CAPPELLE
			100	83	100	92	92	58	58	CAPITOLE
				100	75	58	92	33	75	CHAMPLAIN
					100	92	92	67	75	ETOILE DE CHOISY
						100	75	42	67	FLORENCE AURORE
							100	50	67	MOISSON
								100	42	PROGRESS
									100	REX

Fig. 6

Exemples d'indices de similarité entre les diagrammes électrophorétiques oméga gliadines de 10 variétés de blé tendre.

similarité inspiré de celui des travaux de DEDIO et al. (1969), sur les phénols du seigle : pour chaque composant, on compte une valeur de 1 point d'indice s'il y a identité entre les 2 diagrammes, ou 0 si la différence n'est pas significative, de 0 si la différence est significative. L'indice de similarité des diagrammes se calcule en additionnant les valeurs (1 ou 0) attribuées au niveau de chaque composant. Plus l'indice est faible (exemple : Rex et Aronde), plus la différenciation des 2 variétés est nette.

III. — RESULTATS UTILISABLES DANS LA PRACTIQUE — DISCUSSIONS.

Un premier résultat est la mise en évidence des différences majeures de constitution entre les gliadines de *T. aestivum* et de *T. durum*. La figure 7 qui présente les diagrammes de 1 blé tendre et de 7 blés durs montre que ces derniers peuvent être caractérisés notamment par l'absence de

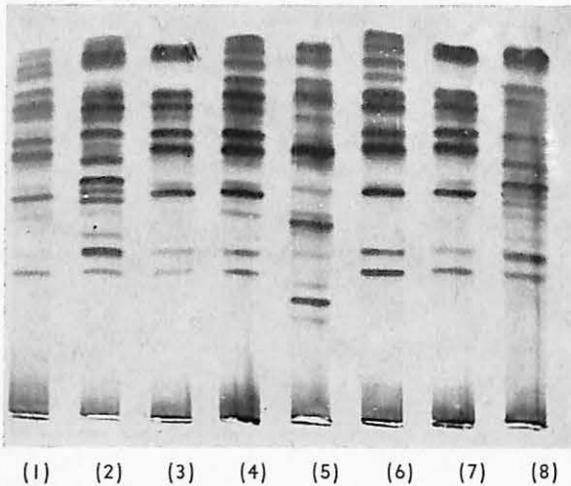


Fig. 7

Différences de constitution entre les gliadines de *T. aestivum* et de *T. durum* : (1) Montferrier ; (2) Lakota ; (3) Agathe ; (4) Bidi 17 ; (5) *T. aestivum* témoin, Cappelle ; (6) Oued Zénati ; (7) Semoulor ; (8) Lez.

3 constituants de faible mobilité, présents chez les blés tendres.

Au niveau des différentes variétés d'une même espèce, l'analyse des diagrammes et le calcul des indices de similarité mettent en évidence des différences dont on est maintenant assuré — c'est là le fait nouveau — qu'elles sont vraiment **significatives** dans nos conditions expérimentales et qu'on peut se fonder sur elles en vue d'une exploitation pratique.

L'examen de la **figure 8** permet de préciser cette idée. Il apparaît ainsi des différences très nettes

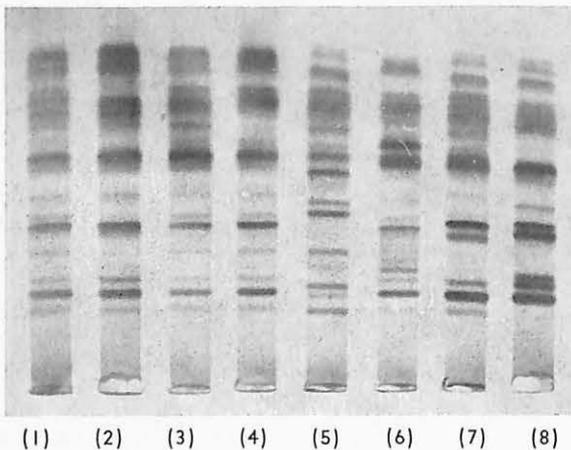


Fig. 8

Diagrammes électrophorétiques des gliadines de 8 variétés de blé tendre : (1) Joss ; (2) Champlain ; (3) Cappelle ; (4) Capitole ; (5) Progress ; (6) Aronde ; (7) Rex ; (8) Atys.

entre certains blés tels que Rex et Aronde, plus faibles entre d'autres blés, tels que Cappelle et Capitole. Cela s'explique par le fait que l'hétérogénéité des gliadines constitue un véritable marqueur génétique. La différenciation des variétés apparaît alors d'autant plus nette que celles-ci sont génétiquement plus éloignées. L'indice de similarité des diagrammes se trouve en effet en concordance avec le coefficient de parenté des blés.

On observe en particulier qu'une grande similarité des diagrammes apparaît au niveau d'un bon nombre de variétés françaises courantes (Cappelle, Capitole, Moisson, Joss, Ovest...). Ces considérations rejoignent celles formulées par l'agronome russe FLAKSBERGER (1935) sur la base de critères uniquement agronomiques et notamment la distinction d'un écotype « gallicum » au sein de l'espèce *T. aestivum*. Dès 1951 d'ailleurs, JONARD souligne que cette convergence ne peut être due à une action sélective du milieu, mais essentiellement à **l'emploi répété des mêmes géniteurs par les sélectionneurs français**. Cette relative homogénéité des blés d'hiver courants français qui ressort au niveau des diagrammes de leurs gliadines, rend donc parfois plus délicate la différenciation de certaines variétés et oblige à analyser le diagramme complet au lieu de se limiter à la région des oméga-gliadines. Inversement, lorsque la sélection française a fait appel à des géniteurs nouveaux — ce fut le cas pour créer des blés de printemps : Rex, Aronde, Progress, Atys... — on observe une plus grande différenciation électrophorétique.

Sur un plan strictement appliqué, ces études préliminaires montrent qu'il est possible, dès à présent :

— **de contrôler l'identité d'une variété présumée**, c'est-à-dire de répondre à la question : « Ce blé est-il bien (par exemple) de l'Etoile de Choisy ? ». La réponse fournie pourra ici, contrairement aux autres tests, être positive : « Oui, ce blé possède bien le diagramme d'Etoile de Choisy ».

— **d'identifier une variété inconnue**, soit par simple comparaison avec des diagrammes de blés témoins lorsque le lot de blé appartient à un groupe limité de variétés possibles (par exemple : blés d'une région donnée), soit à l'aide d'un tableau de détermination chimiotaxonomique dont la **figure 9** fournit une image volontairement simplifiée. Ce tableau montre comment, par simple cheminement dichotomique, on peut retrouver le nom de la variété à partir de la connaissance de la mobilité des composants présents.

Tout n'est pourtant pas résolu ainsi car ce qui précède s'applique à des lots de variétés pures. Le problème des mélanges, que nous étudions par

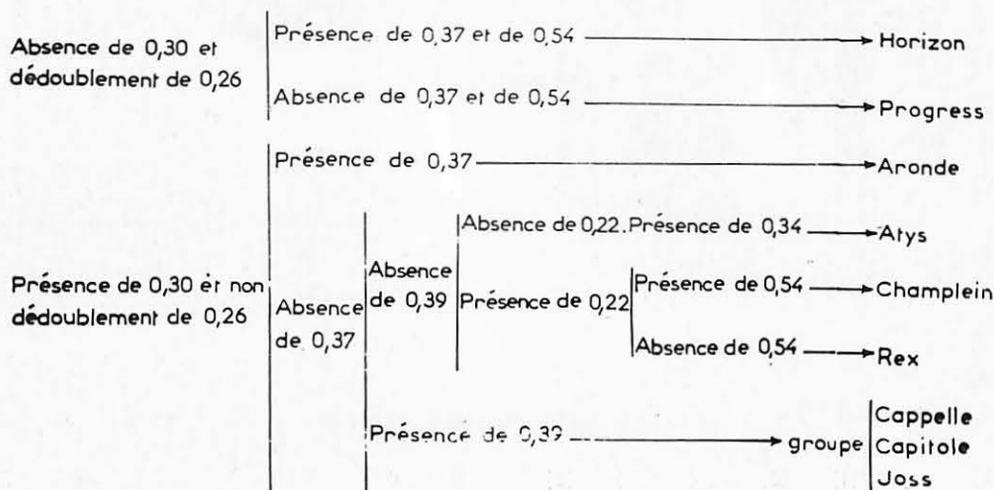


Fig 9

Exemple de tableau analytique permettant l'identification des variétés à partir du diagramme-type des oméga gliadines.

ailleurs (calcul du pourcentage de blé faible introduit dans un blé fort ou détermination du pourcentage de blé fort présent dans une farine améliorée), demeure beaucoup plus difficile à résoudre. Il est impossible d'y répondre actuellement.

CONCLUSION.

A partir de certaines connaissances fondamentales sur le fractionnement électrophorétique des gliadines, nous n'avons développé ici que l'aspect appliqué traitant de l'identification des variétés. D'autres problèmes que nous étudions parallèlement, tels que celui concernant les relations éventuelles entre l'hétérogénéité des gliadines et les propriétés technologiques, seront rapportés ultérieurement.

Par ailleurs, malgré la relative simplicité du mode opératoire décrit, il nous apparaîtrait souhaitable de vulgariser davantage la méthode, notamment en la transposant à des supports d'électrophorèse plus maniables que le gel d'amidon. Malheureusement, les essais effectués dans ce sens avec le polyacrylamide (figure 10), les supports commerciaux tels que l'acétate de cellulose ou l'acrylamide-agarose n'ont pas conduit jusqu'à ce jour, dans le cas des gliadines, à des résolutions aussi élevées que le gel d'amidon. Dans l'état actuel des choses, il semble donc préférable pour les utilisateurs éventuels, de confier les analyses à un laboratoire de recherches, en attendant que la méthode soit applicable au niveau du simple contrôle.

D'autre part, si nous avons voulu montrer l'intérêt et les possibilités offertes par l'hétérogénéité élec-

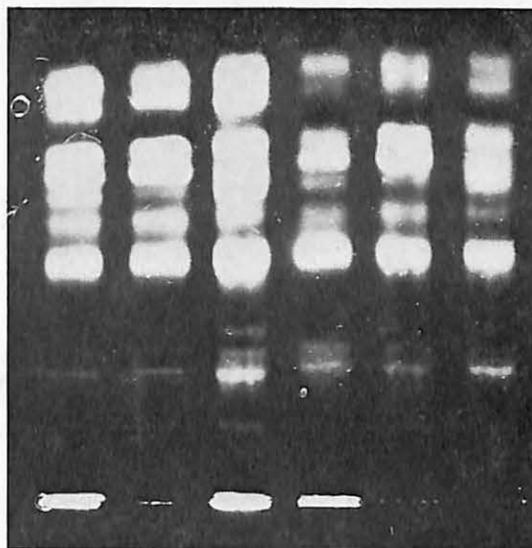


Fig. 10

Exemple de fractionnement électrophorétique des gliadines en gel de polyacrylamide (tampon acétate avec simple fixation trichloracétique des protéines, sans coloration).

trophorétique des gliadines, cela n'implique pas pour autant un emploi exclusif de cette méthode. Il est en effet concevable, dans certains cas, de l'associer à des procédés complémentaires tels que certains tests classiques, l'hétérogénéité d'autres protéines et enzymes et ultérieurement, les réactions immunochimiques dont le temps de réponse pourrait être particulièrement court.

On peut enfin espérer que, grâce à cette nouvelle possibilité de contrôle des variétés, le travail présenté ici favorisera le développement des échanges de lots de blés de variétés connues et contribuera ainsi à assurer l'approvisionnement des industries en qualités de blés mieux définies.

BIBLIOGRAPHIE

- AUTRAN J.-C., BOURDET A., 1971. Constitution électrophorétique des histones de germes de différents types de blés. C.R. Acad. Sc. Paris, 272, 2732-2735.
- BOURDET A., FEILLET P., METTAVANT F., 1963. Sur le comportement électrophorétique des prolamines du blé en gel d'amidon. C.R. Acad. Sc. Paris, 256, 4517-4520.
- COULSON C.B., SIM A.K., 1961. Starch gel electrophoresis of isolated wheat gluten. Biochem. J., 80, 46-47.
- DEDIO W., KALTSIKES P.J., LARTER E.N., 1969. Numerical chemotaxonomy in the genus *Secale*. Can. J. Bot., 47, 1175-1180.
- ELTON G.A.H., EWART J.A.D., 1962. Starch gel electrophoresis of cereal proteins. J. Sci. Food Agric., 13, 1, 62-72.
- FEILLET P., 1965. Contribution à l'étude des protéines du blé. Influence des facteurs génétiques agronomiques et technologiques. Ann. Technol. agric., 14, HS 1, 1-94.
- FEILLET P., BOURDET A., 1967. Composition protéique et caractéristiques génétiques des blés. Bull. Soc. Chim. Biol., 49, 10, 1273-1283.
- FEILLET P., KOBREHEL K., 1972. Recherche et dosage des produits de blé tendre dans les pâtes alimentaires par électrophorèse des protéines solubles. Ann. Technol. agric., 21, 1, 17-24.
- FLAKSBERGER 1935. Les blés. Monographie. Moscou-Lénin-grad.
- JONARD P., 1951. Les blés tendres cultivés en France. Ed. INRA. Paris.
- LEE J.W., WRIGLEY C.W., 1963. The protein composition of gluten extracted from different wheats. Aust. J. Exptl. Agr. Animal Husbandry, 3, 9, 85-88.
- PENCE J.W., WEINSTEIN N.E., MECHAM D.K., 1954. Differences in the distribution of components in albumen preparations from durum and common wheat flours. Cereal Chem., 31, 396-406.
- REBISCHUNG J., KARSKA K., 1952. Etude de la valeur systématique de quelques caractères observables sur le grain et les plantules de blé tendre. Ann. Amélior. Plantes, 1, 1-30.
- WOYCHICK J.H., BOUNDY J.A., DIMLER R.J., 1961. Starch gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea. Arch. Biochem. Biophys., 94, 477-482.
-

JUIL.-AOUT 1973 - N° 256



BULLETIN

DES ANCIENS ÉLÈVES

DE L'ÉCOLE DE MEUNERIE

ENSMIC

Ecole Nationale Supérieure de Meunerie et des Industries Céréalières