

Octobre 1975

ASPECTS GENOMIQUE et CHROMOSOMIQUE de la CONSTITUTION

ELECTROPHORETIQUE des GLIADINES du BLE

et des GENRES APPARENTES

P75-12

par JEAN-CLAUDE AUTRAN

Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés-I.N.R.A.

18, rue Nicolas Fortin - 75013 PARIS

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

L'objectif de cette étude est de faciliter la création et la sélection d'espèces nouvelles ou de formes introgressives à partir d'hybrides intergénériques et interspécifiques. Un tel travail implique une recherche préalable des groupes d'homéologie et des lignées de substitution optimales. Or, on sait que la mise en oeuvre de méthodes biochimiques telles que l'électrophorèse de certaines protéines ou enzymes peut contribuer à alléger les analyses cytogénétiques indispensables. D'où l'intérêt de chercher à préciser notamment la responsabilité des génomes et des chromosomes dans la synthèse des différents composants électrophorétiques observés.

Le présent rapport se limite aux résultats fournis par analyse des protéines alcoolo-solubles de type prolamine (gliadine, chez le blé).

MATERIEL D'ETUDE

- Nombreuses variétés françaises et étrangères de blé tendre et de blé dur
- 3 variétés tétraploïdes dérivées d'hexaploïdes par élimination du génome D (provenance : W. BUSMUK, Canada)
- 38 lignées nulli-tétrasoniques de Chinese Spring (Origine SEARS ?)
- 2I + 2 + 8 lignées ditélosomiques de Chinese Spring (provenance : Mme CAUDERON, Versailles)

.../...

- 21 lignées monosomiques de Courtot (provenance : BERNARD, Clermont-Ferrand)
- 6 lignées d'addition blé-seigle (provenance : BERNARD, Clermont-Ferrand)
- 16 lignées d'addition ou de substitution blé-agropyrum (provenance : Mme CAUDERO Versailles)
- 2 Amphiploïdes blé-aegilops (provenance : Mme DOSBA, Rennes)

METHODES EXPERIMENTALES

- Extraction de la fraction gliadine à partir de 1 grain :

Chaque grain, préalablement écrasé est mis en contact durant une nuit avec 150 μ l de chloro-2-éthanol 25 % afin d'en solubiliser la fraction gliadine. La suspension ainsi obtenue est directement utilisée pour le dépôt des protéines en électrophorèse.

- Electrophorèse en gel d'amidon

Le gel est préparé au moyen d'amidon CONNAUGHT, chauffé à 80° C, à une concentration de 10 % dans du tampon lactate d'aluminium, pH 3,2, μ =0,0045.

L'appareillage utilisé est l'AMIDOPHOR (PLEUGER FRANCE) : gels de dimension 320 x 120 x 6 mm.

Après 2 heures de précourant à 8 V/cm et environ 20 mA par gel, les protéines sont déposées dans le gel au moyen de rectangles de papier whatman n° 3 (10 x 5 mm) imbibés de la solution d'extraction. La migration proprement dite a alors lieu durant 4 h 45 à 8 V/cm et environ 20 mA par gel.

Le gel est alors découpé dans son épaisseur, la partie supérieure est éliminée, la révélation des bandes ayant lieu sur la partie inférieure.

La coloration est effectuée par la nigrosine 0,05 % en milieu trichloracétique 2 % durant une nuit. Le gel est alors rincé dans l'éthanol 40 % pour éliminer l'excès de colorant. On le conserve indéfiniment dans cette même solution.

Les constituants du diagramme peuvent être repérés grâce à leur mobilité relative soit à partir du gel, soit à partir d'une photographie. L'échelle des mobilités va de 0 (dépôt) à 100 (α gliadine la plus rapide), le constituant majeur des γ gliadines de blé tendre servant de marqueur.

.../...

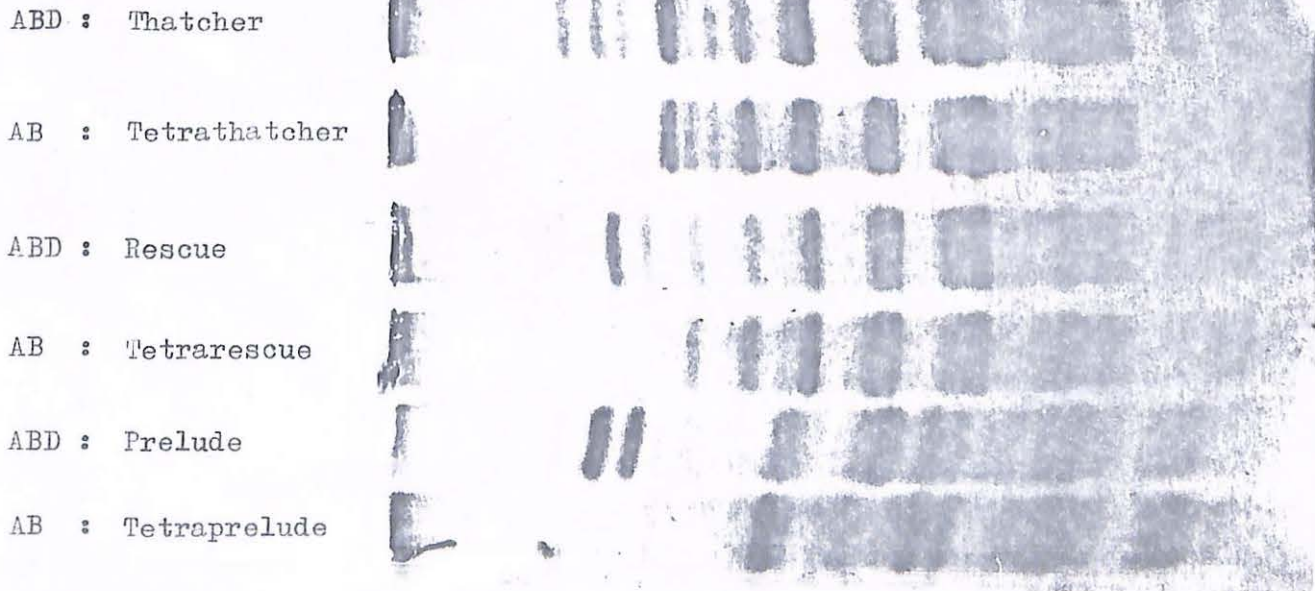
Figure 1: Comparaison blé dur-blé tendre



Figure 2: Diagramme inexpliqué de T. carthlicum



Figure 3: Blés tétraploïdes dérivés d'hexaploïdes par élimination du genome D



RESULTATS ET DISCUSSIONS

1) Comparaison blé dur - blé tendre: Figure 1.

Les blés durs (*T. durum*) ne possèdent de composants que dans la zone de mobilité 34-100, alors que les blés tendres (*T. vulgare*) en renferment dans la zone 21-100. Les composants de la zone 21-30 (c'est-à-dire soit les bandes 22-26-30 dans les diagrammes du type A, soit les bandes 21-25-28 chez les diagrammes de type B) sont considérés comme dépendants du génome D.

Quelques points méritent encore d'être éclaircis:

- L'exception présentée par la variété Darius qui se comporte, pour ce qui est des gliadines, comme un blé dur. (Il semble que les Australiens aient rencontré le même cas avec leur variété India).

- Sans qu'une étude systématique des autres espèces hexaploïdes et tétraploïdes de *Triticum* n'ait encore été entreprise, on a observé que *T. carthlicum* (souches 107 et 838) tétraploïde, possédait, comme les blés tendres, les composants 26 et 30 (figure 2).

2) Variétés tétraploïdes dérivées d'hexaploïdes par élimination du génome D.

Chez les variétés Thatcher, Rescue et Prelude, l'élimination du génome D entraîne la perte des composants de la zone 21-30 du diagramme (figure 3). Le tétraploïde dérivé présente donc un diagramme du type blé dur. Le résultat semble moins net dans le cas de Tétraprelude, ce qui pourrait être en accord avec la translocation d'un fragment du chromosome 1D sur un chromosome du génome A (signalé par KALTSIKES). DRONZEK (1970) aboutit à des conclusions différentes (pas de différence entre les diagrammes gliadines des hexaploïdes et des tétraploïdes dérivés), mais cela provient certainement de la très médiocre résolution des bandes qu'il obtient.

3) Lignées nulli-tétrasoniques de Chinese Spring.

38 lignées ont été analysées (manquaient: les N2A - T2D, N4A - T4D, N2A - T2B, N4A - T4B). A titre d'exemple, les résultats sont illustrés (figures 4, 5 et 6) par les séries nulli D - tétra A, nulli B - tétra A et nulli A - tétra D, respectivement.

Figure 4: Série nulliD-tétra A:

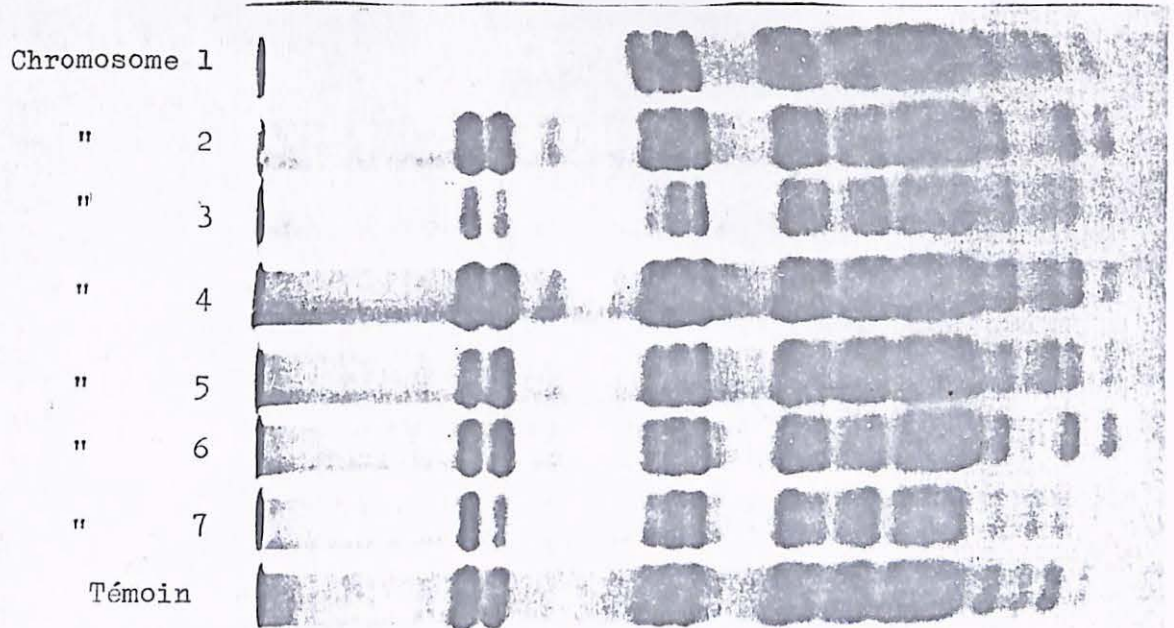


Figure 5: Série nulli B - tétra A:

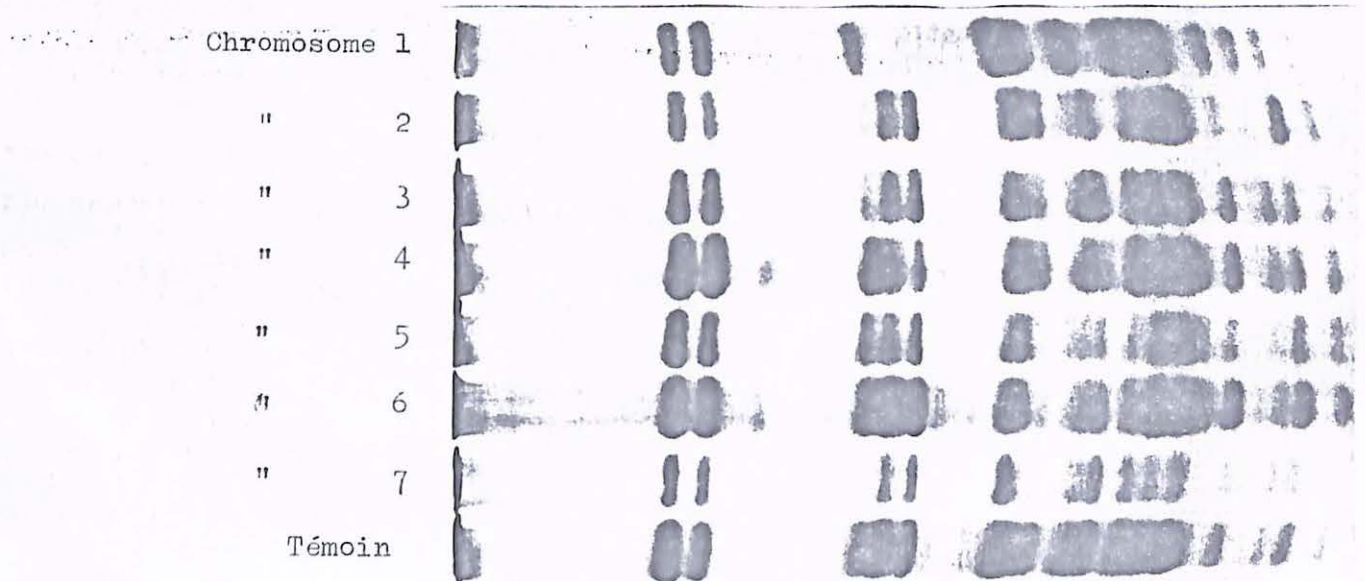
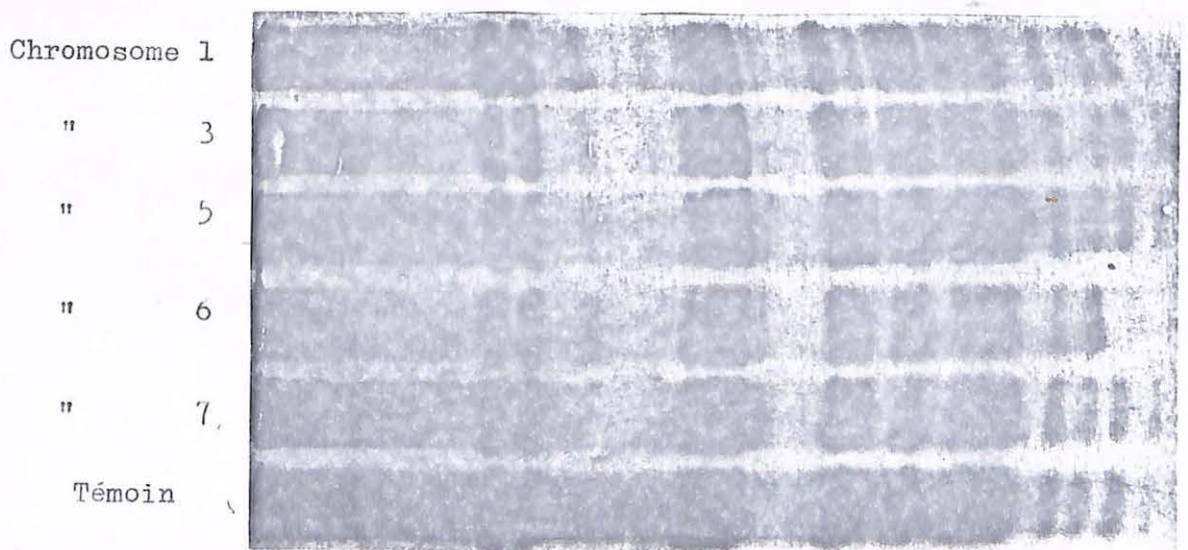


Figure 6: Série nulli A - tétra D:



Ce travail n'est pas original car il a été déjà réalisé par SHEPHERD (1968). Bien que la comparaison du résultat obtenu par deux techniques voisines mais non identiques soit parfois malaisée (diagrammes légèrement différents, repérage des bandes par leur mobilité chez nous, par des groupes: $J_1, J_2, K_1, K_2, K_3, L_1, L_2, \dots$ chez SHEPHERD) on peut dire que nos résultats confirment, pour l'essentiel, ceux de SHEPHERD:

- Les composants 26 (J_2) et 30 (J_3) (dont on savait déjà qu'ils dépendaient du génome D) dépendent plus précisément du chromosome I D car ils disparaissent chez tous les nulli I D.

- De même, les composants 52 (K_2), 53 (K_3) et 55 (K_4) dépendent du chromosome I B.

- Le composant 49 (K_1) dépend du I A.

- Le composant 96 (M_5) dépend du 6 D.

- Les composants 98 (M_6) et 100 (M_7) dépendent du 6 A.

Par contre, nous n'avons pas pu confirmer que les bandes L_3b et M_2 de SHEPHERD dépendaient du I B car ces composants n'ont pas été nettement identifiés dans notre diagramme.

Nous confirmons, par ailleurs, que la bande 96 (M_5) disparaît dans le nulli 2 D - tétra 2 A mais pas dans le nulli 2 D - tétra 2 B. Selon SHEPHERD ce serait le chromosome 2 A qui (surtout lorsqu'il serait présent en 4 exemplaires) inhiberait la capacité du chromosome 6 D à synthétiser le composant M_5 .

Nous considérons d'autre part que l'effet de dosage des chromosomes est assez peu visible dans nos diagrammes. Les chromosomes tétrasomiques n'accroissent pas de façon très significative par rapport aux disomiques, la concentration des bandes qu'ils commandent. On remarque bien que 49 est relativement plus concentré chez les tétra I A, de même pour 52-53-56 chez les tétra I B mais cela n'est pas aussi évident que ce que SHEPHERD le prétend d'autant qu'on observe dans les diagrammes de nombreuses autres anomalies d'ordre quantitatif par rapport au témoin, notamment divers remaniements dans le groupe des α -gliadines. Cela pourrait aussi provenir du fait que tous les grains n'ont pas été contrôlés et que certaines lignées sont peut être trisomiques et non tétrasomiques (?).

En résumé, sur les 18 bandes du diagramme, 9 (10 chez SHEPHERD) paraissent dépendre d'un seul chromosome. Selon SHEPHERD, quatre autres bandes dépendraient de 2 chromosomes et 4 autres, de 3 chromosomes, ce qui masquerait leur disposition théorique chez les nullisomiques.

Il faut en outre signaler que WRIGLEY et SHEPHERD (1973) ont poursuivi ce travail par une technique de séparation plus fine en associant l'électrophorèse en gel d'amidon à l'électrofocalisation en gradient de pH. Sur des cartes en 2 dimensions, 46 composants ont été alors mis en évidence. 33 d'entre eux paraissaient dépendre d'un chromosome unique: 4 pour le 1D, 6 pour le 1B, 3 pour le 1A, 5 pour le 6D, 10 pour le 6B, 5 pour le 6A. Ce sont donc bien les chromosomes 1 et 6 de chaque génome qui gouvernent la synthèse des composants gliadines.

LIGNÉES DITÉLOSOMIQUES DE CHINEESE SPRING

Figure 7 : Résultats obtenus sur les lignées de groupes 1 et 6

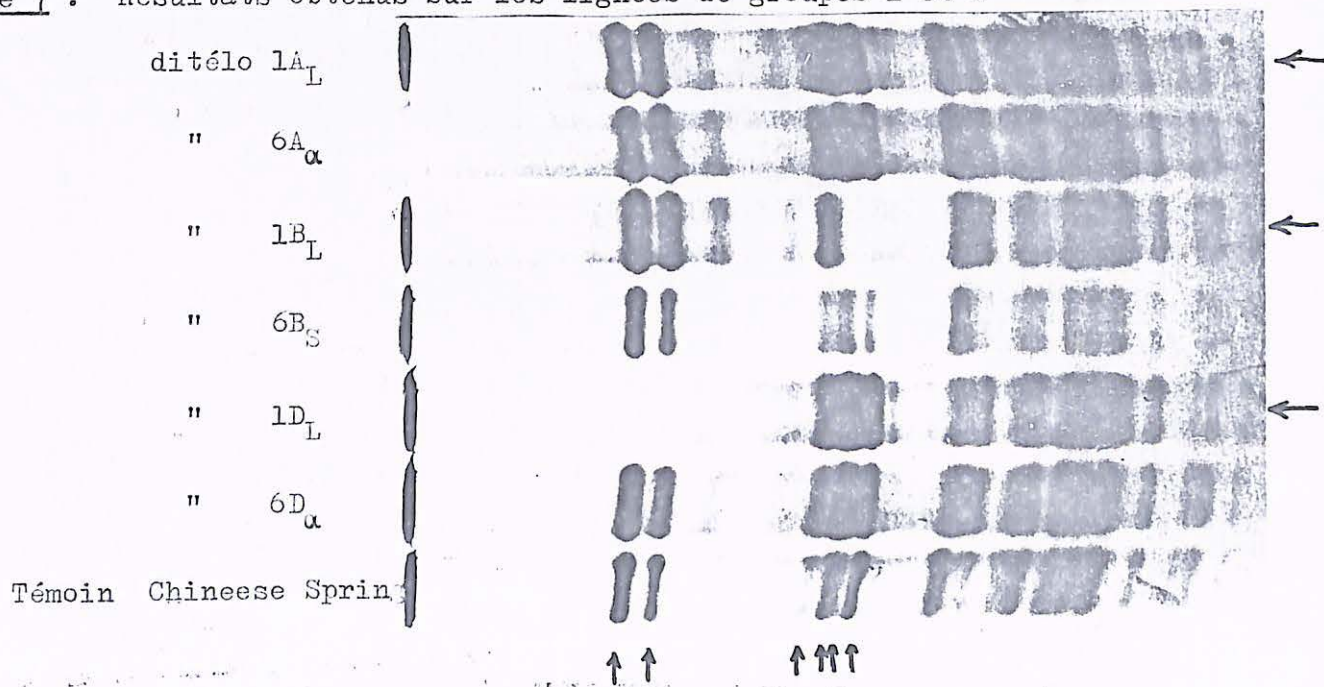


Figure 8 : Anomalies constatées chez ditélo 4D_? (envoi du 25.3.75)

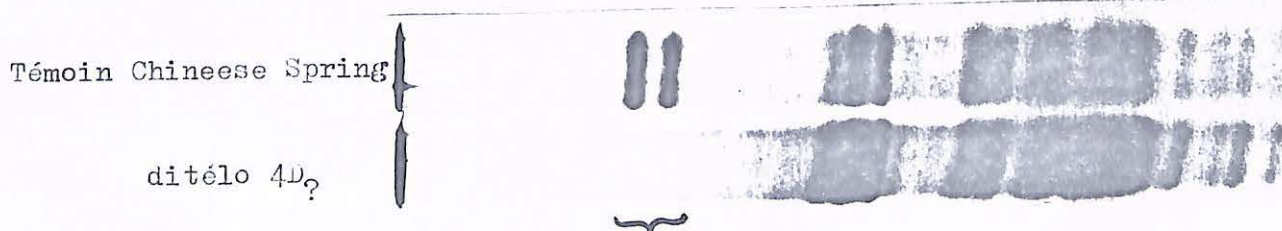


Figure 9 : Confirmation des anomalies chez les ditélo 4D (envoi du 3.7.75)



L'identification exhaustive des composants dépendant de chaque chromosome restera toujours délicate car même par électrofocalisation (a fortiori par notre technique d'électrophorèse en gel d'amidon) la limite d'hétérogénéité des gliadines n'est pas atteinte, d'une part, parce que certains composants révélés cachent encore en réalité 2 ou plusieurs espèces moléculaires différentes dépendant de chromosomes différents, d'autre part, parce que nos techniques de séparation ne mettent en évidence que les mutations portant sur les seuls acides aminés chargés toutes celles concernant les autres acides aminés n'étant pas détectées.

Il faut enfin rappeler que tous ces résultats ont été obtenus sur la seule variété Chinese Spring. Chaque chromosome (du groupe I et du groupe 6) gouverne la synthèse de quelques composants électrophorétiques, répartis apparemment au hasard dans le diagramme de cette variété. On observe toutefois que les composants ω et γ -gliadines (mobilités 26 à 74) dépendent exclusivement de chromosomes du groupe I alors que les β et α gliadines dépendent, pour la plupart, du groupe 6. Cependant comme il n'y a pas, à l'exception de la zone 26-30, de large région dépendant d'un même chromosome, il reste difficile de transposer directement ces résultats obtenus sur Chinese Spring aux autres variétés, car chaque diagramme variétal constitue un cas d'espèce.

4) Lignées ditélosomiques de Chinese Spring

On a analysé le matériel suivant :

	(I A _L , 2 A _S , 3 A _{α} , 4 A _? , 5 A _L , 6 A , 7 A _L	
reçu le 25-3-75	(I B _L , 2 B _L , 3 B _L , 4 B _L , 5 B _L , 6 B _S , 7 B _L	
	(I D _L , 2 D _{α} , 3 D _{α} , 4 D _? , 5 D _L , 6 D _{α} , 7 D _S	
reçu le 3-7-75	(4 D/I	
	(4 D/2	
reçu le 11-9-75	(I B _S , 4 A _{α} , 6 B _L , 7 A _S	
	(4 D _S , 6 D _{β} , 7 B _S	
	(4 D _L	

a) Différences observées par rapport au témoin C.S. chez les ditélo 1 et 6.

L'étude des nulli-tétra a permis d'identifier 9 composants (26, 30, 49, 52, 53, 55, 96, 98, 100) qui paraissent dépendre d'un chromosome déterminé du groupe 1 ou du groupe 6. L'étude des ditélosomiques doit permettre de connaître plus précisément, pour chacun de ces chromosomes, quel est le bras responsable.

La figure 7 rassemble les résultats obtenus sur les groupes 1 et 6:

- les bandes 26 et 30, qui disparaissent chez ditélo 1D_L (comme chez les nulli 1D), sont donc certainement gouvernées par des gènes du bras S.
- la bande 49 paraît affaiblie chez ditélo 1A_L et pourrait dépendre du bras S, mais ceci reste à confirmer par l'analyse d'un ditélo 1A_S, car la disparition n'est pas nette.
- les bandes 52-53-55 existent chez ditélo 1B_S, disparaissent chez ditélo 1B_L (comme chez les nulli 1B) et dépendent donc certainement du bras S.

LIGNEES DITELOSOMIQUES DE CHINEESE SPRING

Figure 10 : Comportement des nouvelles lignées 4D (envoi du 11.9.75)

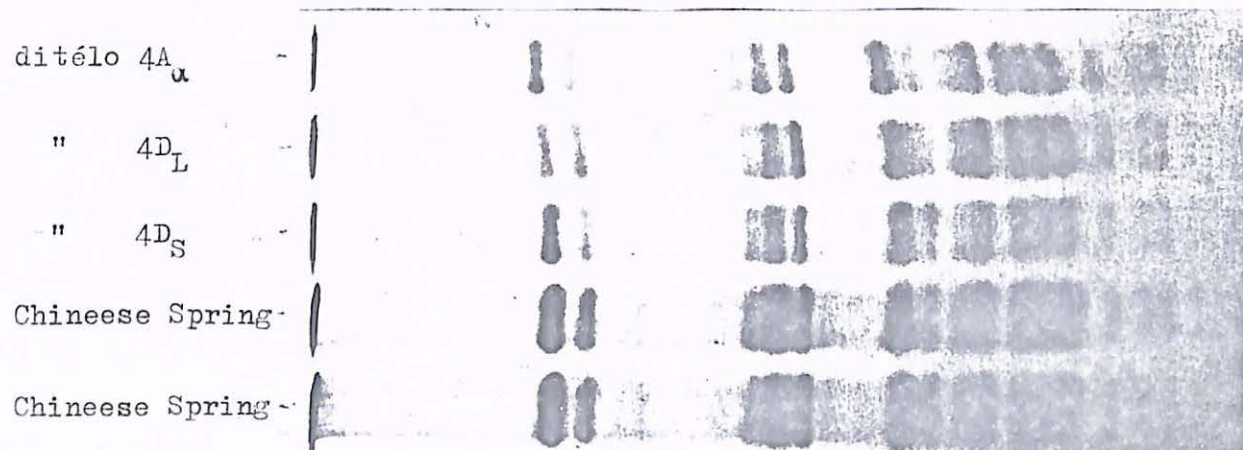
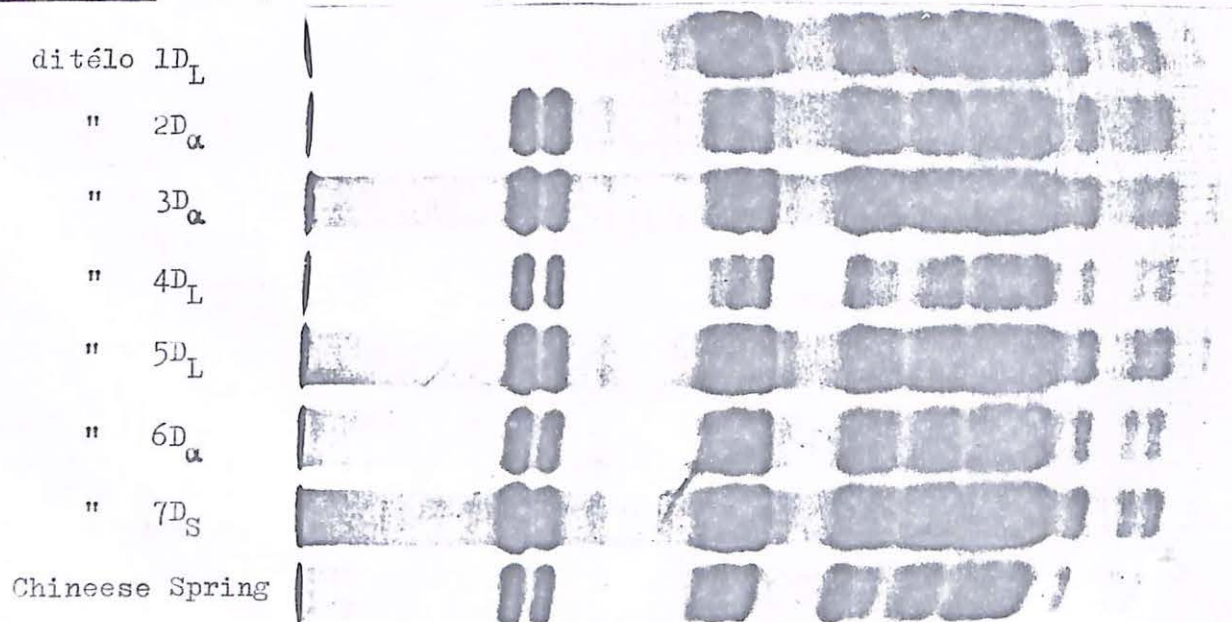


Figure 11 : Comportement de quelques autres lignées ditélosomiques



- La bande 96 existe chez ditélo 6¹A_α et disparaît chez 6 D_β. Elle devrait donc dépendre du bras α.

- Les bandes 98 et 100 existent chez ditélo 6 A_α et devraient dépendre de ce bras α.

Sur ces 9 composants, on a identifié le bras responsable de façon certaine pour 4 d'entre eux (52, 53, 55, 96), de façon très probable pour 4 autres (26, 30, 98, 100), mais une confirmation par les ditélos opposés, c'est-à-dire 1D_S et 6A_β, est souhaitable. Le problème paraît moins simple avec le composant 49^S et l'analyse du ditélo 1A_S est nécessaire.

composant gliadine marqueur :	bras du chromosome correspondant :
26	1D _S
30	1D _S
49	1A _S (?)
52	1B _S
53	1B _S
55	1B _S
96	6D _α) 6 DP=L
98	6A _α)
100	6A _α)

selon Karsak
6A β = L *selon Karsak*

6 B_α

b) Anomalies constatées chez les ditélos 4D.

Le diagramme trouvé pour le ditélo 4D[?] (série reçue le 25.3.75) ne correspond pas à ce qu'on attendait. Cette lignée se comporte en effet exactement comme les nullisomiques 1D (absence des bandes 26 et 30). Ce résultat a été confirmé sur 2 autres grains de la même série ainsi que sur 2 grains des lignées 866 4D/1 et 866 4D/2 (reçues le 3.7.75). (figures 8 et 9).

En revanche, les lignées 4D_S et 4D_L (reçues le 11.9.75) se comportent normalement, c'est-à-dire qu'elles ne présentent aucune différence par rapport au témoin C.S. (figure 10)

L'anomalie constatée chez les ditélos 4D_γ de CHAPMAN aurait pu faire penser à l'existence d'un facteur présent sur un bras du 4D qui induirait la synthèse des bandes 26-30 au niveau du 1D. Mais le diagramme normal trouvé chez les ditélos 4D_S et 4D_L ne semble laisser place qu'à l'hypothèse d'une erreur dans le contrôle des premières lignées 4D_γ.

c) Autres lignées ditélosomiques (groupes 2, 3, 5, 7).

Leur diagramme ne présente aucune différence par rapport au témoin (figure 11).

5) Lignées monosomiques de Courtot.

Dans la collection mondiale d'aneuploïdes, on a utilisé presque toujours la variété Chinese Spring. Or cette variété est peu adaptée aux conditions agro-climatiques de la France. Il était donc nécessaire de transférer ces séries aneuploïdes sur un blé français cultivé et non dépassé. D'où le choix de Courtot en 1970 et la réalisation de la série monosomique dont on a analysé les gliadines.

Figure 12 : Analyse des moutures de grains

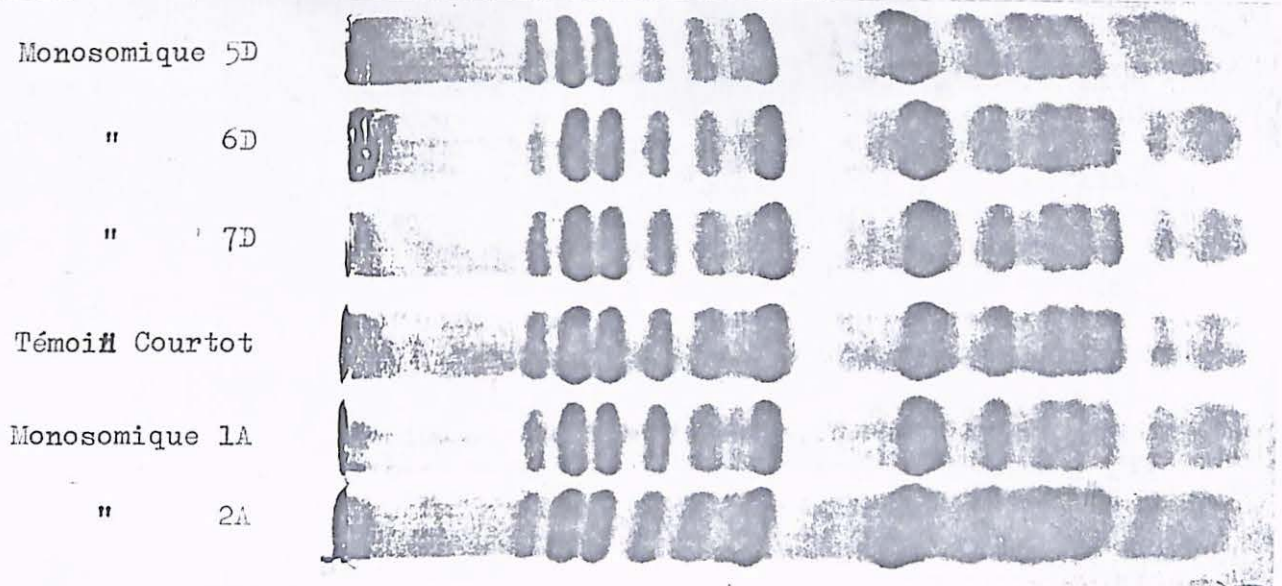


Figure 13 : Analyse de 1/2 grains confirmés cytologiquement

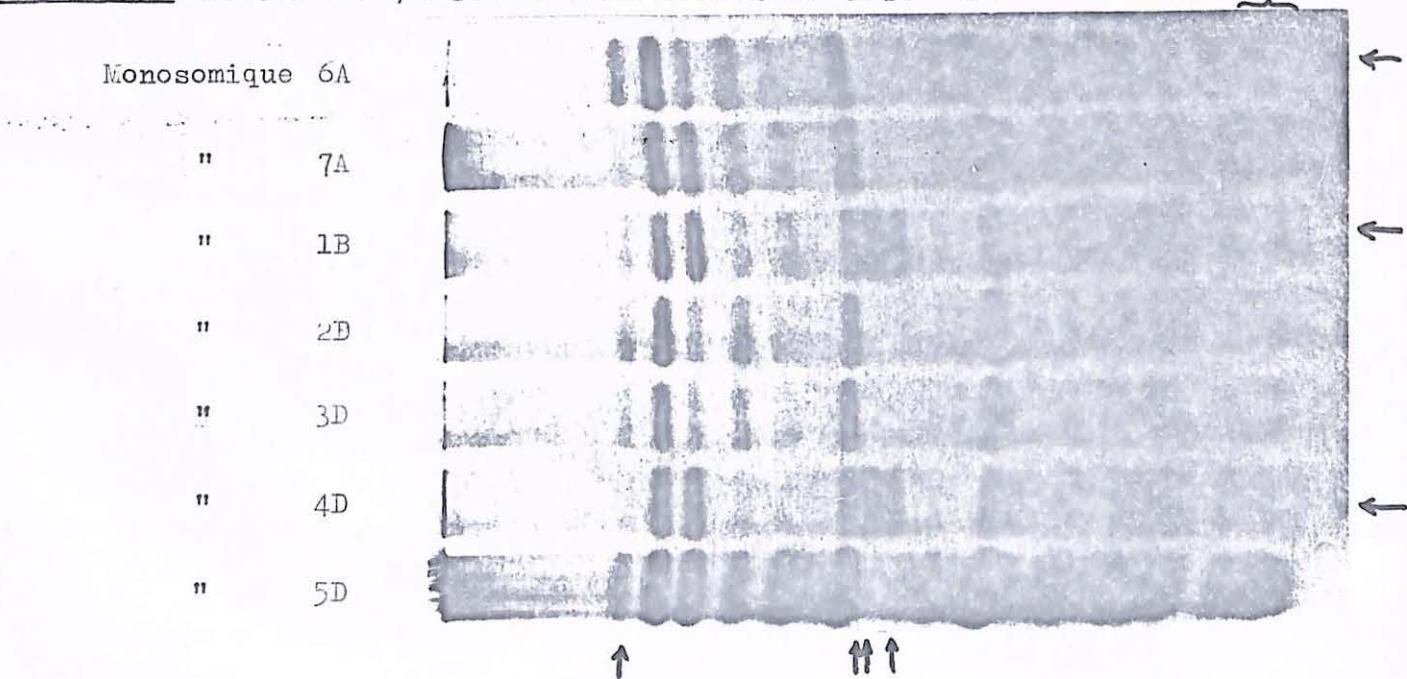
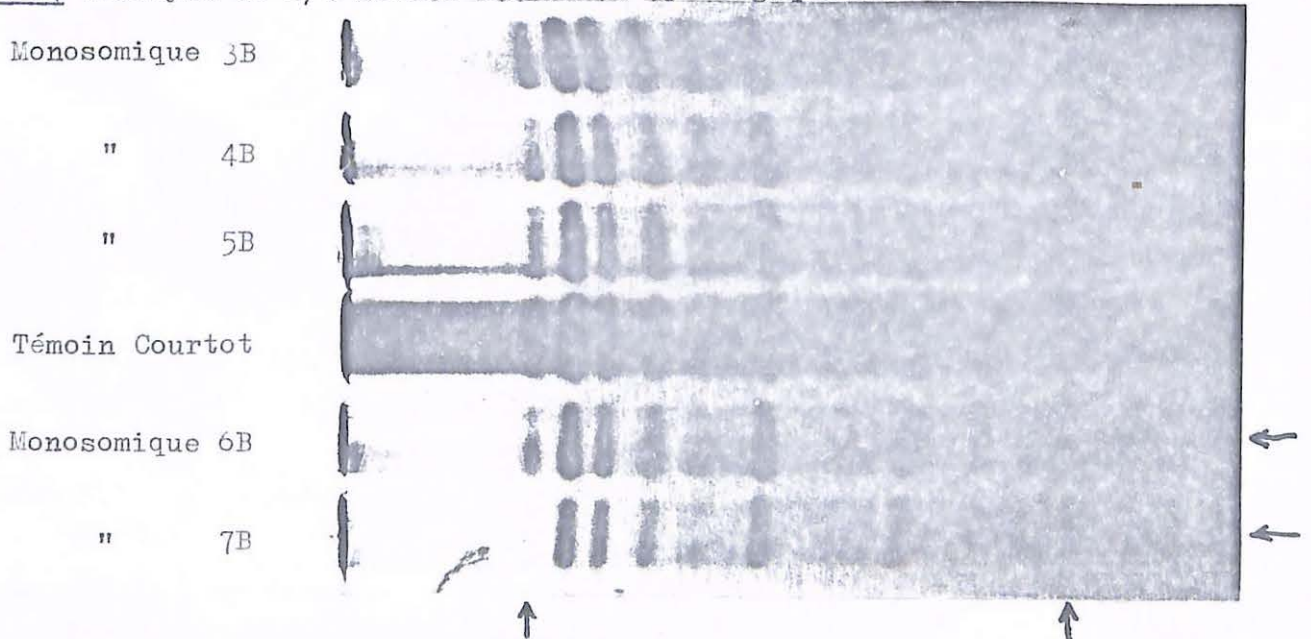


Figure 14 : Analyse de 1/2 grains confirmés cytologiquement



a) Analyse des moutures globales de grains issus de l'autofécondation des 21 monosomiques :

Comme l'illustre la figure 12, aucune différence significative n'a été décelée entre chacune des 21 lignées et le témoin, probablement en raison de l'hétérogénéité du matériel (mélange de nulli, mono et disomiques).

b) Analyse des 1/2 grains confirmés cytologiquement: 21 lignées: figures 13 et 14:

Quelques différences ont été décelées chez certains 1/2 grains des lignées 3A, 3B, 4D, 7A, 7B (apparition des bandes supplémentaires 52-53-55, disparition de la bande 22), mais ces différences ne se sont pas confirmées lorsqu'on a analysé d'autres 1/2 grains monosomiques du même chromosome. Il est donc difficile de les exploiter. On peut cependant remarquer que l'absence de 22 et la présence de 52-53-55 sont des caractères typiques de Chinesee Spring, de sorte que cela pourrait signifier chez certains des grains mono 3A, 3B, 4D, 7A, 7B ainsi marqués, une sorte de retour à Chinesee Spring.

L'examen plus approfondi des diagrammes de monosomiques des groupes 1 et 6 permet néanmoins quelques observations reproductibles:

- Chez mono 6B, il y a un net affaiblissement de la bande 85
- Chez mono 6A: affaiblissement de 96-98
- Chez mono 1D: affaiblissement de 22-26-30
- Chez mono 6D, 1A, 1B: rien de visible.

Bien que ces derniers résultats soient naturellement moins nets que lors de l'analyse des nulli-tétrasoniques ou des ditélosomiques, il semble bien qu'on ait trouvé quelques marqueurs chromosomiques de Courtot. Comme on le signalait ci-dessus (§ 3), la correspondance n'est pas la même que chez C.S. en raison de la différence des diagrammes. Ainsi, il semble que le composant 85 soit ici marqueur du 6B, alors que ce chromosome n'avait pu être relié à aucun composant visible chez C.S.

6) Lignées d'addition blé-seigle.

On a comparé les diagrammes d'un blé (Fec 28), d'un seigle (lignée 10 tirée de Petkus), de l'amphiploïde blé-seigle (Triticale T 204), à ceux de 6 lignées d'addition blé-seigle (A, B, C, D, E, F). Ces lignées contiennent chacune $2n = 44$ chromosomes (42 du blé + 1 paire du seigle). La correspondance, établie par BERNARD, avec les groupes d'homéologie est la suivante:

A = 412
B = 3R/7R) sous toute réserve
C = 7R/3R
D = 2R
E = 5R
F = 1R
G non analysée car lignée stérile

L'analyse de cette série doit permettre l'identification de la (ou des) paire (s) de chromosomes du seigle responsables de la synthèse des composants gliadines.

La figure 15 montre précisément que toutes les lignées d'addition sont identiques au témoin blé, à l'exception de la F qui porte plusieurs composants supplémentaires (mobilités 45, 50, 53, 56, 73, 78). De toute évidence ces composants proviennent du seigle car ils caractérisent le diagramme de cette espèce et apparaissent aussi dans tous les Triticale, notamment T 204.

LIGNÉES D'ADDITION BLE-SEIGLE

Figure 15 : Comportement de 6 lignées d'addition blé-seigle ($2n = 44$)

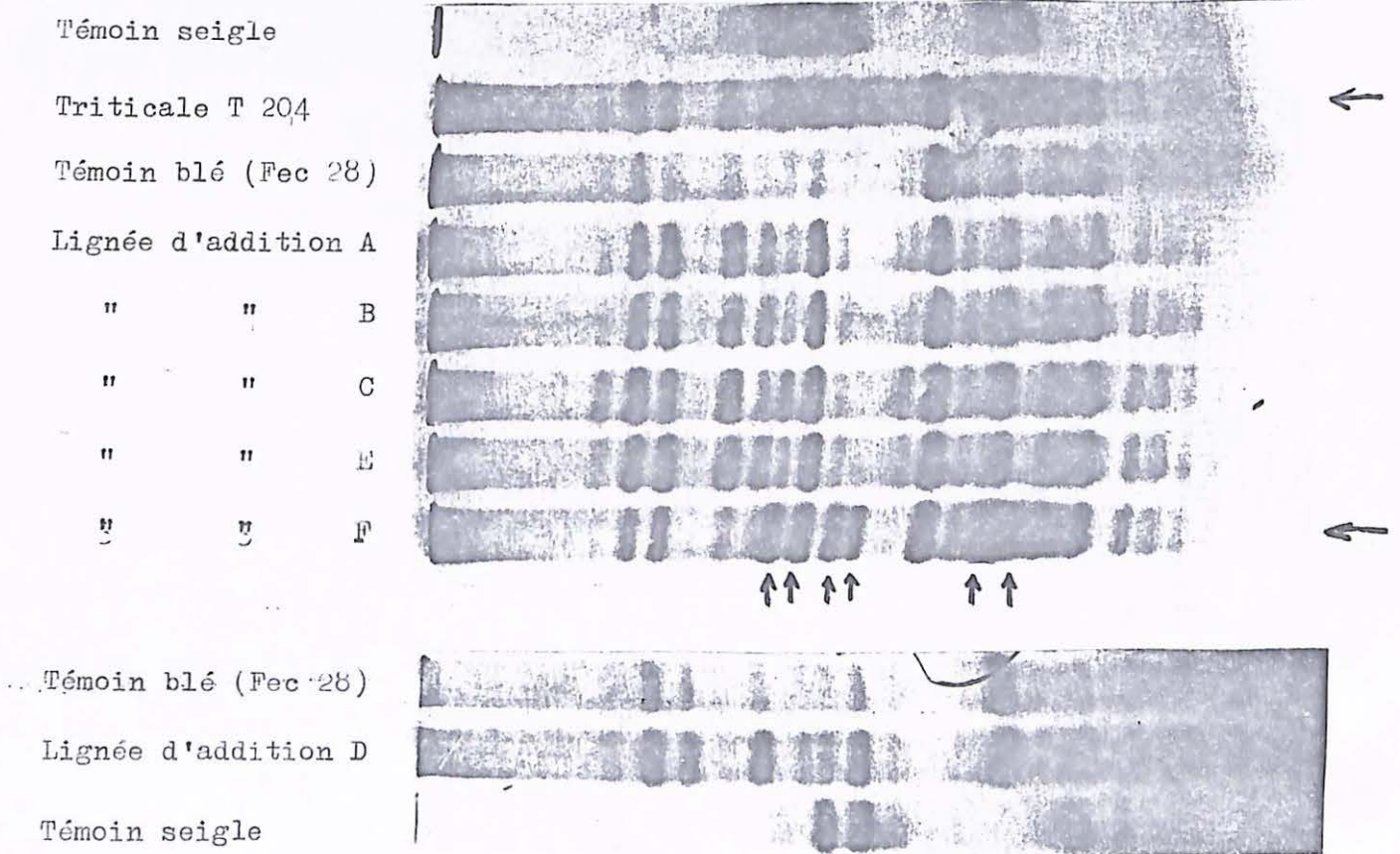


Figure 16 : Comportement de la variété Clément qui contient un chromosome 1R



Figure 17 : Comportement de quelques lignées d'addition blé-agropyrum

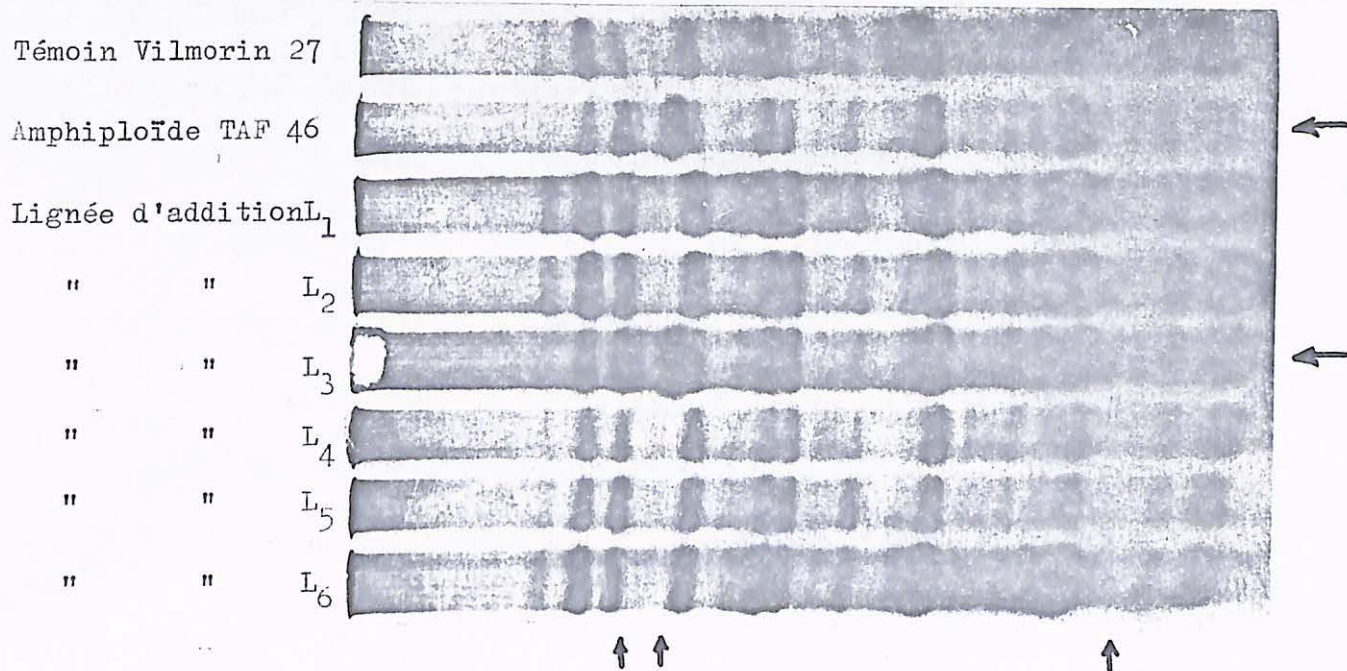


Figure 18 : Comportement de quelques lignées de substitution blé-agropyrum

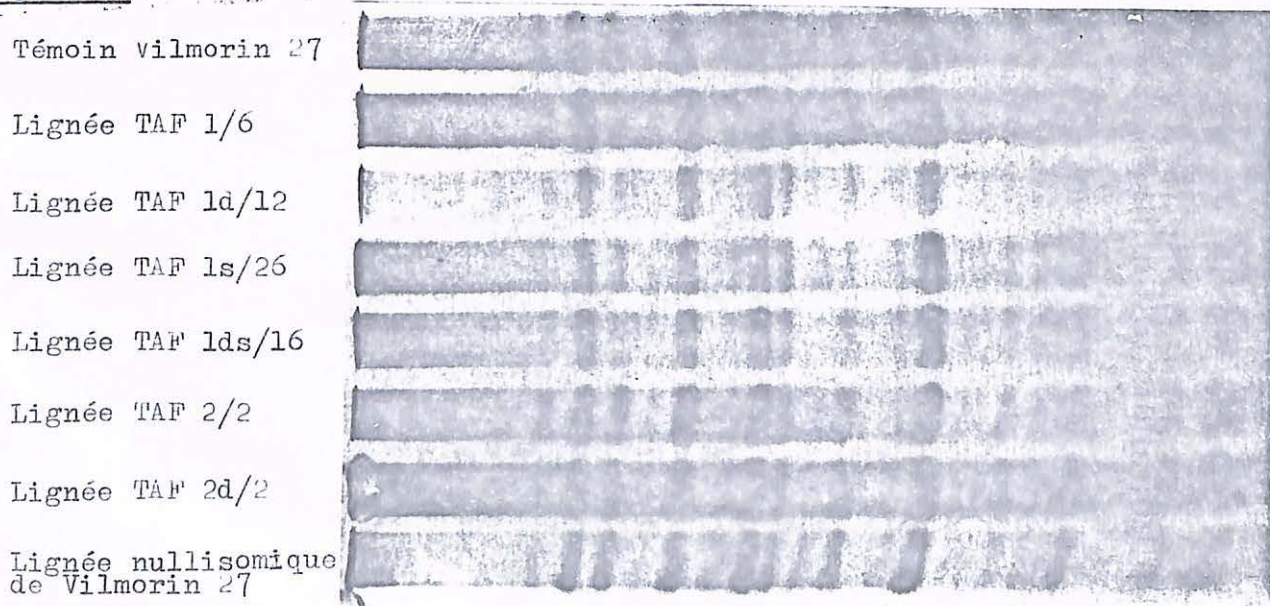
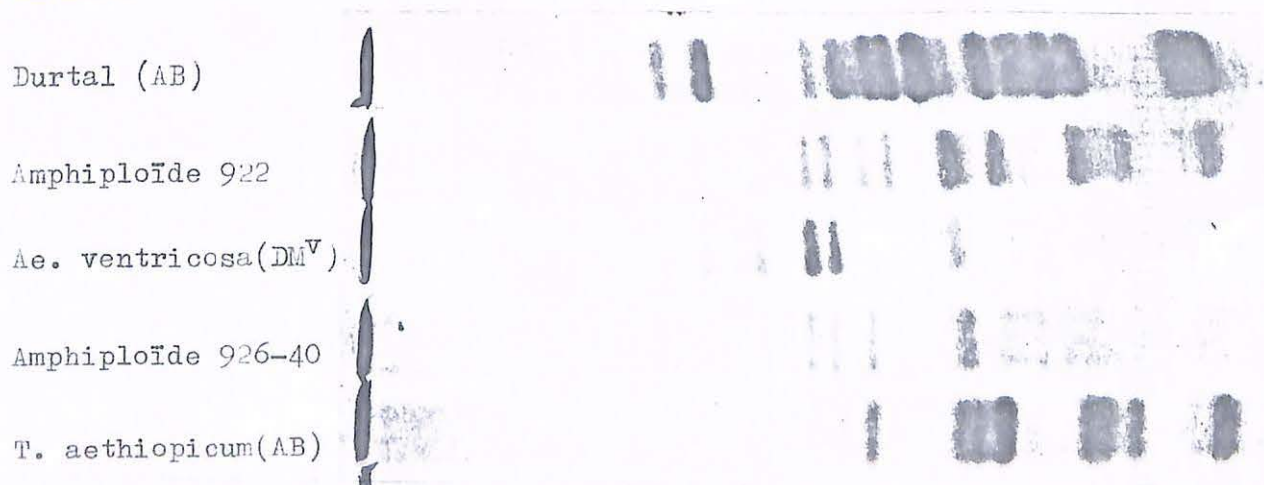


Figure 19: Comportement de deux amphiploïdes blé-aegilops ventricosa



↑ ↑

↑

Figure 18 : Comportement de quelques lignées de substitution blé-agropyrum

Témoin vilmorin 27

Lignée TAF 1/6

Lignée TAF 1d/12

Lignée TAF 1s/26

Lignée TAF 1ds/16

Lignée TAF 2/2

Lignée TAF 2d/2

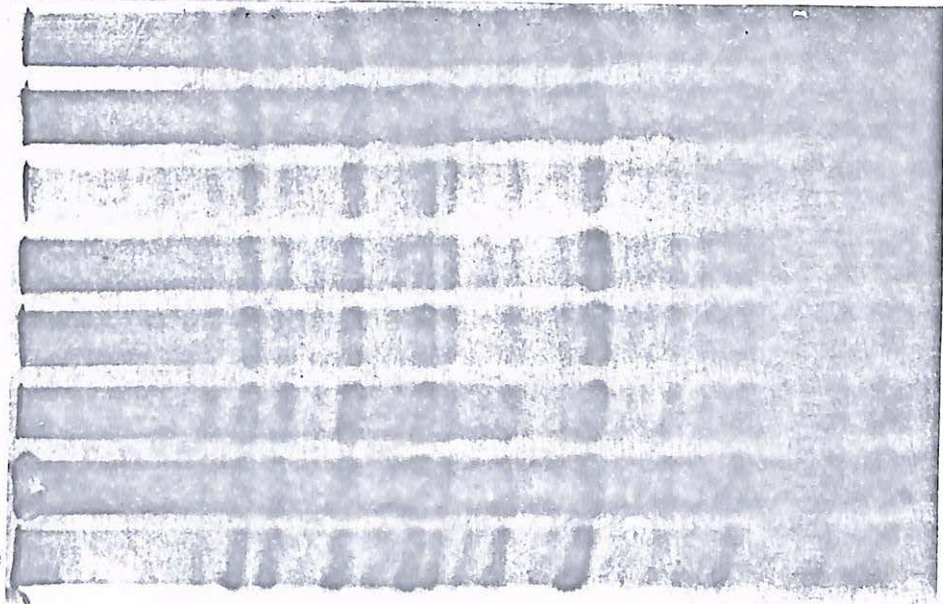
Lignée nullisomique
de Vilmorin 27

Figure 19: Comportement de deux amphiploïdes blé-aegilops ventricosa

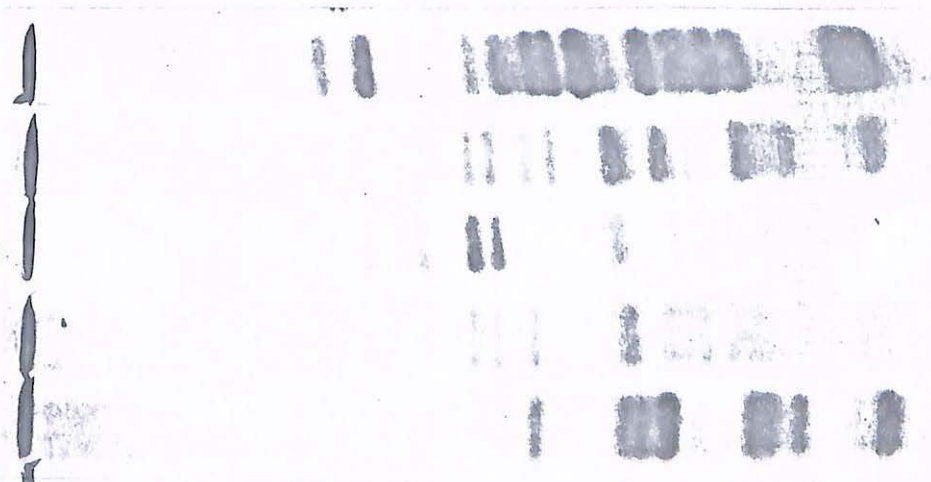
Durtal (AB)

Amphiploïde 922

Ae. ventricosa (DM^V)

Amphiploïde 926-40

T. aethiopicum (AB)



Les principaux composants gliadines du seigle dépendent donc du chromosome F, c'est-à-dire du groupe d'homéologie I R.

Une confirmation est encore apportée par l'analyse du blé Clément. Clément est porteur du chromosome I R (ou d'un fragment du chromosome I R). (Voir figure I6). Clément renferme notamment des composants majeurs 45 et 53, que l'on ne rencontre pratiquement jamais chez les blés. La variété allemande Benno est dans le même cas et devrait normalement porter le même fragment de chromosome I R.

On rappelle que SHEPHERD (1968) avait réalisé un travail similaire avec les seigles King II et Impérial. L'auteur avait démontré que les bandes majeures du diagramme seigle étaient sous la dépendance du chromosome V. La correspondance avec les groupes d'homéologie n'était pas encore rigoureusement établie, mais selon toute vraisemblance le chromosome V s'apparentait au groupe I. La confirmation a d'ailleurs été apportée par la suite (SHEPHERD, 1973).

7) Lignées d'addition ou de substitution blé - agropyrum.

Il s'agit de lignées d'addition ou de substitution de certains chromosomes d'Agropyrum sur le blé tendre Vilmorin 27, sélectionnées pour leur résistance aux rouilles du blé.

a) Lignées d'addition isolées de l'amphiploïde TAF 46:

TAF 46 ($2n = 56$) renferme les 42 chromosomes du blé + les 7 paires (X) de l'Agropyrum.

6 lignées d'addition: L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 et L_7 ($2n = 44$) renfermant 42 chromosomes du blé + 1 paire de l'Agropyrum ont été isolées de l'amphiploïde TAF 46. La lignée L_6 n'a pu être isolée.

Comme chez les lignées blé-seigle, l'analyse des diagrammes devrait permettre de détecter le groupe d'homéologie responsable de la synthèse des composants gliadines.

La figure I7 montre que l'amphiploïde TAF 46 se différencie du témoin V 27 par la présence de trois bandes supplémentaires (3I, 37 et 85) et peut être aussi par l'affaiblissement de la 22. Ces 3 bandes supplémentaires réapparaissent dans une des lignées d'addition et une seule: la L_3 .

b) Autres lignées d'addition ou de substitution:

D'autres lignées d'addition ou de substitution ont été analysées (TAF I/6, TAF Id/I2, TAF Is/26, TAF Ids/I6, TAF 2/2, TAF 2d/2, TAF 2ds/3, TAF Id + 2d6I0/I7) ainsi qu'une lignée nullisomique de V27 déficiente pour un chromosome mixte 5Bs/7Bs. Mais comme l'illustre la figure I8, aucune ne présente de différence par rapport au témoin V27.

8) Amphiploïdes blé - aegilops.

On a analysé l'amphiploïde 922 = Aegylops Ventricosa II x Durtal
et l'amphiploïde 926 = Aegylops Ventricosa II x T. aethiopicum

La figure I9 montre que ces amphiploïdes héritent de composants provenant à la fois du parent σ et du parent ϕ . Toutefois, l'amphiploïde porte quelques composants ne semblant pas préexister chez les parents. Il est difficile de pousser plus loin cette interprétation.

composants gliadines.

La figure I7 montre que l'amphiploïde TAF 46 se différencie du témoin V 27 par la présence de trois bandes supplémentaires (3I, 37 et 85) et peut être aussi par l'affaiblissement de la 22. Ces 3 bandes supplémentaires réapparaissent dans une des lignées d'addition et une seule: la L₃.

b) Autres lignées d'addition ou de substitution:

D'autres lignées d'addition ou de substitution ont été analysées (TAF I/6, TAF Id/I2, TAF Is/26, TAF Ids/I6, TAF 2/2, TAF 2d/2, TAF 2ds/3, TAF Id + 2d6I0/I7) ainsi qu'une lignée nullisomique de V27 déficiente pour un chromosome mixte 5Bs/7Bs. Mais comme l'illustre la figure I8, aucune ne présente de différence par rapport au témoin V27.

8) Amphiploïdes blé - aegilops,

On a analysé l'amphiploïde 922 = Aegylops Ventricosa II x Durtal
et l'amphiploïde 926 = Aegylops Ventricosa II x T. aethiopicum

La figure I9 montre que ces amphiploïdes héritent de composants provenant à la fois du parent ♀ et du parent ♂. Toutefois, l'amphiploïde porte quelques composants ne semblant pas préexister chez les parents. Il est difficile de pousser plus loin cette interprétation.

CONCLUSIONS

Une partie des résultats rapportés ici n'est que la confirmation de ce qui a été trouvé par WRIGLEY et SHEPHERD. On redémontre ainsi que ce sont bien les groupes d'homéologie 1 et 6 qui gouvernent la synthèse des composants gliadines et on confirme qu'une dizaine de composants électrophoriques du diagramme peuvent être considérés comme marqueurs respectifs des chromosomes 1A, 1B, 1D, 6A et 6D. De même, on redémontre que les principaux composants du diagramme seigle sont sous la dépendance du chromosome 1R.

En outre, cela permet de tirer certaines conclusions auxquelles d'autres n'ont peut être pas pensé. Ainsi la distribution de ces composants marqueurs de chromosomes à l'intérieur du diagramme gliadine de C. S. appelle selon nous une remarque intéressante. On aurait pu s'attendre, en effet, à trouver dans des régions distinctes les bandes apportées par les progéniteurs détenteurs des génomes A, B et D. Or, il n'en est rien, car ces groupes de bandes dépendant de chacun des génomes s'interpénètrent parfaitement (à l'exception du groupe 26-30 qui caractérise toujours le génome D), de sorte qu'aucune extrapolation à l'ensemble des variétés ne peut être réalisée. En revanche, ce sont les composants marqueurs respectivement du groupe 1 et du groupe 6 qui se trouvent assez nettement séparés dans le diagramme, les ω -gliadines étant par exemple exclusivement sous la dépendance du groupe 1. Cela appelle certainement à réflexion car, au plan phylogénique, il est important de savoir que la distinction entre les groupes 1 et 6 apparaît plus nette qu'entre les génomes eux-mêmes. On peut alors imaginer, comme l'ont signalé SHEPHERD et JENNINGS (1971), que les gènes qui contrôlaient les composants gliadines dans l'ancêtre commun diploïde des Triticinae étaient situés sur l'un seulement des 7 chromosomes et que le seigle dériverait directement de cette espèce. Ce n'est que plus tard qu'un descendant de cet ancêtre commun diploïde aurait acquis un contrôle, par 2 chromosomes distincts, des gliadines (probablement par duplication de gène et translocation), les 3 génomes du blé étant alors issus de cette espèce dérivée.

Ajoutons enfin que, même si ce travail sur Chinese Spring n'est pas entièrement original, il était important de savoir le reproduire puisque cela permet désormais, avec la technique ainsi éprouvée, d'entreprendre des études sur le matériel génétique crée ou multiplié en France.

Quelques autres résultats sont par contre plus originaux:

- Ainsi pour la plupart des composants gliadines marqueurs de chromosomes, on a pu identifier le bras responsable. On a observé qu'il s'agissait toujours du bras S dans les chromosomes du groupe 1 et du bras α dans ceux du groupe 6.

- Chez Courtot, bien que certaines lignées monosomiques n'aient pas donné de résultat reproductible, une amorce de repérage des composants marqueurs de chromosomes a été réalisée.

- Enfin, chez les lignées d'addition blé-agropyrum, on a mis en évidence plusieurs composants gliadines marqueurs du groupe d'homéologie correspondant à la lignée L₃.

Dans l'ensemble, le diagramme gliadine apparaît donc tel que plusieurs de ses composants peuvent être utilisés comme marqueurs de certains chromosomes et même bras de chromosomes, mais on observe bien évidemment que ce marquage

correspondant à la ligne 13^e

Dans l'ensemble, le diagramme gliadine apparaît donc tel que plusieurs de ses composants peuvent être utilisés comme marqueurs de certains chromosomes et même bras de chromosomes, mais on observe bien évidemment que ce marquage

a ses limites puisque, chez le blé, 2 groupes seulement sur 7 peuvent être identifiés. Pour les 5 autres, il faut rechercher d'autres protéines ou enzymes spécifiques, travail qui est en cours avec les amylases et les peroxydases.

Mais, alors que les diagrammes enzymatiques présentent une faible variabilité intraspécifique qui permet aisément des comparaisons interspécifiques, le polymorphisme variétal des protéines de réserve de type gliadine semble rendre les études génomiques et chromosomiques peut être plus fructueuses mais certainement plus complexes. Un plus grand nombre de composants séparés permet a priori de retrouver davantage de marqueurs chromosomiques, mais une exploitation totale de ces diagrammes reste limitée d'une part, par la superposition de nombreux composants dépendant de génomes différents et d'autre part, par la quasi impossibilité d'extrapoler le résultat à d'autres variétés.

Dans tous les cas, la technique de fractionnement par électrophorèse, bien qu'apparaissant actuellement comme l'une des plus fines, ne présente d'ailleurs pas des possibilités infinies: on a en fait raisonné jusqu'ici sur quelques composants décelables, chacun de ceux-ci n'étant souvent fortuitement que la superposition de plusieurs espèces moléculaires d'origines génétiques et de structures physiques différentes. Même en mettant en oeuvre l'électroforesis en gradient de pH, on accroîtrait certainement le nombre de composants du diagramme mais on serait encore très loin d'une séparation exhaustive des centaines (ou des milliers) d'espèces moléculaires protéiques et enzymatiques du blé, car seules resteraient décelables les mutations portant sur les acides aminés chargés. Il est d'ailleurs certain que l'approche biochimique du problème de la phylogénie du blé et des genres apparentés ne sera totalement efficace que lorsque nous aurons les moyens de compléter les études électrophorétiques par des études de séquences d'acides aminés des chaînes protéiques et enzymatiques.

Néanmoins, nous pensons que, même modestes, les travaux dont nous venons de faire état sur l'électrophorégramme gliadine, auront contribué à une meilleure connaissance du matériel génétique disponible. Dans l'avenir en permettant d'une part, quelques études génétiques et d'autre part, un certain contrôle au niveau du maintien de la collection d'aneuploïdes, ce type d'analyse biochimique devrait alléger peu à peu la tâche des cytogénéticiens.
