

VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE
DE LA COMPOSITION DES GLIADINES,
GLUTÉNINES, β -AMYLASES, α -ESTERASES,
PEROXYDASES ET PHOSPHATASES
ACIDES DU BLÉ (*T. AESTIVUM*) (1)

P. AURIAU (2), J. C. AUTRAN (3), L. CHARBONNIER (4), G. DOUSSINAULT (5),
P. FEILLET (6), B. GODON (7), P. GRIGNAC (8), P. JOUDRIER (9),
K. KOBREHEL (9), J. KOLLER (9), M. ROUSSET (10) et S. RIVALLANT (6)

RÉSUMÉ

La composition protéique (gliadines, gluténines) et enzymatique (β -amylases, α -estérases, peroxydases et phosphatases acides) de 39 variétés de blé tendre (*T. aestivum*) a été comparée par électrophorèse en gel d'amidon (pH = 3,2) ou de polyacrylamide (pH = 3,2 et 8,6). Les électrophorogrammes, à l'exception de ceux des gluténines réduites, ne sont pas modifiés par les conditions de développement de la plante. On a dénombré respectivement 1, 2, 6 et 7 types de diagrammes α -estérasiques, peroxydasiques (A et B), β -amylasiques (I à VI) et phosphatasiques (1 à 7) et confirmé la grande hétérogénéité des gliadines et des gluténines réduites. On montre que dans les rares cas où l'électrophorèse des gliadines ne permet pas d'identifier avec certitude une variété de blé, l'analyse de certaines enzymes permet de lever toute ambiguïté. Néanmoins, on n'observe pas de relation entre la composition enzymatique et la parenté génétique des variétés de blé analysées ; la validité de la méthode d'analyse des gliadines utilisée semble par contre assurée pour de telles études.

I. — INTRODUCTION

L'étude de la variabilité génétique de la composition protéique ou enzymatique des blés, qui a connu un grand essor au cours des 15 dernières années avec le développement de l'électrophorèse en gel d'amidon ou de polyacrylamide, répond à des

(1) Travail réalisé dans le cadre du groupe de travail I. N. R. A. « Biochimie-Génétique ». Responsable : P. FEILLET.

(2) Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes. Versailles.

(3) Laboratoire de Recherche sur la Qualité des Blés. Paris.

(4) Laboratoire des Protéines et Acides Aminés. Versailles.

(5) Station d'Amélioration des Plantes. Rennes.

(6) Laboratoire de Technologie des Blés durs et du Riz. Montpellier.

(7) Laboratoire de Contrôle et de Technologie des Blés. Paris.

(8) Station d'Amélioration des Plantes. Montpellier.

(9) Station d'Amélioration des Plantes. Dijon.

(10) Station d'Amélioration des Plantes. Clermont-Ferrand.

besoins multiples : marquage biochimique des génomes, des chromosomes et des gènes ; recherche de parenté génétique entre variétés ou espèces différentes et définition d'indices de similarité ; identification de l'origine des génomes et caractérisation des variétés ; connaissance du déterminisme génétique de la composition biochimique et de la qualité technologique ou agronomique des blés ; mises au point de microtests biochimiques d'appréciation de la qualité, basés sur des relations directes (fonctionnelles) ou indirectes (marquage génétique) entre composition et qualité.

De telles études nécessitent la mise en œuvre de méthodes d'analyse des protéines et des enzymes dont la validité (résultats ne dépendant que du génotype des échantillons) et l'utilité (marquage génétique ; marquage de la qualité) doivent être assurées. Le travail rapporté dans ce mémoire, qui représente la première étape d'une étude que nous avons entreprise sur ce problème, consiste en une comparaison de la composition électrophorétique des gliadines, gluténines réduites, β -amylases, α -estérases, peroxydases et phosphatases acides extraites des mêmes échantillons de blé tendre (*T. aestivum*).

II. — MATÉRIEL, ET MÉTHODES

1. — Matériel végétal

Les blés tendres examinés, de caractéristiques génétiques et culturales définies, constituent trois séries d'échantillons :

— une série A de 21 échantillons composée de 7 variétés de blé tendre (« Capitole », « Cappelle » « Champlein », « Hardi », « Joss », « Kolibri », et « Moisson ») cultivées en trois lieux différents (Dijon, Montpellier, Rennes).

— une série B de 20 échantillons composée de 5 variétés de blé tendre (« Capitole », « Étoile de Choisy », « Heima », « Joss » et « Splendeur ») cultivées dans des conditions normales ou comprenant, soit un traitement fongicide précoce (début de montaison) soit deux traitements fongicides tardifs (dernière feuille pointante et épiaison) soit un traitement au CCC à la montée et un apport d'azote au tallage dans le but d'obtenir une culture étouffée.

— une série C de 39 variétés de blé tendre, d'origine française ou étrangère.

Tous les blés ont été récoltés à maturité et conservés en chambre froide à 4°C.

2. — Préparation des échantillons

Les analyses sont faites sur grains broyés ou sur les farines obtenues par mouture des blés avec un moulin Brabender Junior (taux d'extraction : 58 à 65 p. 100).

3. — Extraction et fractionnement des gliadines

Les gliadines, directement extraites de 1 gramme de grain broyé par contact pendant une nuit avec 3 ml d'une solution à 25 p. 100 de glycolmonochlorhydrine dans l'eau, sont fractionnées par électrophorèse en gel d'amidon (4 h 45 ; 8 volts/cm) en tampon lactate d'aluminium ($\mu = 0,0045$; urée 0,5 M ; pH 3,2) dans des conditions précédemment décrites (FELLET, 1965 ; AUTRAN, 1973) ; les protéines sont colorées par la nigrosine 0,05 p. 100 en milieu trichloracétique 2 p. 100 ; les fractions sont identifiées grâce à leur mobilité (de 0 à 100) comparativement à celle de la bande majeure du groupe des γ -gliadines à laquelle est attribuée arbitrairement la valeur 65 (AUTRAN et BOURDET, 1973).

On apprécie, soit par densitométrie (1), soit par simple observation visuelle du gel, si une fraction est présente à l'état de traces (tr.) ou à faible (+), moyenne (++) ou forte (+++)

(1) On considère qu'un composant est présent à l'état de trace, à faible, moyenne ou forte concentration s'il représente moins de 2, 2 à 4, 4 à 6,5 ou plus de 6,5 p. 100 de l'ensemble des composants (rapport des absorptions).

concentration. On considère qu'il existe une différence significative entre 2 diagrammes si pour un même composant, l'écart des concentrations est d'au moins 2 unités (exemples : 0 et +, tr. et ++, + et +++).

Sans préjuger de l'identité de composants possédant la même mobilité, il est possible de caractériser une variété au moyen d'un diagramme-type gliadine (mobilités et concentrations relatives des composants) et de comparer 2 ou plusieurs variétés en calculant le nombre de différences significatives, appelé indice de dissimilarité, entre les diagrammes pris 2 à 2.

4. — *Extraction et fractionnement des gluténines*

L'étude de la variabilité génétique des gluténines réduites a porté sur les échantillons des séries B et C et sur quelques autres variétés.

Les gluténines sont extraites suivant la méthode de JONES *et al.* (1959) à partir de 15 g de farine. Les réductions-alkylations sont effectuées sur 100 mg de gluténines suivant la méthode de HUEBNER (1970).

Les gluténines réduites sont fractionnées par électrophorèse en gel d'amidon (5 à 6 heures ; 14 volts/cm) en tampon lactate d'aluminium (0,0015 M ; urée 3 M ; pH 3,2) suivant les conditions décrites par LANDRY *et al.* (1965) ; les protéines sont révélées par une solution de nigrosine à 0,05 p. 100 dans l'acide acétique à 30 p. 100.

5. — *Extraction et fractionnement des β -amylases*

La forme soluble libre de la β -amylase (JODRIER et BOURDET, 1972) est solubilisée à partir de 150 mg de farine par simple macération durant 1 heure dans la monochlorhydrine du glycol 5 p. 100, NaCl 0,05 M (pH 5,1). Après centrifugation, les protéines sont fractionnées par électrophorèse en gel de polyacrylamide 7,5 p. 100 (8 volts/cm ; 4 heures) en tampon lactate d'aluminium (pH 3,2).

Après migration les β -amylases sont révélées spécifiquement : une moitié de gel coupé horizontalement est immergée 30 minutes dans une solution d'amidon 1 p. 100 (pH = 4,5) puis, après lavage à l'eau, dans une solution iodo-iodurée ; les β -amylases apparaissent en bandes claires sur fond bleu-noir ; les α -amylases n'influent pas sur les résultats (JODRIER, 1974).

6. — *Extraction et fractionnement des peroxydases*

Les peroxydases sont extraites de la farine par mise en contact, pendant 1 heure à température ordinaire, de 500 mg de farine avec 10 ml d'eau. Après centrifugation (20 mn à 18 000 g), les protéines solubles sont fractionnées en gel de polyacrylamide 8 p. 100 (7 volts/cm ; 3 heures) en tampon *Tris*-HCl (0,05 M ; pH = 8,6). Après migration, les peroxydases sont révélées spécifiquement en immergeant la moitié inférieure du gel coupé horizontalement dans une solution de catéchol et de peroxyde d'hydrogène (KOBREHEL *et al.*, 1972).

7. — *Extraction et fractionnement des phosphatases acides*

Les phosphatases acides sont extraites de la farine par mise en contact (12 heures à 4°C) de 500 mg de farine avec 1 ml de Tampon *Tris*-HCl (*Tris* : 121 g ; HCl 0,2 M : 81 ml ; H₂O q.s.p. 2 000 ml ; pH = 8,6). Les phosphatases sont fractionnées dans les mêmes conditions que les peroxydases, puis colorées spécifiquement par le β -naphthylphosphate de sodium à pH = 5 : le gel coupé horizontalement est immergé 1 heure dans un tampon acétate (μ = 0,05 ; pH = 5) contenant 300 mg de β -naphthylphosphate de sodium par litre ; la température est maintenue à 37°C. Le gel est ensuite placé dans le colorant suivant : fast blue RR salt : 100 mg ; acétone : 10 ml ; H₂O : q.s.p. 100 ml ; les phosphatases apparaissent rouges sur fond jaune après 30 minutes.

8. — *Extraction et fractionnement des α -estérases*

Les estérases sont extraites de la farine par mise en contact (1 heure à la température du laboratoire) de 500 mg de farine avec 1 ml d'eau désionisée. Les α -estérases sont fractionnées dans les mêmes conditions que les peroxydases, puis colorées spécifiquement dans des conditions

voisines de celles décrites par SINGH *et al.* (1973) ; après avoir été coupé horizontalement, le gel est immergé pendant 30 minutes à 37°C dans le milieu réactionnel suivant : Tampon *Tris*-HCl (pH = 8,6) : 10 ml ; α -naphtylacétate 1 p. 100 : 10 ml ; fast blue RR salt : 125 mg ; H₂O désionisée : q.s.p. 250 ml.

III. — RÉSULTATS

A. — Influence des conditions de développement de la plante sur les diagrammes électrophorétiques

Les échantillons des séries A et B ont été analysés afin de rechercher si les diagrammes électrophorétiques obtenus étaient sous l'unique dépendance des facteurs génétiques.

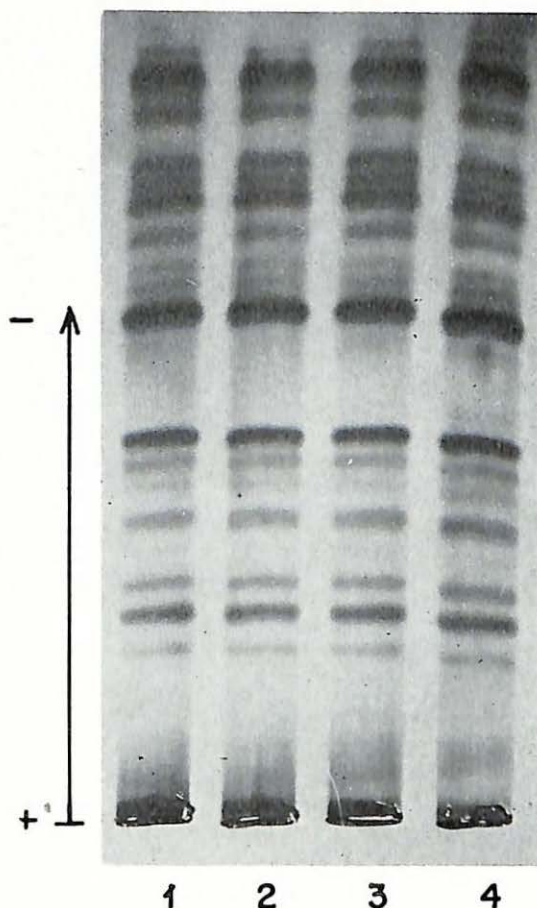


FIG. 1. — Comportement électrophorétique (gel d'amidon ; tampon lactate d'aluminium ; pH = 3,2) des gliadines extraites de blé (variété « Heima ») cultivé dans différentes conditions

1 : Culture normale

2 : Apport précoce de fongicide

3 : Apport tardif de fongicide

4 : Culture étouffée

On sait depuis longtemps que l'hétérogénéité électrophorétique des gliadines est une caractéristique variétale. Elle n'est pas modifiée par l'apport d'engrais, les lieux ou les années de culture (FEILLET, 1965 ; FEILLET et BOURDET, 1967 ; DOEKES, 1968 ; AUTRAN, 1973). Le diagramme de la figure 1 montre que des modifications dans les conditions de développement de la plantes par apport précoce ou tardif de fongicide ou en favorisant une culture « étouffée » n'agissent pas davantage sur l'aspect des diagrammes.

Des résultats identiques, illustrés figure 2 par les zymogrammes des peroxydases extraites de la variété « Capitole » cultivée dans 6 conditions différentes, indiquent que la composition en β -amylases, α -estérases, peroxydases et phosphatases acides des blés matures et sains ne dépend que de facteurs génétiques.

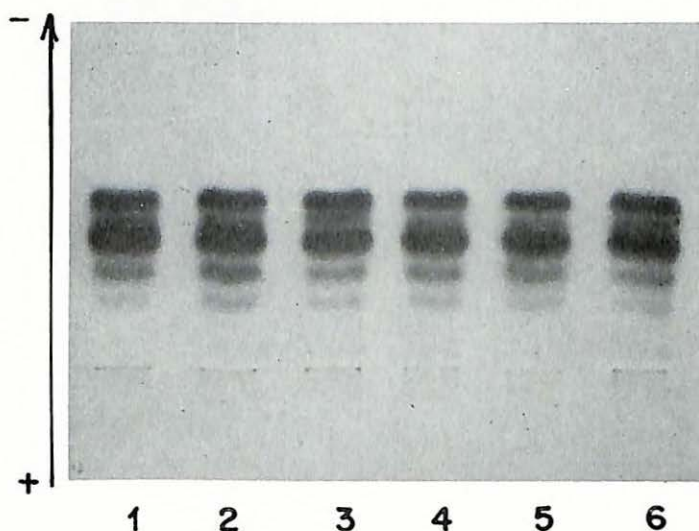


FIG. 2. — Comportement électrophorétique (gel de polyacrylamide ; tampon Tris-HCl ; pH = 8,6) des peroxydases extraites de blé (variété « Capitole ») cultivé dans différentes conditions

- | | |
|---------------------------|----------------------------------|
| 1 : Culture à Dijon | 4 : Traitement fongicide précoce |
| 2 : Culture à Rennes | 5 : Traitement fongicide tardif |
| 3 : Culture à Montpellier | 6 : Culture étouffée |

Par contre, les diagrammes des gluténines réduites — dont on a vérifié la reproductibilité — montrent des différences aussi bien quantitatives que qualitatives au niveau des constituants lents, suivant le stade de développement auquel ont été faits les traitements et la nature de ces derniers (fig. 3). Ces différences sont particulièrement nettes dans les diagrammes correspondant aux variétés « Joss » et « Heima ». On constate pour ces 2 variétés, que le diagramme correspondant au blé ayant reçu un traitement favorisant une culture étouffée est identique au diagramme correspondant au blé ayant reçu 2 traitements fongicides tardifs, alors que le diagramme correspondant au blé ayant reçu un traitement fongicide précoce est identique au diagramme des gluténines réduites extraites du blé cultivé dans des conditions normales.

Cependant, on n'observe que peu de différences entre les diagrammes des

variétés « Capitole » et « Splendeur » et il semble que des 5 variétés étudiées, la variété « Étoile de Choisy » soit la moins sensible aux traitements fongicides du point de vue de la synthèse des gluténines.

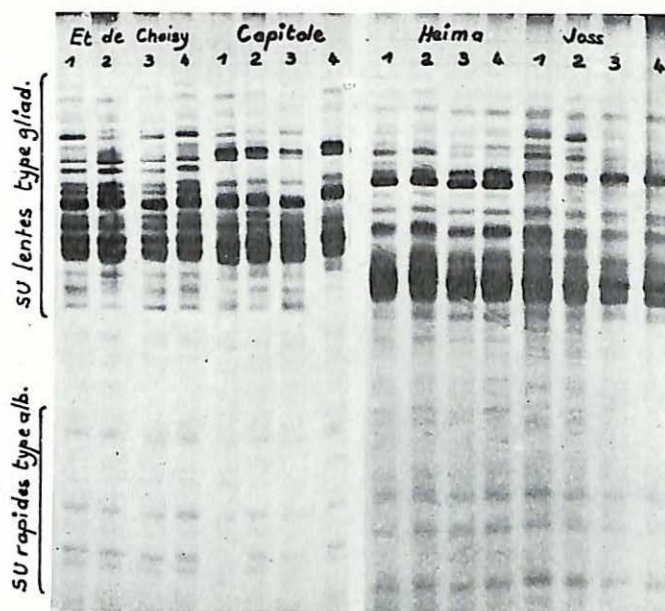


Fig. 3. — Influence des conditions de culture sur la composition des gluténines

1 : Culture normale

2 : Traitement fongicide précoce

3 : Traitement fongicide tardif

4 : Culture étouffée

(Électrophorèse en gel d'amidon ; tampon lactate d'aluminium ;
Urée 3M ; pH 3,2) S. U. = sous unités ; alb. = albumines ; gliad. = gliadines)

B. — Étude comparée de 39 variétés de blé tendre

I. Gliadines.

Confirmant les résultats antérieurs de BOURDET *et al.* (1963) ; LEE et WRIGLEY (1963) et FEILLET (1965), on observe des différences qualitatives et quantitatives entre les diagrammes électrophorétiques des gliadines extraites des 39 variétés de blé tendre étudiées dans ce travail, comme l'illustre la figure 4, limitée à 7 échantillons.

La quantification de ces différences, au moyen des indices de dissimilarité, permet en outre des interprétations plus précises. Ainsi, lorsque les origines génétiques des blés sont assez proches, les valeurs des indices sont toujours faibles (exemples : 6 entre « Capitole » et « Hardi » ; 3 entre « Hardi » et « Champlein »). Inversement, lorsque les blés ont des origines génétiques éloignées, les indices sont généralement élevés (exemples : 18 entre « Magdaléna » et « Mironovskaya 808 » ; 22 entre « Capitole » et « Jufy I »). Dans ce second cas, on observe néanmoins une exception dans le cas de « Poncheau » et « Champlein » : ces 2 variétés bien que d'origine différente possèdent inexplicablement des diagrammes presque identiques (indice de dissimilarité : 1).

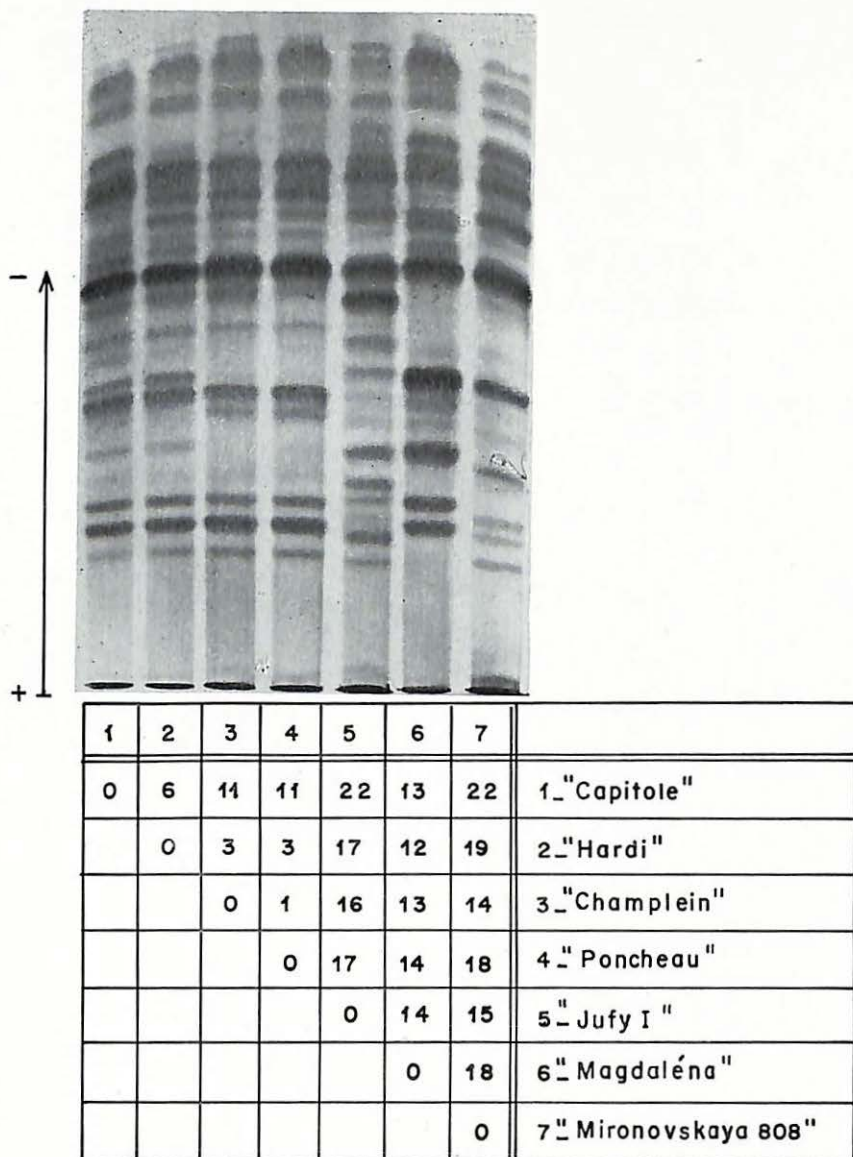


FIG. 4. — Diagrammes électrophorétiques (gel d'amidon ; tampon lactate d'aluminium ; pH 3,2) et indices de dissimilarité des gliadines de variétés de blés tendres possédant des parentés génétiques voisines (1 : « Capitole » ; 2. « Hardi » ; 3. « Champlein ») ou éloignées (4. « Poncheau » ; 5 : « Jufy I » ; 6 : « Magdaléna » ; 7 : « Mironovskaya 808 »).

2. Gluténines réduites.

L'électrophorèse sur gel d'amidon des sous-unités de gluténines de blés tendres montre qu'elles se répartissent en 2 groupes : un groupe d'une vingtaine de constituants ayant des mobilités électrophorétiques du même ordre de grandeur que celles des gliadines β , γ et ω et un groupe de 6 constituants, dont les concentrations sont

nettement plus faibles et dont les mobilités électrophorétiques sont du même ordre de grandeur que celles d'albumines (fig. 5) ; ce groupe de constituants ne présente rigoureusement aucune variabilité intervariétale.

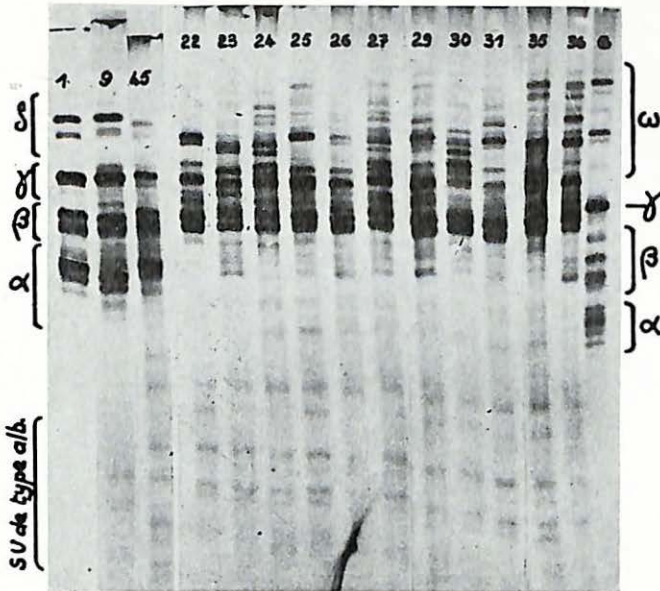


FIG. 5. — Variabilité génétique des gluténines réduites de variétés de blé tendre

« Atlas » (1) ; « Novisad 138 » (9) ; « Poncheau » (45) ; (2-7 × « Cappelle ») 95-13 (22) ; (2-7 × « Cappelle ») 171-5 (23) ; (2-7 × « Cappelle ») 542 (24) ; Champlein » (25) ; « Péguy » (26) ; « Étoile de Choisy » (27) ; « Hardi » (29) ; Hebrard » (30) ; « Joss » (31) ; « Krasnodarsky Karlik » (35) ; « Magdaléna » (36). (Électrophorèse en gel d'amidon ; tampon lactate d'aluminium ; Urée 3M ; pH = 3,2).

N. B. : Les diagrammes 1, 9 et 45 ne provenant pas de la même électrophorèse, on observe certaines différences dans la mobilité des groupes de constituants α , β , γ et δ . S.U. : sous unités ; alb. : albumines ; G : gliadine totale de « Cappelle ». La nomenclature α , β , γ et ω figurant sur la droite des diagrammes ne concerne que le diagramme G.

Les sous-unités de type gliadine se répartissent en 4 sous-groupes α , β , γ et δ . Le sous-groupe δ , bien que toujours présent chez les blés tendres, n'est bien individualisé que chez certains échantillons : « Atlas », « Novisad 138 », etc. Les diagrammes de tous les échantillons montrent un groupe de constituants qui apparaissent sous forme de traces en avant du sous-groupe α . Ces constituants sont probablement des α -gliadines mal éliminées en raison du manque de sélectivité de la méthode d'isolement des gluténines utilisées. Cette supposition est basée sur le fait que ces constituants toujours au nombre de 4, ont des mobilités identiques aux α -gliadines du blé « Cappelle » (G, fig. 5).

C'est au niveau des constituants de mobilités comparables à celles des gliadines que se situe la variabilité génétique des gluténines réduites. Cette variabilité se traduit par des variations dans le nombre et dans l'intensité des constituants des 4 sous-groupes α , β , γ et δ ; elle est au moins aussi importante que la variabilité des gliadines puisqu'on peut constater une différence entre les spectres de gluténines réduites des variétés « Champlein » et « Poncheau » au niveau des sous-unités γ .

3. *β -Amylases.*

Une étude antérieure a montré que les zymogrammes des β -amylases présentent deux régions distinctes : la première est constituée, selon les variétés, de 3 à 8 bandes de faible mobilité ; les 2 à 7 β -amylases plus mobiles constituent la deuxième région (JOURDRIER, 1974).

En considérant seulement cette dernière région, on observe que les 39 variétés examinées se classent en 5 types dont l'un (Type VI), représenté par la seule variété « Yaktana », n'avait pas été rencontré précédemment ; compte tenu de ce qu'un autre groupe (Type V) a été identifié antérieurement (JOURDRIER, 1974), il apparaît qu'il est possible de distinguer 6 types de blé tendre sur la base de l'hétérogénéité électrophorétique des β -amylases les plus mobiles (fig. 6).

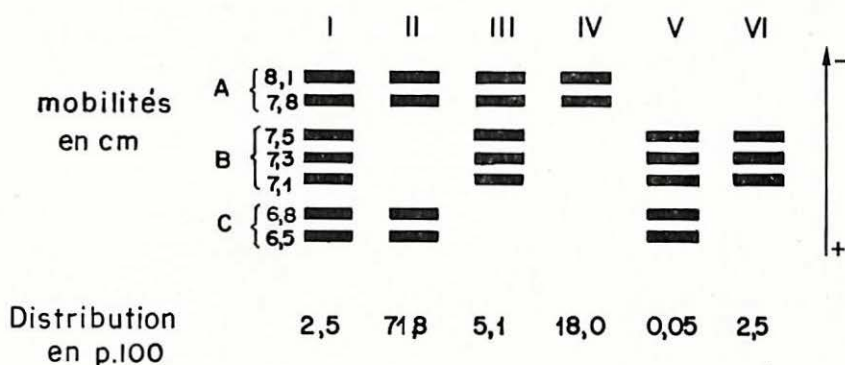


FIG. 6. — Représentation schématique des 6 types de zymogrammes de β -amylase libre rencontrés chez les blés tendres (électrophorèse en gel de polyacrylamide ; tampon lactate d'aluminium ; pH = 3,2) ; distribution en pourcentage des 39 variétés étudiées.

4. *Peroxydases.*

L'examen des diagrammes électrophorétiques obtenus après coloration spécifique des peroxydases extraites des 39 variétés analysées, confirme l'existence de 6 bandes possédant une activité peroxydasique chez les blés tendres (KOBREHEL et GAUTIER, 1974) : quatre d'entre elles sont communes à tous les échantillons (bandes a, d, e et f) ; par contre, suivant la présence ou l'absence des fractions b ou c, les blés tendres peuvent être classés en deux groupes A (20 variétés) et B (19 variétés) (fig. 7).

5. *Phosphatases acides.*

Suivant les variétés, on dénombre entre 3 et 6 bandes possédant une activité phosphatasique acide après fractionnement par électrophorèse en gel de polyacrylamide (pH = 8,6). En se basant sur le nombre et la mobilité de ces fractions, il est possible de distinguer 7 types de blé tendre différents (fig. 8).

Près de cinquante p. 100 des échantillons examinés appartiennent au groupe 1, 9 p. 100 au groupe 2, 4 p. 100 au groupe 3 et 4 p. 100 au groupe 4 ; les groupes 5, 6 et 7 ne sont représentés que par une seule variété.

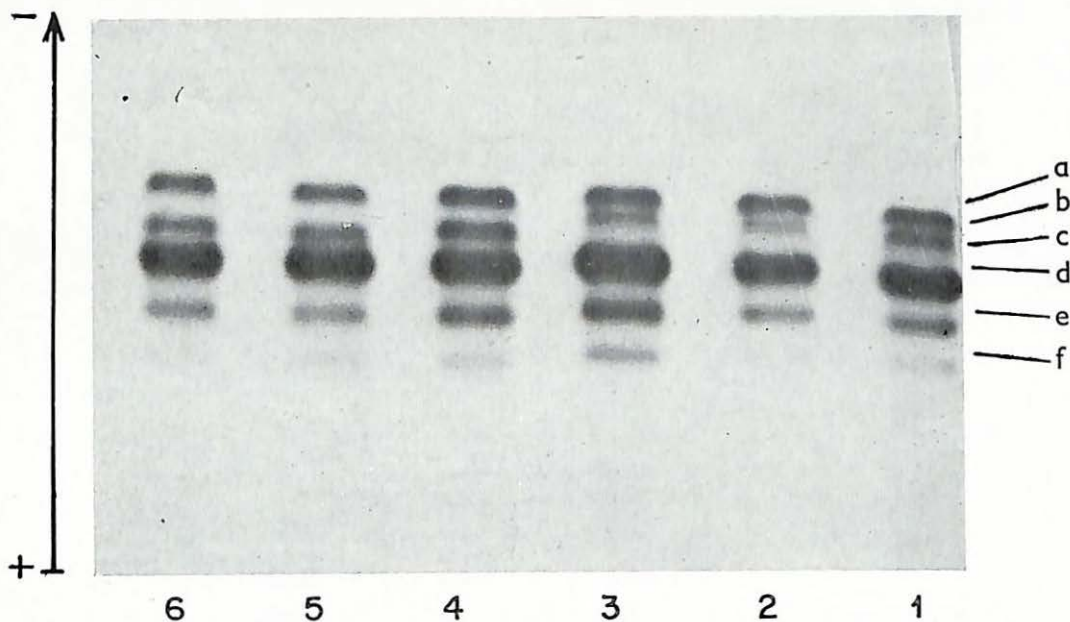


FIG. 7. — Diagrammes électrophorétiques (gel de polyacrylamide; tampon *Tris-HCl*; pH = 8,6) des peroxydases extraites des farines de blé tendre

Groupe A : variétés « Cesar » (1), « Étoile de Choisy » (2) et « Moisson » (3);
Groupe B : variétés « Champlein » (4), « Joss » (5) et « Cappelle » (6).

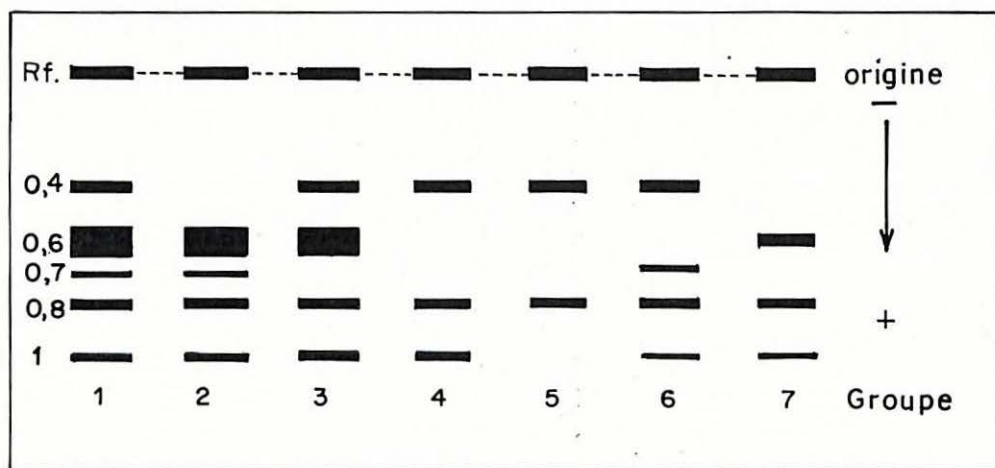


FIG. 8. — Diagrammes électrophorétiques

(gel de polyacrylamide; tampon *Tris-HCl*; pH = 8,6) des phosphatases acides extraites des farines de blé tendre

Groupe 1 : variété « Champlein »
— 2 : variété « Étoile de Choisy »
— 3 : variété « Poncheau »
— 4 : variété « Fournil »

Groupe 5 : variété « Yaktana »
— 6 : variété « Magali »
— 7 : variété « Aurora »

6. *α -Esterases.*

Toutes les variétés de blé tendre examinées possèdent le même électrophorégramme dans lequel 11 fractions peuvent être dénombrées.

IV. — DISCUSSION

Les diagrammes α -estérasiques obtenus confirment les observations de CUBADDA et QUATRUCCI (1974) : ils sont identiques pour toutes les variétés. Les gluténines réduites, en raison de leur très grande variabilité, sensibles par ailleurs aux conditions de développement, sont des caractères mal adaptés à la classification des variétés. Aussi, limiterons-nous la discussion aux seules gliadines, β -amylases, peroxydases et phosphatases acides.

La complexité et la diversité des diagrammes électrophorétiques obtenus rendent difficile une interprétation globale des résultats. Les points suivants peuvent néanmoins être soulignés.

A. — *Indépendance des électrophorégrammes
vis-à-vis des conditions de développement*

Une première constatation importante est qu'à l'exception de ceux des gluténines réduites, les électrophorégrammes obtenus sont indépendants des conditions de développement de la plante ; on vérifie ainsi sur les phosphatases des observations faites il y a déjà longtemps sur les gliadines (FEILLET, 1965) et plus récemment sur les peroxydases (KOBREHEL et GAUTIER, 1974) et les β -amylases (JODRIER, 1974). A la condition d'analyser des blés matures et sains, on peut donc être assuré que la variabilité observée entre les échantillons est d'origine génétique.

TABLEAU I

*Caractérisation de variétés de blé,
dont la reconnaissance est difficile d'après les électrophorégrammes des gliadines,
grâce à l'identification des groupes β -amylasiques,
peroxydasiques et phosphatasiques acides*

Variété	« Capitoile »	« Moisson »	« Splendeur »	« Champlein »	« Poncheau »
Parenté génétique	Proche			Éloignée	
Peroxydase A ⁽¹⁾	A	B	A	A	A
β -Amylase ⁽²⁾	II	II	IV	IV	IV
Phosphatase acide ⁽³⁾	1	2	2	1	3

⁽¹⁾ Groupes A et B.

⁽²⁾ Groupes I à VI.

⁽³⁾ Groupes 1 à 7.

B. — *Identification des variétés*

Dans au moins 95 p. 100 des cas, une variété de blé peut être caractérisée par l'électrophorogramme de la fraction gliadine (ELLIS, 1971 ; AUTRAN et BOURDET, 1973 ; WRIGLEY et SHEPHERD, 1974). Sur un plan appliqué, il a été établi des clés de détermination permettant d'identifier la quasi totalité des variétés cultivées en France et dans la C. E. E. (AUTRAN et BOURDET, 1974). C'est seulement dans de rares cas (moins de 5 p. 100 des blés analysés jusqu'ici) que la grande similitude des diagrammes gliadines rend difficile (exemple : « Poncheau » — « Champlein ») ou impossible (exemple : « Capitole » — « Moisson » — « Splendeur ») la reconnaissance des variétés. Dans ces deux cas, comme le montre le tableau 1, le recours à l'analyse des β -amylases, des peroxydases et des phosphatases peut alors permettre de compléter l'identification variétale.

C. — *Origines de la variabilité observée ; analyse de la parenté génétique*

On peut supposer, avec WRIGLEY (1972), que la très grande hétérogénéité des gliadines du blé tire son origine d'une succession de mutations ayant provoqué des modifications mineures de la structure primaire des protéines synthétisées, sans altérer leurs caractéristiques, peu spécifiques, de protéines de réserve ; une telle hypothèse se trouve en effet étayée par la similarité de composition en acides aminés des α -gliadines (PLATT et KASARDA, 1971), des γ -gliadines (HUEBNER *et al.*, 1967) et des ω -gliadines (CHARBONNIER, 1974). Cette hétérogénéité pourrait être expliquée par une hérédité de type polygénique ; les diagrammes électrophorétiques couvriraient alors une partie importante du génome. On comprend ainsi qu'il semble possible de repérer sur la base des indices de dissimilarité des couples de variétés de composition génique suffisamment différente pour espérer obtenir des hybrides F₁ hétérotiques. Néanmoins, et compte tenu de ce que le contrôle de la synthèse des gliadines est porté en totalité par les chromosomes 1 et 6 des génomes A, B et D (WRIGLEY et SHEPHERD, 1973) les indices de dissimilarité ne pourraient être, tout au plus, que l'expression de différences géniques existant au niveau de ces chromosomes.

MOSSÉ (1973) rappelait récemment que l'origine des polymorphismes observés chez certaines enzymes, pouvait se situer au niveau génétique, comme dans le cas de la déshydrogénase du maïs dont la synthèse est contrôlée par des gènes différents (LONGO et SCANDALIOS, 1969), ou au niveau de la formation de variants moléculaires (homopolymères, hétéropolymères, variants configurationnels) ainsi que cela a été prouvé pour les estérases (BARBER *et al.*, 1969) ou les malique-déshydrogénases (SCHIMPFESSEL, 1971). On a pu montrer récemment que les trois principales bandes des peroxydases du blé tendre étaient codées par trois différents chromosomes : 7A, 4B et 7D (KROBREHEL et FEILLET, 1975) confirmant ainsi que la plus mobile des fractions était sous la dépendance du génome D (KROBREHEL et GAUTIER, 1974) ; on sait par ailleurs qu'il existe des différences non négligeables dans la composition en acides aminés des peroxydases *c* et *d* extraites du blé dur (JEANJEAN *et al.*, 1975). Les travaux rapportés dans ce mémoire ne permettent pas de préciser l'origine de l'hétérogénéité des amylases et des phosphatases et d'autres études seront nécessaires pour résoudre ce problème. Que la variabilité observée dans la composition enzyma-

tique des blés tire ou non son origine de mécanismes différents de ceux qui déterminent l'hétérogénéité des gliadines, on ne doit pas être surpris qu'il n'apparaisse pas de relation entre les caractéristiques des zymogrammes et la parenté génétique des variétés ; des modifications, même mineures, de la structure des enzymes peuvent en effet entraîner une perte d'activité, limitant ainsi le nombre possible de variants. L'inadéquation des zymogrammes à différencier les variétés pourrait également provenir de ce que le polymorphisme enzymatique serait gouverné par une hérédité oligogénique ; c'est ainsi que des mutations au niveau de trois loci suffiraient, à la rigueur, pour expliquer les différences observées entre « Capitole », « Moisson » et « Splendeur ». Dans la mesure où l'origine des variations est de nature génétique, il semble que les différences entre les zymogrammes puissent être interprétées, comme dans le cas des gliadines, en termes d'indices de dissimilarité ; on compléterait ainsi l'information fournie par l'étude des gliadines, l'apport étant d'autant plus important que d'autres chromosomes que 1 et 6 pourraient être impliqués.

TABLEAU 2

Regroupement des variétés sur la base de leur composition en peroxydases (groupes A et B), β -amylases (groupes I à VI) et phosphatases acides (groupes 1 à 7)

peroxydase	Groupes		Nombre de variétés	Nom des variétés		
	β -amylase	phosphatase				
A	I	7	1	« Aurora » (1)		
			II	1	6	« Capitole », « Chrismar », « Hardi », « Hebrard », « Mironovskaja 808 », « Ouest »
	2	2			« Aronde », « Minturki »	
		3			2	« Dreadnought », « Magdalena »
					4	1
	III	1	1	« Joss »		
			2	1	« Heima »	
	IV	1	3	« Cappelle », « Champlein », « Kolibri »		
			2	1	« Splendeur »	
			3	1	« Poncheau »	
4			1	« Promesse »		
B	II	1	8	« Atlas 66 », « Cesar », « Gaines », « Jufy I », « Mexique 50 », « Noé », « Novisad 138 », « Top »		
			2	5	« Bladette de Besplas », « Étoile de Choisy », « Kalyan-sona », « Moisson », « Purplestraw »	
				3	1	« Kavkaz »
				4	2	« Timstein », « Fournil »
	VI	5	6	« Magali »		
			1	1	« Redon M4 »	
			1	1	« Yaktana 54 »	

(1) Un autre échantillon « Aurora » a la composition A.II.7.

Compte tenu des remarques précédentes, il n'est pas surprenant que le classement des variétés sur la base des indices de dissimilarité (électrophorogramme des gliadines)

ne concorde pas avec ceux fondés sur les zymogrammes, interprétés individuellement (β -amylases, peroxydases ou phosphatases acides), ou globalement en regroupant les résultats (tabl. 2). Dans ce dernier cas, les blés étudiés se répartissent en 16 familles ; en première analyse les regroupements ainsi réalisés ne semblent pas rattachés à la parenté génétique des blés : bien que d'origine très voisine, « Capitole » et « Moisson » (indice « gliadine » de dissimilarité : 0) sont dans des groupes différents (A II 1 (1) et B II 2 (1)) alors que « Jufy I » et « Noé », très éloignés génétiquement (indice « gliadine » de dissimilarité : 16) appartiennent au même groupe (B II A) (1).

L'ensemble de ces résultats indique néanmoins que l'outil biochimique dont dispose l'analyste peut dès maintenant aider les sélectionneurs à mieux choisir des géniteurs lors de l'établissement de programmes d'hybridation.

V. — CONCLUSION

En dépit de leur aspect préliminaire, les résultats rapportés dans ce travail conduisent à une première série de constatations intéressantes ; constance qualitative, sauf pour les gluténines réduites, des électrophorégrammes (gliadines, β -amylases, α -estérases, peroxydases et phosphatases acides) des blés indépendamment des conditions de développement de la plante ; complémentarité des informations fournies par l'étude des gliadines et de certaines enzymes pour identifier les variétés ; possibilité d'apprécier la parenté génétique des blés sur la base des diagrammes des gliadines et inadéquation des zymogrammes pour résoudre ce problème. Par contre, la grande hétérogénéité variétale des gliadines rend difficile l'utilisation de ces protéines comme marqueurs de génomes à laquelle se prête mieux les analyses enzymatiques (KOBREHEL et GAUTIER, 1974).

Les analyses réalisées au cours de cette étude fournissent des informations différentes mais complémentaires. Il apparaît ainsi souhaitable de procéder à des déterminations analytiques variées sur un même matériel génétique. En conséquence, on prévoit dans l'avenir de poursuivre ce type d'étude en l'étendant si possible à des matériels plus élaborés :

— autres espèces hexaploïdes et tétraploïdes ; espèces sauvages diploïdes détentrices des différents génomes du blé ;

— ensemble de lignées issues, par sélection généalogique, du croisement de 2 variétés et étudiées parallèlement pour leurs caractéristiques technologiques et agronomiques ;

— séries de lignées aneuploïdes et notamment : monosomiques, nullisomiques et nulli-tétrasonomiques ;

— croisements réciproques de manière à juger l'influence du cytoplasme sur les électrophorégrammes.

C'est à ce prix seulement qu'il semble possible d'atteindre les objectifs exposés en introduction à cet article.

Reçu pour publication en mars 1975.

SUMMARY

GENETIC VARIABILITY OF GLIADINS,
GLUTENINS, β -AMYLASES, α -ESTERASES, PEROXIDASES,
ACID PHOSPHATASES COMPOSITION IN WHEAT (*T. AESTIVUM*)

The protein (gliadins, glutenins) and enzymic (β -amylases, α -esterases, peroxidases, acid phosphatases) composition of 39 *T. aestivum* varieties have been examined by starch (pH = 3,2) or polyacrylamide (pH = 3,2 and 8,6) gel electrophoresis. The growing conditions only affect the glutenin subunit patterns. Respectively 1, 2, 6 and 7 types of α -esterasic, peroxidasic (A and B), β -amylasic (I to VI) and phosphatasic (1 to 7) patterns have been detected; the gliadin and reduced glutenin fractions were confirmed to be very heterogeneous. Results indicate that identification of wheat varieties by gliadin analysis in combinaison with enzymic analysis is very efficient. No relation was observed between zymograms and genetic filiations of wheat varieties while the gliadin pattern determination might be a power tool in this purpose.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUTRAN J. C., 1973. L'identification des variétés de blés. *Bull. anc. Élèves Ec. fr. Meun.*, **256**, 163-169.
- AUTRAN J. C., BOURDET A., 1973. Nouvelles données permettant l'exploitation de l'hétérogénéité des gliadines du grain de blé en vue de l'identification variétale. *C. R. Acad. Sci., Sci. D.*, **277**, 2081-2084.
- AUTRAN J. C., BOURDET A., 1975. L'identification des variétés de blé. Établissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 3.
- BARBER N., DRISCOLL C. J., LONG P. M., VICKERY R. S., 1968. Protein genetics of wheat and homologous relationships of chromosomes. *Nature*, **218**, 450-452.
- BOURDET A., FEILLET P., METTAVANT F., 1963. Sur le comportement électrophorétique des prolamines du blé en gel d'amidon. *C. R. Acad. Sci.*, **256**, 4517-4520.
- CHARBONNIER L., 1974. Isolation and characterization of ω -gliadin fractions. *Biochim. Biophys. Acta.*, **359**, 142-151.
- CUBADDA R., QUATTRUCI E., 1974. Separation by gel electrofocusing and characterization of wheat esterases. *J. Sci. Food Agric.*, **25**, 417-422.
- DOEKES G. J., 1968. Comparison of wheat varieties by the electrophoresis of grain proteins. *J. Sci. Fd. Agric.*, **19**, 169.
- ELLIS R. P., 1971. The identification of wheat varieties by the electrophoresis of grain proteins. *J. natn. Inst. agric. Bot.*, **12**, 223-235.
- FEILLET P., 1965. Contribution à l'étude des protéines du blé : influence des facteurs génétiques, agronomiques et technologiques. *Ann. Technol. agric.*, **14**, H. S. I., 1-94.
- FEILLET P., BOURDET A., 1967. Composition protéique et caractéristiques génétiques des blés. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **49**, 1273-1283.
- HUEBNER F. R., ROTHFUS J. A., WALL J. S., 1967. Isolation and chemical comparison of different gamma-gliadins from hard red winter wheat flour. *Cereal. Chem.*, **44**, 221-229.
- HUEBNER F. R., 1970. Comparative studies on glutenins from different classes of wheat. *J. Agr. Food. Chem.*, **18** (2), 256-259.
- JEANJEAN M. F., KOBREHEL K., FEILLET P., 1975. Purification et caractérisation de deux peroxydases de blé dur. *Biochimie*, **57**, 145-153.
- JONES R. W., TAYLOR N. W., SENTI F. R., 1959. Electrophoresis and fractionation of wheat gluten. *Arch. Biochem. Biophys.*, **84**, 363-376.
- JOUDRIER P., 1974. Spécificité génétique de la β -amylase chez *Triticum aestivum* : existence de cinq types variétaux de zymogrammes. *C. R. Acad. Sci. Sci. D.*, **278**, 1777-1780.
- JOUDRIER P., BOURDET A., 1972. Aspect génétique des activités β -amylasiques dans le grain de blé. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (3), 263-279.
- KOBREHEL K., LAIGNELET B., FEILLET P., 1972. Relation entre les activités peroxydasiques et polyphénoloxidasiques des blés durs et le brunissement des pâtes alimentaires. *C. R. Acad. Agric.*, **48**, 1099-1106.

- KOBREHEL K., FEILLET P., 1975. Identification of genomes and chromosomes involved in wheat peroxidase synthesis. *Can. J. Bot.* (sous presse).
- KOBREHEL K., GAUTIER M. F., 1974. Variability in peroxidases isozymes in wheat and related species. *Can. J. Bot.*, **52**, 755-759.
- LANDRY J., SALLANTIN M., BAUDET J., MOSSÉ J., 1965. Extraction des protéines des graines. VI. Électrophorèse en gel d'amidon des fractions séparées. *Ann. Physiol. vég.*, **7** (4), 283-293.
- LEE J. W., WRIGLEY C. W., 1963. The protein composition of gluten extracted from different wheats. *Aust. J. exptl. Agric. Anim. Husb.*, **3**, 85-88.
- LONGO G. P., SCANDALIOS J. G., 1969. Nuclear gene control of mitochondrial malic dehydrogenase in Maize. *Proc. Nation. Acad. Sci., U. S. A.*, **62**, 104-111.
- MOSSÉ J., 1973. Hétérogénéité et polymorphisme des protéines et isoenzymes végétales : Aspects moléculaires et évolutifs. *Physiol. vég.*, **11**, 361-384.
- PLATT S. G., KASARDA D. D., 1971. Separation and characterization of α -gliadins fractions. *Biochim. Biophys. Acta*, **243**, 407-415.
- SCHIMPFESSEL L., 1971. Isoenzymes et régulation : quelques réflexions sur la multiplicité des alcool-déshydrogénases. *Rev. Ferment. Ind. Alim.*, **26** (2), 63-76.
- SINGH R. S., JAIN S. K., QUALSET C. O., 1973. Protein electrophoresis as an aid to oat varieties identification. *Euphytica*, **22**, 98-105.
- WRIGLEY C. W., 1972. The biochemistry of the wheat protein complex and its genetic control. *Cereal Sci. To-Day*, **17**, 370-375.
- WRIGLEY C. W., SHEPHERD K. W., 1973. Électrofocusing of grain proteins from wheat genotypes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **209**, 154.
- WRIGLEY C. W., SHEPHERD K. W., 1974. Identification of Australian wheat cultivars by laboratory procedures : examination of pure samples of grain. *Aust. J. exptl. Agric. Anim. Husb.*, **14**, 196-804.
-