

Exposé à
la journée de
C'ACIA
MASSY 24 Mai 1973

L'identification des variétés de blés
par Jean-Claude AUTRAN

Exposé intégral
26/5/73 P-73-D

Public → Bull. EFM, 256,
163-169

Depuis quelques années, la production et l'industrie de transformation des blés attribuent une importance croissante au facteur variétal, qu'elle considère comme l'un des meilleurs critères susceptibles de garantir un niveau donné de qualité. Une identification correcte, simple et rapide des principales variétés cultivées aiderait donc grandement au classement qualitatif des récoltes et à l'approvisionnement des industriels en ^{blés de} qualités de blés définies.

Le ~~la~~ ~~la~~ présent expose ^{va} précisément ~~la~~ tenter de répondre à la question : " Peut-on, sait-on ^{actuellement} reconnaître la variété qui constitue un lot de blé ? ". Cet exposé sera donc construit selon le schéma suivant :

- Une première partie sera consacrée à un bref rappel historique sur les méthodes proposées jusqu'ici pour identifier les variétés
- Dans une deuxième partie, nous exposerons le principe d'un procédé tout différent fondé cette fois sur la spécificité de l'hétérogénéité électrophorétique de certaines protéines du grain de blé, procédé que nous considérons actuellement comme l'un des plus aptes à résoudre le problème posé.
- Dans une troisième partie enfin, nous examinerons les résultats pratiques obtenus par cette méthode et nous discuterons des possibilités de son exploitation, de sa vulgarisation ainsi que des limites de ses réponses.

1^{re} partie

Voyons donc pour commencer, quelles sont les méthodes anciennement décrites pour reconnaître les variétés de blés.

et plusieurs mois au point
Le problème n'est pas nouveau. Plusieurs tentatives pour le résoudre ^{REBEICUNG} ont été rapportées depuis plusieurs dizaines d'années. Les différents procédés signalés peuvent être classés en 3 catégories, faisant appel respectivement à des critères morphologiques, chimiques et physiologiques. Citons les rapidement, nous les commenterons ensuite globalement.

- parmi eux fondés sur la morphologie du grain, on peut retenir :

- la couleur (roux ou blanc), la texture (farineux ou vitreux), les mensurations (il existe des variétés de différentes tailles Rex est petit, charny, allongé; Marion, large). ~~notamment~~ le rapport L/l, le poids de 1000 grains ou encore la longueur de la brasse.

- pour ce qui est des tests chimiques, on connaît essentiellement le test au phénol (qui ^{selon la variété} donne une coloration allant du très peu coloré au noir en passant par diverses nuances de brun).

- d'après l'examen de la plante ou de la plantule:

• par exemple, la résistance aux insecticides et herbicides, dont la réponse est différente selon la variété.

• également, les caractères ^{de la plante} végétatifs et la morphologie de l'épi

• enfin, au niveau de la plantule:

- la pilosité de la 1^{re} ou de la 2^e feuille

- la coloration du coleoptile en lumière artificielle

(qui traduit des différences de pigmentation anthocyaniques: vert, rose-rouge, jaune).

La connaissance de ces différents critères est évidemment fort intéressante et d'ailleurs, l'emploi parallèle de plusieurs d'entre eux permet théoriquement, en procédant à une ^{de} ^{dé} ^{d'} ^{inter} ^{min} ^{ation} analyse dichotomique, de retrouver une variété. Mais les tests que nous venons de citer présentent plusieurs types d'inconvénients:

- pour certains, le temps de réponse est élevé (plusieurs mois pour les essais en champ, plusieurs jours ou plusieurs semaines pour l'observation de la plantule)

- d'autre part, une faible spécificité: dans la plupart des cas on ne distingue que des classes de variétés et non des variétés uniques (cas du test phénol), ce qui conduit à ne pouvoir fournir que des réponses négatives (par exemple: tel lot n'est pas du Caffell, mais sans pouvoir préciser davantage). En outre, ce qui est plus grave, contrairement aux variétés anciennes qui donnent des réponses assez diversifiées, de nombreuses variétés nouvelles répondent de façon similaire à certains tests.

- enfin, d'un dépendance parfois très forte à l'égard des facteurs externes, ^{particuli} ^{er} ^{cas} des mesurations du grain, du poids de 1000 grains). ^{inconvénient}

En raison de tout ceci, la vulgarisation des méthodes d'identification variétale n'est pas apparue possible, de sorte que l'utilisation des tests précédents reste ^{encore} l'affaire de spécialistes. D'où la nécessité de proposer une nouvelle technique fondée sur un principe très différent et ne possédant pas la plupart des défauts inhérents aux anciennes méthodes.

Nous allons voir en effet, que le procédé proposé ci-dessous ~~est~~ est à la fois rapide, relativement simple, très spécifique et totalement indépendant des facteurs externes car fondé sur un caractère génétiquement stable.

Le caractère n'est autre que la spécificité de l'hétérogénéité électrophorétique de certains protéines et tout particulièrement, d'une fraction du gluten : la gliadine. 3

2^e partie :

Il nous paraît inutile de revenir en détail sur la technique d'électrophorèse après l'exposé très clair de NICOLAS sur ce sujet.

Disons seulement, pour mémoire, que l'électrophorèse est une méthode de séparation des différents constituants d'un mélange de protéines, sur la base de la charge électrique et de l'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 (exemple de certaines protéines fonctionnelles, comme le cytochrome c ou les histones III et IV ;

① le cliché 1 fournit un exemple d'une protéine non spécifique : l'histone : ici isolée du germe de blé. Certains de ses composants apparaissent pratiquement identiques qu'il s'agisse du sérum humain, du foie de rat, du germe de blé ou de la racine de petit pois).

- on connaît certaines protéines dont l'hétérogénéité est fonction de l'espèce. (exemple des protéines solubles des blés qui permettent de différencier les blés tendres des blés durs comme l'ont montré les travaux de FEILLET), mais pas de différencier les variétés.

- on connaît enfin, et c'est bien plus rare, des protéines dont l'hétérogénéité est de type variétal. Ce sont ces dernières qui apparaissent bien évidemment intéressantes pour identifier les variétés.

or, Des protéines de ce dernier type existent justement chez les céréales : ce sont les prolamines, qui dans le cas du blé sont appelées gliadines, et que l'on définit à partir de leur caractère de solubilité dans les alcools dilués.

~~En fait depuis plus de 10 ans, grâce aux travaux de équipes américaines, anglaises (notamment LEE, COULSON, ELTON, et d'autres)~~

Le sont des équipes australiennes, américaines, anglaises (notamment LEE, COULSON, ELTON et d'autres) qui ont démontré voilà plus de 10 ans que ces gliadines présentent en électrophorèse, une hétérogénéité de type varietal. En France, dès 1963, BOURDET et FEILLET publiaient une note précisant ce caractère au niveau des blés français et signalaient déjà les possibilités intéressantes offertes par l'électrophorèse des gliadines en gel d'amidon pour caractériser les variétés, résultats qui devaient être encore précisés par FEILLET dans les années 1965 et 1967.

2

Voici d'ailleurs un exemple ^{cliché 2} des fractionnements que nous obtenons régulièrement au laboratoire et qui montre l'hétérogénéité de type varietal des gliadines de blé. (Qualité ou quantité)

Comment obtenir ce type de diagramme? ^{En fait dire comment} des conditions expérimentales retenues, qui sont avec de légères modifications, celles retenues par FEILLET en 1965, sont simples: elles consistent

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

2) en une électrophorèse en gel d'amidon, tampon lactate d'Al, acide 0,5M, pH 3,2 et coloration des protéines par la nigrosine en milieu trichloracétique. La migration obtenue est de l'ordre de 15cm en 4h30 et 16 à 21 composants sont révélés selon les variétés.

Au total, les opérations durent environ 7 heures et le résultat est lisible et exploitable après moins de 24 heures.

Il a été confirmé que les diagrammes ainsi obtenus constituent un caractère génétiquement stable. La figure 3 montre par exemple

l'absence totale d'influence du traitement azoté.

Cependant, si tous renseignements étaient plus en main connus depuis longtemps, si l'on constatait des différences variétales,

la question qui devenait posée était celle de leur exploitation à des fins pratiques. On ne savait pas ^{en fait,} ^{réellement} utiliser les données de l'électrophorèse

en raison notamment de la complexité des diagrammes et de fluctuations d'ordre expérimental apparaissant parfois.

3

Sous tente de résoudre cette question et aboutir finalement à caractériser significativement les variétés, nous avons alors utilisé les voies d'approche complémentaires suivantes :

Tout d'abord, il convenait de préciser davantage certaines conditions opératoires afin de réduire les différences expérimentales. Il est alors devenu possible d'établir pour chaque variété, un diagramme gliadine type (en effectuant la moyenne de plusieurs répétitions), diagramme-type qui prend compte de la mobilité des différents composants et de leurs concentrations relatives obtenue par densitométrie

④ Ce diagramme type a ensuite été schématisé (photo 4) en exprimant les concentrations relatives sous forme d'un nombre de traits

0, tr., +, ++, +++

et en convenant qu'il n'y a de différence ^{entre 2 variétés} significative que si pour un même composant l'écart est de 2 unités ^{de concentration} ou plus : c-à-d 0 et +, + et ++.

La figure 4 montre en outre qu'au sein du diagramme de la gliadine totale on a l'habitude de distinguer 4 régions : α , β , γ et ω gliadines ^{selon WOSCIK}.

L'interprétation peut être conduite soit sur le diagramme complet, soit ce que nous avons choisi de faire généralement, en se limitant à la région des ω -gliadines pour laquelle les différences variétales sont les plus nettes (et la répétabilité meilleure).

⑤ La figure 5, qui est limitée ^{ainsi} aux diagrammes types ^{aux ω -gliadines}, illustre la signification des différences variétales entre 2 blés tendres : Caffette et Rex ainsi qu'entre 2 blés durs : Lakota et Oued Zénata.

⑥ Enfin ^{figure 6} nous avons quantifié les ressemblances et les dissimilitudes entre les diagrammes au moyen d'un indice de similarité, inspiré de celui des travaux de DEDIO et coll. sur les phénotypes de seigle (Figure 6) [Pour chaque composant on compte soit +1 s'il y a identité entre les 2 diagrammes, ou si la différence n'est pas significative, de 0 par si la différence est significative. L'indice de similarité de diagramme est la somme des valeurs attribuées à chaque composant.]

Plus l'indice de similarité est faible (ex : Rex et Aronde) plus la différenciation des 2 variétés est nette. Inversement, lorsque l'indice vaut 100, cela signifie que les diagrammes, ou bien les régions explorées des diagrammes, apparaissent voisines ou identiques.

Cette méthodologie étant définie, examinons maintenant dans notre 3^e partie quels sont les résultats qui ressortent de l'étude entreprise et quelles sont les données susceptibles d'être utilisées dans la pratique.

3^e partie :

(7)

Un premier résultat est la mise en évidence de différences majeures de constitution entre les blés durs et les blés tendres. La figure 7, qui présente les diagrammes de 7 blés durs et de 1 blé tendre montre que les blés tendres peuvent être caractérisés, entre autres, par la présence de 3 constituants de faible mobilité absents chez les blés durs. C'est un 1^{er} exemple.

(abs. gl.)
Au niveau des différentes variétés de blés tendres, l'analyse des diagrammes et le calcul des indices de similarité met en évidence des différences dont on est maintenant assuré, c'est là le fait nouveau, qu'elles sont vraiment significatives, dans nos conditions expérimentales on peut conclure sur elle sans en tirer les conclusions.

(8) ou (2)

Il est illustré ces propres nous résumons sur un cliché (figure 8) plutôt que sur un tableau de chiffres.

La figure met en évidence des différences très nettes : entre certains blés, Rex-Aronds et différences faibles entre d'autres blés Copille - Capitale. Cela s'explique car l'hétérogénéité des gliadines est un caractère génétique, la constitution du diagramme est un caractère génétique. La différenciation des variétés apparaît ainsi d'autant plus nette que celles-ci sont génétiquement plus éloignées. L'indice de similarité des diagrammes est donc en concordance avec le coefficient de parenté génétique.

Nous observons qu'une grande similarité des diagrammes apparaît au niveau d'un bon nombre de variétés françaises courantes. Ces considérations rejoignent celles formulées dès 1935 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 Triticum aestivum. Dès 1951 d'ailleurs, JONARD soulignait que cette convergence n'est pas 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 apparaît au niveau des diagrammes de leurs gliadines, rend parfois plus délicate la différenciation des variétés et oblige à analyser le diagramme complet au lieu de se limiter à la région des gliadines.

Néanmoins, jusqu'à ce jour, toutes les variétés ^{de blé tendres} américaines sont apparues significativement différentes.

Inversement, lorsque la sélection française a fait appel à des géniteurs nouveaux, et c'est le cas notamment de blé de printemps REX, GRANDE, PROGRESS, ATYS, on observe une plus grande différenciation électrophorétique.

Sur un plan strictement appliqué ces études préliminaires montrent qu'il apparaît 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'Étoile de Chaisy ? ". La réponse fournie, ce qui n'était pas le cas pour les autres tests comme le test phéol, pourra être ici positive " oui, ce blé possède bien le diagramme d'étoile de Chaisy ".

- 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 (exemple : blé d'une région donnée)

• soit à l'aide d'un tableau de détermination

chimiotaxonomique dont la figure 9 fournit une image ^{volontairement} simplifiée.

À partir de la connaissance de la mobilité des composants, il apparaît possible de déterminer le nom de la variété par un simple cheminement dichotomique.

Tout n'est pourtant pas résolu ainsi car ce qui vient d'être dit s'applique à des lots de variétés pures. Le problème des mélanges, que nous étudions par ailleurs, notamment le casuel du pourcentage de blé faible tel Joss ou Champleau dans un blé fort tel que REX, ou encore la détermination du % de blé fort présent dans une farine américaine, tout ceci demeure beaucoup plus difficile à résoudre. Nous ne pouvons ^{pas} y répondre strictement.

En conclusion de cet exposé, qu'il nous soit permis de souligner, que pour tenter de résoudre un problème essentiellement appliqué comme celui-ci, et comme beaucoup d'autres, ^{non v. agars} qu'il est parfois indispensable de faire appel à des connaissances typiquement fondamentales.

Par ailleurs, malgré la relative simplicité du mode opératoire décrit, il nous apparaîtrait souhaitable de vulgariser davantage la méthode, notamment en la transplantant à des supports d'électrophorèse plus maniables que le gel d'amidon.

Malheureusement, les essais effectués dans ce sens, avec le PAGE, les supports commerciaux

(10) tels que l'acrylamide agarose ou l'acétate de cellulose Figure 10, n'ont pas conduit, jusqu'à ce jour et pour ce qui est toujours des gliadines, à des résolutions aussi élevées que le gel d'amidon. Pour ce qui est de l'électrophorèse (WRAGEN) les résultats sont meilleurs mais restent à confirmer

Dans l'état actuel des choses, il semble donc préférable pour les utilisateurs, éventuels, de confier le travail à un laboratoire de recherche, 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 électrophorétique des gliadines, cela ne signifie pas pour autant un emploi exclusif de cette méthode. Il est en effet concevable de la combiner avec d'autres procédés complémentaires tels que certains tests classiques tels que l'hétérogénéité d'autres protéines comme des enzymes et ultérieurement avec des réactions immunochimiques dont le temps de réponse pourrait être particulièrement rapide.

|| PB relative qualité - diag. électrophorétique

Nous espérons enfin que, grâce à cette nouvelle possibilité de contrôler la variété, le travail présenté ici favorisera le développement des échanges de blé à la variété, de lots de blés de variétés déterminées et aura ainsi contribué à assurer l'approvisionnement de l'industrie en qualités de blés mieux définies.

ici aspect technique
autres PB