

I N R A

Laboratoire de la Qualité des Blés
18, rue Nicolas Fortin PARIS 13e

B I P R A

Assemblée Générale
du 27 novembre 1975

Une nouvelle méthode de contrôle spécifique
de l'identité des variétés de blé : l'électrophorèse des gliadines
*Publié dans
Techniques de
Industrie
Céréalière
BOURDET et AUTRAN*

par J. C. AUTRAN et A. BOURDET

P.75-4

I N T R O D U C T I O N

Les molécules protéiques animales ou végétales présentent la particularité de posséder conjointement des groupements acides et basiques conférant aux particules des charges électriques différentes selon le pH du milieu qui les contient. Soumises à l'influence d'un champ électrique, les protéines en solution vont se déplacer en fonction de leur charge propre ; à des protéines différentes correspondront des vitesses de migration elles-mêmes différentes.

Tel est, brièvement énoncé, le principe de l'électrophorèse.

Dès 1886, l'anglais LODGE signalait que les particules dispersées d'une solution colloïdale étaient sensibles à l'influence du champ électrique. Divers travaux allaient ensuite être consacrés à l'étude théorique des propriétés électrochimiques des molécules protéiques elles-mêmes. Une étape importante dans l'application du phénomène devant être franchie en 1937 lorsque le physicien suédois TISELIUS (devenu prix Nobel de Chimie en 1948) mit au point son dispositif d'électrophorèse en phase liquide.

Cette technique allait permettre d'importants progrès dans la connaissance des caractéristiques physico chimiques de ces molécules fort complexes que sont les protéines. Sa mise en oeuvre réclamait toutefois beaucoup de

temps et un appareillage très coûteux.

L'apparition vers les années 1948-1950 d'une nouvelle technique d'électrophorèse dite de zone ou sur support allait ouvrir considérablement les possibilités pratiques d'application du phénomène. Les principes généraux de ce procédé restent les mêmes que dans la méthode de TISELIUS, mais la phase liquide dans laquelle se déplacent les protéines est remplacée par un support solide imprégné de liquide. Divers types de supports ont été utilisés : le papier, les gels d'agar, de gélatine, d'amidon, et plus récemment les gels de polyacrylamide et des membranes d'acétate de cellulose. Ces divers supports présentent des degrés de porosité ou de réticulation différents, ce qui explique que la migration des molécules protéiques soit conditionnée non seulement par leur charge électrique, mais aussi par leur forme et leur taille.

La biologie clinique fut la première et la principale bénéficiaire de l'électrophorèse sur support : non seulement la méthode, facile à mettre en œuvre, se prêtait à des déterminations de série, mais les protéines des divers milieux biologiques étudiés (sérum plasma, liquide céphalo rachidien...) se trouvaient naturellement en solution. La similitude remarquable des protéinogrammes fournis par les sujets normaux allait inciter les médecins à étudier les altérations provoquées par différentes maladies. C'est ainsi que l'étude des globulines sériques, et notamment des γ globulines, a considérablement fait progresser les connaissances dans les affections cardio-vasculaires, hépatiques, rénales et tumorales...

L'application de l'électrophorèse sur support aux protéines végétales ne devait être ni aussi rapide, ni aussi spectaculaire. La plupart de ces protéines sont présentes à l'état fortement condensé dans les tissus de réserve tels que les graisses et, de ce fait, particulièrement difficiles à solubiliser. C'est le cas notamment des protéines constituant le gluten du grain de blé. On a admis pendant longtemps que la fraction gliadine soluble dans l'alcool et la fraction gluténine soluble dans les bases, représentaient les 2 seules entités protéiques homogènes composant le gluten. L'électrophorèse sur support a permis de démontrer que chacune de ces fractions était en réalité un mélange très complexe de protéines différentes.

C'est vers les années 1960 que se situent nos premières tentatives de fractionnement des gliadines du blé ^{par} électrophorèse : nous utilisions alors un support papier qui nous permettait de caractériser péniblement 3 à 4 bandes protéiques. Vers la même époque, le Docteur COULSON nous faisait part des

résultats très améliorés qu'il avait obtenus dans son laboratoire d'Edimbourg en utilisant comme support un gel d'amidon, technique introduite vers 1957-58 par SLITHIES. Bénéficiant de l'expérience acquise par JOHNSON et de la collaboration de Monsieur PHILIPS, alors nouveau venu à l'INRA par le biais d'un contrat de l'USDA, ces premiers travaux devaient aboutir d'abord en 1963 à la présentation d'une note devant l'Académie des Sciences, en 1965 à la soutenance d'une thèse, puis en 1966 à la publication d'un mémoire montrant que l'hétérogénéité électrophorétique des gliadines constituait un caractère spécifiquement génétique, non influencé par les conditions culturales ou les facteurs du milieu.

S'il était alors facile de constater que les diagrammes gliadine obtenus étaient qualitativement différents d'une variété à l'autre, on se heurtait toutefois à la difficulté d'en tirer une interprétation exploitable au plan pratique.

Les fractionnements obtenus au cours des 10 dernières années par différentes équipes américaines, soviétiques, anglaises et hollandaises, avec des qualités de résolution d'ailleurs variables, ont été surtout utilisés à des fins de biochimie fondamentale, en dehors de toute préoccupation appliquée.

C'est à partir de 1971, au terme d'un important travail conduisant à la non spécificité génétique des histogrammes autres types protéiques présents dans le blé que Monsieur AUDAN devait reprendre le problème des gliadines.

Après avoir amélioré la reproductibilité de la méthode par une étude systématique des différents paramètres expérimentaux, il entreprit l'analyse de plus de 300 variétés de blés tendres et durs, représentatives de la plupart des productions au niveau mondial. Par des essais répétés, il établit ainsi pour chaque variété un diagramme type moyen rendant compte à la fois de la mobilité et de la concentration relative des différents composants protéiques, permettant ainsi de différencier significativement les variétés entre elles.

Monsieur AUDAN va vous exposer lui-même les détails de cette expérimentation qui permet désormais de confirmer ou d'infirmer l'identité présumée d'une variété, d'identifier une variété inconnue, et mieux encore en opérant grain par grain de connaître la nature et les proportions des variétés présentes en mélange dans un lot commercial.

Actuellement, seuls les travaux de l'équipe australienne du CSIRO à North Ryde se situent sur le même plan pratique que les nôtres et commencent à être vulgarisés.

Conscients de l'importance que peut avoir une telle méthode dans les secteurs de la sélection, de la production, du stockage et de la transformation des blés, nous nous préoccupons également de sa diffusion près des milieux professionnels.

C'est dans ce but que nous préparons actuellement la mise en place de stages de formation théorique et pratique destinés aux personnes responsables du contrôle variétal dans les divers secteurs concernés.

Il n'est pas inutile de signaler enfin qu'une firme internationale spécialisée dans les problèmes d'automatisation, vient d'entreprendre en liaison avec l'INRA et les producteurs de blé, des études visant à mettre au point un appareillage permettant d'améliorer et de faciliter la mise en oeuvre de la méthode.

Le progrès des sciences modernes dépend en effet pour une large part des progrès réalisés dans le développement de nouvelles techniques et le perfectionnement des équipements.

On peut espérer, qu'à l'image de la médecine, les différentes professions concernées à divers titres par le problème de la qualité des blés, sauront mettre à profit les possibilités offertes par cette nouvelle méthode.

Je passe sans plus tarder la parole à Monsieur AUTRAN, et vous remercie de votre attention.

Nous allons parler de la méthode d'identification des variétés de blé par électrophorèse des gliadines et entrer davantage dans le détail afin que chacun ait une idée plus précise:

- de ce qu'est réellement cette méthode
- de ce qu'elle implique comme équipements et types de manipulations
- des résultats qu'elle permet raisonnablement d'obtenir

Pour cela, l'exposé sera construit selon le plan suivant :

- La 1^o partie aura pour objet de répondre à la question : "Pourquoi en être venu à utiliser l'électrophorèse des gliadines pour identifier les variétés de blé ?" (En effet, l'électrophorèse fait souvent figure de méthode de laboratoire

de recherche et n'a été que très rarement introduite au niveau du contrôle céré-
alier, contrairement à ce qui a eu lieu depuis longtemps dans le contrôle médical
comme le rappelait Mr BOURDET.

- Dans la 2° partie, on précisera les conditions de mise en oeuvre de l'élec-
trophorèse ainsi que les principes qui permettent de guider l'interprétation des
résultats.

- Au cours d'une 3° partie, enfin, on tentera d'expliciter les différentes
possibilités pratiques offertes par la technique, possibilités qui sont, je pense,
susceptibles de retenir l'intérêt des utilisateurs du blé, des organismes stee-
kers, des sélectionneurs, ainsi que des organismes officiels ou des services
de répression des fraudes.

1° PARTIE - Pourquoi mettre en oeuvre l'électrophorèse pour identifier les variétés ?

Le problème de la reconnaissance des variétés n'est pas nouveau car les
premières tentatives pour le résoudre remontent à plusieurs dizaines d'années.
Comme l'a rappelé Mr BRICOUT, les principaux tests proposés ont été :

- les caractéristiques morphologiques du grain (mensurations, texture, cou-
leur, ...)
- les caractères botaniques de la plante
- la coloration du caléoptyle en lumière artificielle
- la coloration du grain à l'acide phénique
- l'alycégramme Chopin

Je pense sincèrement que ces différents critères conservent, aujourd'hui
encore, toute leur valeur, notamment en raison de leur simplicité. Mais il faut
reconnaître que, comme Mr BRICOUT l'a également rappelé, ces méthodes classiques
présentent des inconvénients. Le premier est que certaines d'entre elles sont
sensibles à l'influence des facteurs agro-climatiques, ce qui est gênant pour un
critère que l'on voudrait variétal. Le deuxième défaut est leur spécificité limi-
tée : ces méthodes permettent souvent de différencier des groupes de variétés
mais généralement pas les variétés elles-mêmes et, si elles peuvent rendre servi-
ce dans bien des cas, elles s'avèrent insuffisantes lorsqu'il s'agit d'identifier
avec précision un lot de grains inconnu.

Il faut d'ailleurs avoir conscience que la différenciation des variétés de
blé est un problème difficile (notamment en raison de la parenté génétique rela-

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY

tivement étroite de nombreux blés, y compris des plus cultivés d'entre eux) et que la résolution de ce problème requiert des critères extrêmement spécifiques et - cela va de soi - indépendants des facteurs cultureux.

Pour résoudre cette question, il était donc inévitable de faire appel à des caractères physico-chimiques génétiquement stables du grain, et l'on pense aussitôt aux protéines du grain.

On sait, en effet, que la structure des protéines est étroitement associée au patrimoine héréditaire des blés et qu'elle peut constituer, dans certains cas, un véritable marqueur génétique exploitable pour identifier les genres, espèces ou variétés.

Cette idée d'exploiter un caractère physico-chimique du grain, Mr MIELIET l'a probablement eue lorsqu'il a pensé utiliser les spectres UV pour différencier les variétés de blé et d'autres céréales.

Pour notre part, le problème a été abordé sous un autre angle: celui de l'hétérogénéité de ces protéines. En effet, les protéines naturelles sont toujours en réalité des mélanges très complexes d'espèces moléculaires différentes. Pour tenter d'y voir clair, il faut avoir recours à des techniques de fractionnement. Or, quelle est la technique qui présente à la fois une grande finesse de résolution et une mise en oeuvre assez facile? C'est l'électrophorèse.

Voilà pourquoi l'électrophorèse (dont Mr BOURNET vient de résumer le principe) a été retenue.

Il faut ajouter que cette technique permet d'obtenir, de mettre en évidence, des diagrammes de fractionnements formés de plusieurs composants en bandes parallèles et c'est précisément la constitution de ces diagrammes (c'est à dire le nombre des bandes, leur position, leur intensité) qui peut constituer, selon la protéine étudiée, un marqueur génétique spécifique.

Mais alors, autre question, quelles sont les protéines à utiliser?

Je rappelle que, dans la nature, il existe des protéines non spécifiques (cliché Histones), des protéines un peu plus spécifiques (alb - glob) qui permettent de différencier les espèces: blé dur - blé tendre, mais non pas de reconnaître les variétés. Un exemple similaire est fourni par les protéines

enzymatiques (cliché β amylase). Il en existe enfin qui sont beaucoup plus spécifiques (cliché gliadines) et qui donnent ainsi, pour chaque variété, un diagramme particulier. Ce sont les prelamines (gliadines, chez le blé, que l'on définit à partir de leur solubilité dans les alcools dilués. Ce sont évidemment ces protéines que nous utilisons ici.

Il faut insister sur le fait qu'une telle idée n'est pas nouvelle: Mr BOURDET rappelait que les premières électrophorèses de gliadines en gel d'amidon remontent à 1961 avec les travaux de COULSON, travaux appliqués avec succès aux blés français par MM. BOURDET et FEILLET dès 1962. Mais, si le caractère variétal des électrophorégrammes gliadines et si leur indépendance vis à vis des facteurs externes étaient connus depuis longtemps, il se trouve que ces idées fondamentales sont restées longtemps inexploitées.

Pendant plusieurs années, en effet, les auteurs se sont en quelque sorte, limités à constater des différences variétales sans véritablement parvenir à les exploiter sur un plan appliqué. Et cela, à mon avis, pour 2 raisons essentielles:

- d'une part parce que les conditions expérimentales retenues ne permettaient pas toujours une bonne reproductibilité des diagrammes et qu'il était alors souvent difficile de faire la part des différences expérimentales et des vraies différences variétales.

- d'autre part, en raison même de la complexité des diagrammes (toujours une vingtaine de bandes).

Je vais donc aborder la 2^e partie afin de montrer comment nous avons pu ~~avancer~~ avancer dans cette voie d'exploitation pratique des diagrammes en précisant davantage les conditions d'électrophorèse et en adoptant un système rationnel d'interprétation.

2^e PARTIE : Mise en oeuvre de l'électrophorèse - Interprétation des résultats

Dans le cadre de cet exposé, il est évidemment impossible de donner tous les détails expérimentaux nécessaires et ce n'est malheureusement pas après m'avoir écouté que vous pourrez reproduire la technique demain dans vos laboratoires. Pour apprendre la technique, il faut la voir pratiquer en réalité, et c'est la raison pour laquelle nous organisons des stages de formation pratique à cette technique dans notre laboratoire.

A) Au point de vue des équipements, en dehors du matériel classique qu'on trouve dans tous les laboratoires, l'électrophorèse requiert 2 appareillages spéciaux (cliché) :

- un générateur de courant continu : 400-500 V : 100 mA
- un appareil d'électrophorèse (électrodes, bacs à tampon, cuvette-moule dans lequel le gel d'amidon est coulé)

B) La manipulation comprend 3 phases

- extraction des gliadines
- électrophorèse proprement dite
- interprétation des résultats

1) Extraction des gliadines

2 cas se présentent :

- dans le cas d'une variété pure, on travaille sur une mouture de grains que l'on met en suspension dans un solvant (Ethanol ou G M C). Le surnageant obtenu est directement utilisé pour le dépôt de l'échantillon dans le gel.
- dans le cas d'un mélange de variétés, on travaille non pas sur une mouture mais sur un micro-échantillon représentatif de grains, obtenu par divisions successives au hasard de l'échantillon initial. Les gliadines sont alors extraites grain par grain (chaque grain étant grossièrement écrasé avec un marteau) au moyen du même solvant.

2) Electrophorèse proprement dite

Elle est réalisée en gel d'amidon dans des conditions classiques : tampon lactate d'Al., pH 3,2 ; urée 0,5 M.

Le gel est préparé en chauffant sous agitation vigoureuse (cliché) une suspension d'amidon dans le tampon, jusqu'à 80°C. L'empois formé est alors coulé dans les moules prévus à cet effet où on le laisse refroidir 1 heure (cliché).

Avant d'introduire les échantillons, on fait passer le courant dans le gel afin d'en assurer l'équilibrage et la purification (précourant). Le dépôt des gliadines dans le gel est alors effectué par insertion de rectangles de papier filtre imbibés de solution protéique (cliché).

On fait alors passer le courant de nouveau (8 v/cm et 20-25 mA par gel) et cette fois, sous l'effet du champ électrique, les différents composants gliadines se déplacent dans le gel du pôle + vers le pôle - (car, au pH du gel, ils sont tous chargés +) et s'y répartent en fonction de leurs caractéristiques de charge et d'encombrement moléculaire. Leur migration est visualisée par un marqueur coloré, la pyronine.

Après 17 cm de migration du marqueur, soit 4,45 h à 5 h, l'expérience est arrêtée. Le gel est alors découpé dans son épaisseur (cliché), la partie supérieure est éliminée et les bandes gliadines sont révélées sur la partie inférieure grâce à l'action (une nuit) d'un colorant spécifique (le nigrasine) en milieu tri-chloroacétique. (cliché).

Le lendemain, l'excès de colorant est éliminé par lavages dans l'alcool dilué et le diagramme est alors prêt pour l'interprétation (cliché). Le gel se conserve indéfiniment dans l'alcool, mais on peut le photographier et également le sécher.

La durée des manipulations s'étale sur environ 8 heures. Le gel est préparé le jour même de l'électrophorèse mais on peut aussi le préparer la veille et réaliser une partie des opérations la nuit grâce à un déclenchement automatique du précourant.

Les résultats peuvent donc être lisibles actuellement à partir de 24 h après réception du grain. Dans notre laboratoire, qui n'est pas un laboratoire de contrôle rompu à l'analyse de grandes séries, on a l'habitude d'étudier 24 échantillons par jour. Ce sont les performances actuelles, car il faut préciser que la technique est en pleine évolution et que l'analyse de 50, 100 et même 200 grains par jour pour un opérateur, sera bientôt réalisable.

3) Interprétation des résultats

C'est un point qui peut paraître délicat et qui a d'ailleurs longtemps rebuté les chercheurs. Il y a en fait 2 séries d'explications à donner :

- l'interprétation que nous avons utilisée initialement pour démontrer la signification des différences variétales et la validité du système d'identification.

- l'interprétation simplifiée que nous avons mise au point et que nous enseignons pour ceux qui auront à utiliser quotidiennement la technique et qui n'auront pas à redémontrer sa signification en partant de zéro.

J'exposerai donc rapidement comment nous avons démontré la signification réelle du système d'identification :

Tout d'abord (cliché) nous avons réalisé la densitométrie des diagrammes à chaque bande correspond un pic, dont on a repéré la mobilité et dont la surface renseigne sur la concentration de la bande, concentration exprimée ensuite grâce à une ou plusieurs +.

En effectuant la moyenne de plusieurs répétitions, on a obtenu un diagramme-type variétal schématisé qui rend compte de la mobilité des différents composants et de leur importance relative approximative.

Cette présentation simplifiée des résultats permet alors des comparaisons rationnelles de diagrammes variétaux (cliché). Considérant ensuite qu'une différence n'est significative que si elle met en jeu au moins 2 unités d'écart dans l'échelle des +, on peut s'assurer de la signification réelle des différences variétales décelées. On peut même calculer le nombre de différences significatives entre les variétés prises 2 à 2 et établir ainsi une sorte d'indice (cliché),

qui quantifie la dissimilarité des diagrammes (et qui renseigne d'ailleurs indirectement sur la "distance génétique" des variétés).

Enfin, dans un dernier temps, puisque la plupart des variétés possèdent des diagrammes significativement différents, il était possible de construire, à l'image d'une flore, un tableau de détermination de la variété fondé sur les seules données significatives des diagrammes. (cliché).

Ce tableau existe et a été publié pour l'ensemble des blés du Catalogue Français et pour les principaux blés de la Communauté Européenne. Il existe aussi, sous une forme simplifiée, pour les 20 principales variétés françaises.

La plupart des variétés peuvent être ainsi identifiées au moyen de ces clés à l'exception de quelques unes (5-6 % du total) qui, génétiquement très proches, possèdent des diagrammes identiques.

Evidemment, l'utilisateur n'a plus actuellement à refaire tout ce chemin qui, je répète, a été fait une fois pour toutes, pour s'assurer de la validité de la technique. On aura seulement recours à une interprétation simplifiée.

L'utilisateur aura en mains :

- la clé de détermination
- les schémas et les photos des diagrammes variétaux.

L'interprétation consistera alors seulement en :

- un repérage de la mobilité de quelques composants-clés du diagramme (grâce à des témoins dont les bandes sont déjà parfaitement connues)
- une lecture de la clé en suivant la dichotomie, comme dans une flore, jusqu'à aboutir au nom de la variété
- une éventuelle vérification en se rapportant au catalogue de photos ou de schémas de diagrammes

3° PARTIE : Résultats qu'on peut ^{raisonnablement} ~~raisonnablement~~ attendre de la méthode

Ce que nous venons de dire a montré, en résumé, que la méthode d'électrophorèse présente des avantages suivants :

- une éventuelle vérification en se rapportant au catalogue de photos ou de schémas de diagrammes.

3° PARTIE : Résultats qu'on peut ^{raisonnablement} ~~raisonnablement~~ attendre de la méthode

Ce que nous venons de dire a montré, en résumé, que la méthode d'électrophorèse présente les avantages suivants :

- Spécificité très élevée : presque toutes les variétés possèdent des diagrammes différents
- totale indépendance vis-à-vis des facteurs agro-climatiques (cliché)
- travail sur grains, farines ou issues, indifféremment (cliché)
- possibilité de miniaturisation permettant de travailler sur un seul grain (cliché)
- relative rapidité: résultat lisible à partir de 24 h après réception du grain.

Elle paraît donc offrir des possibilités nettement supérieures à tout ce qui existait jusqu'ici en matière d'identification variétale.

Dans ces conditions, voyons ce que permettent, en pratique, ces possibilités

I) Dans le cas de lots variétalement purs :

On peut, d'une part, très facilement, contrôler l'identité d'une variété présumée. Il suffit, pour cela, de comparer sur le même gel, les gliadines de la variété présumée et celles d'un témoin de collection. La réponse peut être positive, ou négative. A l'exception des quelques rares cas où une deuxième variété peut posséder le même diagramme, la réponse positive constitue une certitude (ce qui n'est pas le cas avec les autres tests comme l'acide phénique), et cela, en un seul essai.

On peut, d'autre part, lorsque le diagramme ne correspond pas à celui de la variété annoncée, identifier la variété inconnue. Il suffit pour cela de repérer quelques composants clés du diagramme à l'aide d'un témoin connu, puis de lire le tableau de détermination jusqu'à aboutir au nom de la variété. L'identification est d'autant plus facile que la variété appartient à un groupe de variétés génétiquement différentes (cas des blés de printemps); elle peut être un peu plus délicate lorsque la variété appartient à une famille de blés génétiquement voisine, comme certains blés d'hiver.

Mais je répète que la quasi-totalité des variétés françaises peuvent être différenciées par ce procédé et notamment les blés souvent jugés indésirables: Clément et Marie Huntaman (cliché).

Il en est de même des blés de la C E D. A titre d'exemple, 12 blés anglais de type Marie ont été analysés (cliché). Tous sont différents en électrophorèse.

2) Dans le cas de mélanges variétaux

On a observé que l'analyse d'une mouture de mélange conduisait à un dia-

gramme difficile à interpréter (additivité des bandes provenant de diagrammes différents). Exemple : Jess + Rex (éliché). Il est le plus souvent impossible de conclure sur la composition du mélange et même dans les cas favorables, il faut que la contamination atteigne 20-25 % pour qu'elle devienne visible sur les diagrammes.

La seule solution actuellement valable, consiste alors à identifier la variété, grain par grain, sur un micro-échantillon représentatif. Exemples d'analyses --(éliché).

En analysant un nombre suffisamment élevé de grains, il est alors possible de connaître, dans la limite d'un intervalle de confiance, la composition variétale qualitative et quantitative d'un mélange commercial de grains. Et cela aucune autre technique de laboratoire ne le permettait jusqu'ici.

La précision de la méthode dépend évidemment du nombre de grains analysés. 50 grains donnent une idée déjà satisfaisante.

Il est à noter que, sous certaines conditions, cette détermination de la variété est possible même sur des grains déjà colorés par l'acide phénique. L'association des 2 techniques peut alors permettre dans certains cas, de réduire considérablement le nombre de grains à analyser.

3) Dans le cas d'autres céréales

Le principe de la méthode peut, a priori, être appliqué à plusieurs autres céréales. En pratique cependant la question n'a été étudiée en détail que chez le blé dur, le seigle, le triticale et l'orge. Chez le blé dur, la différenciation variétale est aussi poussée que chez le blé tendre; chez l'orge elle est plus limitée; chez le seigle, plante allogamme, elle est pratiquement nulle.

Voilà les possibilités actuelles de la méthode

On peut évidemment objecter :

1) que la technique est plus délicate que celles utilisées habituellement dans les laboratoires de contrôle et qu'elle exige un personnel spécialement formé, notamment pour l'interprétation. C'est certain. Nous en sommes les premiers conscients et c'est pourquoi, avec l'aide de la firme TECHNICON, nous travaillons à la vulgarisation, la simplification et l'automatisation de la méthode, de façon à ce qu'elle soit, à un peu plus long terme, à la portée de tous, sans pour autant requérir un personnel particulièrement qualifié.

2) que la technique est lourde d'utilisation : 50 grains représentent actuellement 2 jours de travail pour 1 personne, d'où le coût élevé des analyses actuelles.

C'est aussi pourquoi les travaux d'automatisation entrepris ont aussi pour but d'accroître considérablement les rendements et peut-être jusqu'au niveau de 1000 grains par jour, donc 20 x 50 ou 10 x 100 grains.

3) que le temps de réponse est trop élevé et que la méthode n'est pas utilisable au moment de la collecte dans les organismes stockeurs.

Ce temps de réponse pourra certainement être abaissé, mais il faut se garder de penser que ce temps pourra devenir ultra-court, car, comme on l'a dit au début, l'identification des variétés requiert une méthode très spécifique. Or spécificité est synonyme de protéines, donc d'électrophorèse, donc de temps de migration dans un support, qui ne seront jamais instantanés.

Pour longtemps encore (peut-être jusqu'à l'utilisation de tests immunologiques, domaine dans lequel nous sommes encore peu avancés) l'électrophorèse restera un test a posteriori. C'est un fait qu'il faut accepter et dont il faut tenir compte. Il faut se garder de croire que la méthode pourra être, moyennant quelques adaptations, réalisable en 5 minutes à la récolte prochaine....

L'électrophorèse pourra en revanche s'utiliser dans les cas suivants :

- contrôles ponctuels sur des prélèvements opérés, eux, systématiquement à la collecte
- litiges importants, expertises
- à l'intervention
- par les utilisateurs qui veulent s'assurer de la composition de lots de blés importants qu'ils ont achetés.

En résumé, il faut savoir - et cela peut être un facteur psychologique très dissuasif - que l'on peut désormais contrôler la variété dans n'importe quel lot de blé. Ce type de méthode pourrait donc, un jour, sous une forme ou sous une autre en conjugaison avec d'autres critères, être retenu : par la législation pour certains niveaux du contrôle céréalière.

CONCLUSION

Je disai très brièvement, qu'il convient de bien dissocier la méthode actuelle, artisanale, issue d'un laboratoire de recherche et qui était jusqu'ici lourde

et sophistiquée, de celle que nous préparons et qui sera d'une utilisation plus simple, tout en permettant des analyses en très grandes séries.

L'important, aujourd'hui, ce n'était pas d'entrer dans les détails techniques, c'était de lancer l'idée, le principe d'un tel contrôle variétal par une technique physico-chimique : l'électrophorèse.

Il est évident que ce type de méthode entrera - c'est la loi du progrès - dans les laboratoires céréaliers, comme il s'est développé dans les laboratoires de contrôle du secteur animal et du secteur médical.

On peut donc penser que, lorsque ce type de technique sera mis en oeuvre, il deviendra possible aux utilisateurs de s'approvisionner en lots de caractéristiques variétales (et donc, dans une certaine mesure, technologiques) définies et capables de satisfaire au mieux les besoins de leurs différentes industries.