

BLÉS

Une nouvelle méthode d'identification

Les industries transformatrices de blé attachent un intérêt de plus en plus marqué à l'aspect variétal de leur matière première, notamment en raison de la récente apparition sur le marché de plusieurs variétés à haut rendement mais inaptes à la panification (Maris Huntsman, Clément, etc.). Depuis l'introduction de ces blés, la meunerie estime généralement que la notion de variété est la seule qui puisse être retenue pour différencier les blés panifiables des blés fourragers. En dépit des fluctuations qui résultent des conditions agro-climatiques, le critère variétal reste celui qui offre donc l'information la plus sûre quant à la valeur d'utilisation des blés et à leur destination. Ainsi se comprend l'actuelle nécessité de pouvoir contrôler ce critère, c'est-à-dire de reconnaître les variétés présentes, à l'état pur ou en mélange, dans les lots commerciaux de grains.

Il est par ailleurs naturel de disposer d'un tel moyen d'identification, en raison de l'existence même d'un catalogue officiel des variétés. Tous les blés qui y sont inscrits doivent en effet pouvoir être différenciés à partir de leur forme commerciale qu'est le grain et cela devient de plus en plus indispensable, compte tenu des modifications qui résultent de la récente ouverture des échanges commerciaux au niveau de la C.E.E.

Insuffisance des anciennes méthodes

Le problème de la reconnaissance des variétés de blé n'est évidemment pas nouveau, car différentes tentatives pour le résoudre ont été rapportées depuis plusieurs dizaines d'années. On sait ainsi que la détermination est possible d'après des caractères botaniques tels que le port de la plante, la pilosité de certaines feuilles, l'aspect de l'épi, la couleur des anthères. On peut aussi différencier plusieurs variétés au moyen de certains caractères observables sur la plantule (coloration du coléoptile en lumière artificielle, pilosité de la première feuille). Dans le même dessein, d'autres auteurs ont enfin utilisé la réponse de la plante à des traitements par l'acide gibbéréllique ou par certains fongicides.

Mais le blé est commercialisé essentiellement sous la forme de grains (ou de produits de leur mouture), de sorte qu'en pratique une identification variétale doit pouvoir être effectuée directement à partir de ce matériel, ce qui exclut l'utilisation des caractères de la plante ou de la plantule. Il semble qu'on ne disposait jusqu'à présent que des quelques tests de caractérisation suivants : mensurations du grain (rapports entre la largeur du grain et sa longueur, la longueur de la brosse, la position de la radicule, etc.); test de coloration du grain à l'acide phénique, qui donne, selon la variété, un résultat échelonné entre le noir et le très peu coloré, en passant par différentes nuances de brun; couleur (roux ou blanc), texture (vitreuse ou farineuse) et dureté du grain; poids de 1 000 grains; caractéristiques de la courbe alvéographique « Chopin ».

Si la plupart de ces tests répondent bien à un impératif de rapidité, ils présentent aussi plusieurs types d'inconvénients. Tout d'abord, leur spécificité est faible, car ils permettent de distinguer des classes et non des variétés uniques; or, face à un problème de contrôle variétal, cela interdit de formuler des réponses positives. Par ailleurs, contrairement aux anciennes variétés françaises qui donnaient lieu à des réponses assez diversifiées, de nombreuses variétés nouvelles se comportent de façon identique, notamment pour ce qui est de la couleur du grain et de l'essai à l'acide phénique. On peut noter enfin une dépendance très forte de ces méthodes à l'égard des facteurs externes (notamment lieu de culture, année, fertilisation). C'est

le cas des mensurations du grain et du poids de 1 000 grains.

En conséquence, si la plupart de ces tests demeurent utiles, en raison de leur simplicité, pour effectuer un premier classement ou pour donner une idée de la pureté variétale (test à l'acide phénique), leur faible spécificité les rend insuffisants pour identifier avec précision un lot inconnu de semences. Une véritable détermination systématique de la variété à partir de la forme commerciale du blé qu'est le grain devait donc faire intervenir de nouveaux critères, plus spécifiques et ne présentant pas les inconvénients rapportés ci-dessus.

Pour cela, il semblait nécessaire de faire appel aux propriétés physico-chimiques de certains constituants du grain, et tout particulièrement des protéines. Celles-ci apparaissent en effet étroitement associées au patrimoine héréditaire des blés, et leur structure peut constituer, dans certains cas, un véritable marqueur génétique, exploitable dans des tests d'identification de genres, espèces ou variétés.

Nouvelles possibilités offertes par les électrophorogrammes protéiques

Les diagrammes de fractionnement de nombreuses protéines et enzymes étudiées chez le blé présentent, à des degrés divers, une certaine spécificité génétique. On sait ainsi que l'hétérogénéité électrophorétique des albumines-globulines permet de différencier les blés tendres des blés durs, mais non pas de reconnaître les variétés d'une même espèce. Selon le même principe, les zymogrammes de β -amylase, de peroxydase, d'estérase ou de phosphatase permettent de distinguer plusieurs types variétaux.

Cependant, la catégorie de protéines dont les électrophorogrammes présentent, chez le blé, le polymorphisme le plus élevé demeure, à l'heure actuelle, celle des gliadines, que l'on définit classiquement à partir de leur solubilité dans les alcools dilués.

On a constaté ainsi, depuis plus de dix ans, que l'hétérogénéité des gliadines constitue un caractère variétal et qu'en aucun cas elle n'apparaît influencée par les conditions culturelles ni par les facteurs du milieu (lieu, année, climat, apport d'azote, de fongicide, etc.). Mais, jusqu'à ce jour, nul ne semble avoir pleinement utilisé ces données fondamentales à des fins pratiques. Les fractionnements de gliadines obtenus en gel d'amidon ou en gel de polyacrylamide par différentes équipes américaines, soviétiques, hollandaises et françaises n'ont jamais été exploités, à notre connaissance, en vue de l'établissement d'un tableau d'identification variétale, mais seulement à des fins de biochimie fondamentale ou de biochimie génétique.

Les recherches ici rapportées ont au contraire pour objet l'établissement d'un système d'identification de l'ensemble des variétés françaises de blés. Ce système est fondé sur la seule technique d'électrophorèse en gel d'amidon et utilise les données qualitatives et quantitatives de l'ensemble des diagrammes des gliadines du grain.

Mise en œuvre de l'électrophorèse des gliadines du grain de blé

Les conditions expérimentales retenues sont celles d'une électrophorèse classique et comprennent les deux phases suivantes : extraction de la fraction gliadine à partir du grain; fractionnement électrophorétique proprement dit.

On réalise l'extraction de la fraction gliadine directement à partir de grain broyé ou de farine, par simple contact durant une heure dans le solvant éthanol 60 p. 100 (ou encore chloro-2-éthanol 25 p. 100). On travaille généralement sur 1 gramme de matériel avec 3 millilitres de solvant; mais l'extraction peut être miniaturisée en opérant sur un seul grain avec 150 μ l. Cela permet en particulier d'analyser grain à grain les gliadines d'un microéchantillon prélevé dans un mélange variétal.

Les protéines ainsi solubilisées sont fractionnées par électrophorèse classique en gel d'amidon 10 p. 100, dans un lactate d'aluminium, pH 3,2 μ 0,005 (μ étant la force ionique de la solution tampon). La solution protéique est introduite dans le

gel au moyen de rectangles de papier filtre insérés dans des fentes. La migration des protéines a lieu durant 4 h 30 sous 8 volts au centimètre après 2 heures de précourant. Le gel est ensuite découpé dans son épaisseur, la partie supérieure est éliminée et on révèle les bandes sur la partie inférieure au moyen du colorant nigrosine-acide trichloracétique. Sur une distance de migration de 15 centimètres environ, une vingtaine de compo-

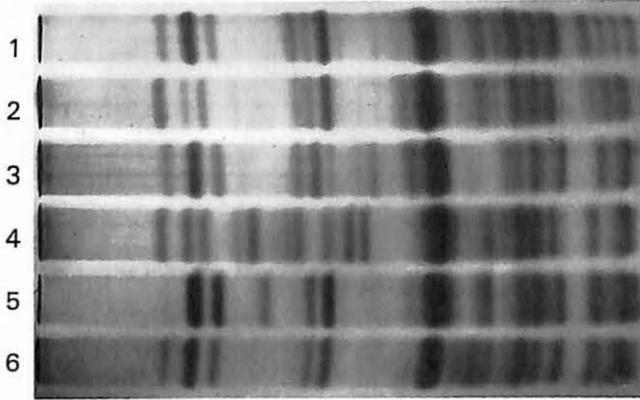


fig. 1 - Exemple de différenciation de quelques variétés françaises de blé au moyen des électrophorogrammes gliadines. Variétés : 1 - Rex; 2 - Kolibri; 3 - Charles-Péguy; 4 - César; 5 - Florence-Aurore; 6 - Chrismar.

sants sont révélés (fig. 1). On note que les protéines de type albumines-globulines, solubilisées inévitablement au cours de l'extraction directe des gliadines, ne perturbent pas le fractionnement de ces dernières, en raison de leur mobilité plus élevée.

Comment retrouver l'identité d'une variété à partir de l'électrophorogramme

La figure 1 met en évidence de nettes différences, à la fois qualitatives et quantitatives, entre les diagrammes gliadines de plusieurs variétés. Ce type d'observation a bien été effectué maintes fois, mais jusqu'ici les auteurs semblent s'être limités à constater ces différences sans véritablement les utiliser à des fins pratiques. Les tentatives d'exploitation des diagrammes se sont en effet heurtées à plusieurs difficultés.

D'une part, sur le plan expérimental, les conditions retenues dans les divers travaux ne semblaient pas toujours assurer une

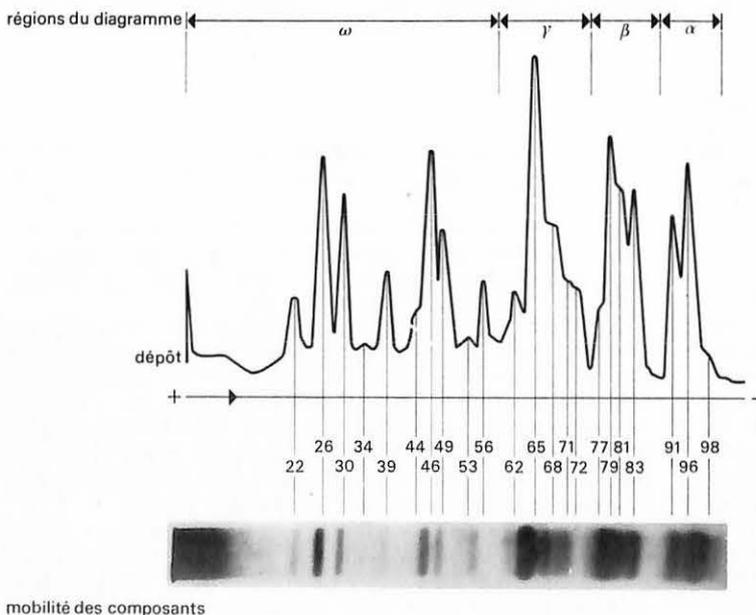
bonne reproductibilité des fractionnements et conduisaient rarement à de très bonnes résolutions, ce qui a amené à réexaminer les différents paramètres expérimentaux. D'autre part, les diagrammes obtenus apparaissent toujours très complexes, car ils renferment, selon la variété, de dix-sept à vingt-deux composants. Si, pour une variété donnée, il est aisé de repérer chaque bande au moyen de sa mobilité électrophorétique relative, le problème se complique lorsqu'il s'agit de répertorier toutes les bandes présentes dans un ensemble de variétés. La seule technique d'électrophorèse ne permet pas, en effet, de démontrer que des composants de mobilité apparemment identique ou très voisine correspondent à une même espèce moléculaire protéique. Il peut ainsi arriver qu'une seule bande englobe fortuitement plusieurs espèces moléculaires différentes ou, inversement, qu'une même gliadine voie parfois sa mobilité modifiée en raison d'associations partielles avec des polyholosides ou avec des lipides.

On sait d'ailleurs qu'en combinant électrophorèse et électro-focalisation en gradient de pH, plus de quarante composants gliadines peuvent être séparés dans une même variété, mais que, même dans ces conditions, la limite d'hétérogénéité des gliadines est loin d'être atteinte, car toutes les différences portant sur des acides aminés non chargés ne peuvent pas être détectées par ces techniques.

Il est donc apparu fondamentalement impossible de construire un répertoire exhaustif des composants gliadines présents dans un ensemble de variétés, de sorte qu'on s'est orienté vers une interprétation ayant purement valeur d'application. Comme, d'une part, on avait intérêt à retenir un nombre aussi grand que possible de composants afin d'intégrer un maximum de différences variétales, mais que, d'autre part, la présence de mobilités trop voisines pouvait conduire à des difficultés ou à des erreurs de repérage, le répertoire adopté a été limité aux seuls composants significativement différenciables sur les diagrammes. Au niveau de l'ensemble des blés français, quarante-trois composants ont ainsi été retenus et chaque variété a pu alors être caractérisée par un ensemble limité et bien défini de bandes appartenant au répertoire précédent.

Certaines données quantitatives ont aussi été utilisées. Ainsi, l'analyse des diagrammes au moyen d'un densitomètre intégrateur (fig. 2) a permis de déterminer les concentrations relatives de chacun des composants, ce qui a conduit à un diagramme type variétal comportant à la fois la mobilité et la concentration des bandes. Cependant, compte tenu de la précision limitée de toute densitométrie en gel d'amidon et afin de faciliter un traitement informatique des données, on a schématisé les diagrammes types en exprimant simplement les concentrations au moyen de l'échelle suivante : 0, traces, +, ++, +++.

fig. 2 - Densitométrie de l'électrophorogramme gliadine et schématisation du diagramme type (variété Capitole).



mobilité des composants	concentrations		schéma
	lectures	%	
22	18	2.60	+
26	43	6.15	++
30	23	3.25	+
34	8	1.10	traces
39	19	2.75	+
44	12	1.70	+
46	44	6.25	++
49	19	2.75	+
53	15	2.20	+
56	17	2.50	+
62	31	4.40	++
65	102	14.55	+++
68	39	5.60	++
71	19	2.75	+
72	17	2.45	+
77	23	3.25	+
79	55	7.85	+++
81	39	5.60	++
83	43	6.15	++
91	40	5.80	++
96	66	9.45	+++
98	10	1.40	traces

mobilité des composants	Rex	Kolibri	Charles-Péguy	César	Florence-Aurore	Chrismar
21		+		+		
22	+		+			+
25		+		+		
26	+++		+++		+++	+++
28		+		+		
30	++		++		++	++
34		traces		traces		
37		traces		+		
39				traces	+	
41				+		
44	++	+	+	++		
45	+	+			++	++
46			++			
49	+++	++	traces	++	+++	+++
52				+		
53			traces			
55				++		
56			+			
62	traces	+	++	traces	+	traces
65	+++	+++	+++	+++	+++	+++
68	+			+	+	+
71	traces	+	traces	traces		
72	traces	traces	traces		+	++
74	++	++		++	++	+
77	++	traces	++	+	+	+
79	+++	+++	++	+++	+++	+++
81	++	+++	+++	+++	+++	++
83		+++	traces	++		
85	+++	traces	++	traces	++	++
90	++	++		+++	+++	+++
91			+++			
93	+	++			+	
96	+	+++	+++	+++	+++	+++
98	+	traces			++	+
100	+	traces				

tab. 1 – Schéma des diagrammes gliadines de six variétés françaises de blé.

présence du composant 26 (diagrammes du groupe A)	
présence de 22	
présence de 60 (+++)	Étoile de Choisy
absence de 60	
présence de 37 (++)	
présence de 53 (+++)	Clément
absence ou traces de 53	
présence de 85 (++)	Courtot
absence ou traces de 85	Lutin
absence de 37	
présence de 39 (+ ou ++)	
présence du groupe 44(+)-46(++)-49(+)	
présence de 74 (+ ou ++)	
présence de 77 (++ ou +++)	
présence de 85	Joss
absence de 85	Hardi
traces de 77	Top
absence de 74, présence de 71-72	Capitole
caractères différents, présence de 75	Ducat
Heima	
absence de 39	
présence de 49 (+++)	
présence de 93	Rex
absence de 93	Chrismar
absence ou traces de 49	
présence de 74	
présence de 85 (++)	Maris Huntsman
absence de 85	Champlein
absence de 74	
présence de 85	Charles-Péguy
absence de 85	Talent
absence de 22	Florence-Aurore
absence du composant 26; présence du groupe 21-25-28 (diagrammes du groupe B)	
présence de 46 (++ ou +++)	Magali
absence ou traces de 46	
présence de 55, absence de 93	César
absence de 55, présence de 93	Kolibri

tab. 2 – Clés de détermination des principales variétés françaises de blé tendre, au moyen du diagramme électrophorétique des gliadines.

Comme le montre le tableau 1 qui fournit les schémas de diagrammes de six variétés françaises de blé, une telle présentation des résultats permet des comparaisons variétales simples et rapides. En outre, pour tenir compte des écarts expérimentaux, on a prévu une marge de sécurité et l'on est convenu de considérer qu'une différence n'est significative que lorsque l'écart dans l'échelle des concentrations d'un composant donné est d'au moins 2 unités, par exemple : 0 et +, traces et ++ ou encore + et +++.

Une analyse comparée des variétés se fonde ainsi sur des différences assurément significatives et que l'on peut même quantifier grâce à un *indice de similarité des diagrammes*. Cela a permis d'observer que les similitudes de diagrammes ne sont que le reflet d'une certaine parenté génétique des blés. Ainsi, des variétés d'origines génétiques éloignées comme Magali et Clément n'ont que 40 p. 100 de similarité dans leurs diagrammes, tandis que d'autres, génétiquement plus proches comme Top et Hardi ont 80 p. 100 de similarité et que certaines, comme les trois lignées sœurs Capitole-Moisson-Splendeur ont même des diagrammes identiques (similarité : 100 p. 100).

Enfin, outre ces conclusions d'ordre phylogénétique, il est devenu possible, en s'appuyant sur les seules différences significatives, de retrouver le nom d'une variété non identifiée à partir de son diagramme gliadine.

On a conçu pour cela un *tableau chimiotaxonomique*, qui, à l'image d'une flore, comporte des clés de détermination fondées sur certaines caractéristiques qualitatives (présence ou absence d'une bande) et parfois quantitatives (présence +, ++ ou ++++) des diagrammes. Un grand nombre de modèles possibles pouvaient être imaginés selon les composants discriminants retenus et l'ordre dans lequel on les utilise. Celui qui fonctionne actuellement pour l'ensemble des blés français et communautaires (160 variétés), et dont le tableau 2 donne un exemple limité aux vingt variétés françaises les plus cultivées, nous paraît l'un des plus simples possibles, car il exploite préférentiellement les zones de résolution élevée du diagramme (ω -gliadines).

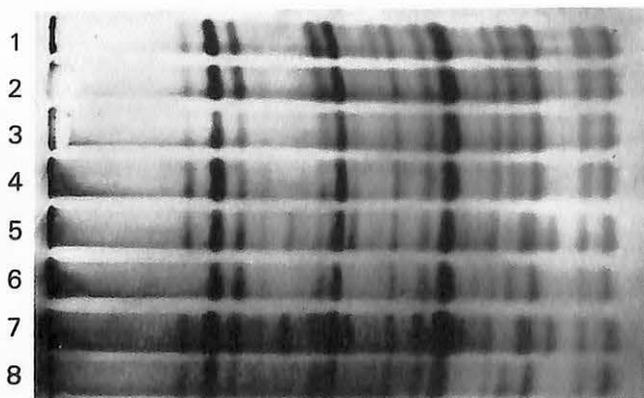
Pour identifier une variété inconnue, il suffit alors de déterminer les mobilités de quelques composants clés de l'électrophorogramme par simple comparaison avec un échantillon témoin dont les composants sont déjà connus, puis de suivre l'analyse dichotomique du tableau. La plupart des variétés actuelles de blé tendre et de blé dur peuvent être identifiées par ce procédé, car le cas de blés présentant des diagrammes identiques ne concerne guère que 5 p. 100 de l'ensemble des variétés.

Application au contrôle variétal dans les lots de blés commerciaux

Dans le domaine de l'application, la technique d'électrophorèse des gliadines semble donc constituer un test efficace de contrôle de l'identité d'une variété à partir du grain.

Pour le cas de lots variétalement purs, il est devenu possible, dans un délai de 24 heures, de contrôler l'identité d'une variété présumée par simple comparaison de l'électrophorogramme de

fig. 3 - Exemple d'analyse d'un mélange variétal par électrophorèse des gliadines grain par grain : détection de deux grains Cappelle (nos 5 et 7) dans un lot de Champlein (nos 1, 2, 3, 4, 6, 8).



l'échantillon avec celui d'un témoin de collection et même d'identifier la variété d'un blé inconnu grâce au tableau de détermination chimiotaxonomique.

Dans le cas de mélanges variétaux, comme l'analyse des gliadines d'une mouture globale est généralement ininterprétable en raison de l'additivité des bandes provenant de différents diagrammes variétaux déjà complexes par eux-mêmes, on a recouru à une version miniaturisée de la technique. Cette version (fig. 3) consiste en une détermination grain par grain de la variété sur un microéchantillon représentatif du lot. Elle permet, dans la limite d'intervalles de confiance (comme pour toute autre analyse de populations), de donner une idée du pourcentage de chacune des variétés présentes. C'est actuellement le seul procédé qui permette une détermination spécifique de la composition variétale qualitative et quantitative dans un mélange commercial de grains.

Une spécificité très élevée, une totale indépendance vis-à-vis des facteurs agro-climatiques et une miniaturisation autorisant des analyses grain par grain font que cette technique offre des possibilités nettement supérieures à tout ce qui existait jusqu'ici en matière d'identification variétale. L'électrophorèse des gliadines pourrait donc, dans l'avenir, associée à certains critères d'appréciation de la qualité, être retenue par la législation en matière de contrôle des blés commerciaux.

Il est cependant évident que, pour l'instant, cette méthode reste du domaine du laboratoire spécialisé et qu'elle ne peut pas être appliquée à tous les niveaux des circuits de contrôle. Son temps de réponse de 24 heures, inévitablement lié à sa spécificité élevée, empêche par ailleurs de l'utiliser dans les organismes stockeurs lors de la collecte des blés. L'électrophorèse des gliadines reste donc essentiellement un test a posteriori et pourrait constituer ainsi une méthode de référence absolue en cas de litige.

Une telle méthode paraît susceptible d'offrir une solution efficace au problème grave que pose pour la meunerie et pour l'avenir de la production française la récente introduction des variétés à haut rendement, mais non panifiables, qui viennent remettre en cause les critères de classement préconisés jusqu'ici. Il deviendrait alors possible aux utilisateurs de s'approvisionner auprès des organismes stockeurs en lots de caractéristiques variétales (et donc technologiques) définies, capables de satisfaire au mieux les besoins des diverses industries utilisatrices.

J.-C. A.

Bibliographie

- J. C. AUTRAN, « L'Identification des variétés de blé », in *Bull. anc. Elèves E.F.M.*, n° 256, p. 163-169, 1973; « Nouvelles Possibilités d'identification des variétés françaises de blé par électrophorèse des gliadines du grain », in *Industries agricoles et alimentaires*, sept.-oct. 1975 / J.-C. AUTRAN & A. BOURDET, « L'Identification des variétés de blé. Etablissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain », in *Ann. Amélior. Plantes*, vol. XXV, n° 3, p. 277-301, 1975; « Nouvelles Possibilités de contrôle variétal qualitatif et quantitatif dans les lots de blé commerciaux », in *Techniques des industries céréalières*, n° 150, p. 9-15, 1975 / J. A. D. EWART, « Wheat Identification by Starch Gel Electrophoresis », in *F.M.B.R. Letters*, p. 147-149, oct. 1975 / V. G. KONAREV, « Le Principe du marqueur protéique dans l'analyse génomique et dans la classification des blés » (en russe), *Vestn. Sel'Skokhoz. Nauki*, vol. XV, n° 8, p. 109-114, Moscou, 1975 / J. MOSSE, « Hétérogénéité et polymorphisme des protéines et isoenzymes végétales : aspects moléculaires et évolutifs », in *Physiol. végét.*, t. II, n° 11, p. 361-384, 1973 / A. A. SOZINOV & F. A. POPERELLIA, « Emploi de l'électrophorèse verticale en gel d'amidon des protéines alcool-solubles de l'albumen comme méthode d'étude des caractéristiques des blés » (en russe), *Dokl. Vses. Akad. Sel'Skokhoz. Nauki*, n° 6, p. 8-11, 1971 / C. W. WRIGLEY & K. W. SHEPHERD, « Identification of Australian Wheat Cultivars by Laboratory Procedures : Examination of Bure Samples of Grain and Grain Samples Containing a Mixture of Cultivars », in *Austral. Journ. Exp. Agric. Animal. Husbandry*, n° 14, p. 796-810, 1974.

BLÉS

Une nouvelle méthode d'identification

Les industries transformatrices de blé attachent un intérêt de plus en plus marqué à l'aspect variétal de leur matière première, notamment en raison de la récente apparition sur le marché de plusieurs variétés à haut rendement mais inaptes à la panification (Maris Huntsman, Clément, etc.). Depuis l'introduction de ces blés, la meunerie estime généralement que la notion de variété est la seule qui puisse être retenue pour différencier les blés panifiables des blés fourragers. En dépit des fluctuations qui résultent des conditions agro-climatiques, le critère variétal reste celui qui offre donc l'information la plus sûre quant à la valeur d'utilisation des blés et à leur destination. Ainsi se comprend l'actuelle nécessité de pouvoir contrôler ce critère, c'est-à-dire de reconnaître les variétés présentes, à l'état pur ou en mélange, dans les lots commerciaux de grains.

Il est par ailleurs naturel de disposer d'un tel moyen d'identification, en raison de l'existence même d'un catalogue officiel des variétés. Tous les blés qui y sont inscrits doivent en effet pouvoir être différenciés à partir de leur forme commerciale qu'est le grain et cela devient de plus en plus indispensable, compte tenu des modifications qui résultent de la récente ouverture des échanges commerciaux au niveau de la C.E.E.

Insuffisance des anciennes méthodes

Le problème de la reconnaissance des variétés de blé n'est évidemment pas nouveau, car différentes tentatives pour le résoudre ont été rapportées depuis plusieurs dizaines d'années. On sait ainsi que la détermination est possible d'après des caractères botaniques tels que le port de la plante, la pilosité de certaines feuilles, l'aspect de l'épi, la couleur des anthères. On peut aussi différencier plusieurs variétés au moyen de certains caractères observables sur la plantule (coloration du coléoptile en lumière artificielle, pilosité de la première feuille). Dans le même dessein, d'autres auteurs ont enfin utilisé la réponse de la plante à des traitements par l'acide gibbérélique ou par certains fongicides.

Mais le blé est commercialisé essentiellement sous la forme de grains (ou de produits de leur mouture), de sorte qu'en pratique une identification variétale doit pouvoir être effectuée directement à partir de ce matériel, ce qui exclut l'utilisation des caractères de la plante ou de la plantule. Il semble qu'on ne disposait jusqu'à présent que de quelques tests de caractérisation suivants : mensurations du grain (rapports entre la largeur du grain et sa longueur, la longueur de la brosse, la position de la radicule, etc.); test de coloration du grain à l'acide phénique, qui donne, selon la variété, un résultat échelonné entre le noir et le très peu coloré, en passant par différentes nuances de brun; couleur (roux ou blanc), texture (vitreuse ou farineuse) et dureté du grain; poids de 1 000 grains; caractéristiques de la courbe alvéographique « Chopin ».

Si la plupart de ces tests répondent bien à un impératif de rapidité, ils présentent aussi plusieurs types d'inconvénients. Tout d'abord, leur spécificité est faible, car ils permettent de distinguer des classes et non des variétés uniques; or, face à un problème de contrôle variétal, cela interdit de formuler des réponses positives. Par ailleurs, contrairement aux anciennes variétés françaises qui donnaient lieu à des réponses assez diversifiées, de nombreuses variétés nouvelles se comportent de façon identique, notamment pour ce qui est de la couleur du grain et de l'essai à l'acide phénique. On peut noter enfin une dépendance très forte de ces méthodes à l'égard des facteurs externes (notamment lieu de culture, année, fertilisation). C'est

le cas des mensurations du grain et du poids de 1 000 grains.

En conséquence, si la plupart de ces tests demeurent utiles, en raison de leur simplicité, pour effectuer un premier classement ou pour donner une idée de la pureté variétale (test à l'acide phénique), leur faible spécificité les rend insuffisants pour identifier avec précision un lot inconnu de semences. Une véritable détermination systématique de la variété à partir de la forme commerciale du blé qu'est le grain devait donc faire intervenir de nouveaux critères, plus spécifiques et ne présentant pas les inconvénients rapportés ci-dessus.

Pour cela, il semblait nécessaire de faire appel aux propriétés physico-chimiques de certains constituants du grain, et tout particulièrement des protéines. Celles-ci apparaissent en effet étroitement associées au patrimoine héréditaire des blés, et leur structure peut constituer, dans certains cas, un véritable marqueur génétique, exploitable dans des tests d'identification de genres, espèces ou variétés.

Nouvelles possibilités offertes par les électrophorogrammes protéiques

Les diagrammes de fractionnement de nombreuses protéines et enzymes étudiées chez le blé présentent, à des degrés divers, une certaine spécificité génétique. On sait ainsi que l'hétérogénéité électrophorétique des albumines-globulines permet de différencier les blés tendres des blés durs, mais non pas de reconnaître les variétés d'une même espèce. Selon le même principe, les zymogrammes de β -amylase, de peroxydase, d'estérase ou de phosphatase permettent de distinguer plusieurs types variétaux.

Cependant, la catégorie de protéines dont les électrophorogrammes présentent, chez le blé, le polymorphisme le plus élevé demeure, à l'heure actuelle, celle des gliadines, que l'on définit classiquement à partir de leur solubilité dans les alcools dilués.

On a constaté ainsi, depuis plus de dix ans, que l'hétérogénéité des gliadines constitue un caractère variétal et qu'en aucun cas elle n'apparaît influencée par les conditions culturales ni par les facteurs du milieu (lieu, année, climat, apport d'azote, de fongicide, etc.). Mais, jusqu'à ce jour, nul ne semble avoir pleinement utilisé ces données fondamentales à des fins pratiques. Les fractionnements de gliadines obtenus en gel d'amidon ou en gel de polyacrylamide par différentes équipes américaines, soviétiques, hollandaises et françaises n'ont jamais été exploités, à notre connaissance, en vue de l'établissement d'un tableau d'identification variétale, mais seulement à des fins de biochimie fondamentale ou de biochimie génétique.

Les recherches ici rapportées ont au contraire pour objet l'établissement d'un système d'identification de l'ensemble des variétés françaises de blés. Ce système est fondé sur la seule technique d'électrophorèse en gel d'amidon et utilise les données qualitatives et quantitatives de l'ensemble des diagrammes des gliadines du grain.

Mise en œuvre de l'électrophorèse des gliadines du grain de blé

Les conditions expérimentales retenues sont celles d'une électrophorèse classique et comprennent les deux phases suivantes : extraction de la fraction gliadine à partir du grain; fractionnement électrophorétique proprement dit.

On réalise l'extraction de la fraction gliadine directement à partir de grain broyé ou de farine, par simple contact durant une heure dans le solvant éthanol 60 p. 100 (ou encore chloro-2-éthanol 25 p. 100). On travaille généralement sur 1 gramme de matériel avec 3 millilitres de solvant; mais l'extraction peut être miniaturisée en opérant sur un seul grain avec 150 μ l. Cela permet en particulier d'analyser grain à grain les gliadines d'un microéchantillon prélevé dans un mélange variétal.

Les protéines ainsi solubilisées sont fractionnées par électrophorèse classique en gel d'amidon 10 p. 100, tampon lactate d'aluminium, pH 3,2 μ 0,005 (μ étant la force ionique de la solution tampon). La solution protéique est introduite dans le