

BLES HEXAPLOIDES, BLES TETRAPLOIDES ET ESPECES SAUVAGES
 ETUDE COMPAREE DE LEUR COMPOSITION PROTEIQUE ET DE L'HETEROGENEITE
 ELECTROPHORETIQUE DE CERTAINES FRACTIONS

J.C. AUTRAN, B. FLEURY, P. JOUDRIER ET A. BOURDET

INTRODUCTION

Les activités du Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés ont pour but d'améliorer la valeur d'utilisation des blés tendres en intervenant notamment au niveau de la sélection des variétés. Dans ce cadre général, les recherches relatives aux protéines et aux enzymes occupent une place prépondérante que justifient à la fois la spécificité biologique et l'importance technologique de ces composés.

La réalisation de ce programme implique également différentes recherches plus fondamentales concernant, par exemple, la phylogénèse des blés cultivés, le déterminisme génétique de certaines fractions protéiques, la caractérisation biochimique des espèces, des variétés et des génomes, les relations, directes ou indirectes, entre les données biochimiques, d'une part, technologiques ou agronomiques, d'autre part.

De telles études de biochimie génétique élémentaire ont ainsi permis d'aborder la question des relations entre la constitution de certaines protéines et enzymes du grain et les variétés, espèces ou genres détenteurs des génomes A, B et D. Cela a conduit tout particulièrement à comparer les blés tendres (hexaploïdes ABD) aux blés durs (tétraploïdes AB) et à l'espèce sauvage diploïde *Aegilops squarrosa* détentrice du génome D.

Compte tenu de l'étendue des problèmes soulevés et du grand nombre de recherches antérieures dans ce domaine, le compte rendu de l'état actuel des travaux du laboratoire, que nous présentons ici, est limité à quatre thèmes précis dont voici la liste et les justifications :

1. Composition quantitative en groupes protéiques (protéines solubles, prolamines et glutélines).

Certaines caractéristiques de la composition quantitative en groupes protéiques semblent détenir, chez les blés tendres, une signification technologique (BOURDET, 1966 ; BOURDET, BERRIER et AUTRAN, 1972). Il est donc intéressant d'analyser, de ce point de vue, différentes espèces et particulièrement le progéniteur diploïde *Aegilops squarrosa* afin de vérifier si la présence ou l'absence du génome D peut respectivement expliquer les compositions protéiques des blés tendres (ABD) et des blés durs (AB).

2. Responsabilité du génome D dans le zymogramme de la β -amylase libre du blé.

Le génome D a une influence sur les propriétés meunières et boulangères du blé tendre (WELSH, 1968 ; KERBER et TIPPLES, 1969) et un segment de chromosome responsable a même été identifié (KALTSIKES, 1968).

D'où l'intérêt de préciser le déterminisme génétique des β -amylases dont on connaît l'importance en panification, en recherchant tout d'abord les zones du zymogramme dont l'expression dépend du génome D.

3. Essai de caractérisation du génome D par certains composants électrophorétiques des protéines solubles (albumines - globulines).

En vue de contribuer à la connaissance de la phylogénèse des blés actuels, il s'agit de préciser, à partir d'analyses électrophorétiques, la responsabilité du génome D dans la synthèse des constituants albumines - globulines du grain. Ces fractions protéiques ont été retenues en raison de leur faible variabilité au plan variétal (FEILLET et BOURDET, 1967), caractère qui permet des comparaisons et des interprétations simples aux niveaux spécifique et génomique.

4. Constitution électrophorétique comparée des prolamines de blés tendres, de blés durs et d'*Aegilops squarrosa*.

Contrairement à l'hétérogénéité des protéines solubles qui est essentiellement de type spécifique, celle des prolamines dépend de la variété (ELTON et EWART, 1962 ; BOURDET, FEILLET et METTAVANT, 1963). Sur un plan appliqué, ces observations sont à l'étude pour permettre une identification biochimique des variétés de blé tendre (SOZINOV et POPERELLA, 1971 ; AUTRAN et BOURDET, 1973 ; 1974). D'où l'intérêt de poursuivre des recherches similaires au niveau des autres espèces et particulièrement des blés durs. En outre, si l'on parvient à surmonter les différences variétales, des comparaisons interspécifiques sont susceptibles de révéler des composants ou des groupes de composants marqueurs de génome.

I. MATERIEL D'ETUDE

Le matériel d'étude, commun aux différents thèmes de recherches abordés, est constitué de :

- 200 variétés de blé tendre : *Triticum aestivum* (D.) Thell., ssp *vulgare* (Vill.) d'origines géographiques très diverses : France, U.S.A., Canada, Mexique, U.R.S.S., Australie, Argentine, Indes, Egypte, ... On rappelle que ces blés sont hexaploïdes (génomés A, B, D) et proviennent du croisement naturel d'un blé tétraploïde (A, B) avec une espèce détentrice du génome D : *Aegilops squarrosa*.
- 30 variétés de blé dur : *Triticum durum* (*Triticum turgidum*) (L.) Thell., ssp *turgidum*, conv *durum* (Desf.), originaires de France, Italie, Tunisie, U.S.A., ... Ces blés sont tétraploïdes (A, B) et proviennent du croisement naturel d'une espèce diploïde de génome A (*Triticum boeoticum*) et d'une espèce diploïde de génome B qui n'a pas encore été identifiée avec certitude.
- 12 souches de l'espèce diploïde *Aegilops squarrosa* (D) reproduites en France par la Station I.N.R.A. d'Amélioration des Plantes de Versailles.

(1)

- 3 variétés tétraploïdes (A, B) préparées au Canada et dérivant des blés hexaploïdes (A, B, D) *Thatcher*, *Rescue* et *Prélude* après élimination du génome D.

II. METHODES EXPERIMENTALES

A. Détermination de la composition protéique des blés

On utilise une microméthode (prise d'essai : 1 gramme de grain broyé) de fractionnement par extraction différentielle fondée sur le principe d'OSBORNE (1907) mais utilisant les solvants suivants : NaCl 0,5 M (protéines solubles), glycol monochlorhydrine 25 % (prolamines). Le résidu final contient les glutélines (BOURDET, BERRIER et AUTRAN, 1972). Cette dernière fraction peut être subdivisée par traitement à la glycol monochlorhydrine 70 % en glutélines solubles et résiduelles (FLEURY, 1973).

B. Extraction, fractionnement et révélation spécifique des β -amylases

La forme soluble libre de la β -amylase est solubilisée à partir du grain broyé par simple contact dans la glycol monochlorhydrine 5 % - NaCl 0,05 M (JOURDRIER et BOURDET, 1972). Le fractionnement est réalisé en gel de polyacrylamide 7,5 % (tampon lactate d'Al., force ionique 0,050, pH 3,2) et les enzymes isodynamiques de la β -amylase sont révélées spécifiquement sous forme de bandes claires sur fond bleu-noir à l'aide d'une solution iodo-iodurée après incubation du gel à 40°C dans une solution d'amidon à 1 % (JOURDRIER, 1974).

C. Fractionnement des protéines solubles (albumines - globulines)

Les protéines solubles, extraites par une solution NaCl 0,5 M, sont fractionnées en gel de polyacrylamide 7,5 % (tampon lactate d'Al., force ionique 0,050 - urée 6 M, pH 3,6) préparé par polymérisation en milieu acide en présence de catalyseur TEMED. La révélation des bandes est réalisée par l'aniline blue-black (SILANO, 1971) dont la particularité est de colorer différemment les albumines (bleu) et les globulines (vert). Les composants sont repérés par leur mobilité relative, elle-même calculée à partir d'une bande majeure de la zone rapide des diagrammes.

D. Fractionnement des prolamines

Les prolamines, directement extraites du grain broyé par contact, une nuit, dans la glycol monochlorhydrine 25 %, sont fractionnées par électrophorèse en gel d'amidon. Les conditions (tampon lactate d'Al., force ionique 0,0045, urée 0,5 M, pH 3,2, coloration par la nigrosine en milieu trichloracétique) ont été précédemment décrites (FEILLET, 1965 ; AUTRAN, 1973). Les composants sont repérés par leur mobilité relative, la bande majeure γ -gliadine servant de témoin. Un schéma d'interprétation des diagrammes a été proposé (AUTRAN et BOURDET, 1973).

(1) aimablement fourni par le Dr BUSHUK, Université de Manitoba.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

A. Composition quantitative en groupes protéiques

Les comparaisons sont généralement peu significatives entre variétés d'une même espèce au niveau des teneurs en protéines totales car celles-ci sont fortement influencées par les conditions culturales. En revanche, l'analyse d'une partie de notre collection de progéniteurs a mis en évidence des écarts importants entre espèces de différentes ploïdies. Ainsi, en moyenne, les variétés diploïdes présentent toujours des teneurs en protéines plus élevées (*A. squarrosa* : 20,05 %) que les tétraploïdes (14,50 %) ou les hexaploïdes (13,25 %).

La composition en groupes protéiques semble encore plus caractéristique. Les analyses, jusqu'ici sur les 3 espèces suivantes : *T. aestivum* (8 variétés), *T. durum* (6 variétés), *A. squarrosa* (5 souches), sont rapportées ci-dessous en distinguant, d'une part, la répartition en protéines solubles, prolamines et glutélines, d'autre part, la solubilité des glutélines.

1 - Composition en protéines solubles, prolamines et glutélines

Comme le montre la figure 1, les taux de protéines solubles demeurent toujours inférieurs à ceux des prolamines et des glutélines et différencient peu les 3 espèces entre elles.

Les prolamines atteignent une proportion maximale (54,10 %) chez *A. squarrosa*, bien supérieure à celles trouvées chez *T. durum* et *T. aestivum* dont les taux respectifs (35,35 % et 37,30 %) diffèrent peu.

En revanche, les glutélines différencient plus sensiblement les 2 blés cultivés et l'espèce sauvage et on note que les espèces détentrices des génomes ABD et D sont moins riches en glutélines que les tétraploïdes AB. Le rapport glu./prol. est d'ailleurs beaucoup plus élevé chez *T. durum* (1,23) que chez *T. aestivum* (1,00) et que chez *A. squarrosa* (0,51).

Ces résultats tendent à montrer que l'évolution, qui a conduit à l'association du génome D d'*A. squarrosa* riche en prolamines au génome AB, ne se traduit pas par des différences sensibles entre les teneurs de ces protéines chez *T. durum* (AB) et *T. aestivum* (ABD). Il apparaît cependant une diminution du taux de glutélines en allant des blés durs (AB) aux blés tendres (ABD), qui s'explique peut-être par la faible proportion de glutélines observée chez *A. squarrosa*.

2 - Solubilité des glutélines

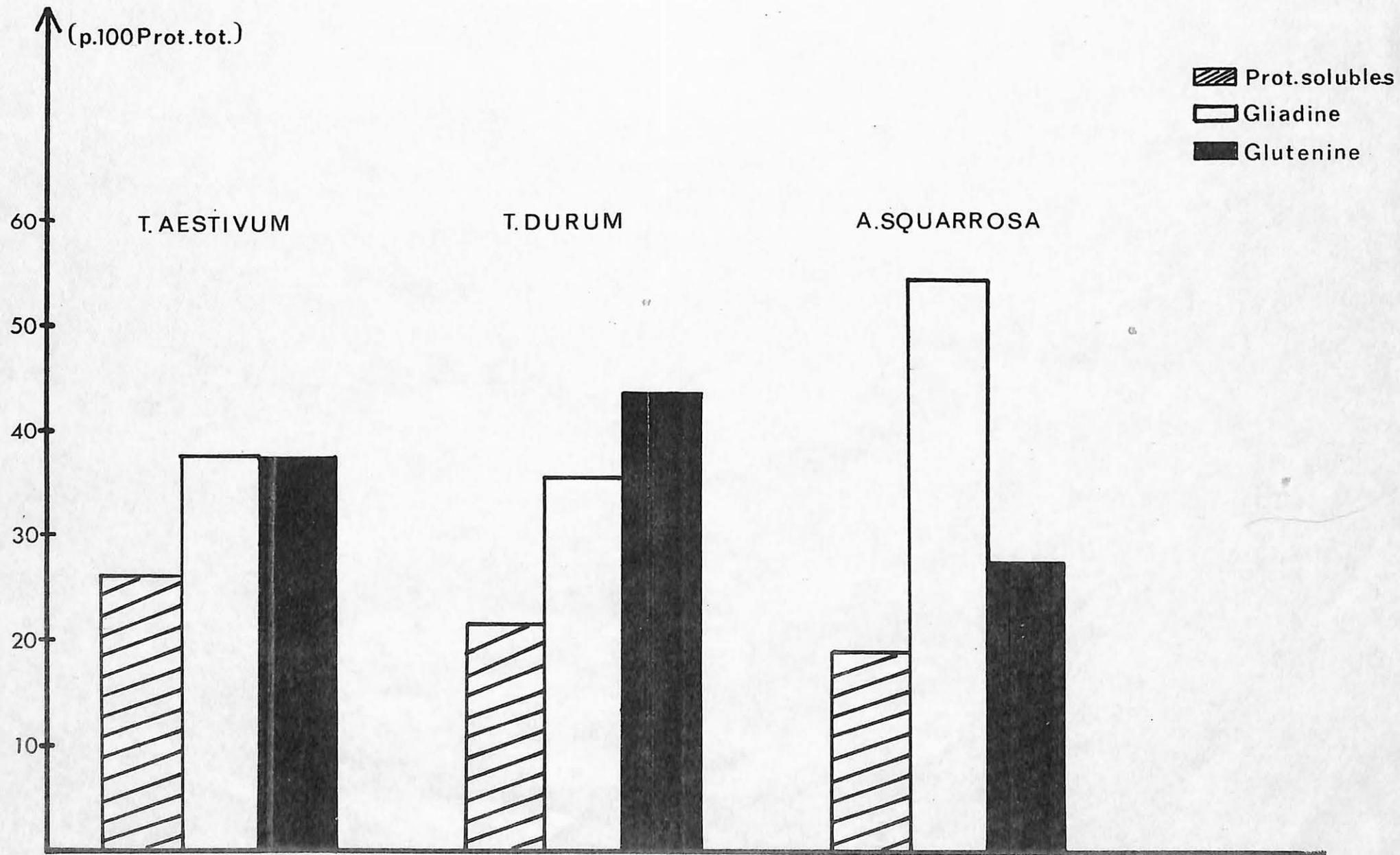
La fraction glutéline soluble dans la glycol monochlorhydrine 70 % apparaît beaucoup plus élevée chez *A. squarrosa* (56,75 %) que chez *T. durum* (38,30 %) et que chez *T. aestivum* (34,20 % en moyenne). Toutefois, chez cette dernière espèce, la dispersion variétale des résultats est très élevée : le taux est de 45,50 % chez les variétés de faible valeur boulangère, de 33,20 % chez les blés "moyens" et de 27,40 % seulement chez les blés "forts".

sol de Aes K
gluten
force →

← (" sol. en GMC 70 % → force ↓
blés forts : leur sol. en GMC 70 %
(sol. en macarons : → force →

CARACTERISTIQUES PROTEIQUES DE BLES CULTIVES ET D'UNE ESPECE SAUVAGE

Figure 1



Ainsi, comme le montre la figure 2, la solubilité des glutélines évolue entre les 3 espèces autrement qu'au sein des blés tendres où elle est minimale chez les variétés "fortes" toujours riches en glutélines. C'est ainsi que, chez les *T. durum*, la solubilité est plus importante que dans la moyenne des blés tendres "forts", malgré leur plus grande richesse en glutélines. Par contre, dans le cas des *T. aestivum* "faibles" et des *A. squarrosa*, on retrouve qu'au taux minimal de glutélines correspond la solubilité maximale.

Outre l'utilisation possible de la solubilité des glutélines comme microtest de qualité des blés tendres, on note donc que cette fraction protéique permet d'établir, tant par son importance globale que par sa solubilité, des rapprochements entre l'espèce diploïde D : *A. squarrosa* et les blés tendres hexaploïdes ABD, particulièrement en ce qui concerne ceux se révélant technologiquement les plus faibles.

B. Responsabilité du génome D dans le zymogramme de la β -amylase soluble libre du blé

La figure 3 fournit des exemples de zymogrammes de la β -amylase soluble libre du blé. On y observe 2 régions distinctes : l'une de faible mobilité (0 à 5,5 cm), l'autre, plus rapide (6,5 à 8,1 cm). C'est seulement sur cette dernière que repose l'interprétation qui suit.

Dans une étude antérieure portant sur 164 variétés de *T. aestivum* (JOURDIER, 1974), il a été montré que ces zymogrammes pouvaient être classés en 5 types distincts (I, II, III, IV, V) représentés sur la figure 3.

Les travaux rapportés ci-dessous, également limités à la fraction libre de l'enzyme, sont fondés sur la comparaison des blés tendres (ABD), des blés durs (AB) et du progéniteur diploïde (D) *A. squarrosa* ; ils ont cette fois pour objet de préciser la part de responsabilité du génome D dans la présence des différentes enzymes isodynamiques observées.

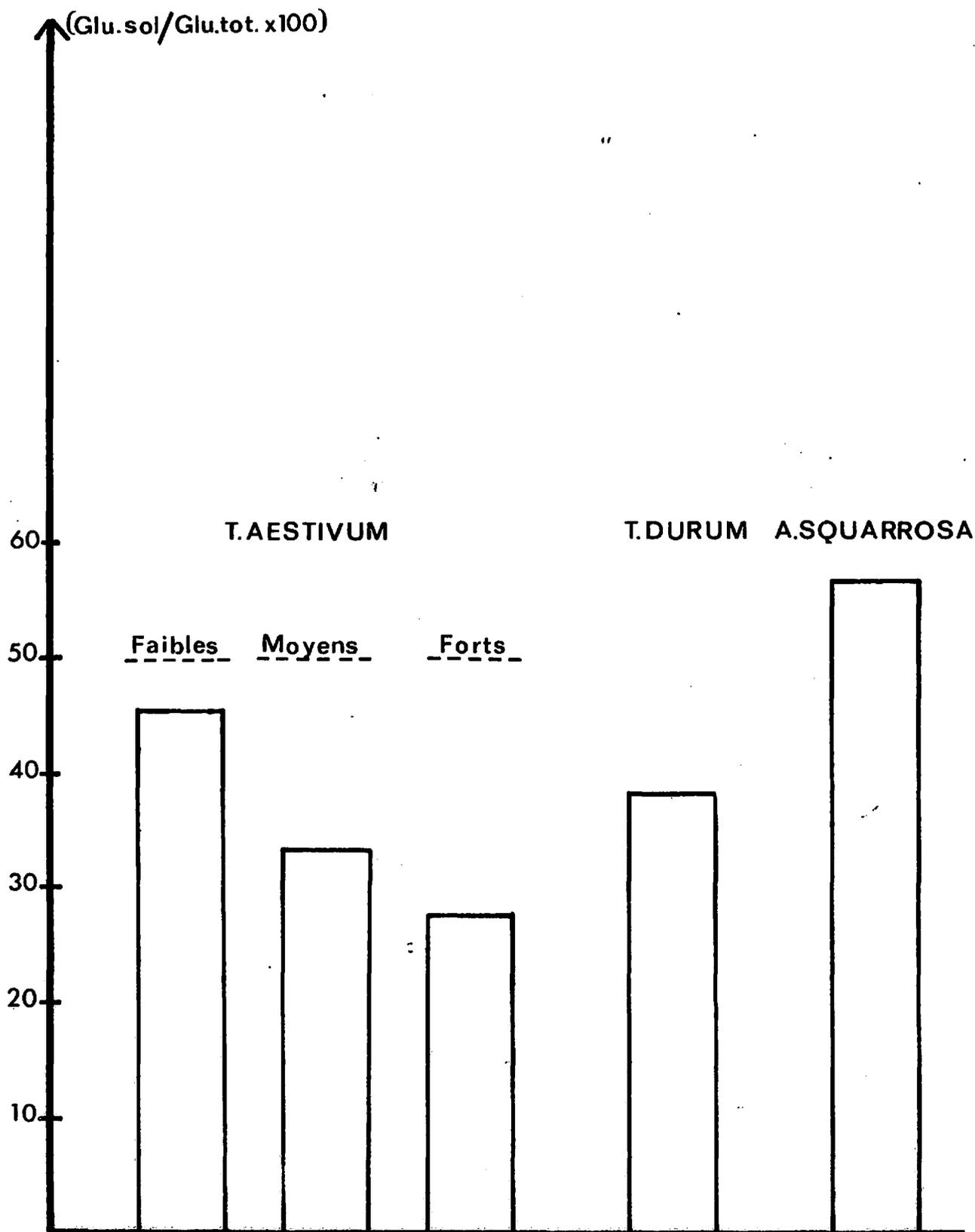
Une analyse de la collection de blés durs (30 variétés) a tout d'abord été effectuée. Elle a montré que, dans la limite de cet échantillonnage et contrairement à ce qui a lieu avec les blés tendres, toutes les variétés de blés durs présentent le même type de zymogramme (type IV de la figure 3) lequel renferme uniquement les 2 composants du groupe A. On peut donc penser que, parmi les autres constituants observables dans les types I, II, III et V des blés tendres, certains sont apportés par le génome D dont le blé dur est dépourvu.

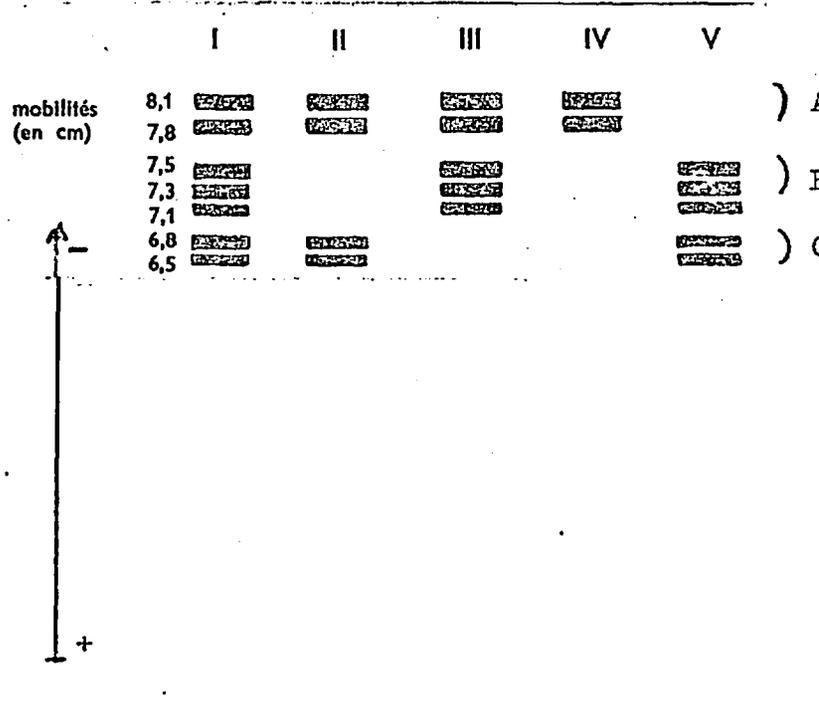
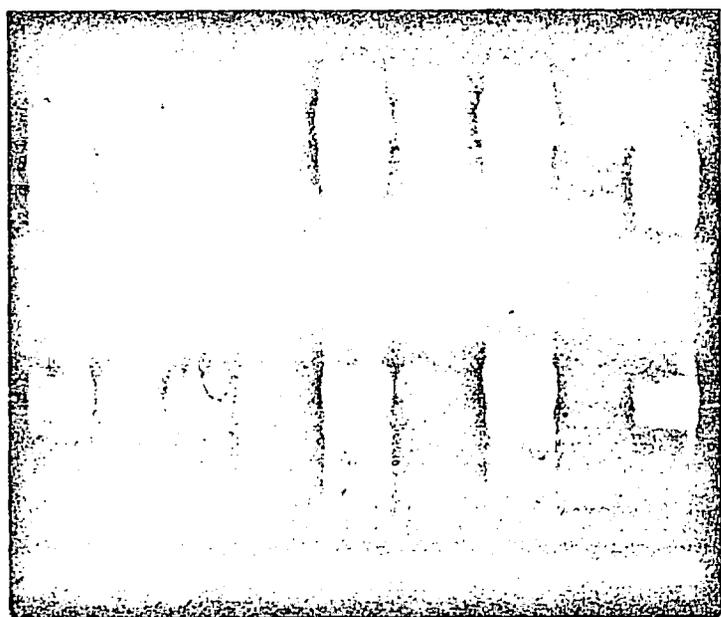
Dans le but d'étayer cette hypothèse, nous avons cherché à établir le zymogramme-type de l'espèce *A. squarrosa* en analysant les 12 souches dont nous disposons. A une exception près (souche 177), tous les zymogrammes apparaissent identiques (figure 4) et renferment précisément les composants de la zone C absents chez le type blé dur IV.

On a analysé parallèlement 3 variétés tétraploïdes (AB) dérivées des hexaploïdes (ABD) *Thatcher*, *Rescue* et *Prelude*. La figure 5 montre que les diagrammes de ces 3 hexaploïdes s'apparentent au type II (présence des groupes A et C) tandis que ceux des tétraploïdes présentent le comportement des blés durs (type IV). L'élimination du génome D se traduit par la perte du groupe C qui caractérise par ailleurs l'espèce *A. squarrosa*. Il semble donc bien que la synthèse de ce groupe d'enzymes isodynamiques soit sous la dépendance de un ou plusieurs chromosomes du génome D.

SOLUBILITE DES GLUTENINES DE BLES TENDRES, DURS
ET D'UNE ESPECE SAUVAGE

Figure 2





I II III IV V

Figure 3 : Photographie et schéma correspondant des 5 types de zymogrammes de β amylase libre (tampon lactate d'Al., pH 3,2).

Types : I- Ciano ; II- Capitole ; III- Joss ; IV- Cappelle ;
V- Azteca.

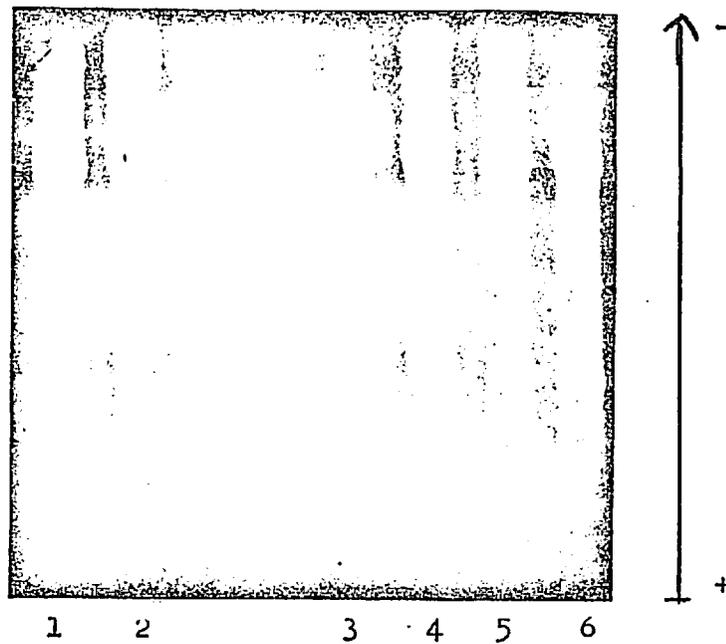


Figure 4 : Zymogrammes β amylase de différentes souches d'Aegilops squarrosa (génome D) (tampon lactate d'Al., pH 3,2). Références des souches : 1- 84 ; 2- 179 ; 3- 234 ; 4- 235 ; 5- 515 ; 6- 232.

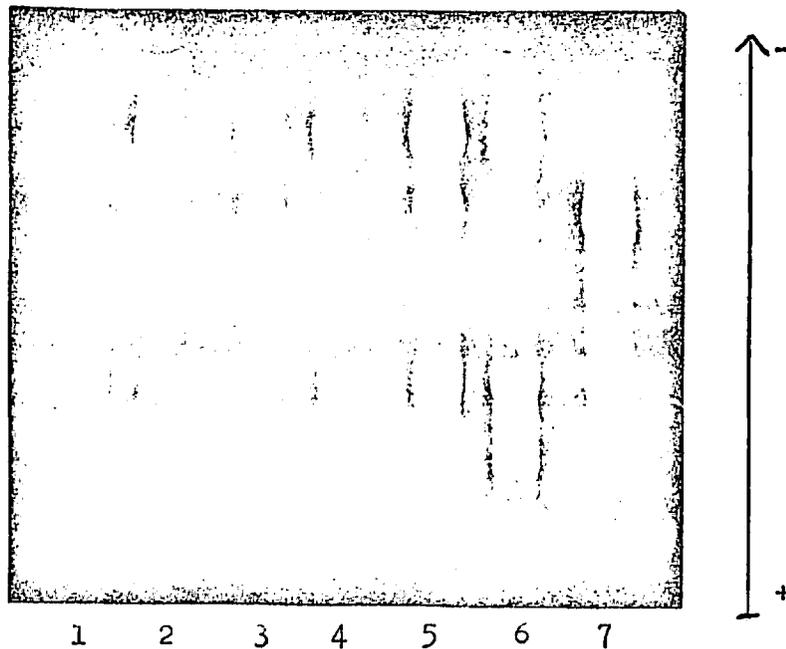


Figure 5 : Zymogrammes de β amylase soluble libre (tampon lactate d'Al.,

pH 3,2) :

1	<u>Thatcher</u>	hexaploïde ABD
2	"	dérivé tétraploïde AB
3	<u>Rescue</u>	hexaploïde ABD
4	"	dérivé tétraploïde AB
5	<u>Prelude</u>	hexaploïde ABD
6	"	dérivé tétraploïde AB
7	<u>Aegilops squarrosa</u>	témoin D (souche 146)

Remarquons toutefois que la réponse n'est pas aussi nette dans le cas de la variété *Tetrarelude* : on y remarque des traces d'activité au niveau du groupe C. Cette observation est à relier à celle de KALTSIKES (1968) qui a constaté, chez cette variété, une translocation d'une partie du chromosome 1D sur l'un des chromosomes du génome A. Cela tendrait à démontrer que les gènes responsables de la synthèse de ce groupe sont précisément localisés sur ce bras du chromosome 1D. Il convient toutefois d'être prudent dans ce type d'interprétation car d'autres hypothèses peuvent être avancées et notamment l'existence d'interactions entre les différents génomes.

C. Essai de caractérisation du génome D par certains composants électrophorétiques des protéines solubles

Le travail rapporté ici, dont l'objectif est de contribuer à la connaissance de la phylogénèse des blés en précisant la responsabilité des 3 génomes A, B et D dans la synthèse des différents constituants albumines - globulines du grain, a été limité au cas du seul génome D. Il consiste à étudier par électrophorèse, la variabilité de constitution des protéines solubles, d'une part au sein des espèces *T. aestivum* (ABD), *T. durum* (AB) et *A. squarrosa* (D), d'autre part, entre ces espèces.

1 - Variabilité intraspécifique des protéines solubles :

a) Espèce *T. aestivum*

L'examen de 24 variétés de *T. aestivum* révèle l'identité qualitative de leurs protéinogrammes. Cette observation confirme les résultats de nombreux travaux à l'exception de ceux de DOEKES (1968) et de SILANO (1969) qui soulignent l'existence de quelques différences variétales. Les dissemblances que nous avons pu constater sont d'ordre quantitatif et concernent notamment les bandes de mobilité 0,24 et 0,26 lesquelles apparaissent beaucoup plus intenses sur les variétés cultivées en Egypte et au Sénégal que sur les autres.

b) Espèce *T. durum*

Parmi les 7 variétés de blé dur examinées, on observe deux types de diagrammes qui se différencient au niveau d'un seul composant (figure 6). Ainsi, la bande rapide 1,15 est présente chez *Lakota*, *Wells* et *Semoulor*, mais absente chez *Bidi 17*, *Mahmoudi*, *Montferrier*, *Oued Zénati*. Contrairement aux blés tendres, l'identité variétale n'est donc pas absolue entre les protéines solubles de blés durs.

c) Espèce *A. squarrosa*

L'examen de 11 souches d'*A. squarrosa*, dont 6 sont représentées sur la figure 7 révèle principalement des différences intraspécifiques quantitatives, comme l'observe JOHNSON (1972). Le composant 1,10 paraît ainsi moins intense chez les souches 89 et 146 mais, en outre, la souche 89 se distingue des autres par la présence des globulines 1,50 et 1,70. Ici encore, les quelques différences observées concernent, comme chez les blés durs, la région des globulines rapides.

2 - Variabilité interspécifique des protéines solubles

La comparaison des protéinogrammes de type blé tendre et de type blé dur révèle une proportion élevée de bandes communes : 84 %.

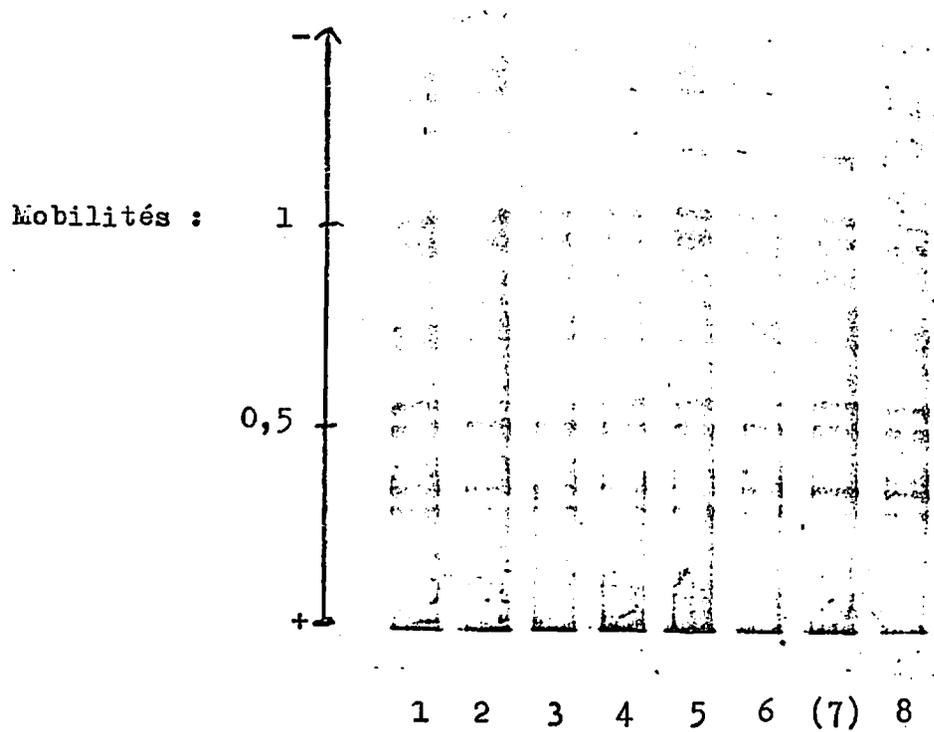


Figure 6 : Electrophorégrammes en gel de polyacrylamide (tampon lactate d'Al., pH 3,6) des protéines solubles de 7 variétés de blé dur :
1- Ouest Zenati ; 2- Lontferrier ; 3- Semoulor ; 4- Wells ;
5- Lakota ; 6- Mahmoudi ; (7- Triticum aethiopicum témoin) ;
8- Bidi 17.

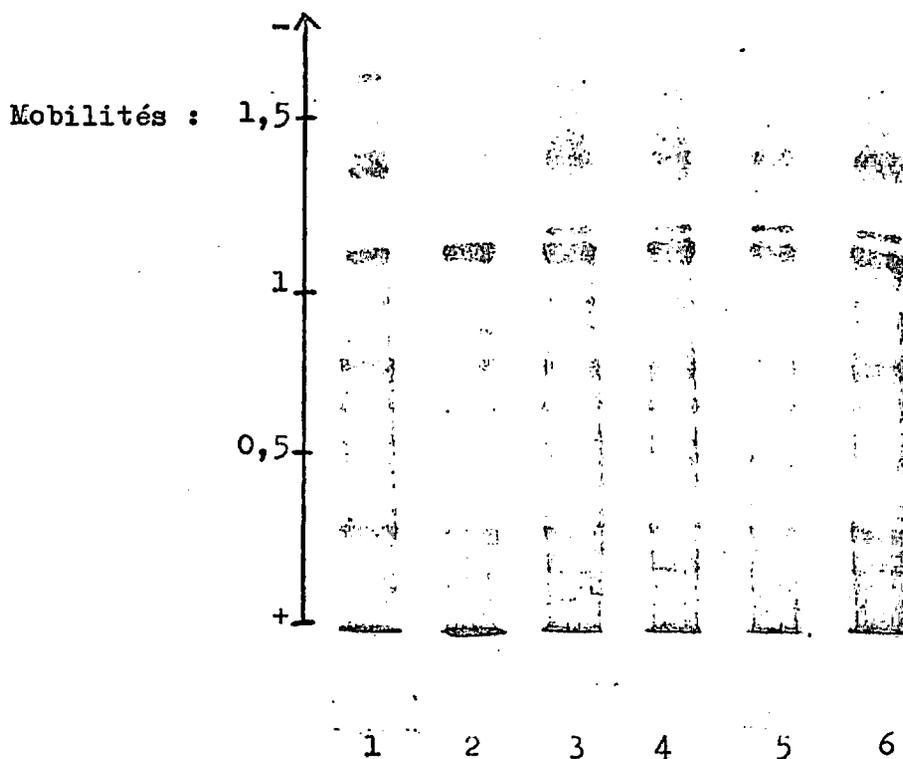


Figure 7 : Electrophorégrammes des protéines solubles de 6 souches d'Aegilops squarrosa : 1- 83 ; 2- 146 ; 3- 178 ; 4- 179 ; 5- 233 ; 6- 234.

L'espèce *T. durum* se différencie cependant de l'espèce *T. aestivum*, tout d'abord par la présence du composant 0,90 (figure 8). En outre, les bandes 1,07 et 1,10 semblent caractériser l'espèce *T. aestivum*, la première colorée en bleu étant quantitativement importante, la deuxième colorée en vert et absente dans les extraits aqueux s'individualisant plus ou moins nettement. On serait tenté d'assimiler le composant 1,07 à l'albumine 13 observée en gel d'amidon à pH basique (FEILLET, 1965) puis isolée (FEILLET et BOURDET, 1968) et utilisée pour la différenciation blés durs - blés tendres. Une telle hypothèse appelle cependant certaines réserves compte tenu des différences de conditions expérimentales et du fait que l'albumine 13 apparaît faiblement chez les blés durs contrairement au composant 1,07 qui en est totalement absent.

L'examen comparatif des diagrammes de blé tendre, de blé dur et de l'espèce diploïde *A. squarrosa* (figure 8) conduit à formuler d'autres observations. Tout d'abord, le nombre de bandes albumines - globulines ne s'accroît pas avec la ploïdie : il est de 23 chez les 2 espèces cultivées et de 31 chez *A. squarrosa*. En particulier, 8 composants, dont 4 de nature globuline, figurent dans toutes les souches de cette dernière espèce et ne se retrouvent dans aucun des échantillons de *T. aestivum* et de *T. durum*. Cette disparition pourrait être la conséquence de phénomènes de dominance et de régulation entre les différents génomes.

On peut cependant remarquer une certaine influence du génome D sur la constitution des protéines solubles du blé tendre car 63 % des composants sont communs entre les espèces *T. aestivum* (ABD) et *A. squarrosa* (D) contre 53 % entre *T. durum* (AB) et *A. squarrosa* (D).

Plus précisément, il s'avère que l'albumine 1,07 et la globuline 1,10 sont présentes simultanément chez les espèces de génome ABD et D et absentes chez l'espèce de génome AB. Elles pourraient donc, de ce fait, être considérées comme spécifiques du génome D, ce qui irait dans le sens des observations réalisées par d'autres auteurs dans des conditions différentes (COULSON, 1964 ; JOHNSON, 1966 ; 1972).

Une dernière confirmation semble être apportée (figure 9) par l'étude des blés tétraploïdes dérivés des hexaploïdes *Thatcher*, *Rescue* et *Prelude* par élimination du génome D. En effet, les variétés *Tetrathatcher* et *Tetrarescue* ne détiennent aucune des 2 bandes caractéristiques 1,07 et 1,10 présentes chez les hexaploïdes. Par ailleurs, le fait qu'elles apparaissent faiblement chez *Tetraprelude* est à rapprocher du phénomène déjà signalé de translocation d'une fraction du chromosome 1D sur le génome A. On doit cependant signaler que ces résultats contredisent ceux de DRONZEK (1970) pour qui aucune différence ne peut être relevée entre les protéines solubles d'hexaploïdes et de tétraploïdes dérivés.

D. Constitution électrophorétique comparée des prolamines de *T. aestivum*, *T. durum* et *A. squarrosa*

1 - Variabilité intraspécifique des prolamines

Suite aux travaux déjà réalisés sur les prolamines de l'espèce *T. aestivum* (AUTRAN et BOURDET, 1974), des recherches ont été entreprises au niveau des *T. durum* et les mêmes constatations ont été effectuées :

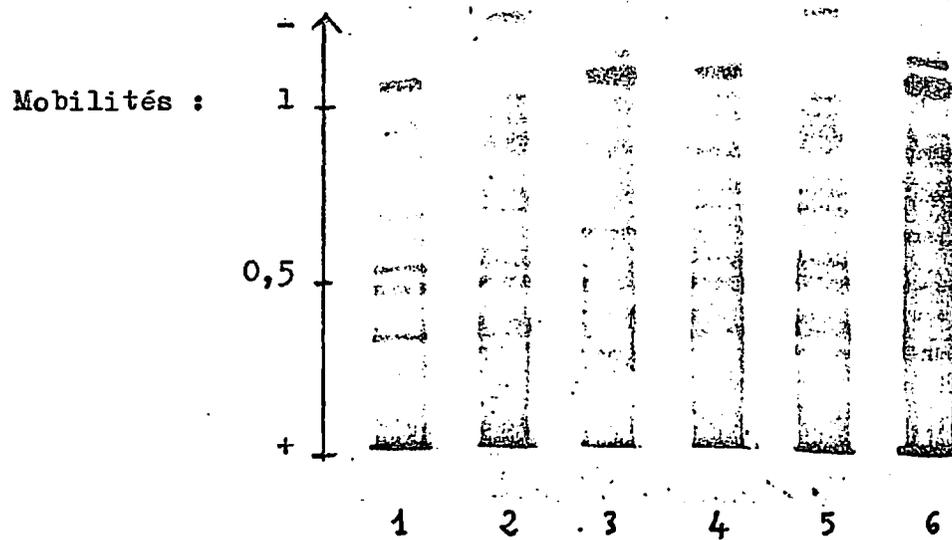


Figure 8 : Comparaison des électrophorégrammes des protéines solubles de T. aestivum ; T. durum et Ae. squarrosa.

- T. aestivum (ABD) : 1 - Vilmorin 23 ; 4 - Purcari hostianum
- T. durum (AB) : 2 - Bidi 17 ; 5 - Oued Zénati
- A. squarrosa (D) : 3 - 84 ; 6 - 235

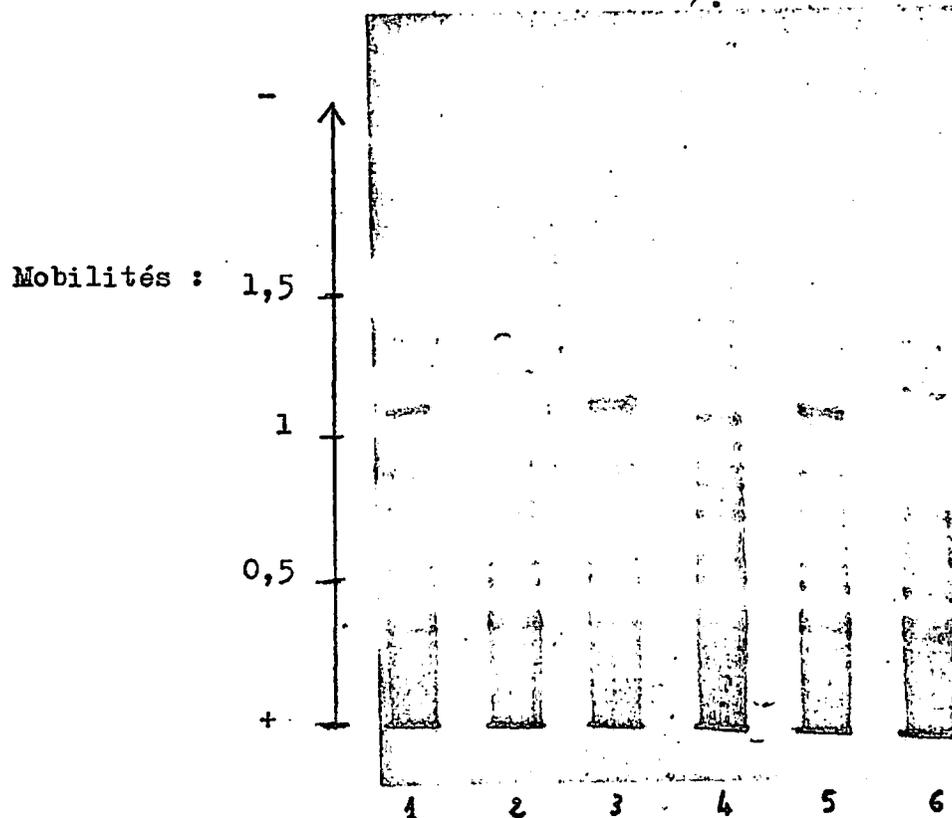


Figure 9 : Electrophorégrammes des protéines solubles des blés tétraploïdes dérivés d'hexaploïdes : 1- Thatcher ; 2- Tetrathatcher ; 3- Rescue ; 4- Tetrarescue ; 5- Prelude ; 6- Tetraprelude.

les différences variétales sont tout aussi nettes (figure 10) et donc exploitables. Si l'on applique ainsi le schéma d'interprétation des diagrammes défini dans le cas des blés tendres, il est possible d'identifier la plupart des variétés de blé dur. A titre d'exemple, la figure 11 fournit un tableau de détermination des blés durs inscrits au catalogue français 1974.

On constate également qu'en raison de son caractère de marqueur génétique, l'hétérogénéité des prolamines permet de différencier d'autant mieux les variétés que celles-ci sont plus éloignées génétiquement. C'est le cas des variétés *Brumaire* et *Durtal* qui ne présentent apparemment aucune parenté et dont l'indice de similarité des diagrammes n'est que de 44 %. En revanche, les variétés *Wells* et *Lakota*, dont la parenté est très élevée, ont des diagrammes semblables à 95 % et apparaissent ainsi plus difficiles à différencier.

Si l'on examine enfin (figure 12) différentes souches de l'espèce *A. squarrosa*, on aboutit aux mêmes conclusions. Mais à ce niveau, l'étude des diagrammes prolamines peut constituer aussi une voie d'approche indirecte dans la connaissance de la structure génomique du matériel et dans la recherche d'homologies chromosomiques. Cela peut donc faciliter la création et la sélection d'espèces nouvelles à partir d'hybrides interspécifiques et intergénériques.

2 - Variabilité interspécifique des prolamines

L'existence de nombreuses différences variétales dans le diagramme des prolamines rend évidemment complexe la mise en évidence des différences d'ordre spécifique éventuelles. Une solution consiste à établir un diagramme-type de chaque espèce en éliminant le facteur variétal par analyse d'un nombre maximum de variétés. C'est ce que nous avons tenté de faire à partir de 200 variétés de *T. aestivum* (ABD), 30 de *T. durum* (AB) et 12 d'*A. squarrosa* (D).

Il est apparu tout d'abord qu'entre espèces de ploïdies différentes les dissemblances dans les diagrammes sont importantes. En particulier, le nombre de composants décelables croît avec la ploïdie. On trouve ainsi 9 - 12 bandes chez *A. squarrosa*, 15 - 19 chez *T. durum* et 17 - 25 chez *T. aestivum*.

Si l'on fait abstraction des différences variétales, la constitution des diagrammes de chaque espèce présente également certaines caractéristiques particulières : les blés tendres renferment des composants dans toute la zone de mobilité 0,21 - 1,00, les blés durs seulement dans 0,34 - 1,00 et l'espèce sauvage diploïde essentiellement dans les zones 0,21 - 0,44 et 0,62 - 0,85 (figure 13).

Cependant, la complexité des diagrammes fait qu'on se heurte à des difficultés lorsqu'on cherche à préciser la spécificité génomique au niveau des composants eux-mêmes. Dans l'état actuel des recherches, le problème n'a été résolu que pour les composants ω -gliadines de faible mobilité. Ces derniers sont notamment responsables de la différence blé dur - blé tendre : toutes les variétés de blé tendre analysées possèdent ainsi 2 à 4 composants dans la zone 0,21 - 0,30 tandis qu'aucune variété de blé dur n'en possède.

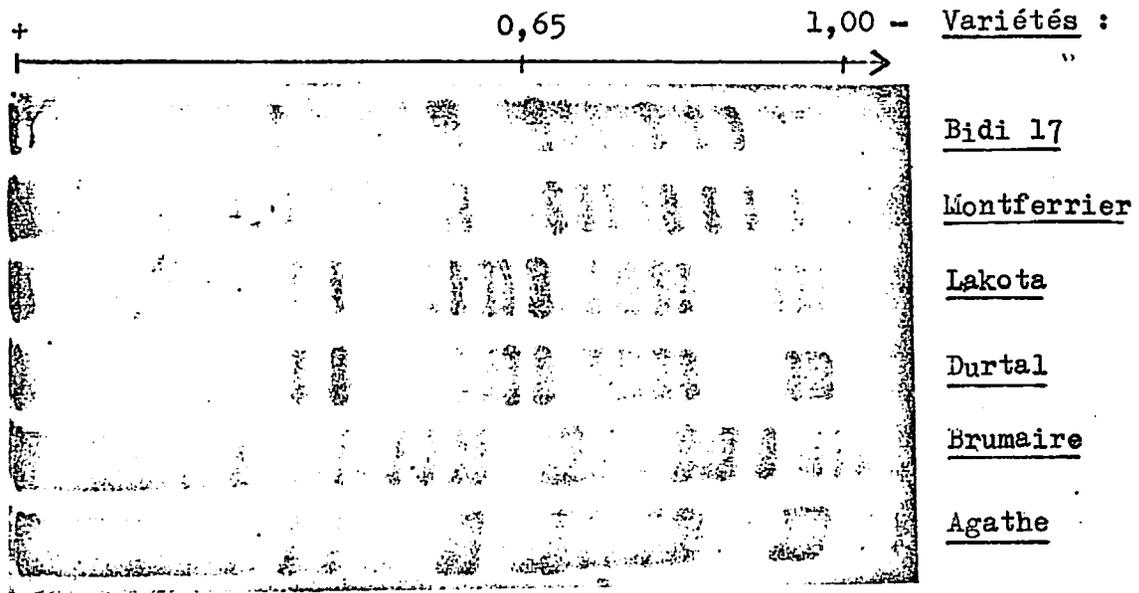


Figure 10 : Electrophorégrammes en gel d'amidon (tampon lactate d'Al., pH 3,2) des gliadines de blé dur.

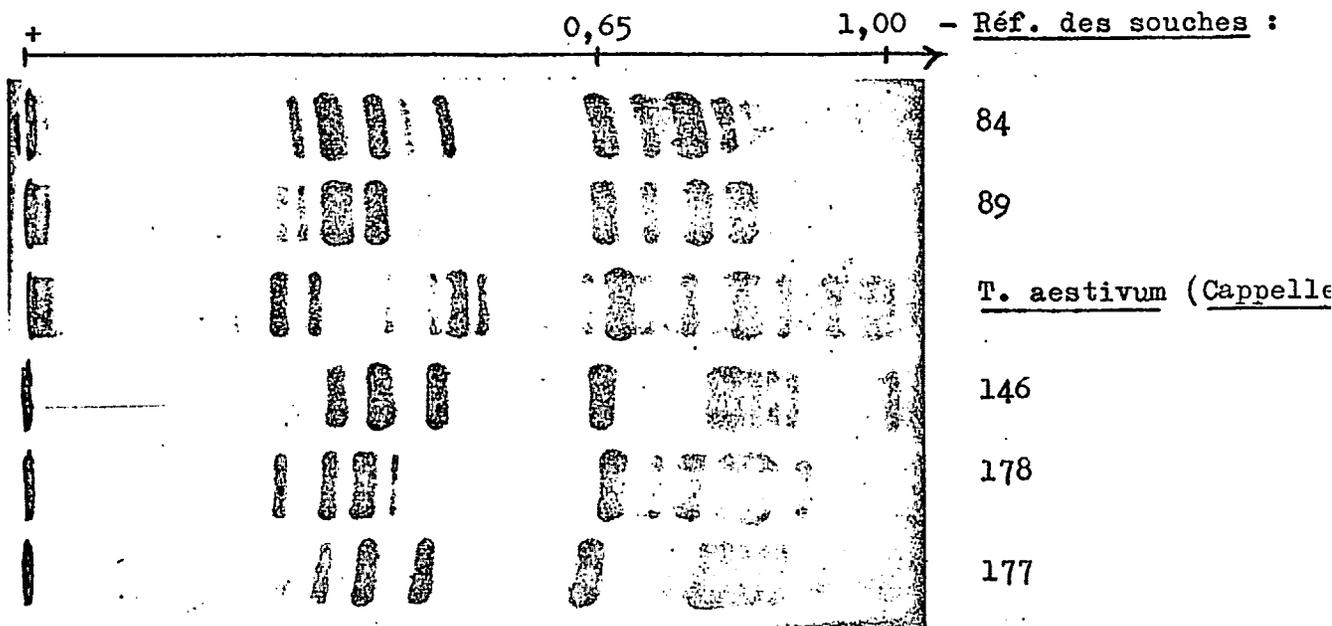


Figure 12 : Electrophorégrammes des gliadines de différentes souches d'Aegilops squarrosa comparativement à un T. aestivum témoin

==== IDENTIFICATION DES VARIETES DE BLE DUR A PARTIR DES
ELECTROPHOREGRAMMES DE GLIADINES .=====

Figure 11

65 présent +++

34 présent...

83 et 88 présents

96 présent ----- BIDI 17

96 absent ----- MONTFERRIER

83 et 88 absents ----- AGATHE

34 absent ----- BRUMAIRE

65 présent + ou tr.

90 présent

59 présent +++ et 55 tr. ----- WELLS

59 présent + et 55 absent ----- LAKOTA

90 absent ----- DURTAL

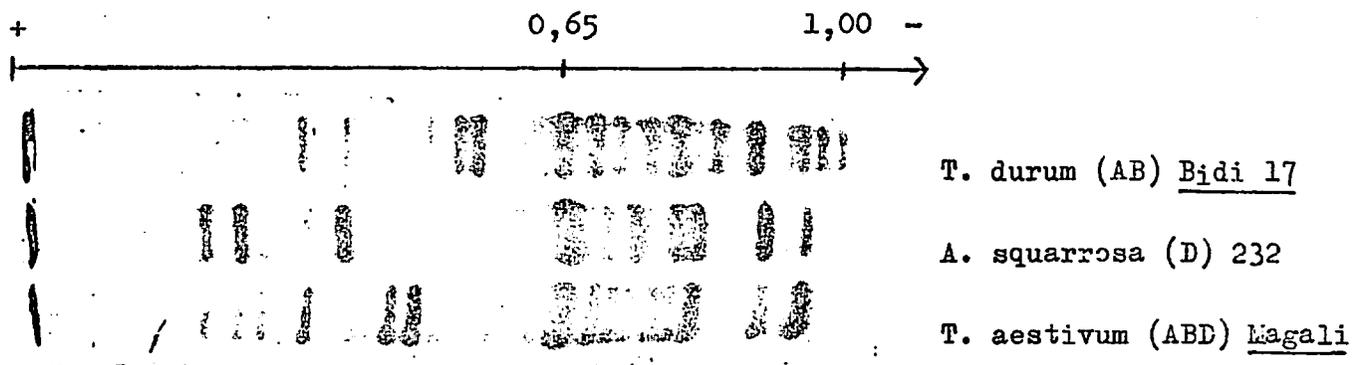


Figure 13 : Comparaison des électrophorégrammes de gliadines de T. aestivum (ABD) T. durum (AB) et A. squarrosa (D).

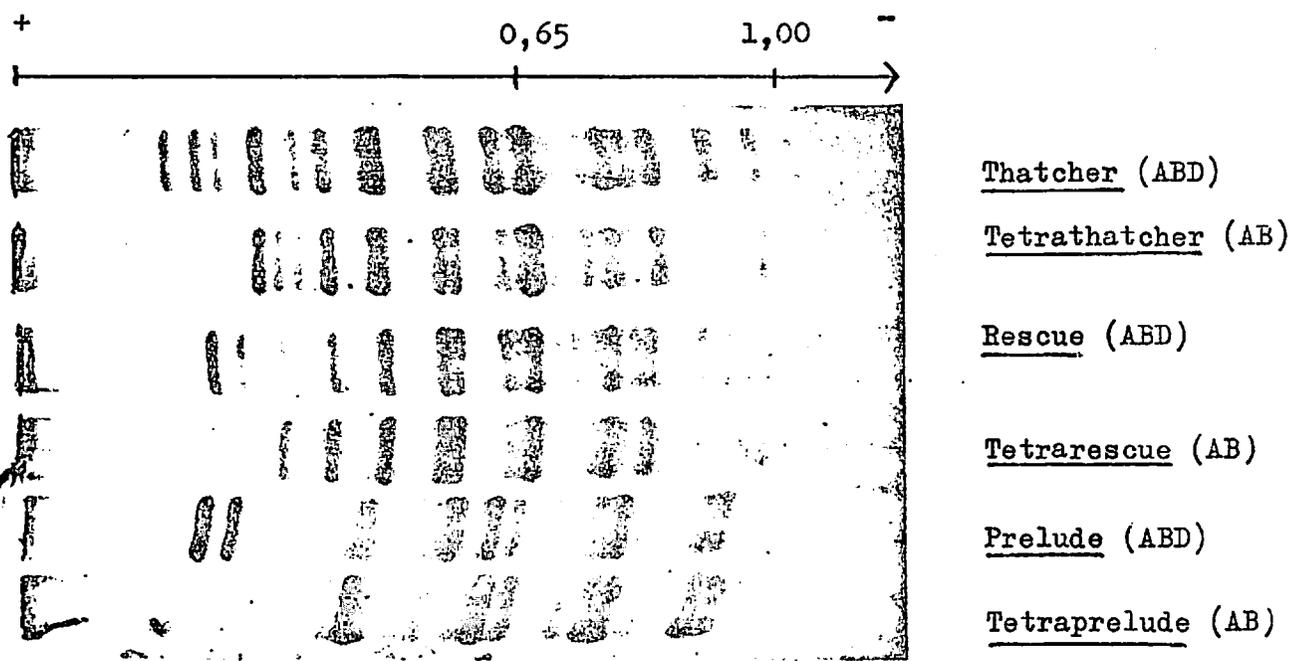


Figure 14 : Electrophorégrammes de gliadines des blés tétraploïdes dérivés d'hexaploïdes.

En outre, l'élimination du génome D chez les blés tétraploïdes dérivés conduit à la disparition totale (*Tetrathatcher* et *Tetrarescue*) ou partielle (*Tetraprelude*) des composants de cette région, ce qui conduit à des diagrammes présentant le type *T. durum* (figure 14).

Ces observations suggèrent donc que les ω -gliadines les plus lentes sont vraisemblablement sous la dépendance du génome D. Selon nous, cependant, cette question n'est pas totalement élucidée. Il reste, en effet, à expliquer pourquoi ces composants, apparemment spécifiques du génome D ne sont présents que chez une minorité de souches d'*A. squarrosa* (figure 12) et d'autres espèces sauvages détentrices du génome D (*A. crassa*, *A. juvenalis*, *A. cylindrica*, *A. ventricosa*) et aussi pourquoi les 2 souches, analysées par ailleurs, de *T. carthlicum* (tétraploïde AB) possèdent les mêmes composants de cette zone à l'image de tous les blés hexaploïdes ABD.

CONCLUSION

On constate, dans les résultats qui viennent d'être présentés, que la complexité des domaines abordés rend parfois difficile l'énoncé de conclusions nettes et définitives. Bien des points demeurent à préciser ou à expliquer, notamment en ce qui concerne la caractérisation des génomes par des composants électrophorétiques spécifiques. On ignore par ailleurs pourquoi le nombre de composants albumines - globulines ne varie pas sensiblement avec la ploïdie tandis que celui des prolamines s'accroît de façon très nette.

Néanmoins, quelques points précis semblent acquis au niveau du génome D dont les détenteurs avaient bénéficié ici d'une étude prioritaire justifiée par la différenciation des blés durs et des blés tendres dont il est responsable. Ainsi la synthèse de plusieurs zones de composants paraît effectivement sous la dépendance du génome D.

C'est le cas du groupe C des enzymes isodynamiques de la β -amylase libre, des constituants ω -gliadines de faible mobilité (0,21 - 0,30) et vraisemblablement des composants 1,07 et 1,10 du groupe des protéines solubles.

Il convient également de noter la concordance des résultats obtenus sur les blés tétraploïdes dérivés à partir des différentes techniques d'étude. On constate que l'élimination du génome D se traduit par la perte d'un groupe protéique ou enzymatique bien défini, à l'exception du cas de *Tetraprelude* où le phénomène est moins net mais en parfait accord avec les résultats cytologiques qui ont mis en évidence une translocation d'une partie du chromosome 1D sur le génome A. Cela témoigne d'ailleurs de la relative finesse des techniques utilisées et souligne les possibilités prometteuses offertes par les voies d'approche biochimiques pour résoudre certains problèmes rencontrés par les cytogénéticiens.

Il est toutefois évident que l'adjonction du génome D au génome AB ne se traduit pas par une simple règle d'additivité au niveau des biosynthèses, mais par la mise en oeuvre de phénomènes régulés d'inhibition ou d'activation (dominance entre gènes) dont le résultat complexe mérite des études approfondies. C'est pourquoi les hypothèses formulées au cours de l'étude des différentes espèces ne pourront être confirmées qu'après

analyse d'un matériel plus élaboré tel que des lignées aneuploïdes, des lignées de substitution chromosomique et des lignées directes issues de croisements entre un blé tétraploïde AB et un diploïde D, cela avec des techniques si possible encore plus fines telles que l'isoélectrofocalisation. C'est vers quoi porteront nos recherches fondamentales ultérieures.

Enfin, au plan des recherches appliquées, des résultats intéressants ont été enregistrés. Il s'agit, d'une part, de l'identification variétale des blés cultivés, hexaploïdes ou tétraploïdes à partir des électrophorogrammes de gliadines et, d'autre part, des possibilités d'utilisation de la composition protéique, notamment au niveau des glutélines soluble et résiduelle, comme microtest de la qualité technologique. Il a d'ailleurs été observé que les 3 espèces : *T. aestivum*, *T. durum* et *A. squarrosa* présentent chacune une composition protéique particulière et que le génome D paraît en être responsable. La présence de ce génome, qui semble en relation à la fois avec une faible teneur en glutélines totales et avec un rapport glutélines^{solubles}/glutélines totales élevé, explique vraisemblablement la différence de nature entre le comportement des pâtes de blés hexaploïdes de force élevée et celui des pâtes de blés durs tétraploïdes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUTRAN J.C., 1973. L'identification des variétés de blés. Bull. Anc. Elèves E.F.M., 256, 163-169.
- AUTRAN J.C., BOURDET A., 1973. Nouvelles données permettant l'exploitation de l'hétérogénéité électrophorétique des gliadines du grain de blé en vue d'une identification variétale. C.R. Acad. Sc. Paris, 277, D, 2081-2084.
- AUTRAN J.C., BOURDET A., 1974. L'identification des variétés de blé : Etablissement d'un tableau général de détermination fondé sur l'hétérogénéité électrophorétique des gliadines du grain. (A paraître).
- BOURDET A., 1966. Influence des conditions de production, de récolte et de stockage sur la composition biochimique des céréales ; répercussions des variations sur la valeur nutritionnelle : Azote total et Protides. Ann. Nutr. Alim., 20, 2, 177-198.
- 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, D, 4517-4520.
- BOURDET A., BERRIER R., AUTRAN J.C., 1972. Critères industriels et critères de sélection pour apprécier la valeur d'utilisation des blés tendres. Ann. Tech. Agric., 21, 2, 163-181.
- COULSON C.B., SIM A.K., 1964. Proteins of various species of wheat and closely related genera and their relationship to genetical characteristics. Nature, 202, 4939, 1305-1308.
- DOEKES G.J., 1968. Comparison of wheat varieties by starch gel electrophoresis of their grain proteins. J. Sci. Fd. Agric., 19, 3, 169.

- DRONZEK B.L., KALTSIKES P., BUSHUK W., 1970. Effect of D genome on the proteins of 3 cultivars of hard red spring wheat. *Can. J. Plant. Sci.*, 50, 389-400.
- ELTON G.A.M., 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 H.S. 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., BOURDET A., 1968. Les protéines solubles du blé. II- Fractionnement des albumines par chromatographie sur DEAE-cellulose et par électrophorèse préparative : isolement d'une protéine électrophorétiquement homogène. *Ann. Technol. Agric.*, 17, 4, 267-276.
- FLEURY B., 1973. Solubilité des gluténines et hétérogénéité des protéines solubles chez les blés cultivés et une espèce sauvage. Incidences technologiques et génétiques. D.E.A. Univ. de Paris VI, 40 p.
- JOHNSON B.L., HALL O., 1966. Electrophoretic studies of species relationships in *Triticum*. *Acta. Agr. Scen. Suppl.*, 16, 222-224.
- JOHNSON B.L., 1972. Protein electrophoretic profiles and the origin of the B genome of wheat. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 69, n° 6, 1398-1402.
- JOUDRIER P., 1974. Spécificité génétique de la β -amylase chez *T. aestivum* : existence de 5 types variétaux de zymogrammes. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 278, D, 1777-1780.
- KALTSIKES P., EVANS L.E., LARTER E.N., 1968. Identification of a chromosome segment controlling bread-making quality in common wheat. *Can. J. Genet. Cytol.*, 10, 763.
- KERBER E.R., TIPPLES K.H., 1969. Effect of the D genome on the milling and baking properties of wheat. *Can. J. Plant. Sci.*, 49, 225-263.
- KONAREV V.G., 1973. The principles of protein markers in the genome analysis and varietal classification of wheat. (en russe). *Tr. Prikl. Bot. Genet. Sel.*, 49, 3, 46-58.
- NAINAWATEE, 1972. Species relation in *Triticum* by protein electrophoresis. *Curr. Sci.*, 41 (21), 778-9.
- OSBORNE T.B., 1907. The proteins of wheat kernel. Carnegie Institution of Washington. Pub. n° 84.
- SILANO V., de CILLIS U., POCCHIARI F., 1969. Varietal differences in albumin and globulin fractions of *T. aestivum* and *T. durum*. *J. Sci. Fd. Agr.*, 20, 260-261.

- SILANO V., POCCHIARI, 1971. A specific color reaction of albumin, globulin and gliadin preparations from wheat. *Cer. Chem.*, 48, 445.
- SOZINOV A.A., POPERELLIA F.A., 1971. Vertical electrophoresis of alcohol-soluble endosperm protein in starch gel as a method for studying the genetic features of wheat. *Dokl. Vses. Akad. Sel'Skokhoz. Nauk*, 2, 9-11.
- WELSH J.R., WATSON C.A., GREEN C.W., 1968. Chromosomal control of flour properties in three substitution sets of common wheat (*Triticum aestivum*). *Crop. Sci.*, 8, 81-82.