

DETERMINISME GENETIQUE DE CERTAINS COMPOSANTS DES GLIADINES

Jean-Claude AUTRAN

Laboratoire de Technologie des Blés durs et du Riz  
I.N.R.A. 9 Place Viala 34060 MONTPELLIER CEDEX.

INTRODUCTION

La majeure partie des protéines du grain de blé (et du grain des autres céréales) sont des protéines de réserve. Ces protéines sont accumulées au cours de la maturation du grain et leur seule fonction connue est de constituer, au cours de la rapide dégradation enzymatique qui accompagne la germination, une source d'azote disponible pour l'embryon.

Parmi ces protéines, on distingue habituellement la fraction gliadine, définie par sa solubilité dans les alcools dilués (ou par son exceptionnelle richesse en glutamine et en proline) et la fraction gluténine insoluble dans les mêmes conditions (bien que la frontière entre les deux soit de plus en plus remise en question).

HETEROGENEITE ET POLYMORPHISME DES GLIADINES

La fraction gliadine sur laquelle nous nous concentrons aujourd'hui est constituée d'un assez grand nombre de composants, de sous-unités, que différentes techniques de fractionnement ont permis de mettre en évidence. Par exemple, une vingtaine par électrophorèse en gel d'amidon, vingt à vingt-cinq par électrophorèse en gel de polyacrylamide, une trentaine par électrofocalisation, une vingtaine par électrophorèse en milieu sodium dodécylsulfate, quarante à cinquante par des techniques bidimensionnelles.

Rappelons que chacune de ces nombreuses sous-unités correspond à au moins une espèce moléculaire et peut être caractérisée par différents paramètres physico-chimiques (mobilité électrophorétique, charge électrique, encombrement moléculaire, pH isoélectrique, composition en acides aminés, séquence des acides aminés,...)

Les diagrammes de fractionnement des gliadines présentent, outre cette grande hétérogénéité, un remarquable polymorphisme intervariétal. Comme ces diagrammes apparaissent indépendants des facteurs d'environnement, on a pu utiliser les gliadines pour identifier les cultivars au niveau du commerce des grains et comme marqueurs des génotypes, en sélection.

LOCALISATION CHROMOSOMIQUE

Depuis les travaux de WRIGLEY et SHEPHERD (1968, 1970), les gènes codant pour les gliadines ont pu être associés aux chromosomes homéologues des groupes 1 et 6 des blés, c'est-à-dire aux paires 1A, 6A, 1B, 6B chez le blé dur, 1A, 6A, 1B, 6B, 1D, 6D chez le blé tendre. Dans le cas de la variété Chinese Spring, la plupart des bandes du diagrammes ont pu ainsi être associées à une paire chromosomique bien déterminée (du groupe 1 pour les oméga-gliadines, du groupe 6 pour les alpha-gliadines), parfois deux paires, parfois trois, lorsque les composants renferment deux ou plusieurs

Exposé à la journée du 24 avril à Paris: "Compte-rendu des travaux du groupe Biochimie-Génétique de l'I.N.R.A."

espèces moléculaires différentes.

Ainsi, quand on enlève le génome D, les bandes se trouvant sous la dépendance de gènes de ce génome ne sont plus synthétisées. De même, quand on analyse des lignées aneuploïdes, on observe que les composants gliadines apparaissent sur le diagramme en concentration grossièrement proportionnelle au dosage des gènes qui les codent. Par exemple, dans un monosomique 6B, on observe simplement un affaiblissement des composants codés par le chromosome 6B; dans un nullisomique ou un nulli-tétrasonique, on a disparition des bandes codées par la paire chromosomique absente et éventuellement, renforcement de ceux codés par le chromosome présent à quatre exemplaires.

#### DETERMINISME GENETIQUE

Toutefois, bien que la localisation chromosomique des gènes codant pour les gliadines soit assez bien connue, il n'y a que peu d'informations sur le déterminisme génétique des différents composants gliadines, c'est-à-dire sur la manière dont ils sont exprimés et contrôlés.

Il est pourtant évident qu'une compréhension détaillée de l'aspect génétique de ces excellents marqueurs du génotype que sont les gliadines (compréhension qui autoriserait une certaine "manipulation" génétique des constituants) pourrait aider dans l'amélioration génétique des blés, tant au niveau du rendement et de la résistance aux maladies qu'au niveau de la qualité technologique.

Nous allons donc essayer de faire le point de nos résultats sur le déterminisme génétique des constituants gliadines et nous avons choisi pour cela quelques exemples pris les uns chez le blé tendre, les autres chez le blé dur. Dans le cas des blés tendres, nos conclusions resteront sur un plan assez théorique, assez général, tandis que dans le cas du blé dur, en raison de la relation démontrée entre la présence de certaines gliadines et les propriétés visco-élastiques du gluten, nous aborderons les possibilités de sélection pour la qualité à partir du diagramme électrophorétique gliadine.

L'étude du déterminisme génétique a fait intervenir évidemment des croisements entre variétés différentes, présentant des diagrammes gliadines différents et une analyse électrophorétique de la descendance aux niveaux F1, F2 et parfois F3.

Voyons tout d'abord la question des hybrides de première génération F1. Rappelons que lorsqu'on croise une variété A (génotype A/A) par une variété B (génotype B/B), on introduit du pollen B sur le stigmate de la plante A entraînant ainsi la formation d'un grain hybride F1 porté par la plante femelle F<sub>0</sub>. Ce grain F1 est constitué d'un embryon, hybride (génotype A/B) mais aussi d'enveloppes (génotype A/A car origine maternelle) et d'un albumen, triploïde (en raison de la double fécondation: fusion du noyau végétatif du pollen B avec les deux noyaux polaires du sac embryonnaire de l'ovule A) et de génotype AA/B d'origine maternelle pour les 2/3, paternelle pour 1/3.

Nous avons étudié les diagrammes gliadines de grains F1 de différents croisements (Darius x Décius, Joss x Mayo, Fournil x Yaktana,...) et nous avons observé qu'il y a toujours, dans le diagramme de chaque grain F1, addition des composants gliadines apportés par chacun des deux parents (sans apparition de composant nouveau), mais avec prédominance de ceux hérités du parent femelle sur ceux hérités du parent mâle, résultat qui est donc en accord avec le fait que le génotype du grain F1 (assimilable à celui de son albumen en raison de la très faible teneur en gliadine du germe et des enveloppes) est aux 2/3 d'origine maternelle. Dans le grain hybride F1, tout se passe donc comme si la quantité de chaque composant gliadine était grossièrement proportionnelle au nombre de doses du gène de structure correspondant.

Dans le cas des blés durs, hormis quelques anomalies observées dans les croisements BIDI 17 x LAKOTA, des observations identiques ont été effectuées tout particulièrement au niveau des bandes 42 et 45.

Pour ce qui est des hybrides de 2<sup>e</sup> génération: F2, on rappelle que les grains F1 donnent naissance à des plantes F1, toutes identiques et de génotype A/B, lesquelles, par autofécondation, produisent des grains F2 au sein desquels se produisent des disjonctions. La diapositive montre que la ségrégation des caractères s'effectue théoriquement selon des rapports 1:2:1 dans l'embryon, mais de 1:1:1:1 dans l'albumen, toujours en raison de sa nature triploïde.

Que se passe-t-il au niveau des diagrammes gliadines? On observe effectivement des disjonctions, je veux dire des redistributions de composants, le diagramme d'un grain F2 apparaissant constitué de composants provenant soit du parent mâle, soit du parent femelle, soit des deux.

Le dépouillement et l'interprétation des diagrammes de grains F2 est parfois très difficile en raison du grand nombre de composants observés et des différences d'ordre quantitatif, car une bande peut être présente à des niveaux d'intensité très différents, vraisemblablement selon le nombre de doses présentes du gène correspondant. Il est en effet souvent très difficile ou impossible, parmi des diagrammes dont l'intensité globale est déjà variable, de déterminer si une bande est absente (gène absent ou ne s'exprimant pas) ou faiblement présente (gène intervenant à une dose simple).

Néanmoins, dans un certain nombre de croisements, il a été possible de répertorier, soit manuellement, soit avec l'aide de l'ordinateur, et avec une assez bonne précision, les grains F2 chez lesquels les bandes responsables de différences entre les diagrammes des parents étaient présentes ou absente, ce qui a permis de préciser, du moins d'éclairer leur déterminisme génétique.

Ainsi, après analyse de 100 grains du croisement Darius x Décus (dont les diagrammes ne diffèrent que par 7 bandes), on observe que chacune de ces 7 bandes se retrouve dans les diagrammes de la population F2 selon un rapport présence/absence allant de 0,73 à 0,80. De même, dans le croisement Joss x Mayo, la plupart des 17 bandes à l'origine de différences entre les parents, lorsqu'elles ont pu être décomptées avec précision, montrent un rapport présence/absence de l'ordre de 3:1 avec des khi deux montrant que l'hypothèse 3:1 peut être significativement retenue.

Dans la limite des analyses effectuées, il semble donc que la plupart des composants gliadines soient contrôlés par un seul gène dominant.

Un examen plus approfondi des disjonctions et, parallèlement, une étude des corrélations interbandes, permettent en outre de mettre en évidence que le redécoupage des diagrammes parentaux ne se fait pas au hasard, mais qu'il existe des groupes de composants au sein desquels aucune recombinaison n'a pu, jusqu'ici, être observée, et qui paraissent donc se transmettre "en bloc". Par exemple, dans le cas du croisement Joss x Mayo, il y a toujours présence du groupe complet 22-26-30 ou du groupe complet 21-25-28-34. Chez les blés durs, lorsqu'il y a présence de la bande 42, il y a aussi présence du "bloc" 42-40-38-35.

L'hypothèse de ces blocs de gliadines est relativement ancienne. Déjà en 1969, DOEKES considérait le diagramme gliadine comme formé de sections juxtaposées, sans chevauchement, ayant chacune une hérédité propre. Ultérieurement, SOZINOV (1974) montre que les blocs de composants se transmettant simultanément peuvent s'interpénétrer, résultat que nous confirmons, car, par exemple, dans le croisement Darius x Décus, la bêta gliadine 71 est systématiquement associée aux oméga 26 et 30; de même, l'alpha 90 est associée

à la gamma 74. Des bandes lointaines sur le diagramme peuvent donc appartenir au même bloc, d'où une autre présentation possible, beaucoup plus simple, de la ségrégation en F2, non plus par bandes considérées individuellement, mais par blocs.

Le fait que ces blocs apparaissent présents dans environ 75 % de la population F2 et que jamais, dans une variété fixée, on observe la présence simultanée de blocs homologues, peut faire penser que ces blocs de composants gliadines se comportent comme des allèles dont l'hérédité serait de type co-dominant. L'hypothèse la plus probable est que ces blocs gliadines pourraient être chacun sous la dépendance d'un groupe de gènes étroitement liés (sorte de locus multiple) situé sur un même chromosome de l'un des groupes 1 ou 6 d'homéologie.

Chez les blés durs, si l'on se penche sur le déterminisme des bandes 45 et 42, on observe également des ségrégations de type 1:2:1. Ceci est particulièrement net pour 2021 x line 205 : 25 % de la population F2 possèdent le type parental femelle, 25 % le type parental mâle et 50 % sont hybrides. Une légère déviations de ces proportions est observée chez 3034 x Agathe. Ce type de déterminisme et cet antagonisme reconnu entre les bandes (ou les blocs) 45 et 42 permettent de penser qu'on a affaire à deux allèles du même gène, dont l'hérédité serait également de type co-dominant.

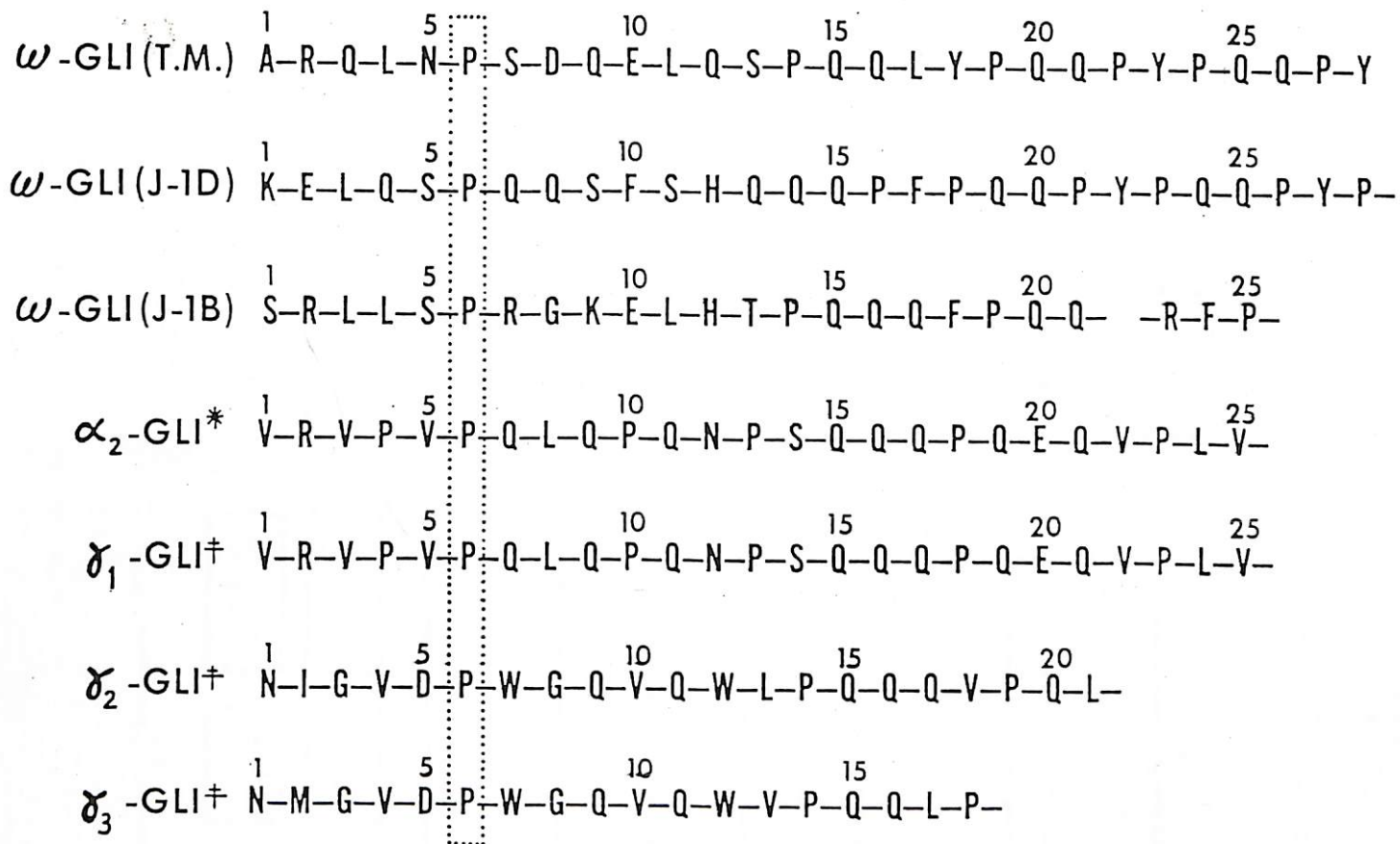
Si l'on analyse les grains F3 descendant de grains F2 dont le type électrophorétique a été préalablement déterminé (sur 1/2 grain), on observe que toute la descendance F3 d'un grain F2 de type 42 est aussi de type 42 et que toute la descendance F3 d'un grain F2 de type 45 est aussi de type 45. Au niveau de ce caractère, aucune disjonction n'est plus observée, ce qui montre que 50 % des individus sont bien fixés, pour ce caractère, dès la F2 et ce qui permet d'envisager effectivement une sélection qualitative des blés durs sur la base de l'électrophorégramme gliadine.

Je ne veux pas cacher qu'il reste quelques cas où une interprétation aussi nette n'a pas été possible et que ces anomalies font précisément l'objet de nos préoccupations et de nos discussions actuelles. Toutefois, d'une façon générale, il semble qu'on puisse conclure à :

- des groupes de composants gliadines paraissant se transmettre en bloc
- ces blocs correspondraient à des allèles à hérédité co-dominante
- ils seraient codés par des groupes de gènes étroitement liés situés sur les chromosomes des groupes 1 et 6 d'homéologie.

Pour en revenir au cas où une déviation par rapport à une ségrégation de type 1:2:1 a été observée, plusieurs hypothèses peuvent être formulées:

- 1) Difficultés pour détecter certaines bandes faiblement présentes lorsque le gène correspondant intervient à dose simple (d'où oubli de décompter certains grains, ce qui fausse le rapport observé présence/absence et peut faire croire à un autre type de déterminisme génétique).
- 2) Existence de bandes gliadines apparemment simples, mais englobant en fait deux ou plusieurs espèces moléculaires différentes, pouvant être codées par des gènes indépendants (cf Chinese Spring)
- 3) Phénomènes de régulation, pouvant expliquer certaines différences quantitatives au sein d'un bloc
- 4) Différences de viabilité entre certains recombinants contribuant à fausser la détermination du rapport présence/absence (étant entendu que la population F2 analysée n'est jamais constituée que des individus viables).



A = ALA, D = ASP, E = GLU, G = GLY, H = HIS, I = ILE, L = LEU,  
 N = ASP, P = PRO, Q = GLN, R = ARG, S = SER, V = VAL, W = TRP

COMPARISON OF  $\omega$ -GLIADIN COMPONENTS BY N-TERMINAL AMINO ACID SEQUENCING

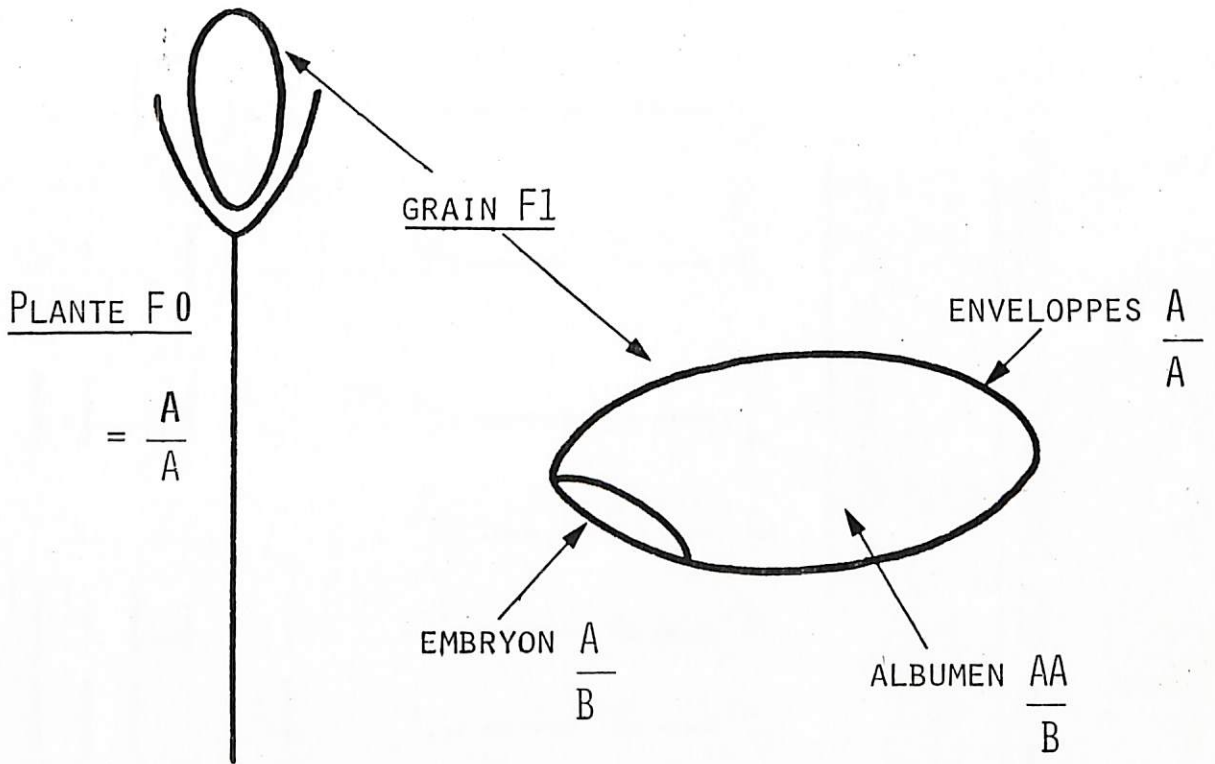
Jean-Claude Autran, Charles C. Nimmo, Ellen Lew, and Donald D. Kasarda

SEGREGATION EN F2 DES GLIADINES 42 ET 45

	TYPE DIAGRAMME	PRESENCE	ABSENCE	PRESENCE/ABSENCE	$\chi^2(3 : 1)$
<u>2021 x LINE 305</u>					
	45	151	50	3,0	0,002
201 GRAINS ANALYSES	42	150	51	2,9	0,02
<u>3034 x AGATHÉ</u>					
	45	182	38	4,8	7,01
220 GRAINS ANALYSES	42	150	70	2,1	5,45

CROISEMENT A x B

HYBRIDE F1



LA PLANTE ♀ F0 PORTE

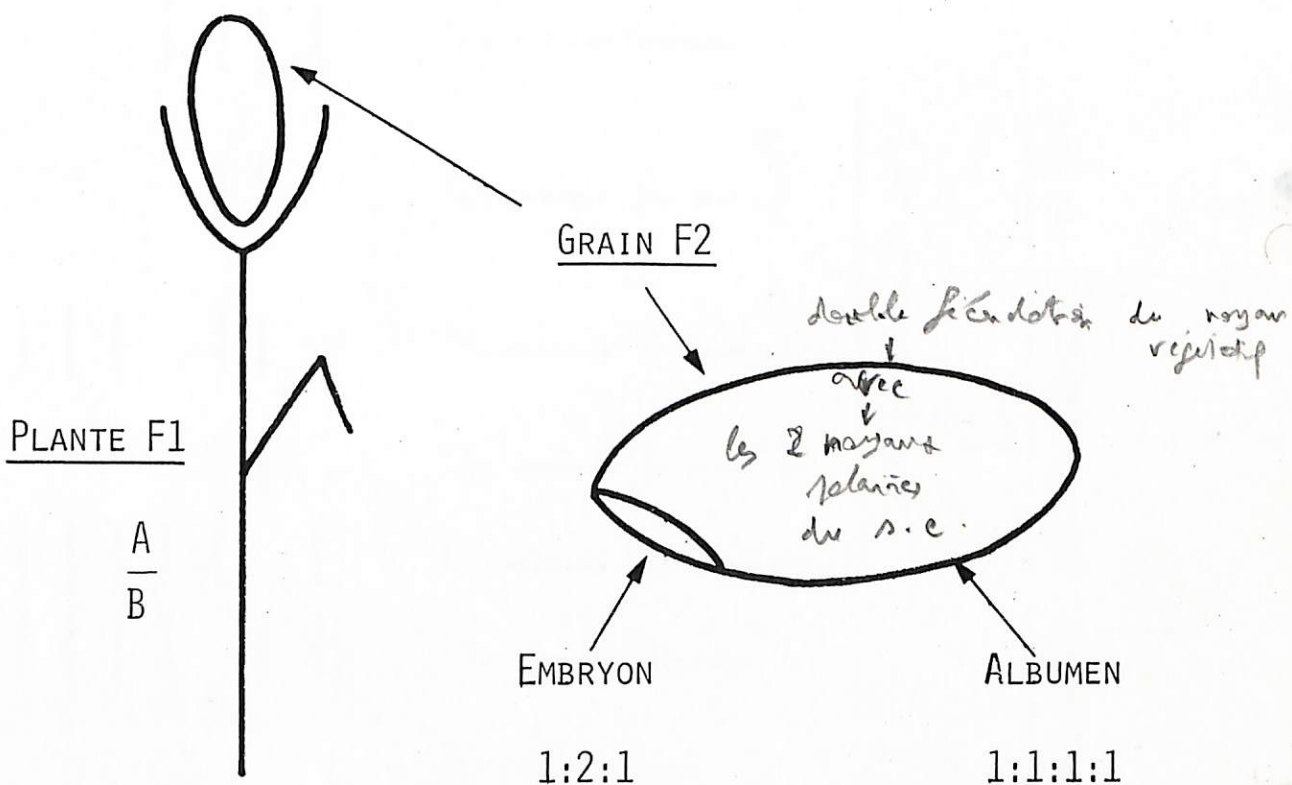
LE GRAIN HYBRIDE ISSU DE LA FECONDATION MANUELLE  $\frac{A}{A} \times \frac{B}{B}$

- DES GROUPES DE COMPOSANTS GLIADINES PARAISSENT SE TRANSMETTRE EN BLOC
- CES BLOCS CORRESPONDRAIENT A DES ALLELES A HEREDITÉ CO-DOMINANTE
- ILS SERAIENT CODES PAR DES GROUPES DE GÈNES ETROITEMENT LIÉS SITUÉES SUR LES CHROMOSOMES DES GROUPES 1 ET 6 D'HOMEOLOGIE



CROISEMENT A x B

HYBRIDE F2



DISJONCTIONS :

$\frac{A}{A}$     $\frac{A}{B}$     $\frac{B}{B}$

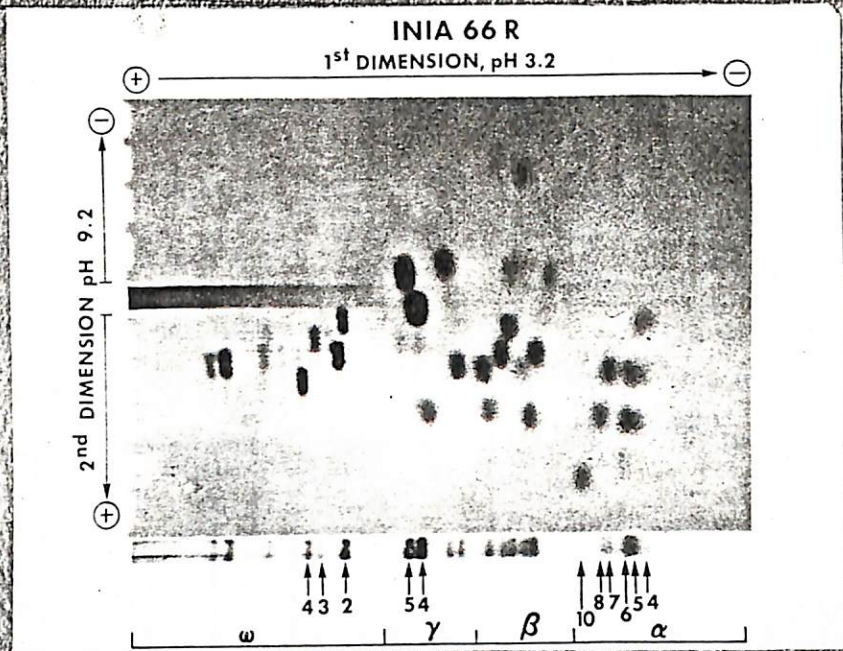
$\frac{AA}{A}$     $\frac{AA}{B}$     $\frac{BB}{A}$     $\frac{BB}{B}$

ELECTROPHOREGRAMMES GLIADINES DE GRAINS F3

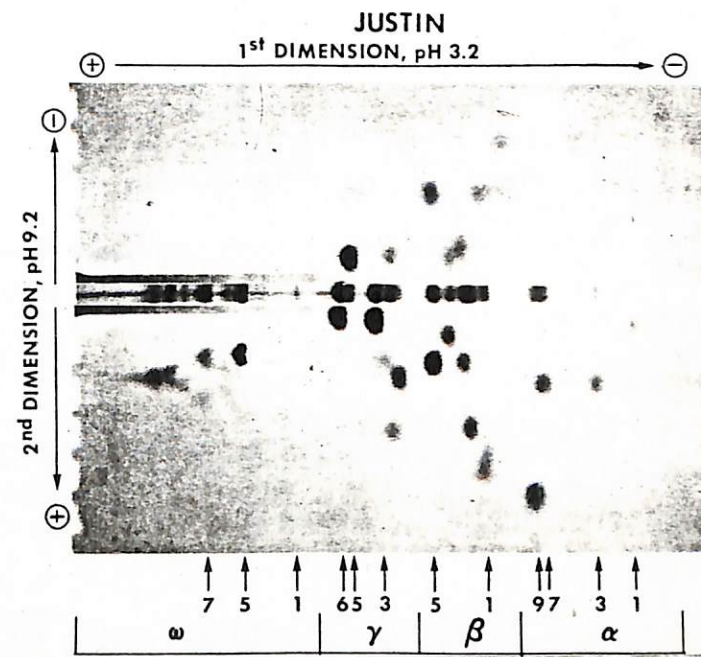
3034 X AGATHÉ

TYPE DE DIAGRAMME %

	<u>45</u>	<u>45-42</u>	<u>42</u>
<u>TYPE 45 EN F2</u>			
(40 GRAINS)	40	0	0
<u>TYPE 42 EN F2</u>			
(40 GRAINS)	0	0	40



ov. dentate



# DIVERSITÉ DES COMPOSANTS GLIADINES

1 GÈNE ANCESTRAL



→ POLYPEPTIDE DE P.M. 36000 ?

DUPLICATION DE GÈNES



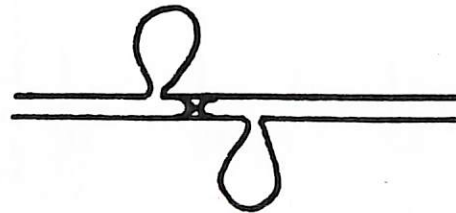
N COPIES DU MÊME GÈNE

MUTATIONS PONCTUELLES



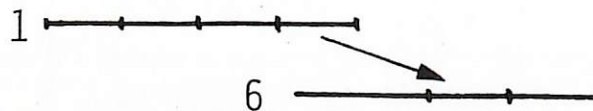
APPARITION POSSIBLE DE COMPOSANTS DE MOBILITÉS DIFFÉRENTES

TRANSLOCATIONS, DELETIONS  
ENTRAINANT DES CROSSING-  
OVER ASYMETRIQUES



APPARITION DE COMPOSANTS DE TAILLES MOLECULAIRES DIFFÉRENTES

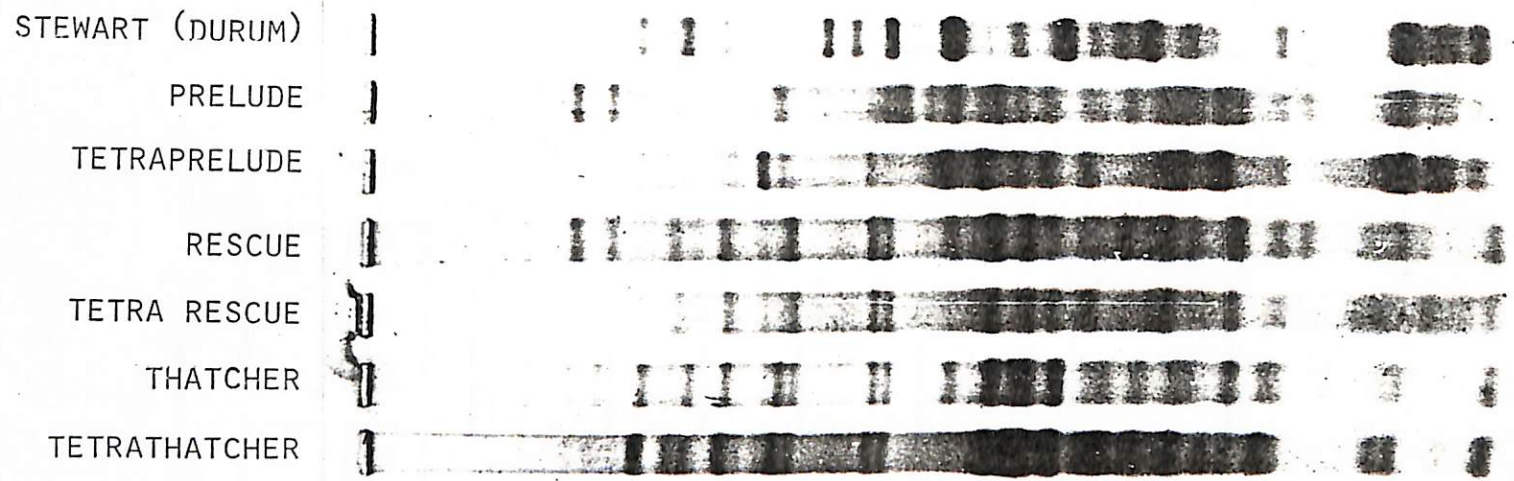
TRANSLOCATION 1 → 6



$\omega$  -GLIADINES CODÉES PAR GROUPE 1  
 $\alpha$  - " " GROUPE 6  
 $\beta$  - ET  $\gamma$  - " " GROUPE 1 ET 6

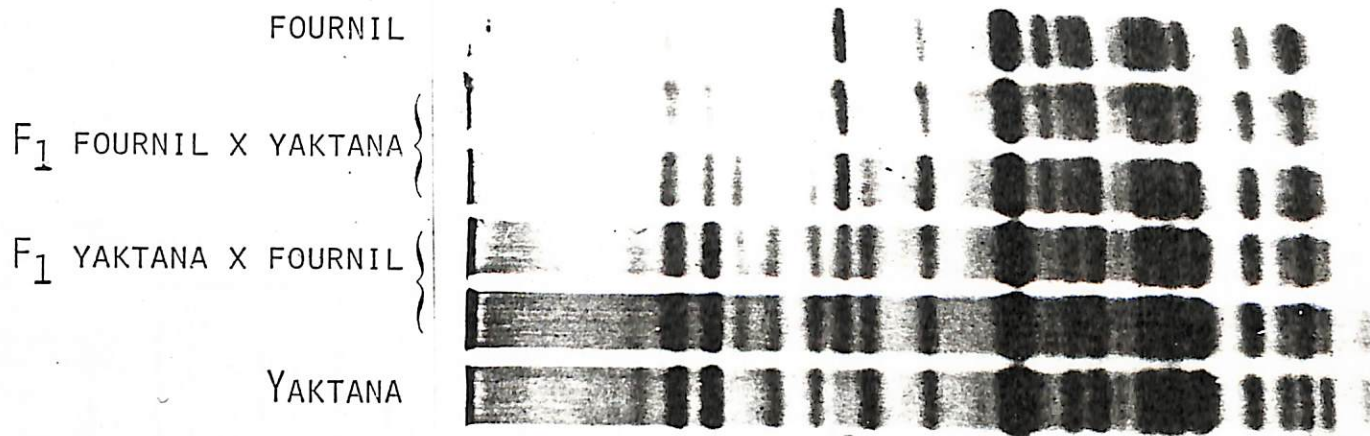
Figure 2

ELECTROPHOREGRAMMES GLIADINES DE  
BLES TETRAPLOIDES DERIVÉS D'HEXAPLOIDES



ELECTROPHOREGRAMMES GLIADINES DE GRAINS F<sub>1</sub> FOURNIL X YAKTANA

pasent benelle  
tyy: a farche



3:1  
 clone 19/19  
 19/19

ELECTROPHOREGRAMMES GLIADINES DE GRAINS F2

	<u>TYPE DE DIAGRAMME (%)</u>		
	<u>45</u>	<u>45-42</u>	<u>42</u>
<u>2021 X LINE 205</u>			
PL. 1 (98 GRAINS)	25	48	27
PL. 3 (103 GRAINS)	26	52	22
TOTAL (201 GRAINS)	25	50	25
<u>3034 X AGATHÉ</u>			
PL. 1 (110 GRAINS)	33	49	18
PL. 10 (110 GRAINS)	31	53	16
TOTAL (220 GRAINS)	32	51	17



SEGREGATION EN F<sub>2</sub> DES GLIADINES DU CROISEMENT DARIUS X DECIUS

ANALYSE PAR BANDES

<u>BANDE GLIADINE</u>	<u>PRESENCE</u>	<u>ABSENCE</u>	<u>PRESENCE/ABSENCE</u>	<u><math>\chi^2</math> 3 : 1</u>
90	73	27	2.7	0.21
81	75	25	3.0	0.00
80	75	25	3.0	0.00
74	73	27	2.7	0.21
71	80	20	4.0	1.33
30	79	21	3.7	0.85
26	80	20	4.0	1.33

(100 GRAINS ANALYSES)

SEGREGATION EN F2 DES GLIADINES  
DU CROISEMENT DARIUS X DECIUS

---

<u>"BLOC" GLIADINE</u>	<u>PRÉSENCE</u>	<u>ABSENCE</u>	<u>PRESENCE/ABSENCE</u>	<u><math>\chi^2</math> 3 : 1</u>
81 (DE)	75	25	3,0	0,00
80 (DA)				
90 } (DA)	73	27	2,7	0,21
74 }				
71 } (DE)	80	20	4,0	1,33
30 }				
26 }				

(100 GRAINS ANALYSES)

SEGREGATION EN F2 DES GLIADINES 42 ET 45

	<u>TYPE DIAGRAMME</u>	<u>PRESENCE</u>	<u>ABSENCE</u>	<u>PRESENCE/ABSENCE</u>	<u><math>\chi^2(3 : 1)</math></u>
<u>2021 x LINE 305</u>	45	151	50	3,0	0,002
201 GRAINS ANALYSES	42	150	51	2,9	0,02
<u>3034 x AGATHÉ</u>	45	182	38	4,8	7,01
220 GRAINS ANALYSES	42	150	70	2,1	5,45

LOCALISATION CHROMOSOMIQUE  
DES GENES CODANT POUR LES COMPOSANTS GLIADINES

DIAGRAMME ELECTROPHORETIQUE GLIADINE	TYPE DE CONTRÔLE		
	1 PAIRE	2 PAIRES	3 PAIRES (?)
	6A		
α {     	6A 6D		
			0
β {       	1B	1A + 6A	0
		6B + ?	
γ {     	1B		0
		1A + 1B	
		1A + 1D	
ε {       	1B 1B		
	1A		0
	1D		
	1D		

D'APRÈS C.W. WRIGLEY, ANN. N.Y. ACAD. SC., 209, 154, 1973

# SEGREGATION EN F2 DES GLIADINES

## DU CROISEMENT JOSSE x MAYO

BANDE GLIADINE	PRESENCE	ABSENCE	PRESENCE/ABSENCE	$\chi^2$ 3:1
21	68	27	2,5	0,588
22	71	24	2,9	
25	65	30	2,2	0,588
26	71	24	2,9	
28	68	27	2,5	14,81
30	71	24	2,9	
34	67	28	2,4	14,81
37	65	30	2,2	
39	60	35	1,7	14,81
44	61	34	1,8	
45	55	40	1,4	14,81
46	66	29	2,3	
56	67	28	2,4	14,81
62	66	29	2,3	
79	63	32	1,9	

(95 GRAINS ANALYSES)

## HEREDITE "PAR BLOCS" DES COMPOSANTS GLIADINES

### TYPES PARENTAUX

$A_3$	81	80	$B_3$
$A_2$	0	90	$B_2$
$A_1$	71	0	$B_1$
	30	0	
	26	0	

### TYPES RENCONTRES EN $F_2$

$A_3$	$B_3$	$A_3$	$A_3-B_3$	$A_3-B_3$	$A_3-B_3$
$B_2$	$B_2$	$A_2$	$A_2$	$A_2$	$B_2$
$A_1$	$A_1$	$B_1$	$A_1$	$B_1$	$B_1$

		90	—	—	—	—	—
DECIUS	DARIUS	81	—	—	—	—	—
		80	—	—	—	—	—
		74	—	—	—	—	—
		71	—	—	—	—	—
		30	—	—	—	—	—
		26	—	—	—	—	—