
PARTIE TECHNIQUE

Emplois de l'électrophorèse dans la filière « céréales » possibilités et limites actuelles

Jean-Claude AUTRAN, Renée BERRIER,
Marie-Françoise JEANJEAN,
Philippe JOUDRIER et Karoly KOBREHEL*

RÉSUMÉ

La technique d'électrophorèse, naguère réservée à des laboratoires de recherche pure, est devenue un outil de routine à différents niveaux de la filière céréalière.

Le principe de l'électrophorèse et celui des principales variantes (électrofocalisation, isotachophorèse, gradient de concentration, présence de SDS) est rappelé et la signification des diagrammes d'électrophorèse est discutée.

Dans le cadre d'une sélection variétale fondée sur des critères biochimiques, l'intérêt et l'efficacité de l'électrophorèse de certaines protéines sont démontrés : résultats indépendants des facteurs agro-climatiques, approche de la composante purement génotypique de la qualité, déterminisme génétique simple, travail possible sur des micro quantités. Les travaux les plus significatifs en ce sens sont développés : sélection de blés durs de potentiel élevé de qualité culinaire grâce aux électrophorégrammes de gliadines (types 45 ou 42), possibilité de sélection de blés tendres de force boulangère élevée à partir d'électrophorégrammes gliadines et gluténines, recherche de tests de sélection pour la valeur brassicole des orges à partir de diagrammes protéiques ou enzymatiques, marquage biochimique de gènes et de caractères agronomiques.

Les possibilités et les limites de l'électrophorèse sont ensuite précisées au niveau de la production et de l'utilisation des céréales pour ce qui est de l'identification variétale et de l'appréciation de la qualité des lots de blé. Le potentiel élevé de l'électrophorèse des gliadines est confirmé et on fait le point sur l'évolution et le développement de cette méthode d'identification variétale : nouveaux supports, informations complémentaires à partir d'autres protéines, application à d'autres céréales. Par contre, l'appréciation directe par électrophorèse de la qualité d'un lot de grains (potentiel de la variété x passé de l'échantillon) ne semble pas possible par les techniques développées jusqu'ici et ne peut actuellement se concevoir que par l'intermédiaire d'une analyse de la composition variétale du lot.

SUMMARY

Electrophoresis was hardly used for some basic researches not so very long ago. It has now become a routine tool in different sectors of the cereal area.

The principle of electrophoresis and of its main alternatives (iso-electric focusing, isotachophoresis, concentration gradient, presence of SDS) is recalled and the significance of electrophoretic patterns is discussed.

As part of a breeding program based on biochemical data the interest and the efficiency of protein electrophoresis are demonstrated: results inde-

pendent of environmental factors, approach of the genotypic component of quality, simple inheritance, analysis possible from micro amounts. The most significant works with this end in view are emphasized : breeding of durum wheats with high cooking quality potential by means of gliadin electrophoregrams (type 45 or 42), possibility of breeding of bread wheats for high baking strength through gliadin or glutenin electrophoregrams, research about breeding tests for brewing quality of barley from proteic or isoenzymatic patterns, biochemical markers of genes or of agronomical characteristics.

The possibilities and limits of electrophoresis are then specified for cereals production and utilization areas concerning varietal identification and quality assessment in wheat batches. The high potential of gliadin electrophoresis in confirmed and its evolution and development are restated: new medium supports, complementary informations by other proteins, extension to other cereals. On the other hand, a direct electrophoretic assessment of quality of a batch of grains (i.e. potential of the variety x agronomical record of the sample) does not seem possible by present techniques and can be only conceived through an analysis of varietal composition.

Depuis son apparition vers 1950 pour le fractionnement de protéines ou d'enzymes, la technique d'électrophorèse sur support a connu un prodigieux développement dans des domaines aussi divers que la biologie clinique, la biologie moléculaire, la biochimie alimentaire, l'enzymologie, la pharmacologie, la taxonomie, etc.

L'application de l'électrophorèse aux protéines végétales a cependant connu un important retard, surtout en raison des difficultés d'extraction et de solubilisation à partir des tissus végétaux et plus particulièrement dans le cas des organes de réserve tels que les graines.

L'électrophorèse sur support n'a été ainsi pratiquée pour la première fois sur des protéines de céréales qu'au début des années 1960. Pendant les années qui suivirent, cette technique n'allait rester encore que dans les mains d'un nombre limité de chercheurs spécialisés dans la structure des protéines du gluten ou dans l'étude des bases biochimiques fondamentales de la qualité technologique, ou encore sur les relations phylogénétiques entre espèces de céréales. Ce n'est guère que vers 1973, en France et dans le monde, avec la nécessité accrue de pouvoir distinguer des lots de grains de qualité très différente que l'électrophorèse a commencé à se vulgariser. Ce qui était uniquement technique de recherche est devenu technique de routine et quelques années plus tard, on pouvait observer qu'à tous les niveaux de la filière « céréales », on était concerné par les possibilités de l'électrophorèse. Sélectionneurs, organismes stockeurs, négociants, grands moulins, organismes officiels, s'ils ne pratiquent certes pas tous l'électrophorèse, sont actuellement amenés à s'intéresser à elle ou à ses résultats.

A l'origine, certains ont pu penser que l'outil électrophorétique permettrait d'aborder et de résoudre des problèmes de toute nature, tandis que d'autres, plus prudents, mettaient l'accent sur les limites de la technique. Il devenait donc nécessaire de tenter de faire le point sur les emplois actuels de l'électrophorèse dans le secteur « céréales ».

Après quelques rappels sur le principe des différentes techniques électrophorétiques, nous examinerons donc leurs principales utilisations en séparant notamment les problèmes concernant les sélectionneurs et les utilisateurs de céréales. Sans prétendre à l'exhaustivité, nous débordons largement du cadre de l'identification des variétés par électrophorèse des gliadines, auquel s'étaient limitées la plupart des publications françaises antérieures dans ce domaine. Nous essayerons enfin de dessiner les possibilités et les limites potentielles de l'électrophorèse pour le futur.

* Laboratoire de Technologie des Céréales I.N.R.A. 9, place Viala, 34060 Montpellier.

1. Rappels sur les techniques d'électrophorèse

1.1. Principe

Les molécules protéiques possèdent conjointement des acides aminés acides et basiques qui leur confèrent des charges électriques différentes selon le pH du milieu environnant. Soumises à l'influence d'un champ électrique, des protéines en solution vont se comporter comme des particules chargées et donc se déplacer vers l'anode ou la cathode selon leur charge propre. Des protéines de charge différente auront ainsi des vitesses de migration différentes.

A partir d'une protéine naturelle, l'électrophorèse permet généralement d'obtenir un diagramme caractéristique constitué de plusieurs (parfois plusieurs dizaines) bandes parallèles. Ces bandes correspondent à des sous-unités polypeptidiques dont l'ensemble constitue la protéine naturelle.

1.2. Les supports d'électrophorèse

Les premiers dispositifs d'électrophorèse, mis au point par Tiselius en 1937, étaient en phase liquide. Ils étaient évidemment d'utilisation délicate en raison des phénomènes de diffusion. Le développement de techniques sur support vers 1950 allait élargir considérablement les possibilités d'application pratique. Les protéines se déplacent alors dans un support hydraté solide (ce qui limite la diffusion) et réticulé (d'où un effet de tamisage moléculaire). Le grand pouvoir de résolution de cette technique est précisément dû à ce que les protéines sont séparées en fonction de leurs deux caractéristiques physico-chimiques les plus importantes : la charge électrique nette et l'encombrement moléculaire **figure 1**.

Depuis les débuts de l'électrophorèse divers types de supports ont été utilisés : papier, acétate de cellulose, gels d'agar, d'amidon, de polyacrylamide, de

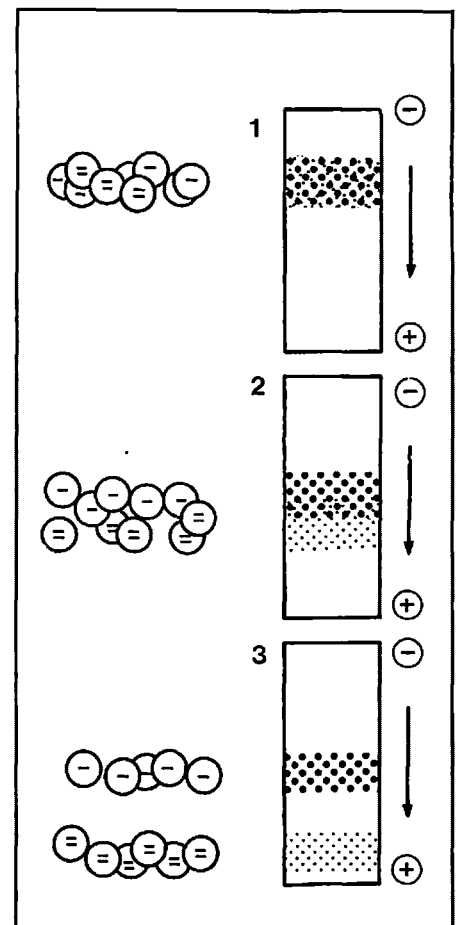


Figure 1 : Schéma rappelant le principe de l'électrophorèse.

Signification des diagrammes d'électrophorèse

Lors d'expériences réalisées dans des conditions parfaitement identiques, la mobilité électrophorétique d'une protéine donnée apparaît reproductible. Cette mobilité électrophorétique ne doit cependant pas être considérée comme une constante chimique de la protéine (comme pourrait l'être le point de fusion, la densité ou l'indice de réfraction d'un corps pur).

En effet, la mobilité est fonction à la fois de la charge électrique nette et de l'encombrement moléculaire de la protéine. La charge électrique elle-même, résultante de l'ionisation des différents acides aminés chargés situés à la surface de la molécule, varie nécessairement en fonction du pH du milieu. Le facteur encombrement moléculaire, déjà influencé par la présence d'agents dissociants (urée, S.D.S.) dans le milieu, peut aussi avoir un effet déterminant sur la séparation de certaines bandes selon le pouvoir séparateur du support. Or ce pouvoir séparateur, lié à la réticulation du gel, dépend non seulement de la concentration des produits utilisés (amidon ou acrylamide), mais aussi des conditions de préparation : température de gélification, cinétique de chauffage et de refroidissement, agitation (cas des gels d'amidon), degré de réticu-

lation, type de réaction de polymérisation, quantité et nature du catalyseur (cas des gels de polyacrylamide).

Compte tenu de la complexité des protéines naturelles et compte tenu du fait que des constituants présentant des différences au niveau d'acides aminés non chargés ont peu de chance d'être différenciés par électrophorèse, il est certain que beaucoup de bandes électrophorétiques apparemment pures renferment en effet plusieurs espèces moléculaires différentes. Toute modification des conditions expérimentales peut ainsi se traduire par une répartition différente des constituants dans le diagramme.

Dans toute interprétation de diagrammes électrophorétiques, il ne faut jamais perdre de vue que l'égalité des mobilités de deux bandes, dans des conditions expérimentales données, ne constitue qu'une présomption d'identité. S'il est parfois utile de dresser un répertoire simplifié des bandes (en confondant des constituants de mobilités très voisines et donc difficiles à différencier), la plus grande prudence doit évidemment être observée lorsqu'on cherche à établir des corrélations sur la base de ces données simplifiées.

polyacrylamide-agarose, etc. Selon le type de protéine étudié, on s'oriente vers le type de support que l'on juge le plus favorable. Ce choix se fait souvent de façon empirique après examen des diagrammes obtenus. Il est néanmoins souhaitable de bien considérer le degré de réticulation du support (qui détermine son pouvoir de séparation) et le degré d'affinité entre le support et la protéine (une affinité excessive risquant de produire des traînées dans les diagrammes). D'autres facteurs importants à examiner sont : la résistance ou la fragilité du support (gel d'amidon), la simplicité de sa confection (gel de polyacrylamide), la répétabilité de sa structure (gels disponibles dans le commerce), la pureté du produit commercial disponible, la toxicité (acrylamide), etc.

1.3. Variantes dans la technique d'électrophorèse (voir aussi Nicolas et Drapron, 1977).

Pendant longtemps il a été difficile de préciser la part qui revenait à chacun des paramètres, charge et encombrement moléculaire dans

les diagrammes obtenus. Des perfectionnements de la technique ont cependant permis d'exploiter séparément les deux paramètres de la séparation **figure 2**.

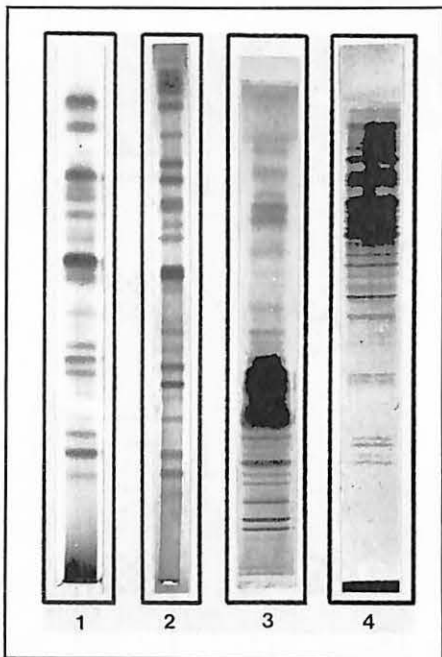


Figure 2 : Influence du type de technique électrophorétique utilisé sur le diagramme gliadine de la variété « Hardi ».

1. Electrophorèse en gel d'amidon, pH 3.2.
2. Electrophorèse en gel de polyacrylamide, pH 3.1.
3. Electrophorèse en présence de S.D.S., pH 8.8.
4. Electrofocalisation en gradient de pH 5.9.

1.3.1. Electrophorèse en présence de sodium dodecyl sulfate (S.D.S.)

Dans ce système, le facteur chargé de la protéine est en principe masqué par l'addition de S.D.S. à l'échantillon. Ce détergent possède la propriété de se fixer sur les protéines, en les entourant d'un nuage de charges négatives et comme tous les complexes S.D.S.-protéines sont supposés avoir la même densité de charge, *seul le paramètre poids moléculaire intervient dans la séparation*. Si l'on étalonne un gel de polyacrylamide S.D.S. au moyen de protéines de poids moléculaire connu, on peut obtenir une estimation du poids moléculaire des protéines étudiées. Cette méthode est très utilisée depuis 1975 pour l'étude (après dissociation au moyen de réducteurs ou de savons) des protéines de haut poids moléculaire comme les glutélines (Shewry et al., 1978a; Landry, 1979; Payne et al., 1979; Jeanjean et al., 1980; Kobrehel et Matignon, 1980).

1.3.2. Electrophorèse en gradient de concentration

Il s'agit d'une électrophorèse dans laquelle *l'effet encombrement moléculaire* joue encore un rôle déterminant grâce à un support constitué par un gel de polyacrylamide de concentration croissante (par exemple 2 à 16 %, ou 3 à 27 %). Dans un tel gradient de porosité, les molécules éventuellement retardées au cours de la migration ont continuellement tendance à rattraper celles du front qui se heurtent à des forces de friction plus importantes résultant d'une plus grande concentration de polyacrylamide. D'où une diminution des effets de diffusion, ainsi qu'une amélioration de la résolution et de la reproductibilité des diagrammes. Cette technique est actuellement préconisée par les australiens (Du Cros et Wrigley, 1979) pour l'identification des variétés de blé.

1.3.3. L'électrofocalisation

Développée surtout à partir de 1968, cette technique constitue un progrès majeur dans le domaine des méthodes de séparation fines des protéines. Sa réalisation implique des équipements semblables à ceux de l'électrophorèse classique (gel de polyacrylamide, par exemple) mais son principe est différent. Contrairement à l'électrophorèse où l'on travaille à pH constant, l'électrofocalisation est réalisée dans un gradient de pH, formé par électrolyse de substances amphotères disponibles dans le commerce et connues sous le nom d'Ampholines®. C'est une méthode d'équilibre dans laquelle *les protéines se déplacent et se répartissent selon leurs points isoélectriques (pI)*. En effet, lorsqu'une protéine est introduite dans un tel gradient, à un pH inférieur à son pI, elle migre vers la cathode et donc vers un environnement de pH progressivement plus élevés lesquels, en retour, influencent son ionisation. Ainsi la protéine se déplace jusqu'à ce qu'elle atteigne son pI, auquel elle présente une charge nette nulle. Elle s'arrête donc en ce point et, comme l'effet de focalisation agit contre l'effet de diffusion, les fractions séparées se concentrent en des bandes très fines avec une résolution qui ne peut normalement pas être atteinte en électrophorèse conventionnelle. En outre, comme c'est une *méthode d'équi-*

libre, dans la mesure où le gradient est bien établi et bien stabilisé, le système est auto-correcteur et donc, en principe, moins exigeant en termes de technique expérimentale. L'électrofocalisation a été proposée pour l'identification des variétés d'orge à partir du grain (Shewry et al., 1978 a) ou à partir du malt (Scriban et Strobbel, 1978).

1.3.4. L'isotachophorèse

Développée plus récemment (1972), l'isotachophorèse est une technique analytique ou préparative dans laquelle les constituants protéiques se séparent tout d'abord dans l'ordre de leur mobilité nette (mobilité \times degré d'ionisation) puis se concentrent en des zones très bien individualisées se déplaçant à la même vitesse, d'où le terme « isotachophorèse ». La technique fait appel à un système de tampons discontinus : électrolyte meneur, électrolyte terminal et ions espaceurs (qui peuvent être des ampholines®). C'est à la frontière entre les différentes zones que la séparation intervient et l'effet de concentration créé par les discontinuités permet une excellente résolution.

A notre connaissance, il n'y a pas de référence sur l'utilisation de cette technique pour des protéines de céréales mais des recherches sont en cours (Trentesaux, 1980) : application éventuelle à l'identification des variétés de blé dur (avantage : temps de réponse 30 minutes ; inconvénient : pas de visualisation des diagrammes mais uniquement des enregistrements de courbes).

II. L'électrophorèse en sélection variétale

2.1. Pourquoi l'électrophorèse peut-elle être utile au sélectionneur ?

La tâche du sélectionneur est extrêmement difficile : toute nouvelle variété doit représenter un progrès au niveau valeur d'utilisation, ou rendement, ou résistance aux maladies. Le sélectionneur essaie donc de réunir des caractères différents, parfois antagonistes, sur un même génotype et tout son art consiste précisément à échapper à des corrélations négatives.

Pour retrouver les recombinaisons intéressantes parmi les milliers de

lignées, le sélectionneur a besoin de méthodes à la fois rapides et spécifiques (Piat et Grignac, 1980). A partir des résultats des tests, il doit également être capable de *faire la part entre ce qui revient au génotype et ce qui revient à l'influence du milieu*. S'il est certain que le sélectionneur doit se préoccuper de la manière dont la plante exprime ses potentialités génétiques suivant le milieu qui lui est fourni, il est non moins important — notamment au cours des premières générations — de pouvoir déterminer le potentiel propre au génotype, c'est-à-dire une valeur intrinsèque qui, par définition, est indépen-

dante des facteurs d'environnement.

On sait que l'information génétique de la plante est conservée au niveau de gènes situés sur les chromosomes et que cette information se traduit par la synthèse de protéines et d'enzymes. C'est pourquoi toute variabilité dans la constitution de ces protéines ou enzymes peut être prise en compte par le sélectionneur qui peut chercher à l'exploiter dans ses programmes. Parmi les différentes techniques de fractionnement des protéines (chromatographie, ultracentrifugation, gel filtration,...), c'est certai-

netique, deux hypothèses sont possibles :

— il peut s'agir d'une *relation fonctionnelle* dans le cas où l'expression du caractère est conditionnée par les propriétés de la protéine elle-même,

— il peut s'agir d'un simple *marquage génétique* avec différentes explications possibles, par exemple, la proximité sur un même chromosome, des gènes respectivement responsables du caractère recherché et du constituant électrophorétique.

Ces deux types de relations sont exploitables en sélection, mais le

Tests de sélection et tests commerciaux

Comme l'a souligné Feillet (1980), la notion de qualité d'une céréale est extrêmement complexe. Pour une technologie déterminée, la qualité d'un produit donné (volume du pain, structure de la mie, fermeté des pâtes cuites, texture du riz cuit,...) dépend des caractéristiques de la céréale et se trouve donc influencée à la fois par la variété et par les conditions de développement de la plante.

Pour un boulanger, un meunier, un pastier,... il est certain qu'il n'existe pas de meilleure méthode pour apprécier la *qualité d'un échantillon* que de le soumettre à une transformation identique à celle à laquelle cet échantillon est destiné : TESTS DE PANIFICATION, DE CUISSON, DE MACHINABILITE,... Par contre, les *sélectionneurs* ont besoin (surtout aux premiers stades de la sélection) de tests qui leur permettent de juger des génotypes, d'apprécier la valeur intrinsèque des variétés, c'est-à-dire un *potentiel* susceptible de s'exprimer ensuite différemment selon les facteurs d'environnement. Il est clair que l'objectif recherché est différent et il convient donc de bien distinguer :

— le test de type « *sélection* » qui doit rendre compte de la « *qualité intrinsèque* » des variétés,

— le test de type « *commercial* » qui doit rendre compte de la « *qualité de l'échantillon* ».

Au sein d'une même variété, les résultats du test « *sélection* » — constants par définition — ne peuvent être en principe corrélés à ceux du test « *commercial* » (qui va être par exemple très fortement influencé par la teneur en protéines). Il en ira différemment au sein d'un groupe d'échantillons issus de plusieurs variétés de qualité intrinsèque différente.

Une sélection variétale pour la qualité fondée sur des critères biochimiques

C'est en analysant les constituants biochimiques de la plante et notamment du grain qu'on sera le mieux à même de découvrir et de développer de véritables tests de sélection. *Certains critères biochimiques (notamment électrophorétiques) possèdent précisément les caractéristiques vers lesquelles doit tendre un test de sélection précoce :*

— fournir les résultats *indépendants vis-à-vis des facteurs agroclimatiques*,

— être parfaitement *corrélé au classement hiérarchique des variétés* tel qu'il aurait pu être établi après expérimentation classique (nombreux lieux, plusieurs années, test direct de qualité),

— posséder un *déterminisme génétique simple* (ce qui ne pouvait être le cas des tests classiques : alvéographe, Zé-lény, panification, qui mettent en jeu un nombre incalculable de gènes),

— ne nécessiter que des *quantités moyennes ou très petites* (travail sur un grain ou un demi-grain) et être donc utilisable dès les toutes premières générations (contrairement à ce qui avait lieu dans les anciens schémas de sélection où la priorité donnée au rendement et

aux critères agronomiques rejetait en fin de sélection l'utilisation de tests de qualité),

— se prêter à l'*analyse en série*.

Parmi les différents constituants biochimiques susceptibles d'être retenus, il convient en outre de distinguer :

— ceux qui, indispensables à l'expression d'une bonne qualité, ne sont pas à première vue explicatifs des différences variétales de qualité (exemple : l'amidon, certains lipides,...),

— ceux qui, également indispensables à la qualité, sont vraisemblablement explicatifs de différences de qualité intrinsèque des variétés (exemple : certaines protéines, certaines enzymes).

Dans la recherche de tests de sélection, c'est précisément sur l'étude de ces derniers constituants et notamment sur les protéines de réserve (prolamines, glutélines) et sur certains systèmes enzymatiques (oxydo-réductases, bêta-amylases,...) que se fonde le Laboratoire de Technologie des Céréales de Montpellier.

nement l'électrophorèse qui est de loin la mieux adaptée pour les grandes séries et les faibles quantités dont dispose le sélectionneur, ainsi que pour les études d'héritabilité (possibilité de travailler sur un grain ou un demi-grain) nécessaires à ce dernier.

Il faut enfin bien préciser que pour expliquer des relations mises en évidence entre une propriété de la plante et une donnée biochimique comme un diagramme électropho-

premier cas est évidemment le plus favorable car une liaison génétique observée dans un croisement déterminé peut ne pas être extrapolable à tous les génotypes.

On ne peut évidemment exposer ici tous les travaux qui utilisent des données électrophorétiques. Nous nous limiterons donc à illustrer une telle approche des problèmes de sélection, notamment pour ce qui est de la qualité technologique, en

signalant les progrès les plus significatifs réalisés au niveau français.

2.2. Sélection pour la qualité technologique

2.2.1. Qualité culinaire des blés durs

La notion de qualité culinaire intrinsèque des blés durs a été définie par Damidaux et Feillet (1978). Ces auteurs ont montré que les propriétés viscoélastiques du gluten thermoformé (fermeté, recouvrance élastique), qui constituaient une caractéristique variétale peu influencée par les facteurs externes, pouvaient rendre compte de cette qualité culinaire intrinsèque.

Poursuivant la recherche des bases biophysicochimiques de la qualité culinaire et en vue de préciser la notion vague de « qualité des protéines », Damidaux et coll. (1978) et Damidaux (1979) ont analysé les électrophorogrammes de gliadines en gel de polyacrylamide. De l'examen approfondi des régions ω (mobilités 10 à 40) et λ (mobilités 41 à 51), il ressort que la quasi totalité des variétés peuvent être classées en seulement deux types principaux **figure 3**.

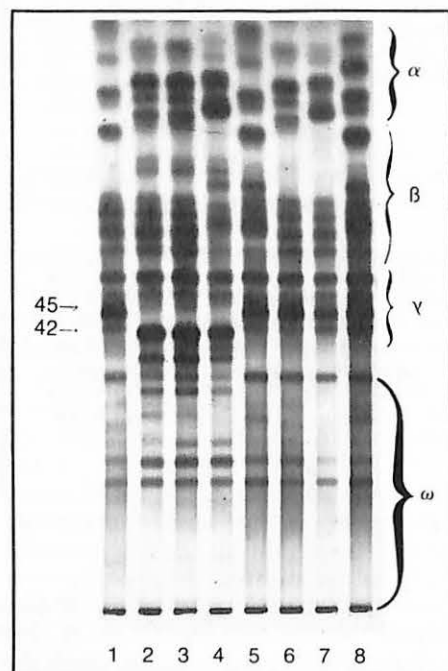


Figure 3 : Mise en évidence des deux classes de blé dur (type 42 et type 45) par électrophorèse des gliadines en gel de polyacrylamide, tampon lactate d'aluminium, pH 3.1. Variétés : 1 - Mondur ; 2 - Lakota ; 3 - Wells ; 4 - Tomclair ; 5 - Montferrier ; 6 - Valdur ; 7 - Agathe ; 8 - Bidi 17.

— Le premier est caractérisé par la présence de la bande λ -gliadine 45(+++) et l'absence de bandes dans la région 38 - 42.

— Le deuxième type est caractérisé par l'absence de la bande 45 et la présence de la bande 42(+++).

Sur les 122 variétés analysées, 68 appartiennent au type 45, 50 au type 42 et 4 n'appartiennent ni à l'un ni à l'autre type (présence de constituants 44 ou 41).

Il est extrêmement intéressant d'observer qu'il existe une *concordance étroite entre le type électrophorétique des blés durs et les propriétés visco-élastiques de leur gluten* **tableau 1** :

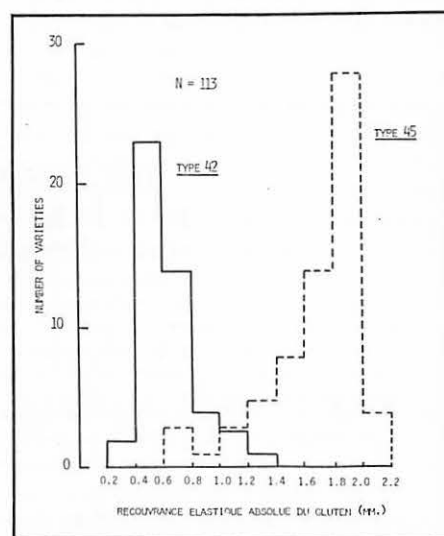


Tableau 1 : Répartition des variétés de blé dur par classe de recouvrance absolue du gluten et par type électrophorétique des gliadines (d'après Damidaux, 1979).

— Sur les 68 variétés de type 45, 61 (soit 90 %) ont un gluten dont la recouvrance absolue moyenne est supérieure à 1,2 mm.

— Sur les 50 variétés de type 42, 59 (soit 98 %) ont un gluten dont la recouvrance absolue moyenne est inférieure à 1,2 mm.

Les quelques variétés ayant apparemment le type électrophorétique 45 et dont la qualité culinaire intrinsèque est faible semblent constituer des exceptions dont l'origine est d'ailleurs indépendante des facteurs agroclimatiques.

Il est également à signaler que l'examen des autres régions (α et β) du diagramme gliadine n'a pas permis jusqu'ici de mettre en évidence la moindre relation avec la qualité culinaire intrinsèque des variétés. Enfin pour ce qui est des 4 variétés appartenant aux types 41 ou 44, le faible effectif ne permet pas actuellement de tirer de conclusion.

Néanmoins, compte tenu des caractéristiques de la technique d'électrophorèse des gliadines (indépendance vis-à-vis des facteurs du milieu, possibilités d'analyses en grande série sur grain ou demi-grain) et de la connaissance du déterminisme génétique et de la localisation chromosomique des gliadines 42 et 45 (Damidaux et coll., 1980), on peut affirmer que la relation ci-dessus permet de donner de *nouveaux outils aux sélectionneurs dans leur quête de variétés de blé dur ayant un potentiel élevé de qualité culinaire* (Feillet, 1979 ; Damidaux, Autran et Feillet, 1980).

Signalons que les recherches dans ce secteur se poursuivent et qu'on examine actuellement les possibilités offertes par les diagrammes de gluténines en milieu S.D.S. Les sous-unités de « haut poids moléculaire » (85 000 à 110 000) ont ainsi permis d'établir des relations intervariétales nouvelles par rapport à ce qui ressort des simples électrophorogrammes de gliadines. La présence d'électrophorogrammes gluténines d'un type particulier semble notamment expliquer les quelques exceptions rencontrées dans la relation entre gliadine 45 et qualité culinaire intrinsèque élevée (Autran, Damidaux et Jeanjean, 1980).

Il convient enfin d'insister sur le fait que les corrélations entre constituants protéiques et qualité culinaire intrinsèque ne devraient pas être recherchées uniquement au niveau des propriétés rhéologiques. Il est en effet possible que l'expression de l'aspect physique (collant, délitescence), tout en étant largement influencée par des facteurs non génétiques, soit également associée à la présence de certaines espèces moléculaires protéiques, autres que celles mentionnées ci-dessus. C'est également ce que nous étudions.

2.2.2. Force boulangère des blés tendres

Compte tenu de l'importance que l'on attribue aux protéines du gluten dans l'expression de la qualité des blés, la recherche des possibilités de prédiction de la force boulangère en sélection s'est fondée tout naturellement sur les électrophorogrammes de gliadines et de gluténines.

a) *Electrophorèse des gliadines*

Dans un premier temps, Autran et Berrier (1974) ont recherché d'éventuelles corrélations entre le volume des pains en microessai de cuisson et la présence de certains constituants de l'électrophorogramme gliadine ou l'importance relative des fractions α , β , λ , ω . Ce fut un échec. Les raisons de cet échec peuvent certainement être expliquées par la trop grande diversité de la collection analysée (150 variétés de toutes origines). En effet, des diagrammes trop différents ne peuvent (cf. encadré n° 1), sans risque de confusion et d'erreur, être analysés au moyen de la grille des mobilités électrophorétiques établie à partir des blés français.

L'étude a été reprise par Branlard et Rousset (1980) sur une collection de 37 variétés françaises. Ces auteurs ont recherché toutes les corrélations possibles entre différentes données de qualité (Zeleny, W, G. % d'hydratation, note de panification) et l'importance relative de chacune des 43 bandes de l'électrophorogramme gliadine en gel d'amidon définies par Autran (1975). Dans ces conditions, il a été possible de mettre en évidence des bandes dont la présence était corrélée soit positivement (exemple : bandes 39, 44, 49, 74,...) soit négativement (exemple : bandes 22, 34, 77, 96,...) avec la qualité.

Les corrélations ainsi trouvées chez les blés tendres sont nettement moins élevées que dans le cas des bandes 45 ou 42 des blés durs et on n'a pas démontré non plus avec certitude si la liaison est de type fonctionnel ou génétique.

Néanmoins, Branlard et Rousset ont pu établir une sorte de diagramme-robot du blé de force (ou, inversement, du blé impanifiable) et envisagent de répondre à l'objectif de l'amélioration de la force des blés grâce à l'outil électrophorétique :

— pour réaliser les croisements : choix de géniteurs renfermant des composants corrélés positivement à la qualité ;

— dans la descendance des croisements : comparaison des diagrammes gliadines avec le diagramme idéal du blé de force et identification des génotypes qui

donneront avec une plus forte probabilité des blés de force élevée (Rousset, 1980).

Il est intéressant de signaler que la responsabilité apparente des groupes α , β , λ et ω dans la qualité ne semble pas identique. Globalement considérées, les α -gliadines jouent plutôt un rôle positif, les ω -gliadines plutôt un rôle négatif, ce qui n'est pas surprenant compte tenu de la faible réactivité chimique (structure en « pelote statistique ») de ces dernières (Kasarda, Bernardin et Nimmo, 1976).

Enfin, la recherche de corrélations interbandes a permis de mettre en évidence des constituants gliadines qui, souvent, apparaissent simultanément dans les diagrammes. On retrouve donc ici par une approche statistique la notion de « blocs génétiques » (groupes de constituants au sein desquels aucune recombinaison ne s'observe généralement et qui paraissent ainsi se transmettre « en bloc ») (Sozinov et al., 1973). C'est en fait la présence ou l'absence de tels blocs que l'on peut chercher à utiliser dans les programmes de sélection. Mais on comprend que cela n'est valable que dans la descendance de géniteurs sur lesquels la relation bloc-qualité a pu être préalablement établie et que la méthode ne permet pas la prédiction de la qualité à partir d'électrophorogrammes totalement inconnus.

b) *Electrophorèse des gluténines*

La recherche de marqueurs de qualité au niveau des gluténines — fractions que l'on considère également comme responsables de certains aspects de la force boulangère : ténacité et élasticité de la pâte — n'a débuté que tardivement en raison des difficultés d'extraction et de fractionnement. Elle ne s'est développée qu'avec la vulgarisation de l'électrophorèse (notamment en système vertical) en présence de S.D.S. après réduction des sous unités protéiques au moyen de mercapto-éthanol.

Aucun résultat spectaculaire n'a cependant été obtenu en recherchant d'éventuelles corrélations entre sous-unité gluténine et force boulangère. En effet, ni Orth et Bushuk (1973), ni Bietz, Shepherd et Qall (1975) à partir de 80 diagrammes de blés tendres américains, ni Zehatschek (1980) à partir

de 64 blés européens, ni Lawrence et Shepherd à partir de 23 blés australiens ne tirent de conclusion nette. Quant à la relation originale trouvée par Payne, Cornfield et Blackman (1979) entre la présence d'une sous-unité de haut poids moléculaire et des valeurs élevées de l'indice de sédimentation, elle ne semble pouvoir s'appliquer que dans le cadre de croisements faisant intervenir des géniteurs bien déterminés.

Très récemment, une approche entièrement nouvelle de ce problème a été développée par Kobrehel et Matignon (1980) en travaillant dans le cadre de l'hypothèse selon laquelle la qualité pourrait reposer sur une aptitude de certaines protéines à former des liaisons — de nature notamment hydrophobe et hydrogène — au cours des processus technologiques. Ces auteurs ont observé qu'il existait entre les variétés de blés tendres des différences d'extractibilité des protéines par les savons reposant essentiellement sur les fractions gluténines de haut poids moléculaire. Ainsi, chez les blés impanifiables (Clément, Maris Huntsman), ces gluténines sont solubilisées dans l'eau en présence de faibles quantités de savon, tandis que chez les blés de force (Magdaléna, Florence-Aurore) des quantités de savon plus élevées sont nécessaires. D'où un nouvel outil possible de classement des génotypes dans les programmes de sélection pour la force boulangère.

La méthode consiste en une extraction de 1 gramme de farine par l'eau en présence de quantités croissantes de stéarate de sodium, en une réduction des extraits au mercapto-éthanol, puis en une électrophorèse en présence de S.D.S. A partir des doses de savon nécessaires pour obtenir l'apparition des fractions de haut poids moléculaire dans les diagrammes, il est alors possible d'apprécier le potentiel de force boulangère de la lignée. Les résultats sont par ailleurs lisibles en moins de 30 minutes grâce à un marqueur coloré : bleu de méthylène (Kobrehel et Redon, 1980) figure 4.

2.3.3. *Valeur brassicole des orges*

Dans le but de découvrir également des marqueurs biochimiques de qualité utilisables en sélection, des

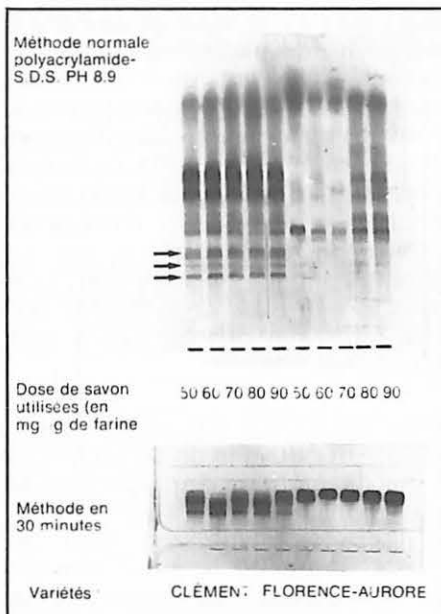


Figure 4 : Appréciation de la force boulangère des blés tendres par identification des gluténines de haut poids moléculaire (→) dans les électrophorégrammes d'extraits de farine réalisés par différentes doses de savon.

études électrophorétique sont en cours chez les orges de brasserie, notamment en France et en Angleterre (Shewry et coll., 1980).

Cette recherche est extrêmement complexe car la notion de valeur brassicole d'une orge est encore plus difficile à appréhender que celle de qualité boulangère ou pastière d'un blé et apparaît d'ailleurs fortement influencée par des facteurs agro-climatiques et technologiques. S'il est sans doute possible d'apprécier la qualité brassicole d'un échantillon d'orge, il est beaucoup plus délicat de faire la part de ce qui revient respectivement au milieu et au génotype.

On ne peut toutefois exclure que de tels marqueurs d'un potentiel élevé de qualité puissent être découverts au sein des diagrammes électrophorétiques :

— soit de certaines enzymes, compte tenu de l'importance du facteur enzymatique au cours du maltage ;

— soit de certaines protéines de réserve comme l'hordéine sachant que ces dernières semblent avoir un rôle fonctionnel au cours du brassage en limitant l'attaque α -amylasique de l'amidon. (Slack, Baxter et Wainwright, 1979).

Selon nous, cependant, la découverte de ces marqueurs utilisables en sélection ne pourra aboutir que

si des corrélations sont recherchées — non pas avec des données technologiques concernant des échantillons individuels — mais au contraire avec des moyennes de résultats obtenus sur des génotypes en de nombreux lieux et sur plusieurs années. L'efficacité d'éventuels marqueurs d'une qualité intrinsèque doit donc être testée en premier lieu sur des variétés connues à partir de maximum d'informations qu'on possède sur elles :

— soit les notes de qualité publiées par le C.T.P.S. ;

— soit le classement hiérarchique des variétés tel qu'il peut ressortir au niveau des utilisateurs après une expérience suffisamment longue de ces variétés.

Il est certain qu'on ne peut espérer obtenir dans ces conditions des corrélations très élevées et que la valeur technologique d'une orge présentera toujours une grande fluctuation des facteurs agro-climatiques, mais cette approche est peut être la seule capable avec une certaine efficacité d'aide à un accroissement progressif du potentiel de qualité des variétés d'orge.

2.3. Autres utilisations en sélection

Le fait que l'électrophorèse se prête parfaitement à la mise en évidence de marqueurs protéiques ou enzymatiques très spécifiques, lui confère un potentiel intéressant pour résoudre de nombreux problèmes se posant au généticien ou au sélectionneur. Nous illustrerons donc ci-dessous les résultats obtenus par quelques exemples pris soit au niveau fondamental, en vue d'une meilleure connaissance de la structure génétique du matériel végétal, soit au niveau appliqué, dans divers programmes de sélection.

2.3.1. Identification de génomes ou de chromosomes

L'analyse électrophorétique de certains types de protéines ou d'enzymes présentes chez les aneuploïdes (1) peut apporter de nouveaux critères de marquage des génomes ou des chromosomes et aider aux études d'homoélogie ainsi qu'à la conduite des programmes de sélection par introgression (Bernard,

Autran et Joudrier, 1977). La plupart des chromosomes du blé et des genres apparentés ont pu ainsi être identifiés par différents marqueurs biochimiques : gliadines, gluténines, bêta-amylases, estérases, peroxydases, alcool déshydrogénases...

A titre d'exemple, la **figure 5** montre comment le diagramme électrophorétique des prolamines d'*Agropyrum intermedium* permet d'identifier la paire chromosomique L3 de cette espèce et de suggérer son homéologie possible avec les groupes chromosomiques 1 ou 6 du blé, lesquels portent les gènes codant pour la synthèse des gliadines.

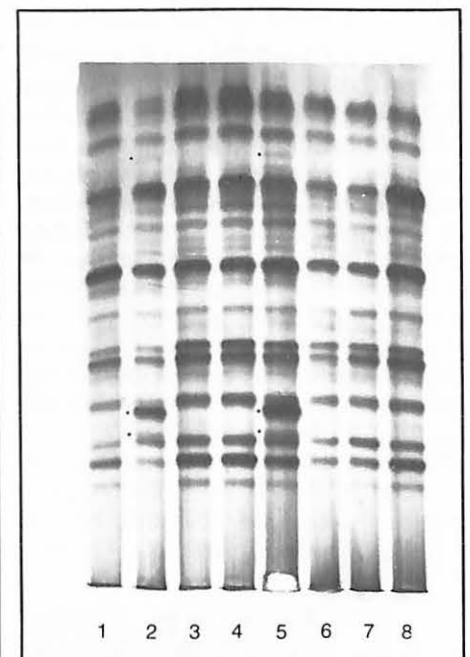


Figure 5 : Identification de la présence de chromosomes d'*Agropyron* dans la lignée d'addition L₃ Blé-*Agropyron* grâce à la présence de composants gliadines spécifiques. 1 - Blé tendre Vilmorin 27 ; 2 - Amphiploïde Blé - *Agropyron* TAF 46 ; 3 à 8 - Lignée d'addition disomiques Blé - *Agropyron*, respectivement : L₁, L₂, L₃, L₄, L₅, L₇. (D'après Cauderon et al., 1968).

2.3.2. Marquage biochimique de résistances aux maladies

Des relations entre la présence de certains composants électrophorétiques et des caractères d'intérêt agronomique ont été mises en évi-

(1) Il y a aneuploïdie chaque fois qu'il existe un ou plusieurs chromosomes en plus ou en moins du complément diploïde naturel.

dence. Il s'agit le plus souvent d'un marquage biochimique des chromosomes sur lesquels sont localisés des gènes de résistance à certaines maladies.

On peut citer ainsi la relation entre la présence du composant peroxydasique c et la résistance à la rouille noire chez *Agropyrum intermedium* (Cauderon et coll., 1978) et également les recherches en cours sur les possibilités de marquage des lignées d'addition Blé-Aegilops résistantes au Piétinverse à partir des diagrammes de gliadines, bêta-amylases et peroxydases (Dosba et coll., 1980).

2.3.3. Choix de géniteurs pour la production de blés hybrides

L'une des conditions limitantes dans le succès des programmes de blés hybrides étant la nécessité d'utiliser les parents dont les génotypes soient suffisamment différents (Auriau et al., 1979), il est important de pouvoir évaluer la « distance génétique » des variétés.

Cela est possible dans une certaine mesure grâce à des diagrammes électrophorétiques, notamment ceux de la fraction gliadine, dont la similarité traduit indirectement la parenté génétique des blés. Il est d'ailleurs possible de quantifier l'analogie (ou la dissemblance) de ces diagrammes grâce au calcul d'indices de similarité (ou de dissimilarité) (Autran et Bourdet, 1975a), calcul qui peut être actuellement effectué au moyen de l'ordinateur (Sapirstein et Bushuk, 1980).

2.3.4. Sélection des blés durs pour le caractère : faible indice de brun

La couleur recherchée pour les pâtes alimentaires est caractérisée par un indice de jaune élevé et un faible indice de brun. Ce dernier est corrélé à l'activité peroxydasique des semoules ainsi qu'à la composition des électrophorogrammes de peroxydases. Ainsi, les variétés potentiellement brunissantes (Bidi 17, Agathé) possèdent plusieurs bandes peroxydasiques de forte intensité à l'inverse des variétés peu brunissantes (Lakota, Wells) qui ne renferment qu'une ou deux bandes de faible intensité (Kobrehel et Jeanjean, 1977).

Compte tenu que l'électrophorogramme peroxydasique est un caractère génétique indépendant des facteurs d'environnement et que la localisation chromosomique et l'hérédité des constituants sont désormais connues, il est devenu possible, en sélection, d'éliminer les grains qui donneraient naissance à des variétés potentiellement brunissantes par simple examen des électrophorogrammes de peroxydases.

III. L'électrophorèse au niveau de la production et de l'utilisation des céréales

L'un des principaux problèmes qui se posent depuis la production jusqu'à l'utilisation des céréales est celui de l'appréciation de la qualité technologique des lots. Les méthodes utilisées à ce niveau doivent évidemment donner les informations les plus représentatives possibles de la qualité du produit fini.

Il est certain que les diverses caractéristiques des échantillons analysés dépendent en grande partie du potentiel génétique des variétés, mais elles sont également influencées par différents facteurs agroclimatiques (climat, sol, fumure, année...).

L'utilisateur d'un lot de blé a donc deux possibilités :

- soit identifier la (ou les) variété(s) constituant le lot pour en déduire — compte tenu du niveau technologique moyen que l'on connaît pour chaque variété — la qualité que l'on peut en attendre ;
- soit utiliser des tests d'appréciation de la qualité du lot : test directs (panification, pastification, maltage...) ou test indirects (alvéographe, sédimentation...) à condition que ces derniers soient jugés suffisamment significatifs.

Nous nous proposons d'examiner les possibilités et les limites des techniques électrophorétiques dans chacun de ces domaines :

- d'une part, pour identifier les variétés constitutives d'un lot de grains,
- d'autre part, comme test direct d'appréciation de la qualité d'un échantillon.

3.1. L'identification variétale des céréales par électrophorèse

Dans le secteur des céréales, c'est actuellement l'application la plus développée de l'électrophorèse.

Depuis l'apparition en France et en Europe de variétés de blé impropres à la panification (Maris Huntsman, Clément) ou à la pastification (Durtal, Tomclair) et qui sont venues remettre en cause les critères de classement utilisés jusqu'alors, les industriels utilisateurs ont attaché un intérêt croissant à l'aspect variétal de la matière première. L'influence décisive de la variété sur la qualité des blés, le fait qu'aucune mesure indirecte ne semble assez sûre pour déceler la présence de variétés indésirables dans un lot commercial ont, selon Colas (1980), amené la Meunerie à acheter ses blés selon le *critère variétal* et cette notion a pu être retenue grâce à la possibilité d'identifier les variétés par électrophorèse.

De nombreuses publications ont, depuis 1973, développé les possibilités offertes par l'électrophorèse pour identifier les variétés de blé dans les lots commerciaux (Autran, 1973, 1975, 1979 ; Beaux, 1975 ; Bourdet, 1976, 1978 ; Colas, 1979 ; Ellis et Beminsten, 1977 ; Nierle, 1976, Van Lonkhuysen et Marseille, 1978). Nous ne reprendrons donc pas ce sujet en détail ; nous nous bornerons à rappeler (voir encadré ci-dessous le résumé des principes utilisés et nous exposerons seulement les développements récents de la technique et les limites rencontrées actuellement notamment dans le cas des autres céréales. Nous mentionnerons également le problème de la détection du blé tendre dans des semoules de blé dur et les pâtes alimentaires par électrophorèse.

Précisons qu'actuellement la technique d'électrophorèse est largement utilisée en France et dans d'autres pays (Grande Bretagne, R.F.A., Australie...) non pas pour le contrôle courant des lots de blé, mais pour s'assurer dans certains cas du respect de la déclaration exacte de la variété et pour les lots qui donnent aux analyses classiques (alvéographe) et à l'essai de panification des résultats anormaux.

La clé de détermination des variétés est un document remis à jour

Principe de l'identification des variétés de blé par électrophorèse des gilatines

Comme il a été rappelé ci-dessus, l'information génétique de la variété se traduit par la synthèse de protéines et d'enzymes. Les techniques de fractionnement par électrophorèse, bien adaptées à des analyses de séries et à de faibles quantités de matériel, permettent d'obtenir des diagrammes qui constituent dans certains cas, grâce à la position et à l'intensité des bandes révélées, des marqueurs génétiques spécifiques.

Toutes les protéines du grain de blé ne détiennent cependant pas le même niveau de spécificité génétique. Ainsi, les albumines-globulines du blé n'ont qu'une spécificité très faible. De même, les protéines enzymatiques ne présentent généralement qu'une spécificité limitée et permettent seulement la différenciation de quelques types variétaux.

La catégorie de protéines dont les électrophorégrammes présentent, chez les céréales, le polymorphisme intervariétal le plus élevé, reste encore à l'heure actuelle celle des prolamines (ou gliadines chez le blé, hordéines chez l'orge...). Ce caractère variétal des diagrammes de gliadines de blé après électrophorèse

en gel d'amidon **figure 6**, démontré dès le début des années 60, a pu être exploité de la façon suivante :

- schématisation de l'électrophorégramme variétal en repérant chaque bande par sa mobilité (de 0 à 100) et sa concentration relative approximative (o, tr., +, ++, +++);

- constitution d'un répertoire des composants significativement différenciables (50 bandes actuellement) ;

- comparaison des diagrammes-types variétaux

- établissement d'une clé de détermination des variétés.

D'où la possibilité d'identifier une variété inconnue, soit dans un lot variétalement pur (Autran et Bourdet, 1975 a), soit dans un mélange de variétés (Autran et Bourdet, 1975 b). Dans ce dernier cas, l'analyse requiert la préparation d'un micro-échantillon de 50 grains (Le Brun et Beaux, 1978) puis la détermination de la variété sur ces 50 grains considérés individuellement. La composition variétale n'est alors connue que dans la limite d'intervalle de confiance.

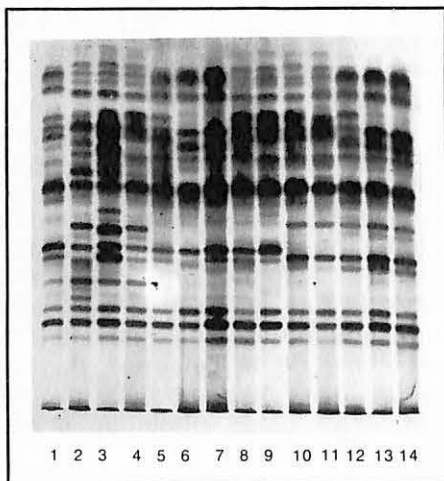


Figure 6 : Exemple d'électrophorégrammes en gel d'amidon des gliadines de 14 variétés françaises de blé tendre : 1 - Copain ; 2 - Azur ; 3 - Magnus ; 4 - Trippel ; 5 - Chrismar ; 6 - Rivoli ; 7 - Protinal ; 8 - Rex ; 9 - Pratos ; 10 - Orepi ; 11 - Castan ; 12 - Maris Huntsman ; 13 - Poncheau ; 14 - Atou.

chaque année par un travail en commun de l'A.R.I.A., de l'E.N.S.M.I.C., du G.E.V.E.S., de l'I.N.R.A. et de l'I.T.C.F. L'édition 1980 englobe 132 variétés de blés (blé tendre et blé dur) du Catalogue Français. En vue d'une bonne concordance des résultats entre

laboratoires, un circuit « électrophorèse des gliadines » fonctionne dans le cadre du B.I.P.E.A. depuis 1967. Enfin, depuis 1977, les fiches d'inscription C.T.P.S. des nouvelles variétés françaises incluent obligatoirement un diagramme électrophorétique.

3.1.1. Progrès récents dans l'identification variétale par des techniques électrophorétiques

Le gel d'amidon a été le premier support capable de fournir une résolution élevée des gliadines et de rendre opérationnel le procédé d'identification variétale par électrophorèse. Mis à part cet avantage historique et quelques autres avantages tels que :

- équipement simple, refroidissement non indispensable,
- bonne résolution des fractions oméga-gliadines,
- support biologique, non toxique,

le gel d'amidon présente d'assez nombreux inconvénients :

- structure du gel et résolution in-

fluencées par la cinétique de chauffage et de refroidissement de l'empois, ainsi que par les conditions d'agitation,

- difficulté de fabriquer des gels de consistance uniforme et reproductible : différences parfois importantes entre les lots d'amidon du commerce,

- gels fragiles et difficiles à manipuler,

- support sensible à l'action des amylases de l'échantillon,

- précourant généralement nécessaire,

- nécessité de découper le gel pour le colorer,

- valeurs de densitométrie (par réflexion) discutables,

- résolution médiocre des fractions alpha-gliadines,

- nécessité d'avoir des extraits concentrés : dépôts au moyen de papiers filtres,

- nombre croissant de variétés ayant des diagrammes identiques : sur les 132 variétés de la clé de détermination 1980, 53 font partie de groupes de 2, 3 et même 6 unités non différenciables individuellement.

En conséquence, dans le but d'améliorer le procédé d'identification — c'est-à-dire de le rendre plus simple d'utilisation, plus reproductible et capable de différencier davantage de variétés avec un pouvoir de résolution accru — des travaux ont été poursuivis dans quatre directions principales :

- amélioration de la méthode d'électrophorèse des gliadines en gel d'amidon,

- recherche de nouveaux supports pour l'électrophorèse des gliadines,

- essai de méthodes autres que l'électrophorèse conventionnelle pour le fractionnement des gliadines,

- électrophorèse de protéines autres que les gliadines en remplacement ou en complément du fractionnement de ces dernières.

a) Tentatives d'amélioration de la méthode d'électrophorèse des gliadines en gel d'amidon.

Les méthodes d'électrophorèse en gel d'amidon, qui se sont progressivement développées dans le monde de 1961 jusqu'à nos jours ont souvent conservé un caractère

artisanal tant au niveau du fractionnement protéique qu'au niveau de l'interprétation des diagrammes.

La création de l'appareil Gliaphore (Technicon) en 1976 a constitué une première tentative dans le sens d'un accroissement de l'efficacité de l'électrophorèse des gliadines. Cet appareil plus compact que le système artisanal, permet d'analyser 2 séries de 50 grains par jour grâce à un circuit de refroidissement qui permet l'utilisation de voltages élevés et donc un temps de migration plus court. Le temps d'extraction est par ailleurs réduit grâce aux ultra-sons ; la possibilité de régler individuellement le voltage des différents bacs conduit à des migrations plus constantes ; enfin, la lecture des plaques ne demande que 30 minutes grâce à un système de circulation automatique du colorant. Toutefois, l'emploi de hauts voltages entraîne généralement des modifications dans les diagrammes variétaux de sorte que le Gliaphore a paru jusqu'ici se prêter davantage à la reconnaissance des variétés impanifiables exclues des lots commerciaux qu'à l'identification de toutes les variétés cultivées à partir de la clé de détermination.

Comme il ne semble pas que de grands progrès soient à attendre dans la phase du fractionnement, il nous paraît plus important dans l'avenir de chercher à améliorer les points suivants :

- broyage et extraction automatisés pour de grandes séries de grains,
- dépôt en série des échantillons,
- obtention de lots de qualité constante d'amidon pour électrophorèse et de colorant nigrosine,
- introduction de l'informatique dans le traitement des données des diagrammes, notamment pour construire (et mettre périodiquement à jour) la clé de détermination des variétés. Ce travail est actuellement en cours.

b) Nouveaux supports pour l'électrophorèse des gliadines

Compte tenu du rapide développement qu'il a connu et des progrès qu'il a permis dans tous les secteurs d'analyse des protéines, le gel de polyacrylamide est certainement le meilleur support capable

de remplacer le gel d'amidon. Bien que pendant plusieurs années l'adaptation au fractionnement des gliadines se soit heurtée à des difficultés, plusieurs techniques ont été proposées récemment.

La plus développée actuellement est celle de Bushuk et Zillman (1978) dont l'originalité réside dans la simplicité de préparation du gel et la rapidité de la polymérisation grâce au système catalyseur eau oxygénée-sulfate ferreux-acide ascorbique.

Les possibilités d'adaptation de cette technique pour l'identification des blés français ont été étudiées (Autran, 1979) et si plusieurs *inconvenients* ont été relevés :

— toxicité de l'acrylamide non polymérisé,

— instabilité et perte progressive de la coloration des diagrammes au bleu de Coomassie,

— inclinaison des bandes avec perte apparente de résolution des diagrammes,

d'assez nombreux *avantages* par rapport au gel d'amidon ont été notés :

— gel facile à couler (par mélange à froid de solutions prêtes à l'emploi) et à manipuler,

— temps d'expérience plus court (extraction : 1 heure ; pas de pré-courant ; migration : 3,5 à 5 heures),

— plus grande sensibilité dans la détection des bandes,

— pas de différence sensible entre les lots d'acrylamide du commerce,

— possibilité de colorer le gel sans le découper,

— valeurs de densitométrie (par transmission) davantage fiables,

— bonne résolution des fractions alpha-gliadines,

— possibilité de différencier davantage de variétés.

Un exemple de la résolution obtenue avec les gliadines de blés durs est fourni sur la **figure 3**.

Il semble que cette technique en gel de polyacrylamide puisse se substituer progressivement au gel d'amidon. Plusieurs pays l'ont en effet adoptée soit dans ses conditions d'origine : électrophorèse horizontale (Jones, 1980 ; Dal Belin Peruffo, 1980) soit après adaptation à des systèmes verticaux (Tkachuk, 1980).

En France, compte tenu de l'expérience importante acquise sur le gel d'amidon, il n'y a pas, à notre avis, urgence à changer de système électrophorétique. Il est probable que la reconversion vers le polyacrylamide s'opèrera à plus long terme lorsque les progrès accomplis au niveau de la recherche (systèmes verticaux, dépôts en série, gels disponibles dans le commerce, haute tension permettant des migrations en moins d'une heure, coloration quasi instantanée) auront pu être totalement maîtrisés et transposés au stade de l'analyse de routine.

Il est d'ailleurs à signaler que le Groupe de Travail I.C.C.* qui suit les problèmes d'identification variétale par électrophorèse (Bushuk, 1980) ne formule pas de recommandation pour une technique déterminée. Constatant que chaque pays a développé sa propre expérience et a déjà acquis ses propres équipements, le Groupe souhaite seulement que les chercheurs s'accordent sur un système de référence (qui ne sera pas un système de routine) de façon à parler le même langage en matière de nomenclature des protéines.

c) Méthodes autres que l'électrophorèse conventionnelle

On a tout d'abord tenté d'utiliser l'*électrofocalisation en plaques de gel de polyacrylamide*. A la suite des travaux de Wrigley et Shepherd (1973), on pouvait attendre de cette technique — qui permet de fractionner les gliadines selon un principe différent de l'électrophorèse — un meilleur potentiel de différenciation des blés et notamment des variétés génétiquement voisines.

Bien que la résolution obtenue dans la gamme du pH 5-9 soit prometteuse, il ressort cependant de la **figure 7** que les différences variétales ne sont pas aussi évidentes que prévu. D'autre part, ces différences ne peuvent être utilisées que dans la mesure où la technique est parfaitement contrôlée. Or, cela reste difficile compte tenu de la lenteur de migration des gliadines (due à leur faible nombre de charges électriques) face à la dérive inévitable du gradient de pH.

* I.C.C. : Association Internationale de Chimie Céréalière.

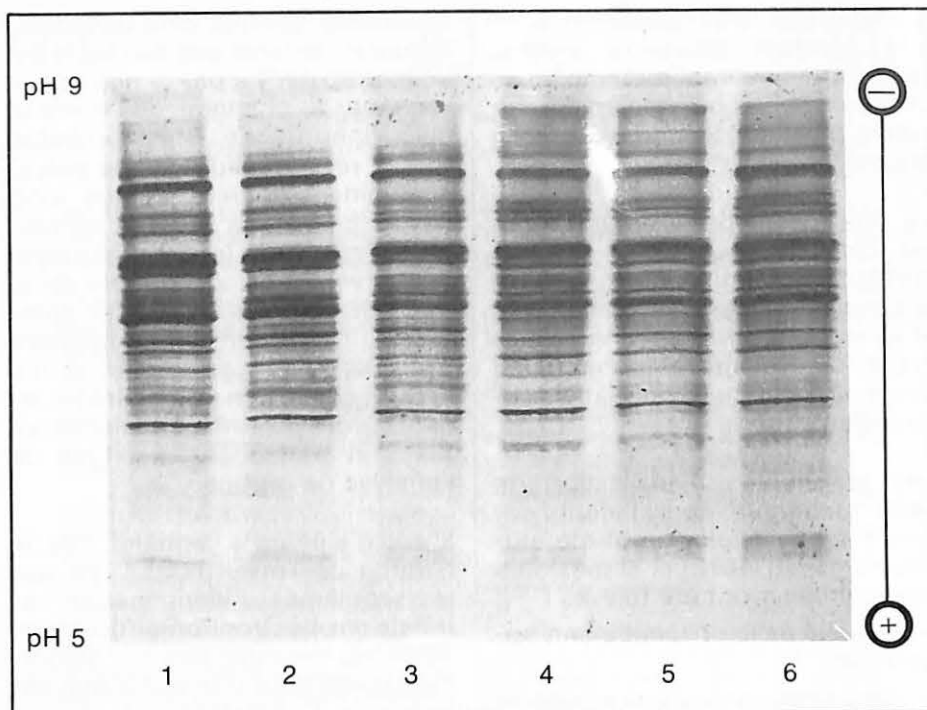


Figure 7 : Exemple de fractionnement obtenu par électrofocalisation en gel de polyacrylamide pour les gliadines de quelques variétés de blé tendre : 1 - Trio ; 2 - Noroit ; 3 - Top ; 4 - Champlein ; 5 - Florent ; 6 - Gamin.

L'électrofocalisation constitue donc certainement un excellent outil de recherche mais ne semble pas actuellement utilisable en routine pour l'identification des variétés de blé à partir des fractions gliadines, même en complément d'une autre technique.

Une deuxième variante possible est l'électrophorèse en gel de polyacrylamide à gradient de concentration.

Selon l'équipe australienne (Du Cros et Wrigley, 1979) qui le préconise, ce système présente plusieurs avantages pour l'identification en routine des variétés de céréales :

- gels disponibles dans le commerce (ce qui supprime le problème de manipulation de solutions toxiques d'acrylamide) et simplement équilibrés dans le tampon lactate par 1 heure de précurant,

- meilleure reproductibilité et meilleure séparation des fractions alpha grâce à l'effet de concentration,

- possibilité de différencier davantage les variétés,

mais sans doute l'inconvénient de ne pouvoir utiliser que des gels standards de petite dimensions 7 cm x 7 cm.

d) Electrophorèse de protéines autres que les gliadines

Bien que présentant un polymorphisme limité, les diagrammes de protéines enzymatiques peuvent être utilisés en complément, pour différencier certaines variétés ayant même électrophorégramme gliadine. Dans l'ensemble des variétés de blé tendre il n'y a que deux types de peroxydases et cinq types

de béta-amylases **figure 8**, mais cela peut suffire pour résoudre quelques cas particuliers tels que :

- Capitole (Péroxydase A) / Moisson (Péroxydase B)

- Capitole (Béta-amylase II) / Ducat (Béta-amylase IV)

- Heima (Béta-amylase III) / Roazon (Béta-amylase II)

- Axel (Péroxydase A) / Fleurus (Péroxydase B)

La deuxième catégorie de protéines qui a été explorée est celle des gluténines de haut poids moléculaire.

Pendant longtemps, le fractionnement des gluténines a présenté de grandes difficultés, mais depuis l'utilisation de l'électrophorèse en présence de S.D.S. et particulièrement les progrès des techniques verticales (Payne et Cornfield, 1979 ; Shewry et al. 1978 b), des diagrammes de très bonne qualité ont été obtenus.

Dans la région dite des hauts poids moléculaires, une information toute nouvelle — et complémentaire de celle fournie par les seules gliadines — a pu être mise à jour. Dans le cas des blés durs (Autran, Damidaux et Jeanjean, 1980) 13 variétés françaises sur 15 peuvent être identifiées par cette seule méthode. Dans le cas des blés tendres, par contre, l'électrophorégramme des gluténines ne peut

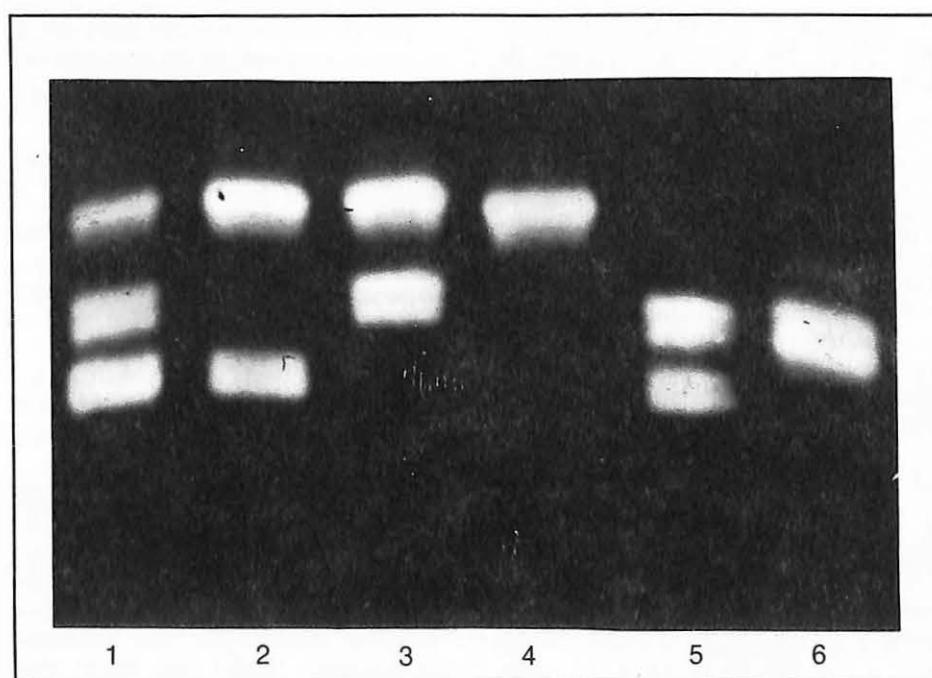


Figure 8 : Différents types de béta-amylasiques observés parmi quelques variétés de blé tendre : 1 - Ciano (type I) ; 2 - Roazon (type II) ; 3 - Heima (type III) ; 4 - Ducat (type IV) ; 5 - Azteca (type V) ; 6 - Yaktana (type VI).

guère être utilisé qu'en complément de celui des gliadines. Toutefois, la plupart des groupes de variétés jusqu'ici indifférenciables peuvent être scindés à partir de ces diagrammes de haut poids moléculaire. Un exemple en est fourni sur la figure 9.

un polymorphisme intervariétal non négligeable figure 10 se révèle moins complexe en électrophorèse (4 à 10 bandes seulement), de sorte que le nombre de variétés présentant le même diagramme et donnant lieu à des groupes indifférenciables dans les blés de détermina-

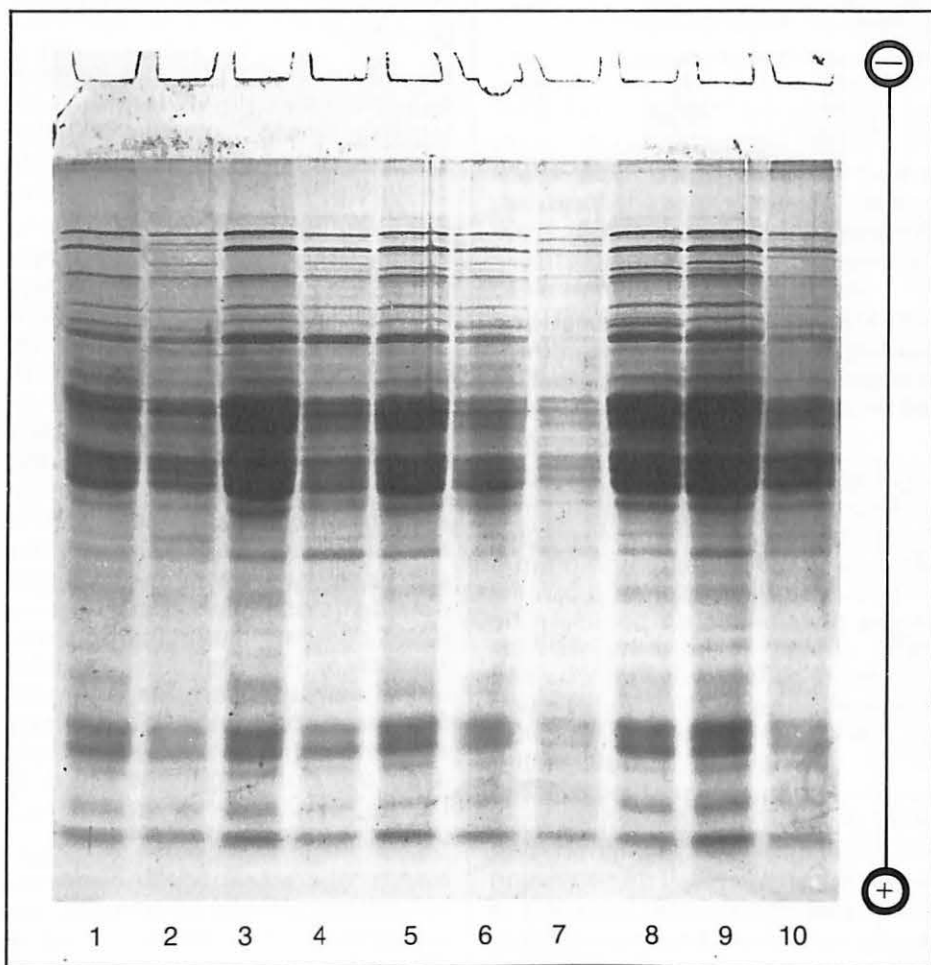


Figure 9 : Possibilités de différenciation de certains groupes de variétés de blé tendre génétiquement voisines par électrophorèse en gel vertical de polyacrylamide — S.D.S. des sous-unités gluténines de haut poids moléculaire : 1 - Cappelle ; 2 - Ouest ; 3 - Trio ; 4 - Blason ; 5 - Capitole ; 6 - Ducas ; 7 - Moisson ; 8 - Splendeur ; 9 - Top ; 10 - Noroit.

3.1.2. Application à d'autres céréales

Le polymorphisme des prolamines a été étudié chez plusieurs céréales autres que le blé en vue de résoudre de semblables problèmes d'identification variétale.

Dans le cas des orges, il s'agissait de développer un outil biochimique capable de compléter ou de remplacer les techniques visuelles actuelles, de repérer facilement certaines variétés indésirables et de reconnaître les variétés à partir du malt. Les travaux effectués dans ce sens n'ont toutefois connu qu'un succès relatif. En effet, l'hordéine, fraction protéique homologue de la gliadine de blé, bien que présentant

tion apparaît nettement plus élevée que chez le blé (plus de 50 % de l'ensemble des variétés d'orge). Cela est d'ailleurs vrai que la technique utilisée soit l'électrophorèse en gel d'amidon (Autran et Scriban, 1977), l'électrophorèse en gel de polyacrylamide (Scriban et al., 1979), ou l'électrofocalisation (Scriban et Strobbel, 1979) bien que cette dernière se révèle sensiblement plus efficace, les groupes distingués correspondant mieux à la classification souhaitée par les utilisateurs.

Le travail est donc repris actuellement à la fois par électrophorèse, électrophorèse à gradient de concentration et électrofocalisation, en essayant d'exploiter

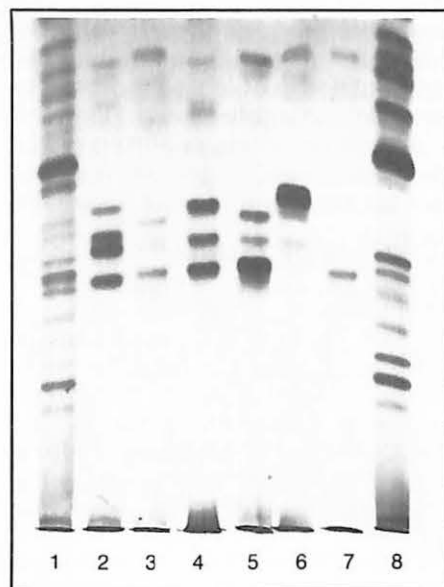


Figure 10 : Exemple de différenciation de quelques variétés d'orge par électrophorèse de la fraction hordéine en gel d'amidon : 1 - Blé témoin : Joss ; 2 - Sympa ; 3 - Berac ; 4 - Aramir ; 5 - Alpha ; 6 - Real ; 7 - Astrix ; 8 - Blé témoin : Courtot.

conjointement le polymorphisme de plusieurs protéines (protéines solubles, hordéines, hordénines) ou enzymes (péroxydases, estérases, amylases...) du grain. On rappelle d'ailleurs, qu'en conjuguant les gliadines et les peroxydases Neyreneuf et Bourdet avaient pu distinguer jusqu'à 68 % des variétés d'orges. Il est toutefois vraisemblable qu'un compromis sera à trouver entre une différenciation complète mettant en jeu un ensemble de techniques sophistiquées et une différenciation moins poussée mais opérationnelle pour des analyses de routine au niveau de l'industrie.

L'identification variétale à partir du malt, souhaitée par la profession de la brasserie, fait l'objet d'une attention particulière. C'est évidemment un cas moins simple en raison de l'hydrolyse partielle des protéines de réserve au cours de la germination et aussi des modifications progressives qui touchent les électrophorogrammes des protéines solubles et des enzymes, modifications d'ailleurs différentes selon les conditions particulières utilisées dans chaque malterie.

Chez le maïs, les recherches se sont heurtées tout d'abord à des problèmes techniques en raison des difficultés de fractionnement de la zéine dans les conditions utilisées pour la gliadine ou l'hordéine. En milieu dissociant (urée 6 M), des diagrammes de bonne qualité peuvent être obtenus (Landry, 1979)

mais l'hétérogénéité de la zéine est très inférieure (5-9 bandes) à celle de la gliadine et le polymorphisme invariétal semble limité. Le problème se complique enfin en raison du caractère allogame du maïs, ce qui est également le cas du seigle.

Chez l'avoine, la caractérisation variétale à partir d'électrophorogrammes a progressé (Kim et Mosse, 1979) et il en est de même chez le riz, bien que les différences soient relativement mineures, grâce à l'électrofocalisation (Du Cros, Wrigley et Blakeney, 1979) et l'électrophorèse en gradient de concentration (Du Cros et Wrigley, 1979).

3.1.3. Cas particulier de la détection des blés tendres dans les semoules de blé dur et les pâtes alimentaires.

Il est largement admis que la qualité des pâtes alimentaires fabriquées exclusivement à partir des blés durs (*Triticum durum*) est supérieure à celle des pâtes contenant du blé tendre (*Triticum aestivum*). Pour cette raison, les législations française et italienne interdisent l'incorporation de blé tendre dans les pâtes alimentaires.

Succédant aux anciennes méthodes fondées sur la détermination du palmitate de sitostérol, plusieurs techniques électrophorétiques ont été proposées pour détecter et doser les blés tendres dans les pâtes alimentaires. Certaines reposent sur le dosage de protéines solubles spécifiques du blé tendre par électrophorèse en gel de polyacrylamide (Feillet et Kobrehel, 1972) ou par électrofocalisation (Resmini et De Bernardi, 1976). La technique développée en France, devenue officielle en 1975 (J.O. du 15.01.1975) repose également sur le dosage d'un constituant spécifique du blé tendre mais qui est de nature enzymatique (péroxydase). Cette technique d'électrophorèse en gel de polyacrylamide a l'avantage d'être simple à mettre en œuvre et d'être également utilisable dans le cas de pâtes aux œufs (Kobrehel et Feillet, 1976). Un exemple de diagramme réalisé pour cette détection du blé tendre est fourni sur la figure 11.

Signalons enfin que l'addition frauduleuse dans les pâtes alimentaires de certaines autres céréales comme l'orge est actuellement détectable grâce aux électrophoré-

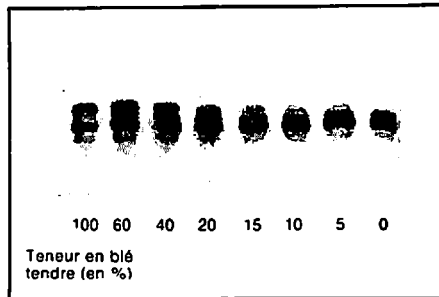


Figure 11 : Détection du blé tendre dans les semoules de blé dur et les pâtes alimentaires par électrophorèse et révélation spécifique des peroxydases.

grammes d'un autre type d'enzyme : les amylases (Joudrier, Woaye-Hune et Gobin, 1980).

3.2. L'analyse électrophorétique peut-elle être un moyen direct d'appréciation de la qualité d'un lot de céréales ?

On a pu voir ci-dessus (§ 2.2.) que différentes relations entre les électrophorogrammes gliadines ou gluténines et la qualité technologique ont été mises en évidence, d'où certaines possibilités de prévision de cette qualité. Il est toutefois fondamental de bien réaliser que ces relations se rapportent toutes à une qualité intrinsèque (cf. encadré n° 2), c'est-à-dire à une valeur moyenne caractérisant la *potentialité* de la variété. Elles concernent donc essentiellement le sélectionneur, notamment au niveau du screening des générations précoces où il s'agit surtout de trier des génotypes.

On sait qu'en revanche, la qualité d'un échantillon de grains, par exemple un échantillon commercial, dépend à la fois des caractéristiques propres à la variété et des conditions de culture de la plante. Il est donc assez évident qu'il ne peut exister de relation étroite entre une donnée de qualité relative à un échantillon (qui, naturellement, fluctue en fonction des conditions du milieu) et une donnée électrophorétique qui représente le plus souvent une constante variétale. On ne peut donc guère imaginer de pouvoir juger de la qualité d'un lot commercial à partir de la simple « empreinte digitale de la variété » que constitue un électrophorogramme gliadine ou gluténine.

A titre d'exemple, on peut affirmer qu'une variété de blé dur se classant dans le type gliadine 45 (et qui a donc un gluten possédant des caractéristiques viscoélastiques favo-

rables) a un potentiel de qualité culinaire supérieur à celui d'une variété de blé dur de type 42. Cela signifie que la première aura statistiquement davantage de chances que la deuxième de fournir des échantillons de pâtes de qualité culinaire élevée. Le sélectionneur aura donc généralement intérêt à conserver la première plutôt que la deuxième.

Mais cela ne signifie aucunement que le blé de type 45 donnera systématiquement d'excellentes pâtes alimentaires ni d'ailleurs qu'un blé de type 42 en donnera nécessairement de mauvaises.

L'utilisateur doit en effet être conscient que la qualité du produit fini résulte de l'interaction : potentiel de la variété x, conditions de développement de la plante (notamment % en protéines de la semoule). La variété de type gliadine 45, bien qu'ayant un potentiel a priori supérieur, pourra donc donner de mauvais résultats de fabrication si, par exemple, elle n'a fixé que des quantités insuffisantes d'azote. Inversement, certaines variétés de type gliadine 42 pourront surmonter leur handicap si elles ont pu synthétiser des quantités élevées de protéines. L'idéal reste évidemment une variété de type 45 ayant une bonne aptitude à fixer de l'azote.

La conclusion est que les tests électrophorétiques rapportés ci-dessus ne permettent généralement pas d'apprécier directement (c'est-à-dire sans passer par la notion de composition variétale) la qualité d'un lot de céréales.

Pour y parvenir, il faudrait en effet disposer de protéines dont le diagramme électrophorétique soit au moins partiellement influencé par les conditions de culture, le climat, le lieu, etc. Or cela n'est le cas, du moins dans les conditions expérimentales actuelles, ni pour les fractions protéiques du gluten ni pour les protéines enzymatiques signalées ci-dessus.

Il n'est cependant pas exclu que la recherche de tels constituants protéiques aboutisse et pour cela plusieurs voies d'approches sont actuellement suivies :

— analyse fine des constituants électrophorétiques gliadines (exemple : bandes 34, 44, 53, 62...) du gel d'amidon, dont la concentration relative présente un coefficient de variation anormalement élevé au sein d'une variété donnée (Autran

et Bourdet, 1975a). Cette fluctuation pourrait en effet être associée à une influence des facteurs d'environnement et peut être à des différences de qualité des lots de blé (Branlard, 1980),

— analyse de nouvelles fractions protéiques négligées jusqu'ici. Un diagramme électrophorétique se compose en effet, d'une part, de bandes nettes, d'autre part, de quelques bandes floues et de traînées. Seules les premières, que l'on repère facilement sont généralement retenues lorsqu'il s'agit d'un problème de marquage variétal ou génétique. Il n'est cependant pas impossible qu'en matière de qualité technologique et de propriétés fonctionnelles, les protéines ayant une aptitude à donner des agrégats, des interactions (et donc des traînées en électrophorèse) soient plus intéressantes et plus explicatives que celles qui migrent sous la forme de bandes très bien séparées,

— recherche de nouvelles conditions d'extraction des fractions protéiques, moins globales que celles actuellement utilisées, afin de mieux sélectionner les constituants fonctionnels et de mieux relier les données de l'électrophorégramme à la qualité du lot commercial.

Conclusion

L'électrophorèse, sous les différentes formes utilisées actuellement, constitue un outil irremplaçable et qui a déjà beaucoup apporté à l'ensemble de la filière « céréales ». Parmi les exemples les plus significatifs on peut citer :

— l'identification des variétés de blé à partir des électrophorégrammes de gliadines — exemple de chimiotaxonomie appliquée — qui a connu un rapide développement, particulièrement chez les industriels de la meunerie et de la semoulerie qui accordent une grande importance au critère variétal,

— la détection des blés tendres dans les pâtes alimentaires au moyen des diagrammes de peroxydases,

— la sélection de blés durs ayant un potentiel élevé de qualité culinaire à partir des électrophorégrammes de gliadines,

— le développement de marqueurs génomiques et chromosomiques, utiles au généticien dans les programmes d'introggression, grâce aux diagrammes protéiques et isoenzymatiques.

Toutes ces méthodes sont évidemment encore perfectibles et dans les recherches en cours consacrées à leur amélioration, un intérêt particulier est attaché aux aspects :

— rapidité : le temps de réponse étant encore trop élevé,

— simplicité : développer des supports commerciaux, réaliser le broyage, l'extraction et les dépôts en série,

— accroissement du pouvoir de résolution : obtenir le maximum d'information à partir de la fraction dont le polymorphisme est le plus élevé (prolamines) et introduire éventuellement des techniques complémentaires fondées sur les isoenzymes et les gluténines,

— automatisation de la lecture et de l'interprétation des diagrammes ainsi que de la construction des clés de détermination.

Il est également important de chercher à appliquer certaines techniques électrophorétiques pour résoudre de façon plus satisfaisante des problèmes tels que :

— l'identification variétale chez des céréales comme : l'orge, notamment à partir de malt, et le maïs,

— la sélection des orges pour une bonne qualité au maltage et en brasserie,

— la sélection des blés tendres ayant une force boulangère élevée.

Il est certain, dans l'ensemble, que le potentiel des techniques d'électrophorèse est très élevé et que les applications que l'on peut en attendre sont très vastes. L'électrophorèse est en effet un outil qui permet de mettre en évidence des différences de composition et de structure des protéines et qui donne donc accès à une partie de l'information génétique exprimée par la plante. Grâce au polymorphisme protéique et enzymatique mis en évidence, on peut ensuite rechercher des marqueurs de caractéristiques génétiques et certaines explications de différences d'aptitudes technologiques. Il faut ajouter à cela la finesse et la remarquable sensibilité des méthodes, avec des possibilités d'analyse sur un grain ou un fragment de grain.

Il convient néanmoins d'être conscient des limites de la technique électrophorétique.

Au niveau biochimique et génétique, il est évident que la composition protéique et les relations métaboliques entre constituants du

grain de blé sont des données infiniment complexes et qui ne peuvent se résumer en quelques diagrammes électrophorétiques. Par ailleurs, ces diagrammes ne constituent qu'une image partielle du polymorphisme biochimique car, les techniques électrophorétiques étant fondées sur la charge électrique et l'encombrement moléculaire des constituants, la plupart des différences portant par exemple sur des acides aminés non chargés ne sont pas détectées.

En matière de qualité technologique, il faut préalablement souligner qu'il n'est pas évident de trouver de relation entre une qualité technologique et un électrophorégramme protéique. Les bases biochimiques de la qualité, notamment en panification ou en pastification, semblent en effet correspondre à une aptitude des protéines à former des liaisons (avec d'autres protéines ou avec des constituants lipidiques ou glucidiques), à donner des complexes viscoélastiques et des agrégats insolubles au cours des processus de transformation. Il n'est pas certain que l'observation d'un électrophorégramme soit le meilleur moyen pour juger de cette aptitude, pas plus que le simple classement des éléments d'une charpente métallique ne renseigne sur la manière dont celle-ci est construite.

Par ailleurs, les relations réellement mises en évidence entre qualité technologique et électrophorégramme (notamment au niveau des protéines du gluten) ne se rapportent qu'à des caractères propres au génotype, à la variété (c'est-à-dire un potentiel de qualité, une qualité intrinsèque) caractères qui s'expriment ensuite différemment en fonction des conditions de culture. De telles données électrophorétiques peuvent certainement être prises en compte par le sélectionneur pour un tri précoce de ses lignées mais n'ont pas de véritable signification au niveau de l'utilisation pour juger d'un produit fini.

Un test de sélection peut effectivement être de nature électrophorétique mais cela ne peut généralement pas être le cas d'un test commercial qui devra intégrer à la fois le potentiel de la variété et l'influence des facteurs d'environnement. L'appréciation de la qualité d'un lot commercial ou d'un produit fini par électrophorèse ne semble donc actuellement se concevoir que par l'intermédiaire d'une analyse de la composition variétale.

Références bibliographiques

- Auriau P., Pluchard P., Chapuset T., Tallon P., 1979. Quel est l'avenir des blés hybrides ? Ann. Amélior. Plantes, 29, 2, 131-144.
- Autran J-C., 1973. L'identification des variétés de blé. Bull. Anc. Elèves E.F.M., 256, 163-169.
- Autran J-C., 1975. Nouvelles possibilités d'identification des variétés françaises de blé par électrophorèse des gliadines du grain. Ind. Agric. Alim., 9-10, 1075-1094.
- Autran J-C., 1979. Manuel d'instructions sur la technique d'identification des variétés de blé par électrophorèse des gliadines. Brochure INRA, 1-58.
- Autran J-C., Berrier R., 1974. Résultats non publiés.
- Autran J-C., Bourdet A., 1975 a. 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, 277-301.
- Autran J-C., Bourdet A., 1975 b. Nouvelles possibilités de contrôle variétal qualitatif et quantitatif dans les lots de blé commerciaux. Tech. Ind. Céréalières, 150, 7-13.
- Autran J-C., Bushuk W., Wrigley C.W., Zillman R.R., 1979. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. IV. International comparison of electrophoretic methods. Cereal Foods World, 24, 9, 471-475.
- Autran J-C., Damidaux R., Jeanjean M-F., 1980. Evaluation de la qualité culinaire intrinsèque des variétés de blé dur par examen d'électrophorégrammes des protéines du gluten. Getreide Mehl und Brot, sous presse.
- Autran J-C., Scriban R., 1977. Recherche sur la pureté variétale d'un malt. European Brewery Convention. Proc. 16th. Congress, Amsterdam, 47-62.
- Beaux Y., 1975. Variétés de blé : comment les reconnaître ? Bull. Anc. Elèves E.F.M., 268, 185-188.
- Bernard M., Autran J-C., Joudrier P., 1977. Possibilités d'identification de certains chromosomes de seigle à l'aide de marqueurs biochimiques. Ann. Amélior. Plantes, 27, 3, 355-362.
- Bietz J.A., Shepherd K.W., Wall J.S., 1975. Single kernel analysis of glutenin : Use in wheat genetics and breeding. Cereal Chem., 52, 513-532.
- Bourdet A., 1976. L'identification des variétés de blé par électrophorèse. Un symposium INRA - Meunerie Européenne. Tech. Ind. Céréalières, 154, 17-23.
- Bourdet A., 1978. Possibilités et limites de l'électrophorèse dans l'identification des variétés de blé. Le sélectionneur français, 25, 21-30.
- Branlard G., 1980. Communication personnelle.
- Branlard G., Rousset M., 1980. Les caractéristiques électrophorétiques des gliadines et la valeur en panification du blé tendre. Ann. Amélior. Plantes, 80, 2, 133-149.
- Bushuk W., 1980. Wheat gliadins : nomenclature and varietal identification. Workshop on the physicochemical properties of wheat gluten proteins, April 28-30, Nantes. Ann. Technol. agric. (sous presse).
- Bushuk W., Zillman R.R., 1978. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. Can. J. Plant Sci., 58, 505-515.
- Cauderon Y., Joudrier P., Autran J-C. and Kobrehel K., 1978. Contrôle chromosomique des gliadines, des béta-amylases et des peroxydases chez les lignées d'addition (*triticum aestivum* x *agropyron intermedium*). Ann. Amélior. Plantes, 28, 3, 257-267.
- Colas A., 1979. L'identification variétale des blés. Motorisation et technique agricole, déc. 1979, 64-65.
- Colas A., 1980. Qualité des blés : Point de vue de la meunerie. Cultivar, 132, 4, 19.
- Dal Belin Peruffo A., 1980. Identificazione di varietà di frumento geneticamente affini mediante elettroforesi su gel di poliaccrilamide. Tecnica Molitoria, 31, 2, 95-101.
- Damidaux R., 1979. Nouveaux critères de sélection pour l'amélioration de la qualité culinaire du blé dur. Thèse Doctorat Ingénieur, USTL, juillet 1979, 1-65.
- Damidaux R., Autran J-C., Feillet P., 1980. Intrinsic cooking quality evaluation in durum wheats through examination of gliadin electrophoregrams and measurements of gluten viscoelasticity. Cereal Foods World, sous presse.
- Damidaux R., Autran J-C., Grignac P., Feillet P., 1978. Relation applicable en sélection entre l'électrophorégramme des gliadines et les propriétés viscoélastiques du gluten de *Triticum Durum* Desf. C.R. Acad. Sci., Série D, 701-704.
- Damidaux R., Autran J-C., Grignac P., Feillet P., 1980. Déterminisme génétique des constituants gliadines de *Triticum durum* Desf. associés à la qualité culinaire intrinsèque des variétés. C.R. Acad. Sci. Paris, Série D.
- Damidaux R., Feillet P., 1978. Relation entre les propriétés viscoélastiques du gluten cuit, la teneur en protéines et la qualité culinaire des blés durs (*T. durum*). Ann. Techn. agric., 27, 799-808.
- Dosba F., Autran J-C., Joudrier P., Kobrehel K., 1980. Résultats non publiés.
- Du Cros D.L., Wrigley C.W., 1979. Improved electrophoretic methods for identifying cereal varieties. J. Sci. Fd Agric., 30, 785-794.
- Du Cros D.L., Wrigley C.W., Blakeney B., 1979. Fractionation of rice grain proteins by gradient gel electrophoresis and gel isoelectric focusing. Il riso, 28, 3, 275-284.
- Ellis J.R.S., Bemister C.H., 1977. The identification of U.K. wheat varieties by starch gel electrophoresis of gliadin proteins. J. natn. Inst. agric. Bot., 14, 221-231.
- Feillet P., 1979. Evaluation de la qualité culinaire intrinsèque des variétés de blés durs (*Triticum Durum*) par examen des électrophorégrammes des gliadines et par mesure des propriétés viscoélastiques du gluten. Compte rendu du Symposium ICC « Matières premières et pâtes alimentaires », Rome, 30-31 mai 1979, 77-92.
- Feillet P., 1980. Wheat proteins. Evaluation and measurements of wheat quality. In « Cereals for food and beverages », Acad. Press., 183-200.
- Feillet P., Kobrehel K., 1972. Recherches et dosage des produits de blé tendre dans les pâtes alimentaires par électrophorèse des protéines solubles. Ann. Techn. agric., 21, 17-24.
- Jeanjean M-F., Damidaux R., Feillet P., 1980. Effect of heat treatment on protein solubility and viscoelastic properties of wheat gluten. Cereal Chem., 57, 5, 325-331.
- Jones, 1980. Polyacrylamide gel electrophoretic patterns of gliadin proteins from the 80 most commonly grown U.S. wheat varieties. 65th. Annual A.A.C.C. Meeting. Abstr. n° 46.
- Joudrier P., 1974. Spécificité génétique de la Béta-amylase chez *Triticum aestivum* : existence de 5 types variétaux de diagrammes. C.R. Acad. Sci., 278, Série D, 1777-1780.
- Joudrier P., Woaye-Hune C., Gobin G., 1980. Possibilité de détecter la présence d'orge dans les pâtes alimentaires. Ann. Fals. Exp. Chim. (sous presse).
- Kasarda D.D., Bernardin J.E., Nimmo C.C., 1976. Wheat proteins. In : Advances in Cereal Science and Technology. Vol. I (Y. Pomeranz ed.) A.A.C.C., St Paul. Minn., 158-236.
- Kim S.I., Mosse J., 1979. Electrophoretic patterns of oat prolamins and species relationships in *Avena*. Can. J. Cytol., 21, 3, 309-318.
- Kobrehel K., Feillet P., 1976. Détection et dosage des blés tendres dans les pâtes alimentaires. Ann. Fals. Exp. Chim., 69, 47-55.
- Kobrehel K., Jeanjean M-F., 1977. Sélection des blés durs pour le caractère « faible indice de brun » sur la base de leur composition isoperoxydasique. Symposium FAO, 7-9 décembre, Montpellier.
- Kobrehel K., Maignon B., 1980. Solubilization of proteins with soaps in relation to the bread-making properties of wheat flour. Cereal Chem., 57, 1, 73-74.
- Kobrehel K., Redon C., 1980. Bread-making quality evaluation of wheats for breeding programs by rapid electrophoretic method. 65th. Annual Meeting A.A.C.C., Chicago, September 21-25.
- Landry J., 1979. La zéine du grain de maïs. Préparation et caractérisation. Biochimie, 61, 4, 549-558.
- Lawrence G.J., Shepherd K.W., 1980. Variation in glutenin protein subunits of wheat. Aust. J. Biol. Sci., 33, 221-233.
- Le Brun J., Beaux Y., 1978. Méthode de sous-échantillonnage en laboratoire. Bull. B.I.P.E.A., mars 1978.
- Neyreneuf O., Bourdet A., 1979. Contribution à l'identification variétale des orges. Cultivar, 116, 13-17.
- Nierle W., 1976. Versuche zur elektrophoretischen Erkennung von Weizensorten, Getreide, Mehl und Brot, 8, 207-210.
- Nicolas J., Drapron R., 1977. Méthodes modernes d'analyse en chimie céréalière. Bull. E.N.S.M.I.C., 279, 137-147.
- Orth R.A., Bushuk W., 1973. Studies on glutenin. II. Relation of varieties, location of growth and baking quality to molecular weight distribution of subunits. Cereal Chem., 50, 2, 191-197.
- Payne P.I., Cornfield K.G., 1979. Subunit composition of wheat glutenin proteins isolated by gel filtration in dissociating medium. Planta, 145, 83-88.
- Payne P.I., Cornfield K.G., Blackman J.A., 1979. Identification of a high molecular weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. Theor. Appl. Genet., 55, 153-159.
- Piat J., Grignac P., 1980. L'amélioration variétale du blé tendre. Industries des Céréales, 3, 7-18.
- Resmini P., De Bernardi G., 1976. Un metodo elettroforetico rapido per il riconoscimento ed il dosaggio del grano tenero nel grano duro, negli sfarinati e nelle paste alimentari. Tecnica Molitoria, 27, 10, 97.

Sapirstein H., Bushuk W., 1980. The gliadin electrophoregram : its use in genetic and quality studies. Cereal Foods World, 25, 8, 520, abstr. n° 110.

Scriban R., Autran J.-C., Strobbe B., Nicolaidis M., 1979. Synthèse préliminaire des différentes recherches analytiques sur la chimio-taxonomie des orges et des malts. Bios, 10, 6, 80-87.

Scriban R., Strobbe B., 1978. Etude chimio-taxonomique de l'orge et du malt par électrofocalisation sur gel. C.R. Acad. Sci. Paris, 287, 8, 641-642.

Shewry P.R., Ellis J.R.S., Pratt H.M., Mifflin B.J., 1978 a. A comparison of methods for the extraction and separation of hordein fractions from 29 barley varieties. J. Sci. Food Agric., 29, 433-441.

Shewry P.R., Faulks A.J., Pratt H.M., Mifflin B.J., 1978 b. The varietal identification of single seeds of wheat by SDS polyacrylamide gel electrophoresis of gliadin. J. Sci. Food Agric., 29, 10, 847-849.

Shewry P.R., Faulks A.J., Parmar S., Mifflin B.J., 1980. Hordein polypeptide pattern in relation to malting quality and the identification of malted barley grain. J. Inst. Brew., 86, 3, 138-141.

Slack P.T., Baxter E.D., Wainwright T., 1979. Inhibition by hordein of starch degradation. J. Inst. Brew., 85, 112-114.

Sozinov A.A., Poperella F.A., Stakanova A.S., 1973. Polymorphisme intervariétal de gliadines de quelques variétés de blé. (en russe). Dokl. Vaskhnil, 6, 8-11.

Tkachuk R., 1980. A rapid high voltage gel electrophoresis technique for characterizing wheat gliadins. Workshop on the physicochemical properties of wheat gluten proteins, April 28-30, Nantes. Ann. Technol. agric. (sous presse).

Trentesaux E., 1980. Communication personnelle.

Van Lonkhuyzen H.J., Marseille J.P., 1978. Schnellmethode zur Identifizierung von Weizensorten durch die Stärkegelektrophorese. Getreide, Mehl und Brot, 32, 6, 146-149.

Wrigley C.W., Shepherd K.W., 1973. Electro-focusing of grain proteins from wheat genotypes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 209, 154-162.

Zehatschek W., 1980. Das Elektrophoresemuster von weizenglutenin bei Sorten mit unterschiedlichem Qualitätsniveau. Getreide, Mehl und Brot, 34, 9, 239-243.

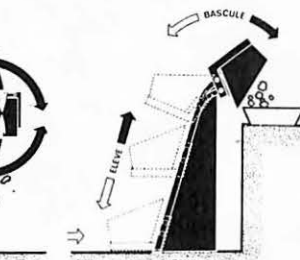
TOUTES LES INDUSTRIES UTILISENT LES

BSKIPS
RESCHARD

QUI PEUVENT, en transfert ETANCHE ou NON

PRENDRE, ÉLEVER, RETOURNER,
VIDANGER, TRANSVASER,
ALIMENTER, DÉPOSER,
POSITIONNER, PRÉSENTER,
DISTRIBUER, POSER, DOSER.

Tous produits SOLIDES, LIQUIDES,
PATEUX, POUDREUX, PULVERU-
LENTS jusque 40 000 kg de charge à
40 mètres. Appareils fixes ou mobi-
les à commande manuelle ou auto-
matique.



Prend sa charge,
la positionne
dans l'espace
avant basculement
ou transfert

ROBOT-SKIP

SKIP

POUR OPTIMISER L'EXPLOITATION DE VOS FUTS - CONTENEURS CYLINDRIQUES - CONTENEURS
MOBILES - CONTENEURS INTEGRES - CONTENEURS GERBABLES - CAISSES - PALETTES

LA MEILLEURE SOLUTION
A CHAQUE PROBLÈME POSÉ.

BRESCHARD

B.P. 4 - 62820 LIBERCOURT - FRANCE
TÉL. (20) 90.71.69 TELEX 110 444 F

REHOD 5985 CANTER 001

POUR VOS CYLINDRES



CANNELAGE POLISSAGE

EQUILIBRAGE DYNAMIQUE

VENTE DE CYLINDRES

117 bis, rue d'Estienne d'Orves,
93110 Rosny-sous-Bois
Tél. (1) 528.00.78

Pour recevoir régulièrement

LA REVUE

Industrie des Céréales

ABONNEZ-VOUS

42, rue du Louvre, 75001 Paris

Numéro 8 — janvier-février 1981

Industries des céréales



Revue de l'APIC - Association pour le Progrès des Industries des Céréales