

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Des Frères Mentouri - Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Ecologie Végétale

N° d'ordre :252/Ds/2018

N° de série :12/B.Eco/2018

THESE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE

DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité

Biologie végétale

Option : Biodiversité et Production Végétale

Thème :

**Etude moléculaire du polymorphisme des protéines de réserve
d'une accession de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Cultivé en
Algérie**

Présenté par : **ADOUI Nabila**

Soutenue publiquement le :19/12/2018

Membres du Jury :

Président :	BAKA M'barek	Professeur	Univ. Frères Mentouri - Constantine 1
Rapporteur :	BOUDOUR Leila	Professeur	Univ. Frères Mentouri - Constantine 1
Examineurs:	BENMOHAMED Amar	Professeur	Univ. Ferhat ABBAS-Sétif 1
	ABDELOUAHAB Yahia	Professeur	Centre Univ .Abdelhafid Boussouf-Mila
	BAHLOULI Fayçal	Professeur	Univ. Mohamed BOUDIAF- M'sila
	HAMOUDA Dounia	M.C.A	Univ. Frères Mentouri - Constantine 1

Année Universitaire 2018/2019

Remerciements

Tout d'abord, louange à ALLAH de m'avoir donné la patience, le courage d'accomplir cet humble travail.

Mes sincères remerciements sont adressés à mon encadrant, Professeur BOUDOUR Leila , enseignante à l'Université de Constantine , qui m'a honorée pour le choix de ce thème et m'a toujours guidée et conseiller pour que ce travail de recherche se concrétise dans les meilleures conditions .

Mes remerciements sont aussi adressés à Monsieur le Professeur M'barak BAKA de l'université des Frères Mentouri-Constantine 1, de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury et d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens à remercier énormément Monsieur le professeur Amar BENMOHAMED de l'Université de Sétif 1 d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également Monsieur le Professeur BAHLOULI Fayçal de l'Université Mohamed BOUDIAF de M'sila d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens aussi à remercier Monsieur le professeur Yahia ABDELOUAHAB de l'Université de Mila d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements sont aussi adressés à Madame Dounia HAMOUDA ,Maitre de conférence à l'université des Frères Mentouri-Constantine 1,

Je tiens aussi à remercier D.Ahmad Abdelmawgood , professeur en biologie moléculaire et Vice Doyen de la Recherche Scientifique et des Etudes Supérieures de l'Université d'Amanhour (Egypte) , pour son accueil chaleureux dans son laboratoire de biotechnologie et pour ses éclaircissements pour que ce travail voit le jour.

Professeur KAID HARCHE Meriem, enseignante à l'université d'Oran, que je remercie énormément pour son accueil chaleureux et ses encouragements pour réaliser une partie de ce travail dans de bonnes conditions dans sont Labo. Sans oublier sa collaboratrice Madame MESLEM Halima, et à laquelle j'exprime ma vive reconnaissance.

J'adresse mes sincères remerciements à M.Dr.BENDERRADJI Laid, enseignant à l'Université de M'sila , qui m'a beaucoup aidé et orienté pour la réalisation de cette thèse .

J'exprime également mes sincères remerciements à Mme : BOUCHETAB Karima, enseignante à l'Université de Constantine, pour sa précieuse collaboration dans ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui ont contribué à ma formation

Et

à ma famille

Résumés

Thème : Etude moléculaire du polymorphisme des protéines de réserves d'une accession de blé dur (*Triticum durum* Desf.) cultivée en Algérie

Résumé

La gestion et la conservation des ressources génétiques d'une espèce cultivée doivent requérir une bonne connaissance de sa variabilité morphologique et génétique pour sa conservation contre son érosion. Pour cela nous avons effectué une étude agro-morphologique, biochimique et moléculaire afin d'apprécier la diversité morphologique et agronomique intra et inter variétale, ainsi que le polymorphisme biochimique et génétique des protéines de réserve (gluténines HPM, FPM et les gliadines) existant chez les 100 génotypes appartenant aux quatre variétés locales de blé dur (*Triticum durum* Desf.), à savoir, *alexandrinum*, *merciense*, *valenciae* et *italicum* cultivées en Algérie. Les mesures des paramètres agro-morphologiques ont été réalisées à maturité des plantes. Les résultats obtenus par les paramètres agro-morphologiques ont montré l'existence d'une diversité inter-variétale très importante entre les quatre variétés de sorte que les génotypes de la variété *alexandrinum* et la variété *italicum* possèdent les valeurs les plus performantes, alors que les génotypes de la variété *merciense* montrent les valeurs les plus réduites.

L'analyse biochimique par électrophorèse monodimensionnelle (SDS-PAGE) a révélé la présence d'un faible polymorphisme intra variétale et un polymorphisme important entre les génotypes des quatre variétés ; les génotypes de la variété *alexandrinum* et *merciense* possèdent des bandes α - β - γ gliadines, alors que les génotypes de la variété *valenciae* présentent des bandes de type γ et ω gliadines.

L'étude moléculaire porte sur trois types de techniques, à savoir la technique PCR/Bulk, le marquage moléculaire à travers le marqueur PCR/RFLP et le séquençage des gènes codant des gliadines. Les deux amorces Glu-DX5 et LA1 destinées à l'amplification de gènes des gluténines mettent en évidence la pauvreté de ces gènes chez tous les génotypes des quatre variétés. Alors que l'amorce 56MN utilisée pour l'amplification des gènes des gliadines, montre l'abondance de ces derniers chez tous les génotypes des quatre variétés. Pour le marqueur PCR/RFLP appliqué sur onze génotypes des quatre variétés sélectionnées sur la base de leurs abondance en gènes des gliadines ont produit le même nombre d'amplifiant de poids moléculaire 536 pb. Avec onze fragments monomorphes. L'analyse du séquençage de deux génotypes sélectionnées de chaque variété montre l'existence d'un très faible polymorphisme entre les génotypes des quatre variétés et révèlent qu'ils sont très liés génétiquement.

Mots clés : Blé dur, polymorphisme, gènes codant, gluténines, gliadines, diversité morphologique, marqueurs moléculaires RFLP, séquençage

Theme : Molecular study of polymorphism storage protein of durum wheat's group (*Triticum durum* Desf.) cultivated in Algeria

Abstract

The management and conservation of genetic resources of a cultivated species must require a good knowledge of its morphological and genetic variability for its conservation against its erosion. For this we have carried out an agro-morphological, biochemical and molecular study, in order to appreciate the morphological and agronomical diversity intra and inter-varietal, as well as the polymorphism biochemical and genetic of reservation's protein (**glutenins HPM, FRM and the gliadins**) existing among the 100 genotypes belonging to the four local varieties of durum wheat (*Triticum durum* Desf.), namely, *alexandrinum*, *merciense*, *valenciae* and *italicum* cultivated in Algeria. The measurements of agro-morphological parameters were carried out at plants maturity. The results obtained by agro-morphological parameters showed the existence of a very important inter-varietal diversity between the four varieties so that the *alexandrinum* and *italicum* variety's genotypes have the highest performances values, while *merciense* variety's genotypes show the lowest values.

The biochemical analysis by one-dimensional electrophoresis (**SDS-PAGE**) revealed the presence of low intra-varietal polymorphism and important polymorphism between the genotypes of four varieties; the genotypes of *alexandrinum* and *merciense* variety have α , β , γ gliadins bands, while the genotypes of *valenciae* variety present type γ et ω gliadins bands.

Molecular study includes three technical types, namely **PCR/BULK** technical, molecular marking across the **PCR/RELF** marker and genes's sequencing coding gliadins. The two primers **GLU-DX5** and **LA1** aimed at the amplification of glutenins's genes highlighting the poverty of these genes in all genotypes of the four varieties. While the primer **56MN** used for the amplification of gliadins's genes which shows the abundance of these in all the genotypes of four varieties. For the marker **PCR/RELF** applied on eleven genotypes of four varieties selected on the basis of their abundance of gliadins's genes produced the same number of amplifying molecular weight **536 pb**. With eleven monomorphic fragments. The sequencing's analysis of two genotypes selected of any variety shows the existence of a very weak polymorphism between the genotypes of four varieties and reveals that they are very genetically related.

Key words : durum wheat, polymorphism, coding genes, glutenins, gliadins, morphological diversity, molecular markers RELF, sequencing.

العنوان: دراسة جزيئية لتنوع بروتينات التخزين لمجموعة من القمح الصلب (*Triticum durum* Desf) المزروع بالجزائر

الملخص

تتطلب إدارة وحفظ الموارد الوراثية لأنواع المزرعة معرفة جيدة بالتنوع المورفولوجي والجيني للحفاظ عليها ضد الانحراف الوراثي. ففي هذا السياق قمنا بإجراء دراسة زراعية ، مورفولوجية ، بيوكيميائية و جزيئية من أجل تقدير التنوع المورفولوجي و الزراعي داخل و بين الأصناف، و التعددية الوراثية للجينات المشفرة لبروتينات التخزين (غلوتينين HPM، FPM و جلايين) بين 100 نمط وراثي ينتمي إلى أربعة أصناف محلية من القمح الصلب و هي *alexandrinum*، *murciense* و *italicum* و *valenciae* المزروعة بالجزائر.

قياسات المعايير الزراعية و المورفولوجية أجريت خلال دورة حياة النبات ، النتائج المتحصل عليها من هذه القياسات أظهرت وجود تنوع جدمهم بين الأصناف الأربعة، بحيث الأنماط الوراثية التي تنتمي إلى الصنفين *alexandrinum* و *italicum* تتميز بقيم جدمعالية. أما فيما يخص الأنماط الوراثية التي تنتمي إلى الصنف *murciense* أظهرت القيم الضعيفة .

التحليل البيوكيميائي بتقنية الهجرة الكهروبنائية SDS-PAGE أحادي البعد لتحليل تعدد أشكال بروتينات التخزين و وحدات الفلوتين أظهرت تعدد شكلي ضعيف بين الأنماط الوراثية من نفس الصنف، في حين وجد تعدد شكلي جدمهم بين الأصناف الأربعة بحيث الأنماط الوراثية المنتمية إلى الصنفين *alexandrinum* و *murciense* يتميزان بشرائط α - β - γ جليادين، في حين الأنماط الوراثية المنتمية للصنف *valenciae* أظهرت شرائط من نوع ω - γ جليادين.

الدراسة الجزيئية ارتكزت على ثلاثة أنواع من التقنيات، وهي تقنية PCR/Bulk، ووضع الموسومات الجزيئية من خلال الموسم PCR/ RFLP وتسلسل الجينات التي تشفر الجليادين. استعمال كل من البادئين LA1 و Glu-DX5 المخصصين لتضخيم جينات الغلوتينين أظهرت ضعف هذه الجينات في جميع الأنماط الوراثية للأصناف الأربعة. في حين أن الطعم MN56 الذي استخدم لتضخيم جينات الجليادين، أظهر وفرة هذه الجينات في جميع الأنماط الجينية للأصناف الأربعة. الموسم PCR / RFLP المطبق على أحد عشر نمط وراثي المختارة على أساس وفرتها في الأصناف الأربعة التي تم اختيارها على أساس وفرة هذه الجينات. أظهرت النتائج نفس العدد من مضخات الحجم 536 زوج من القواعد. مع تشكل أحد عشر شريط أحادي الشكل. تحليل التسلسل لاثنتين من الأنماط الوراثية من كل صنف أظهر وجود تعدد شكلي ضعيف بين كل الأنماط الوراثية المنتمية لأصناف الأربعة، كما أثبت قرابتهم الوراثية الجدمعالية.

الكلمات المفتاحية: القمح الصلب ، التعدد الشكلي ، جينات الترميز ، الغلوتينات ، الجليادين ، التنوع المورفولوجي ، الموسومات الجزيئية RFLP ، التسلسل.

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Loci des gènes codant pour les gliadines et les gluténines	31
Tableau 2 : Caractéristiques botaniques des variétés étudiées.....	38
Tableau3: Pluviométrie et température mesurées à ElKhroub en 2008/2009(ITGC).....	40
Tableau 4 : Répartition des génotypes étudiés dans des lots	45
Tableau 5 : Nom et séquence des amorces utilisées dans l'amplification des gènes codants des gluténines et des gliadines	48
Tableau 6: Composantes du volume final de la PCR.....	48
Tableau 7 : Les échantillons choisis pour PCR /RFLP.....	49
Tableau 8: Etude statistique (Test de Khi-deux et de Friedman).....	50
Tableau 9: Le test de Scheffé de différents caractères agro-morphologique étudiés des quatre variétés.....	73
Tableau 10: Matrice des coefficients de corrélations des différentes variables analysées..	74
Tableau 11: Analyse RFLP.....	79
Tableau 12: Taux de (GC %) de différentes séquences des génotypes étudiés.....	105
Tableau 13: Matrice d'identité (%) entre les huit génotypes de quatre variétés	108
Tableau 14: Matrice d'identité (%) entre les huit génotypes de quatre variétés ; Clustal : 2.1	112

Liste des figures

Figure 1. Origine et diffusion de <i>Triticum turgidum</i>	6
Figure 2. Coupe au niveau de grain du blé.....	14
Figure3: Comparaison des classifications des protéines du blé d'après d'Osborne, (1907) et de Shewry et al .,(1986).....	17
Figure4: Représentation simplifiée de la structure primaire des gliadines(Feillet, 2000)...	20
Figure 5: Représentation simplifiée de la structure primaire des sous-unités gluténines de faible et de haut poids moléculaire (Feillet, 2000).....	23
Figure 6 : Représentation schématique des structures primaires des prolamines.....	24
Figure 7: Représentation schématique de la structure primaire des α -gliadines.....	25
Figure8: Schéma proposé pour des structures typiques de SG-FPM de type m et s (A) et type i (B) (d'après D'Ovidio et Masci, 2004).....	26
Figure 9 : Représentation schématique des positions des résidus cystéines dans la structure primaire de la SG-HPM 1B x 20 d'après les séquences présentées par Shewry et al . (2003).....	27
Figure10: Schéma d'association des SG-HPM et des SG-FPM et localisation des ponts disulfures identifiés d'après Shewry et al. (2003).....	28
Figure11: Localisation des gènes codant pour les gliadines et les gluténines (Feillet, 2000).....	30
Figure 12: Dispositif de l'expérimentation	39
Figure 13. Hauteur de la plante, longueur de la barbe et de l'épi des génotypes de la variété <i>alexandrinum</i>	52
Figure 14. Tallage herbacé (TH) des génotypes de la variété <i>alexandrinum</i>	53
Figure 15: Tallage épi (TE) des génotypes de la variété <i>alexandrinum</i>	54
Figure 16: Surface Foliaire (SF) des génotypes de la variété <i>alexandrinum</i>	54
Figure 17 : Taux de Fertilité (TF%) des génotypes de la variété <i>alexandrinum</i>	55
Figure 18 : Hauteur de la plante (HP), longueur de la barbe (LB) et de l'épi (LE) des génotypes de la variété <i>murciense</i>	56
Figure 19 : Tallage Herbacé (TH) des génotypes de la variété <i>murciense</i>	57
Figure 20 : Tallage Epi (TE) des génotypes de la variété <i>murciense</i>	57
Figure 21 : Surface Foliaire (SF) des génotypes de la variété <i>murciense</i>	58
Figure 22: Taux de Fertilité (TF) des génotypes de la variété <i>murciense</i>	59

Figure 23: Hauteur de la plante (HP), longueur de la barbe (LB) et de l'épi (LE) des génotypes de la variété <i>valenciae</i>	60
Figure 24: Tallage herbacé (TH) des génotypes de la variété <i>valenciae</i>	60
Figure 25: Tallage Epi (TE) des génotypes de la variété <i>valenciae</i>	61
Figure 26 : Surface Foliaire (SF) des génotypes de la variété <i>valenciae</i>	62
Figure 27 : Taux de fertilité (TF) des génotypes de la variété <i>valenciae</i>	62
Figure 28 : Hauteur de la plante (HP), longueur de la barbe (LB) et de l'épi(LE) des génotypes de la variété <i>italicum</i>	63
Figure 29: Tallage herbacé (TH) des génotypes de la variété <i>italicum</i>	64
Figure 30 : Tallage Epi (TE) des génotypes de la variété <i>italicum</i>	64
Figure 31: Surface Foliaire (SF) des génotypes de la variété <i>italicum</i>	65
Figure 32 : Taux de Fertilité (TF) des génotypes de la variété <i>italicum</i>	66
Figure 33: Nombre d'épillets par épi (NE/E), de grains par épi (NG/E) et rendement (NG/m ²) des génotypes de la variété <i>alexandrinum</i>	67
Figure 34: Poids de mille grains (PMG) des génotypes de la variété <i>alexandrinum</i>	67
Figure 35 : Nombre d'épillets par épi (NE/E), de grains par épi (NG/E) et rendement (NG/m ²) des génotypes de la variété <i>murciense</i>	68
Figure 36: Poids de mille grains(PMG) des génotypes de la variété <i>murciense</i>	69
Figure 37: Nombre d'épillets par épi (NE/E), de grains par épi (NG/E) et rendement (NG/m ²) des génotypes de la variété <i>valanciae</i>	70
Figure 38: Poids de mille grains (PMG) des génotypes de la variété <i>valenciae</i>	70
Figure 39: Nombre d'épillets par épi (NE/E), de grains par épi (NG/E) et rendement (NG/m ²) des génotypes de la variété <i>italicum</i>	71
Figure 40: Poids de mille grains (PMG) des génotypes de la variété <i>italicum</i>	72
Figure 41: Cercles des corrélations des variables de l'ACP dans le plan 1 / 2(A) et 1 /3 (B) des 100 génotypes des quatre variétés (<i>alexandrinum</i> , <i>murciense</i> , <i>valenciae</i> , <i>italicum</i>).....	80
Figure42: Représentation graphique des100 génotypes des quatre variétés (<i>alexandrinum</i> , <i>murciense</i> , <i>valenciae</i> , <i>italicum</i>) dans le plan 1/ 2.....	82
Figure43: Représentation graphique des100 génotypes des quatre variétés (<i>alexandrinum</i> , <i>murciense</i> , <i>valenciae</i> , <i>italicum</i>) dans le plan 1/ 3.....	83
Figure 44 : Dendrogramme des paramètres agro-morphologiques de 100 génotypes des quatre variétés (<i>alexandrinum,murciense,valenciae,italicum</i>).....	85

Figure 45: Electrophorégramme des gliadines des géotypes de la variété <i>alexandrinum</i> (1 à 6 ; 8 et 9)	87
Figure 46: Dendrogramme des gliadines des géotypes de la variété <i>alexandrinum</i>	88
Figure 47A: Electrophorégramme des gliadines des géotypes 12 à 18 de la variété <i>murciense</i>	89
Figure 47B: Electrophorégramme des gliadines de 7 géotypes (20 à 29) de la variété <i>murciense</i>	89
Figure 47C : Electrophorégramme des gliadines de la variété <i>murciense</i> de (30 à 39) ...	90
Figure 47D : Electrophorégramme des gliadines de la variété <i>murciense</i> (géotypes : 40 à 49)	90
Figure 48: Dendrogramme des géotypes de la variété <i>murciense</i>	91
Figure 49 : Electrophorégramme des gliadines de la variété <i>valenciae</i> (géotypes : 50 à 58).....	93
Figure 50 : Electrophorégramme des gliadines de la variété <i>valenciae</i> (géotypes : 70 à 79).....	94
Figure 51 : Dendrogramme des gliadines des géotypes de la variété <i>valenciae</i>	95
Figure 52. Electro-phorégramme des gliadines de la variété <i>italicum</i> de 80 à 89.....	96
Figure 53. Dendrogramme des gliadines des géotypes de la variété <i>italicum</i>	98
Figure 54 (A et B) : Profil électro-phorétique de l'ADN génomique (Géotypes 1 à 25 et 27 à 51).	101
Figure 54 (C et D) : Profil électro-phorétique de l'ADN génomique (Géotypes 54 à 77 et 82 à 100)	102
Figure 55(A et B) : Diagramme électrophorétique PCR/Bulk de gènes des gluténines par l'amorce Glu-Dx5 (1 à 20 lots).....	103
Figure 56 (A et B): Diagramme électrophorétique PCR/Bulk de gène des gliadines par l'amorce 56MN pour les 20 lots.).....	104
Figure 57 : Diagramme électrophorétique de PCR/RFLP des onze géotypes.....	106
Figure 58: Les séquences des gènes codant des gliadines de huit géotypes testés (alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23).....	108
Figure 59 (A,B et C) : Alignement multiple d'un fragment des séquences des gènes codant des gliadines des 8 géotypes alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23.	109
Figure 60 : Dendrogramme des séquences des gènes codant des gliadines des 8 géotypes étudiés (alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23).....	110
Figure 61. Relations évolutives des 8 géotypes des quatre variétés étudiées	111

Liste des abréviations

aa : acide aminé

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism

alex : *alexandrinum*

APS : Ammonium Persulfate

BSA : Bovin Serum Albumine

DTT : Dimthiothréitol

EDTA : Acide éthylènediamino tétraacétique sel disodique

HPM : Haut Poids Moléculaire

FPM : Faible Poids Moléculaire

FAO : Food and Agriculture Organisation

ita : *italicum*

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures

JAF : Jour Après Floraison

KDa : Kilo Dalton

LB : Longueur de Barbe

mur(Mur) : *murciense*

µL : Microlitre

NG/E : Nombre de Grains par épi

NE/E : Nombre d'épillets par épi

Pb : paire de base

PCR : Polymérase Chain Réaction

p/v : poids / volume

PMG : Poids de Mille Grains

RAPD : Restriction Amplified polymorphism DNA

RDt : Rendement

RFLP : Restriction Fragment Length polymorphism

RNase : Ribonuclease

SF : Surface Foliaire

SDS-PAGE : Sodium Dodecyl Sulfate –PolyAcrylamide Gel

SG-FPM : Sous Unité Gluétine Faible Poids Moléculaire

SG-HPM : Sous Unités des gluétines de haut poids moléculaire

TF% : Taux de Fertilité

TE : Tallage épi

TH : Tallage Herbacé

TEMED :N,N,N',N'-Tetramethylethylnediamine

TCA : Acide Trichloroacétique

CP : Corps Protéique

val : *valenciae*

Sommaire

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur le blé.....	4
1.1.1. Définition	4
1.1.2. Origine génétique	4
1.1.3. Origine géographique.....	5
1.1.4. Classification	7
1.2. Morphologie du blé.....	7
1.2.1. Hauteur de la plante.....	8
1.2.2. Col de l'épi.....	9
1.2.3. Epi.....	9
1.2.4. Feuilles.....	9
1.3. Rendement du blé.....	10
1.3.1. Composantes du rendement.....	11
1.4. Grain du blé.....	13
1.4.1. Protéines du grain de blé	14
1.4.2. Propriétés des protéines.....	15
1.4.1.3. Composition en acides aminés.....	16
1.5. Protéines de réserve du blé dur.....	18
1.5.1. Accumulation des protéines de réserve lors de la croissance du grain.....	19
1.5.2. Gliadines	20
1.5.3. Gluténines.....	21
1.5.4. Structures primaires et secondaires des prolamines.....	23
1.5.5. Modalités d'appariement des sous-unités gluténines	27
1.5.6. Modèle structural global des polymères de gluténines.....	28
1.5.7. Déterminisme génétique et localisation chromosomique des protéines de réserve...29	
1.6. Amélioration génétique du blé.....	31
1.6.1. Différents types des marqueurs utilisés dans l'identification du blé.....	33

1.6. 1.1. Marqueurs morphologiques	33
1.6. 1. 2. Marqueurs biochimiques	33
I. 6. 1. 3. Marqueurs moléculaires	33

Chapitre II. Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes.....	38
2.1. Matériel végétal.....	38
2.2. Site d'expérimentation et conduite de l'essai.....	38
2.3. Mesure des paramètres.....	40
2.3.1. Paramètres morphologiques.....	41
2.3. 2. Composantes du rendement	42
2.3. 3. Etude biochimique.....	42
2.3.3.1. Technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE	42
2.3. 3.1.1. Méthode d'extraction des protéines de réserve.....	43
2.3. 4. Etude moléculaire.....	45
2.3.4.1. Méthode PCR /Bulk.....	45
2.3.4.2. Marqueur RFLP.....	49
2.3.4.3. Séquençage	49
2.4. Etude statistiques des résultats.....	50
2.4.1. Résultats agro-morphologiques.....	50
2.4.2. Résultats biochimiques.....	51
2.4.3. Résultats moléculaires.....	51

Chapitre III. Résultats et discussion

3. Résultats et Discussion.....	52
3.1. Paramètres agro-morphologiques.....	52
3.1.1. Paramètres morphologique	52
3.1.2. Les composantes du rendement	66
3.1.3. Analyse intra-variétale	72
3.1.4. Analyse inter-variétale	73
3.1.5. Etude de la variabilité des paramètres agro-morphologiques.....	78
3.1.6. Matrice de corrélation des variables	78
3.1.7. Etude des individus	81
3.1.8. Classification hiérarchique des paramètres agro-morphologiques.....	83
3.1.9. Conclusion.....	86

3.2. Etude biochimique.....	87
3.2.1. Protéines de réserve.....	87
3.2.1.1. Les gliadines	87
3.2.1.2. La classification hiérarchique des gliadines des quatre variétés.....	96
3.2.1.3. Discussion des résultats des gliadines.....	99
3.2.1.4. Les gluténines	99
3.2.1.5. Conclusion.....	100
3.3. Etude moléculaire.....	101
3.3.1. Analyse de la technique PCR / Bulk.....	101
3.3.1.1. Gènes des glutenines (HPM et FPM).....	102
3.3.1.2. Gènes des gliadines	104
3.3.2. Analyse du marqueur RFLP	105
3.3.3. Séquençage des gliadines	106
3.3.3.1. Analyse des fragments des gènes des gliadines.....	108
3.3.4. Alignement des séquences des gènes codant des gliadines.....	109
3.3.4.2. Relations évolutives des huit génotypes.....	110
3.3.5. Similarité et matrice d'identité des séquences des gènes des gliadines.....	111
3.3.6. Conclusion.....	112
Conclusion générale et perspectives.....	114
Références bibliographiques	118
Annexes	

Introduction

Introduction

Les ressources phyto-génétiques constituent un matériel pour répondre aux besoins nutritionnels et médicaux de l'humanité. Tout lui venait de la cueillette, et c'est par la suite qu'il a commencé à opérer un choix au sein de la multitude d'espèces que lui offrait la nature. C'est ainsi que l'homme a commencé par privilégier certaines espèces en les déplaçant de leur environnement naturel pour les avoir près de lui dans des conditions particulières d'où la naissance de l'agriculture. Les paysans ont inventé l'agriculture et également affiner leurs connaissances et leur savoir faire, bâti des systèmes durables depuis des siècles en utilisant les ressources génétiques locales. Ainsi donc, le rôle des pratiques agricoles traditionnelles qui utilisent une gamme très variée de ressources génétiques locales a été et demeure encore déterminant dans les processus de la sélection et de l'amélioration variétale, de même que dans la production de semences et par conséquent le développement agricole.

Le développement agricole a conduit à des variétés très performantes mais qui s'est accompagné d'une réduction de la diversité génétique. Il est donc nécessaire de constituer une réserve génétique, comprenant des ressources très diversifiées susceptibles de répondre aux besoins futurs de l'homme. Ces ressources sont matérialisées sous forme de variétés, anciennes et modernes, de population ou géotypes locaux et espèces sauvages proches des plantes cultivées.

Depuis 1900, on a perdu les trois-quarts environ de la diversité génétique des plantes cultivées. Indéniablement, les merveilles de l'amélioration de production ont eu comme conséquences l'érosion de la diversité génétique de beaucoup de récoltes, y compris le blé, dû au remplacement de cultivars autochtones avec les cultivars modernes à haut rendement (Braun *et al.*, 1998).

La gestion des ressources génétiques passe d'abord par un inventaire de la diversité génétique disponible dans une espèce et la description de l'organisation hiérarchique de cette diversité entre individus, population, sous-espèces, etc. Ces informations sont précieuses pour faire un premier état des lieux et faire un choix de géotypes à conserver et à évaluer en priorité. Cependant une meilleure compréhension des facteurs historiques et évolutifs façonnant la diversité génétique tant au niveau moléculaire que phénotypique est également importante pour pouvoir statuer sur le niveau de diversité existant au sein d'une espèce. Cette connaissance permettra aussi de trancher une vision très patrimoniale des

ressources génétiques où l'érosion de la diversité est irréversible sur le temps court (50-100 générations), (bataillon et *al.*, 2007).

La mise en valeur de l'apport des ressources phyto-génétiques dans l'amélioration des blés cultivés ne peut être réalisée qu'après une étude génétique, biochimique et moléculaire approfondie. Les évaluations qui ont pour objectif de décrire la diversité peuvent faire appel à des marqueurs biochimiques (protéines de réserve et certains systèmes enzymatiques) ou moléculaires (marqueurs RFLP, microsatellites...etc.), ou protéomiques (recherche de certains protéomes pour couvrir la diversité génétique). L'identification phénotypique basée sur la description des caractères morphologiques et agronomiques sont largement utilisées pour évaluation de la diversité génétique des géotypes de blé (Van Hintum et Elings, 1991). Cependant les traits des caractères morphologiques ont de nombreuses limites telles qu'un faible polymorphisme, une faible héritabilité, une expression tardive des caractères et peuvent être contrôlés par des gènes à effets épistatique et pleiotropique (Nakamura, 2001).

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale. Les deux espèces du blé les plus cultivées au monde sont le blé tendre (*triticum aestivum L.*) qui représente plus de 90% de la production mondiale et le blé dur (*Triticum durum Desf.*) 5% traditionnellement cultivé dans le bassin méditerranéen (Gooding, 2009). Selon la FAO, la production mondiale de blé en 2016 s'établirait à 723 millions de tonnes (FAO, 2016). En Algérie, la production céréalière a atteint 3,3 millions de tonnes en 2014 (FAO, 2015) par ailleurs elle constitue l'essentiel de la ration alimentaire quotidienne de la population et occupe une superficie de 2.7 millions d'hectares (Benbelkacem, 2013).

La variabilité génétique des blés cultivés, résultat de 10000 ans de culture a considérablement diminué ces dernières années en raison de l'introduction des techniques scientifiques modernes pour les besoins de la sélection. L'érosion rapide et continue du patrimoine génétique du blé a diminué les possibilités d'amélioration des rendements et rendu les cultures du blé dans le monde de plus en plus vulnérables à de nouveaux stress biotiques et abiotiques.

La culture du blé dur (*Triticum durum Desf.*) est une spéculation qui domine la céréaliculture algérienne. Elle occupe des superficies qui ont varié entre 544.000 et

1.600.000 ha, au cours de la période 1994/95 à 2007/08, soit une production qui varié de 486.000 à 2.055.000 tonnes (Adjabi, 2010).

La culture de blé dur pratiquée en Algérie utilise un germoplasme de deux types : les génotypes locaux traditionnels, caractérisés par un faible potentiel de production, qui ont été modelés au cours des années par la pression sélective exercée par les facteurs du milieu. Les génotypes d'introduction nouvellement sélectionnés et caractérisés par un haut potentiel de production, leur disparaissent plus rapidement à cause notamment de leur inadaptation et de leur sensibilité à la sécheresse. L'introduction de ce matériel génétique a fait régresser les variétés locales en les marginalisant pendant les années favorables avant de disparaître à leur tour après les années défavorables. Cet état de fait a rétréci la diversité des blés durs dans le pays.

L'objectif de notre travail de thèse est d'analyser la variabilité morphologique et agronomique de quelques variétés anciennes , locales de blé dur cultivé en Algérie et la diversité génétique de leurs protéines de réserve comme les sous unités gluténines de haut et faible poids moléculaire et les gliadines grâce aux marqueurs moléculaires PCR/ RFLP et le séquençage et afin d'arriver à des stratégies de leur gestion et de conservation contre l'érosion génétique.

Ce manuscrit est divisé en trois chapitres:

- Chapitre I est consacré à la synthèse bibliographique, dans laquelle des travaux antérieurs sur le blé sont présentés, des généralités sur les caractères morphologiques et agronomiques puis le grain du blé et ses protéines de réserve.
 - Chapitre II est consacré à la description du matériel végétal et des différentes techniques d'analyses utilisées pour étudier leur morphologie, leur potentiel agronomique, biochimique et moléculaire.
 - Chapitre III est consacré aux résultats obtenus et la discussion.
- Ce manuscrit se termine par une conclusion générale et les perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. Synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur le blé

1.1.1. Définition

Le blé est une monocotylédone de la famille des *Poaceae* appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscent, le caryopse. Le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et le blé dur (*Triticum durum* Desf.) sont les deux espèces les plus cultivées dans le monde. Le blé tendre est constitué de trois génomes possédant chacun 7 paires de chromosomes homologues, soit 42 chromosomes au total. Il possède une structure génomique hexaploïde (AA BB DD) et le blé dur une structure tétraploïde (AA BB).

Le blé dur d'un point de vue phylogénétique est issu de deux hybridations interspécifiques suivi d'un doublement chromosomique. Le croisement entre *Triticum monococcum* (A) et un *Aegilops* (B) a donné un individu de structure génomique (AB) avec 14 chromosomes. Après doublement chromosomique est apparu *Triticum turgidum* ssp. *Dicoccoides* (AA BB), ancêtre du blé dur (Chapman, 2009 ; Chen et al., 1984 ; Gill et Kimber, 1974). Le second croisement interspécifique a eu lieu entre *Triticum turgidum* ssp. *Dicoccoides* et *Aegilops tauschii* (D) ce qui a donné un individu (ABD) possédant 21 chromosomes. Ce dernier a subi un doublement chromosomique (AA BB DD).

1.1.2. Origine génétique

Les espèces ancestrales qui seraient à l'origine du blé dur cultivé sont diploïdes avec $2n = 14$. Une hybridation spontanée entre ces espèces a été à l'origine de la formation d'une nouvelle espèce riche en gluten, c'est le blé dur ou amidonnier (Clerget, 2011).

Le blé dur est allotétraploïde avec deux génomes AABB, comptant au total 28 chromosomes ($2n=4x=28$), contenant le complément diploïde des chromosomes de chacune des espèces souches. Comme telle, chaque paire de chromosomes du génome A a une paire de chromosomes homologues dans le génome B, à laquelle elle est étroitement apparentée.

D'après Cook et al., (1993) , le blé tétraploïde ($2n=4x=28$ chromosomes) résulte d'un croisement rare mais naturel entre deux espèces de blés diploïdes. En effet , les chromosomes d'un hybride stérile de génome AB se dédoublent spontanément pour produire un hybride tétraploïde fertile AABB par le phénomène de l'amphidiploïdie.

Les analyses cytologiques et moléculaires laissent croire que les sous-espèces de *T. turgidum* seraient issues de l'hybridation spontanée de *Triticum monococcum* L. subsp. *boeoticum* (Boiss.) (Synonyme : *Triticum urartu* : AA) avec une espèce de blé diploïde inconnue contenant le génome B (Feldman, 1976). Selon Kimber et Seras (1987), une ou plusieurs des cinq espèces diploïdes de la section *Sitopsis* du genre *Triticum* pourraient avoir fourni le génome B aux blés polyploïdes. D'après l'analyse moléculaire, le génome de *T. speltoides* s'apparente plus au génome B du blé dur et du blé tendre (Talbert et al., 1995). En outre, l'analyse de l'ADN des chloroplastes montre que *T. speltoides* est probablement le donneur maternel du blé dur (Wang et al., 1997).

Le résultat de cette hybridation naturelle est l'amidonnier sauvage (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* qui a été domestiqué plus tard sous la forme du blé amidonnier (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum*).

Des milliers d'années de culture et de sélection ont abouti à la formidable variabilité des blés tétraploïdes issus de l'amidonnier sauvage. Un certain nombre de sous-espèces ont donc été caractérisées, principalement d'après les caractères morphologiques (Van Slageren, 1994): *T. turgidum* ssp. *paleocolchicum*, *T. turgidum* ssp. *polonicum*, *T. turgidum* ssp. *turanicum*, *T. turgidum* ssp. *carthlicum*, *T. turgidum* ssp. *turgidum* et *T. turgidum* ssp. *durum*. Parmi tous les blés tétraploïdes cultivés, *T. turgidum* ssp. *durum* est de loin le plus important.

À son rythme, la nature fabrique donc à l'infini des organismes génétiquement modifiés assurant ainsi une grande diversité du monde vivant, c'est ce qu'on appelle l'évolution.

Les blés domestiqués actuels sont en effet des espèces polyploïdes dérivées des espèces ancestrales sauvages diploïdes. L'homme n'intervient ici qu'au niveau de la sélection qui n'a plus rien de naturelle. Il privilégie les espèces les plus faciles à cultiver, les plus résistantes, les plus productives, les plus rentables en fonction de l'utilisation qu'il en fait (Clerget, 2011).

1.1.3. Origine géographique

Il y a environ 12.000 ans, un petit groupe d'humains a pris le virage du chasse-cueillette à la culture de plantes pour la survie durable. La découverte de l'agriculture a entraînée de nombreux changements dans la culture humaine, un phénomène connu sous le nom révolution néolithique est le résultat de la domestication progressive de graminées cultivées dont la plus ancienne semble être le blé dur (Feillet, 2000). L'agriculture a

renforcé le mode de vie sédentaire, ce qui a conduit à la stratification de la société et au développement de technologies (Salamini et *al.*, 2002). Les plus anciennes concentrations connues de céréales résultant de pratiques agricoles ont été repérées lors de fouilles archéologiques en 10 000 avant J.-C. en Jordanie. Il s'agit de blés non brisants (engrain et amidonnier) et d'orge (paumelle) (Clerget, 2011).

Le blé est l'une des premières espèces cultivées par l'homme au proche Orient, il y a environ 10.000 à 15.000 ans avant J.C (Herve, 1979). Des restes de blés, diploïde et tétraploïde, ont été découverts sur des sites archéologiques au proche orient d'après Harlan (1975) et on croit que le blé dur provient des territoires de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran selon Feldmen (2001).



Figure 1. Origine et diffusion de *Triticum turgidum* (Bonjean, 2001).

1.1.4. Classification

Le blé est une monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des Poaceae (Feuillet, 2000)

D'après la classification APG III (2009). Le blé dur est classé de la manière suivante :

Classification de Cronquist (1981)

Règne	plante
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous-classe	Commelinidae
Ordre	Cyperales
Famille	Gramineae
Tribu	Triticeae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum turgidum</i>
Sous-espèce	<i>Triticum turgidum subsp.durum (Desf.)</i>
Synonymes	<i>Triticum durum</i>

Classification APG III (2009)

Ordre	Poales
Famille	poaceae

1.2. Morphologie du blé

Le blé est une plante herbacée annuelle, à système de reproduction autogame et cléistogame : elle se reproduit par autofécondation et sans ouverture de la fleur (Navile, 2005). Le système racinaire est fasciculé assez développé si on le compare à celui des graminées prairiales (Soltner, 2005). Il comprend des racines séminales produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives qui se forment plus tard à partir des nœuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent qui assure la nutrition de la plante (Hammadache, 2001).

Le système aérien est formé d'un certain nombre d'unité biologique (talles) partant d'une zone située à la base de la plante (le plateau de tallage) (Moule, 1980) et donnant ultérieurement les brins. Le nombre de brins dépend de la variété, des conditions de

croissance et de la densité de plantation (Bozzini, 1988). La tige (chaume) est cylindrique, dressé, habituellement creuse et subdivisée en entre-nœuds. Certaines variétés possèdent toutefois des tiges pleines (Clark *et al.*, 2002). Les tiges sont engainées par des feuilles à nervures parallèles issues chacune d'un entre-nœud (Soltner, 2005).

Les grains de blé dur sont de couleur blanc-jaunâtre ou rougeâtre, suivant les variétés. Leur texture est normalement vitreuse, d'apparence translucide. Ils sont en général étroits et amincis aux deux extrémités, plus au moins comprimés latéralement et présentent une saillie dorsale marquée ainsi par un sillon profond, étroit et bien dessiné. Leur section transversale est plus ou moins triangulaire, leur embryon est large avec un scutellum ovale, leurs dimensions varient avec les variétés et les conditions de végétation (Boufenar *et al.*, 2006).

1.2.1. Hauteur de la plante

La plante présente un certain nombre de caractères morphologiques qui confèrent un aspect particulier à la plante tel que le port par exemple ou à la variété lorsque celui-ci est fixé et qu'il en devient une caractéristique. Ces caractères ont une incidence sur le rendement en grain ou sur la qualité du grain, même si elle est parfois indirecte.

Ledent, (1978) a établi une bonne corrélation entre le poids sec total sans épi et celui de l'épi ; ceci montre nettement que les talles bien développées portent les plus beaux épis. Selon Simpson, (1968) les plantes courtes sont plus productives que les plantes hautes car la capacité de tallage des premiers est plus importante.

Le coefficient de corrélation entre le rendement et la hauteur de la tige est très variable selon les génotypes de blé tendre (Hanifi- Mekliche, 1983). Fonseca et Paterson, (1968) ont établi des corrélations positives entre la hauteur de la plante, les composantes du rendement et le rendement en grain, qui varient selon l'année d'essai et la lignée utilisée. La hauteur de la plante et les composantes de rendement ainsi que la précocité présentent des corrélations hautement significatives. Les coefficients de corrélation entre d'une part la hauteur de la tige, et d'autre part le nombre d'épis par plante, le poids du grain et la précocité, ont respectivement les coefficients suivants : $r = 0,206$; $r = 0,484$ et $r = -0,222$ (Johnson, 1966).

1.2.2. Col de l'épi

La longueur du dernier entre nœud est importante du fait qu'elle éloigne l'épi du feuillage limitant ainsi les risques d'infestation par d'éventuelles maladies de même que le col de l'épi se situe en pleine lumière, ce qui augmente l'intensité de la photosynthèse (Baldy, 1974 ; Doussinault, 1978). La longueur du col de l'épi est associée positivement au rendement de l'épi (Delecolle et Gurnade, 1980).

Auriau, (1978) a souligné l'importance non seulement du rôle du col de l'épi mais aussi des barbes, dans la maturation du grain. Le col jouerait le rôle d'un organe provisoire dans la translocation des assimilats vers l'épi, ils ont trouvé une corrélation positive entre la longueur du col de l'épi et le rendement. Grignac, (1978) a mis en évidence une liaison positive mais faible entre le rendement et la longueur du dernier entre-nœud ainsi qu'avec le rapport de la longueur du dernier entre- nœud et celle de la tige.

1.2.3. Epi

D'après Blum ,(1989) l'épi joue un rôle dans la photosynthèse et la production d'assimilats nécessaires au remplissage du grain , quant la dernière feuille devient sénescent. Les derniers orgaines chlorophylliens (glumes et barbes) jouent un rôle prédominant dans la formation du grain. Les barbes par leur port dressé et leur position contribuent dans la translocation des assimilats stockés à son niveau et donc à la photosynthèse (Gate *et al.*,1990).

1.2.4. Feuilles

Selon Auriau, (1978) les hydrates de carbone du grain sont issus de l'activité photosynthétique des parties supérieures de la plante au moment même de la formation du grain. C'est ainsi que les dernières feuilles, le col de l'épi et l'épi lui-même fournissent la presque totalité des hydrates de carbone des grains ; le rôle de l'avant dernière feuille sans être nul, est généralement faible. La taille de l'épi et la gaine de la dernière feuille ont une liaison étroite, les gaines sont mieux corrélées au rendement que les feuilles (Ledent, 1978). Boyeldieu, (1980) a trouvé que les meilleurs rendements en grain chez le blé étaient obtenus avec des indices foliaires de 8 à 10, à condition que le couvert végétal ne verse pas.

Gauthiers et Joudrier, (1991) constatent que les blés tétraploïdes et hexaploïdes présentent une activité photosynthétique plus accrue jusqu'au début de l'épiaison, mais lors

du développement du grain, cette activité baisse chez les formes sauvages et s'accroît chez les formes cultivées.

La surface du limbe est associée positivement avec le rendement en grain par plante et le poids de 1000 grains (Ledent, 1978). Oulie ,(1986) a montré que le rendement en grain est lié à l'activité photosynthétique de la dernière feuille. Ledent, (1978) a établi une corrélation positive entre le poids sec de la graine et de la dernière feuille et le rendement, de même qu'il a établi une liaison plus étroite entre la deuxième et la troisième feuille avec le rendement par épi plutôt qu'avec la feuille sommitale.

1.3. Rendement du blé

Le rendement en grain s'élabore par étape au cours des différentes phases de développement, il résulte d'un certain nombre de composantes et de nombreux effets physiologiques qui se forment successivement ou simultanément durant le cycle végétatif (Ingoat et Couvreur, 1979).

L'objectif principal dans un programme d'amélioration des plantes vise en premier lieu à accroître le rendement qui est un caractère polygénique (Picard, 1991), très variable selon les conditions éco-climatique et techniques (Bœuf, 1948). L'expression de ce caractère résulte du fonctionnement d'un peuplement, c'est-à-dire de l'ensemble des plantes qui, pendant la durée du cycle végétatif sont en concurrence pour l'utilisation des ressources du milieu (Masle *et al.*, 1981).

Le rendement s'élabore tout au long du cycle de développement de la plante (Couvreur et Masse, 1983 ; Amboulet *et al.*, 1983) ; c'est le résultat de l'interaction d'un certain nombre de composantes et de nombreux effets physiologiques qui se forment successivement ou simultanément durant le cycle végétatif, entre lesquels des phénomènes de compensation interviennent (Ingoat et Couvreur, 1979). Dans certaines limites, les composantes du rendement entrent en concurrence entre elles, ce qui peut affecter le rendement (Grignac, 1978 et Vilain, 1987).

La progression génétique dans l'accroissement du rendement en grain est le résultat de deux facteurs essentiels, à savoir l'accroissement du rendement biologique où le progrès génétique doit résulter d'une augmentation de l'efficacité photosynthétique des céréales qui est la résultante de l'effort consenti sur les caractères morphologiques et physiologiques (Amboulet *et al.*, 1983).

La qualité technologique est un caractère variétal très influencé par les facteurs du milieu (Bœuf, 1948; Sadli, 1993). C'est ainsi qu'une nutrition azotée et potassique convenable engendre une bonne formation du grain ainsi qu'une bonne qualité (Rousset, 1986 et Roy, 1989) ; de même qu'un sol riche en phosphore accélère la précocité et donne une bonne qualité du grain avec plus de résistance à la verse (Grignac, 1978). En conditions humides, lors de la maturation, les grains du blé dur deviennent farineux à cause des fissurations intercellulaires (Percival, cité par Grignac, 1970) : c'est le mitadinage. Une forte évapotranspiration pendant le remplissage des grains engendre des grains ridés : c'est l'échaudage (Chevalier, 1957 ; Boyeldieu, 1980 et Masle, 1982).

1.3.1. Composantes du rendement

La formation des composantes est étalée dans le temps, elle est donc soumise à différentes conditions de croissance, comme elle subit aussi les effets de compensation entre les composantes (Abbassenne et *al.*, 1998). L'effet de compensation entre les composantes du rendement est un mécanisme de développement important qui est à même de reconstituer le rendement en grain lors de la reprise après stress (Blum, 1989). Cette compensation dépend du parcours d'élaboration du rendement et des processus physiologiques liés au génotype : durée de vie des feuilles, poids relative de l'épi et taux de mobilisation des assimilats. Dans certaines limites, ces composantes entrent en concurrence ce qui peut affecter le rendement (Grignac, 1978 et Bouzerzour et *al.*, 2000).

Selon Li et Gill, (2004), le rendement en grain est le caractère agronomique le plus important et le plus complexe, il est déterminé physiologiquement par la source (les organes photosynthétiques, surtout les feuilles supérieures) et la capacité de translocation des assimilats, en plus il est le produit d'une série de composantes, nombre de plantes / unité de surface, nombre d'épis par plante, nombre de grain par épi et le poids du grain. Génétiquement, il est contrôlé par de nombreux gènes, à action additive, de dominance, d'épistasie et de l'interaction génotype x environnement (GxE).

Chez les céréales un certain nombre de caractéristiques mesurables constituent les composantes de rendement que l'on peut schématiser selon la formule suivante : Nombre d'épis/m² x Nombre de grains/épi x Poids de 1000 grains (Vilain, 1987).

La part de chaque composante dans l'élaboration du rendement dépend du génotype ainsi

que des conditions du milieu.

- Nombre d'épis par unite de surface

Le nombre d'épis s'élabore au cours de la montaison, il est immédiatement suivi du nombre de grain par épi qui se determine au stade épiaison. Le nombre d'épis par mètre carré est la composante du rendement la plus etroitement liée au rendement (Bouzerzour et *al.*, 2000). Les meilleurs rendements en grain de blé dur en zones semi-arides et en région méditerranéene sont les résultats de la capacité génétique à produire plus d'épis par unite de surface associée à une bonne fertilité (Oudjani, 2009).

Selon Bouzerzour, (1992) le nombre d'épis par mètre carré est négativement corrélé au rendement en grain, au nombre de grains/m² et au nombre de grains par épi, ceci vient probablement du fait que les conditions du milieu des hauts plateaux favorisent la production d'épis par unité de surface qui agissent négativement sur la fertilité et indirectement sur le rendement.

- Nombre d'épis par plante

Bensalem et *al.*, (1991), ont établi une liaison entre le tallage épi et le rendement ; par contre ils n'ont pas trouvé de liaison entre le tallage herbacé et le rendement en grain. Selon Nass, (1973) le nombre d'épis par plante est la composante la plus prépondérante du rendement. L'accroissement du nombre d'épis n'entraîne pas toujours une augmentation du rendement à cause de la compétition induite par le nombre de grains par épi (Combe, 1981).

- Nombre des grains par épi

Selon Dunder, (1976) le rendement du blé est très dépendant du nombre de grains par épi, le coefficient de corrélation entre les deux caractères est de 0,917. Le nombre de grains par épi est influencé par le nombre d'épis par m², par les caractéristiques variétales, par la disponibilité en eau et par la nutrition azotée et phospho- potassique (Belaid, 1986). Aussi le nombre de grains par épi est en fonction du nombre d'épillets par épi et du nombre de grains par épillets (INA, 1979).

Chez le blé tendre, on peut trouver 3 à 5 grains par épillets alors que chez l'orge, il n'y a qu'un grain par épillet (Lafarge et Gaul, 1985).

Selon Bendjama (1977), le nombre de grains par épi varie fortement et diminue avec l'augmentation de la densité de semis.

- Poids de mille grains

Le poids de 1000 grains dépend des conditions de nutrition et de peuplement (Masle, 1982). Un coefficient de corrélation variable de 0,08 à 0,80 est trouvé par Aissani, (1989) entre le rendement et le poids de 1000 grains, dans les conditions des hauts plateaux sétifiens. Un poids de mille grains faible peut être le résultat de maladies de fin de cycle (fusariose), ou de pluies tardives associées à de fortes chaleurs et à un degré moindre à la verse (Gate *et al.*, 1991). Une élévation brusque de la température durant la phase d'accumulation des réserves cause l'échaudage fait chuter le taux d'azote dans le grain et le rend léger (Chevalier, 1957). Selon Grignac, (1970) cette baisse du taux d'azote dans le grain ne favoriserait pas la formation d'un grain vitreux, ce même auteur relève une relation étroite entre le poids de 1000 grains et le mitadinage.

Un apport de la fumure azotée pendant la croissance des grains accroît le poids de 1000 grains (Combe, 1981). Une relation positive a été établie entre le niveau moyen du pallier d'eau du grain et le poids spécifique à la maturité (Malet et Gurnade, 1981), cependant Sadli, (1993) n'a trouvé aucune relation entre le rendement et le mitadinage. Fonseca et Paterson, (1968) on trouvé une héritabilité au sens étroit de poids de 1000 grains de 0,472.

1.4. Grain du blé

Le grain de blé est constitué de 3 grandes parties : le germe, l'albumen et les enveloppes (Figure 2). Il est constitué majoritairement d'amidon qui représente environ 70% de la matière sèche du grain et qui est situé dans l'albumen. Les protéines représentent entre 10 et 15% de la matière sèche et se retrouvent dans tous les tissus du grain de blé avec une concentration plus importante dans le germe et la couche à aleurone (Pomeranz, 1988). Les pentosanes (polysaccharides non amylacés) représentent quant à eux entre 2 et 3% de la matière sèche et sont les principaux constituants des parois cellulaires de l'albumen (70 à 80%).

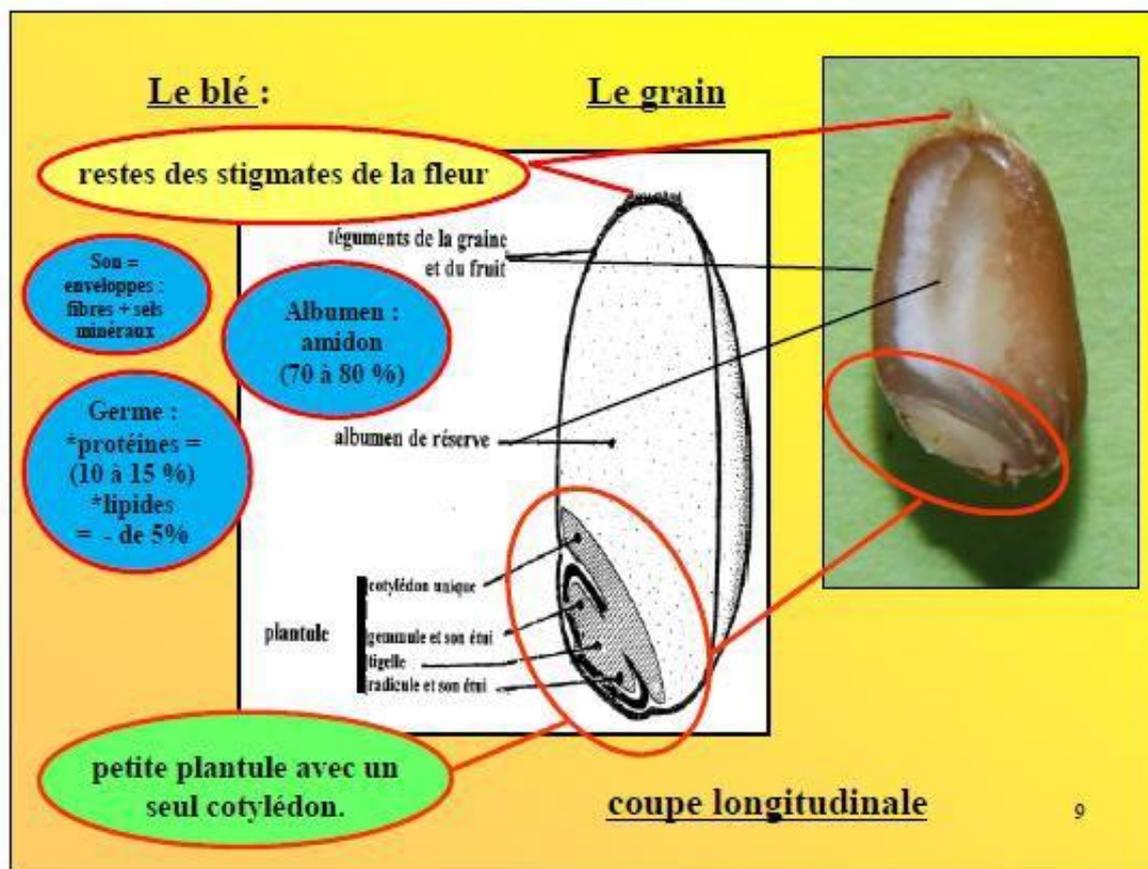


Figure 2. Coupe au niveau de grain du blé dur (Clerget, 2011).

1. 4. 1. Protéines du grain de blé

Les protéines forment (8-18%) de la matière sèche du blé dur ; elles sont inégalement réparties entre les différentes couches histologiques du grain. (Feillet, 2000). Leurs répartitions n'est pas uniforme dans le grain, formé de plusieurs parties distinctes de point de vue morphologique et fonctionnelle. Ainsi, la couche à aleurone est constituée de (30-35%) de protéines, le germe de (35 - 40%) alors que le péricarpe ne contient que (6 -7%) de protéine et le centre de l'albumen amylicé (6 - 9%) seulement. Mais globalement et compte tenu de l'importance pondérale relatif de ces différents tissus, (60 - 80%) des protéines se trouvent dans l'albumen.

Les protéines du blé dur sont divisées selon leurs caractéristiques biologiques et leur localisation dans le grain, on distingue ainsi deux classes de protéines : les protéines métaboliques avec les albumines et les globulines (15 - 20% des protéines) et les protéines de réserve avec les gliadines et les gluténines (80 - 85% des protéines) (Wrigley et Bietz, 1988). Les albumines –globulines, encore appelées protéines solubles, sont constituées

d'un grand nombre de protéines se différenciant par leurs propriétés physico-chimiques (poids moléculaire, point isoélectrique, acides aminés) et fonctionnelles (activités enzymatiques: α - et β -amylase, protéases, oxydoréductases; inhibiteurs enzymatiques, pouvoir émulsifiant et moussant). On les retrouve dans l'ensemble des différents compartiments de la graine. Les gliadines et les gluténines, aussi appelées prolamines en raison de leur richesse en proline et en glutamine, représentent une source d'acides aminés pour la germination et pour le développement de la graine (Richard et *al.*, 1996). Ces protéines de réserve sont majoritairement localisées au sein de l'albumen amylicé. Elles sont également les principaux constituants du gluten, le complexe protéique viscoélastique obtenu par lavage à l'eau d'une pâte de blé dur.

Les protéines de réserve qui sont accumulées dans l'albumen amylicé du grain représentent environ (72%) des protéines totales du grain et sont celles dont les propriétés technologiques sont les plus exploitées (Godon et *al.*, 1996). Les protéines de réserve du grain de blé dur, appelées prolamines en raison de leur richesse en résidus proline et glutamine, sont à la base de la formation d'un réseau viscoélastique (gluten) lors du pétrissage de la pâte et donc de l'aptitude à la panification du blé. Les prolamines ne sont présentes que chez les céréales, alors que les principales protéines de réserve des autres plantes à fleurs sont les albumines et les globulines. Les prolamines sont constituées de protéines monomériques, les gliadines (40% des prolamines), et de protéines polymériques, les gluténines, elles-mêmes formant 2 sous-groupes : Les sous-unités de faible poids moléculaire (HPM : 40% des prolamines) et celles de haut poids moléculaire (HPM : 20% des prolamines).

1. 4. 2. Propriétés des protéines

Depuis les travaux d'Osborne en 1907, les protéines du blé sont classiquement réparties en quatre classes en fonction de leur solubilité ; les albumines, solubles dans l'eau, et les globulines, solubles dans les solutions salines neutres, souvent regroupées sous le terme de protéines solubles, d'albumines-globulines ou de protéines cytoplasmiques ou métaboliques; les gliadines solubles dans les alcools dilués (éthanol 70%), et les gluténines, protéines résiduelles insolubles dans les solvants, partiellement solubles dans les solutions acides diluées et dans l'urée, et solubilisées en présence de détergents (SDS) et de réducteurs (mercapto-éthanol).

Les gliadines et les gluténines, principaux constituants du gluten, constituent les protéines de réserve dans lesquelles la jeune plantule puisera l'acide aminé dont elle a besoin au moment de la germination du grain. Les teneurs en protéines solubles dans l'eau, dans les sels, l'éthanol 70% et l'acide acétique 0.01N et en protéines insolubles sont respectivement égales à (18 - 22%), (12 - 16%), (9 - 18%), (19 - 26%) et (16 - 23%) ; leurs propriétés fonctionnelles ne sont pas connues. Dans le germe ces mêmes protéines représentent 32%, 20%, 15%, 1% et 32% des protéines totales compte tenu de ces différences de solubilité, de nombreuses méthodes d'extraction séquentielle des quatre groupes constitutifs des protéines du blé (albumine, globuline, gliadine et gluténine) ont été proposées. Les séquences eau/éthanol/acide acétique /détergents / réducteurs sont les plus souvent retenues. Le degré d'homogénéité des fractions protéiques isolées dépend de la nature et de l'ordre de passage des solvants, du nombre d'extraction, du rapport farine / solvant et de la température. Si le premier solvant est une solution saline, les gluténines sont plus contaminées par les gliadines que lorsque de l'eau désionisée est utilisée en premier.

Lorsque les gliadines et les gluténines sont extraites du gluten, leur solubilité dans l'eau est d'autant plus marquée que le gluten a été isolé de la farine en utilisant des solutions salines (NaCl) plus concentrées: NaCl accroît les propriétés hydrophiles du gluten, non seulement en contribuant à la rupture des interactions entre les lipides et les acides aminés préalablement enfouis au sein des régions hydrophobes. On peut également supposer que le traitement du gluten par NaCl a pour effet d'accroître les interactions entre les gliadines et les gluténines et que le complexe gliadine-gluténine formé serait plus soluble dans l'eau que les seules gluténines.

En 1986, Shewry a proposé une autre classification basée sur le degré de polymérisation et la teneur en acides aminés soufrés des protéines insolubles : les gliadines forment la famille des prolamines monomériques, mélange de chaînes polypeptidiques simples de teneur variable en soufre ; les gluténines sont regroupées dans la famille des prolamines polymériques constituées de sous-unités de faible et de haut poids moléculaire, rassemblées au sein d'agrégats par des liaisons disulfures. Le schéma de la Figure (3) permet de rapprocher cette classification de celle d'Osborne (1907).

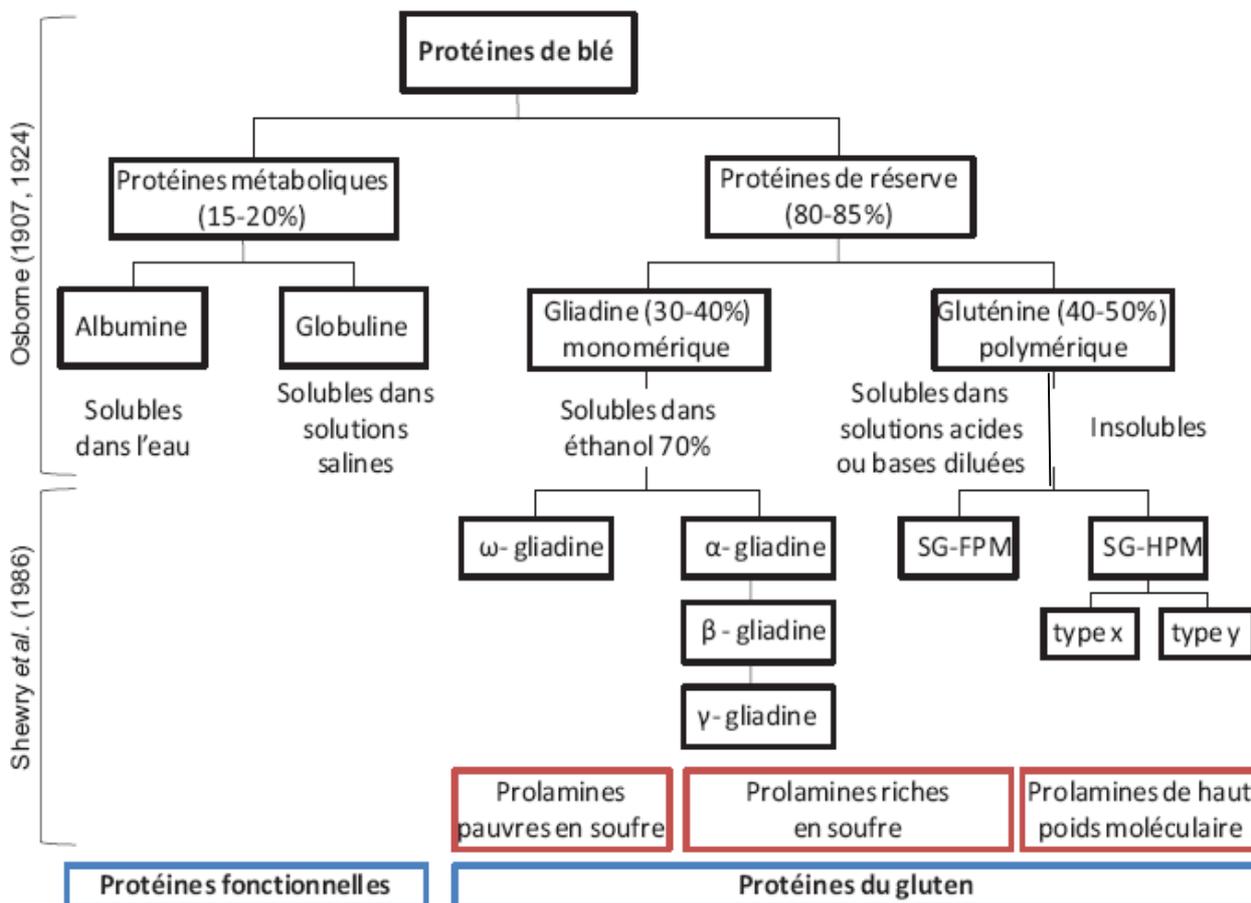


Figure3: Comparaison des classifications des protéines du blé d'après d'Osborne, (1907) et de Shewry et al .,(1986).

1.4.3. Composition en acides aminés

Les protéines du blé dur ont une teneur spécialement élevée en acide glutamique, principalement sous forme amidée. Elles sont riches en proline et leucine et pauvres en lysine. Les albumines et les globulines contiennent moins d'acide glutamique et de proline que les protéines du gluten mais leur teneur en lysine est beaucoup plus élevée. Les gliadines et les gluténines sont particulièrement peu chargées. Les protéines du gluten se caractérisent par une teneur élevée en acide glutamique et en proline et par une faible teneur en acides aminés basiques : elles doivent certaines de leurs propriétés fonctionnelles à cette composition assez particulière.

1.5. Protéines de réserve du blé dur

Ce sont les prolamines, protéines riches en proline et glutamine qui ne sont présentes que dans l'albumen (Moss, 1962). Les gliadines constituent (30 - 40%) des protéines totales de la farine. Leur masse va de 25 à 80 kDa et elles peuvent être séparées en quatre sous-groupes électrophorétiques α , β , γ , et ω gliadines, chacun contenant de nombreuses protéines proches en composition et structure (Anderson et Greene 1997). Les polymères de gluténines se composent de sous-unités de faible poids moléculaire (SG-FPM) d'environ de 25 à 45kDa liées aux sous-unités des gluténines de haut poids (SG-HPM) de 70 à 90 kDa par des liaisons disulfures inter-chaines. Les SG-FPM- possèdent également des β -gliadines (Muller et al., 1998) pouvant également être polymérisées avec les gluténines. Les rôles des différents composants de gluten dans la fonctionnalité de la pâte sont complexes (Gupta et al., 1992 ; MacRitchie et al., 1991 ; Khatkar et al., 2002).

Bien que les SG-HPM ne représentent qu'environ 30% des gluténines et moins de 1.8% de la farine totale, elles jouent un rôle déterminant dans la valeur d'utilisation du blé. La diversité allélique des sous unités des gluténines (codés par 6 loci complexes) se caractérise par des combinaisons de sous unités parfois très différentes. De plus, certaines de ces sous unités se distinguent par le nombre de liaisons intermoléculaires qu'elles peuvent établir dans la formation du réseau polymérisé aboutissant au gluten. La mesure des tailles de polymères, rendue possible par « Analysis of Flow Field Flow Fractionation Multi Angular Laser Scanning AFFFF MALS », révèle que la fraction des gluténines va de 6×10^5 Da à plus de 17×10^6 Da (Lemelin et al., 2007).

D'après Branlard en 2012, le gluten est essentiellement constitué de protéines, mais il peut contenir aussi quelques granules d'amidon et des lipides. Le gluten est formé de deux familles de protéines ; les gliadines et les gluténines. Les gliadines sont des protéines monomériques de poids moléculaire allant de 15 à 85KDa. Les gluténines sont par contre des protéines polymérisées par des liaisons covalentes (disulfure), et leur poids varie de 200 KDa à plus de 45000 KDa. La rupture de ces liaisons permet de révéler les sous-unités de haut et faible poids moléculaires (SG-HPM et SG-FPM) constitutives des gluténines. Les sous-unités gluténines forment un réseau tridimensionnel dans lequel s'agrègent les gliadines généralement repliées sous forme de pelote.

1.5. 1. Accumulation des protéines de réserve lors de la croissance du grain

De nombreux auteurs ont étudié l'accumulation et la polymérisation des gluténines au cours du développement du grain de blé tendre (Johansson *et al.*, 1994, Gupta *et al.*, 1996, Stone & Nicolas, 1996, Carceller & Aussenac, 1999, Daniel & Triboï, 2002, Rhazi *et al.*, 2003, Shewry *et al.*, 2009), les travaux conduits sur le blé dur étant plus rares. Ceux-ci ont montré, par analyse de profils électrophorétiques, que toutes les fractions protéiques (α -, β -, γ - gliadines, ω -gliadines et les SG-FPM et HPM, ainsi que les albumines) étaient synthétisées simultanément (Galterio *et al.*, 1987, Bénétrix *et al.*, 1994). Les travaux conduits sur le blé tendre ont également montré qu'entre 5 et 13 JAF, la synthèse des SG-HPM se produit en même temps que celle des SG-FPM et des gliadines, selon le génotype et les conditions de croissance (Johansson *et al.*, 1994, Gupta *et al.*, 1996, Carceller & Aussenac, 1999, DuPont & Altenbach, 2003, Abonyi *et al.*, 2007) et se poursuit jusqu'à l'entrée en dessiccation du grain. En outre, il a été montré par une analyse des populations d'ARNm (par RT-PCR) que les gènes individuels des SG-HPM et au moins sept gènes de SG-FPM, présentent des profils temporels de régulation identiques (Altenbach *et al.*, 2002).

En revanche, Panozzo *et al.* (2001) ont signalé que les SG-FPM ne sont synthétisées en quantités significatives qu'après 14 JAF, clairement après les SG-HPM. Plus récemment des travaux utilisant une procédure plus précise que l'analyse densitométrique des gels SDS-PAGE ont confirmé que les transcrits codant pour les SG-HPM précèdent d'environ 2 jours l'accumulation de ceux codant pour les SG-FPM et les gliadines et continueraient au delà de la phase d'accumulation de la matière sèche (essentiellement relative à la synthèse d'amidon) (Shewry *et al.*, 2009). Selon ces auteurs les différentes fractions de protéines de réserve (gliadines, SG-FPM, SG-HPM) s'accumulent surtout entre 14 et 35 JAF et selon des profils relatifs d'accumulation stables (par rapport à la quantité finale de chaque fraction protéique).

Des résultats contradictoires sont rapportés par Gupta *et al.* (1996) qui soulignent que le rapport entre SG-HPM et SG-FPM augmente au cours du développement du grain.

1.5.2. Gliadines

Les gliadines représentent environ 45% des protéines de réserve du blé dur. Elles sont constituées d'un grand nombre de polypeptides répartis en quatre groupes : α , β , γ , et ω en fonction de leurs mobilité décroissante, lors d'un fractionnement sur gel d'électrophorèse en milieu acide, et par ordre croissant de poids moléculaire (Woychik *et al.*, 1961) . Les α - β - et γ -gliadines présentent un poids moléculaire de l'ordre de 30-45kDa avec des pHi compris entre 6.5 et 8 , tandis que les ω - gliadines se distinguent par un poids moléculaire plus élevé , allant jusqu'à 75kDa et de pHi compris entre 5 et 7 (Feillet ,2000, Shewry et halford,2002).

Les séquences primaires des α - et β - gliadines sont très proches, c'est pourquoi elles sont souvent regroupées sous un terme unique de gliadines de type α ou encore α - β gliadines. Les gliadines contiennent principalement de résidus glutamine et proline (Bushuk et Wrigley, 1974) et sont typiquement pourvues d'un nombre pair de résidus cystéine .Toutefois, plusieurs auteurs rapportent l'existence de gliadines modifiées, présentant un nombre impair de cystéines et donc capables de former des ponts disulfure inter-chaînes. De ce fait elles se trouvent impliquées dans les polymères de gluténines (Masci *et al.*, 1993, Masci *et al.*, 1999) (Figure 4).

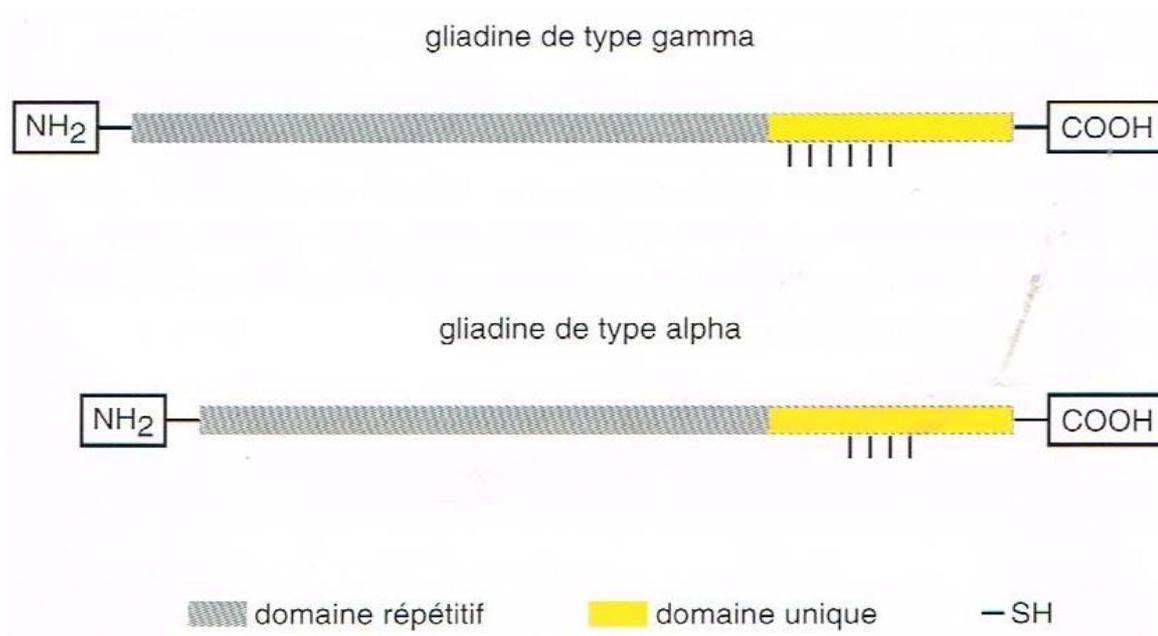


Figure 4 : Représentation simplifiée de la structure primaire des gliadines (Feillet, 2000).

1.5.3. Gluténines

Les gliuténine représentent (40-50%) des protéines de réserve du blé dur. Elles se présentent sous la forme de polymères polydisperses stabilisés par des liaisons disulfures intermoléculaires qui peuvent atteindre des tailles supérieures à 1 million (Wrigley, 1996). L'encombrement moléculaire de ces polymères allié à leur faible densité de charge et leur propension à interagir rendent difficile leur analyse par les techniques biochimiques classiques. Ce sont des assemblages protéiques insolubles dans l'eau et l'éthanol et solubilisés en présence d'agents fortement dissociant comme l'urée (Pomeranz, 1965) ou le dodécyl sulfate de sodium (SDS) (Graveland *et al.*, 1979) .

les polypeptides qui composent les gluténines sont appelés sous-unités de gluténines, libérés après l'action d'agents réducteurs de ponts disulfures et sont également insolubles dans les tampons classiques, seuls les solvants protéiques polaires assurent leur mise en solution .Ces sous-unités sont séparées en deux sous-groupes , les SG-FPM (poids moléculaire compris entre 30et 45kDa) et les SG-HPM (poids moléculaire compris entre 70 et 90kD).

-Les SG-FPM se rapprochent des gliadines par leur composition, leur structure secondaire et leurs propriétés physico-chimique (Payne et Corfield, 1979 ; Tathan *et al.*, 1987). Les SG-FPM séparées par SDS-PAGE ont été subdivisées en trois groupes (B, C et D). Le groupe B, le plus abondant, inclut trois types de sous-unités appelées s- m- et i-. Ces sous-unités diffèrent par leurs séquences qui représentent respectivement des résidus sérine, méthionine et isoleucine en position N-terminale. Le groupe D inclurait des ω - gliadines ayant acquis un résidu cystéine (D'Ovidioet Masci ,2004). Le groupe C est constitué de sous-unités présentant un faible encombrement (<35kDa).

Les sous-unités gluténines de faible poids moléculaire représentent 60-80%, des glutinines, soit 20 - 30% des protéines de la farine de blé dur. Leur masse moléculaire est comprise entre 36 et 44kDa. Elles sont classées, selon les auteurs, sur la base de leur poids moléculaire ou de la composition en acides aminés de leur séquence N-terminale, mais aucune de ces classifications ne s'est imposée.

Les SG-FPM ont une composition en acides aminés voisine de celle des α - et γ - gliadines, mais avec davantage de sérine et de valine et moins d'acide aspartique et d'alanine. Comparativement aux SG-HPM, elles se caractérisent par une teneur élevée en cystéine

(les SG-FPM connues contiennent huit résidus cystéine) et en acides aminés non polaires (phénylalanine, valine, leucine, isoleucine et méthionine), ce qui les rend particulièrement hydrophobes ; leur teneur en glyco-colle est par contre beaucoup plus faible.

En se basant sur les caractéristiques structurales des groupes B, C et D Kasarda, (1989) a suggéré l'existence de deux types de SG-FPM. Le premier type, qui englobe principalement les SG-FPM de type B, aurait la capacité de former deux ponts disulfures intermoléculaires permettant l'extension des polymères de gluténine. Le second type, présent parmi les SG-FPM de type C et D, ne possédant qu'un seul résidu cystéine et pourrait jouer un rôle dit de terminaison.

-Les SG-HPM présentent un poids moléculaire compris entre 70 et 90 kDa. Comparativement aux SG-FPM, elles incluent un nombre limité d'espèces moléculaires, avec en général 2 à 3 sous-unités pour les blés durs (*Triticum durum*), contre 4 à 5 pour les blés tendres (*Triticum aestivum*). Chez ces deux espèces, elles représentent respectivement (5 - 10%) de protéines totales. Les SG-HPM sont classées en type x et y selon leur structure primaire et le nombre de résidus cystéines présents dans leurs séquences, en général pair pour le types x et impair pour les types y.

Le poids moléculaire de sous-unités gluténines de haut poids moléculaire est compris entre 67 495 et 88 137 (valeurs calculées à partir de la séquence des gènes correspondants et après élimination du peptide signal) .Ce sont des protéines linéaires qui doivent leurs propriétés à la présence de résidus cystéines en positions C- et N- terminales et à une région centrale dont la structure, répétitive, contribuerait à l'élasticité du gluten (figure 5).

Leur teneur en glyco-colle est particulièrement élevée, cinq fois plus que celle des albumines-globulines, 10 fois plus que celle des gliadine et des SG-FPM; celle en phénylalanine est très faible.

Les domaines N- et C- terminaux ont une structure globulaire en hélices α et entourent un domaine répétitif central, de longueur moyenne estimée à 500 Å, qui possède une conformation en spirale basée sur la présence de coudes β . Pour les neuf sous-unités connues, le nombre d'acides aminés du domaine répétitif est compris entre 481 et 690, dont 1 ou 0 cystéine : la région non répétitive N- terminale contient entre 88 et 104 résidus dont 3 à 5 cystéines et la région C- terminale 42 résidus, dont 1 cystéine.

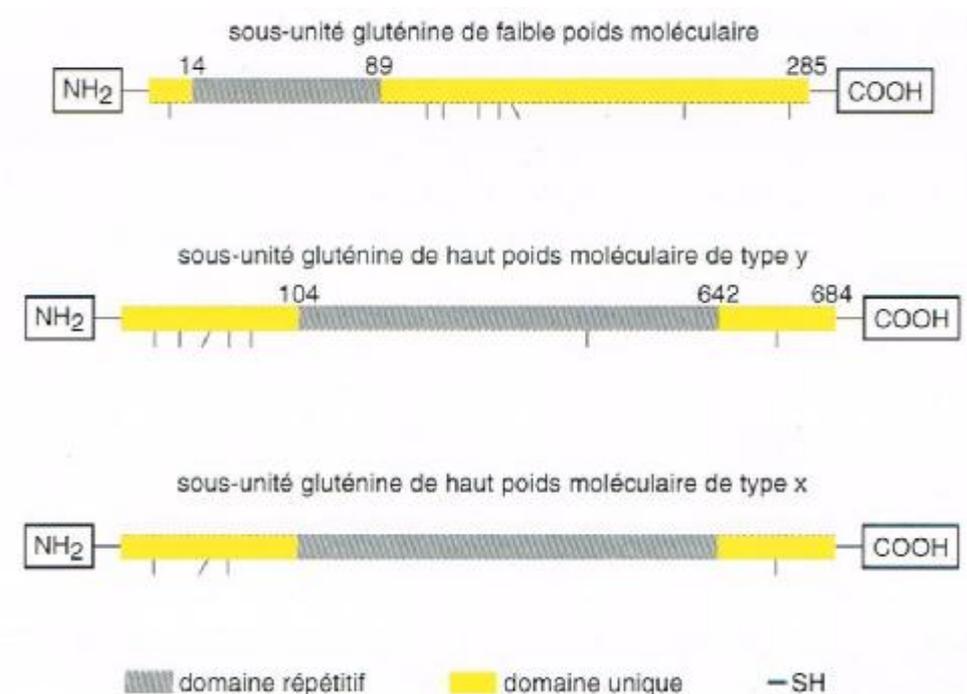


Figure 5: Représentation simplifiée de la structure primaire des sous-unités gluténines de faible et de haut poids moléculaire (Feillet, 2000).

L'analyse de leur structure fait ressortir deux grands domaines: un domaine répétitif situé à l'extrémité N-terminale, riche en proline et en glutamine, dépourvu de cystéine et de composition différente selon les sous-unités ; un domaine variable, pauvre en proline et riche en cystéine et dont la structure a été conservée chez les autres protéines de réserve du blé, ce qui permet de supposer qu'elle est essentielle à l'organisation ou à la fonction de ces protéines. La structure secondaire des SG-FPM compterait 37% d'hélices α , 15% de feuillets β , 28% de coudes β et 20% de structure aléatoire. Le domaine répétitif serait le plus riche en coudes β . (Feillet, 2000).

1.5.4. Structures primaires et secondaires des prolamines

Les prolamines partagent des caractéristiques structurales communes. Leur structure primaire peut être subdivisée en domaines distincts dont certains sont constitués par des séquences de 6 à 8 acides aminés répétés ou alors des séquences enrichies par un acide

aminé spécifique (méthionine) (Shewry & Halford, 2002).

Les séquences primaires de gliadine se composent de deux domaines distincts : un domaine N-terminal composé de séquences répétées et un domaine C-terminal non répétitif. Le domaine répétitif est fait de séquences basées sur des motifs riches en proline (P) et en glutamine (Q); ce domaine représente la quasi totalité de la séquence des protéines pauvres en soufre (Figure 6) (Shewry et *al.*, 1995).

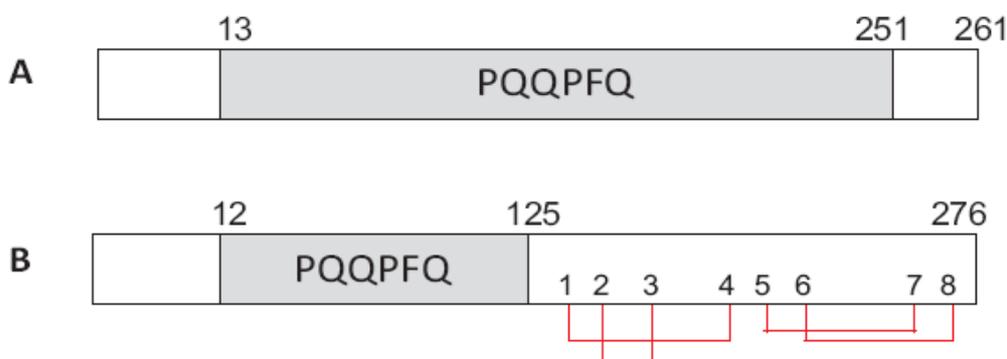


Figure 6 : Représentation schématique des structures primaires des prolamines (Shewry et Halford, 2002). A) Exemple d'une prolamine pauvre en soufre : ω -gliadine. B) Exemple d'une prolamine riche en soufre : γ -gliadine. P : proline ; Q : glutamine ; F : phénylalanine. Les ponts disulfures intramoléculaires sont schématisés en rouge.

Le domaine non répétitif contient la quasi-totalité des résidus cystéine. Huit cystéines sont présentes chez les γ -gliadines contre six chez les α -gliadines (Shewry et Tatham, 1990). Dans tout les cas, ces résidus sont engagés dans des ponts disulfures intramoléculaires. En raison de leur caractère monomérique et de l'absence de groupements sulfhydriles, il a été proposé que les 6 résidus cystéines des α -gliadines étaient engagés dans des ponts disulfures intramoléculaires (Kasarda et *al.*, 1987). Par la suite, les travaux de Müller et Wieser (1995) ont mis en évidence que ces ponts intramoléculaires s'établissent entre les cystéines 1 et 4, les cystéines 5 et 7 et entre les cystéines 6 et 8 (Figure 7).

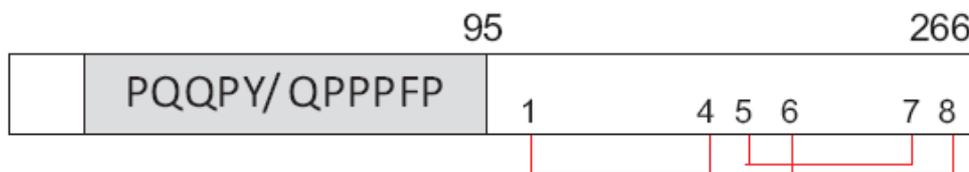


Figure 7: Représentation schématique de la structure primaire des α -gliadines (Shewry et Tatham, 1990). Le domaine répétitif, permettant d'identifier deux motifs conservés, est basé sur les séquences proposées par (Kasarda et *al.*, 1984).

L'analyse de la structure secondaire des gliadines réalisée par dichroïsme circulaire a mis en évidence que les gliadines riches en soufre (α -, β - et γ -gliadines) ont une conformation différente de celle des gliadines pauvres en soufre (ω gliadines). En général, les gliadines ont une structure globulaire plus riche en hélices α qu'en coudes β , sauf les ω -gliadines qui ont une structure secondaire riche en coudes β . Les polypeptides sont structurés par des liaisons hydrogènes, Les liaisons disulfures intramoléculaires assurant le maintien du repliement de la chaîne (Tatham et Shewry, 1985, Shewry et Tatham, 1990), plus spécifiquement, les α - et β - gliadines possèdent un domaine N-terminal qui contient la majorité des coudes β , le domaine C-terminal est constitué d'hélices α et est plus compact.

En ce qui concerne les SG-FPM, la structure générale a été révisée, et un nouveau modèle a été proposé par (D'Ovidio et Masci, 2004). Cette structure présente un peptide signal de 20 acides aminés, une courte région N-terminale (13 aa) qui contient généralement le premier résidu cystéine, un domaine répétitif riche en glutamine et une région C-terminale. Cette dernière région peut être subdivisée en trois : une région riche en cystéine contenant 5 résidus cystéine, une région riche en glutamine contenant 1 résidu cystéine et enfin une région C- terminale conservée contenant la dernière cystéine (Figure8).

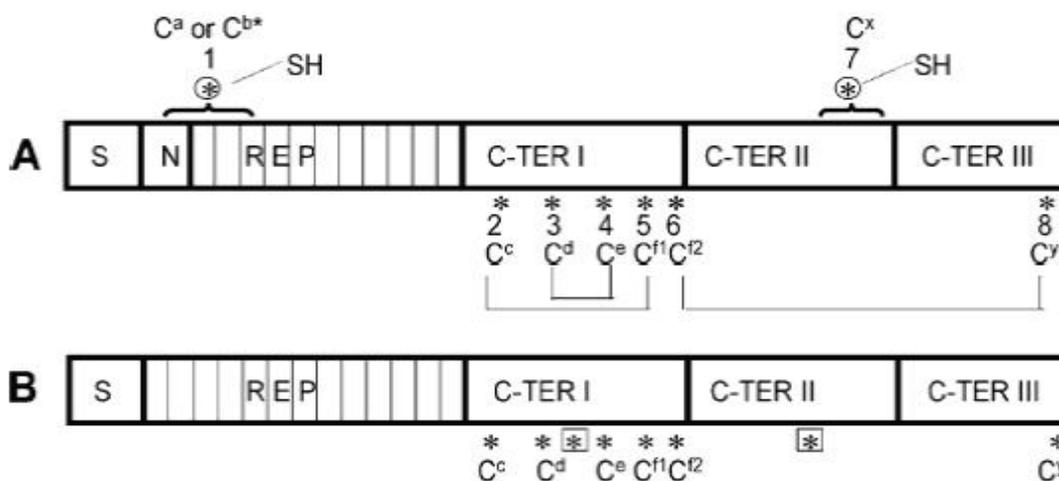


Figure 8 : Schéma proposé pour des structures typiques de SG-FPM de type m et s (A) et type i (B) (d'après D'Ovidio et Masci, 2004).

Les cystéines sont désignées selon le système de lettres proposé par Köhler et *al.*, (1993). Les astérisques entourés (SH) représentent les cystéines tenues pour former des ponts disulfures intermoléculaires et les astérisques encadrés indiquent les cystéines supplémentaires signalées dans les SG-FPM de type-i.

En général, les SG-FPM possèdent 8 résidus cystéines, dont 6 sont engagés dans des ponts disulfures intramoléculaires. Des études portant sur l'analyse des peptides cystines dérivés de fractions de gluténines ont mis en évidence des informations importantes sur la cartographie des ponts disulfures intra et intermoléculaires des SG-FPM (Köhler et *al.*, 1993, Keck et *al.*, 1995, Müller et *al.*, 1998). Il est donc bien établi que ces sous-unités contiennent six résidus cystéines impliqués dans des ponts disulfures intramoléculaires et deux résidus cystéines qui sont susceptibles d'être impliqués dans des ponts disulfures intermoléculaires, à savoir le premier (C^b) et le septième (C^x) (Figure 8). Ces résidus sont entourés par des régions de grande flexibilité, ce qui pourrait favoriser la polymérisation (Masci et *al.*, 1998, D'Ovidio et Masci, 2004).

Toutes les SG-HPM ont une structure similaire, avec des domaines non-répétitifs aux extrémités N-terminales (81 à 104 résidus) et C-terminales (42 résidus) encadrant un long domaine répétitif central (627 à 827 résidus) (Shewry et *al.*, 2002). Les domaines non-répétitifs N- et C-terminaux ont une structure globulaire principalement en hélices α et ils entourent le domaine répétitif central, de longueur moyenne estimée à 500 Å, qui

possède une conformation en spirale basée sur la présence de coudes β (Tatham *et al.*, 1990, Shewry *et al.*, 2002).

Les cystéines sont majoritairement dans le domaine non-répétitif. Les sous-unités de type x possèdent quatre résidus cystéine conservés (3 dans le domaine N-terminal, 1 dans le domaine C-terminal), et les sous-unités de type y contiennent généralement sept résidus cystéine conservés (5 dans le domaine N-terminal, 1 dans le domaine répétitif et 1 dans le domaine C-terminal). Entre les différentes SG-HPM, les domaines C-terminaux ne diffèrent que par des substitutions. C'est par exemple le cas de la sous-unité 1Bx20, largement présente chez le blé dur (Branlard *et al.*, 1989), qui diffère des autres sous-unités de type x. Elle ne contient qu'un seul résidu cystéine dans les 47 premiers acides aminés du côté N terminal, les deux autres étant remplacés par des tyrosines (Y) (Tatham *et al.*, 1991, Shewry *et al.*, 2003) (Figure 9).

Les travaux de Köhler *et al.*, (1993) ont mis en évidence que le premier et le deuxième résidu cystéine de SG-HPM de type x sont impliqués dans un pont disulfure intramoléculaire et n'ont pas d'implication dans la formation de polymères. A l'inverse, le troisième et le quatrième, respectivement présents dans les parties N- et C-terminales, seraient impliqués dans la formation de ponts intermoléculaires. En accord avec ces résultats, les deux résidus de la SG-HPM 1Bx20 seraient donc impliqués dans des ponts disulfures intermoléculaires.

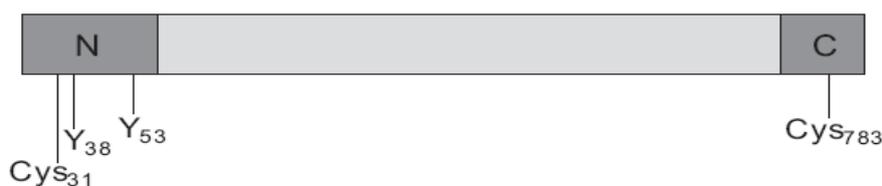


Figure 9 : Représentation schématique des positions des résidus cystéines dans la structure primaire de la SG-HPM 1B x 20 d'après les séquences présentées par Shewry *et al.* (2003).

1. 5.5. Modalités d'appariement des sous-unités gluténines

Une approche utile pour obtenir des informations sur les modalités d'appariement des différentes sous-unités a été l'analyse des produits de la réduction partielle ou progressive des liaisons disulfures stabilisant les polymères. Partant d'un gluten partiellement réduit et

alkylé, des dimères de SG-HPM ont été isolés (Lawrence & Payne, 1983, Werner et *al.*, 1992). Ces dimères se sont révélés majoritairement formés d'une SG-HPM de type x et d'une autre de type y, plutôt que par deux SG-HPM de type x tandis que des dimères y-y n'ont jamais été identifiés. Les travaux de Tao et *al.*, (1992) ont par ailleurs mis en évidence la formation de liaisons intermoléculaires spécifiques entre l'extrémité C-terminale des SG-HPM de type x et l'extrémité N-terminale des SG-HPM de type y. De ces études découle l'hypothèse que les dimères x-y des SG-HPM pourraient fonctionner comme des «briques élémentaires» dans les polymères de gluténines (Figure 10) (Shewry et *al.*, 2003).

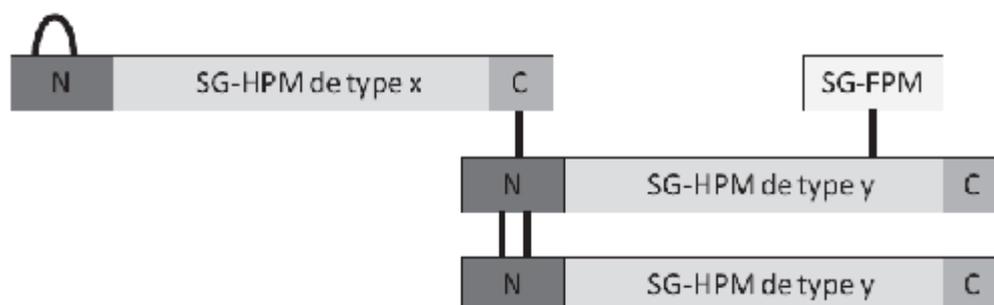


Figure 10 : Schéma d'association des SG-HPM et des SG-FPM et localisation des ponts disulfures identifiés d'après Shewry et al. (2003).

1.5. 6. Modèle structural global des polymères de gluténines

De nombreux modèles ont été proposés pour rendre compte de la structure polymérique de la gluténine. Néanmoins, aucun des modèles proposés ne fait actuellement l'unanimité et l'organisation moléculaire des polymères de gluténines n'est toujours pas connue du fait, principalement, de leur solubilisation difficile et de la grande diversité des sous-unités de gluténines entrant dans leur composition (Kasarda et *al.*, 1976). Les polymères de gluténines seraient stabilisés par des liaisons de faible énergie (liaisons hydrogènes non-covalentes et hydrophobes) et par des liaisons covalentes, notamment les ponts disulfures intermoléculaires. Le nombre de résidus cystéine et leur position dans la structure primaire des différentes sous-unités gluténine joueraient un rôle déterminant sur la taille et la structure finale des polymères de gluténine (Morel et Bonicel, 1996 ; Lafiandra et *al.*, 1999).

Ewart, (1968) fut l'un des premiers à fournir des preuves de la présence d'un arrangement largement linéaire de plusieurs sous-unités de gluténine au sein d'un polymère de gluténine sans toutefois exclure la possible existence de ramifications.

Khan et Bushuk, (1979) en se basant sur l'encombrement en taille et la composition en sous-unités de polymères de gluténine extraits par des solvants plus ou moins dénaturants ont proposé un modèle reposant sur l'existence de deux types de complexes de type I et II. Dans ce modèle, le complexe de type I comprend uniquement des sous-unités de poids moléculaire inférieur à 68 kDa, maintenues agrégées par des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes. Le complexe de type II inclus des SG-FPM et des SG-HPM liées par des liaisons disulfures intermoléculaires et stabilisées par des liaisons non-covalentes extrêmement fortes. Les complexes de type I interagiraient avec les types II par l'intermédiaire de liaisons hydrophobes. Graveland et *al.*, (1985) ont formulé l'hypothèse que les polymères de gluténine sont construits autour d'un squelette linéaire de SG-HPM liées par leurs extrémités terminales avec une alternance de SG-HPM de type x et y. Sur cet enchaînement linéaire, les SG-FPM viendraient se brancher en se connectant avec les SG-HPM de type y, qui possèdent un nombre impair de cystéines.

Kasarda (1989) a proposé un autre modèle basé sur les connaissances disponibles sur les structures et la composition des sous-unités de gluténine. Ce modèle propose que les cystéines des extrémités des SG-HPM de type-x et de type-y forment des ponts intermoléculaires par l'intermédiaire d'une ou plusieurs SG-FPM. Il a également suggéré que ce mode de polymérisation aléatoire ne serait pas favorable à la formation de longues chaînes de SG-HPM dans la mesure où le nombre de SG-FPM est six fois supérieur au nombre de SG-HPM.

1.5.7. Déterminisme génétique et localisation chromosomique des protéines de réserve

Le génome du blé dur contient 16 milliards de bases. Un gène peut exister sous différentes formes et coder des protéines différentes : on parle d'allèles. L'emplacement d'un gène sur un chromosome est un *locus*. Il arrive que plusieurs gènes sont très proches les uns des autres et sont, de ce fait, transmis ensemble de génération en génération : ils forment un bloc de gènes au sein desquels des recombinaisons de gènes sont très rares ; on parle de blocs, ou de groupes, alléliques. Les *loci* des gènes codant pour les gliadines et les

gluténines sont indiqués dans le tableau (1) et localisé sur la (Figure 11).

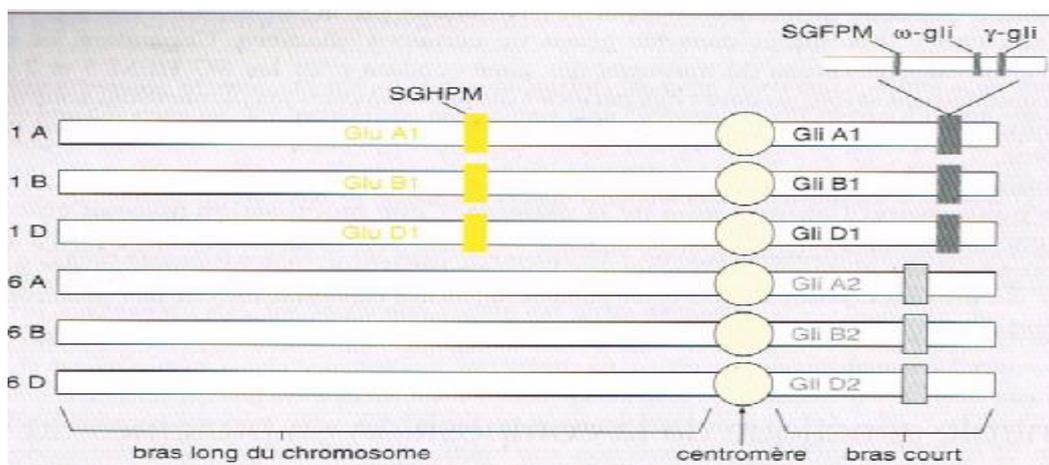


Figure 11 : Localisation des gènes codant pour les gliadines et les gluténines (Feillet, 2000).

Le nombre de blocs alléliques connus est voisin de 120 pour les six *loci* gliadine, de 40 pour les *loci* SG-FPM et d'une quinzaine pour les *loci* SG-HPM. Au sein d'une même variété de blé, on dénombre entre 15 et 20 gliadines, sept à 16 sous-unités gluténines de faible poids moléculaire (SG-FPM) et trois à cinq sous-unités gluténines de haut poids moléculaires (SG-HPM). Chaque *locus* Glu -A1, Glu-B1 et Glu-D1, codant pour les SG-HPM, comprend deux gènes x et y ; le poids moléculaire des sous-unités codées par les premiers est supérieur à celui des sous-unités codées par les seconds. Les variétés de blé tendre possèdent les six gènes codant pour des SG-HPM, mais trois, quatre ou cinq sous-unités gluténines seulement. Les différences observées entre le nombre de gènes et le nombre de sous-unités s'expliquent par la présence de gènes silencieux : le gène A1-y chez tous les blés, les gènes B1-y et/ou A1-x chez certains (Feillet, 2000).

Le polymorphisme de ces derniers a été particulièrement étudié, en raison des relations mises en évidence entre la présence de certaines sous-unités de haut poids moléculaire et la qualité d'utilisation des blés.

Tableau 1 : Loci des gènes codant pour les gliadines et les gluténines (Feuillet, 2000)

Chromosomes (A, B et D)	Loci	Protéines
Bras court des chromosomes 6	Gli -A2, Gli-B2, Gli-D2	α -, β -, ω - gliadines
Bras court des chromosomes 1	Gli-A1, Gli-B1, Gli-D1	ω -, γ -, β - gliadines
	Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3	SG-FPM
Bras court des chromosomes 1	Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1	SG-HPM

1.6. Amélioration génétique du blé

L'amélioration des plantes est définie comme étant l'art et la science de la création de variétés. Du point de vue génétique, elle peut être considérée comme l'ensemble des processus qui, à partir d'un groupe d'individus (population, écotype) n'ayant pas certains caractères au niveau recherché, permet d'obtenir un autre groupe d'individu -variété- apportant un progrès (Gallais, 1990). Avec les avancées de la génétique et les découvertes en physiologie végétale durant la deuxième moitié du XX^{ème} siècle, les sélectionneurs ont aujourd'hui accès à des outils et des méthodes plus performantes qui ont permis de réaliser de véritables bonds en termes progrès génétiques.

La compréhension des mécanismes de transmission des gènes contrôlant les caractères d'intérêt a permis à l'homme de cumuler d'une façon beaucoup plus efficace les caractères agronomiques les plus intéressants dans les variétés qu'il cultivait (Bouazza, 2003).

Une richesse de données sur la structure génomique des blés cultivés s'est accumulée après presque un siècle de recherche. Commençons par les expériences génétiques pilotes menées par Nilsson-Ehle, (1909) et les études cytologiques de Sakamura, (1918) et de Sax, (1918), les outils pour étudier la génétique ont beaucoup évolué au cours des années.

Dans les années 20, la méthode d'analyse nucléaire de génome, basée sur l'observation, sur des plaques en verre, des appariements des chromosomes dans les hybrides interspécifiques (Kihara, 1919; Sax 1922) a donné des informations sur la constitution de génome, la phylogénie et l'évolution des espèces des genres *Triticum* et *Aegilops* (récapitulés par Lilienfield, 1951).

Dans les années 30, le commencement de l'étude des aneuploïdes de blé a déclenché l'ère de traçage cytogénétique et d'analyse des gènes des différents chromosomes et bras de blé (Sears et Sears, 1978).

Dans les années 70, des techniques de coloration modernes ont été employées pour analyser les structures chromosomiques des céréales, et un caryotype cytogénétique de blé a été développé (Cox, et *al.*, 1991).

Dans les débuts des années 80, des méthodes Non-isotopiques *in situ*, sur des plaques en verre sont utilisées pour tracer des ordres d'ADN des chromosomes (hybridation *in situ*), ce qui a permis de construire un caryotype du blé (Rayburn et Gill, 1985).

Ces méthodes cytogénétiques et moléculaires ont considérablement facilité l'analyse cytogénétique du génome de blé et des espèces qui leur sont apparentés. Dans les années 80, les techniques d'analyse moléculaire font leur apparition et des cartes génétiques de blé tendre, blé dur et deux espèces ancêtres ont été développées (Dubcovsky et *al.*, 1996 ; Van Deynze et *al.*, 1995 ; Marino et *al.*, 1996) .

Le siècle a fini par le développement des cartes physiques des 21 chromosomes du blé, en se basant sur des marqueurs moléculaires (Gill et *al.*, 1993 ; Delaney et *al.*, 1995) . Ces cartes physiques préparent le terrain pour tracer et cloner certains gènes agronomiques significatifs dans les blés polyploïdes.

Toutes les nouvelles variétés de blé doivent égaler ou dépasser les normes de qualité, de comportement agronomique et de résistance aux maladies avant d'être considérées pour l'enregistrement (CRC, 2002).

La faiblesse des rendements réalisés en blé dur est à attribuer en partie au matériel génétique utilisé, constitué essentiellement de variétés anciennes (Hachemi, 1979).

Le matériel d'introduction, au haut potentiel génétique, très exigeant, éprouve des difficultés d'adaptation aux conditions très variables du milieu de culture (Bouzerzour et Djekoun, 1996). Il ne présente pas toujours les caractéristiques recherchées par les agriculteurs, dont le système de production dominant est l'association céréaliculture-élevage. Ces caractéristiques sont une production de paille et de grain acceptable, même en années difficiles (Ceccarelli et *al.*, 1992).

En effet, les variétés nouvelles se caractérisent par une réduction de la hauteur, suite à l'introduction des gènes de nanisme, qui semble s'accompagner aussi d'une réduction du système racinaire (Hurd, 1974 ; Berger et Planchon, 1990). La masse et le volume racinaire plus réduit de ce matériel, semblent expliquer en partie ce comportement (Benlaribi et *al.*, 1990).

1.6. 1. Différents types des marqueurs utilisés dans l'identification du blé

1.6. 1.1. Marqueurs morphologiques

Ils sont représentés par les caractères morphologiques habituellement utilisés par la sélection classique, comme la hauteur, la précocité, les composantes et le rendement entre autres. Ces marqueurs se caractérisent cependant par certains inconvénients dont leur sensibilité à l'effet du milieu, ce qui les rend peu efficient en sélection. En plus ils sont coûteux dans leur mise en œuvre et ils nécessitant des populations très larges, à conduire sur plusieurs années dans plusieurs environnements (Prioul *et al.*, 1997).

Les marqueurs morphologique sont déjà connus comme des outils efficace pour l'estimation de la diversité génétique du blé (Al Khanjari *et al.*, 2008). ainsi que la caractérisation des ressources génétiques est une étape clé pour la sélection (Amallah *et al.*, 2016).

1.6. 1. 2. Marqueurs biochimiques

Les isozymes sont utilisés comme des marqueurs biochimiques en amélioration des plantes. Ce sont des enzymes généralement exprimés dans les cellules végétales, ils sont extraits et visualisés sur gel électrophorétique pour déterminer le polymorphisme enzymatique. Ces marqueurs sont plus efficients que les marqueurs morphologiques, cependant ils ne présentent pas un polymorphisme élevé, surtout chez les génotypes homozygotes (Zhu *et al.*, 1999).

I. 6. 1. 3. Marqueurs moléculaires

L'essor des techniques de marquage moléculaire au cours des dernières années a conduit à des changements considérables dans plusieurs branches de la biologie, notamment la biologie moléculaire, la génétique évolutive (cartographie comparative), la génétique quantitative (détection et identification des locus contrôlant les caractères quantitatifs et l'amélioration des espèces). Les marqueurs moléculaires sont basés sur le polymorphisme naturel qui a pour origine l'ADN, lui-même et les mécanismes qui lui sont associés dont les phénomènes de délétion, substitution, addition et patterns (Steele *et al.*, 2006). Ils existent plusieurs méthodes pour identifier et amplifier ce polymorphisme moléculaire de sorte qu'il puisse être utilisé en sélection. Leur avantage tient au fait qu'ils sont facilement identifiables, présentant un polymorphisme élevé et sont répartis à travers tout le génome. Ces marqueurs sont peu sensibles aux effets de l'environnement, et sont donc aisément

reproductibles. Ils sont détectables sur tout organe de l'individu étudié (feuilles, racines, tiges, grains) et à tous les stades végétatifs ce qui permet d'anticiper précocement les meilleures combinaisons géniques. Ils sont utiles pour la caractérisation du germoplasme, la sélection assistée par des marqueurs et pour les analyses génomiques et phylogénétiques (Steele *et al.*, 2006).

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Un bon marqueur doit être à hérédité simple, multiallélique et co-dominant. Les marqueurs moléculaires correspondent donc au polymorphisme révélé au niveau de l'ADN. L'analyse de ce polymorphisme par les techniques de biologie moléculaire s'adresse à l'ensemble du génome, qu'il soit ou non traduit en protéines, et est indépendante des conditions de l'environnement. En outre, le nombre de marqueurs observables est théoriquement illimité et le génotype d'une plante peut-être déterminé à un stade très précoce, aussitôt que le matériel est disponible pour l'extraction d'ADN. Ces marqueurs seront d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée par marqueurs chez les céréales (Eagles *et al.* 2001 ; Langridge *et al.*, 2001 ; Dekkers , Hospital , 2002).

De nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles, et de nouvelles sont régulièrement publiées (Gupta *et al.* , 2001 ; Langridge *et al.*, 2001 ; Rafalski, 2002). Les caractéristiques de chacune de ces techniques, ses domaines d'applications , son principe et son coût sont largement détaillés dans plusieurs articles de synthèse (Gupta *et al.*, 1999 ; Santoni *et al.* , 2000 ; Langridge *et al.* , 2001). Ces méthodes peuvent être regroupées en deux grandes catégories : Les marqueurs de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et les marqueurs basés sur la méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction). Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire. Nous décrirons brièvement les principaux systèmes de marquage moléculaire appliqués chez le blé.

- Les marqueurs RFLP

La technique RFLP développée par Botstein *et al.*, (1980) repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction . Une multitude de fragments d'ADN de tailles variables est générée par digestion enzymatique, puis séparée sur gel d'agarose et transférée par

capillarité sous forme dénaturée sur une membrane de nylon. Cette membrane est mise en contact avec une solution contenant un fragment d'ADN ou sonde qui permet de repérer, par hybridation moléculaire, des fragments d'ADN génomique qui lui sont homologues.

La différence entre deux génotypes est révélée par autoradiographie si la sonde est marquée par le phosphore radioactif, ou par réaction colorée si elle est associée à un conjugué enzymatique. Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou à des délétions/insertions d'un fragment d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde. C'est le couple enzyme/sonde qui constitue le marqueur. Bien que cette technique soit co-dominante et permette une analyse génétique complète, elle est lente et laborieuse. Les étapes de transfert et d'hybridation empêchent une automatisation du travail.

Chez les graminées, par exemple, cette technique a été utilisée pour convertir certaines sondes RFLP en marqueurs STS (Williams et *al.*, 1990). Cependant la technique de PCR/RFLP est surtout utile lorsque peu de marqueurs doivent être manipulés sur un grand nombre de plantes, comme dans le cas de marqueurs liés à des gènes de résistance aux parasites. Elle autorise un crible rapide sur des populations importantes.

- Les marqueurs de type PCR

Le développement de la technique PCR offre l'avantage d'analyser les marqueurs moléculaires en un temps court tout en utilisant des concentrations faibles d'ADN. Les marqueurs basés sur la technique PCR tendent à remplacer les systèmes classiques (les marqueurs morphologiques, iso-enzymatiques et RFLP) et deviennent très nombreux. Les marqueurs les plus largement utilisés chez le blé sont les microsatellites ou SSR (Simple Séquence Repeat), l'AFLP, (Amplified Fragment Length Polymorphism) et la RADP (Randomly Amplified Polymorphic DNA).

- Les microsatellites ou SSR

Selon Morgante et Olivieri, (1993) ces marqueurs sont constitués de séquence de di-, tri- ou tétra-nucléotides répétés en tandem. Ces éléments sont uniformément répartis en plusieurs exemplaires sur l'ensemble du génome d'une espèce et présentent un taux de

polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétitions constituant le microsatellite. Les séquences flanquant ces éléments répétés permettent de définir les amorces qui seront utilisés pour l'amplification PCR. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur un gel d'acrylamide. C'est la paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur. Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, co-dominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet, leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés.

La technique ISSR a été largement et diversement appliquée dans l'étude de la variabilité génétique des plantes (Godwin et al., 1997) et la caractérisation de certains organismes fongiques (Grunig et al., 2001). Ainsi, elle a été utilisée pour déterminer le polymorphisme génétique des espèces de *Sorghom*, *Ipomoea*, *Eucalyptus*, *Oryza*, *Lupinu*, *Asparagus*, etc (Yang et al., 1996; Prevost et Wilkenson, 1999; Qian et al., 2001).

- Technique AFLP

Elle est fondée d'après Vos et al., (1995) sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Cette technique utilise à la fois les enzymes de restriction et l'amplification PCR. L'ADN génomique est clivé par deux enzymes de restriction. Des adaptateurs de séquences connues et spécifiques des enzymes de restriction utilisées sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction générant ainsi une matrice pour l'amplification. Une première amplification, dite pré-amplification, est réalisée à l'aide d'amorces de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction.

La deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (de 1 à 3 nucléotides). Ainsi, seuls sont amplifiés les fragments possédant les bases complémentaires de ces bases arbitraires. Ces amorces sélectives permettent de réduire le nombre de fragments amplifiés à une centaine. Ces fragments sont séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide dénaturant puis visualisés par coloration au nitrate d'argent ou révélés grâce à un marquage radioactif ou fluorescent réalisé lors de l'amplification sélective. C'est la combinaison enzyme de restriction /amorce qui permet de révéler le polymorphisme entre les individus et constitue donc le marqueur AFLP.

La technique AFLP est puissante, stable et rapide .En outre, elle ne nécessite aucune connaissance préalable de séquences du génome de la plante étudiée ni la construction des banques génomiques ou ADN_c , à l'encontre des SSR ou des RFLP. Elle connaît une large application dans le fingerprinting, l'identification des cultivars et la détermination de leur relation phylogénétique, la cartographie des génomes et le clonage. Toutefois, la dominance, le coût élevé (elle est couverte par un brevet de la société néerlandaise Keygene qui a mis au point cette technique) et les difficultés techniques liées au marquage par AFLP limitent son utilisation à grande échelle pour des applications comme la sélection assistée par marqueurs.

-Technique RADP

D'après Williams et *al.*,1990 cette technique consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de taille courte (10pb). Une amorce RADP permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'aragose. Le polymorphisme décelé est dû à des mutations soit dans les régions amplifiées soit au niveau des sites de fixation des amorces. Le polymorphisme révélé est un polymorphisme de sites d'hybridation d'amorce. Les amorces constituent donc les marqueurs.

Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotédique. Néanmoins, la RADP manque de reproductibilité puisqu'elle est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification.

Mandoulakani et *al.*, (2006), ont utilisé les marqueurs RAPD et les protéines de réserve des semences pour l'identification des meilleures combinaisons parentales de 28 cultivars de blé iranien dans l'amélioration de la qualité boulangère du blé.

Dans notre étude on a utilisé les mearqueurs RFLP

Chapitre II
Matériel et Méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

L'estimation de la variabilité morphologique, agronomique et génétique a porté sur une collection comportant quatre variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.), à savoir, *alexandrinum*, *italicum*, *valenciae*, *murciense*, comprenant une population de 100 génotypes (annexe1) ,dont les principales caractéristiques botaniques sont décrites ci-dessous (Tableau 2).

Tableau 2 : Caractéristiques botaniques des variétés étudiées et nombre des génotypes par variété (Boudour, 2004-2006)

Variétés	Nombre De génotypes	Couleur de l'épi	Couleur de la barbe	Couleur et forme du grain	Forme de l'épi	Précocité	Compacité	Paille
<i>alexandrinum</i>	08	Glabre rouge	Noire	Blanc allongé bossu	Fusifforme à pyramidal	Tardive	compacte	creuse
<i>murciense</i>	40	Glabre rouge	Rouge	Rouge gros bossu	fusiforme	Précoce	Demi compacte	Creuse A demi creuse
<i>valenciae</i>	37	Pubsent rouge	Blanche	Blanc allongé bossu	Pyramidal Parfois à Bord Parallèles	Précoce	Lâche A compacte	creuse
<i>italicum</i>	15	Pubsent rouge	Rouge	Allongé Bossu blanc	Pyramidal Parfois à Bord Parallèles	Demi Précoce	Compacte	Demi creuse

Cette accession provient d'une collection importante de 1019 génotypes étudiés par Boudour, (2006). Elles sont originaires de différentes régions d'Algérie.

2.2. Site d'expérimentation et conduite de l'essai

Le semis a été réalisé au niveau de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) d'El-khroub, situé à 14 km au Sud-Est de Constantine, à une altitude de 640 m , et à climat semi-aride. L'essai est conduit sur une parcelle relativement homogène, caractérisée par un sol profond et caillouteux de texture argilo-limoneuse. Le semis a été effectué manuellement le 28/12/2008 à une profondeur de 3 à 5cm. Chaque variété est séparée de l'autre par deux lignes de seigle et chaque génotype est réparti en trois lignes (figure 12).

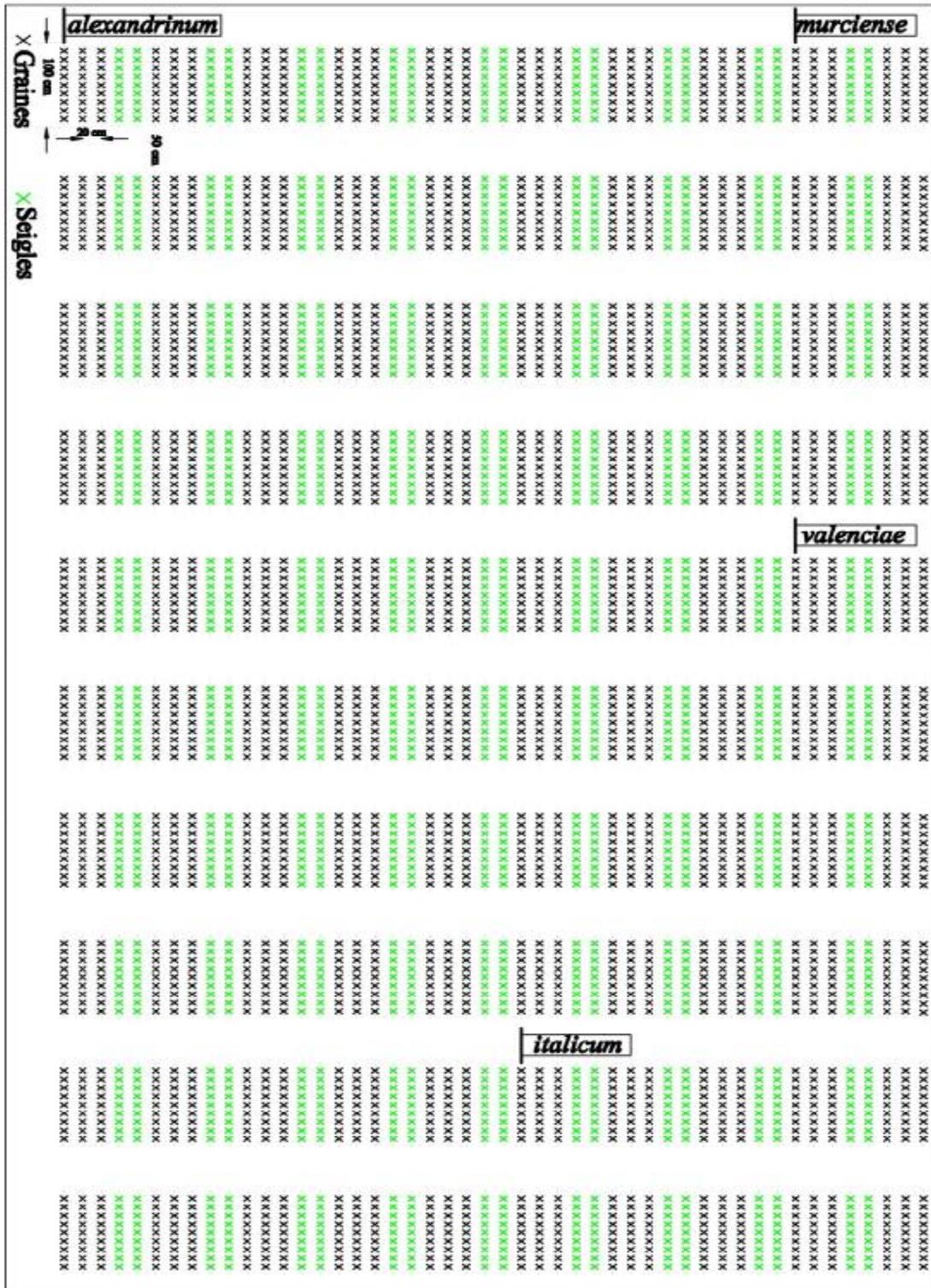


Figure 12 : Dispositif de l'expérimentation

La campagne effectuée en 2008/2009 était favorable pour le développement et la croissance des plantes avec un cumul de 519.5mm de pluviométrie enregistré entre Septembre et Mai. Cette quantité est supérieure à celle enregistrée durant la période 2007/2008 avec un cumul de 394.5mm (ITGC ,2009) (Station météorologique de Ain El-Bey –Constantine).

Les températures moyennes mensuelles variaient entre 6.77 et 10.03°C. Le tableau 3 représente la variabilité mensuelle de la pluviométrie et des températures durant cette campagne.

Tableau 3 : Pluviométrie et température mesurées à EL KHROUB en 2008/2009 (ITGC).

Mois	Pluviométrie 2008/2009(mm)	Températures Moyennes (°C)
Septembre	38.3	22.53
Octobre	16.60	17.54
Novembre	37.6	10.03
Décembre	27	6.77
Janvier	76.24	7.29
Février	47.6	6.44
Mars	81.1	9.4
Avril	13.3	
Mai	62	

2.3. Mesure des paramètres

Des caractères morphologiques et agronomiques sont mesurés durant les phases de développement de la plante, puis une étude biochimique liée aux protéines de réserve est effectuée, et pour une meilleure distinction entre les génotypes une analyse moléculaire a été réalisée en utilisant le marqueur PCR/RFLP et le séquençage des gènes codant des protéines de réserve.

2.3.1. Paramètres morphologiques

Les différents paramètres morphologiques sont suivis et mesurés tout au long du cycle de développement de la plante jusqu'à la récolte. Ces caractères se rapportent à l'appareil végétatif, l'appareil reproducteur et au grain. Ces paramètres mesurés sont:

-La hauteur de la plante (HP) :

Elle est mesurée à maturité, du ras du sol jusqu'au sommet de la plante. On mesure un échantillon de 5 plantes/génotype. Elle est exprimée en cm.

-La longueur de l'épi (LE) :

On mesure un échantillon de 5 épis sans barbe/génotype, au stade maturité à partir de la base de l'épi jusqu'au sommet de l'épillet terminal, également exprimée en cm.

-La longueur des barbes (LB) :

Elle est mesurée à maturité, avec réalisation de 5 répétitions par plante/génotype, à partir du 1/3 de l'épi en cm.

-Le nombre des talles herbacées (TH) :

Il est déterminé par comptage direct du nombre de talles herbacées à l'exception du maître brin de toutes les plantes/génotype, à partir du stade de la quatrième feuille jusqu'à la fin du tallage puis on déduit la moyenne des talles herbacées/plante.

-Le nombre de talles épis (TE) :

Ce paramètre est déterminé par le comptage direct du nombre d'épis formés à l'exception du maître brin de toutes les plantes/génotype, au stade maturité, puis on déduit la moyenne des talles épis/plante.

-La surface foliaire (SF) :

La surface foliaire exprimée en cm^2 , est définie comme étant le produit de la longueur totale (L, cm) par la largeur moyenne (I, cm) des feuilles par 0.7149, d'après Spagnoletti-Zeuli et Qualset, (1990) :

$$\text{SF (cm}^2\text{)} = \text{L} \times \text{I} \times 0.7149$$

-Le taux de fertilité (TF%)

Ce paramètre est déterminé selon Gallais et Bannerot, (1992) par la formule suivante :

$$\text{Taux de fertilité} = [\text{Nombre de grains par épi} / \text{Nombre de fleurs}] \times 100$$

2.3. 2. Composantes du rendement

Les mesures ont porté sur les caractères suivants :

-Le nombre d'épillet par épi (NE/E) :

Il est déterminé à maturité par le comptage direct du nombre d'épillets par épi. Cette opération est répétée 5 fois par plante/génotype.

-Le nombre de grains par épi (NG/E) :

On compte le nombre de grains par épi de 5 plantes /génotype.

-Le poids de 1000 grains (PMG) :

Il est obtenu par la pesée directe du poids d'un grain par plante de chaque génotype à l'aide d'une balance de précision, puis multiplié par mille pour trouver le poids de mille grains.

-Le rendement en grains (RDT):

Il est déterminé par la formule suivante de Vilain,(1987)

$$\text{Rendement qtx/ha} = \frac{\text{Nombre d'épis/m}^2 \times \text{Nombre des grains /épi} \times \text{PMG}}{1000}$$

2.3. 3. Etude biochimique

L'évaluation du polymorphisme des protéines de réserve : gluténines et gliadines a été réalisé par la technique d'électrophorèse monodimensionnelle (SDS-PAGE).

2.3.3.1. Technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE

Toutes les techniques d'électrophorèse sont basées sur le principe de la mobilité séquentielle des molécules protéiques dans un support soumis à un courant électrique.

Cette mobilité est en fonction de :

- 1- la charge électrostatique fournie par les acides aminés acides ou basiques.
- 2- la dimension et la forme des protéines
- 3- l'intensité du champ électrique (tension aux électrodes et conductibilité de support).
- 4- la taille des mailles du support.
- 5- la température de l'électrolyte.

La technique d'électrophorèse utilisée est celle proposée par Laemli, (1970) modifiée par Payne *et al.*, (1979) et Singh *et al.*, (1991). La séparation se fait sur gel vertical en système discontinu, en présence d'un détergent ionisant, le Sodium Dodecyl Sulfate (SDS). Le DDT

dénature les protéines en rompant les ponts disulfures, et le SDS détruisant les liaisons faibles. Ceci aboutit à la formation d'un complexe SDS-protéines dénaturé avec une charge négative qui masque la charge nette intrinsèque des protéines et annule ainsi la différence de migration due à la charge électrique. Il permet donc une séparation selon la taille, la conformation et la masse moléculaire. La vitesse de migration des protéines dépend surtout de la taille des mailles du gel et de la température de l'électrolyte.

2.3. 3.1.1. Méthode d'extraction des protéines de réserve

Les protéines de réserve sont extraites à partir de la farine d'un grain entier, selon la méthode de *Singh et al.*, (1991), adaptée de la méthode de *Marchyllo et al.*, (1989). Cette méthode se base sur l'extraction séquentielle et nécessite l'utilisation de trois solutions de base (annexe5): Solution (A) 50% v/v propan-1-ol ; solution (B) 50% v/v propanol-1-ol. 0.08M Tris Hcl pH8.8 et solution (C) la solution tampon 2% p/v SDS, 40% p/v 2 glycérol, 0.02 % p/v bleu de bromophénol 0.08 de Tris Hcl pH =8.

Les gliadines sont extraites en premier dans 1 ml de la solution A, pendant 30 minutes à 60°C, avec deux agitations intermédiaires toutes les dix minutes, suivi d'une centrifugation pendant 1 minute. Le surnageant est ensuite récupéré dans un autre eppendorf et mis à l'évaporation toute une nuit à 65°C, on obtient ainsi la fraction gliadine. D'un autre côté le résidu est lavé dans 0.5 ml de la solution A, à 65°C pendant 30 minutes, cette fois sans vortex intermédiaire, puis centrifugé à 10000 tr/min pendant 1 minute, le surnageant est éliminé par aspiration. Et pour s'assurer de l'élimination complète des gliadines, et afin d'éviter toute contamination des préparations ultérieures des gluténines, on réintroduit au résidu, pour la troisième fois 0.5 ml de la solution A, on vortex, on centrifuge à 10000 tr/min pendant 5 minutes, et le surnageant contenant le reste des gliadines est éliminé par aspiration. Le résidu forme le matériel de départ de la procédure d'extraction des gluténines.

Les gluténines sont extraites, en rajoutant au résidu 0.1 ml de la solution B et d'un agent réducteur, le dithiothreil (DTT) à 1%. Après incubation et centrifugation, on rajoute encore de la solution A et un agent alkylant, le 4-vinylpyridine. Le mélange est incubé puis centrifugé. Un aliquote (0.1ml) de surnageant est transféré dans un autre Eppendorf contenant de la solution C, le mélange est bien agité et ensuite incubé pour une compilation du SDS avec le polypeptide des gluténines réduites et alkylées, et après une centrifugation les échantillons sont prêts pour la révélation.

Les étapes de l'électrophorèse se font comme suites :

-Préparation des gels

Le support de l'électrophorèse est formé d'un gel de séparation (separating gel) , et d'un gel de concentration (stacking gel) .Ces deux gels sont préparés à base d'acrylamide à 35% (p/v) , de N,N'-méthylène bis-acrylamide à 2% (p/v), du SDS à 10 % (p/v) et de tris-HCL 1M , tamponné à pH 8.8 pour le gel de séparation,et à pH6.8 pour le gel de concentration .Ces deux gels sont polymérisés en présence du Temed et de l'APS .Le gel de séparation est préparé le premier , bien mélangé puis collé entre deux plaques en verre , en laissant un vide de 4 cm pour le stacking gel .une fine couche du butanol est ajouté pour niveler le gel et pour le protéger de l'air .La polymérisation s'effectue à une température ambiante pendant environ 45 minutes .Ensuite , le gel de concentration est préparé , bien mélangé puis coulé , et des peignes à 15 puits sont rapidement insérés après la polymérisation du stacking gel qui s'effectue dans plus de 60 minutes , les peignes sont enlevés en obtenant ainsi des puits servant pour le dépôt des extraits à raison de 15µl chacun.

-Condition de migration

La cuve d'électrophorèse est remplie à raison avec un volume suffisant de tampon de migration, et maintenue à une température constante à 10°C grâce à un système de refroidissement. Le gel qui est d'une dimension de 180 x 105 x 1.5mm est soumis à une intensité constante de 80 mA, et une tension maximale de 1200v .Les protéines chargées négativement migrent vers l'anode et sont séparées selon leur encombrement moléculaire, la migration est arrêtée généralement une demi heure après la sortie du front coloré.

- Coloration et décoloration.

Les gels des protéines sont fixées dans une solution de TCA à 60% , au bleu de coomassie R250 à 1% (p/v) , pendant 24heures sous agitation .Les gels sont ensuite décolorés en les plaçant dans l'eau du robinet pendant toute la nuit .Une fois les gels sont décolorés , ils sont placés dans une solution du glycérol à 10% pendant 1heure d'agitation au minimum pour être séchés et conservés entre deux feuilles de papier polyéthylène.

2.3. 4. Etude moléculaire

Elle consiste en l'étude de la diversité génétique des gènes codants des protéines de réserve ; des gluténines HPM , FPM et des gliadines des 100 génotypes des quatre variétés utilisées dans cette recherche par l'utilisation des marqueurs moléculaire PCR-RFLP et le séquençage des gènes codants des protéines de réserve (gliadines et gluténines).

Cette partie a été réalisée en Egypte dans un laboratoire de biotechnologie (Alex biotechnology).

2.3.4.1.Méthode PCR /Bulk

Pour tester la présence ou l'absence des gènes codant des gliadines et des gluténines chez les 100 génotypes des quatre variétés (*alexandrinum* , *murciense* , *valenciae* et *italicum*) on a utilisé la technique PCR/Bulk qui a permis de regrouper les 100 génotypes des quatre variétés étudiées d'une façon aléatoire en 20 lots contenant chacun cinq génotypes (Tableau 4).

Tableau 4: Répartition des génotypes étudiés dans des lots.

Lot	Génotypes	Lot	Génotypes
1	alex1, alex2, alex3, alex4, alex5	11	vale51, vale5, vale6, vale7, vale8
2	alex6, alex8, alex9, mur1, mur2	12	vale4, vale10, vale11, vale12, vale13
3	mur34, mur35, mur36, mur37, mur38	13	vale14, vale15, vale16, vale17, vale18
4	mur 9, mur10, mur12, mur27, mur20	14	vale19, vale20, vale21, vale22, vale23
5	mur13, mur14, mur15, mur16, mur18	15	vale25, vale26, vale27, vale28, vale29
6	mur19, mur17 , mur21, mur22, mur23	16	vale32, vale34, vale35, vale36, vale37
7	mur24, mur25, mur26, mur11 , mur28	17	vale38, vale39, vale40, vale43, vale44
8	mur 29, mur30, mur31, mur32, mur33	18	ita 21, ita22, ita23, ita24, ita25
9	mur4, mur5, mur6, mur7, mur8	19	ita26, ita28, ita29, ita30, ita31
10	mur39, mur40, mur41, vale 2, vale3	20	ita27, ita32, ita38, ita39, ita40

- Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN génomique est faite à partir des feuilles de plantes cultivées dans des pots, de chaque génotype des quatre variétés, en utilisant seulement les dernières paires de feuilles qui ont été prélevées puis déshydratées par Silica gel sans cobalt pendant une semaine. Cette partie de l'étude a été suivie par l'extraction et la purification de l'ADN, selon un protocole d'extraction où on utilise un kit commercial, Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Courtaboeuf, France), sans modification Doyle *et al.*, (1987). Ce protocole à base de détergent cationique CTAB (cetyl triméthylammonium bromide) utilisé par Murray *et al.*, (1980).

Le tampon d'extraction étant composé de 2% (p/v) de CTAB; 1,4 M NaCl ; 20 mM Na₂EDTA; 100mM Tris-HCl (pH 8) et 1% de bisulfite de sodium ajouté extemporanément. Environ 20 mg de feuilles déshydratées mises en suspension dans 1ml de tampon d'extraction préchauffé à 60°C sont broyées dans un mortier stérilisé par autoclavage, le broyat est incubé à 60°C au bain-marie pendant 60min avec une agitation manuelle et fréquente par inversion des tubes.

Après une centrifugation rapide, 500µl d'un mélange phénol/chloroforme/alcool isoamylique 25/24/1 sont ajoutés au surnageant, l'ensemble est agité, centrifugé à 10000 tr/min pendant 10 min à 4°C, puis à la phase aqueuse sont ajoutés 500µl d'un mélange chloroforme/alcool isoamylique (24/1). Après agitation, l'ensemble est centrifugé à 10000 tr/min pendant 10 min à 4°C. A la phase aqueuse, sont ajoutés 2/3 de volume d'isopropanol, le mélange est conservé à (-20°C) pendant 30min.

Après précipitation, l'ensemble est centrifugé à 10000 tr/min pendant 10 min à 4°C, puis et après élimination du surnageant, le culot est séché dans un évaporateur concentrateur centrifuge sous vide (Speed Vac Savant Instruments, Farmingdale, USA) pendant 5 min et ré-suspendu en présence de 500 µl de NaCl 1M et de RNase à la concentration finale de 800µg. ml⁻¹ pendant 30 min à 37°C. Ensuite, 500µl d'un mélange chloroforme/alcool isoamylique 24/1 sont ajoutés. Les tubes agités manuellement et centrifugés à 10000 tr/min pendant 10 min à 4°C dont à la phase aqueuse sont ajoutés au 2/3 de volume d'isopropanol, le mélange est conservé à (-20°C) pendant 30 min.

Après précipitation, l'ensemble est centrifugé à 10000 tr/min pendant 10 min à 4°C, et après élimination du surnageant, le culot d'ADN est séché à l'évaporateur concentrateur centrifuge sous vide pendant 5 min et ré-suspendu dans 30µl de TE (10 mM Tris (pH 8), 20 mM Na₂EDTA) toute la nuit à 4°C. Un témoin d'extraction sans matériel biologique est

systématiquement incluse dans la procédure. La quantité et la qualité de l'ADN (1,5µl) sont estimées par dosage au spectrophotomètre Nano-Drop (Thermo Scientific Nano-Drop™8000). L'évaluation de la pureté par DO à 260 nm et 280 nm est le rapport DO_{260}/DO_{280} , et la quantification par DO à 260 nm.

- Electrophorèse d'ADN

L'analyse électrophorétique de l'ADN est réalisée avec 3µl d'ADN, ajouté au 2µl de tampon de charge (5x), à pH 8 [0.75ml bleu de bromophénol (2%), 5ml glycérol (100%), 2ml Na-EDTA, 0.75ml xylène cyanole (2%), 1.5ml H₂O]. Le support d'électrophorèse est formé d'un gel d'agarose à 1% [1 g agarose dans 100ml de tampon TBE (1x) à pH 8 en présence 2µl de bromure d'éthidium (10µg/µl)]. Après avoir coulé le gel, formation des puits et le laisser polymériser ; les échantillons d'ADN (5µl) qui sont préparés par l'addition de 2µl de tampon de charge au 3µl de l'ADN sont déposés dans les puits et soumis à un courant de 93volts durant 90min, en utilisant le tampon de migration 'TBE (5x) (5.4g Tris, 0.29g EDTA 500mM à pH 8, 2.75g Acide borique, 100ml H₂O), à pH = 8.

-Amplification de l'AND PCR / Bulk

L'amplification de l'ADN à l'aide d'une PCR pour les gènes codants des gliadines et gluténines des 100 génotypes regroupés en 20 lots, est réalisée dans un thermo-cycler d'ADN (Biometra, GmbH) selon la méthode de Williams *et al.*, (1990) ; Zietkiewicz *et al.*, (1994), où on a utilisé trois amorces qui sont :Glu-DX5 , LA1 et 56MN, dont la première amorce sert à l'amplification du fragment du gène codant des gluténines HPM et la deuxième amorce pour l'amplification de gène des gluténines FPM et la troisième amorce pour le gène des gliadines(tableau 5).

Tableau 5 : Les séquences des amorces utilisées dans l'amplification des gènes codant des gluténines et les gliadines.

Nom d'amorce	Séquence
- Glu-DX5 F	- 5'GAAACCTGCTGCGGACAAG3'
- Glu-DX5 R	- 5'GCCTAGCAACCTTCACAATC3'
- LA1 F	- 5'AAACAGAATTATTAAGCCGG3'
- LA1 R	- 5'GGTTGTTGTTGTTGCAGCA3'
-56MN F	- 5'GGATCCATGAAGAAGACCTTCTCATCCT3'
-56MN R	- 5'AAGCTTTCAGTTRGTACCGAAGATGCC3'

La PCR est réalisée dans un volume finale de 25µl contenant 2.5µl de tampon PCR (10x), 0.5µl MgCl₂, 0.5µl dNTP, 0.5 amorce, 2µl ADN, 0.5 Unité Taq-polymérase et 16µl H₂O (Tableau 6).

Cette amplification comprend une phase de dénaturation initiale d'ADN de 2,5min à 94°C, une phase de 30 cycles avec 1min à 94°C, pour la dénaturation de l'ADN, 1min à 37°C pour l'hybridation des amorces, 1min à 72°C pour l'élongation et une phase d'élongation finale de 10 min à 72°C.

On y trouve d'abord une phase de dénaturation initiale de 2 min à 94°C, suivie de 40 cycles pour une dénaturation de 94°C pendant 30 secondes, pour une hybridation à 52°C pendant 45 secondes et pour une extension à 72°C pendant 2min et enfin un dernier cycle d'extension finale à 72°C pendant 7 min.

Après 2h, les bandes d'ADN amplifiées sont visualisées sous lumière ultraviolette avec 10µg/µl de bromure d'éthilium et la taille des fragments est estimée sur la base d'une échelle d'ADN de 100 à 2000 paires de bases.

Tableau 6: Composantes du volume final de la PCR

Tampon de réaction 10X (50mM KCl, 10mM Tris-HCl, 1.5mM MgCl₂, pH 9.0)	2.5µl
50mM MgCl ₂	0.5µl
2mM dNTP	2.5µl
10mM amorce	0.5µl
50ng ADN	2.0µl
0.5Unité Taq-polymérase	1.0µl
H ₂ O	16 µl
Volume finale	25 µl

2.3.4.2. Marqueur RFLP

A partir de la faiblesse des bandes des gènes codant des gluténines et l'intensité des bandes des gènes des gliadines de la PCR/Bulk , on a choisi onze génotypes de quelques lots qui présentent les bandes les plus intenses (Tableau7).

Tableau 7 : Les échantillons choisis pour PCR /RFLP

Numéro de l'échantillon dans l'accession	Echantillon
4	alex 4
7	alex 8
10	mur 2
11	mur 4
18	mur 11
20	mur 13
51	val 4
76	val 32
88	ita 23
91	ita 26
92	ita 27

Après l'amplification des gènes codants des gliadines avec l'amorce 56MN de chaque génotype, on a pris 10µl des produits PCR . Ces derniers auxquels on a ajouté 10 µl des enzymes de restriction, les endonucléases utilisées sont HindIII et EcorI. Ce mélange est chauffé pendant une demi-heure à 37°C . Les fragments digérés ont été fractionnés par électrophorèse dans des plaques SDS-PAGE verticales dans un système tampon SDS Tris-HCl discontinu (pH: 6,8 - 8,8) à une concentration de polyacrylamide de 10% (p / v) Tris / glycine tampon a été utilisé. L'électrophorèse a été réalisée à un courant constant de 30mA / gel à 18°C. Les bandes étaient visualisées en utilisant le bromure d'éthilium (BET).

2.3.4.3. Séquençage

Pour réaliser une comparaison intra et inter-variétale on a choisi deux génotypes de chaque variété pour le séquençage des gènes codant des gliadines, afin de déterminer leurs polymorphisme (Tableau 8).

Tableau 8 : Génotypes choisi pour le séquençage

Numéro de l'échantillon dans l'accession	Génotypes
4	alex 4
7	alex 8
10	mur 2
11	mur 4
51	val 4
76	val 32
88	ita 32
91	ita 26

On a fait la culture des 8 génotypes dans des boites pétri .Après deux semaines de la germination des graines, on a utilisé les feuilles des plantules pour l'extraction d'ADN totale selon la méthode CTAB (bromure de cétyl-méthyle-ammonium), (Doyle, 1990). Les échantillons ont été broyés dans des mortiers en porcelaine autoclaves et purifiés avec un tampon CTAB à 2% et 10µl de RNase A, respectivement, suivi par une incubation à 65°C. Puis une extraction des protéines est réalisée en utilisant du phénol, du chloroforme, de l'alcool iso amylique et enfin le CTAB-ADN rajouté avec 100µl RNase. Le complexe a été précipité avec de l'isopropanol. Le culot d'ADN a été lavé deux fois avec de l'éthanol à 70%, et séché,. La quantité et la qualité de l'ADN purifié ont été vérifiées par spectrophotométrie et par l'électrophorèse sur gel d'agarose à 1%.

L'ADN résultant a été mesuré en termes de pureté et de concentration en utilisant un spectrophotomètre à nano drops. Les extraits d'ADN ont été dilués à une concentration de 50ng/µl⁻¹ pour la réaction de polymérisation en chaine (PCR).

Le séquençage d'ADN (des gènes codant des gliadines) a été effectué dans le laboratoire de LGC Company en Allemagne.

2.4. Etude statistiques des résultats

2.4.1. Résultats agro-morphologiques

Les résultats sont traités et analysés statistiquement par le logiciel SPSS,l'analyse de la variance (ANOVA) réalisé par le Test de Khi-deux et de Frideman qui nous ont permis de vérifier la diversité intra-variétale et le Test de Scheffé qui nous a permis de vérifier la variabilité inter-variétale.

Excell Stat version 2014, a été utilisé pour réaliser les Analyses en Composantes Principales (ACP).

2.4.2. Résultats biochimiques

L'étude biochimique est réalisée grâce à des dendrogrammes construits par l'utilisation de la méthode des groupes pairs à l'aide du logiciel MEGA_X_10 version 4 , pour déterminer les groupes homogènes possédant les mêmes bandes des gliadines et des gluténines .

2.4.3. Résultats moléculaires

Les gels sont photographiés, scannés, puis analysés par le logiciel Bio-Rad. Model Gel Documentation 2000. Pour les gels PCR/RFLP, les bandes de chaque profil sont désignées par leur présence (+) ou absence (-). La matrice ainsi établie pour le marqueur généré par les deux amorces est analysée à l'aide du logiciel Bio-Rad.

L'arbre phylogénétique a été construit en utilisant la méthode UPGMA dont le niveau d'expression des gènes a été mesuré par qRT-PCR (Bio-Rad).

La prédiction des séquences nucléotidiques et alignements multiples ont été réalisés en utilisant Clustal W (V1.83) pour les comparaisons des séquences d'ADN (Thompson, 1994).

L'alignement multiple des séquences de ce gène de gliadines effectué pour les génotypes testés à l'aide du logiciel MEGA_X_10 version 4

La matrice de l'identité génétique et la distance sont estimés selon le coefficient de Nei (Nei, 1978), en utilisant le logiciel Genetix version 4.05.

Chapitre III

Résultats et discussion

3. Résultats et Discussion

3.1. Paramètres agro-morphologiques

3.1.1. Paramètres morphologiques

- **Variété alexandrinum :**

Dans un premier temps, on a considéré ensemble la hauteur de la plante (HP), longueur de la barbe (LB) et de l'épi (LE) (figure 13).

Les résultats obtenus pour la hauteur de la plante (HP) varient entre 66 et 76cm. Le génotype alex5 présente la hauteur la plus réduite comparativement aux génotypes alex1 et alex2 qui présentent la paille la plus haute avec des valeurs de 75 et 74cm respectivement. Le reste des génotypes présentent des valeurs moyennes pour ce paramètre (69 à 71cm). Pour la longueur de la barbe, les plus considérables sont de 11cm chez le génotype alex1 et de 10.8cm pour chacun des génotypes alex3 et alex8 et la plus faible de 8.6 cm, est enregistrée chez le génotype alex6. Alors que les épis les plus longs sont enregistrés chez les génotypes alex1 et alex8 avec une moyenne de 6.6 et 6.2cm respectivement ; les épis courts sont observés chez le génotype alex9 avec une moyenne de 5.2cm. Les autres génotypes ont les épis de valeurs intermédiaires (Figure 13).

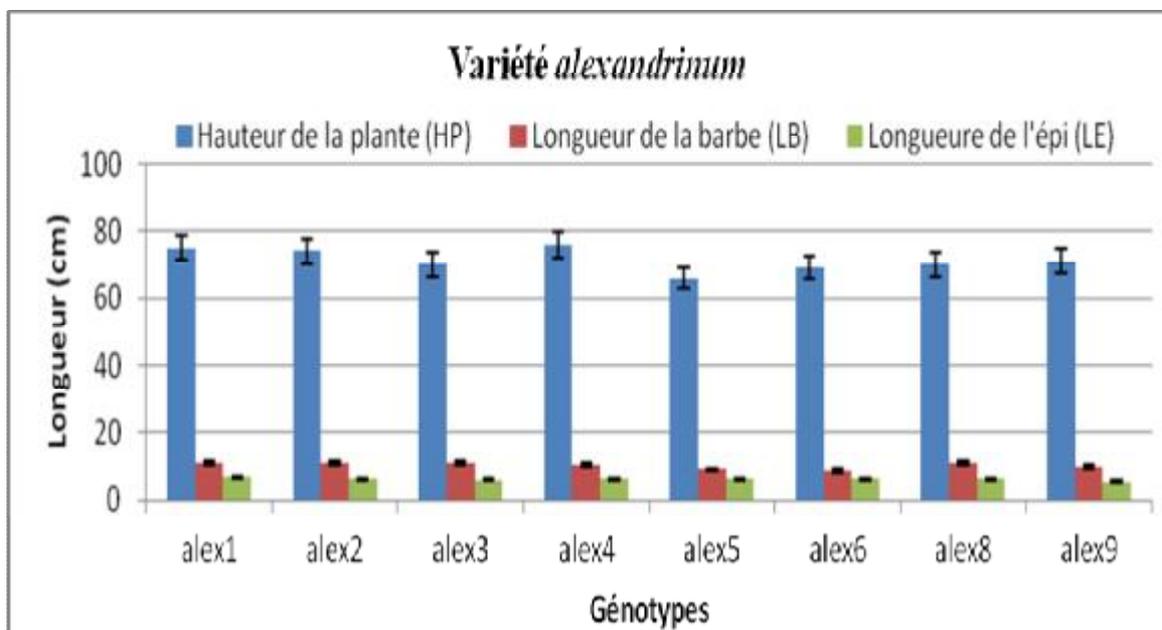


Figure 13: Hauteur de la plante, longueur de la barbe et de l'épi des génotypes de la variété alexandrinum.

-Le Tallage herbacé (TH)

Les valeurs moyennes du nombre des talles herbacées s'étendent entre un minimum de 5.4 talles enregistré chez les génotypes alex9 et alex6, et un maximum de 8.2 talles chez le génotype alex1 (figure 14).

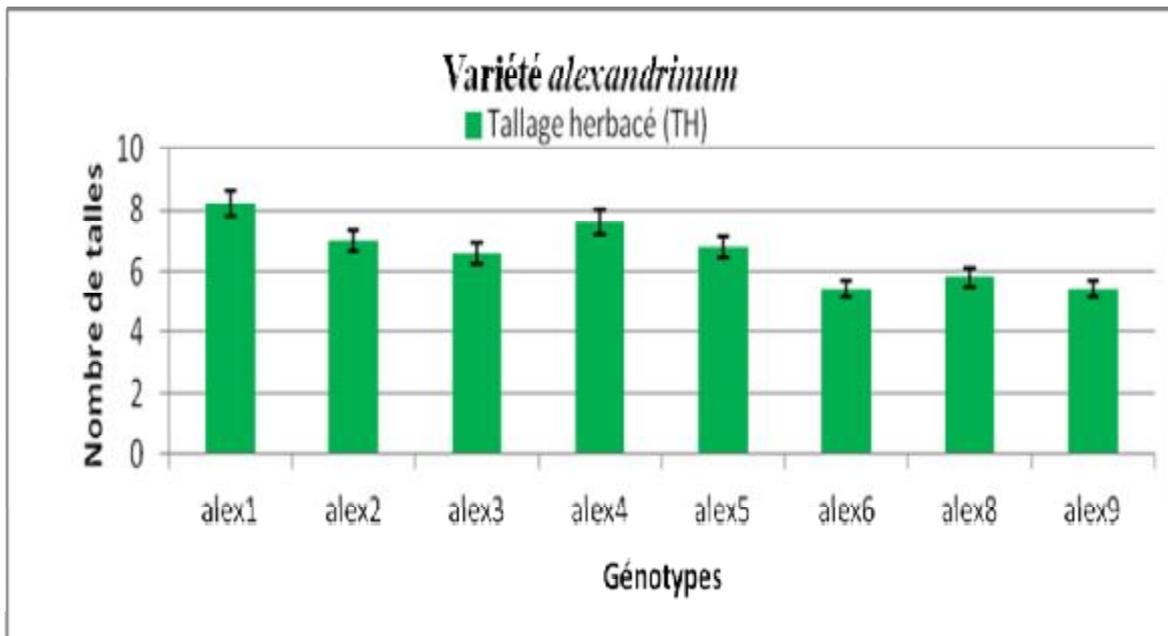


Figure 14: Tallage herbacé des génotypes de la variété *alexandrinum*.

-Le tallage épi (TE)

Le nombre du tallage épi de la variété *alexandrinum* est proche chez les différents génotypes. Les valeurs varient entre un minimum de 2.6 talles par épi enregistré chez les génotypes alex1, alex2, alex3 et alex6 et un maximum de 3 talles par épi chez le génotype alex5 (Figure 15).

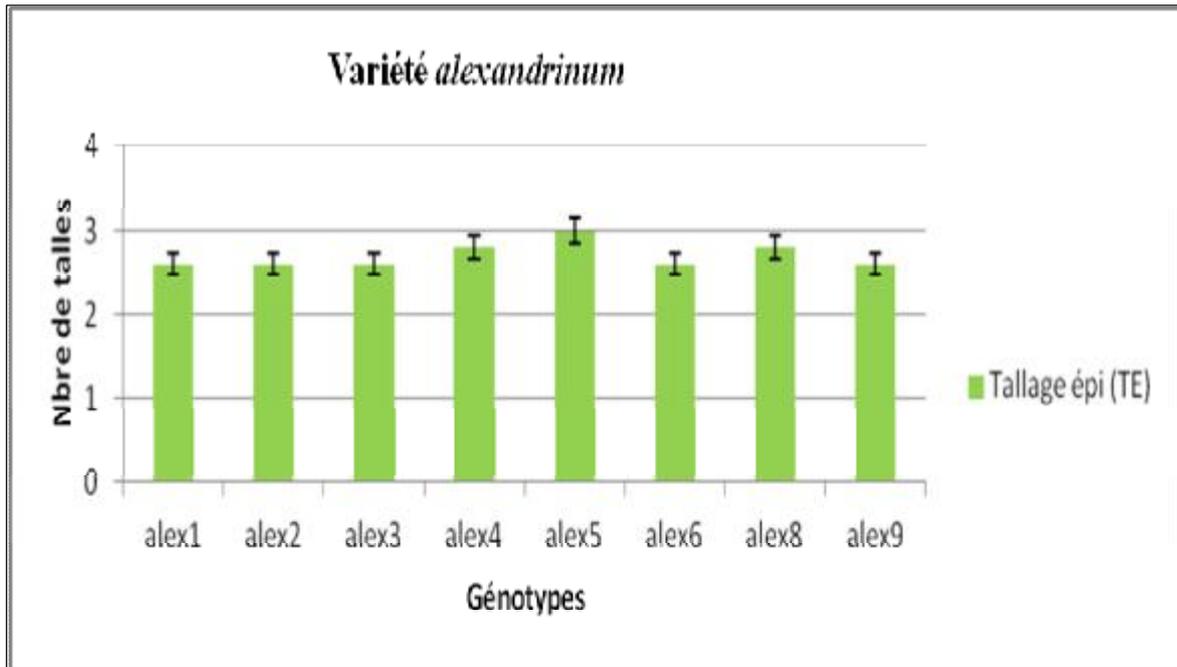


Figure 15: Tallage épi des génotypes de la variété *alexandrinum*.

-La surface foliaire (SF)

Le génotype alex8 enregistre la valeur la plus importante de 26.28 cm², suivi par le génotype alex2 avec 25.62 cm²; tandis que le génotype alex4 enregistre la valeur la plus faible de 14.08 cm²(Figure16).

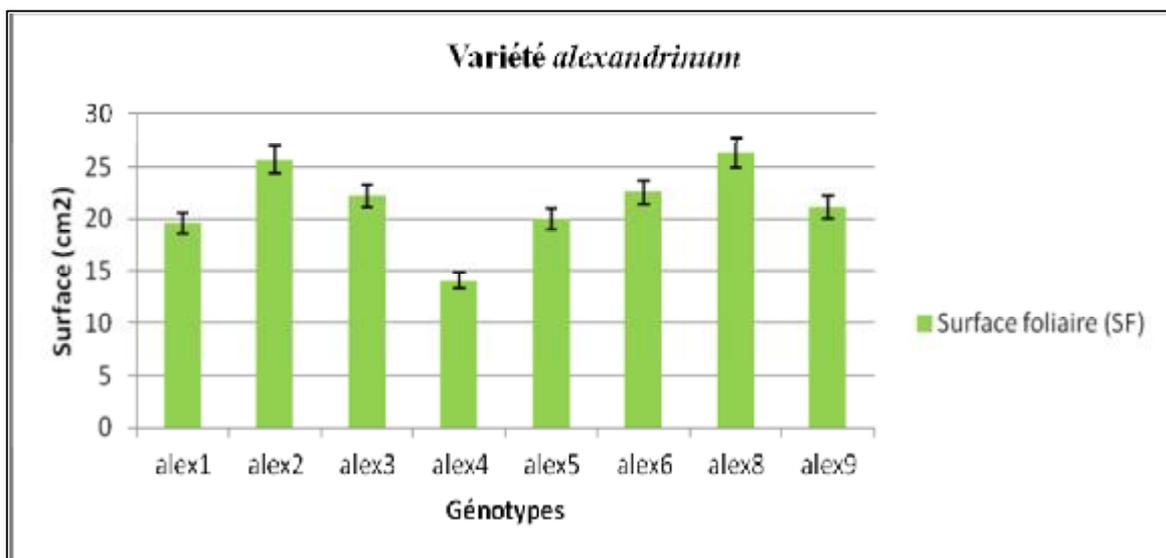


Figure 16: Surface Foliaire des génotypes de la variété *alexandrinum*.

- *Le taux de fertilité (TF)*

Le taux de fertilité des génotypes de la variété *alexandrinum* se situe entre 41.42 % et 70.91 %. Les génotypes alex1, alex2, alex3 et alex9 montrent les taux de fertilité les plus élevés 64.49 %, 61.59%, 63.31% et 70.91% respectivement (Figure17).

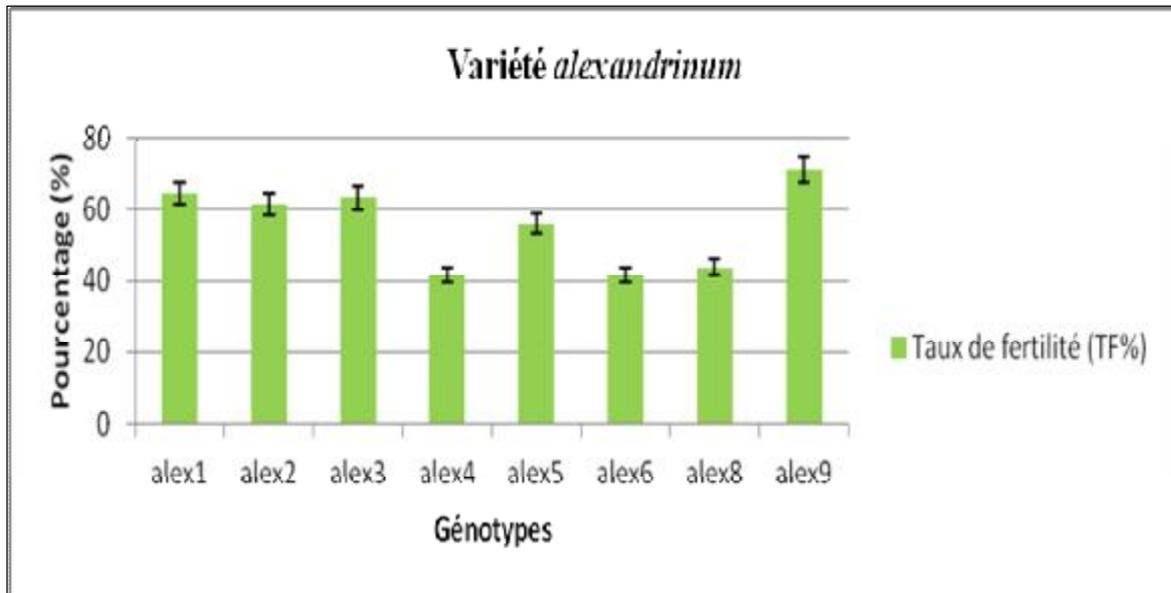


Figure 17 : Taux de fertilité des génotypes de la variété *alexandrinum*.

• *Variété murciense*

- *La hauteur de la plante (HP), la longueur de la barbe (LB) et de l'épi (LE)*

Les valeurs moyennes de la hauteur des plantes (HP) pour cette variété oscillent entre un minimum de 39cm chez le génotype mur38 et un maximum de 56cm chez le génotype mur20. Il est à noter que les génotypes mur38, mur37, mur5 et mur6 représentent le groupe à paille réduite avec respectivement les valeurs de 39cm, 40cm, 40cm et 41cm comparativement aux génotypes mur8, mur9, mur10, mur15, mur18, mur19, mur21, mur22, mur23 et mur24 qui représentent le groupe à paille haute ; tandis que le reste des génotypes présentent des valeurs intermédiaires pour ce caractère.

Les valeurs obtenues pour la longueur de barbe (LB) varient entre 6.6cm et 10.6cm pour l'ensemble des génotypes. La valeur minimale est notée chez le génotype mur22, alors que la valeur maximale est chez le génotype mur5.

Les longueurs des épis se situent entre 3.8cm enregistrée chez le génotype mur11 et 6.8cm notée chez les génotypes mur2 et mur36, alors que le reste des génotypes présentent des valeurs intermédiaires (Figure 18).

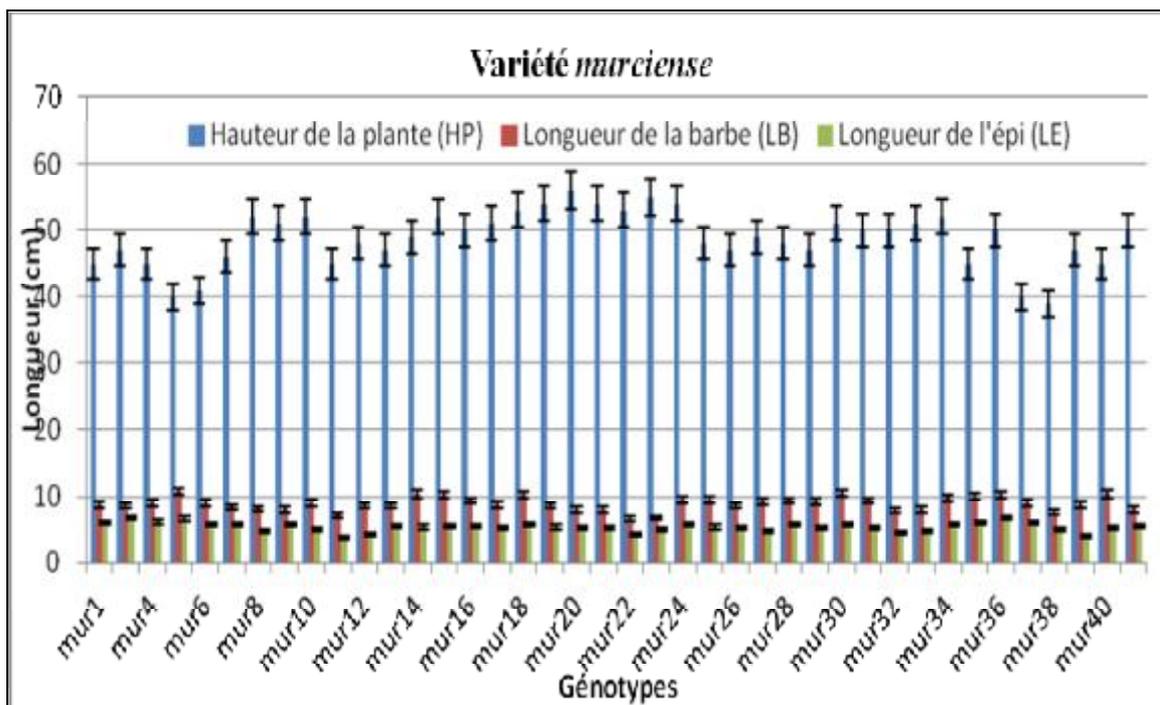


Figure 18 : Hauteur de la plante, longueur de la barbe et longueur de l'épi des génotypes de la variété *murciense*.

- *Le tallage herbacé (TH)*

Le tallage herbacé montre que les valeurs minimales oscillent entre 4 et 4.4 talles chez les génotypes mur2, mur15, mur24, mur27, mur30, mur31, mur34, mur38 et mur39. Par ailleurs, la meilleure capacité du tallage est observée chez les génotypes mur9 et mur40 avec des valeurs maximales de 6.6 et 7 talles respectivement (Figure 19).

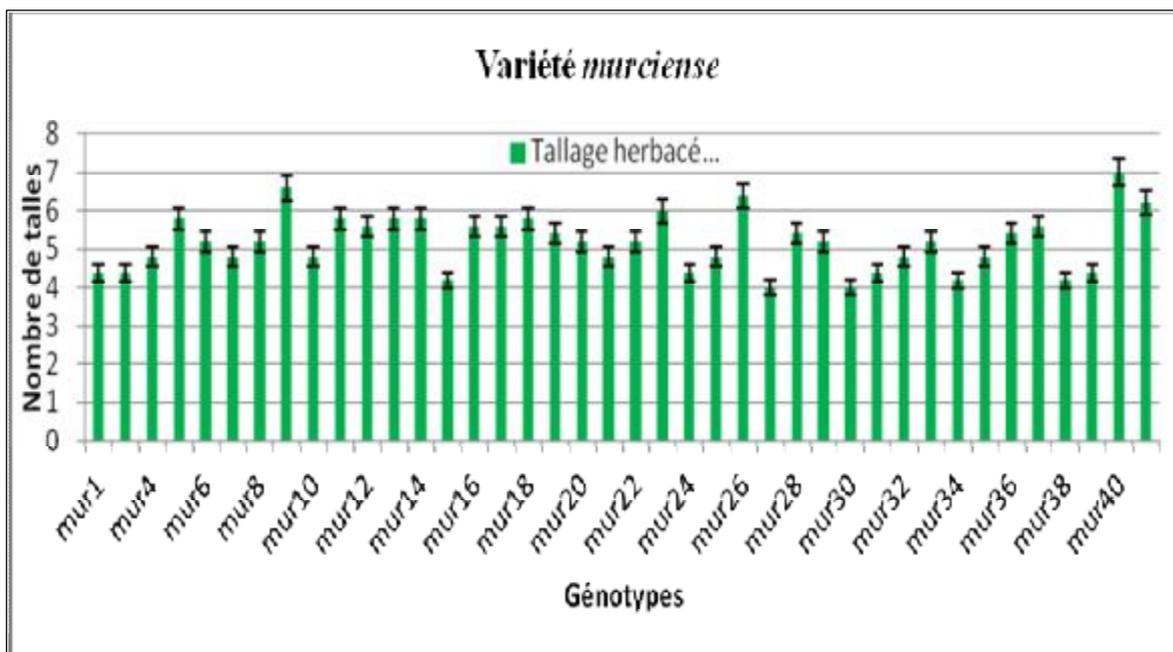


Figure 19: Tallage herbacé des génotypes de la variété murciense.

- Le tallage épi(TE)

Le génotype mur21 enregistre le nombre de talles/épi le plus élevé avec une valeur moyenne de 3.4 talles, alors que le génotype mur9 note la valeur la plus faible de 1.6 talle/épi. Les autres génotypes présentent des moyennes intermédiaires (Figure 20).

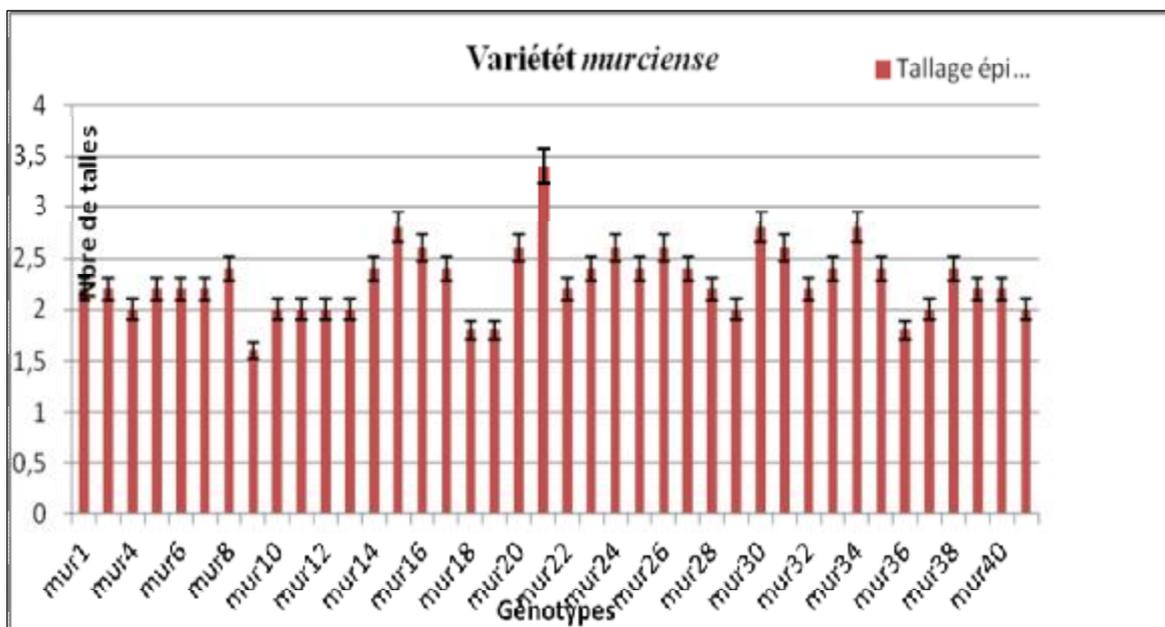


Figure 20: Tallage épi des génotypes de la variété murciense.

-La surface foliaire(SF)

Le génotype mur40 possède la surface foliaire la plus importante de 36.32 cm² suivi par les génotypes mur26 , mur23 , mur16 , mur14 , mur28 et mur27 avec des moyennes de 34.4cm² , 27.88cm² , 26.18cm² , 25.6cm² , 25.4cm² et 25.34cm² respectivement tandis que le génotype mur22 montre la valeur la plus faible de 13.42cm² (Figure 21)

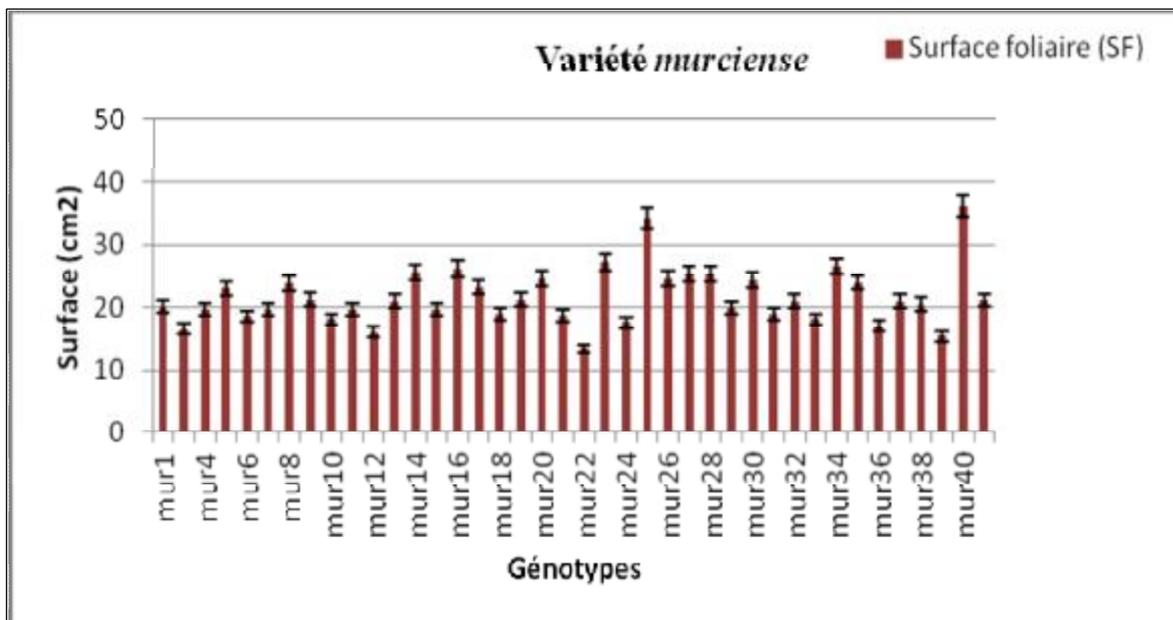


Figure 21: Surface foliaire des génotypes de la variété *murciense*.

-Le taux de fertilité (TF)

Le taux de fertilité de cette variété se situe entre une valeur minimale de 5.4% enregistrée chez le génotype mur8, et une valeur maximale 65.11% chez le génotype mur29. Les génotypes mur35, mur27 et mur48 possèdent les valeurs les plus importantes de 62.78%, 62.7%, 57.96% respectivement, alors que les génotypes mur11, mur21, mur22, possèdent les valeurs les plus réduites : 8.17%, 12.45% et 11.23% respectivement (Figure22).

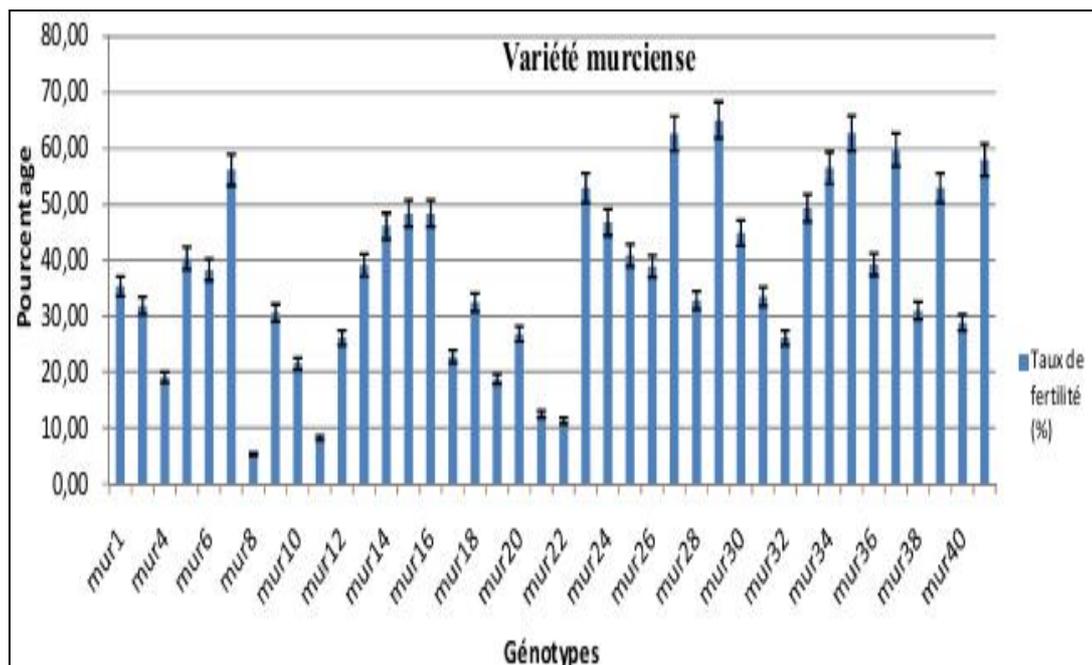


Figure 22: Taux de fertilité des géotypes de la variété murciense.

- **Variété valenciae**

- **La hauteur de la plante (HP), la longueur de la barbe (LB) et de l'épi (LE)**

La hauteur de la plante des géotypes val2, val 3, val 4, val15, val16, val18, val22, val23, val25, val26, val27, val28, val32, val35, val36 et val37 est en moyenne très basse et s'étend de 36 à 39cm, alors que les moyennes les plus élevées sont enregistrées chez les géotypes val11, val12, val13, val40, val43 et val44 avec des valeurs qui varient entre 48 et 51cm. Les autres géotypes montrent des hauteurs moyennes situées entre 40 et 47cm. Les barbes les plus longues sont enregistrées chez le géotype val44 avec une longueur de 11.8cm, alors que les barbes les plus courtes chez les géotypes val3, val22, val28 avec 5.6cm, 4.4cm et 7.2cm respectivement.

Les épis les plus longs sont remarqués chez les géotypes val3 et val22 avec une moyenne de 9.4cm et 10cm respectivement ; alors que les épis courts sont observés chez les géotypes val25, val26, val27, val28, val35, val36 et val38 (Figure23).

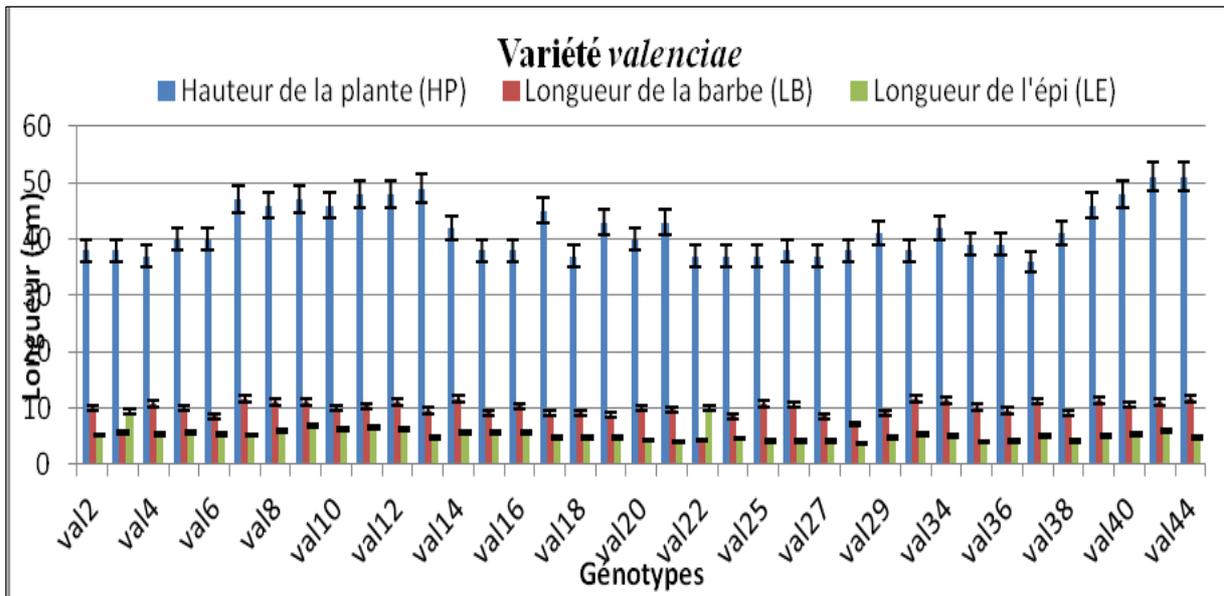


Figure 23: Hauteur de la plante, la longueur de la barbe et de l'épi des génotypes de la variété *valenciae*

-Le tallage herbacé (TH)

La majorité des génotypes de cette variété présentent des valeurs maximales entre 6 et 7.8 talles. La valeur maximale est présente chez les génotypes val3, val26 et val28 alors que la plus faible est enregistré chez le génotype val5 (Figure 24).

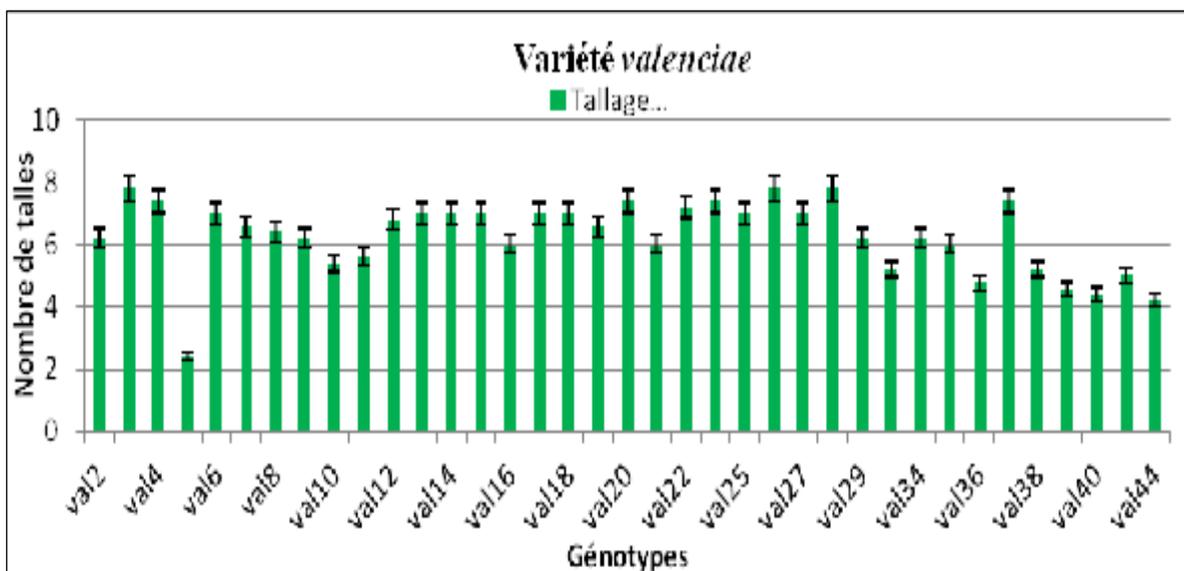


Figure 24: Tallage herbacé des génotypes de la variété *valenciae*.

-Le tallage épi (TE)

Le tallage épi de la variété *valenciae* varie entre une valeur minimale de 2 talles par plante chez les génotypes val11 et val28 et une valeur maximale de 3.4 talle chez le génotype val26 (Figure 25).

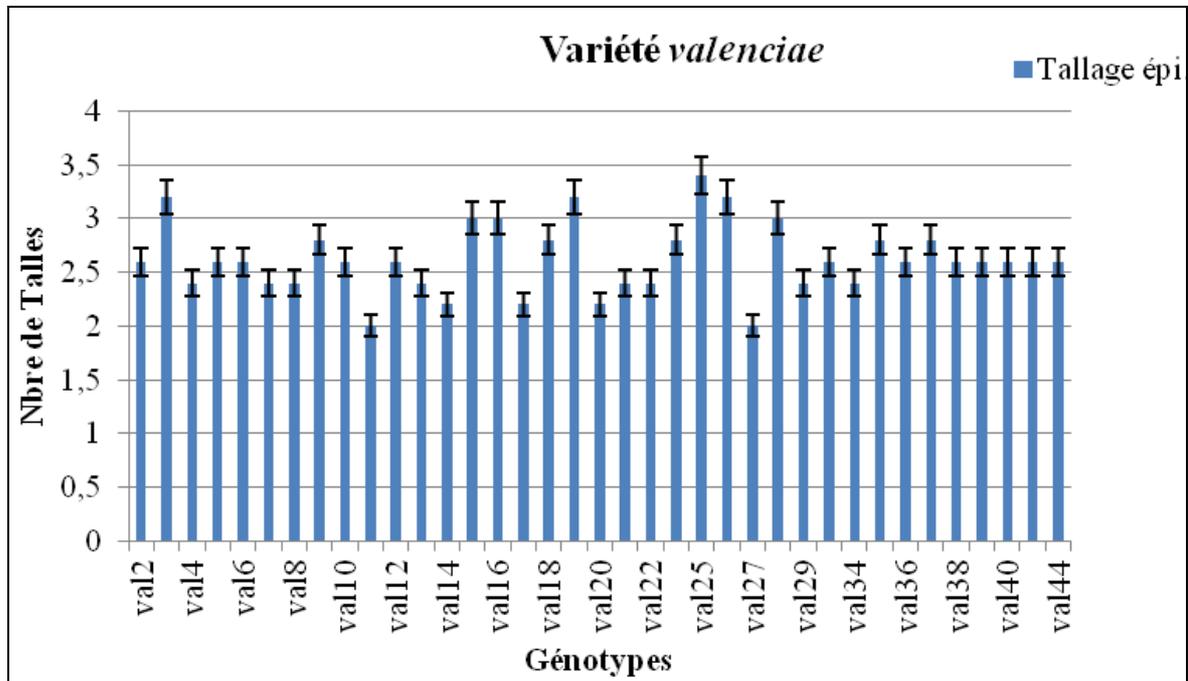


Figure 25: Tallage épi des génotypes de la variété *valenciae*.

-La surface foliaire (SF)

Les valeurs de la surface foliaire de cette variété varient entre une valeur minimale de 21.36cm² mesurée chez le génotype val 8 et une valeur maximale de 43.26 cm² chez le génotype val2. Les génotypes val20 et val34 possèdent les valeurs les plus importantes de 39.36 cm² et 38.84cm² respectivement .Tandis que les génotypes val15, val35, val36, val37 , val 38 sont les génotypes qui possèdent les valeurs les moins importantes qui se situent entre 24.24cm² et 21.82cm² (Figure 26).

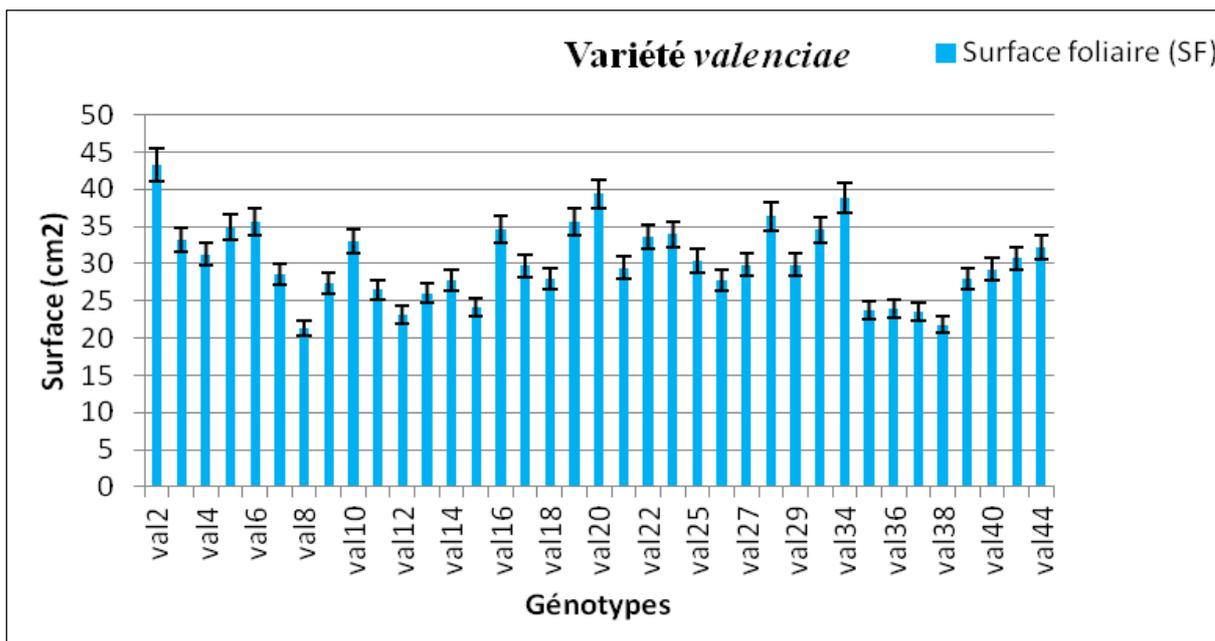


Figure 26 : Surface foliaire des génotypes de la variété *valenciae*.

-Le taux de fertilité (TF)

D’après les résultats obtenus de ce paramètre, on remarque que le génotype val22 montre le taux le plus élevé de 69.7 % ,et le génotype val 15 montre le taux de fertilité le plus réduit de 24.36%. Les génotypes val 3 , val 4 , val 5 , val 6 , val 7 ,val 20 ,val 25 ,val 26 ,val 29 , val 34 et val 35 possèdent les valeurs les importantes entre 50% et 67% (Figure 27).

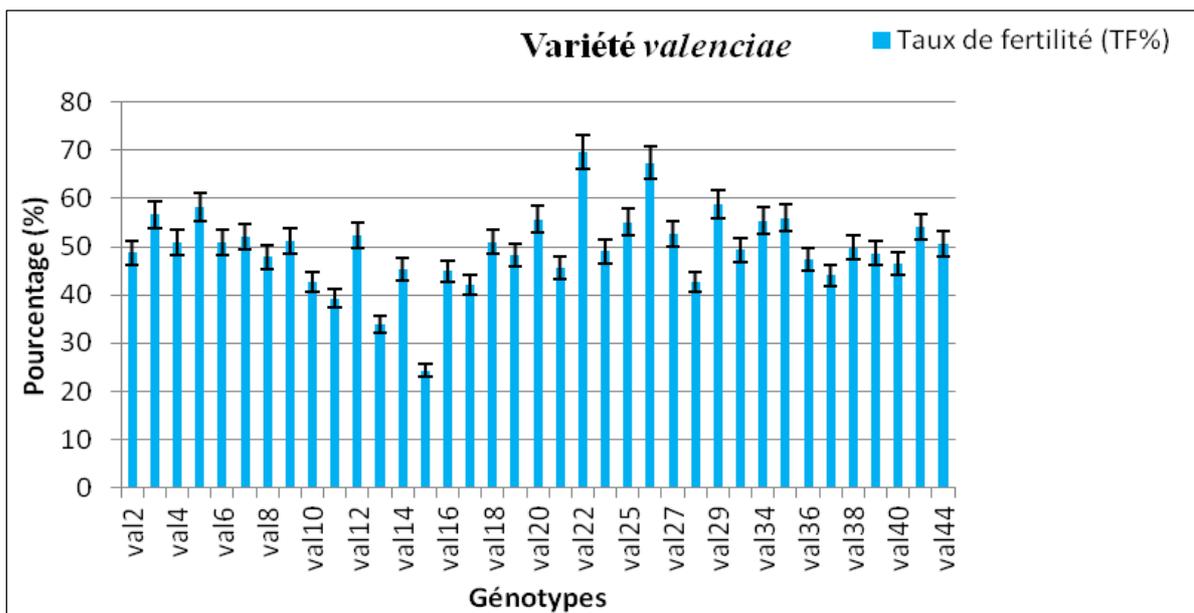


Figure 27 : Taux de fertilité des génotypes de la variété *valenciae*.

- **Variété *italicum***

- La hauteur de la plante (HP), la longueur de la barbe (LB) et de l'épi (LE)**

La hauteur des plantes des génotypes de cette variété se situe entre 79 et 97cm avec les valeurs les plus élevées chez les génotypes ita24, ita25, ita26, ita27, ita32, ita38, ita39 et ita40 avec des moyennes de 79cm, 90cm , 91cm , 90cm , 95cm, 96cm, 94cm et 92cm respectivement, suivi par les génotypes ita21, ita22, ita23, ita28, ita29, ita30 et ita31 avec des valeurs qui oscillent entre 79cm et 89cm.

La longueur de la barbe de cette variété varie généralement entre 9.6 et 16cm. De ce fait, les barbes les plus longues sont observées chez le génotype ita21 et les plus courtes chez le génotype ita25. Les valeurs de la longueur d'épi chez cette variété sont de 5.2cm chez les génotypes ita22 et ita32 et 7.4cm chez le génotype ita40 (Figure 28).

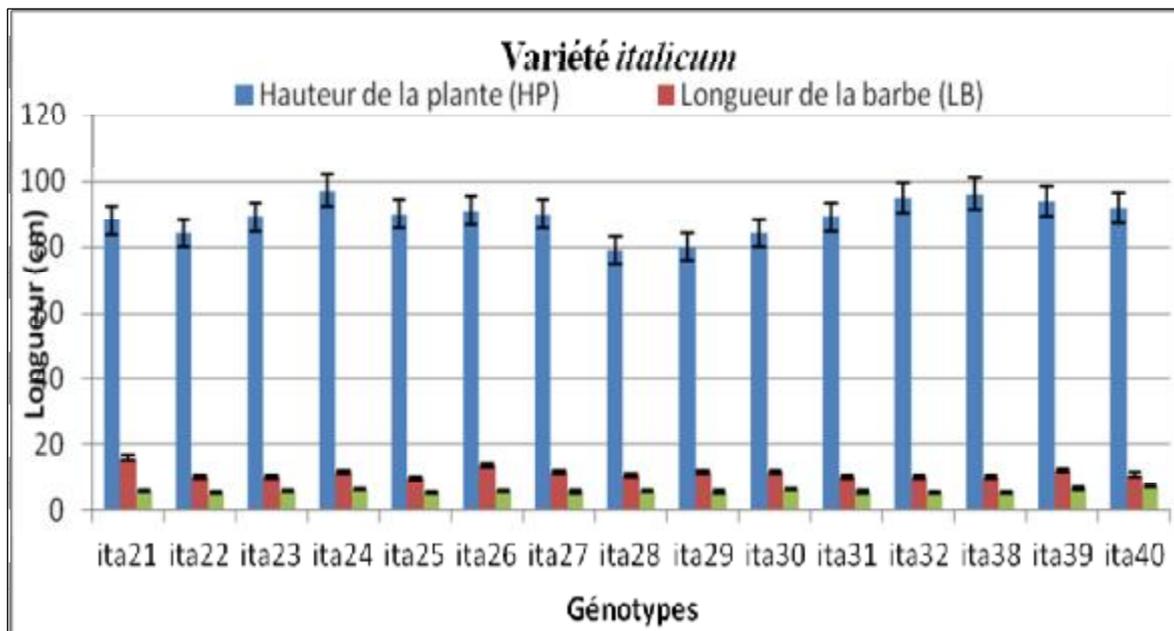


Figure 28: Hauteur de la plante, la longueur de la barbe et de l'épi des génotypes de la variété *italicum*.

- Le tallage herbacé (TH)**

Le faible tallage herbacé est enregistré chez les génotypes ita27 et ita29 avec une moyenne de 4.2 talles, alors qu'on a remarqué un tallage plus élevé chez le génotype ita23 dont la valeur est de 6.6 talles, suivi du génotype ita28 avec 6.2 talles, le reste des génotypes comprennent des moyennes entre 4.2 et 5.2 talles (Figure 29).

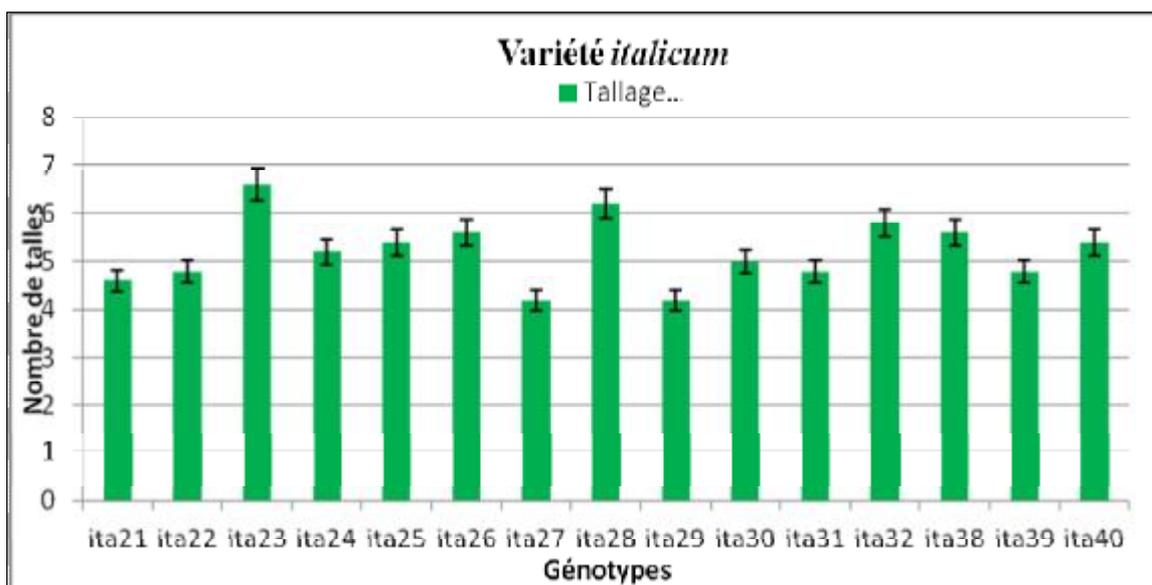


Figure 29: Le tallage herbacé des génotypes de la variété *italicum*.

-Le tallage épi (TE)

Le génotype ita40 possède un nombre de talle élevé de 3.6 par contre le génotype ita21 montre le plus faible de 2.4. Les autres sont intermédiaires (Figure 30).

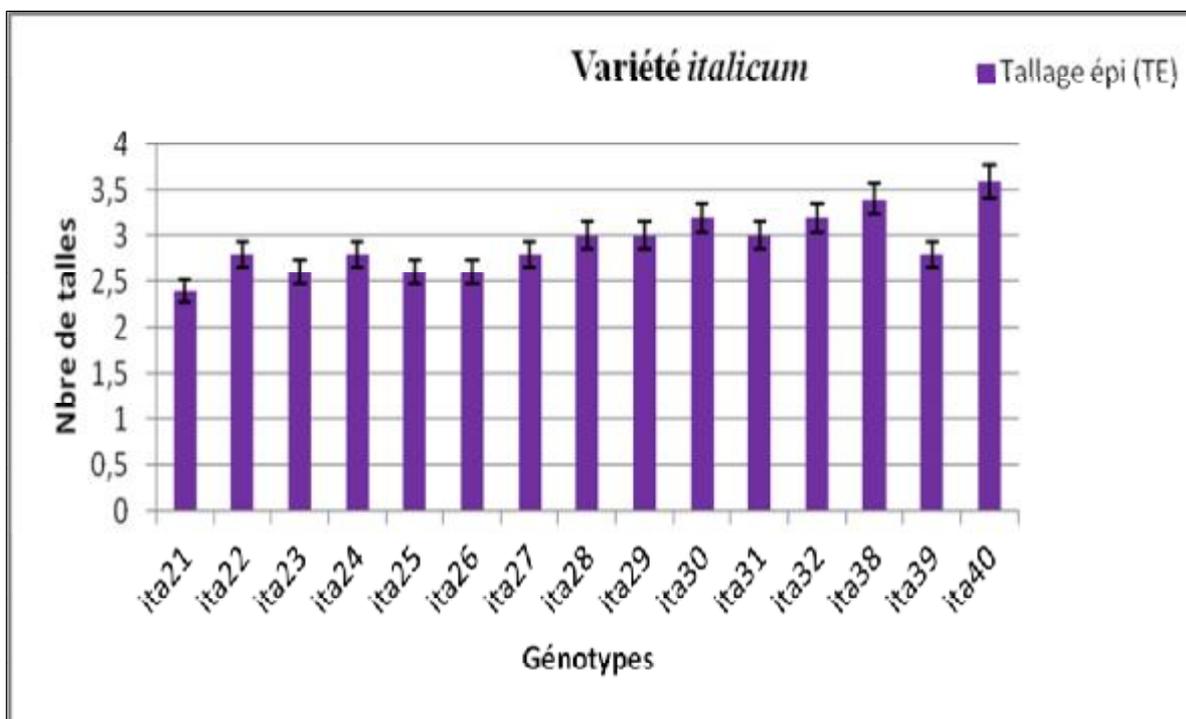


Figure 30: Tallage épi des génotypes de la variété *italicum*

-La surface foliaire (SF)

On remarque d'après les résultats obtenus que la valeur minimale de la surface foliaire est enregistrée par le génotype ita39 avec une moyenne de 16.44 cm² et la valeur maximale enregistré chez le génotype ita21 avec une moyenne de 30.4 cm². Les génotypes ita23, ita25, ita27, ita38 possèdent les surfaces les plus importantes avec des moyennes de 25.26cm², 25.62cm², 27.8cm² et 25.08cm² respectivement (Figure 31).

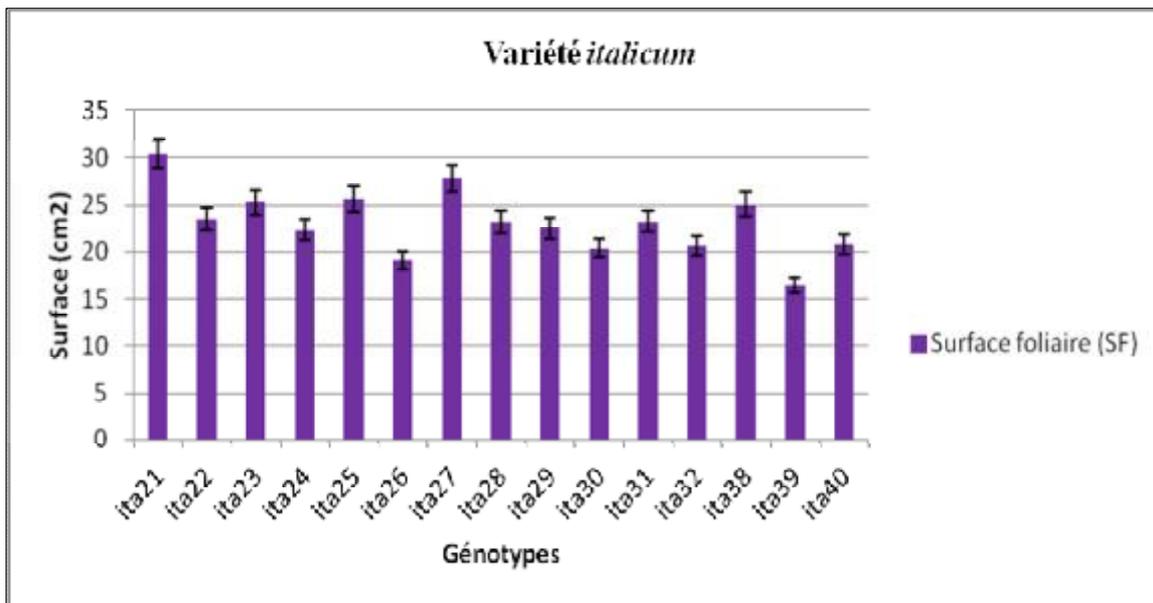


Figure 31: Surface foliaire des génotypes de la variété *italicum*.

-Le taux de fertilité (TF)

Le taux de fertilité chez la variété *italicum* se situe entre 17.9% et 67.36 %, le taux le plus faible est observé chez le génotype ita23 alors que le taux le plus élevé chez le génotype ita27. Les génotypes ita26, ita31, ita32 et ita39 possèdent des valeurs élevées de 60.24%, 60.64 %, 66.27%, 58.03% respectivement (Figure 32).

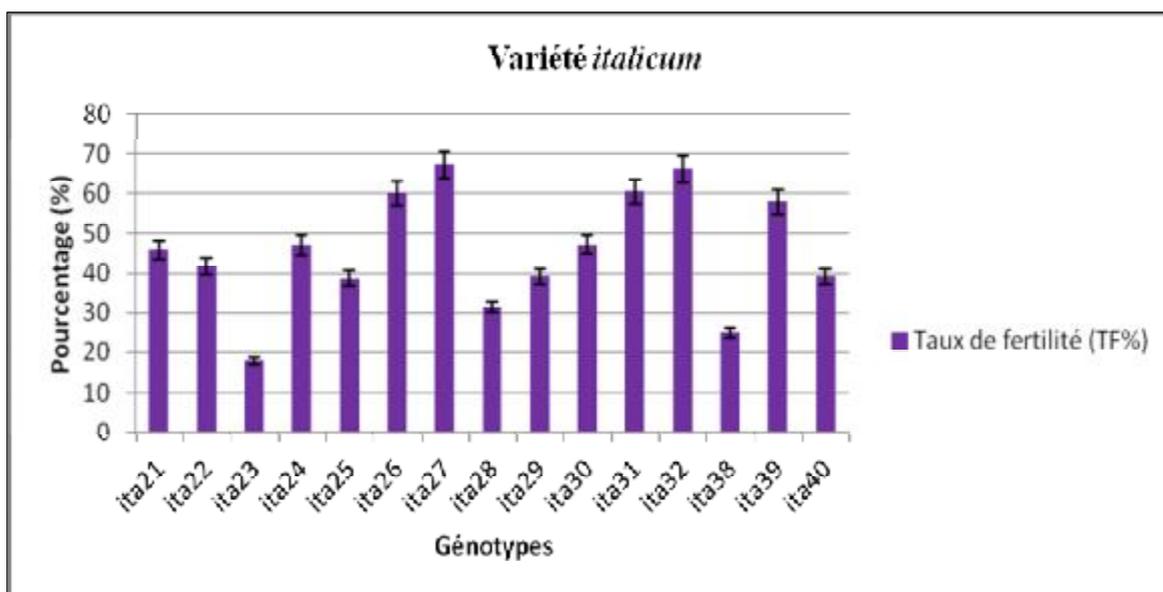


Figure 32 : Taux de fertilité des géotypes de la variété *italicum*.

3.1.2. Les composantes du rendement des variétés

- **Variété alexandrinum**

-Le nombre d'épillets par épi (NE/E), de grains par épi (NG/E) et le rendement (NG/m²)

Les moyennes du nombre d'épillet par épi obtenus oscillent entre 14.6 épillets chez le génotype alex8 et 15.8 épillets chez les génotypes alex3 et alex4; les valeurs des autres génotypes oscillent entre (15 et 15.4 épillets). Le nombre du grain par épi s'étale entre une moyenne de 13 grains pour le génotype alex9 et 31.8 et 31.4 grains pour les génotypes alex9 et alex1 respectivement. Le rendement des génotypes de cette variété varie entre 30.4 et 47.4q/ha. Les génotypes les plus performants en rendement sont alex1, alex3 et alex8, alors que le moins performant est le génotype alex6 (Figure 33).

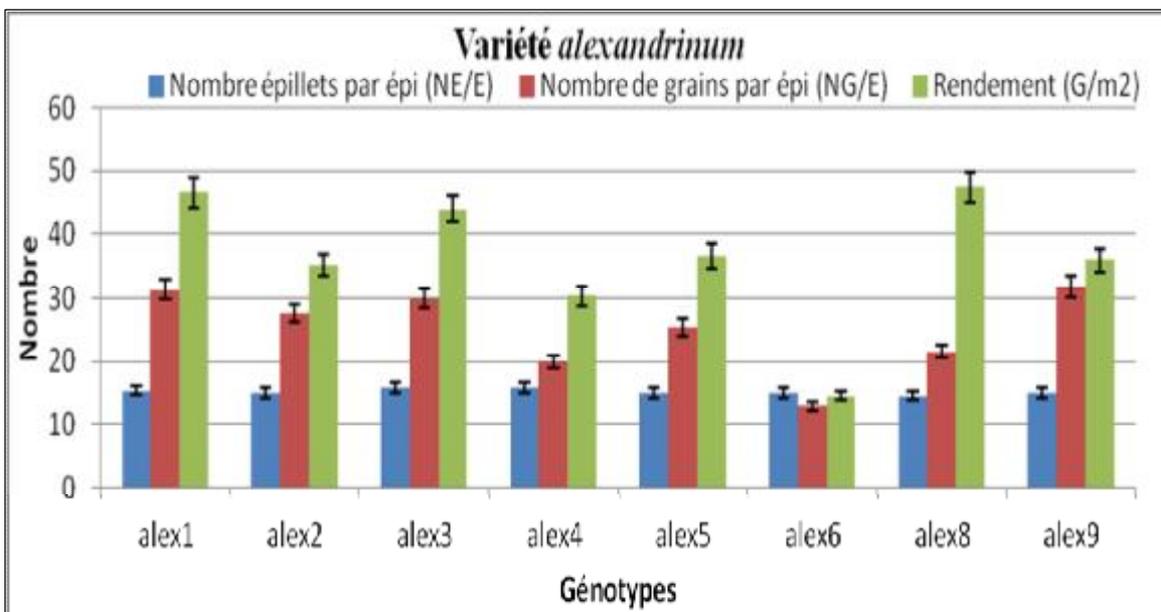


Figure 33: Nombre d'épillets par épi , de grains par épi et rendement des génotypes de la variété *alexandrinum*.

-Le poids de mille grains (PMG)

Les génotypes de la variété *alexandrinum*, sont groupés en deux groupes : le premier groupe comprend alex1, alex2, alex3 et alex9 qui dépassent 35g de PMG, alors que le deuxième groupe comprenant alex4, alex 5, alex6 et alex8 qui possèdent moins de 32g de PMG.

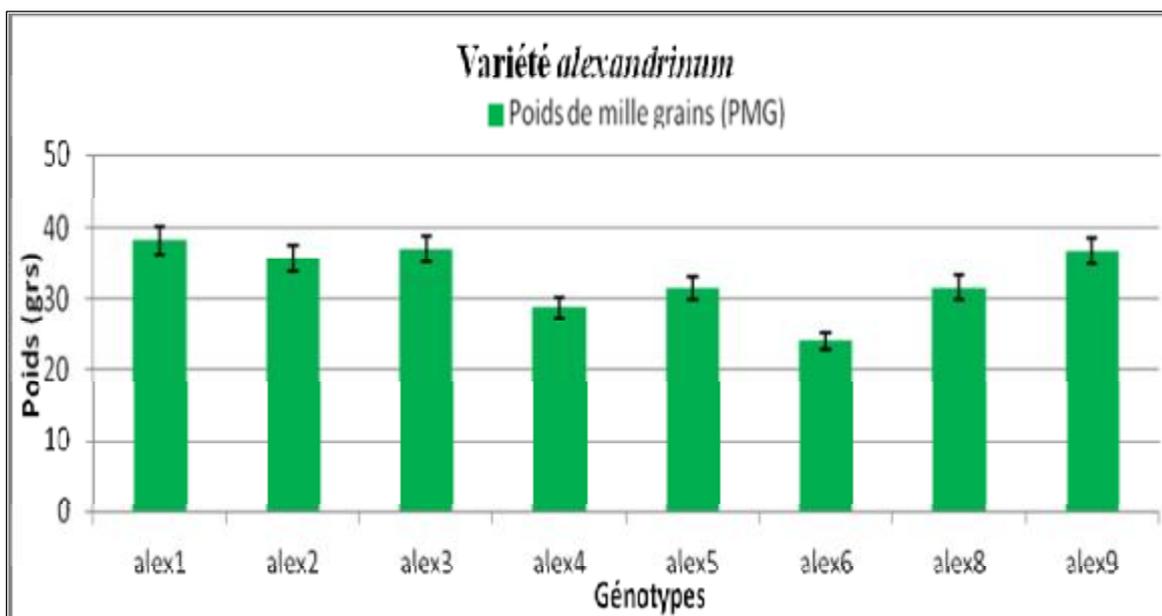


Figure 34: Poids de mille grains des génotypes de la variété *alexandrinum*.

- **Variété murciense**

- Le nombre d'épillets par épi, le nombre de grains par épi et le rendement

Le nombre le plus élevé d'épillets par épi est de 17 enregistré chez les génotypes mur5 et mur23, alors que le nombre le plus faible de 10.6 est enregistré chez le génotype mur38. Le reste des génotypes présentent des valeurs moyennes.

A travers les résultats obtenus pour le NG/E on remarque que les génotypes de cette variété présentent des valeurs très variables s'étalant entre 2.4 enregistré chez le génotype mur8 et 29.6 chez le génotype mur35.

Pour le rendement, la plus part des génotypes présentent des valeurs relativement faible entre 2.74q/ha et 21.6q/ha, à l'exception des génotypes mur1, mur8, mur16, mur23, mur27 et mur29 qui présentent des valeurs plus importantes de 45.6q/ha ; 37.7q/ha ; 36.6q/ha ; 35.4q/ha ; 33.9q/ha et 39q/ha respectivement (Figure 35).

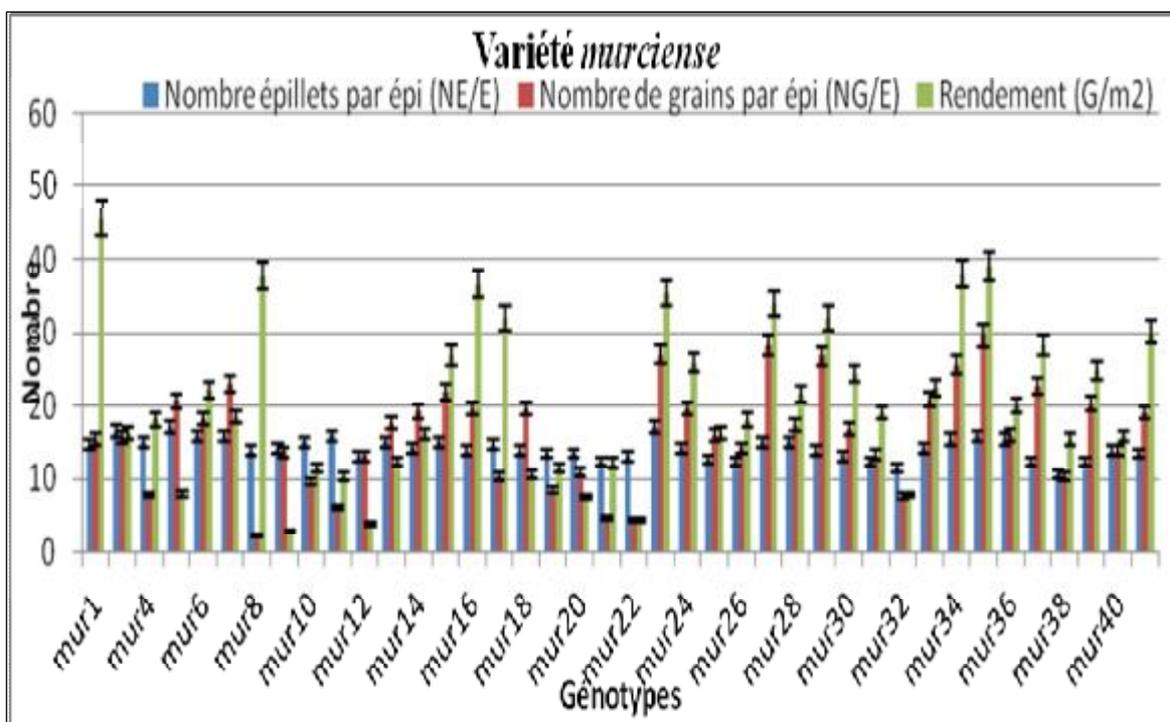


Figure 35 : Nombre d'épillets par épi, nombre de grains par épi et rendement des génotypes de la variété murciense

-Le poids de mille grains(PMG)

La moyenne du PMG la plus importante est de l'ordre de 45.8g observé chez le génotype mur37 et la valeur la plus faible de 9.3g chez le génotype mur21. Les autres génotypes possèdent des PMG moyens (Figure 36).

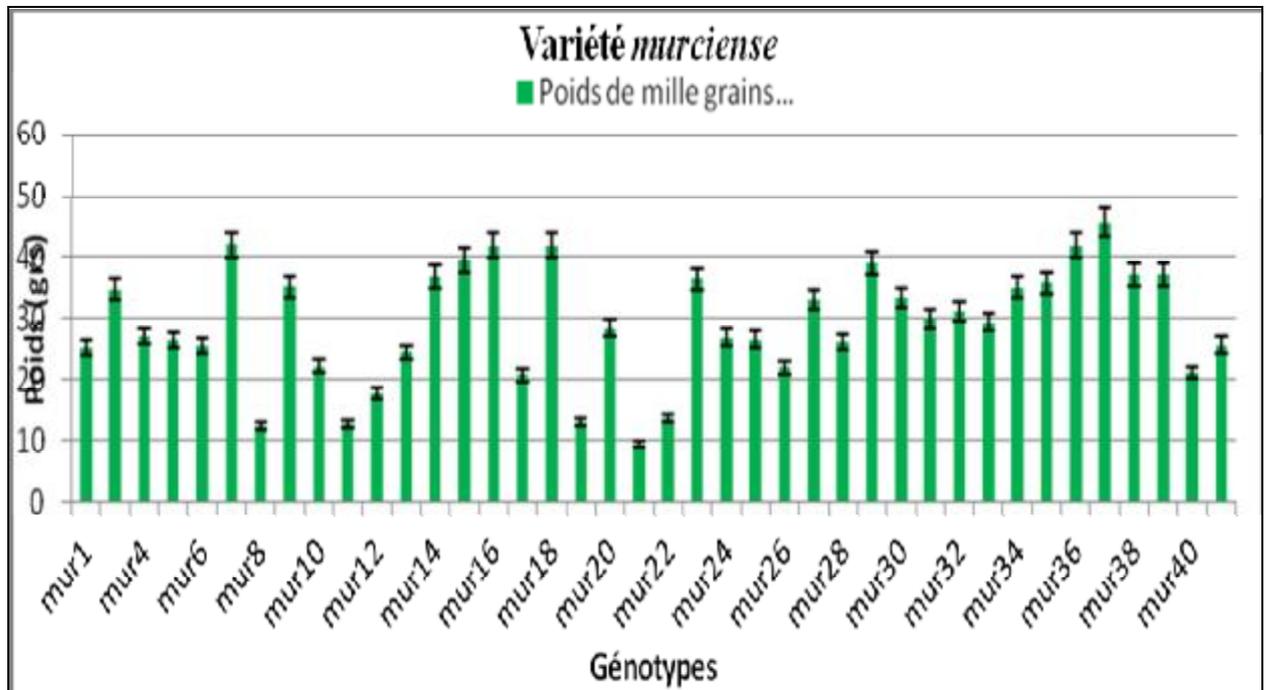


Figure 36: Poids de mille grains(PMG) des génotypes de la variété *murciense*

- **Variété valenciae**

- **Le nombre d'épillets par épi, le nombre de grains par épi et le rendement**

On a enregistré une variation très importante pour le nombre d'épillets par épi (NE/E) chez les génotypes de cette variété. Les moyennes varient entre 10.2 et 17.4 avec la valeur la plus réduite chez le génotype val 25 par contre la valeur la plus élevée est obtenue chez le génotype val 13 et val 43 comparativement aux autres valeurs qualifiées d'intermédiaire. Les résultats du nombre de NG/E laissent apparaître que les moyennes se situent entre 6.2 chez le génotype val 16 et 31 chez le génotype val 44.

Concernant le rendement, il est à noter qu'il est de 49.4q/ha enregistré chez le génotype val 35 comme moyenne élevée, contrairement aux génotypes val 5 et val 2 qui marquent des faibles moyennes 6.53 et 6.75 respectivement (Figure 37).

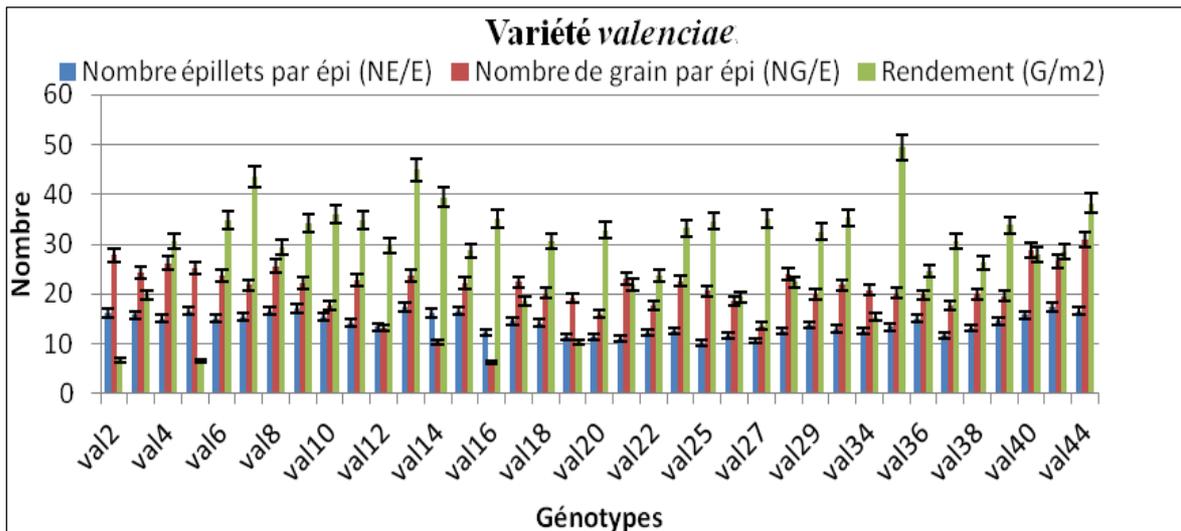


Figure 37: Nombre d'épillets par épi , nombre de grains par épi et le rendement des génotypes de la variété *valenciae*

-Le poids de mille grains (PMG)

Le PMG le plus élevé est celui du génotype val38 avec une valeur de 46.1g suivi par les génotypes val6, val8, val51, val10, val11, val18, val21, val26, val28, val34, val37, val39, val40, val43 et val44 avec des valeurs situées entre 37.9g et 44.1g. Le PMG le plus réduit est noté chez le génotype val14 avec une moyenne de 19.2g (Figure 38).

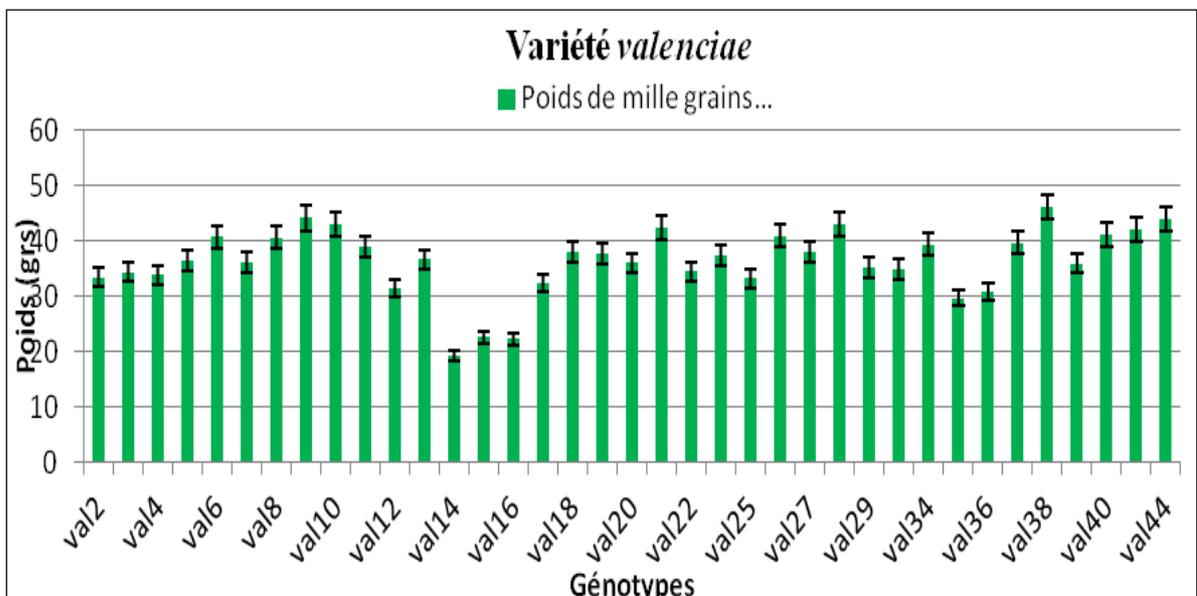


Figure 38: Poids de mille grains (PMG) des génotypes de la variété *valenciae*.

- **Variété *italicum***

-Le nombre d'épillets par épi (NE/E), le nombre de grains par épi (NG/E) et le rendement (NG/m²)

Les génotypes de cette variété présentent des moyennes très importantes de nombre d'épillets par épi . Ces moyennes s'étalent entre 16.2 et 33.2 observées chez les génotypes ita28 et ita31 respectivement. Les génotypes ita23 et ita38 présentent des moyennes faibles de 9.6 et 12.6 respectivement.

Les moyennes du rendement varient entre 10.8q/ha et 65.6 q/ha , dont la valeur la plus élevée est celle du génotype ita24 contrairement à la valeur réduite chez le génotype ita21. Les génotypes ita22, ita27, ita29, ita30, ita31, ita32, ita39 et ita40 présentent les valeurs les plus importantes (Figure 39).

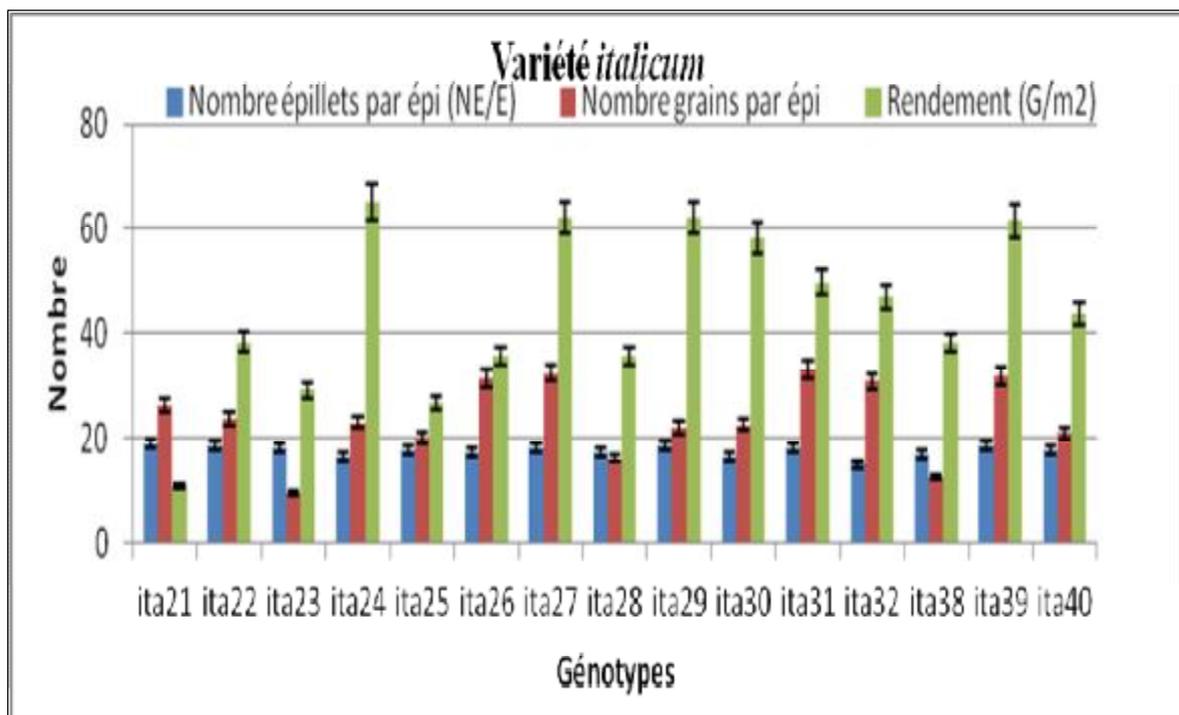


Figure 39: Nombre d'épillets par épi , le nombre de grains par épi et rendement des génotypes de la variété *italicum*.

-Le poids de mille grains (PMG)

Le PMG des géotypes de cette variété varie entre 15.1g et 51.5g. Le géotype ita23 enregistre la plus faible moyenne, alors que le géotype ita26 enregistre la moyenne la plus élevée. Les géotypes ita22, ita24, ita25, ita27, ita31, ita32, ita39 et ita40 représentent le PMG qui possède des valeurs intermédiaires (Figure 40).

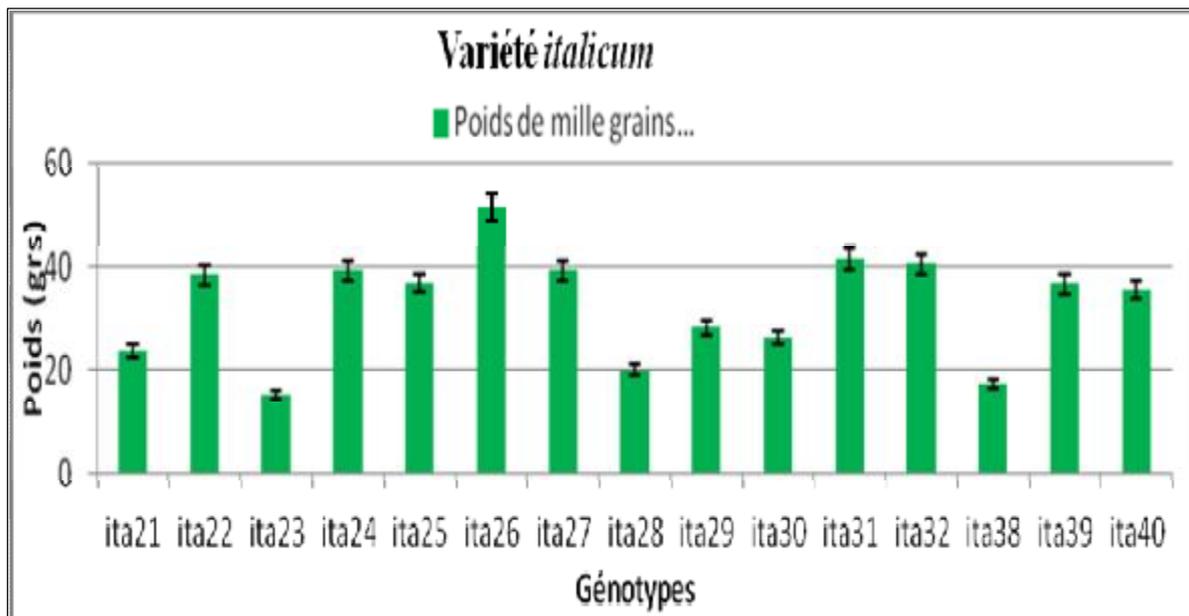


Figure 40: Poids de mille grains (PMG) des géotypes de la variété *italicum*.

3.1.3. Analyse intra-variétale

En se basant sur la moyenne des rangs du test Friedman et le test Khi-deux des paramètres agro-morphologiques des moyennes des géotypes étudiés des quatre variétés, il apparaît qu'il y a des différences significatives entre les géotypes la variété *alexandrinum*, au seuil de $\alpha = 0.05$, ainsi que pour les géotypes de la variété *murciense* qui révèle qu'il existe aussi des différences hautement significatives au seuil de $\alpha = 0.01$. Alors que les géotypes de la variété *valenciae* et ceux de la variété *italicum*, ne représentent pas des différences significatives (Tableau 9).

Tableau 9: Etude statistique (Test de Khi-deux et de Friedman)

Tests Statistiques	<i>alexandrium</i>	<i>murciense</i>	<i>valenciae</i>	<i>italicum</i>
N	11	11	11	11
Khi-deux	18,303	99,062	40,640	16,617
ddl	7	39	36	14
Signification asymptotique	0,011 ^s	0,000 ^s	0,273 ^{ns}	0,277 ^{ns}
a. Test de Friedman				

3.1.4. Analyse inter-variétale

Les résultats obtenus des caractères agro-morphologiques par l'analyse de la variance et le test de Scheffé ont montré des différences significatives importantes entre les 100 génotypes des quatre variétés soumises aux mêmes conditions environnementales et qui ont permis de révéler une variabilité génotypique importante entre elles. De ce fait, l'analyse de la variance pour les caractères (HP), (LB), (TE), (TH), (TF) et (SF) révèle qu'il y a une différence significative au seuil $\alpha = 0.01$ avec des moyennes de 455.718, 7.520, 16.323, 12.263, 7.700 et 25.232 respectivement. En effet le test Scheffé, utilisé pour le classement des groupes, révèle que la variété *italicum* possède les moyennes les plus élevées de la hauteur de la plante (HP), suivi par la variété *alexandrium* et la variété *murciense*.

Pour la longueur des barbes (LB), le test a révélé que la variété *alexandrium* et la variété *italicum* possèdent les moyennes les plus élevées comparativement à la variété *murciense* et *valencia*.

Pour le caractère tallage épi (TE), la variété *italicum* se caractérise par les moyennes les plus importantes suivie par la variété *alexandrium* et *valenciae*.

Pour le paramètre talles herbacés (TH), le test a montré que les génotypes de la variété *alexandrium* se caractérisent par les moyennes les plus élevées suivi par les génotypes de la variété *valencia*. Cependant, Le test de Scheffé a mis en évidence que la bonne capacité de la fertilité (TF) a été enregistrée chez les génotypes de la variété *alexandrium*, suivie par les génotypes de la variété *valenciae*, par rapport aux deux autres variétés qui possèdent des faibles moyennes de ce caractère.

Tableau10: Le test de Scheffé de différents caractères agro-morphologique étudiés des quatre variétés.

Caractères agro-morphologiques	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Signification	Test Scheffé
Hauteur de la plante (HP)	27635,320	3	9211,773	455,718	0,000	1. Intergroupes
	1940,520	96	20,214			2. Intragroupes
	29575,840	99	-	-	-	3. Total
Longueur de la barbe (LB)	130,745	3	43,582	7,520	0,000	1
	556,393	96	5,796	-	-	2
	687,138	99	-	-	-	3
Longueur de l'épi (LE)	4,952	3	1,651	1,856	0,142	1
	85,404	96	0,890	-	-	2
	90,356	99	-	-	-	3
Tallage épi (TE)	5,185	3	1,728	16,323	0,000	1
	10,165	96	0,106	-	-	2
	15,350	99	-	-	-	3
Tallage herbacé (TH)	32,881	3	10,960	12,263	0,000	1
	85,799	96	0,894	-	-	2
	118,680	99	-	-	-	3
Taux de fertilité (TF)	3882,849	3	1294,283	7,700	0,000	1
	16136,348	96	168,087	-	-	2
	20019,197	99	-	-	-	3
Surface foliaire (SF)	1624,475	3	541,492	25,232	0,000	1
	2060,182	96	21,460			2
	3684,658	99	-	-	-	3
Composantes du rendement	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Signification	Test Scheffé
Nombre d'épillet par épi (NE)	160,081	3	53,360	19,649	0,000	1. Intergroupes
	260,710	96	2,716			2. Intragroupes
	420,790	99	-	-	-	3. Total
Nombre de grains par épi (NG)	1067,835	3	355,945	9,613	0,000	1
	3554,595	96	37,027	-	-	2
	4622,430	99	-	-	-	3
Poids de mille grains (PMG)	1001,868	3	333,956	4,963	0,003	1
	6459,458	96	67,286	-	-	2
	7461,326	99	-	-	-	3
Rendement (RDT)	6136,067	3	2045,356	16,775	0,000	1. Intergroupes
	11846,514	96	123,401			2. Intragroupes
	17982,581	99				3.Total

Pour le caractère de la surface foliaire, le test a révélé une différence significative des moyennes entre les génotypes de la variété *valencia* comparativement aux moyennes des génotypes des trois autres variétés *alexandrinum*, *murciense* et *italicum*.

Il est à signaler que pour le caractère de la longueur épi (LE), le test de Scheffé n'a révélé aucune différence significative entre les génotypes des quatre variétés étudiées avec une moyenne atteignant 1.856 (Tableau 10).

De la même façon pour les composantes du rendement, et d'après l'analyse de la variance et le test Scheffé au seuil de $\alpha = 0.01$, on remarque que les moyennes du nombre d'épillets par épi des quatre variétés présentent une différence significative de 19.649. La comparaison des moyennes par ce test révèle que les génotypes de la variété *italicum* présentent le groupe caractérisé par un nombre élevé d'épillets par épi. Alors que les autres génotypes des variétés *alexandrinum*, *murciense* et *valenciae* présentent le groupe possédant les faibles moyennes.

Alors que pour le nombre de grains par épi (NG/E), on a remarqué qu'il y a une différence significative (9.613) au même seuil de ($\alpha = 0.01$). Par ailleurs le test de Scheffé met en évidence la répartition des génotypes selon 4 groupes :

le premier groupe renferme les génotypes de la variété *alexandrinum* qui possèdent le nombre le plus performant des grains par épi, suivi par les génotypes de la variété *italicum* et ensuite *valencia*. Alors que les génotypes de la variété *murciense* sont les moins performants de ces moyennes.

Pour le Poids de mille grains (PMG), l'analyse de la variance des moyennes a montré une différence significative 4.963 au seuil de $\alpha = 0.01$. Selon le test Scheffé la variété *valencia* seulement qui se distingue par un PMG plus élevé comparativement aux autres variétés. Cependant, le poids de mille grains (PMG), montre une différence significative de 16.575 au seuil de $\alpha = 0.01$ selon le test Scheffé. Les génotypes de la variété *italicum* constituent le groupe le plus performant suivi par la variété *alexandrinum*, puis la variété *valenciae*, tandis que les génotypes de la variété *murciense* constituent le groupe le moins performant (Tableau 10).

-Discussion

Les résultats obtenus par l'analyse de variance et le test Scheffé de comparaisons multiples pour les paramètres agro-morphologiques étudiés pour tous les génotypes des quatre variétés montrent des différences significatives, ce qui indique une présence de variabilité assez importante entre les différentes variétés. Il ressort que les génotypes appartenant à la variété *italicum* et *alexandrinum* constituent le groupe qui se caractérise par la hauteur de la plante, longueur de barbe, tallage épi, nombre d'épillets par épi, nombre de grain par épi et le rendement les plus élevés. Tandis que les génotypes de la variété *murciense* se distinguent par des valeurs réduites vis-à-vis de tous ces paramètres.

La variété *valenciae* se caractérise par des valeurs moyennes relatives pour la majorité des paramètres étudiés.

Nos résultats obtenus sur les paramètres morphologiques sont en accord avec ceux trouvés dans des travaux précédents ; aussi Spagnoletti *et al.*,(1990) en étudiant des caractères morphologiques de 6 variétés de blé dur (*Triticum durum*), ont montré une diversité importante concernant les ressemblances phénotypiques et génotypiques originaires de l'Algérie et de l'Éthiopie.

Zeven, (1998) a étudié la ressemblance entre une accession de blé dur (*Triticum turgidum*) et une autre de blé tendre (*Triticum aestivum*), sur la base de deux caractères morphologiques La longueur et la compacité de l'épi, l'étude a montré que l'accession de blé dur est classée en un seul groupe caractérisé par une courte paille et un épi compacte. Tandis que l'accession du blé tendre a identifié un seul groupe qui est différent de l'autre accession.

Morsli, (2010) a trouvé un effet très hautement significatif de la hauteur de la plante entre les génotypes étudiés de blé dur, les valeurs sont entre 89 et 123cm. Sur le plan agro-morphologique. L'analyse a laissé apparaître deux groupes assez bien discriminés : la classe Turquie-Grèce caractérisée par des plantes hautes et tardives et la classe Maghreb caractérisée par des plantes plus courtes et plus précoces. Les travaux de Delacy *et al.*,(2000) basés sur 15 caractères morphologiques, agronomiques et de qualité du grain d'une collection de 465 accessions de blé dur provenant de 24 sites géographiques du Mexique, ont montré une diversité significative entre les régions.

Les sélectionneurs ont longtemps admis que les variétés des céréales les plus tolérantes étaient celles à paille haute (Blum, 1988). Cependant, de nombreuses études ont montré

que les variétés de blé à paille courte ont une bonne adaptation et une meilleure productivité en zones sèches (Pheloung, 1991 ; Ali Dib, 1992; Bouzerzour et Hafsi, 1993). Bouzerzour,(1998) mentionne que il faut assurer une production de biomasse aérienne suffisante pour garantir un rendement acceptable.

Les travaux de Vincent, (2013), sur six variétés de blé montrent que les moyennes de la hauteur totale des pailles varient de 119 à 138 cm.

La capacité de transformation des talles herbacées en talles épis varie en fonction des génotypes. Benbelkacem et *al.*, (1984) ont constaté qu'une augmentation importante du nombre de talles herbacées engendre une augmentation du nombre de talles épis, mais aussi une mortalité élevée. Le tallage est un caractère variétal, qui en conditions favorables, pourrait renseigner sur le potentiel des variétés (Bennaceur *et al.*, 1997).

D'après Blum,(1988) les feuilles réduites permettent une diminution des pertes en eau et elles constituent un mécanisme majeur en présence d'un stress hydrique important. Alors que Johanson *et al.*, (1973) suggèrent que les plantes à surface foliaire plus grande peuvent tolérer la déshydratation et maintenir un potentiel hydrique élevé.

D'après Monneveux,(1991) l'épi et les barbes jouent un rôle important dans la tolérance au stress hydrique terminal chez le blé, du fait de l'importance de l'épi dans la photosynthèse et la transpiration après l'anthèse.

Hadjchristodoulou,(1985) et Dib,(1999) montrent que la longueur des barbes est un paramètre morphologique lié à la tolérance au déficit hydrique.

Selon Fonesca et Patterson, (1968), la stérilité des épillets terminaux dépend du peuplement pieds et du coefficient de tallage, elle est fortement influencée par la densité du semis, le pourcentage de la levée et les caractéristiques variétales.

Concernant les composantes du rendement on a trouvé aussi une diversité importante entre les génotypes des quatre variétés c'est-ce qui a été obtenu par plusieurs recherches ; Benbelkacem et Kellou, (2000), ont montré que le poids de mille grains est généralement peu maîtrisable, car il est fortement lié aux effets de l'environnement au moment de la formation et du remplissage des grains. Selon, Grignac, (1981) le poids de mille grains (PMG) optimal qui permet d'obtenir des rendements plus élevés devrait être à (48 g). Ce caractère dépend aussi de la continuité de la nutrition azotée jusqu' à la maturation (Soltner, 2005). Nos résultats de PMG pour les 100 génotypes montrent la présence d'une variabilité importante de sorte que la valeur la plus élevée est 51.5 g, par contre la plus

faible est de 24.1g. On a observé cette variabilité pour tous les paramètres des composantes du rendement étudiées.

Selon Passioura, (2006) la réalisation de haut rendement par la culture de blé requiert des cultivars performants.

Le rendement en grain par plant est conditionné par le potentiel génétique de la variété, mais aussi par les conditions agro-climatiques et la conduite culturale. (El Hakimi *et al.*, 1995). D'après Monneveux,(1991) le choix de l'aptitude génétique du rendement comme un critère de sélection, s'avère justifié la où les conditions du milieu permettent l'expression de cette aptitude. Par contre, dans des conditions de contraintes environnementales importantes, le rendement en grain ne peut pas être retenu comme critère de sélection.

3.1.5. Etude de la variabilité des paramètres agro-morphologiques

Afin d'estimer et d'évaluer la variabilité intra et inter spécifique existante entre les variétés on a effectué une analyse en composantes principales(ACP) sur une matrice de données d'une accession de 100 génotypes appartenant aux quatre variétés : *alexandrinum* , *murciense* , *valenciae* et *italicum* en fonction de 11 variables considérées dans l'étude (HP, LE, LB, TE,TH,SF,TF%, PMG, NG/E, NE/E, RDT). Cette analyse a mis en évidence que les axes les plus informatifs sont l'axe 1, 2 et 3 avec 30.82%, 19.64 %, 10.92% respectivement; soit un total de 50.46% pour le plan 1et 2, et 41.74% pour le plan 1 et 3.

L'axe 1 du côté positif est formé principalement par les variables suivantes : Longueur de barbe (LB), longueur d'épi (LE) , taux de fertilité (TF%) , nombre des grains par épi (NG/E) , poids de mille grains (PMG) et le rendement (RDT), sont les plus significatives et ce sont ces variables qui caractérisent les génotypes .

Les deux variables hauteur de la plante (HP) et nombre d'épillets par épi déterminent l'axe 2 du côté négatif, alors que la variable surface foliaire (SF) détermine le côté positif du même axe.

Dans le plan 1/3 , l'axe 3 présente un taux de 10.92% d'information est formé seulement par deux variables : tallage herbacé (TH) et tallage épi (TE) du côté positif.

3.1.6. Matrice de corrélation des variables

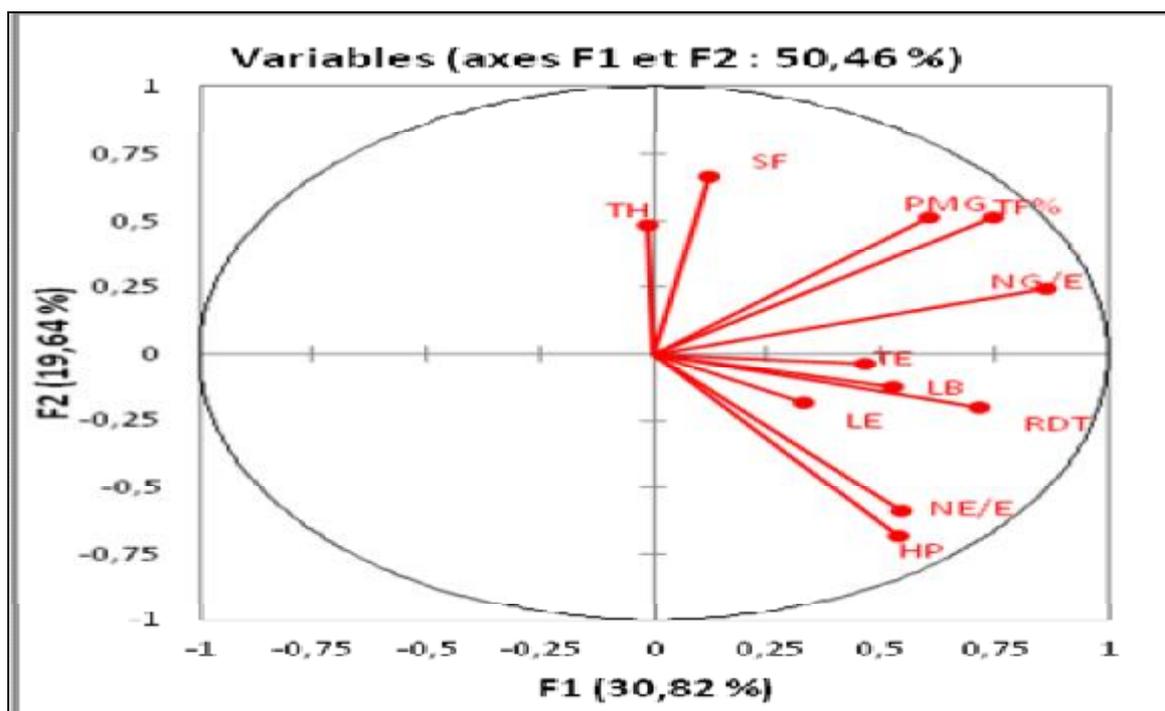
A travers cette analyse on a estimé les niveaux des corrélations entre les différents paramètres mesurés. L'analyse montre l'existence des liaisons positives et négatives

variant entre faible à forte corrélation (Tableau 11). Ainsi, il apparait que la hauteur de la plante (HP) est positivement corrélé avec le nombre d'épillets par épi (NE/E) ($r = 0.61$), et faiblement positivement corrélée avec le rendement (RDT) ($r = 0.47$), tandis que le taux de fertilité (TF%) est fortement et positivement corrélé au nombre de grains par épi (NG/E) et le poids de mille grains (PMG) ($r=0.79$) et ($r=0.68$) respectivement. Le nombre de grains par épi (NG/E) est positivement corrélé avec le poids de mille grains (PMG) ($r = 0.67$) et faiblement positivement à la variable rendement RDT ($r = 0.47$).

Tableau 11: Matrice des coefficients de corrélations des différentes variables analysées.

Variables	HP	LB	LE	TE	TH	TF%	SF	NE/E	NG/E	PMG	RDT
HP	1										
LB	0.323	1									
LE	0.213	0.022	1								
TE	0.3711	0.155	0.082	1							
TH	-0.172	0.000	0.070	0.069	1						
TF%	0.033	0.256	0.175	0.279	0.137	1					
SF	-0.336	0.0171	-0.04	0.201	0.337	0.264	1				
NE/E	0.613	0.290	0.362	0.129	-0.23	0.03	-0.14	1			
NG/E	0.263	0.366	0.164	0.196	0.002	0.794	0.194	0.411	1		
PMG	-0.036	0.1751	0.08	0.078	0.034	0.686	0.207	0.016	0.675	1	
RDT	0.479	0.3258	0.140	0.390	-0.05	0.398	-0.04	0.370	0.474	0.256	1

A)



B)

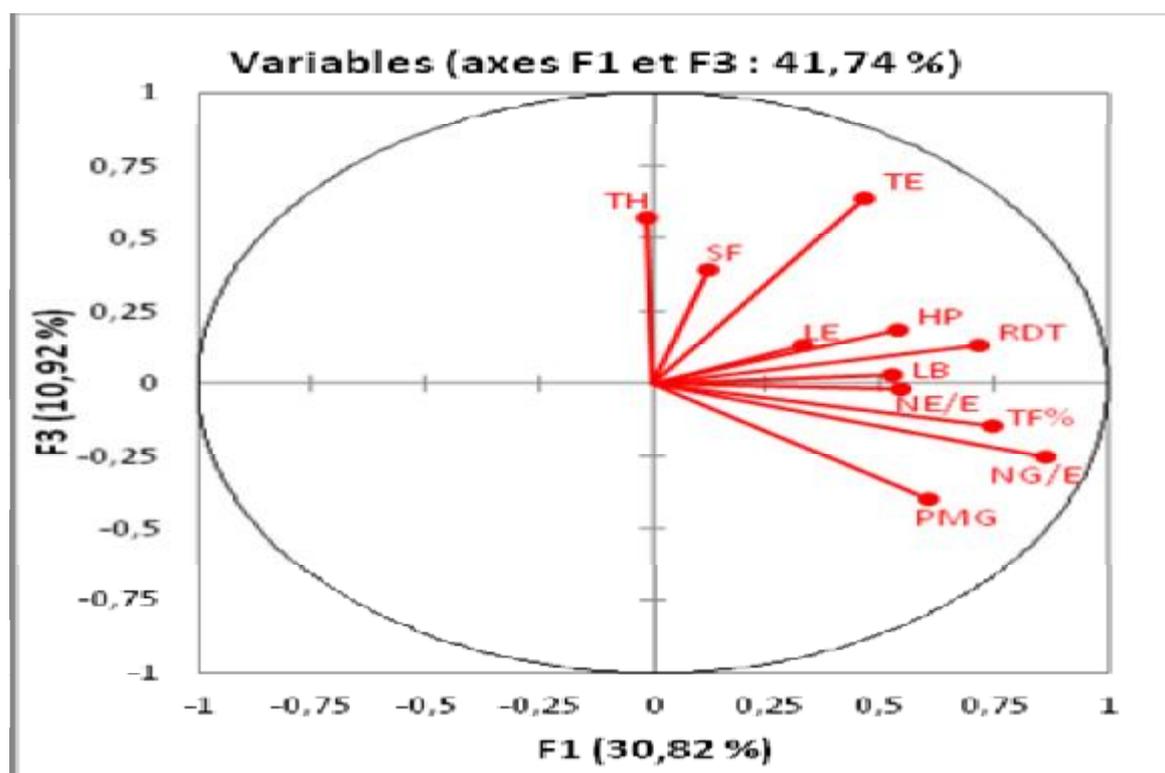


Figure 41: Cercles des corrélations des variables de l'ACP. A) dans le plan 1 / 2 et B) dans le plan 1/3 des 100 génotypes des quatre variétés *alexandrinum* , *murciense* , *valenciae* et *italicum*.

3.1.7. Etude des individus

Les deux plans 1/2 et 1/3 (Figure 41) présentent la dispersion graphique des individus sur la base de l'analyse en composantes principales(ACP). Cette dispersion nous a permis de répartir les différents génotypes en plusieurs groupes distincts.

-Sur le plan 1/ 2 ,du côté positif de l'axe 1 se trouve les génotypes suivants : alex8 et alex9 de la variété *alexandrinum*, les génotypes mur23, mur34, mur35 de la variété *murciense* et les génotypes val7, val8, val51, val13, val40, val43 et val44 de la variété *valenciae*. Les génotypes ita22, ita24, ita26, ita27, ita30, ita31, ita32, ita39 et ita40 de la variété *italicum* , se distinguent par un poids de mille grains , un taux de fertilité et nombre de grains par épi plus élevés.

Alors que les génotypes mur4, mur5, mur6, mur8, mur9, mur10, mur11, mur12, mur13, mur17, mur19 , mur20, mur21, mur22, mur25, mur26, mur28, mur31, mur32, mur38, mur40 et mur41 de la variété *murciense* et les génotypes val15, val36 de la variété *valenciae* sont situent du côté négatif de l'axe1se traduisent par de faibles valeurs des paramètres précédents.

Sur l'axe 2 du côté positif se trouvent les génotypes suivants : mur14,mur16 de la variété *murciense* et les génotypes val2 , val5, val6 , val10, val11, val18, val19, val20, val21, val22, val23, val25, val26, val27, val28, val29, val32, val34, val35, val37, val38 de la variété *valenciae*, qui se caractérisent par une grande surface foliaire. Du côté négatif de ce même axe se trouvent les génotypes alex4, alex6 de la variété *alexandrinum*, les génotypes mur1, mur2, mur24 de la variété *murciense* et les génotypes ita25, ita28, ita29, ita38 de la variété *italicum* qui se distinguent par la paille haute et un nombre d'épillets par épi très élevé.

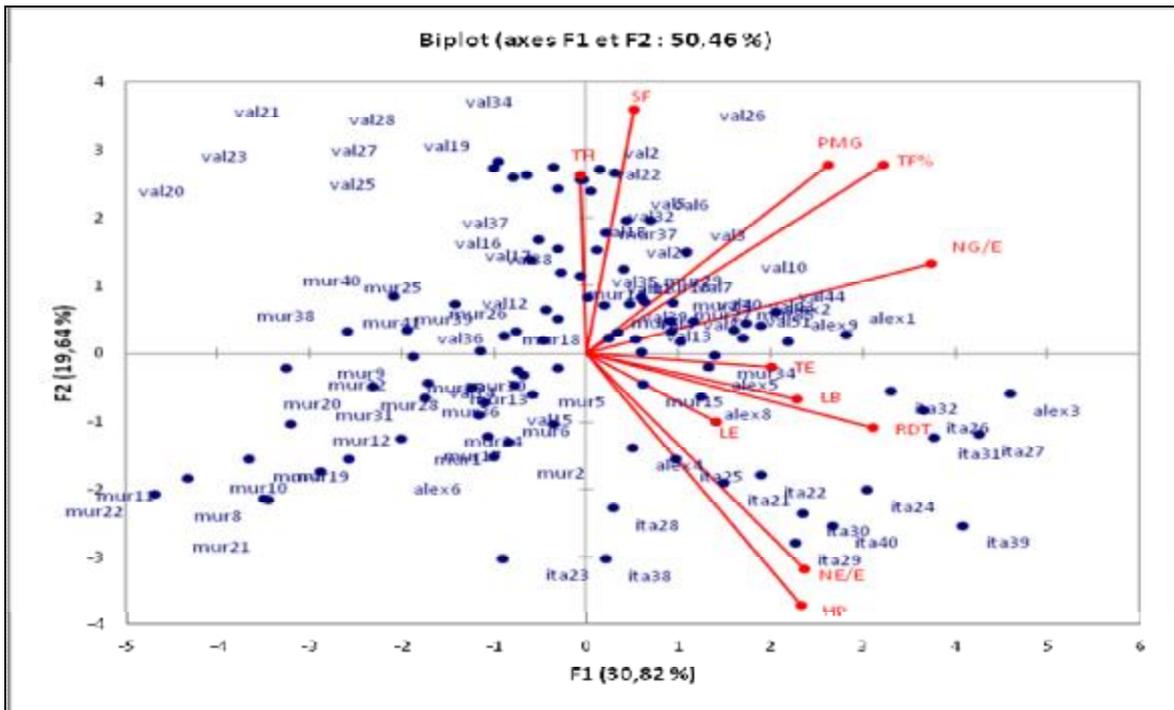


Figure 42: Représentation graphique des 100 génotypes des quatre variétés (*alexandrinum* , *murciense* , *valenciae* et *italicum*) dans le plan 1/ 2

- Dans le plan 1/3 (Figure 42) la dispersion des individus montre que : les génotypes val3, val14, val16, val17 de la variété *valenciae* et le génotype ita23 se trouvent dans la partie positive de l'axe3. Celui-ci se caractérise par un tallage épi et tallage herbacé très élevés. Contrairement aux génotypes mur7, mur15, mur18, mur27, mur29, mur30, mur33, mur36, mur37, mur39, de la variété *murciense* et les génotypes val4, val12, val39, de la variété *valenciae* , et le génotype ita21 qui se situent du coté négatif du même axe .ces individus se caractérisent par un faible tallage herbacé , et tallage épi.

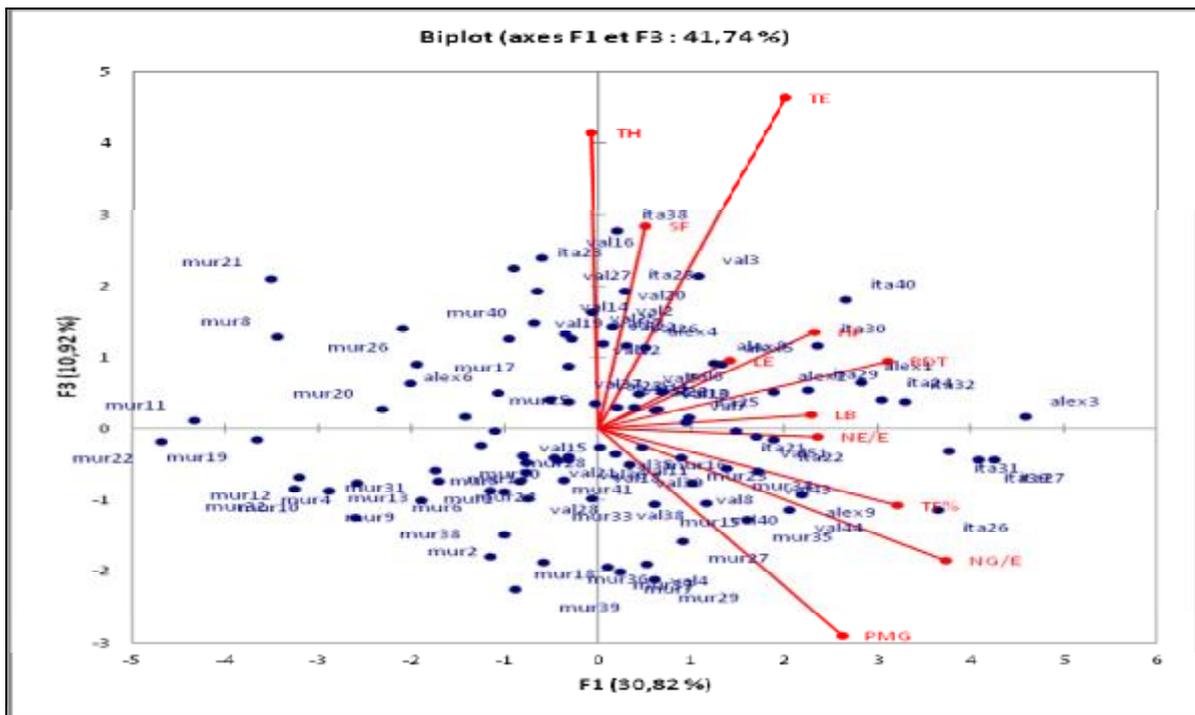


Figure 43: Représentation graphique des 100 génotypes des quatre variétés (*alexandrinum*, *murciense*, *valenciae*, *italicum*) dans le plan 1/3

3.1.8. Classification hiérarchique des paramètres agro-morphologiques

La classification hiérarchique des caractères agro-morphologiques (figure 43), répartit les différents génotypes en deux grands groupes distincts de similarité équivalente de 100%.

- Le premier grand groupe est divisé en deux sous groupes :
 - Le premier sous groupe est constitué d'un seul génotype mur8 de la variété *murciense*.
 - Le deuxième sous groupe regroupe les génotypes mur11, mur22, mur19, mur21, mur17 de la variété *murciense* et les génotypes ita28, ita23, ita38 de la variété *italicum* qui sont proche avec une similarité de 86%.
- Le deuxième grand groupe est structuré de deux sous groupes :
 - Le premier sous groupe formé de deux sous sous groupe :
 - Le premier s/sous groupe englobe les génotypes val26, val3, val22, val2, val5, val19, val34 avec une similarité de 94%.
 - Le deuxième s/sous groupe comprend les génotypes val35, val14, val16, val21, val28, val20, val4, val32, val6, val23, val27, val18, val25, val29, val44, val40, val43, val10, val11, val7, val37, val39, val15, val38, val8, val12, val36 de la variété *valenciae* et les

génotypes mur16, mur7, mur39, mur15, mur41, mur29, mur22, mur35, mur23, mur34 qui sont proche avec une similarité de 90%.

- Le deuxième sous groupe est structuré de deux sous sous groupes :

- Le premier s/sous groupe comporte les génotypes val15, val13 de la variété *valenciae* et les génotypes mur1,mur30,mur6 ,mur24 et mur33 de la variété *murciense* , les génotypes alex4,alex8,alex3,alex1,alex5,alex2 et alex9 de la variété *alexandrinum* et les génotypes ita22,ita40,ita24,ita29,ita30,ita39,ita31et ita32 de la variété *italicum* avec un taux de similarité 89%.

- Le deuxième sous/sous groupe est formé des génotypes mur40 , mur10, mur12, mur4 , mur20 , mur32 , mur25 , mur28 , mur13 , mur26 , mur5 ,mur14 ,mur38 ,mur18 , mur2 , mur36 , mur9 et mur31 de la variété *murciense* , et le génotype alex6 de la variété *alexandrinum* , le génotype val17 de la variété *valenciae*.

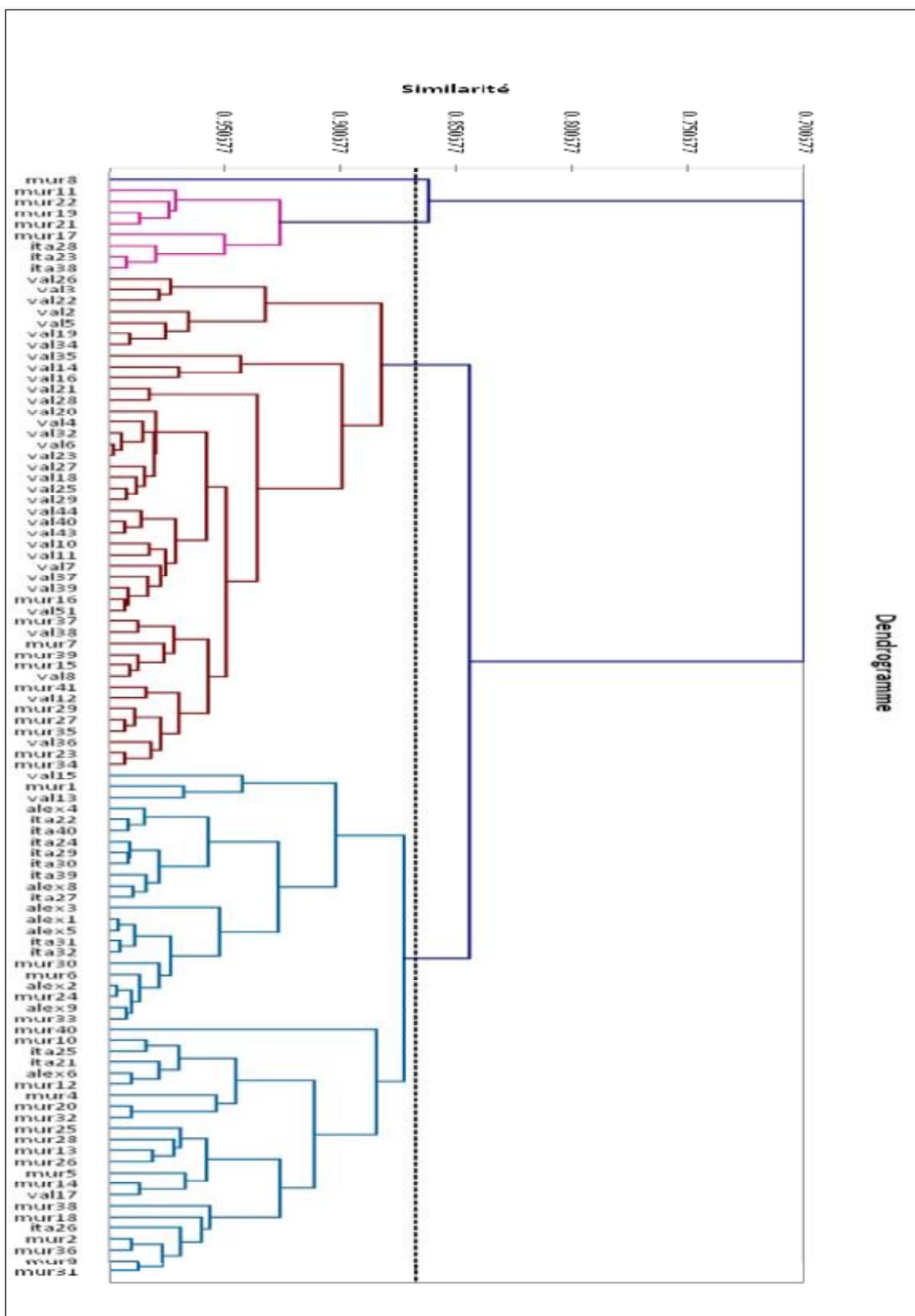


Figure 44 : Dendrogramme des paramètres agro-morphologiques de 100 génotypes des quatre variétés (*alexandrinum*, *murciense*, *valenciae*, *italicum*)

3.1.9. Conclusion

L'étude des paramètres agro-morphologiques des 100 génotypes des quatre variétés a montrée une diversité intra et inter-variétale importante. Les résultats obtenus par l'analyse en composantes principales a permis de ressortir 6 groupes qui se différencient par les aspects morphologiques et les composantes du rendement de sorte que :

-Le premier groupe est constitué par certains génotypes appartenant aux variétés , *alexandrinum* , *murciense* , *valenciae* et *italicum* regroupant les plantes les plus performantes par rapport aux longueurs de l'épi , barbe , taux de fertilité , nombre des grains par épi , poids de mille grains et le rendement.

-Le deuxième groupe formé par certains génotypes appartenant aux variétés *murciense* et deux génotypes de la variété *valenciae*, les plantes de ce groupe sont moins développés par rapport au 1^{er} groupe.

-Le troisième groupe se compose de deux génotypes de la variété *murciense* et quelques génotypes de la variété *valenciae* , ce groupe possède une surface foliaire très importante.

-Le quatrième groupe comprend deux génotypes de la variété *alexandrinum*, trois génotypes de la variété *murciense* et quatre génotypes de la variété *italicum* , qui se distinguent par hauteur de la plante et le nombre d'épillets par épi moins important.

-Le cinquième groupe renferme quatre génotypes de la variété *valenciae* et un seul génotype de la variété *italicum*. Ces génotypes se caractérisent par un fort tallage herbacé et tallage épi très important.

-Le sixième groupe constitué de certains génotypes de la variété *murciense* , trois génotypes de la variété *valenciae* et un seul génotype de la variété *italicum* qui s'oppose au groupe précédent par un faible tallage herbacé et un faible tallage épi .

-La classification hiérarchique des paramètres agromorphologiques répartit les différents génotypes en deux grands groupes :

-Le premier grand groupe regroupe six génotypes de la variété *murciense* et trois génotypes de la variété *italicum* .

-Le deuxième grand groupe est divisé en deux sous groupes, le premier sous groupe renferme 34 génotypes de la variété *valenciae* et 11 génotypes de la variété *murciense* . Le deuxième sous groupe est constitué par 3 génotypes de la variété *valenciae* , 23 génotypes de la variété *murciense* , 12 génotypes de la variété *italicum* et les 8 génotypes de la variété *alexandrinum*.

3.2. Etude biochimique

L'analyse du polymorphisme protéique des 100 génotypes appartenant aux quatre variétés *alexandrinum*, *valenciae*, *murcienset* et *italicum* par électrophorèse monodimensionnelle en présence de SDS-PAGE, nous a permis de déterminer le polymorphisme existant au niveau des gliadines. Ce polymorphisme est montré par un Dendrogramme .

3.2.1. Protéines de réserve

3.2.1.1. Les gliadines

-Variété *alexandrinum*

D'après le profil électrophorétique tous les génotypes de la variété *alexandrinum* sont matérialisés par la présence d'une bande de poids moléculaire de 90KDa (Zone A) qui convient à γ gliadine. ainsi que la présence des bandes de poids moléculaire entre 15 et 45 KDa (Zone B) qui convient aux α et β gliadines,. De ce fait, les génotypes numérotés de 1 à 8 sont caractérisés par la présence des gliadines manifesté par bandes de poids moléculaire entre 15 et 90KDa. Ce résultat présent un polymorphisme étroit entre les différents génotypes, ce ci est montré par le dendrogramme de similarité des quatre variétés de l'accession étudiée (Figure 45).

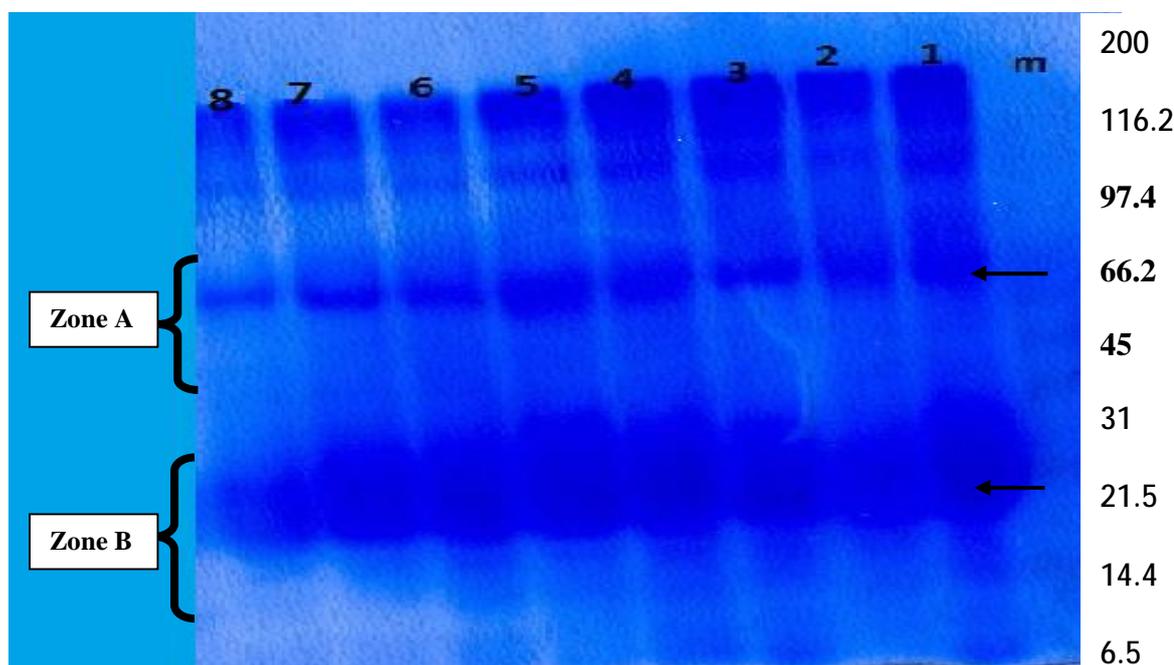


Figure 45: Electrophorégramme des gliadines des génotypes de la variété *alexandrinum* (1 à 8)

Le Dendrogramme des génotypes de la variété *alexandrinum* montre deux groupes distincts, dont :

- Le premier groupe renferme le génotype alex9 seulement.
- le deuxième groupe comporte les génotypes alex1, alex2, alex3, alex4, alex5, alex6 et alex8 qui sont proches génétiquement. Il est à signaler que le taux de similarité entre ces deux groupes est de 88.3% (Figure 46).

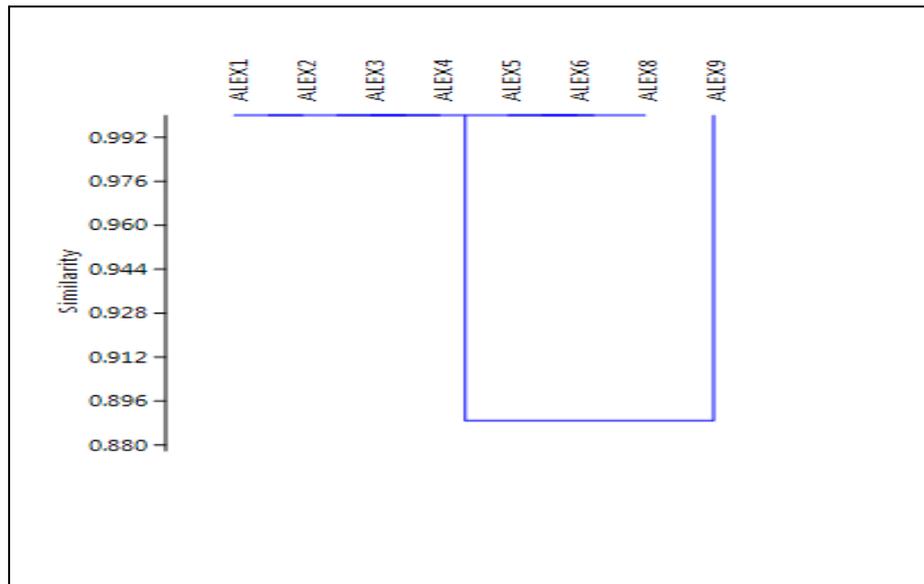


Figure 46: Dendrogramme des gliadines des génotypes de la variété *alexandrinum*

-Variété murciense

Le profil électrophorétique des génotypes 9 à 15 de la variété *murciense* présente des bandes de poids moléculaire entre de 70 à 90KDa (Zone A) qui conviennent à γ gliadine et des bandes de poids moléculaire entre 15 et 20KDa (Zone B) qui conviennent à α et β gliadines (Figure 47 A).

Le profil électrophorétique des génotypes 16 à 24 montre des bandes de poids moléculaire entre 60 et 70KDa (Zone A), et des bandes de poids moléculaire de 40 à 50KDa (Zone B) (Figure 47 B).

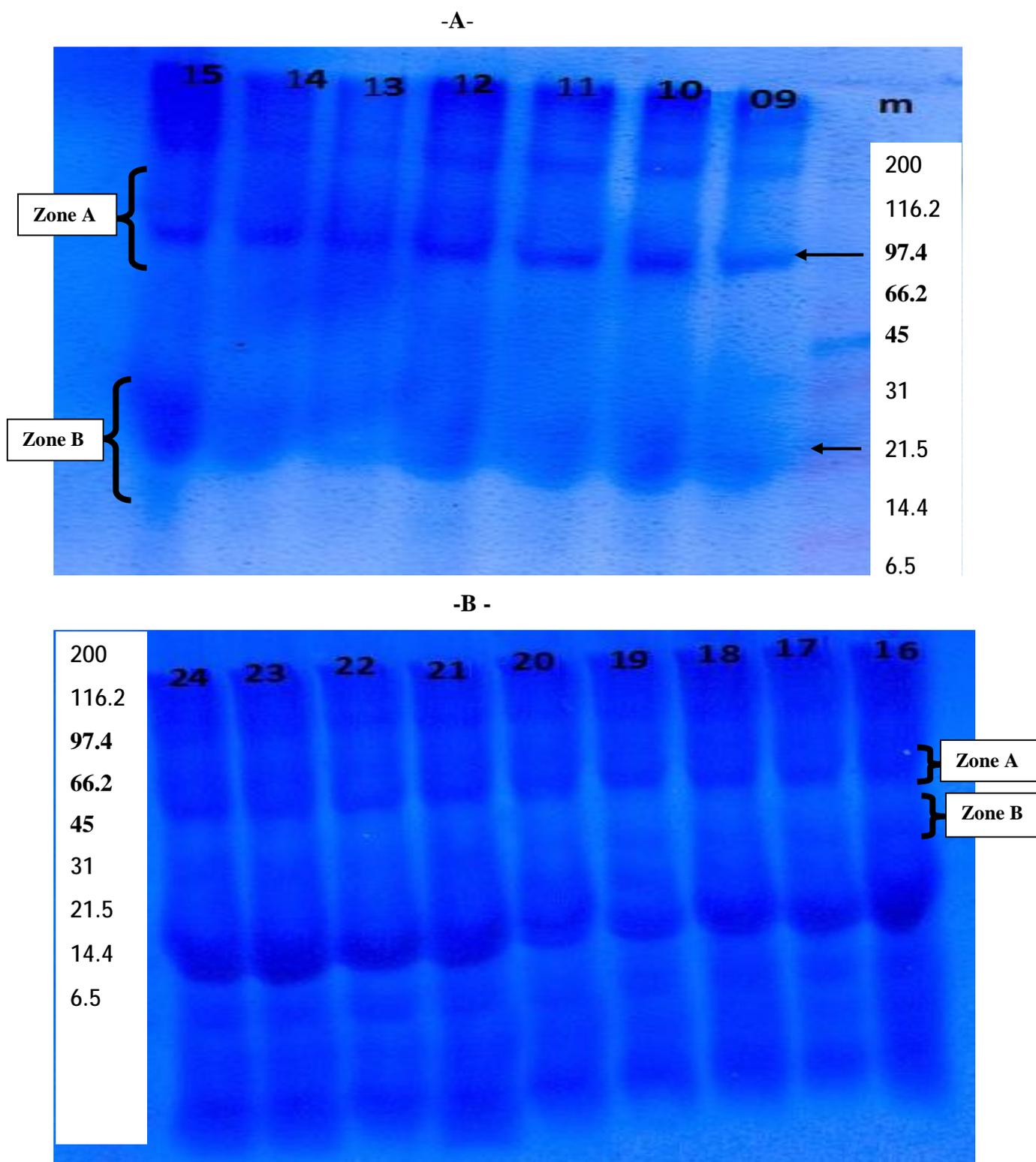
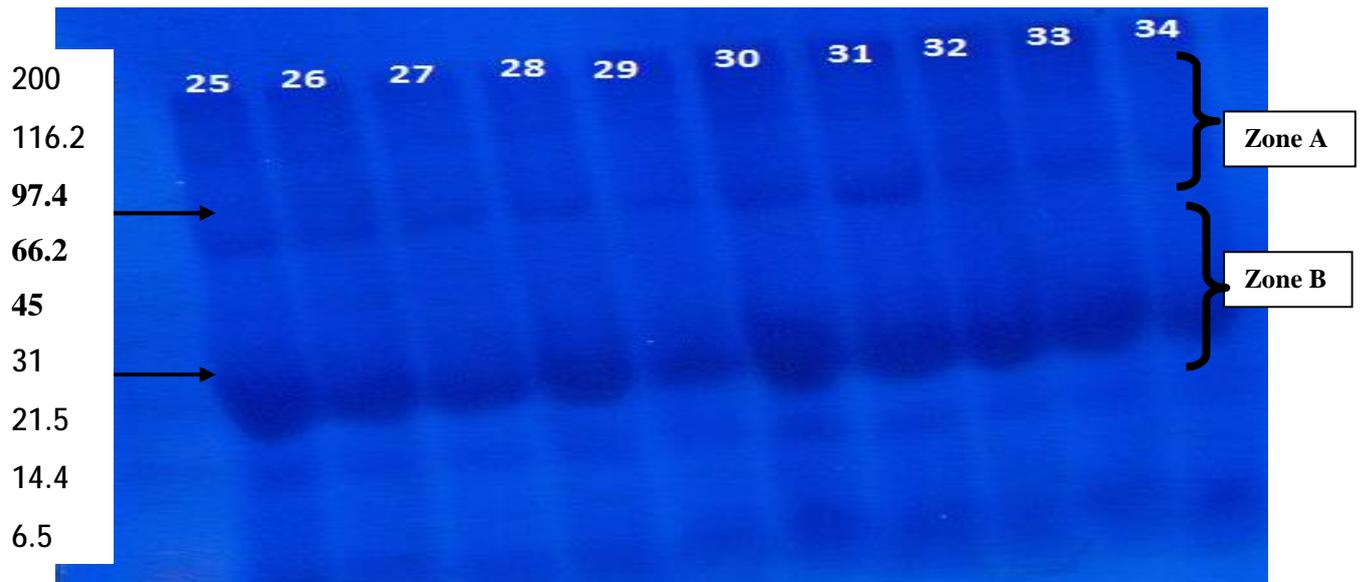


Figure 47 (A et B): Electrophorégramme des gliadines des génotypes (9 à 15 et 16 à 24) de la variété *murciense*

Les génotypes 25 à 34 représentés sur le profil électro-phorétique sont caractérisés par des bandes de poids moléculaire entre 70 et 90KDa (Zone A) (Figure 47 C), et autres bandes de poids moléculaire entre 30 et 40KDa (Zone B).

Le profil électro-phorétique des génotypes 35 à 44 sont matérialisés par des bandes de poids moléculaire 90KDa (Zone A) (Figure 47D).

-C-



-D-

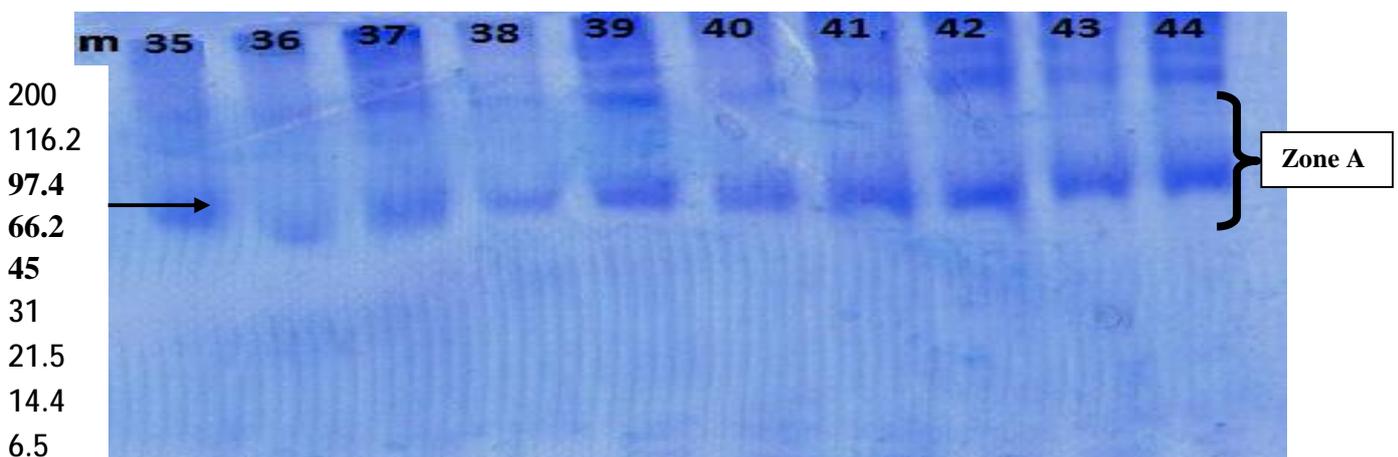


Figure 47 (C et D) : Electrophorégramme des gliadines des génotypes de la variété *murciense* (génotypes : 25 à 34 et 35 à 44).

Le Dendrogramme des gliadines des génotypes de la variété *murciense* présente trois grands groupes dont :

- le premier groupe est constitué de 4 génotypes mur38, mur39, mur40, mur41.
- le deuxième groupe est formé d'un seul génotype mur36 et le troisième groupe est composé de 5 sous groupes, à savoir le premier sous groupe qui est composé des génotypes mur23, mur24, mur25, mur26, mur27, mur28, mur29, mur30, mur31 avec un taux de similarité de 58% ; le deuxième sous groupe comporte les génotypes mur12, mur13, mur14, mur15, mur16, mur17, mur18, mur19, mur20, mur21 avec un taux de similarité de 72% .
- le troisième sous groupe regroupe les génotypes mur9, mur10 et mur11 avec un taux de similarité de 48% (Figure 48).

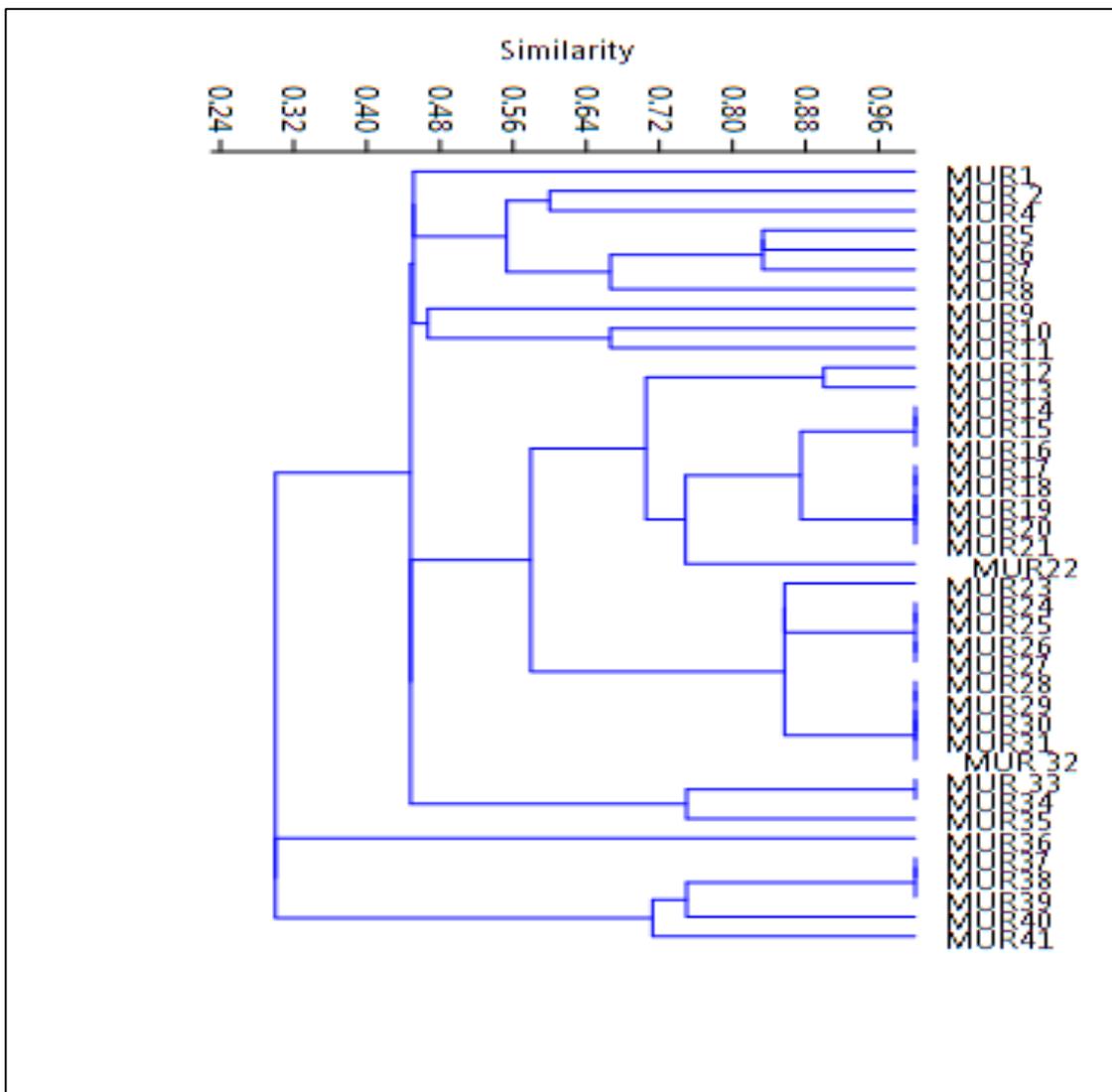


Figure 48: Dendrogramme des génotypes de la variété *murciense* .

- Variété *valenciae*

Le profil électro-phorétique des génotypes de 49 à 57 montrent la présence des bandes de poids moléculaire de 130KDa (Zone A) qui convient à ω -gliadine . d'autres bandes de poids moléculaire de 60 à 70KDa (Zone B) et, ce qui confirme leurs différences par rapport aux génotypes des variétés *murciense* et *alexandrinum* (Figure 49A). Cependant, les génotypes de 85 à 78 de la même variété *valenciae* montre seulement des bandes de poids moléculaire de 60 à 70KDa (Zone B) (annex 8).

Les génotypes de 58 à 67 se caractérisés par la présence de bandes de poids moléculaire entre 60 et 70KDa (Zone A) qui convient à γ -gliadine, et des bandes de poids moléculaire de 20 à 30KDa (Zone B) qui convient à α -gliadine (Figure 49B).

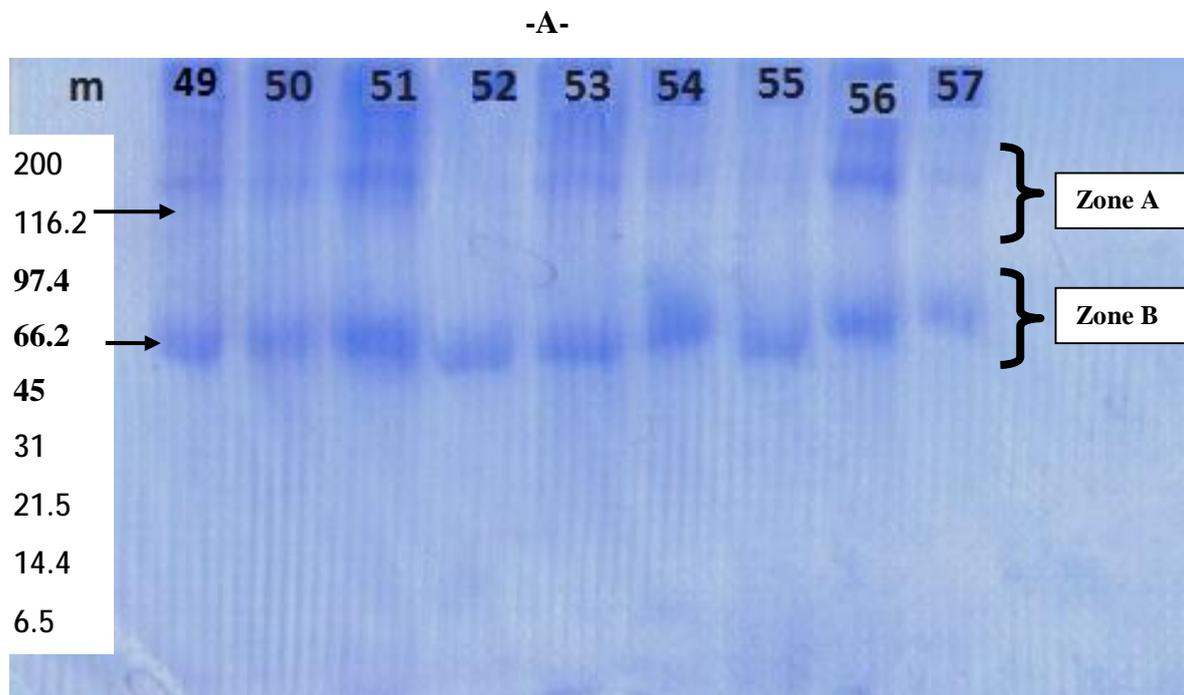


Figure 49 A: Electrophorogramme des gliadines des génotypes de la variété *valenciae* (génotypes : de 49 à 57).

-B-

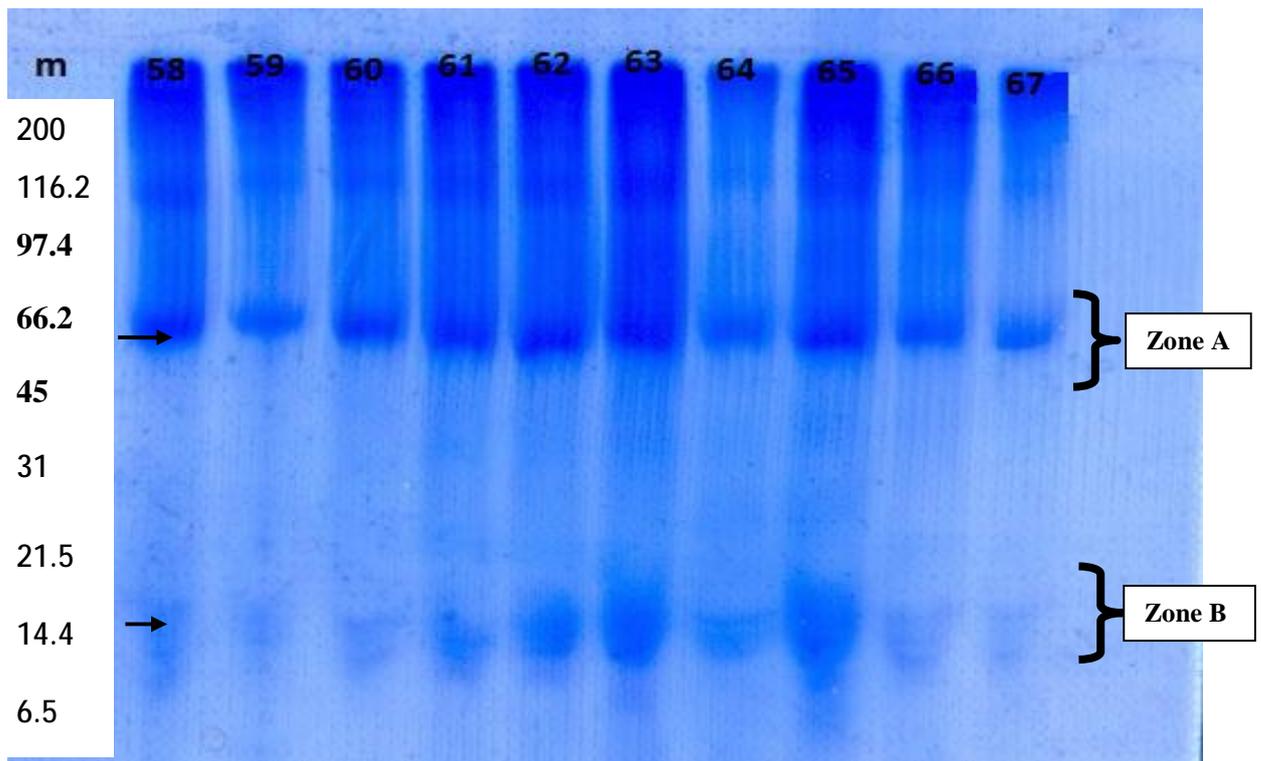


Figure 49 B: Electrophorogramme des gliadines des génotypes de la variété *valenciae* (génotypes : de 58 à 67).

La classification hiérarchique des génotypes de la variété *valenciae* (Figure 50), répartit les génotypes en 10 grands groupes :

- Le premier groupe comporte les génotypes val21, val22, val23, val25, val26, val27, val28, val29, val32, val34, val35, val36, val37, val38, val39, val40, val 43 et val44. Ces deux groupes sont très loin d'un troisième groupe.
- Le deuxième, troisième, quatrième, cinquième, sixième, septième, huitième et le neuvième groupe sont des groupes individuels qui ne présentent aucune similarité avec les autres génotypes.
- le dixième groupe comporte les génotypes val2, val3, val4, val5, val6, val7, val8, val9, val10, val11.

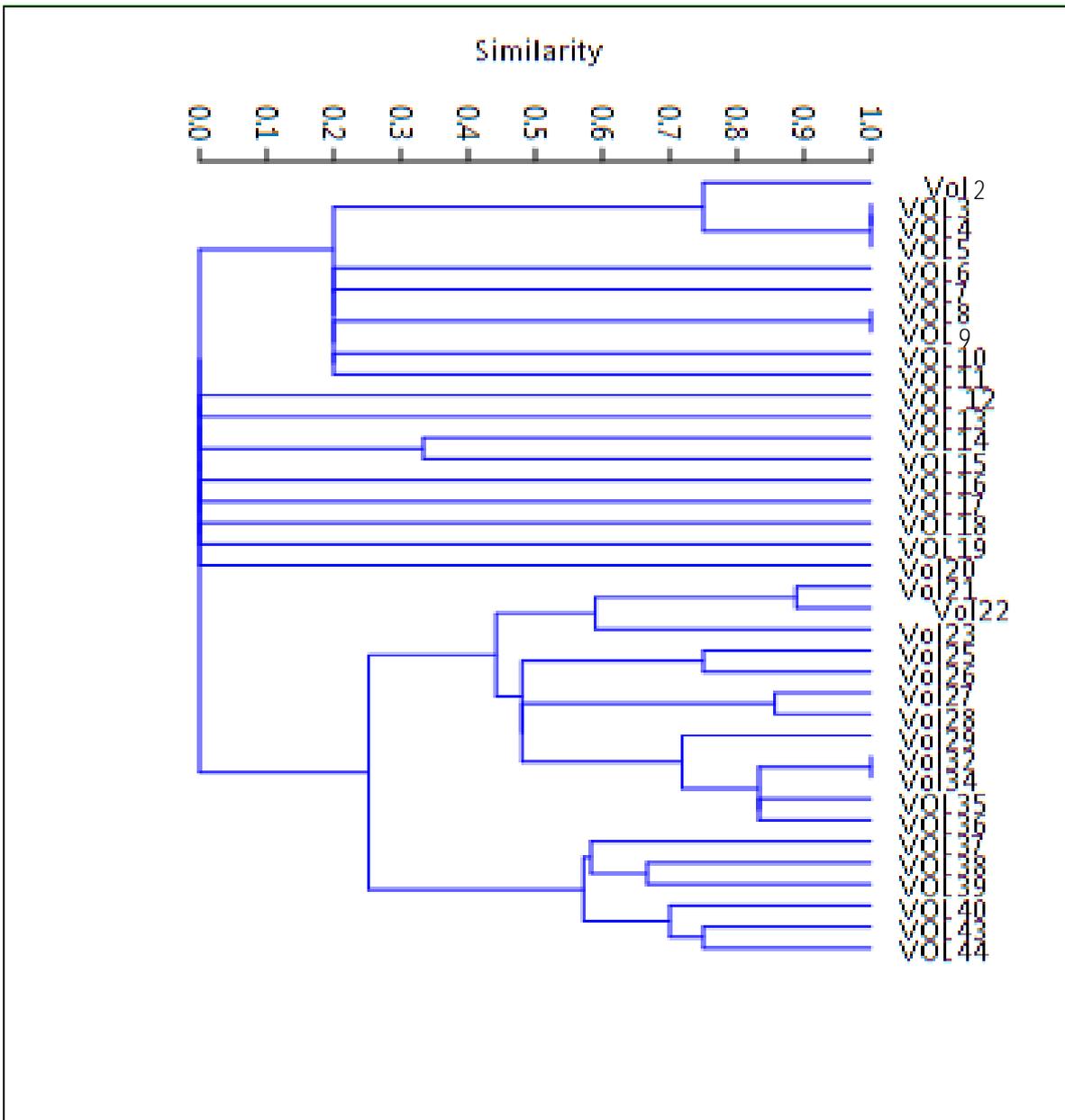


Figure 50 : Dendrogramme des gliadines des génotypes de la variété *valenciae*.

- Variété *italicum*

Le profil électro-phorétique de 10 génotypes de la variété *italicum* (86 à 95) possédant des protéines de réserve des gliadines et qui ont révélé des bandes se situent dans la zone γ -gliadine, de poids moléculaire 60 à 70KDa (Zone B) (Figure 51).

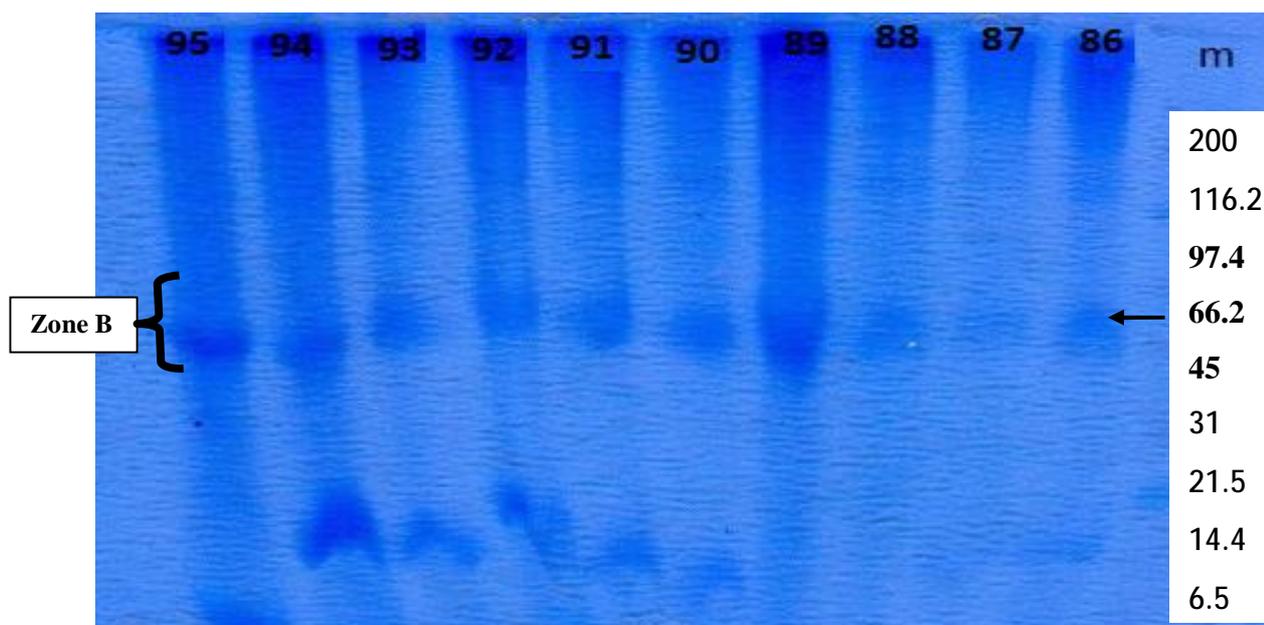


Figure 51: Pro Electrophorégramme des gliadines des génotypes de la variété *italicum* (de 86 à 95).

La classification hiérarchique des protéines des gliadines de la variété *italicum* a révélé quatre principaux groupes hétérogènes.

- Le premier grand groupe est composé de deux sous groupes :
 - Le premier sous groupe comprend les génotypes ita21 et ita22 qui sont très proches avec un taux de similarité d'environ 86%.
 - Le deuxième sous groupe est formé par les génotypes ita23, ita24, ita25 qui présentent un taux de similarité 90%, et le génotype ita26 qui ressemble avec ces génotypes avec un taux de similarité 64%.
- Le deuxième grand groupe est constitué d'un seul génotype ita27.
- Le troisième grand groupe renferme deux génotypes ita29 et ita28 avec un taux de similarité 76%.
- Le quatrième grand groupe est constitué de deux sous groupes :
 - Le premier sous groupe est constitué d'un seul génotype ita30.
 - Le deuxième sous groupe est structuré des génotypes ita31, ita32, ita38, ita39 et ita40, avec un taux de similarité 48% (figure 52).

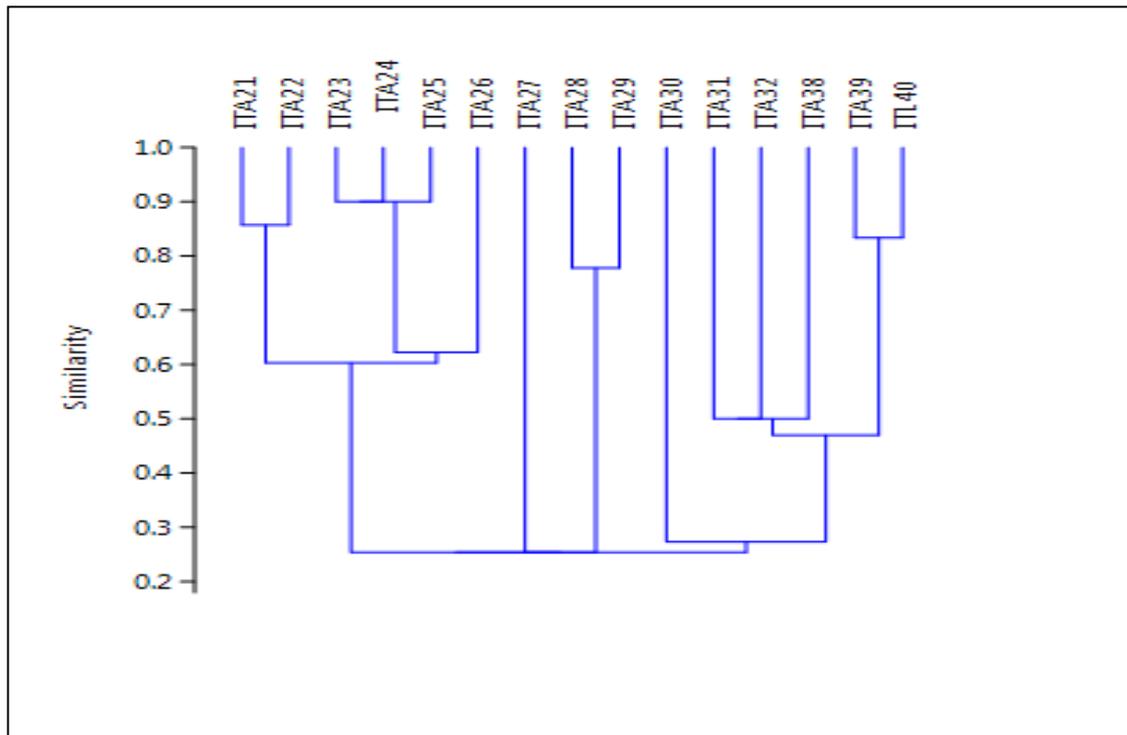


Figure 52 : Dendrogramme des gliadines des génotypes de la variété *italicum*

3.2.1.2. La classification hiérarchique des gliadines des quatre variétés

La classification hiérarchique des protéines des gliadines (Figure 53) des quatre variétés *alexandrinum*, *murciense*, *valenciae* et *italicum*, répartit les 100 génotypes en 5 principaux clusters dont le premier, le deuxième, le troisième et le cinquième cluster se constitués par un seul génotype de la variété *valenciae* (génotypes val20, val17, val16, et val13) respectivement ; le quatrième cluster se divise en deux groupes, à savoir, le premier groupe englobe deux génotypes (val14 et val15) de la variété *valenciae* avec un taux de similarité de 35% et le deuxième groupe comprend de sa part deux sous groupes, à savoir, le premier sous groupe qui est formé aussi de deux sous groupes dont :

- Le premier sous groupe renferme les génotypes (val 12, val 25, val 26, val 29, val32, val34, val 36, val 35, val 21, val 22, val 27, val 28, val 23, val40, val7, val37, val 43, val 3, val 4 ,val 44, val 10, val 19) de la variété *valenciae* , et les génotypes (mur8, mur22, mur12, mur13, mur17, mur18, mur19, mur20, mur21, mur14, mur15, mur16, mur1, mur23, mur28, mur29, mur30, mur31, mur32, mur24, mur25, mur26, mur27, Mur5, mur7, mur11, mur6, mur41, mur10, mur4, mur2, mur33, mur34, mur37, mur38, mur39, mur40, mur35) de la variété *murciense* avec

un taux de similarité varie entre 75% et 90% . Les génotypes (alex9, alex8, alex6, alex5, alex4, alex3, alex2, alex1) de la variété *alexandrinum* avec un taux de similarité de 89% et finalement les génotypes (ita22, ita21, ita25, ita24, ita28, ita39, ita26, ita40, ita29, ita31, ita38, ita27, ita30, ita32) de la variété *italicum*.

Il est à signaler que tous ces génotypes présentent entre eux un taux de similarité de 15%.

- Le deuxième sous groupe se compose de deux génotypes de la variété *murciense* (mur9, mur 36) et les génotypes (val6, val11, val38, val39) de la variété *valenciae* avec un taux de similarité 33% (Figure 52).

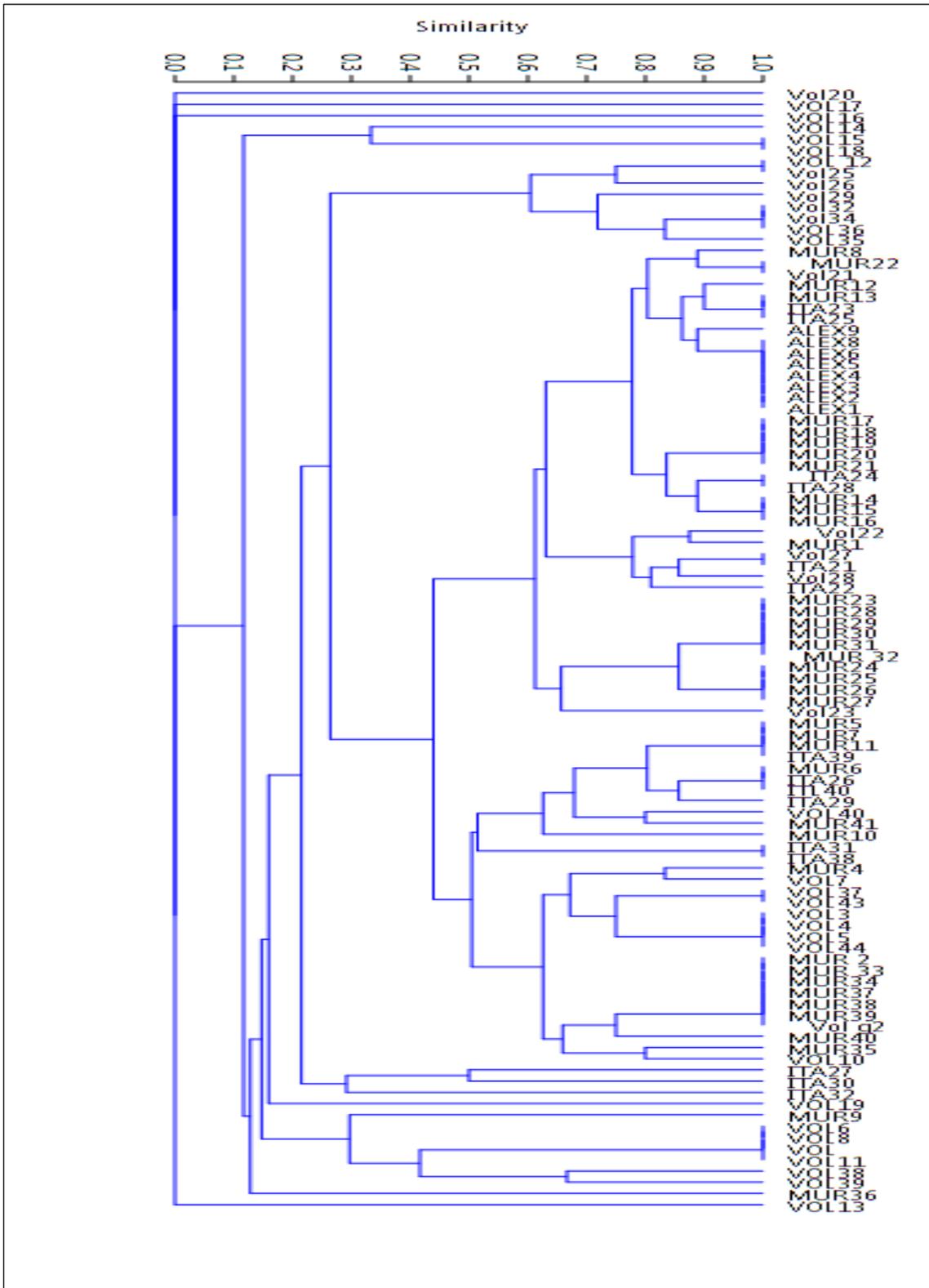


Figure53 : Dendrogramme des gliadines des quatre variétés étudiées
(*alexandrinum*,*murciense*,*valenciae* et *italicum*)

3.2.1.3. Discussion

Les résultats obtenus des protéines des gliadines montrent l'existence d'un large polymorphisme des zones de α - β gliadines, γ -gliadine et ω -gliadine entre les 100 génotypes de l'accession, mais avec un étroit polymorphisme intra-variétale surtout entre les génotypes de la variété *alexandrinum*. Cette diversité constaté au niveau des bandes des gliadines s'accorde avec les travaux réalisés par Zaefizadeh *et al.*, (2010) qui ont montrés la présence d'une grande variation des γ et ω gliadines que dans les α et β gliadines dans les variétés locales de blé dur du nord-ouest de l'Iran et l'Azerbaïdjan. Cependant Tanaka *et al.*, (2003) et Caballero *et al.*, (2004) ont également montré une plus grande variation dans les ω - et γ -gliadines que dans α - et β -gliadines dans les cultivars japonais et espagnol.

Sewa *et al.*, (2005) ont trouvé 45 bandes de gliadines différentes dans 157 variétés de blé Indien. Caballero *et al.*, (2004) ont détecté jusqu'à 72 bandes différentes dans 403 lignes de blé. Zaefizadeh *et al.*, (2010) ont également trouvé 66 bandes parmi 46 génotypes de blé dur. Aliyeva *et al.*, (2012) ont détecté 62 bandes différentes lors de l'analyse de 68 accessions de blé. Aussi Harch *et al.*, (1997) ont trouvé 30 bandes lors de l'analyse de 16 cultivars de blé.

3.2.1.4. Les gluténines

L'appréciation du polymorphisme des gluténines (HPM et FPM) des génotypes des quatre variétés *alexandrinum*, *murciense*, *valenciae* et *italicum* n'est pas possible à cause des résultats des gels préparés qui n'étaient pas clairs cela est due probablement à leur faiblesse, pour cela, on a préféré de ne pas les interpréter et les mettre dans la partie annexe (Annexe 8).

3.2.1.5. Conclusion

Les résultats obtenus à travers les profils électro-phorétiques des protéines des gliadines des différents génotypes des quatre variétés de l'accession étudié montrent une diversité moins importante entre les génotypes de la même variété et une diversité importante entre les quatre variétés de sorte que tous les génotypes de la variété *alexandrinum* présentent les mêmes bandes α - β et γ gliadines ce qui confirme leurs ressemblances.

-Les génotypes de la variété *murciense* montrent une diversité importante concernant les α - β -gliadines (allant de 15 jusqu'à 49KDa) et γ -gliadines (de 60 à 90KDa).

- Les génotypes de la variété *valenciae* possèdent des bandes de poids moléculaire de 60 à 70KDa (zone de γ -gliadine) , alors qu' on a remarqué la présence des bandes de α -gliadine seulement chez les génotypes val70, val71, val72, val73, val74, val75, val76, val77, val78, val79. On a constaté aussi la présence claire des bandes de ω -gliadine chez les génotypes val50, val51, val52, val54, val55, val57, val58. Ce qui confirme leur différence par rapport aux autres génotypes de cette variété et les génotypes de toute l'accession.

-Tous les génotypes de la variété *italicum* présentent des bandes de poids moléculaire entre 60 et 70KDa, ce qui implique une ressemblance avec les génotypes de la variété *valenciae*.

La classification hiérarchique des gliadines des 100 génotypes répartit les génotypes en cinq grands groupes : le premier, deuxième, troisième et cinquième groupes, regroupent chacun un seul génotype , val20 , val17, val16 et val13 respectivement . Le quatrième grand groupe comprend le reste des génotypes des quatre variétés avec un taux de similarité 11%.

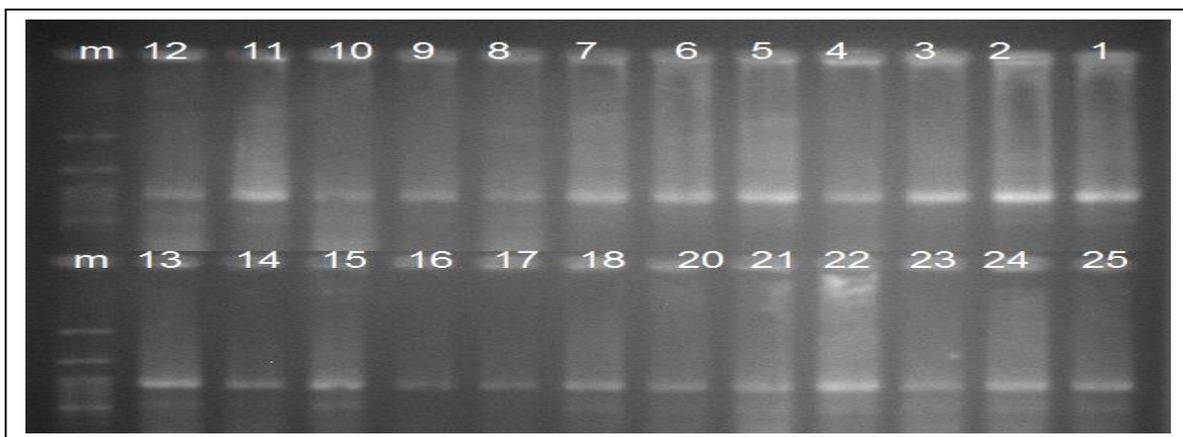
3.3. Etude moléculaire

Afin de déterminer le polymorphisme génétique intra et inter-variétal au niveau des gènes codants des protéines de réserve des 100 génotypes étudiés, nous avons utilisé la technique PCR/Bulk pour détecter la présence de ces gènes chez tous les génotypes de l'accession étudiée, puis on a choisi onze génotypes pour appliquer un marqueur spécifique PCR-RFLP, et le séquençage des gènes codant des gliadines pour montrer le polymorphisme intra et inter-variétale existant entre les génotypes des quatre variétés.

3.3.1. Analyse de la technique PCR / Bulk

La qualité de l'ADN génomique a été vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose à 1% dont la valeur du rapport DO260/DO280 oscille entre 1.92 et 1.95 (Figure 54 A , B , C, D).

-A-



-B-

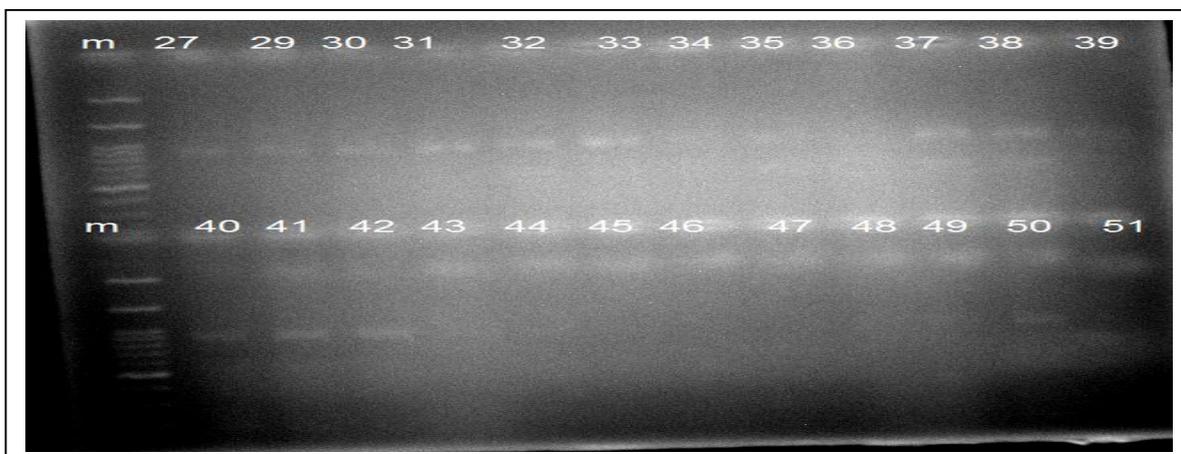
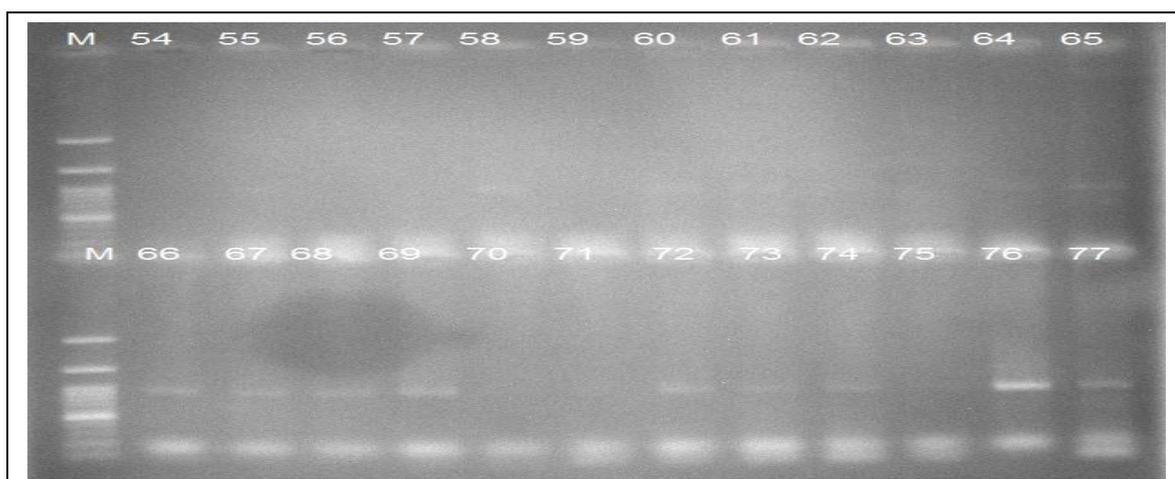


Figure 54 (A et B) : Profil électro-phorétique de l'ADN génomique (Génotypes 1 à 25 et 27 à 51).

-C-



-D-

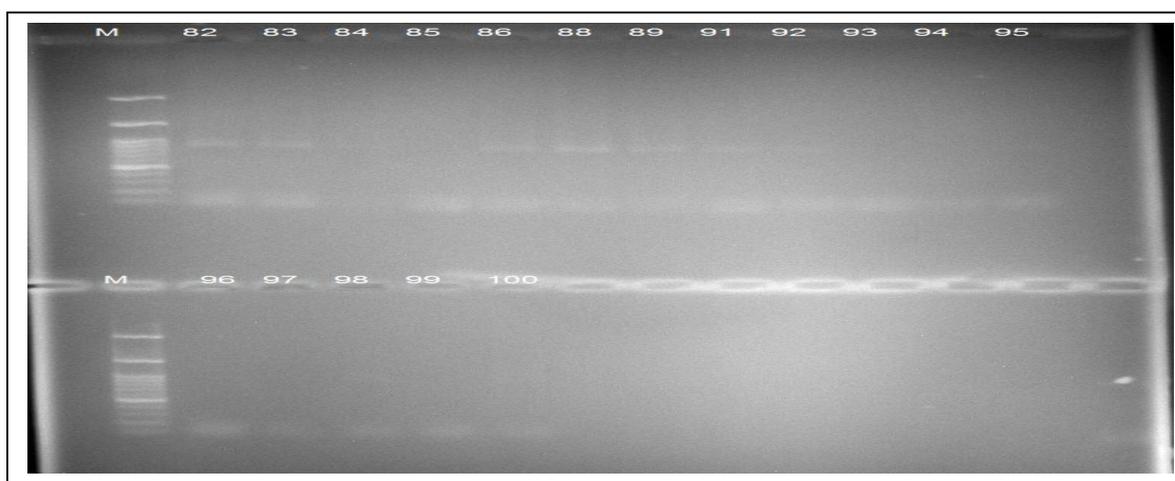


Figure 54 (C et D) : Profil électro-phorétique de l'ADN génomique (Génotypes 54 à 77 et 82 à 100)

3.3.1.1. Gènes des glutenines (HPM et FPM)

Les gels obtenus d'un échantillon de tubes numérotés de 1 à 20 des 100 génotypes étudiés (figure 55 A et B), montrent de très faibles bandes de 527pb ce qui pourrait être lié à l'absence de gène des glutenines (HPM et FPM). En comparant nos résultats avec ceux obtenus par Abdel-Mawgood (2008) ; Noma et *al.*, (2016), sur des variétés du blé dur Egyptien qui ont montré des bandes très visibles avec un poids moléculaire de 527pb, il s'est avéré que nos variétés sont pauvres en gènes de glutenines (HPM et FPM).

Pour Abdel-Mawgood, (2008) les gènes des glutenines (FPM) représentent environ 60% des protéines de glutenine dans les graines matures et jouent un rôle important dans la

formation du macro-polymère de gluténine et de la qualité du gluten, en particulier pour l'extensibilité et la résistance de la pâte. La sous unité (FPM) des gènes des gluténines appartient à une famille multi allélique, le screening d'une banque génomique et l'analyse protéomique chez le cultivar de blé chinois Xiaoyan54 (Glu-A3, Glu-B3 et Glu-D3), a montré l'abondance de (4, 3 et 7 gènes) respectivement.

-A-



-B-



Figure 55(A et B) :Diagramme électrophorétique PCR/Bulk de gènes des gluténines par l'amorce Glu-Dx5 (1 à 20 lots).

3.3.1.2. Gènes des gliadines

Le diagramme électrophorétique de la figure (56 A et B) montre que les 20 tubes des 100 génotypes étudiés, font apparaître la présence des bandes correspondantes aux gènes des gliadines de taille 770pb. Ceci indique que les 100 génotypes sont pourvus de ces gènes et montrent aussi l'existence d'un polymorphisme important entre les génotypes regroupés en lot2, lot5, lot7, lot8, lot9, lot14, lot18 et lot20. Globalement, l'abondance élevée des gènes des gliadines est très marquée dans les tubes 1,2,5,6,7,8,9,11,14,15,16,18 et 20 comparativement aux tubes 3,4,10,13 et 19 où on a remarqué une faible abondance.

A)



B)

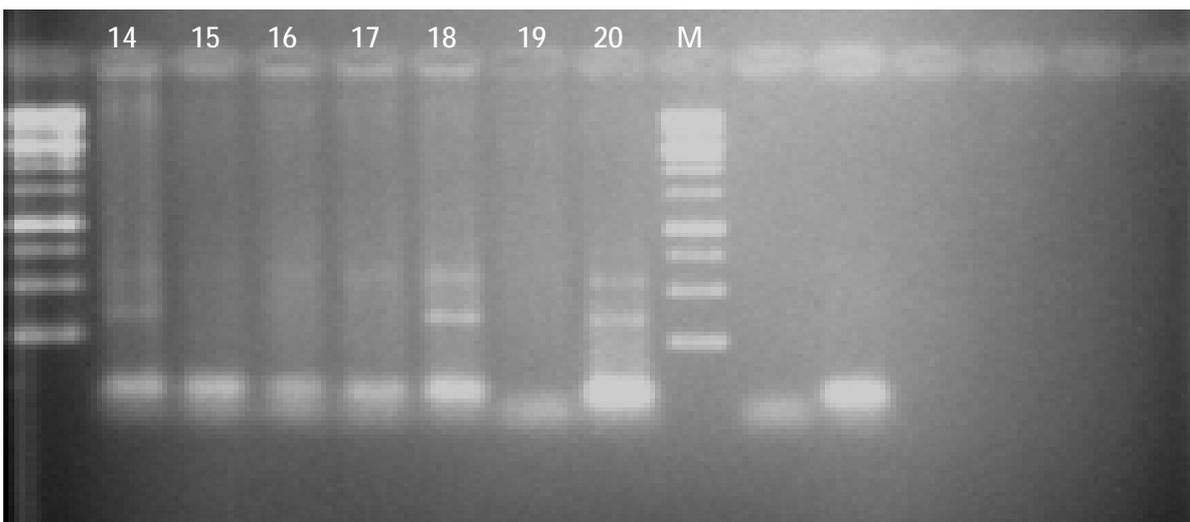


Figure 56 (A et B): Diagramme électrophorétique PCR/Bulk de gène des gliadines par l'amorce 56MN pour les 20 lots.

3.3.2. Analyse du marqueur RFLP

D'après le gel de la figure 57, on a remarqué l'apparition des bandes de même taille (536pb), mais avec une densité non homogène des bandes. Au total 11 fragments monomorphes, parmi eux les échantillons 7 (génotype alex8), 10 (génotype mur2), 11 (génotype mur4) et 51 (génotype val 4) présentent des bandes intenses. Alors que les échantillons 4 (génotype alex4), 76 (génotype val 32), 91 (génotype ita 26) et 92 (génotype ita 27), présentent des bandes moins intenses. Ce qui montre la présence d'un léger polymorphisme. Ce résultat corrobore avec celui de Noma *et al.*, (2016) qui ont trouvé chez le blé tendre des copies multiples estimé de (10-15) à (35-40) et que le nombre de fragments ne diffère pas par rapport à l'amorce utilisée.

Le marqueur que nous avons utilisé a répondu négativement en nombres de bandes et s'est avéré non polymorphe et que chaque bande correspond à l'amplification de la même séquence d'ADN amplifiée (Tableau 12).

Tableau 12: Analyse PCR/RFLP

			Génotypes										
RFLP	Marqueur	P M(pb)	4	7	10	11	18	20	51	76	88	91	92
Amorces F-56MN & R-56MN	Enzymes de restriction (HaeIII, MboII)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Total 11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

bandes intenses (+) = présence, (-) = absence.

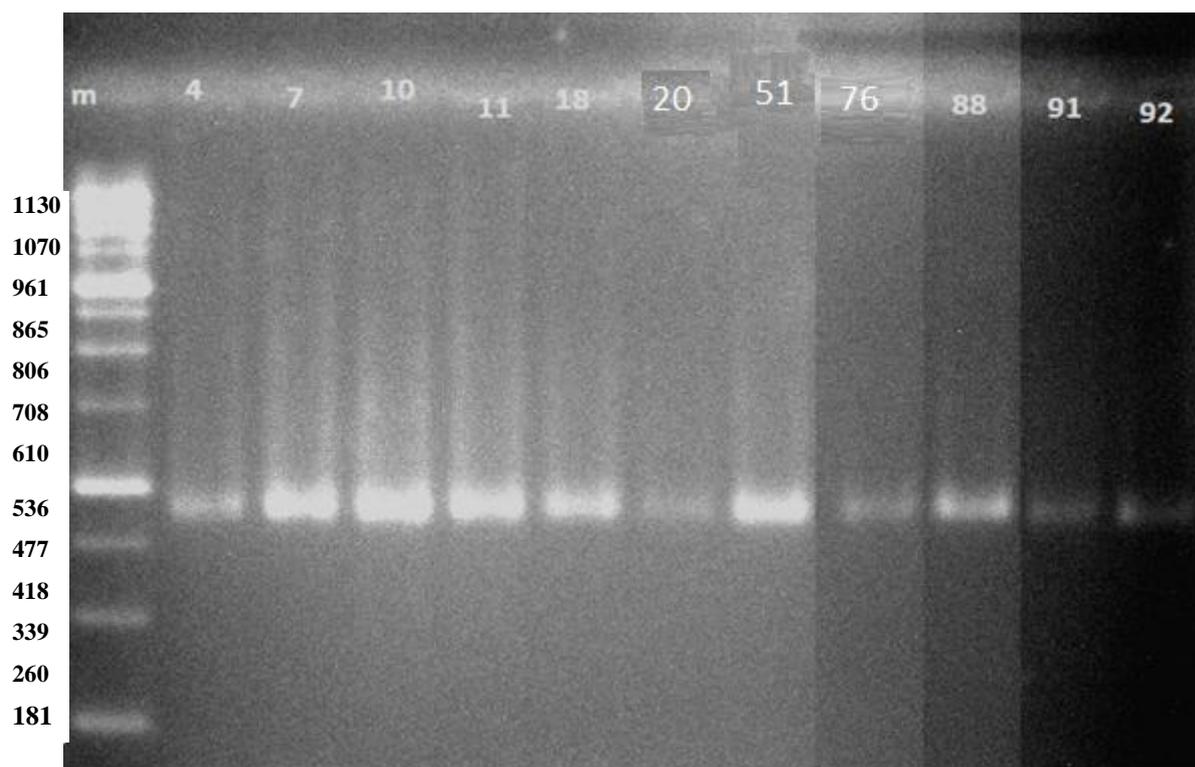


Figure 57 : Diagramme électrophorétique de PCR/RFLP des onze génotypes

M : marqueur moléculaire ;(4,20,76,91,92) : Echantillons des génotypes (alex4, mur13, val32, ita26, ita27) ;(7,10,11,18,51,88) :Echantillons des génotypes(alex8, mur2, mur4, mur11, val4, ita23).

3.3.3. Séquençage de gènes des gliadines

A partir des fragments des séquences obtenues des gènes codant des gliadines de 8 génotypes alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23 (figure 58), montrent l'existence d'un léger polymorphisme inter et intra variétal due à une substitution d'une base pyrimidique T où une dilution, d'où on a observé une substitution chez le génotype ita23 et ita26 de la variété *italicum* et les génotypes de la variété *alexandrinum*. on a remarqué une différence entre la base purique (G) et la base pyrimidique (C) au niveau de la séquence du génotype alex4 et alex8. Alors que les fragments des séquences des génotypes mur2, mur4 de la variété *murciense* et val2 et val32 de la variété *valenciae* présentent une forte homogénéité au niveau du fragment analysé.

La dilution est marquée Ce qui confirme la présence d'un léger polymorphisme entre les huit génotypes testés.

>ita23

TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGAAATTCACTGATAGTCCACCGAGATGG
CTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTGCGCCCTCGTGGCTCTCACCGTCGCTGAAGGT
GAGGCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAGGAGCGCGAGCTCAAG
GCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCCGAGTGCCACCCCGTCGTCG
TCAGCCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTGCCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTA
CCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAACGTATATTTTGGGGAATACCTGCACA
AAAAGGTATTACCCAAGTGTA

>ita26

TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATAATTCACTGATAGTCCACCGAGATG
GCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTGCGCCCTCGTGGCTCTCACCGTCGCTGAAGG
TGAGGCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAGGAGCGCGAGCTCAA
GGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCCGAGTGCCACCCCGTCGTC
GTCAGCCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTGCCGCCCAAGGGCGGATCTTTCT
ACCCCGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAACGTATATTTTGGGGAATACCTGCAC
AAAAAGGTATTACCCAAGTGTA

>mur2

TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACCGAGA
TGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTGCGCCCTCGTGGCTCTCACCGTCGCTGAA
GGTGAGGCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGACAGGAGCGCGAGCTCAAGG
CATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCCGAGTGCCACCCCGTCGTCGT
CAGCCCCGGTCGCGGGACCGAGCAGCAAATCGTGGTGCCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCC
GGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAACGTATATTTTGGGGAATACCTGCACTACTAA
AAAGGTATTACCCAAGTGTA

>mur4

TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACCGAGA
TGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTGCGCCCTCGTGGCTCTCACCGTCGCTGAA
GGTGAGGCCACTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGACAGGAGCGCGAGCTCAAGG
CATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCCGAGTGCCACCCCGTCGTCGT
CAGCCCCGGTCGCGGGACCGAGCAGCAAATCGTGGTGCCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCC
GGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAACGTATATTTTGGGGAATACCTGCACTACTAA
AAAGGTATTACCCAAGTGTA

> val4

TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACCGAGA
TGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTGCGCCCTCGTGGCTCTCCGTCGCTGAAGG
TGAGGCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAGGAGCGCGAGCTCAA
GGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCCGAGTGCCACCCCGTCGTC
AGCCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTGCCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTAC
CCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAACGTATATTTTGGGGAATACCTGCACTAC
TAAAAAGGTATTACCCAAGTGTA

>val32

TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACCGAGA
TGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTGCGCCCTCGTGGCTCTCCGTCGCTGAAGG
TGAGGCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAGGAGCGCGAGCTCAA
GGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCCGAGTGCCACCCCGTCGTC
AGCCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTGCCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTAC
CCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAACGTATATTTTGGGGAATACCTGCACTAC
TAAAAAGGTATTACCCAAGTGTA

>alex4

TTATCATCACCCACAA**G**ACCGAGCACCACAACTAGAGATCAA**T**TCACTGATAGTCCACCGAG
 ATGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTCTCACCGTCGCTGA
 AGGTGAGGCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAGGAGCGCGAGCT
 CAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCCGAGTGCCACCCCGT
 CGTCGTCAGCCCGGTGCGCGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTGCCGCCCAAGGGCGGATC
 TTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAACGTATATTTTGGGGAATACCT
 GCACTACTAAAAAGGTATTACCCAAGTGTA

>alex8

TTATCATCACCCACAA**C**ACCGAGCACCACAACTAGAGATCAA**A**TCACTGATAGTCCACCGAG
 ATGGCTAAGCGCATAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTCTCACCGTCGCTGA
 AGGTGAGGCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAGGAGCGCGAGCT
 CAAGGCATGCCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCCGAGTGCCACCCCGT
 CGTCGTCAGCCCGGTGCGCGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTGCCGCCCAAGGGCGGATC
 TTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGGAACTCCAACAACGTATATTTTGGGGAATACCT
 GCACTACTAAAAAGGTATTACCCAAGTGTA

Figure 58: Les séquences des gènes codant des gliadines de huit génotypes testés (alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23).

3.3.3.1. Analyse des fragments des gènes des gliadines

Cette analyse porte sur l’abondance en Guanine (G) et Cytosine (C).Ainsi les génotypes alex4 et alex8 de la variété *alexandrinum* contient 57.03% de GC , alors que les génotypes mur2 et mur 4 de la variété *murciense* contient 57.17% de GC .Quant aux génotypes ita26 et ita32 de la variété *italicum* comprennent 57.38% de GC. Pour les génotypes val4 et val32 de la variété *valenciae* possèdent 56.89% de GC(tableau 13).

Tableau13: Taux de base GC % des différentes séquences des génotypes étudiés (8 génotypes ; alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23).

Var	Géno	GC%	Var	Géno	GC%	Var	Géno	GC%	Var	Gén	GC%
<i>alex</i>	alex 4	57.03	<i>mur</i>	mur 2	57.17	<i>ita</i>	26	57.38	<i>vale</i>	4	56.89
	alex 8	57.03		mur 4	57.17		32	57.53		32	56.89
Moy		57.03	Moy		57.17	Moy		57.45	Moy		56.89

Var = variété, **Gén** = génotype, **GC %** = pourcentage de Guanine et de Cytosine, **alex** = *alexandrinum*, **mur** = *murciense*, **ita** = *italicum*, **val** = *valenciae*, **Moy** = Moyenne

3.3.4. Alignement des séquences des gènes codant des gliadines

L'alignement des séquences des gènes codant des gliadines des huit génotypes des quatre variétés montre que le polymorphisme est due à une dilution ou une substitution et touche majoritairement les bases azotés puriques (de type G et A), Figure 59 (A, B et C).

-A-

```

Ita23      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAA--CTAG-AGAATTCACTGATAGTCCACC
Ita26      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAA--CTAGAGATATTCACTGATAGTCCACC
Mur2       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Mur4       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Val4       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Val32      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Alex4      TTATCATCACCCACAAGACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Alex8      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
*****

```

-B-

```

ita23      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAA--CTAGAGGA-AATTCACTGATAGTCCACC
ita26      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATA--TTCACTGATAGTCCACC
mur2       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
mur4       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
val4       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
val32      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
alex4      TTATCATCACCCACAAGACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
alex8      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
*****

```

-C-

ita23	TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAA--CTAGAGGA-AATTCACTGATAGTCCACC
ita26	TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATA--TTCACTGATAGTCCACC
mur2	TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
mur4	TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
val4	TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
val32	TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
alex4	TTATCATCACCCACAAGACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
alex8	TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC

Figure 59 (A,B et C) :Alignement multiple d'un fragment des séquences des gènes codant des gliadines des 8 génotypes alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23.

Le Dendrogramme des séquences des gènes des gliadines (figure 60) répartit les huit génotypes en trois grands groupes :

- Le premier grand groupe renferme un seul génotype (alex8) de la variété *alexandrinum*.
- Le deuxième grand groupe est constitué aussi d'un seul génotype (mur2) de la variété *murciense*.
- Le troisième grand groupe est divisé en deux sous groupes :
 - Le premier sous groupe comprend un seul génotype mur4.
 - Le deuxième sous groupe est divisé en deux sous/sous groupes :
 - Le premier s/sous groupe formé d'un seul génotype alex4 de la variété *alexandrinum*.
 - Le deuxième s/sous groupe se compose de quatre génotypes ; les deux génotypes de la variété *valenciae* (val32 et val4) et les deux génotypes de la variété *italicum* (ita26 et ita23) avec un taux de similarité 76%. Ces génotypes sont donc proches génétiquement et présentent une certaine monophylie.

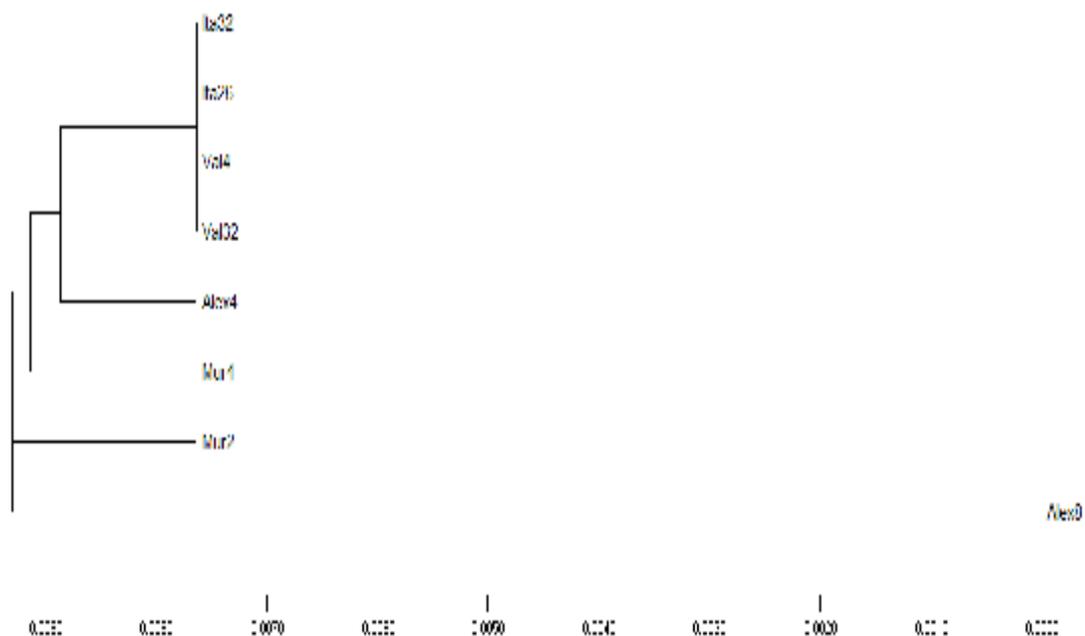


Figure 60 : Dendrogramme des séquences des gènes codant des gliadines des 8 génotypes étudiés (alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23).

3.3.4.2. Relations évolutives des huit génotypes

Les analyses évolutives ont été réalisées en utilisant le logiciel : MEGA_X_10 version 4 (Kumar *et al.*, 2018). Les distances évolutives ont été calculées à l'aide de la méthode de la probabilité composite maximale (Felsenstein, 1985 ; Tamura *et al.*, 2004), et sont

exprimées dans les unités du nombre de substitutions de base par site. L'analyse a impliqué 8 séquences de nucléotides de 8 génotypes. Toutes les positions vacillantes (les parties non codant) ont été supprimées pour chaque paire de séquences. Il y avait un total de 412 positions (base) dans l'ensemble des données finals. Les résultats des distances évolutives sont présentés par la figure 61, qui montre l'existence d'un polymorphisme caractérisé par des relations évolutives entre les huit génotypes étudiés (alex4, alex8, val4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23).

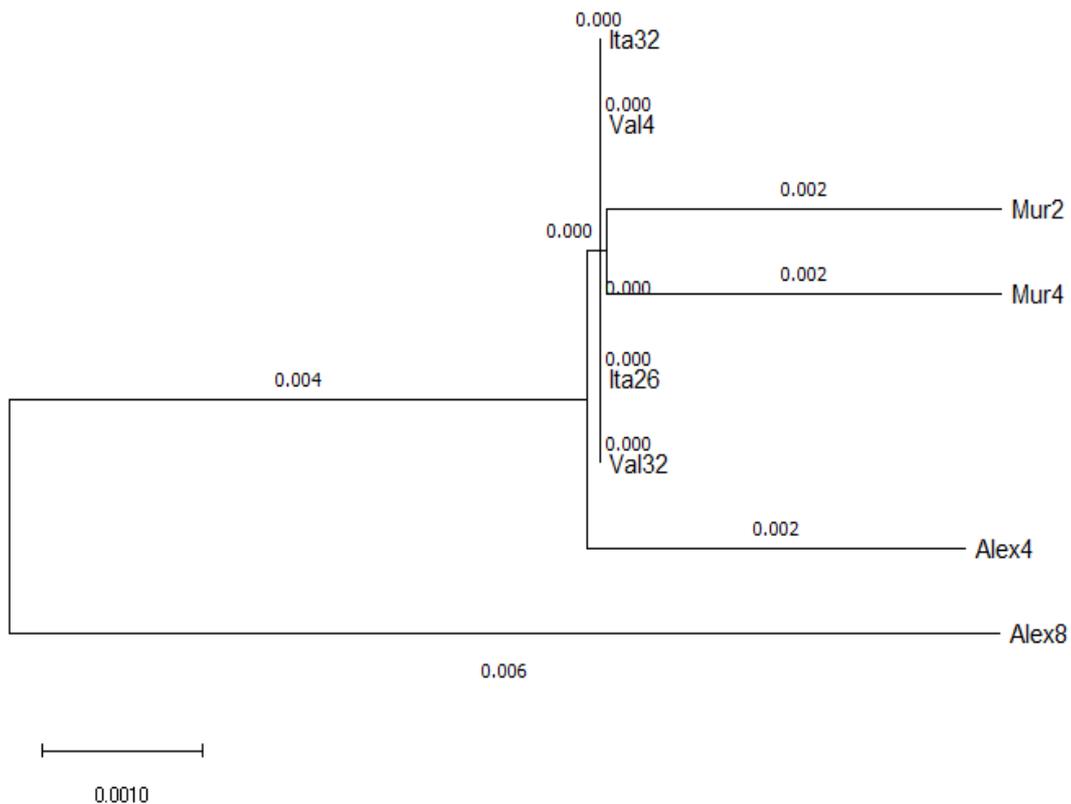


Figure 61. Relations évolutives des 8 génotypes des quatre variétés étudiées

3.3.5. Similarité et matrice d'identité des séquences des gènes des gliadines

Les différents génotypes étudiés sont classés en 3 groupes sur la base de l'analyse de séquences de gène des gliadines matérialisé par le taux de (GC) et la matrice de l'identité et la distance génétique. Ainsi la corrélation entre génotypes des quatre variétés testés est bien exprimée où on observe une forte corrélation entre les génotypes mur2 et mur4, mur 2 et val4, mur 2 et val32, mur 2 et alex4 d'une part et entre génotype mur4 et val4, mur4 et

val32, mur4 et alex4 d'autre part. Ainsi une corrélation entre génotype val4 et val32 et aussi val4 et alex4 ; et de même entre génotype val32 et alex4 (Tableau 14). Ces résultats montrent que les génotypes sont très liés génétiquement avec un léger polymorphisme inter et intra variétale.

Tableau 14: Matrice d'identité (%) entre les huit génotypes de quatre variétés ; Clustal : 2.1

	génotype	Ita23	Ita26	Mur 2	Mur 4	Val 4	Val 32	Alex 4	Alex 8
1	Ita23	100							
2	Ita26	99.26	100						
3	Mur2	97.48	97.24	100					
4	Mur4	97.48	97.24	99.50	100				
5	Val4	97.49	97.25	99.50	99.50	100			
6	Val32	97.49	97.25	99.50	99.50	100	100		
7	Alex4	97.53	97.29	99.50	99.51	99.51	99.51	100	
8	Alex8	96.79	96.55	98.76	98.76	98.77	98.77	98.79	100

3.3.6. Conclusion

A travers cette étude, on peut conclure que les 100 génotypes des quatre variétés sont pauvres en gènes codant des gluténines (HPM et FPM). Cependant les gènes codant pour les gliadines sont abondants dans tous les 100 génotypes des quatre variétés. Les résultats obtenus à travers l'utilisation de marqueur moléculaire RFLP présente 11 bandes monomorphes de poids moléculaire 536pb, dont l'intensité est déférente ce qui indique l'existence d'un faible polymorphisme au niveau des gènes codant des gliadines entre les onze génotypes analysés.

Les séquences des gènes codant de huit génotypes des quatre variétés (alex4, alex8, vale4, val32, mur2, mur4, ita26 et ita23) montrent que les gènes des gliadines de ces différents génotypes présentent une stabilité génétique matérialisée par un taux identique des base azotés (guanine et cytosine) atteignant une moyenne d'environ 57%. Cette stabilisation est fortement visible quand il s'agit des génotypes de la variété *valenciae* (val4, val32) ; néanmoins, une substitution ou une dilution est remarqué au niveau des séquences des génotypes de la variété *alexandrinum* et la variété *murciense* d'une part et *italicum* d'une autre part respectivement.

La classification hiérarchique établi après alignement des séquences, classe ces génotypes dans 3 catégories selon les clades distinctes obtenus dont le clade le plus éloigné est celui du génotype (alex8), suivi du clade du génotype (mur2) et en fin le clade le plus large regroupant les génotypes (alex4, vale4, val32, ita26 et ita23) ce qui montre la présence d'un léger polymorphisme intra et inter-variétal.

*Conclusion générale
et perspectives*

Conclusion générale et perspectives

Le bassin méditerranéen est caractérisé par une très importante et abondante variabilité phyto-génétique. Sachant que les variétés traditionnelles des espèces spontanées aux plantes cultivées continuent d'être une immense ressource phyto-génétique des caractères recherchés pour l'amélioration de la production agricole mondiale ; mais cette grande diversité est aujourd'hui menacée de disparition. De ce fait, l'étude effectuée dans ce sens était pour évaluer la diversité des 100 génotypes appartenant aux quatre variétés de blé dur cultivés en Algérie, à savoir : *alexandrinum*, *murciense*, *valenciae* et *italicum*, qui sont menacés par l'érosion génétique. En effet, un programme de recherche est établi afin de cerner les différents aspects de caractérisation agronomique, morphologique, biochimique et moléculaire.

Notre travail est réparti comme suit en s'articulant sur trois points essentiels, à savoir :

L'étude de la variabilité des caractéristiques agro-morphologiques pour chaque génotype afin d'estimer le taux de variabilité intra et inter variétale entre tous les génotypes de l'accession étudiée ; l'analyse biochimique par l'application de la technique d'électrophorèse (SDS-PAGE) pour apprécier le polymorphisme biochimique des sous-unités gluténines (HPM et FPM) et des gliadines, pouvant exister entre les génotypes des quatre variétés, et l'étude moléculaire pour la détermination du polymorphisme génétique des gènes codant spécifiques aux protéines de réserve (gluténines et gliadines) en utilisant la technique PCR/Bulk, le marqueur moléculaire RFLP et le séquençage des gènes codant des gliadines.

L'analyse des données concernant les paramètres morphologiques et agronomiques sont traités par des analyses de multi-variées permettant de mettre en évidence l'existence d'une faible diversité intra-variétale et une importante variabilité inter-variétale.

Les résultats obtenus montrent que les génotypes de la variété *alexandrinum* et *italicum* possèdent des valeurs intéressantes pour la hauteur de la plante (HP), la longueur des barbes (LB), tallage épi (TE), nombre d'épillets par épi (NE/E), nombre des grains par épi (NG/E) et le rendement (Rdt). Contrairement aux génotypes de la variété *murciense* qui se distinguent par des valeurs réduites des paramètres étudiés. Les génotypes de la variété *valenciae* se caractérisent par des valeurs intermédiaires pour la majorité des paramètres étudiés. Il est à signaler que la hauteur de la plante (HP), le poids de mille grains (PMG), le taux de fertilité (TF), le nombre des grains par épi (NG/E) sont les variables les plus distinguées chez la plupart des génotypes de la variété *alexandrinum* et *italicum*. Tandis

que les deux autres variétés *valenciae* et *murciense* présentent des valeurs proches mais réduites pour les mêmes paramètres. En revanche, la surface foliaire est la variable remarquable avec des valeurs importantes enregistrées chez les génotypes de la variété *valenciae* par rapport aux autres variétés, qui présentent des valeurs proches et moins importantes. Le tallage herbacé (TH) et le tallage épi (TE) a été très important chez quelques génotypes de la variété *valenciae* et *italicum*, alors qu'il est très faible chez la majorité des génotypes de la variété *murciense*.

La classification hiérarchique des paramètres agromorphologiques répartit les différents génotypes en deux grands groupes, le premier grand groupe regroupe six génotypes de la variété *murciense* et trois génotypes de la variété *italicum*. Le deuxième grand groupe est divisé en deux sous groupes, le premier sous groupe renferme 34 génotypes de la variété *valenciae* et 11 génotypes de la variété *murciense*. Le deuxième sous groupe est constitué par 3 génotypes de la variété *valenciae*, 23 génotypes de la variété *murciense*, 12 génotypes de la variété *italicum* et 8 génotypes de la variété *alexandrinum*.

L'appréciation de polymorphisme des protéines de réserve ; les gliadines, présente un polymorphisme important entre tous les génotypes des quatre variétés étudiés avec plusieurs corrélations entre génotypes des variétés testées et plus précisément entre les génotypes (mur2, mur4, val4, val32 et alex4); Tous les génotypes de la variété *alexandrinum* présentent les mêmes bandes de α - β - et γ -gliadines (15-45KDa et 90KDa) ce qui indique leurs ressemblance.

Les génotypes de la variété *murciense* montrent une diversité importante concernant les α - β -gliadines (allant de 15 jusqu'à 49KDa) et γ -gliadines (de 60 à 90KDa).

Les génotypes de la variété *valenciae* possèdent des bandes de poids moléculaire de 60 à 70KDa (zone de γ -gliadine), et des bandes ω -gliadines remarquées chez quelques génotypes de la même variété. On ce qui confirme leur différence par rapport aux autres génotypes de l'accession.

Tous les génotypes de la variété *italicum* présentent des bandes de poids moléculaire entre 60 et 70KDa (γ -gliadine).

La classification hiérarchique des gliadines de 100 génotypes répartit les génotypes en cinq grands groupes, le premier, deuxième, troisième et cinquième groupes, regroupent chacun un seul génotype de la variété *valenciae* respectivement. Le quatrième grand groupe comprend le reste des génotypes des quatre variétés avec un taux de similarité 11%.

Quand à l'étude consacrée à l'analyse moléculaire du polymorphisme des gènes codant des protéines de réserves (gliadines et gluténines) d'où on a utilisé la technique PCR/Bulk pour détecter les gènes codant des gluténines (HPM et FPM) et les gliadines par l'utilisation de trois amorces ; Glu-DX5, LA1, 56MN. Les résultats nous ont informés que tous les génotypes des quatre variétés sont dépourvus des gènes des gluténines. Alors qu'ils sont pourvus en gènes des gliadines. L'étude a fait sortir qu'il n'y avait pas de produit à 527pb, soit la taille des gènes des gluténines, ceci indique que les 100 génotypes sont pauvres en ces gènes. Cependant, il y a des bandes à 770pb pour les gènes codant des gliadines, chez les 100 génotypes.

L'utilisation des marqueurs PCR/RFLP basé sur des endonucléases :HindIII et EcorI, pour la restriction des gènes codant des gliadines des onze génotypes des quatre variétés ne produisent qu'un même nombre d'amplifiants de poids moléculaire 536pb. Au total onze fragments sont monomorphes. Sur les onze fragments dont cinq sont peu intenses, chez les génotypes : 4, 51, 76, 91 et 92 par rapport aux autres génotypes qui présentent des bandes plus intenses, ce qui confirme la présence d'un faible polymorphisme entre les gènes codant des gliadines des différents génotypes testés par ce marqueur.

Les séquences des gènes codant des gliadines de huit génotypes des quatre variétés (deux génotypes de chaque variété) montrent que les génotypes sont très liés génétiquement avec un léger polymorphisme entre les séquences des génotypes testés due à une substitution des bases pyrimidiques T remarquée chez les génotypes de la variété *italicum* et puriques C remarquée chez la variété *alexandrinum*.

L'alignement multiple des séquences des huit génotypes présente l'existence d'un très faible polymorphisme entre les génotypes de la même variété et entre les génotypes des quatre variétés.

Perspectives

Ce travail est à développer pour une meilleure connaissance de nos variétés traditionnelles, anciennes qui présentent un patrimoine génétique très intéressant mais aussi très variable. Ces ressources génétiques permettent aux plantes de s'adapter aux conditions environnementales notamment dans les régions arides et semi-arides du pays. Dans cet ordre d'idée, il serait judicieux de continuer l'étude en approfondissant certains aspects, à savoir:

- L'étude des gènes responsables de la résistance aux différents stress biotique et abiotique.
- L'utilisation d'un grand éventail des marqueurs biochimiques et moléculaires pour mieux identifier et évaluer la diversité génétique.
- Etablir un programme de conservation des ressources génétique du blé dur (*Triticum durum* Desf.).

Références
Bibliographiques

- Abbassene F., Bouzerzour H., Hachemi ., (1998).** Phénologie et production de blé dur (*Triticum durum* Desf) en zone semi aride d'altitude. Annales agronomique de l'INA , Alger n°18 :24-36.
- Abonyi T., Kiraly I., Tomoskozi S., Baticz O., Guoth A., Gergely S., Scholz E., Lasztity D., Lasztity R ., (2007).** Synthesis of gluten-forming polypeptides. 1. Biosynthesis of gliadins and gluteenin subunits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 3655-3660.
- Ahmed Abdel- Mawgood L., (2008).** Moléculaire marker for predicting end-products quality of weat (*Triticumaestivum* L.).*African journal of biotechnology* 7 (14),pp 2324-2327.
- Adjabi A ., (2010).** Apport des nouvelles sélection de blé dur (*Triticum durum*) évaluée sous conditions semi aride pléinsorientale , céréaliculture ; 54p.
- Aissani N.E., (1989).** Etude des composantes de rendement de quelques variétés de blé dur. Thèse, ing.Agro,option biosystématique et amélioration des plantes, Uni.Constantine.85p.
- Al Khanjari S., Filatenko A.A., Hammer K., Buerkert A., (2008).** Morphological spike diversity of Omani wheat. *Genetic Ressources and Crop Evolution*,55(8) :1185-1195.
- Ali dib T., (1992).** Etude de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf).Etude des caractères phénologiques et morphologique d'adaptation . Thèse . Doct . ENSA . Montpellier 186p.
- Aliyeva A., Ojaghi J., Mehdiyeva S., (2012).** Electrophoretic profiles of gliadin subunits to evaluate genetic diversity of Azerbaijan synthetic branched spike wheat accessions. *American-Eurasian Journal of agricultural & Environmental Sciences*, 12 :1343-1349.
- Altenbach S.B.K ., et hari K.M., Lieu D., (2002).** Environnemental Conditions during wheat grain development alter tomporal regulation of major gluten protein genes .*cereal chemistry* 79, 279-285.
- Amallah L., Hassikou R., Rhrib K., Gaboun F., Enndir J., Bouazza F., Taghouti M., (2016).**Analyse de la diversité génétique d'une collection de blé dur par les marqueurs agro-morphologiques et biochimiques J. Master.EnvIRON.Sci , 7(7) : 2435-2444.
- Amboulet A., Masse J., et Triboi E., (1983).** Colloque international sur les céréales à Cambridge .Extrait rev.perspective agricole n° 76.
- Anderson O.D., et Greene F.C., (1997).** The α -gliadin gene family. II.DNA and protein sequence variation, subfamily structure, and origins of pseudogenes.*Theor Appl Genet* 95,59-65.

APG III., (2009).An update of the Angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III.Bot.J.Linn.Soc.161: 105-121.

Auriau P., (1978). Sélection pour le rendement en fonction du climat chez le blé .An.El.Harrach n° 8 (2) : 5-14.

Bataillon T., Bonnin I., David J., Lavigne C., Corre V., Poirier S., Porcher E., Reboud X., Ronfort J., Roux F., Santoni S., Thuillet A. C., (2003). Dynamique de la diversité génétique dans les populations naturelles et artificielles de plantes autogames, les actes du BRG,4.187-199.

Baldy C., (1974). Contribution à l'étude fréquentielle des conditions climatiques : leur influence sur la production des principales zones céréalières d'Algérie .MARA, projet céréales, Alger.152p.

Bandou H., Rodriguez-Quijano M., Carrillo J.M., Branlard G., Zaharieva M., Monneveux P., (2009). Morphological and genetic variation in *Aegilops geniculata* from Algeria. Plant Systematic and Evol.277 : 85-97.

Belaid D.j., (1986). Aspect sur la céréaliculture Algérienne . O.P.U .207p.

Benbelkacem A., Mekhini M.S., et Rasmuson D.C., (1984). Breeding for high tiller number and yield in barley. Corp.Sci. 24 : 968-972.

Benbelkacem A., et Kellou K., (2000). Evaluation du progrès génétique chez quelques variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L.var.durum) cultivées en Algérie. In Royo C., Nachit M.M., Di Fonzo N. et Araus J.L. (eds). Durum wheat improvement in the Mediterranean region : New Challenges Zaragoza : CIHEAM-IAMZ : 105-110.

Benbelkacem A., (2013). Rapport national des activités du projet : INRA-ICARDA, 2012/2013 : 45p.

Bendjama O., (1977). Contribution à l'étude de l'élaboration du rendement de quelques variétés de blé dur en fonction des densités de semis dans les conditions écologiques de la station d'el-khroub. Thèse.ing.INA. 105 p.

Bénétrix F., Kaan F., Autran J.C., (1994). Changes in protein complexes of durum wheat in developing seeds. Corp Science 34,462-468.

Benlaribi M., Monneveux P., Grignac P., (1990). Etude des caractères d'enracinement et leur rôle dans l'adaptation au déficit hydrique chez le blé dur (*triticum durum*.Desf) . agronomie 10,305-322.

Bennaceur M., Chorfi M., Rahmoune C., El Jaafri S., et Opaul R., (1997) . Potentialités de production de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au Magreb.Rev.Sci.Technol.Uni. Constantine, n° 8, 69-74.

- Bensalem M., Acevedo E., et Sorivastrava J ., (1991).** La sélection des céréales dans les zones arides .Rev. sécheresse 1(2) :17-20.
- Berger M., et Planchon C., (1990).** Physiological factors determining yield in bread wheat. Effet of dwarfing genes.Euphytica 51 : 33-39.
- Blum A., (1989).** Photosynthesis and transpiration in leaves and ears of wheat and barley varieties.J. exp.Bot ., 36 : 432-440.
- Blum A ., (1988).** Plant breeding for stress environments . CRC Press Inc Florida , USA .223P.
- Bœuf F., (1948).** Objectifs de la recherche agronomique , méthodes d'expérimentation. Nouvelles encyclopédies agricoles .481p.
- Bonjean A., (2001).** Histoire de la culture des ceréales et en particulier celle de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) . Dossier de l'environnement de l'INRA . 21 :29-37.
- Boudour L., Djekoun A., Ghribi D., (2004).** Morphology diversity of Algerian durum wheat population. Arab. Univ. J. sci:12(2),597-608.
- Boudour L ., (2006) .** Etude des ressources phyto-génétiques du blé dur (*Triticum durum* Desf.) Alérien : analyse de la diversité génétique et des critères d'adaptation au milieu. Thèse Doctorat d'état. Université Mentouri Constantine , 142p.
- Boufenard ., Zaghouane F ., et Zaghouane O., (2006).** Guide des principales variétés des céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine).1^{ère} édition.institu technique des grandes culture ITGC – ICARDA , El Harrach – Algérie.154p.
- Bouazza L., (2003) .** La diversité génétique chez l'orge appréciée par l'utilisation des marqueurs biochimiques. Thèse de magister.I.S.N. Université Mantouri .Constantine.Algérie.75p.
- Bouzerzour H., (1992).** Synthèse des essais menés dans le cadre du volet création variétale.Propjet de la station de sétif .20p.
- Bouzerzour H ., et Hafsi M ., (1993).** Diagnostic du comportement variétal du blé dur dans les hautes plienés sétifiennes . In : Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier , France. Ed. INRA ,Paris, 64 : 205-215.
- Bouzerzour H., Djekoun A., (1996).** Etude de l'interaction génotype x lieu du rendement de l'orge en semi-aride .Rev.Sci & techn .Université de Constantine 12,11-14.
- Bouzerzour H ., (1998).**Sélection pour le rendement en grain, la précocité, la biomasse aérienne et l'indice de récolte sur l'orge en zone semi-aride.Thèse.Doct d'Etat. Uni. Mentouri, Constantine,170p.

- Bouzerzour H ., Djekoune A ., Benmahammad A., Benbelkacem A ., Hazmoune T., et Mekhlouf S., (2000).** Stabilité des performances et caractéristiques phéno-morphologiques de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) issu d'une sélection multi locale . Proc . Du premier symposium international sur la filière Blé- Enjeux et stratégie –Alger , pp : 178-184.
- Bouzzini A., (1988) .** Origin, distribution, and production of durum wheat in the world . In Fabriani G. et C . Lintas (éd) .Durum . Chemistry and Technology .AACC(Minnesota), Etats –Unis ,pp :1-16.
- Botstein D., Whit R.L., Skolnick M., Dvies R.W., (1980).** Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am.J. Hum.Genet.*32 :314-331.
- Boyeldieu J., (1980).** Les cultures céréalières .Ed Hachette . France.8p.
- Branlard G ., Auran J .C. and Monneveux P., (1989) .** High molecular weight glutenin subunits in durum wheat (*T. durum*). Theoretical and Applied Genetics 78,53-358.
- Branlard G., (2012).** La qualité du gluten : variations de sa composition et de ses propriétés.*INRA UMR 1095 GDEC UBP, Clermont-Ferrand.Médecine&nutrition* 48. n°4,21-25.
- Braun H., payne J., Morgounov T.S.,A.I., Van Ginkelm., et Rajaram S ., (1998).** The challenge :one billion tons of wheat by2020.In A.E.Slinkard ,ed.proc.9th Int.wheat genetics Symp.,2-7Aug.,Vol.1.Ssaskatoon ,Saskatchewan,Canada,university extension press, university of Saskatchewan.88p
- Bushuk W., Wrigley CW., (1974).** proteins :Composition , structure and fonction .In : Wheat :production and utilization ,Lnglett GE,ed.Westport , CT :Avi.pub.co.,119-145.
- Caballero L., Martin L.M., Alvarez J.B., (2004).** Variation and genetic diversity for gliadins in Spanish spelt wheat accessions.*Genetic Ressource and Crop Evolution*, 51:679-686.
- Carceller J., L.Aussenac T., (1999).**Accumulation and changes in molecular size distribution of polymeric proteins in deve loping grains of hexaploid wheats : role of the desiccation phase. *Australian Joirnal of plant physiology* 26,301-310.
- Ceccarelli S., Grando S., & Hamblin j., (1992).** Relationship between barley grain yield measured in low and high yielding environment.*Euphytica* 64,49-58.
- Chapman G.P., (2009).** Grass evolution and domestication. *Grass evolution and domestication*. Xviii+390pp.
- Chen P.D., Gill B.S., (1984).** The origin of chromosome 4A and the B and G genomes of tetraploid wheat .*Acta-Agronomica Sinica* 10:146-153.

- Chevalier R., (1957).** Echaudage chez les blés tendres et poids de mille grains .Ann.Amélior .des plantes 4.B,413-430.
- Clark J.M., Norvell W.A ., Clarke F.R ., et Buckley TW., (2002).** Concentration of cadmium and other elements in the grain of near –isogenic durum lines .Can.J.plant Sci/Revue canadienne de phytotechnie , 82 :27-33.
- Clerget Y., (2011).** Biodiversité des cereals: origine et evolution. Montbéliard. 17p.
- Combe L., (1981).** Effet du gaz carbonique et de la culture en climat artificiel sur la croissance et le rendement d'un blé d'hiver.Rev.Agro,177-186.
- Cook J ., Jahson V . A ., et Allan R. E ., (1993).** Méthodes traditionnelles de sélection des plantes : un aperçu historique destiné à servir de référence pour l'évaluation du rôle de la biotechnologie moderne . OCDE . pp :39-41.
- Couvreur F., et Masse J., (1983).** Formation du rendement et niveau de production .Rev.perspective 32,8-11.
- CRC., (2002).** Amélioration du blé au CRC .Fiche d'information du centre de recherche sur les céréales .Winnipeg .Canada ,2p.
- Cox T.S., Harrell L.G., Chen p.p., et Gill .B.S., (1991).** Reproductive behavior of hexaploid /diploid wheat hybrids .plant Breed 124,338-342.
- Daniel C., Triboi E., (2002).** Changes in wheat protein aggregation during grain development : effect of temperatures and water stress. European Journal of Agronomy 16,1-12.
- Dekkers J.C.M., et Hospital F., (2002).** The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations (Review). Natl.Rev.Genet, 3(1):22-32.
- Delaney D.E., Nasuda S., Endo T.R., Gill B.S., et Hulbert S.H., (1995).**Cytologically based physical maps of the group 2 chromosomes of wheat.Theor.Appl.Genet, 91: 568-573.
- Delecolle R., et Gurnade J ., (1980).** Liaisons entre la morphologie du brin , le rendement de l'épi et les composantes du rendement chez le blé tender , effet varietal.An.Agro .31(1),85-105.
- Dib. A T., (1999).** Breeding durum for drought tolerance analytical, synthetical approaches and their connections, in wheat breeding prospects and futur approchePanayotov T ; and Pavlov S, (eds). Albena, bulgaria ,224- 240.
- Doussinault G., (1978).** La selection pour la résistance au parasites, application au blé tender .Ann. Amélio. Des Plantes 8(2): 111-131.

- D'ovidio .,et Masci ., (2004).** The low-molecular-weight gluten. *Journal of Cereal Science* 39 (3): 321-339.
- Doyle J.J., Doyle J.L., (1987).** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem bull* 19:11-15.
- Doyle J.J., (1990).** Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Dupont F.M., Hurkman WJ., Tanaka CK., Chan R., (1998).** Bip,HSP70,NDKand PDI in wheat endosperm .I. accumulation of mRNA and protein during grain development .*physiologia plantarum* 103,70-79.
- Dupont F.M., Altenbach SB., (2003).** Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *Journal of Cereal Science* 38,133-146.
- Dubcovsky J., Luo M.C., Zhong G.Y., Bransteitter R., Desai A., Kilian A., Kleinhofs A., et Dvorak J., (1996).** Genetic map of diploid wheat ,Triticum monococcum L.,and its comparaisn with maps of *Hordeum Vulgare* L.*genetics* ,143:983-999.
- Dunder S., (1976).** Précis de programmation en amélioration des variétés intensives de blé tender d'hiver. Ed .Moscon,V.I.R.14p.
- Eagls H.A., Bariana H.S., Ogonnaya F.C., Rebetzke G.J., Hollamby G.J., Henry .,Henschke PH., Carter M., (2001).** Implementation of markers in Australian wheat breeding.*Aust .J.Agric .Res.*52(11-12).P.134g-1356.
- El Hakimi A ., Monneveux P., Galiba G., (1995).** Soluble sugars, proline, and relative water content as traits for improving drought tolerance in *triticum durum* .*J. Gen.Breed.*,49:234-244.
- Ewart J.A.D ., (1968.).** A hypothesis for the structure and rheology of glutenin .*Journal of the Science of food and Agriculture* 19,617-326.
- F.A.O., (2015).** Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture : Perspectives de récolte et situation alimentaire 2015.In ,FAO, La carte FAO,16p. <http://www.fao.org/giews/English/listserv.htm> (consultée Mars 2015).
- F.A.O., (2016).** Organisation des nation unies pour l'alimentation et l'agriculture : Perspectives de récolte et situation alimentaire 2016.In , FAO, La carte FAO, 6p. <http://www.fao.org> (consulter Mars2016).
- Feldmen M., (1976).** Taxonomic classification and names of wild, primitive, cultivated,and modern cultivated wheats.in: simmonds,N,W.(ed).,Evolution of corps plants.Longman,Londre:120-128.

- Feldman M., (2001).** Origin of cultivated wheat ,in :Bonjean A. P. and Angus W. J . (ed).The world wheat book: A history of wheat breeding. Intercept limited,Andover,Angle Terre:3-58p.
- Felsenstein J. (1985).** Limites de confiance sur les phylogénies: une approche utilisant le bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Feuillet P., (2000).** Le grain de blé .Composition et utilisation. Ed. INRA.Paris .312p.
- Fonseca ., et Patterson F., (1968).** Yield component heritability and inter relation ships in winther wheat.Corp.Sci.Vol.B,85-88.
- Gallais A., (1990).** Théorie de la sélection en amélioration des plantes .Ed.Masson,588p.
- Gallais A ., et Bannerot H., (1992).** Amélioration des espèces végétales cultivées, objectifs et critères de sélection . Ed. INRA, 243-260.
- Galterio G., Biancolatte E., Autran J.C .,(1987).** Proteins deposition in developing durum wheat. Implications in technological quality. *Genetica Agraria* 41, 461-480.
- Gate P., Brain P. , Colenne J., et Briffeaux G ., (1990).** Pour les céréales à paille à chaque variété son époque de semis. *Persp. Agric.* 148 :20-27.
- Gate P., Dagneaud J., et Vignier L., (1991).** Bilan climatique des céréales : principaux faits marquants et comportement variétal. *Rev. Perspectives agricoles.* 163, 77-86.
- Gauthiers A., et Joudrier M., (1991).** Stratégie de sélection pour l'amélioration des céréales (application du génie génétique en amélioration des céréales). Conférence de saragosse, INRA/ICARA.135p.
- Gill B.S ., et Kimber G ., (1974).** Giemsa C-Banding and the evolution of wheat. Vol. 71 ,n : 10 ,4086-4090.
- Gill K.S. Gill B.S. et Endo T.R ., (1993).** A chromosome region-specific mapping, strategy reveals generich telomeric ends in wheat. *Chromosoma*,102 :374-381.
- Godon B., Vallery-Masson D., Vermeersch G., (1996).** Protéines végétale.Les protéines de réserve du grain de blé.(2^{ème} edition).120p.
- Godwin M.A., Laymon C.M., Prior R.M., Tilley D.R., et Weller H.R., (1997).** Haplotype and phenotype Analysis of Nine Recurrent BRCA2 Mutations in 111 Families :Results of an international study. [http:// link.aps.org/doi/10.1103/physRevC.56/1605-1623](http://link.aps.org/doi/10.1103/physRevC.56/1605-1623).
- Gooding M.J., (2009).** The wheat corp. In : Wheat chemistry and technology , khan K ,Shewry PR, eds St. Paul , MN : AACC internationale,19-38.

Graveland A., Bongers P., Bosveld P., (1979). Extraction and fractionation of wheat flour proteins. *Journal of science of food and Agriculture* 30, 71-84.

Graveland A., Boseveld P., Lichtendonk W.J., Marseille J.P., Moonen J.H.E., Scheepstra A., (1985). A model for the molecular structure of the glutenins from wheat flour. *Journal of Cereal Science* 3, 1-16.

Grignac P., (1970). Amélioration de la qualité des variétés de blé dur. *Ann. Amélio des plantes* 20 (2) , 159-188.

Grignac P., (1978). Le blé dur : Technique agricoles .Tome I, 6-10.

Grignac P., (1981). Limite de potentialité de production dans différents systèmes de cultures dans différentes zones méditerranéennes. Agrimed. Séminaire, Italie.220p.

Grunig R., Tomas N., Scott O., Rogers S., (2001). Genetic variability among strains of *Phialocephala fortinii* and phylogenetic analysis of genus *Phialocephala* based on RdnA ITS sequence comparisons. *Can. J. Bot.* 80(12) :1239-1249.

Gupta R.B., Baty I.L., Mac Ritchie F., (1992). relationships between composition and functional properties of wheat flours. *Cereal Chem* .69:125-131.

Gupta R.B., Masci S , Lafandras D., Bariana H.S., MacRitchie F., (1996). Accumulation of protein subunits and their polymers in developing grains of hexaploid wheats. *Journal of Experimental Botany* 47,1377-1385.

Gupta R.K., Varshney R.K., Sharna P.C., Ramesh B., (1999). Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant. Breed.* 118: 369-390.

Gupta P.K., Roy J.K., Prasad M., (2001). Single nucleotide polymorphisms : A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in **plants** (Review). *Curr. Sci.* 80(4): 524-535.

Hachemi I., (1979). Le blé dur en Algérie. 5th cereal workshop on the Gap between present farm yield and potential, 19-25.

Hadjichristodoulou A., (1985). Environmental correlation among grain yield and other important trait of wheat in dry lands. *Euphytica*: 44 ,143-150.

Hanifi-Mekliche L., (1983). Etude agronomique, analyse diallèle et cytogénétique de quatre varieties de blé tender cultivées en Algérie. Thèse Magister .150p.

Hammadache A., (2001). Stades et varieties de blé .ITGC. Alger. 22p.

Harlan J.R., (1975). Our vanishing genetics resources. *Science*, 188: 618-621.

- Harch S., Gunther T., Kling Ch.I., Rozynek B., Hesemann C.U., (1979).** Characterization of spelt (*Triticum spelta* L.) forms by gel electrophoretic analyses of seed storage proteins. I. The gliadins. *Theoretical and Applied Genetics*, 94 :52-60.
- Herve Y., (1979).** Introduction à l'amélioration des plantes : Cours, école nationale supérieure agronomique de Rennes.
- Hurd E.A., (1974).** Phenotype and drought resistance in wheat *Agricultural Meteorology* 14, 19-25.
- INA., (1979).** Cours de céréaliculture. Première partie INA, 1979- 1980. 87p.
- Ingoat G., et Couvreur F., (1979).** Du nouveau sur la croissance du blé. Extrait rev. *Perspectives agricoles* 32, 3-8.
- Johansson E., Oscarson P., Heneen W.K., Lundborg T., (1994).** Differences in accumulation of storage proteins between wheat cultivars during development. *Journal of Science Food Agriculture* 64, 305-313.
- Johanson D.A., Richards R.A., et Turner N.C., (1973).** Yield water relation gas exchange and surface reflectance on near-isogenic wheat lines differing in glaucousness. *Crop Sci*, 23:318-325.
- Johnson R.R., (1966).** Inheritance of plant and seed characteristics in a cross of hard red winter wheat, *Triticum aestivum* L. *Crop. Sci* 6, 336-338.
- Kasadra D.D., Bernardin J.E., Nimmo C.C., (1976).** Wheat proteins. in : *Advances in cereal Science and Technology*, Pomeranz Y, ed. Vol.1. St Paul, MN :AACC, 158-236.
- Kasadra D.D., Okita T.W., Bernardin J.E., Becker P.A., Nimmo C.C., Lew E.J-L., Dietler M.D., Greene F.C., (1984).** Nucleic acid (DNA) and amino acid sequence of alpha-type gliadins from wheat (*triticum aestivum*). *Proceedings of the national Academy of sciences of USA*, Vol.81, 4712-4716.
- Kasadra D.D., Adalsteins A.E., Laird N.F., (1987).** γ -Gliadins with α -type structure coded on chromosome 6B of the wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivar "Chinese spring" .in : Lasztity R, Bekes F, eds. *Proceedings of the 3rd workshop on gluten proteins – Budapest, Hungary* : World scientific, 20-29.
- Kasadra D.D., (1989).** Glutenin structure in relation to wheat quality .In: *Wheat is Unique*, Pomeranz Y, ed. St Paul, MN: AACC, 277-302.
- Keck B., Kohler P., Wieser H., (1995).** Disulfide bonds in wheat gluten-cystine peptides derived from gluten proteins following peptic and thermolytic digestion. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* 200, 432-439.

Khan K., Bushuk W., (1979). Studies of glutenin .XII.Comparaison by sodium Dodecyl – polyacrylamide Gel Electro phoresis of unreduced and reduced glutenin from various isolation and purification procedures .*Cereal chemistry* 56,63-67.

Kihara H., (1919). Ueber cytologische Studien bei einigen Getreidearten . 1. Spezies-Bastarde des weizens under weizenroggen-Bastard.*Bot .Mag .*, 32:17-38.

Kimber G., et Seras E.R., (1987). Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat.In: Wheat and wheat improvement , 2nd Ed (heyne, E.G.ed).American Society of Agronomy , Madison, WI, USA : 154-164.

Köhler P., Belitz H.D, Wieser H., (1993). Disulfide bonds in wheat gluten –Frther cystine peptides from high –molecular –weight (HMW) and Low –molecular –weight (LMW) subunits of glutenin and from gamma – gliadins.*Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* 196,239-247.

Köhler P., Hutter S., Wieser H., (1996). Binding sites of glutathione in gluten proteins .in:Wrigley ew ,ed.Glutenen 96.North Melbourne , Australia :Royal Australian chemical institute ,137-140.

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C. et Tamura K., (2018). MEGA X: Analyse génétique évolutive moléculaire sur des plates-formes informatiques. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547-1549.

Laemli U.K .,(1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.*Nature* 227:680-685.

Lafarge M., et Gaul C.A ., (1985). Effet des conditions de sol et de fertilization phosphor-calcique sur la croissance de l'orge à 1100 m dans le massif central. In *agronomie* (4):313-323.

Lafiandra D., Masci S., Blumenthal C.S., Wrigley C.W., (1999). The formation of glutenin polymer in practice. *Cereal FoodsWorld* 44 , 572-578.

Langridge P., Lagudah E.S., Holton T.A., Appels R., Sharp P.J., et Chalmers K.J., (2001). Trends in genetic and genome analyses in wheat : a review. *Aust.J. Agric.Rest* 52:1043-1077.

Lawrence G.J., et payne P.I., (1983). Detection by gel electrophoresis of oligomers formed by the association of high-molecular-weight glutenin protein subunits of wheat endosperm.*Journal of Experimental Botany* 34,254-267.

Ledent J.F., (1978). Etude intervariétales des relations entre par épi et les caractères morphologiques chez le blé dur d'hiver, relation morphologique à la floraison . *Ann. Amélio.des plantes* 29, 625-640.

- Lemelin E., Aussenac T., et Violleau F.,(2007).**Impact of cultivar and environment on size characteristics of wheat proteins using asymmetrical flow field-flow fractionation and multi-angle laser light scattering. *Cereal Chemistry* 82:28-33.
- Li W., Gill B.S., (2004).**Genomics for cereal improvement. In : P.K.Gupta R.K.Varshney (Eds). *Cereal Genomics* , Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. 585-634.
- Lilienfield F.A., (1951).** Genome analysis in triticum and Aegilops. Concluding review. *Cytologia* 16 :101-123.
- Malet P., et Gurnade J., (1981).** Macrophysiologie de la maturation du blé d'hiver en conditions naturelles , etude réalisée dans le cadre d'une action concertée entre l'INRA et l'ITGC (notion de représentativité chronologique et norms d'échantillonnage). *Agronome* 1(3), 235-242.
- MacRitchie F., Kasarda D.D., Kuzmicky D.D., (1991).** Characterization of wheat protein fractions differing in contributions to breadmaking quality. *Cereal Chemistry* 68, 122-130p.
- Mandoulakani B.A., Gomarian M ., et Shahnejat-Bushehri A.A., (2006).** Identification of the parents for bread-making quality improvement in bread wheat based on RAPD and seed storage protein (HMW-GS) markers. *Pakistan-Journal of Biological Sciences* ,9(3) :497-502.
- Masci S., Lafiandra D., Porceddu E ., Lew E.J.L., Tao H.P., Kasarda DD., (1993).** D-glutenin –N-terminal sequences and evidence for the presence of cysteine. *Cereal Chemistry* 70 :581-585.
- Masci S., D'Ovidio R., Lafiandra D., Kasarda D., (1998).** Characterization of a low-molecular weight glutenin subunit gene from bread wheat and the corresponding protein that represents a major subunit of the glutenin polymer. *Plant Physiology* 118 , 1147-1158.
- Masci S., Egorov T.A ., Ronchi C ., Kuzmicky D.D., Kasarda D.D, Lafiandra D ., (1999).** Evidence for the presence of only one cystein residue in the D-type low molecular weight subunits of wheat subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science* 29, 17-25.
- Masle J., Meynard K .,et Sebillotte M ., (1981).** Etude de l'hétérogénéité d'un peuplement de blé d'hiver.Notion de structure de peuplement. *Rev. agricole* ,107-116.
- Masle J., (1982).** Comment se fait le rendement. *Extrait rev , entreprise agricole*, 142p.
- Marino C.L., Nelson J.C., Lu Y.H., Sorrells M.E ., Leroy P., Tuleen N.A., Lopes C.R., and Hart G.E., (1996).** Molecular genetic maps of the group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome*, 39 : 359-366.

- Monneveux P., (1991).** Quelle stratégie pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver. In : l'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. AUPELF-Eds
- Morel M.H., et Bonicel J., (1996).** Determination of the number of cysteine residues in high molecular weight subunits of wheat glutenin. *Electrophoresis* 17 , 493-496.
- Morgante M., Olivieri A.M., (1993).** PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.3* (1): 175-182.
- Morsli L., (2010).** Adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf) dans les conditions des hautes plaines constantinoises. Doctorat en sciences .69 p.
- Moss J., (1962).** Les protéines des céréales. Progrès en chimie agricole et alimentaire.Ed. Hermann. 1968 :47-73.
- Moule C., (1980).** Les céréales. Ed. La maison rustique. Paris. 318p.
- Müller S., Vensel W.H., Kasarda D.D., KöLER P., Wieser H., (1998).** Disulphide bonds of adjacent cysteine residues in low molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Sci.* 27:109-116.
- Müller S., et Wieser H., (1995).** The location of disulphide bonds in α -type gliadins. *Journal of Cereal Science* 22, 21-27.
- Murray M.G., Thompson W.F., Palmer J.D., Cuellar R.E., (1980).** Rapid isolation of higher weight DNA. Nucleic Acids Research. IRL press limited. 1 Falconberg court , London W 1V 5FG.U.K.171p.
- Nakamura H., (2001).** Genetic diversity of high-molecular weight glutenin subunit compositions in landraces of hexaploid wheat from Japan. *Euphytica* 120, 227-234.
- Nass, H.G., (1973).** Determination of characters for yield selection in spring wheat. *Can. J. Plant.Sci.*53,755-762.
- Naville M., (2005).** La biodiversité des espèces cultivées : Analyse dans le cas du blé.Ed. Boutique des sciences. Paris.20p.
- Nei M., (1978).** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic* ,89: 583-590.
- Nilsson-Ehle H., (1909).** Kreuzungsunter-suchungen an Hafer und Weizen. Lunds Universitets Arsskrift , N.F.Afd .2,Bd.5,N.2.122p.
- Noma S., Kawaura K., Hayakawa K.C., Tsuge N., Ogihara Y., (2016).** Comprehensive molecular characterization of the α/β -gliadin multigenes family in hexaploid wheat. *Mol.Genet.Genomics* 291:65-77.

- Osborne T.B., (1907).** The proteins of the wheat kernel. Carnegie Inst. :Washington , DC.84p.
- Oudjani W., (2009).** Diversité de 25 génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.). etude des caractères de production et d'adaptation. Mémoire de Magistère , 113p.
- Oulie Y., (1986).** Amélioration des plantes .Ed.C.N.P.R , 96p.
- Panozzo J.F., Egles H. A., Wootton M .,(2001).** Changes in protein composition during grain development in wheat . *Australian Journal of Agricultural Research* 52 : 485-493.
- Passioura J., (2006).** Increasing crop productivity when water is scarce from breeding to field management. *Agricultural Water Mangement* 80:176-196.
- Payne P.I., Corfield K.G., et Blackman G.A., (1979).** Identification of a high-molecular-weight subunits of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheat of related pedigree. *Theoretical and Applied Genetics* 55:153-159.
- Payne P.I., Corfield K.G., (1979).** Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta* 145: 83-88.
- Phlounng P.C.,(1991).** Contribution of stem dry matter to grain yield in wheat cultivars. *Australian J. Plant Physiol* ,18: 53-64.
- Picard E., (1991).** Stratégie de selection pour les cereals.intégration de biotechnologie en amelioration des cereals. Conference de Saragosse. I.N.R.A./I.C.A.R.D.A. 14p.
- Pomeranz Y., (1965).** Dispersibility of wheat proteins in aqueous urea solution-New parameter to evaluate bread-making potentialities of wheat flour. *Journal of the Sciene of Food and Agriculture* 16: 586-593.
- PomeranzY., (1988).**Chemical composition of kernel structures. In. Wheat :Chemistry and Technology , Pomeranz Y.Ed.Vol.4.St. Paul, MN: AACCC,97-158.
- Prevost A., et Wilkinson M.J., (1999).** A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor Appl Genet*,98: 107-112.
- Prioul J.L., Quarrie S., Causse M., Devienne D., (1997).** Dissecting complex physiological function through the use of molecular quantitative genetics. *J. Ex.Bot.* 48:1151-1163.
- Qian Y., Christopher S., Michael A., (2001).** Selectcting a Maximally informative Set of Single-Nucleotide polymorphisms for Association Analyses Using Linkage Disequilibrium.87p.
- Rafalski J.A., (2002).** Novel genetic mapping tools in plants :SNPs and LD-based approaches .review. *Plant Sci.* 162 (3):329-333.

- Rhazi L., Cazalis R., Aussenac T., (2003).** Sulfhydryl- changes in storage proteins of developing wheat grain :influence on the SDS-unextractable glutenin polymer formation. *Journal of Cereal Science* 38:3-13.
- Rayburn A.L., et Gill B.S., (1985).** Use of biotin-labeled probes to map specific DNA sequences of wheat chromosomes .*J. hered.* 7:78-81.
- Richard G.M., Turner P.F., Napier J.A., Shewry P.R., (1996).** Transport and deposition of cereal prolamins. *Plant Physiology and Biochemistry* 34:237-243.
- Rousset H., (1986).** Amélioration des plantes autogames. *Rev. Agronomie* 9:606-619.
- Roy H., (1989).** Variétés des cereals Perspectives agricoles 138: 3-94.
- Sadli F., (1993).** La qualité technologique et biochimique des blés cultivés en Algérie.*Rev. Céréaliculture* ,26 : 9-15.
- Sakamura T., (1918).** Kurz Mitteilung uber die Chromosomenzahlen und die Verw and tschaftsver haltnisse der Triticum-Arten.*Bot.Mag* 32: 151-154.
- Salamini F., Özkan H., Brandolini A., Schafer-Pregl R., et Martin W., (2002).** Genetics and geography of wild cereal domestication in the near. *Nature. Reviews.* Vol.3:429-441.
- Santoni S., Faivre-Rampant P., Prado E., et Prat D., (200).** Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes.*Cah.Agri.*9(4):3311-3327.
- Sax K., (1918).** The behavior of the chromosomes in fertilization. *Genetic* 3: 309-327.
- Sax K., (1922).** Sterility in wheat hybrids. II. Chromosome behavior in partially sterile hybrids. *Genetics*, 7: 513-520.
- Sears E.R .,et Sears L.M.S., (1978).** The telocentric chromosomes of common wheat .In S. Ramanujams. Ed. *Proc. 5th Int. Wheat Genetics Symp.* New Delhi , Indian Agricultural Research Institute. 389-407p.
- Sewa R., Jain N., Dawar V., Singh R.P., Shoran J., (2005).** Analysis of Acid-PAGE gliadin pattern of Indian wheats (*Triticum aestivum* L.) representing different environments and periods. *Crop Science*,45:1256-1263.
- Shewry P.R., Tatham A.S., Forde J., Kreis M., Miflin B.J., (1986).** The classification and nomenclature of wheat gluten proteins : A reassessment. *Journal of Cereal Science* 4 : 97-106.
- Shewry P.R., et Tatham A.S., (1990).** The prolamins storage proteins of cereal seeds :structure and evolution . *Biochemical Journal* 267: 1-12.

- Shewry P.R., Napier J.A., Tatham A.S., (1995).** Seed storage proteins : Structures and Biosynthesis. *Plant Cell* 7 : 945-956.
- Shewry P.R., Halford N.G., Belton P.S., Tatham A.S., (2002).** The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 357:133-142.
- Shewry P.R., et Halford N.G., (2002).** Cereal seed storage proteins : structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany* 53: 947-958.
- Shewry P.R., Gilbert S.M., Savage A.W.J., Tatham A.S., Wan Y.F., Belton P.S., Wellner N., D'Ovidio R., Bekes F., Halford N.G., (2003).** Sequence and properties of HMW subunit 1Bx20 from pasta wheat (*Triticum durum*) which is associated with poor end use properties. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 744-750.
- Shewry P.R., D'Ovidio R., Lafiandra D., Jenkins J.A., Mills E.N.C., Bekes F., (2009).** Wheat grain proteins. In: *Wheat chemistry and technology*, Khan K, Shewry PR, Eds. St. Paul, MN :AACC International :223-277.
- Simpson G.M., (1968).** Association between grain yield per plant and photosynthetic area above the flag leaf in wheat. *Can. J. Plant Sci.* 48 :253-260.
- Singh N.K., Shepherd K.W., Cornish G.B., (1991).** A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *J. Cereal. Sci* 14: 203-208.
- Soltner D., (2005).** Les grandes productions végétales ,20^{ème} Eds. Collection ,Science et technique agricoles.472p.
- Spagnoletti-Zeuli P.L., et Qualset C.O., (1990).** Flag leaf variation and the analysis of diversity in durum wheat. *Plant Breed* ,105 : 189-202.
- Steele K.A., Price A.H., Shashidhar H.E., Witcombe J.R., (2006).** Marker assisted selection to introgress rice QTLs controlling root into an Indian upland rice variety. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1247-1260.
- Stephenson T.J., McIntyre C.L., Collet C., Xue G.P., (2007).** Genome-wide identification and expression analysis of the NF-Y family of transcription factors in *Triticum aestivum*. *Plant Mol. Biol.* ,65: 77-92.
- Stone P.J., Nicolas M.E., (1996).** Varietal differences in mature protein composition of wheat resulted from different rates of polymer accumulation during grain filling. *Australian Journal of Plant Physiology* .23-30p.
- Talbert L.E., Blak N.K., Storlie E.W., et Lavin M., (1995).** Variability in wheat based on lowcopy DNA sequence Comparisons. *Génome*, 38: 951-957.

- Tamura K., Nei M. et Kumar S. (2004).** Perspectives permettant de déduire de très grandes phylogénies en utilisant la méthode des voisins. Actes de la National Academy of Sciences (États-Unis) 101: 11030-11035.
- Tamura K., Nei M., Peterson D., Filipski A., Kumar S., (2013).** MEGA6 : Molecular evolutionary genetics analysis. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
- Tanaka H., Tomita M., Tsujimoto H., Yasumuro Y.,(2003).** Limited but specific variations of seed storage proteins in Japanese common wheat(*Triticum aestivum* L.).*Euphytica*,132 :167-174.
- Tao H., Adalsteins A.D.K., (1992).** Intermolecular disulfide bonds link specific high-molecular-weight glutenin subunits in wheat endosperm. *Biochimica et Biophysica Acta* 1159 : 13-21.
- Tatham A.S., Shewry P.R., (1985).** The conformation of wheat gluten proteins. The secondary structures and thermal stabilities of α -, β -, γ - and ω -gliadins. *Journal of Cereal Science* 3 : 103-113.
- Tatham A.S., Field J.M., Smith S.J., Shewry P.R., (1987).** The conformation of wheat gluten proteins, II, aggregated gliadins and low molecular weight subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science* 5 : 203-214.
- Tatham A.S., Drake A.F., Shewry P.R., (1990).** Conformational studies of synthetic peptides corresponding to the repetitive regions of the high molecular weight (HMW) subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science* 11:189-200.
- Tatham A.S., Field J.M., Keen J.N., Shewry P.R., (1991).** Purification and characterization of HMW glutenin subunits encoded by chromosome 1B of durum wheat (*Triticum durum*).*Journal of Cereal Science* 14 : 111-116.
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W., (1994)** . improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting , position-specific gap penalties and weight matrix choice. *NucleicAcidsRes*,22 :4673-4680.doi : 10.1093/nar/22.22.4673.
- Van Deynze A.E., Dubcovsky J., Gill K.S., Nelson J.C., Sorrells M.E., Dvorak J., Gill B.S., Lagudah E., McCouch S.R. et Appels R.,(1995).** Molecular-genetic maps for group 1 chromosomes of Triticeae species and their relation to chromosomes in rice and oat .*Genome*,38:45-59.
- Van Hintum J.L., et Elings A., (1991).** Assessment of glutenin and phenotypic diversity of Syrian durum wheat landraces in relation to their geographical origin. *Euphytica* 55: 209-215.

- Van Slageren M.W ., (1994).** Wild wheats : a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. and Spach) Eig (Poaceae). Wageningen , Netherlands, Agricultural University.512p.
- Vilain M., (1987).** La production végétale.Tom1. Les composantes de la production. Ed . J. B. Baillière ,Paris, 48: 370p.
- Vincent R ., (2013).** Identification des critères de sélection des blés chez .les paysans-boulangers. *convention avec l'INRA-SAD Paysage et l'ITAB. ISARA-Lyon. 44p*
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Vans de Lee T., Hormes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M., (1995).** AFLP. a New technique for DNA fingerprinting.*Nud.Acids Res.*23: 4407-4414.
- Wang G.Z., Miyashita N.T., et Tsunewaki K ., (1997).** Plasmon analysis of *Triticum* (wheat) and *Aegilops* : PCR-single-strand conformational polymorphisme (PCR-SSCP) analyses of organellar DNAs. *Proc. Natl.Acad.Sci.* 94: 14570-14577.
- Werner W.E., Adalsteins A.E., Kasarda D.D.,(1992).** Composition of high-molecular-weight glutenin subunit dimmers formed by partial reduction of residue glutenin.*Cereal Chemistry*,69 : 535-541.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., et Tingey S.V., (1990).** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers .*Nucl.Acids. Res.* 18 (22): 6531-6533.
- Woychik J.H., Boundy J.A., Dimler R.J., (1961).** Starch gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea. *Archives Biochemistry Biophysics* 94: 477-482.
- Wrigly C.W., et Bietz J.A., (1988).** Proteins and amino acids. Wheat Chemistry and Technology EYP. Ed.Vol. I. St Paul, MN : AACC: 159-275.
- Wrigley C.W., (1996).** Giant proteins with flour power. *Natur* 381 : 738-739.
- Yang W., De-Oliveira A.C., Godwin I., Schertz K. Bennetzen J.L.(1996).** Comparison of DNA marker technologies in characterizing plant genom diversity: variability in Chinese sorghums.*Crop Sci.* 36:1669-1676.
- Zaefizadeh M., Somarin S.j., Ojaghi J., Seyedi S.M., Mahmoodabad R.Z., Ochi M.,(2010).** Genetic diversity for gliadin patterns of durum wheat landraces in the northwest of Iran and Azerbaijan.*Pesquisa Agropecuària Brasileira*, 45:1425-1432.
- Zeven A.C.,(1990).**Landraces : a review of definitions and classifications .*Euphytica* :127-139p.

Zhu H., Briceno G., Dovel R., Hayes P.M., Liu B.H., (1990). Molecular breeding for grain yield in barley: an evaluation of QTL effects in a spring barley cross. *Teor. Appl. Genet.* 98: 772-779.

Annexes

Annexe 1 : Liste des génotypes étudiés

N° de L'échantillon	génotype						
1	alex1	26	mur19	51	val4	76	val32
2	alex2	27	mur20	52	val5	77	val34
3	alex3	28	mur21	53	val6	78	val35
4	alex4	29	mur22	54	val7	79	val36
5	alex5	30	mur23	55	val8	80	val37
6	alex6	31	mur24	56	val51	81	val38
7	alex8	32	mur25	57	val10	82	val39
8	alex9	33	mur26	58	val11	83	val40
9	mur1	34	mur27	59	val12	84	val43
10	mur2	35	mur28	60	val13	85	val44
11	mur4	36	mur29	61	val14	86	ita21
12	mur5	37	mur30	62	val15	87	ita22
13	mur6	38	mur31	63	val16	88	ita23
14	mur7	39	mur32	64	val17	89	ita24
15	mur8	40	mur33	65	val18	90	ita25
16	mur9	41	mur34	66	val19	91	ita26
17	mur10	42	mur35	67	val20	92	ita27
18	mur11	43	mur36	68	val21	93	ita28
19	mur12	44	mur37	69	val22	94	ita29
20	mur13	45	mur38	70	val23	95	ita30
21	mur14	46	mur39	71	val25	96	ita31
22	mur15	47	mur40	72	val26	97	ita32
23	mur16	48	mur41	73	val27	98	ita38
24	mur17	49	val2	74	val28	99	ita39
25	mur18	50	val3	75	val29	100	ita40

Annexe 2: Les moyennes des paramètres agro-morphologiques de 100 géotypes

		HP	LB	LE	TE	TH	TF%	SF	NE/E	NG/E	PMG	RDT
	géotype		Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy
1	alex1	75	11	6,6	2,6	8,2	64,49	19,56	15,4	31,4	38,22	46,6
2	alex2	74	10,6	6	2,6	7	61,59	25,62	15	27,6	35,67	35,2
3	alex3	70	30,8	5,8	2,6	6,6	63,31	22,18	15,8	30	36,90	44
4	alex4	76	10,2	6	2,8	7,6	41,65	14,08	15,8	20	28,85	30,4
5	alex5	66	8,8	6	3	6,8	56,06	19,98	15	25,4	31,44	36,6
6	alex6	69	8,6	6	2,6	5,4	41,42	22,56	15	13	24,09	14,5
7	alex8	70	10,8	6,2	2,8	5,8	43,80	26,28	14,6	21,6	31,56	47,4
8	alex9	71	9,8	5,2	2,6	5,4	70,91	21,08	15	31,8	36,83	36
9	mur1	45	8,8	6	2,2	4,4	35,38	20,2	14,6	15,4	25,25	45,6
10	mur2	47	8,6	6,8	2,2	4,4	31,89	16,56	16,6	15,6	34,84	16,2
11	mur4	45	9	6,2	2	4,8	19,09	19,66	15	7,8	27,12	18,1
12	mur5	40	10,8	6,6	2,2	5,8	40,38	23,1	17	20,6	26,46	7,92
13	mur6	41	9	5,8	2,2	5,2	38,36	18,6	15,8	18,2	25,59	22,2
14	mur7	46	8,4	5,8	2,2	4,8	56,25	19,78	15,8	23	42,07	18,5
15	mur8	52	8,2	4,8	2,4	5,2	5,40	23,94	13,8	2,4	12,34	37,7
16	mur9	51	8	5,8	1,6	6,6	30,64	21,24	14	13,6	35,20	2,74
17	mur10	52	9	5	2	4,8	21,48	18,1	15	9,6	22,19	11,5
18	mur11	45	7,2	3,8	2	5,8	8,17	19,8	15,8	6	12,75	10,3
19	mur12	48	8,6	4,2	2	5,6	26,13	16,06	13	13	17,76	3,84
20	mur13	47	8,6	5,6	2	5,8	39,16	21	15	17,6	24,50	12,2
21	mur14	49	10,4	5,4	2,4	5,8	46,17	25,6	14,2	19,2	36,82	16,1
22	mur15	52	10,2	5,6	2,8	4,2	48,41	19,72	15	21,8	39,59	26,9
23	mur16	50	9,4	5,6	2,6	5,6	48,41	26,18	13,8	19,6	42,04	36,6
24	mur17	51	8,8	5,2	2,4	5,6	22,75	23,26	14,6	10,4	20,77	32
25	mur18	53	10,2	5,8	1,8	5,8	32,46	18,92	13,8	19,6	42,04	10,6
26	mur19	54	8,6	5,4	1,8	5,4	18,76	21,26	13,4	8,4	13,02	11,5
27	mur20	56	8	5,2	2,6	5,2	26,87	24,68	13,4	10,8	28,49	7,45
28	mur21	54	8	5,2	3,4	4,8	12,45	18,76	12,2	4,6	9,35	12,1
29	mur22	53	6,6	4,2	2,2	5,2	11,23	13,42	13	4,4	13,70	4,45
30	mur23	55	6,8	5	2,4	6	53,01	27,88	17	27	36,36	35,4
31	mur24	54	9,6	5,8	2,6	4,4	46,80	17,62	14,2	19,6	26,87	25,9
32	mur25	48	9,6	5,4	2,4	4,8	40,91	34,4	12,6	16	26,58	16,2
33	mur26	47	8,6	5,2	2,6	6,4	38,93	24,7	12,2	14,2	22,00	18
34	mur27	49	9,2	4,8	2,4	4	62,70	25,34	15	28,2	33,11	33,9
35	mur28	48	9,4	5,8	2,2	5,4	32,85	25,4	15	17,4	26,18	21,6
36	mur29	47	9,2	5,2	2	5,2	65,11	19,82	13,8	26,8	39,10	32
37	mur30	51	10,6	5,8	2,8	4	44,96	24,5	13	16,8	33,42	24,4
38	mur31	50	9,4	5,2	2,6	4,4	33,53	18,92	12,2	13,2	29,86	19
39	mur32	50	7,8	4,6	2,2	4,8	26,18	21,02	11,4	7,6	31,28	7,79
40	mur33	51	8	4,8	2,4	5,2	49,36	18,12	14,2	20,8	29,43	22,4
41	mur34	52	9,8	5,8	2,8	4,2	56,60	26,6	15,4	25,6	35,10	38
42	mur35	45	10	6	2,4	4,8	62,78	23,98	15,8	29,6	35,81	39
43	mur36	50	10,2	6,8	1,8	5,4	39,29	17,06	15,4	16	41,99	20
44	mur37	40	9	6	2	5,6	59,83	21,02	12,2	22,8	45,73	28,3
45	mur38	39	7,6	5	2,4	4,2	31,02	20,52	10,6	10,4	37,19	15,4

		HP	LB	LE	TE	TH	TF%	SF	NE/E	NG/E	PMG	RDT
	génotype		Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy
46	mur39	47	8,8	4	2,2	4,4	53,01	15,36	12,2	20,2	37,23	24,9
47	mur40	45	10,4	5,2	2,2	7	28,87	36,32	13,8	13,8	21,18	15,8
48	mur41	50	8	5,6	2	6,2	57,96	21,18	13,4	19	25,75	30,1
49	val2	38	10	5,2	2,6	7,8	48,72	43,26	16,2	27,8	33,36	6,75
50	val3	38	5,6	9,4	3,2	7,4	56,68	33,2	15,8	24,4	34,33	19,8
51	val4	37	10,8	5,4	2,4	2,4	50,93	31,28	15	26,2	33,77	30,5
52	val5	40	10	5,6	2,6	7	58,16	34,86	16,6	25,2	36,49	6,53
53	val6	40	8,6	5,4	2,6	6,6	50,91	35,7	15	23,6	40,73	34,8
54	val7	47	11,6	5,2	2,4	6,4	51,99	28,5	15,4	21,8	36,05	43,6
55	val8	46	11	6	2,4	6,2	47,94	21,36	16,6	25,6	40,62	29,4
56	val51	47	11	6,8	2,8	5,4	51,24	27,32	17	22,2	44,10	34,2
57	val10	46	10	6,4	2,6	5,6	42,67	32,96	15,4	17,6	42,88	36
58	val11	48	10,4	6,6	2	6,8	39,23	26,52	14,2	22,8	38,92	34,9
59	val12	48	11	6,2	2,6	7	52,32	23,16	13,4	13,2	31,31	29,7
60	val13	49	9,6	4,8	2,4	7	33,91	26,02	17,4	23,6	36,61	44,9
61	val14	42	11,6	5,8	2,4	7	45,34	27,74	16,2	10,4	19,16	39,4
62	val15	38	9,2	5,6	2,2	6	24,36	24,24	16,6	22,2	22,63	28,7
63	val16	38	10,4	5,8	3	7	44,90	34,64	12,2	16,2	22,30	35,2
64	val17	45	9	4,8	3	7	42,17	29,7	14,6	22,4	32,40	18,6
65	val18	37	9,2	4,8	2,2	6,6	50,94	27,9	14,2	20,2	38,11	30,7
66	val19	43	8,8	4,8	2,8	7,4	48,23	35,58	11,4	19,2	37,77	10,4
67	val20	40	10	4,4	3,2	6	55,67	39,36	11,4	16	35,99	32,8
68	val21	43	9,8	4	2,2	7,2	45,58	29,48	11	23	42,41	21,9
69	val22	37	4,4	10	2,4	7,4	69,70	33,64	12,2	17,8	34,46	23,6
70	val23	37	8,6	4,6	2,4	7	49,02	34	12,6	22,6	37,25	33,2
71	val25	37	10,8	4,2	2,8	7,8	55,10	30,4	10,2	20,6	33,21	34,6
72	val26	38	10,6	4,2	3,4	7	67,37	27,82	11,8	18,6	40,95	19,4
73	val27	37	8,6	4,2	3,2	7,8	52,70	29,88	10,6	13,6	37,94	35,1
74	val28	38	7,2	3,8	2	6,2	42,67	36,34	12,6	24	43,01	22,4
75	val29	41	9,2	4,8	3	5,2	58,92	29,88	13,8	20	35,25	32,5
76	val32	38	11,8	5,4	2,4	6,2	49,31	34,54	13	21,8	34,93	35,3
77	val34	42	11,4	5	2,6	6	55,38	38,84	12,6	20,8	39,41	15,4
78	val35	39	10,2	4	2,4	6	56,00	23,82	13,4	20,2	29,72	49,4
79	val36	39	9,6	4,2	2,8	4,8	47,29	23,94	15	19,8	30,87	24,5
80	val37	36	11,2	5	2,6	7,4	44,06	23,58	11,8	17,8	39,71	30,6
81	val38	41	9	4,2	2,8	5,2	49,82	21,82	13,2	20	46,13	26,3
82	val39	46	11,4	5	2,6	4,6	48,63	27,9	14,6	19,6	35,85	33,8
83	val40	48	10,6	5,4	2,6	4,4	46,51	29,28	15,8	28,8	41,11	27,9
84	val43	51	11	6	2,6	5	54,17	30,72	17,4	26,6	42,02	28,5
85	val44	51	11,8	4,8	2,6	4,2	50,56	32,26	16,6	31	43,86	38,2
86	ita21	88	16	5,8	2,4	4,6	45,91	30,4	19	26,2	23,75	10,8
87	ita22	84	10,4	5,2	2,8	4,8	41,86	23,5	18,6	23,6	38,51	38,3
88	ita23	89	10,4	5,8	2,6	6,6	17,90	25,26	18,2	9,6	15,14	29,1
89	ita24	97	11,6	6,2	2,8	5,2	47,13	22,34	16,6	23	39,32	65,1
90	ita25	90	9,6	5,4	2,6	5,4	38,72	25,62	17,8	20	36,92	26,6
91	ita26	91	13,8	6	2,6	5,6	60,24	19,08	17,4	31,4	51,54	35,5
92	ita27	90	11,6	5,6	2,8	4,2	67,36	27,8	18,2	32,4	39,26	62,1

		HP	LB	LE	TE	TH	TF%	SF	NE/E	NG/E	PMG	RDT
	génotype		Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy	Moy
93	ita28	79	10,6	5,8	3	6,2	31,48	23,2	17,4	16,2	19,96	35,5
94	ita29	80	11,6	5,6	3	4,2	39,18	22,6	18,6	22	28,20	62,1
95	ita30	84	11,6	6,2	3,2	5	47,30	20,4	16,6	22,6	26,34	58,4
96	ita31	89	10,4	5,6	3	4,8	60,64	23,26	18,2	33,2	41,55	49,9
97	ita32	95	10,4	5,2	3,2	5,8	66,27	20,66	15	30,8	40,61	47
98	ita38	96	10	5,4	3,4	5,6	24,94	25,08	17	12,6	17,51	38,2
99	ita39	94	12,2	6,6	2,8	4,8	58,03	16,44	18,6	31,8	36,79	61,5
100	ita40	92	11	7,4	3,6	5,4	39,22	20,76	17,8	21	35,62	43,8

Annexe 3 : Corrélations des variables et les facteurs.

Observation	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
alex1	2,8218	0,2755	0,6552	1,1559	0,5412	-2,2434	-0,8157	-0,2478	-0,4086	-0,1402	0,3636
alex2	1,8909	0,4093	0,5156	0,5325	0,3036	-0,8609	-0,4789	-0,4751	-0,3590	-0,7009	0,0552
alex3	4,5965	-0,5794	0,1613	-2,0025	5,8040	-1,0409	3,2217	0,4696	-0,1532	0,2534	0,1175
alex4	0,5018	-1,3808	1,1272	0,6063	0,3513	-1,9569	-0,4141	-1,0257	-0,2022	0,4387	0,1350
alex5	1,3255	-0,1972	0,9055	0,3704	-0,7338	-1,2182	-0,2726	-0,5222	-0,7013	0,2267	0,2632
alex6	-1,0629	-1,2120	0,5006	0,5843	-0,3487	0,0771	0,4342	-0,7931	-0,3056	-0,6025	-0,4855
alex8	1,2452	-0,6370	0,9232	-0,0094	-0,2792	-0,3212	0,1101	0,7358	0,3207	-0,4575	0,3794
alex9	2,1910	0,1699	-0,9295	-0,3904	-0,5514	-0,6660	-0,4306	-0,5986	-1,0649	-0,5885	0,0425
mur1	-0,8376	-1,3020	-0,7405	0,2059	-0,5437	-0,1711	0,0861	1,8324	-0,1235	0,1015	0,1021
mur2	-1,0015	-1,5110	-1,4879	1,6153	-0,2997	0,2370	0,6659	-0,2233	0,4272	0,7289	-0,0934
mur4	-2,5777	-1,5508	-0,7590	0,9900	0,2990	0,1738	0,4968	0,4973	0,7359	0,2455	-0,1693
mur5	-0,7731	-0,4574	-0,4811	1,7358	1,1241	0,6835	0,4731	-0,4949	-0,7720	0,6588	0,0381
mur6	-1,1607	-0,8925	-0,8677	0,7202	0,1532	-0,0157	0,0090	0,2071	-0,6928	0,6261	0,0245
mur7	0,2383	0,2178	-2,0096	0,8456	-0,4600	0,0105	0,0743	-0,6136	-0,1599	0,3563	-0,4244
mur8	-3,4398	-2,1464	1,2835	-0,8760	-0,1060	0,2074	-0,4043	1,5784	0,5522	-0,0427	0,0772
mur9	-1,8849	-0,0418	-0,9995	1,2982	0,8223	-0,9807	-0,8839	0,2772	0,9151	-0,3927	-0,1500
mur10	-2,8877	-1,7281	-0,8674	0,0209	0,5146	0,1678	-0,0244	-0,2433	0,0330	0,0180	-0,2042
mur11	-4,3265	-1,8338	0,1076	-0,5083	0,8008	0,4040	-1,3739	-0,2442	-0,2713	0,5724	-0,2293
mur12	-3,1993	-1,0281	-0,6864	-0,7069	0,5587	-0,7649	-0,4398	-0,2374	-0,7445	-0,1285	0,2649
mur13	-1,7145	-0,4245	-0,7291	0,8950	0,5800	-0,0796	-0,2681	-0,3415	-0,7222	-0,0802	-0,0492
mur14	-0,4356	0,6307	-0,4564	0,1474	0,3758	0,0767	0,3334	-0,6115	0,1850	-0,0290	-0,1425
mur15	0,6171	-0,4523	-1,0601	-0,3600	-0,8999	0,1314	0,9181	-0,4147	0,1215	0,5517	0,0514
mur16	0,4754	0,7250	-0,2675	-0,0912	-0,5871	-0,2668	0,1375	0,3498	0,7458	0,0669	-0,0907
mur17	-2,0068	-1,2571	0,6298	-0,2293	0,0638	0,0227	-0,3287	0,7936	0,1771	0,1453	0,0210
mur18	-1,1543	0,0348	-1,7995	0,9346	0,9643	-0,7016	0,1124	-0,8011	0,9871	-0,2044	0,4061
mur19	-3,6638	-1,5467	-0,1586	0,4448	0,8531	-0,0302	-0,0804	0,2916	-0,3773	-0,8806	0,1363
mur20	-2,3105	-0,4898	0,2736	-0,1283	-0,4608	0,4246	0,4784	-0,9408	0,5069	-0,2852	0,0032
mur21	-3,4994	-2,1408	2,1083	-1,1258	-1,4036	0,0545	1,5453	-0,5662	-0,4336	0,3751	0,6244
mur22	-4,6782	-2,0741	-0,1805	-0,6784	-0,1633	-0,6168	-0,2148	-0,7605	-0,2883	0,0077	0,0670
mur23	0,9035	0,4670	-0,4133	0,3354	-0,5105	0,4839	-1,7830	-0,1144	-0,3322	0,1818	-0,1473
mur24	-0,3580	-1,0369	-0,7203	-0,0906	-0,7043	-0,2740	0,8627	-0,0184	-0,7815	0,0063	0,1598
mur25	-1,4282	0,7267	0,1697	-0,2118	-0,0287	1,3186	0,6886	0,2485	-0,0901	-1,1256	0,0790
mur26	-1,9416	0,3425	0,9105	-0,1878	-0,1077	-0,5027	0,2676	-0,1772	-0,5710	-0,2841	0,1759
mur27	0,9188	0,3253	-1,5779	-0,7424	-0,7240	0,7086	-0,2133	0,3210	-1,1260	-0,2864	-0,0165
mur28	-1,2499	-0,4971	-0,2439	0,6099	0,4106	0,4977	-0,0295	0,2760	-0,1078	-0,0938	0,2243
mur29	0,6057	0,8236	-2,1265	0,0382	-0,1656	-0,8458	-0,3199	0,2121	-0,7199	-0,3183	-0,1348
mur30	-0,3072	-0,2101	-0,3990	-0,5198	-0,8570	0,4280	1,6047	0,0852	0,1417	-0,2437	0,0788
mur31	-1,7432	-0,6495	-0,5875	-0,7478	-0,7284	-0,3245	1,1476	-0,1970	0,1947	-0,0924	0,2492
mur32	-3,2531	-0,2069	-0,8470	-0,6719	-0,4194	-0,2832	0,5329	-0,5703	0,7820	-0,5860	-0,1276
mur33	-0,7489	-0,2501	-0,9788	-0,3677	-0,5641	-0,5231	-0,2708	-0,4695	-0,8488	0,0793	-0,0427
mur34	1,3906	-0,0306	-0,5577	-0,2257	-1,0193	0,7849	0,4692	0,4447	-0,4463	0,0608	0,0905
mur35	1,6081	0,3283	-1,2793	0,4258	-0,3706	0,2326	0,0155	0,6569	-0,9063	0,2103	0,1462

Observation	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
mur36	-0,5861	-0,6034	-1,8730	1,7596	0,6460	-0,7185	0,4802	-0,0167	0,9370	0,1754	-0,3447
mur37	0,1112	1,5134	-1,9480	0,7217	-0,2931	-1,2020	0,3823	0,3082	0,2477	-0,3060	-0,0282
mur38	-2,5956	0,3173	-1,2453	-0,7061	-1,2153	-0,3490	1,1248	-0,0696	0,9221	-0,1761	0,1858
mur39	-0,8864	0,2564	-2,2608	-1,4259	-0,6947	-1,0273	0,0770	-0,2802	-0,3848	-0,1419	-0,1241
mur40	-2,0950	0,8321	1,3981	0,2759	1,5113	0,9554	-0,4109	0,2905	0,0404	-0,6407	0,1026
mur41	-0,7594	0,3246	-0,6140	0,6111	0,0066	-1,1127	-0,4929	0,5395	-1,1067	-0,6911	-0,4047
val2	0,1503	2,7128	1,4303	0,8382	1,3717	1,9756	-0,9672	-1,1164	-0,4113	0,1519	0,2495
val3	1,0868	1,4920	2,1432	4,1526	-1,5336	0,4888	0,9328	-0,2445	-0,4046	0,6117	0,4410
val4	0,5309	0,2013	-1,8996	-0,6664	-0,6424	2,3145	0,9608	1,0209	-0,5195	-0,2328	0,3319
val5	0,4360	1,9580	0,4849	1,0377	0,8204	1,2711	-0,2838	-1,2924	-0,5708	0,4340	-0,3965
val6	0,6936	1,9497	0,5106	0,3097	-0,1587	0,7482	-0,7977	0,3930	0,4292	0,2460	-0,0416
val7	0,9409	0,7329	0,0890	-0,2582	0,7270	-0,1088	-0,5402	0,8883	0,0980	0,2784	-0,3166
val8	1,0146	0,1701	-0,7590	0,8274	0,5856	-0,3027	-0,1702	-0,2163	0,1042	0,9714	0,1355
val51	1,6980	0,2263	-0,1108	1,0454	-0,2563	0,6282	0,6765	0,1773	0,6696	0,9030	-0,2895
val10	0,6391	0,7525	0,2689	0,7546	-0,2102	0,8521	0,2953	0,7270	1,2775	0,2263	-0,2737
val11	0,1949	0,7085	-0,3549	1,4194	0,9194	-0,6130	-0,3198	0,7815	0,7729	-0,1760	0,5736
val12	-0,3139	0,5016	0,8721	0,5437	0,3625	-1,2278	0,7469	0,2921	-0,0431	0,1155	-0,6316
val13	0,6061	0,0123	0,2664	-0,0498	0,6963	-0,0401	-1,8909	0,4969	0,5722	1,1229	0,2152
val14	-0,6743	-0,3222	1,4814	0,4435	1,2079	-0,1162	-0,1964	1,4222	-0,6091	0,4791	-1,0781
val15	-1,1044	-0,7170	-0,0321	0,7204	0,7802	0,5815	-0,9063	0,6368	-0,4617	0,8818	0,8550
val16	-0,6055	1,3782	2,3923	-0,1981	-0,0055	0,0999	0,6040	1,0393	-0,4584	-0,0935	0,2887
val17	-0,2802	1,1903	1,2562	-0,3352	-0,0568	0,3322	-0,4201	-0,9922	-0,2003	0,6811	0,3750
val18	-0,3138	1,5443	-0,4447	-0,0636	0,4035	-0,2567	-0,8088	0,3521	0,1012	0,2742	-0,3501
val19	-0,9490	2,8158	1,2510	-0,3179	0,0153	0,1117	0,0585	-1,0666	0,3504	-0,4286	0,1768
val20	-0,0594	2,5491	1,6377	-1,7127	-0,8267	0,7708	0,6017	0,3887	0,3165	-0,3476	-0,3784
val21	-0,7974	2,5887	-0,3810	-0,9466	0,7144	-0,8029	-0,7363	-0,4416	0,6042	-0,4774	0,4998
val22	0,0522	2,3897	1,1927	4,8581	-1,5257	-0,6626	1,2058	0,9801	-0,3325	-1,1325	-0,2737
val23	-0,3062	2,4149	0,3778	-0,4320	0,1297	-0,0159	-0,9490	0,4890	0,1887	-0,1769	0,2374
val25	-0,3530	2,7346	1,3224	-1,4703	0,3108	-1,2621	-0,0749	0,3181	-0,2830	-0,1122	0,2993
val26	0,3025	2,6488	1,1640	-1,5981	-0,6656	-0,7485	0,8910	-1,2456	-0,2953	0,7108	-0,6270
val27	-0,6421	2,6188	1,9290	-1,4887	-0,8401	-1,2925	-0,0271	0,0128	0,4575	0,4500	-0,3577
val28	-0,9966	2,7164	-0,8898	-0,6734	0,1471	0,7878	-1,5837	-0,0511	0,7242	-0,6165	0,3404
val29	0,4002	1,2443	0,2970	-1,0225	-1,0621	0,5295	0,3610	0,1604	-0,3683	0,2898	-0,4154
val32	0,2063	1,7731	0,3042	-0,2765	0,7306	0,4132	0,2072	1,0304	0,1597	-0,3092	0,2160
val34	-0,0301	2,5622	0,3577	-0,4948	0,4962	1,1473	0,6212	-0,3640	0,2872	-0,6866	-0,1940
val35	0,0225	0,8169	-0,2710	-1,5578	0,0335	-0,8491	-0,7684	1,3348	-0,7297	0,2802	-0,3325
val36	-0,4638	0,1940	-0,4082	-1,3034	-0,5206	0,6138	0,0824	-0,2717	-0,6358	0,8493	-0,2032
val37	-0,5210	1,6795	0,4078	-0,5412	0,5266	-1,4936	0,2702	0,1101	0,5881	0,6402	0,2219
val38	-0,0606	1,1368	-0,9734	-1,3538	-0,9940	-0,4055	0,1861	-0,6443	0,5779	0,7977	-0,1515
val39	0,3447	0,3017	-0,5132	-0,9101	-0,0952	0,7067	0,4922	0,5182	0,1383	0,1326	-0,2412
val40	1,1605	0,4744	-1,0418	-0,2264	-0,2234	1,3611	0,1487	-0,1465	0,1845	0,2667	0,5726
val43	1,7278	0,4440	-0,6041	0,5591	0,0893	1,3913	0,0951	-0,1765	0,1887	0,3777	-0,1921
val44	2,0521	0,5989	-1,1427	-0,9547	0,0272	1,7252	-0,2801	0,2407	0,3310	0,2447	0,3702
ita21	1,4924	-1,9048	-0,0307	0,1117	2,2621	2,1555	0,5452	-1,2851	-0,7396	-1,0976	-0,1489

Observation	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
ita22	1,8913	-1,7853	-0,1635	-0,4490	-0,3081	0,7137	-0,7846	-0,6855	0,6576	0,1246	-0,2576
ita23	-0,9054	-3,0136	2,2461	0,4900	1,0391	0,4150	-0,9233	-0,2724	0,3719	-0,4007	-0,4132
ita24	3,0460	-2,0071	0,4109	-0,3362	-0,5074	-0,6955	-0,4254	0,8313	1,1151	-0,7311	-0,0647
ita25	0,9770	-1,5508	0,1517	0,1163	0,0103	0,6405	-0,8551	-1,1792	0,8733	-0,5703	-0,4225
ita26	3,6563	-0,8340	-1,1450	0,1391	0,6438	-0,7075	0,0329	-1,3404	0,8238	-0,2487	-0,0779
ita27	4,2505	-1,1912	-0,4414	-0,7073	-0,6664	0,7203	-0,7430	0,6326	-0,1616	-0,7869	-0,2794
ita28	0,2838	-2,2697	1,9334	0,0086	0,1780	0,1138	-0,3481	-0,2321	-0,1556	0,1639	-0,0493
ita29	2,2654	-2,7916	0,5400	-0,9055	-0,5805	0,6277	-0,4043	1,1217	0,1604	0,3445	-0,0372
ita30	2,3499	-2,3477	1,1675	-0,5593	-0,8012	-0,4091	0,2463	0,7479	-0,2632	-0,0590	0,1804
ita31	3,7730	-1,2248	-0,3124	-0,4044	-0,9127	0,2634	-0,7666	-0,5109	-0,0426	-0,1630	0,1143
ita32	3,3049	-0,5451	0,3843	-1,0585	-1,1034	-1,1584	-0,3874	-1,0011	-0,1651	-0,7162	0,1719
ita38	0,2057	-3,0217	2,7768	-0,8737	-0,5989	0,4825	-0,2427	-0,4778	0,2641	-0,3382	-0,0748
ita39	4,0828	-2,5300	-0,4455	0,2009	-0,3938	-0,6805	-0,3381	0,3812	-0,1815	-0,1230	0,2032
ita40	2,6636	-2,5292	1,8005	0,6922	-1,1835	-0,1168	0,8786	-0,6177	0,8728	0,4068	0,2449

Annexe 4 : ANOVA pour les paramètres agro-morphologiques

Analyse de variance pour HP

ANOVA					
HP					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	27635,320	3	9211,773	455,718	0,000
Intragroupes	1940,520	96	20,214		
Total	29575,840	99			

Comparaisons multiples :						
Variable dépendante:						
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	22.65000*	1,74128	0,000	17,6948	27,6052
	val	29.59122*	1,75301	0,000	24,6026	34,5798
	ita	-17.82500*	1,96832	0,000	-23,4263	-12,2237
mur	alex	-22.65000*	1,74128	0,000	-27,6052	-17,6948
	val	6.94122*	1,02551	0,000	4,0229	9,8595
	ita	-40.47500*	1,36122	0,000	-44,3487	-36,6013
val	alex	-29.59122*	1,75301	0,000	-34,5798	-24,6026
	mur	-6.94122*	1,02551	0,000	-9,8595	-4,0229
	ita	-47.41622*	1,37619	0,000	-51,3325	-43,4999
ita	alex	17.82500*	1,96832	0,000	12,2237	23,4263
	mur	40.47500*	1,36122	0,000	36,6013	44,3487
	val	47.41622*	1,37619	0,000	43,4999	51,3325

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

Sous – ensembles homogènes

HP					
Scheffé ^{a,b}					
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
val	37	41,7838			
mur	40		48,7250		
alex	8			71,3750	
ita	15				89,2000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance pour LB

ANOVA					
LB Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	130,745	3	43,582	7,520	0,000
Intragroupes	556,393	96	5,796		
Total	687,138	99			

Comparaisons multiples :						
Variable dépendante: LB Moy						
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	3.66500*	0,93240	0,002	1,0117	6,3183
	val	2.71014*	0,93868	0,045	0,0389	5,3814
	ita	1,16167	1,05397	0,750	-1,8376	4,1610
mur	alex	-3.66500*	0,93240	0,002	-6,3183	-1,0117
	val	-0,95486	0,54912	0,393	-2,5175	0,6078
	ita	-2.50333*	0,72889	0,011	-4,5776	-0,4291
val	alex	-2.71014*	0,93868	0,045	-5,3814	-0,0389
	mur	0,95486	0,54912	0,393	-0,6078	2,5175
	ita	-1,54847	0,73690	0,227	-3,6455	0,5486
ita	alex	-1,16167	1,05397	0,750	-4,1610	1,8376
	mur	2.50333*	0,72889	0,011	0,4291	4,5776
	val	1,54847	0,73690	0,227	-0,5486	3,6455

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

Sous-ensembles homogènes :

LB Moy				
Scheffé ^{a,b}				
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
mur	40	8,9100		
val	37	9,8649	9,8649	
ita	15		11,4133	11,4133
alex	8			12,5750
Sig.		0,732	0,340	0,593

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance pour LE

ANOVA					
LE Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	4,952	3	1,651	1,856	0,142
Intragroupes	85,404	96	0,890		
Total	90,356	99			

Analyse de variance pour TE

ANOVA					
TE Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	5,185	3	1,728	16,323	0,000
Intragroupes	10,165	96	0,106		
Total	15,350	99			

Comparaisons multiples :

Variable dépendante:

Scheffé

(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	.41500*	0,12603	0,016	0,0564	0,7736
	val	0,08378	0,12688	0,932	-0,2773	0,4448
	ita	-0,22000	0,14246	0,500	-0,6254	0,1854
mur	alex	-.41500*	0,12603	0,016	-0,7736	-0,0564
	val	-.33122*	0,07422	0,000	-0,5424	-0,1200
	ita	-.63500*	0,09852	0,000	-0,9154	-0,3546
val	alex	-0,08378	0,12688	0,932	-0,4448	0,2773
	mur	.33122*	0,07422	0,000	0,1200	0,5424
	ita	-.30378*	0,09960	0,030	-0,5872	-0,0203
ita	alex	0,22000	0,14246	0,500	-0,1854	0,6254
	mur	.63500*	0,09852	0,000	0,3546	0,9154
	val	.30378*	0,09960	0,030	0,0203	0,5872

* La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

TE Moy			
Scheffé ^{a,b}			
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
mur	40	2,2850	
val	37		2,6162
alex	8		2,7000
ita	15		2,9200
Sig.		1,000	0,074

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance de TH

ANOVA					
TH Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	32,881	3	10,960	12,263	0,000
Intragroupes	85,799	96	0,894		
Total	118,680	99			

Comparaisons multiples :						
Variable dépendante:						
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	1.42000*	0,36614	0,003	0,3781	2,4619
	val	0,32973	0,36861	0,849	-0,7192	1,3787
	ita	1.38667 ⁺	0,41388	0,014	0,2089	2,5645
mur	alex	-1.42000- ⁺	0,36614	0,003	-2,4619	-0,3781
	val	-1.09027- ⁺	0,21563	0,000	-1,7039	-0,4766
	ita	-0,03333	0,28623	1,000	-0,8479	0,7812
val	alex	-0,32973	0,36861	0,849	-1,3787	0,7192
	mur	1.09027 ⁺	0,21563	0,000	0,4766	1,7039
	ita	1.05694*	0,28937	0,006	0,2335	1,8804
ita	alex	-1.38667- ⁺	0,41388	0,014	-2,5645	-0,2089
	mur	0,03333	0,28623	1,000	-0,7812	0,8479
	val	-1.05694- ⁺	0,28937	0,006	-1,8804	-0,2335

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

TH Moy			
Scheffé ^{a,b}			
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
mur	40	5,1800	
ita	15	5,2133	
val	37		6,2703
alex	8		6,6000
Sig.		1,000	0,802

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance pour TF

ANOVA					
TF Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	3882,849	3	1294,283	7,700	0,000
Intragroupes	16136,348	96	168,087		
Total	20019,197	99			

Comparaisons multiples :						
Variable dépendante:		TF Moy				
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	17,81525*	5,02126	0,008	3,5261	32,1044
	val	5,69834	5,05507	0,737	-8,6870	20,0837
	ita	9,65842	5,67597	0,413	-6,4939	25,8107
mur	alex	-17,81525*	5,02126	0,008	-32,1044	-3,5261
	val	-12,11691*	2,95721	0,001	-20,5323	-3,7015
	ita	-8,15683	3,92530	0,236	-19,3272	3,0135
val	alex	-5,69834	5,05507	0,737	-20,0837	8,6870
	mur	12,11691*	2,95721	0,001	3,7015	20,5323
	ita	3,96007	3,96846	0,802	-7,3331	15,2532
ita	alex	-9,65842	5,67597	0,413	-25,8107	6,4939
	mur	8,15683	3,92530	0,236	-3,0135	19,3272
	val	-3,96007	3,96846	0,802	-15,2532	7,3331

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

TF Moy			
Scheffé ^{a,b}			
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
mur	40	37,5885	
ita	15	45,7453	45,7453
val	37	49,7054	49,7054
alex	8		55,4038
Sig.		0,074	0,215

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance pour SF

ANOVA					
SF Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	1624,475	3	541,492	25,232	0,000
Intragroupes	2060,182	96	21,460		
Total	3684,658	99			

Comparaisons multiples :						
Variable dépendante:		SF Moy				
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	-0,32250	1,79417	0,998	-5,4282	4,7832
	val	-8,89169*	1,80625	0,000	-14,0318	-3,7516
	ita	-1,67583	2,02811	0,877	-7,4473	4,0956
mur	alex	0,32250	1,79417	0,998	-4,7832	5,4282
	val	-8,56919*	1,05665	0,000	-11,5761	-5,5622
	ita	-1,35333	1,40256	0,818	-5,3447	2,6380
val	alex	8,89169*	1,80625	0,000	3,7516	14,0318
	mur	8,56919*	1,05665	0,000	5,5622	11,5761
	ita	7,21586*	1,41799	0,000	3,1806	11,2511
ita	alex	1,67583	2,02811	0,877	-4,0956	7,4473
	mur	1,35333	1,40256	0,818	-2,6380	5,3447
	val	-7,21586*	1,41799	0,000	-11,2511	-3,1806

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

SF Moy			
Scheffé ^{a,b}			
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
alex	8	21,4175	
mur	40	21,7400	
ita	15	23,0933	
val	37		30,3092
Sig.		0,783	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance pour NE/E

ANOVA					
NE/E Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	160,081	3	53,360	19,649	0,000
Intragroupes	260,710	96	2,716		
Total	420,790	99			

Comparaisons multiples :						
Variable dépendante:		NE/E Moy				
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	1,09500	0,63825	0,405	-0,7213	2,9113
	val	1,07027	0,64254	0,432	-0,7582	2,8988
	ita	-2,46667*	0,72147	0,011	-4,5198	-0,4136
mur	alex	-1,09500	0,63825	0,405	-2,9113	0,7213
	val	-0,02473	0,37589	1,000	-1,0944	1,0449
	ita	-3,56167*	0,49894	0,000	-4,9815	-2,1418
val	alex	-1,07027	0,64254	0,432	-2,8988	0,7582
	mur	0,02473	0,37589	1,000	-1,0449	1,0944
	ita	-3,53694*	0,50443	0,000	-4,9724	-2,1015
ita	alex	2,46667*	0,72147	0,011	0,4136	4,5198
	mur	3,56167*	0,49894	0,000	2,1418	4,9815
	val	3,53694*	0,50443	0,000	2,1015	4,9724

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

NE/E Moy			
Scheffé ^{a,b}			
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
mur	40	14,1050	
val	37	14,1297	
alex	8	15,2000	
ita	15		17,6667
Sig.		0,311	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance pour NG/E

ANOVA					
NG/E Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	1067,835	3	355,945	9,613	0,000
Intragroupes	3554,595	96	37,027		
Total	4622,430	99			

Comparaisons multiples :						
Variable dépendante:		NG/E Moy				
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	8,93500*	2,35670	0,004	2,2285	15,6415
	val	3,82432	2,37257	0,462	-2,9274	10,5760
	ita	1,34000	2,66399	0,968	-6,2410	8,9210
mur	alex	-8,93500*	2,35670	0,004	-15,6415	-2,2285
	val	-5,11068*	1,38795	0,005	-9,0604	-1,1609
	ita	-7,59500*	1,84232	0,001	-12,8377	-2,3523
val	alex	-3,82432	2,37257	0,462	-10,5760	2,9274
	mur	5,11068*	1,38795	0,005	1,1609	9,0604
	ita	-2,48432	1,86258	0,621	-7,7847	2,8161
ita	alex	-1,34000	2,66399	0,968	-8,9210	6,2410
	mur	7,59500*	1,84232	0,001	2,3523	12,8377
	val	2,48432	1,86258	0,621	-2,8161	7,7847

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

NG/E Moy			
Scheffé ^{a,b}			
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05	
		1	2
mur	40	16,1650	
val	37	21,2757	21,2757
ita	15		23,7600
alex	8		25,1000
Sig.		0,130	0,361

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance pour PMG

ANOVA					
PMG Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	1001,868	3	333,956	4,963	0,003
Intragroupes	6459,458	96	67,286		
Total	7461,326	99			

Comparaisons multiples :						
Variable dépendante:		PMG Moy				
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	3,79350	3,17693	0,700	-5,2472	12,8342
	val	-3,42311	3,19833	0,766	-12,5247	5,6785
	ita	0,21033	3,59117	1,000	-10,0092	10,4298
mur	alex	-3,79350	3,17693	0,700	-12,8342	5,2472
	val	-7,21661*	1,87101	0,003	-12,5410	-1,8922
	ita	-3,58317	2,48352	0,558	-10,6506	3,4843
val	alex	3,42311	3,19833	0,766	-5,6785	12,5247
	mur	7,21661*	1,87101	0,003	1,8922	12,5410
	ita	3,63344	2,51083	0,555	-3,5117	10,7786
ita	alex	-0,21033	3,59117	1,000	-10,4298	10,0092
	mur	3,58317	2,48352	0,558	-3,4843	10,6506
	val	-3,63344	2,51083	0,555	-10,7786	3,5117

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

PMG Moy		
Scheffé ^{a,b}		
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05
		1
mur	40	29,1515
ita	15	32,7347
alex	8	32,9450
val	37	36,3681
Sig.		0,103

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Analyse de variance pour Rdt :

ANOVA					
Rdt Moy					
	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	6136,067	3	2045,356	16,575	0,000
Intragroupes	11846,514	96	123,401		
Total	17982,581	99			

Comparaisons multiples :

Variable dépendante:		Rdt Moy				
Scheffé						
(I) génotype		Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95 %	
					Borne inférieure	Borne supérieure
alex	mur	14.77275*	4,30235	0,011	2,5294	27,0161
	val	7,16236	4,33132	0,438	-5,1634	19,4881
	ita	-7,92250	4,86332	0,452	-21,7622	5,9172
mur	alex	-14.77275*	4,30235	0,011	-27,0161	-2,5294
	val	-7.61039*	2,53381	0,034	-14,8209	-0,3998
	ita	-22.69525*	3,36330	0,000	-32,2663	-13,1242
val	alex	-7,16236	4,33132	0,438	-19,4881	5,1634
	mur	7.61039*	2,53381	0,034	0,3998	14,8209
	ita	-15.08486*	3,40028	0,000	-24,7611	-5,4086
ita	alex	7,92250	4,86332	0,452	-5,9172	21,7622
	mur	22.69525*	3,36330	0,000	13,1242	32,2663
	val	15.08486*	3,40028	0,000	5,4086	24,7611

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

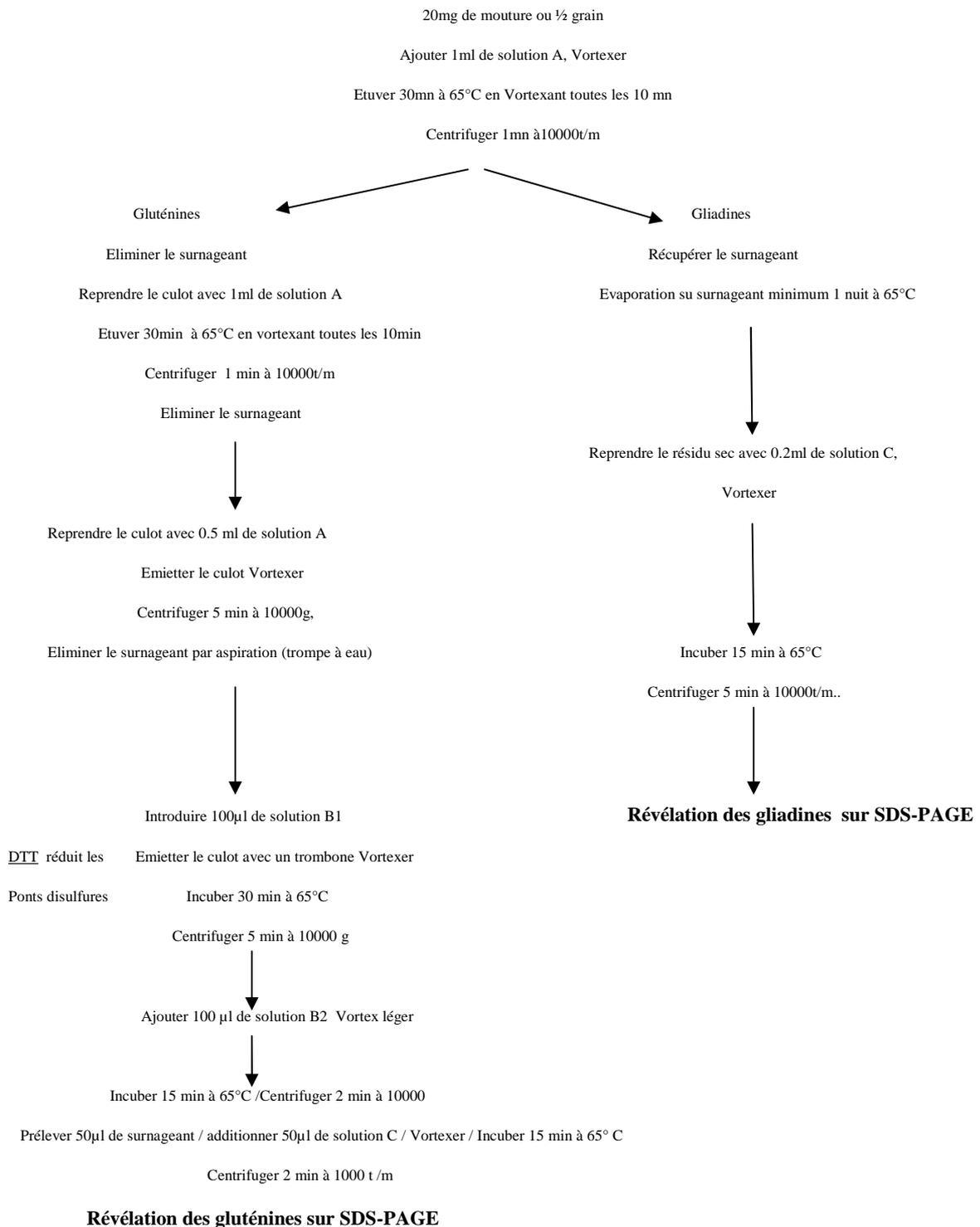
Rdt Moy				
Scheffé ^{a,b}				
génotype	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
mur	40	21,5648		
val	37	29,1751	29,1751	
alex	8		36,3375	36,3375
ita	15			44,2600
Sig.		0,284	0,338	0,250

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 16.414.

b. Les tailles de groupe ne sont pas égales. La moyenne harmonique des tailles de groupe est utilisée. Les niveaux d'erreur de type I ne sont pas garantis.

Annexe 5 : Extraction des gluténines HPM , FPM et gliadines



Annexe 6: Solutions utilisées dans l'extraction des gluténines et des gliadines

Solution A

Propanol-1 50ml

Eau distillée 100 ml

Solution B (conservation environ 2 semaines, à 4°C)

Propanol -1 10ml

Tris HCL IM pH8 1.6ml

Eau distillée qsp20ml

Solution B1 (à préparer ex temporairement)

Solution B 7ml

Dithiotreitol (DTT) 1% 70mg

Solution B2 (à préparer ex temporairement)

Solution B 7ml

4-vinyl-pyridine 98µl

Solution C (conservation environ 2 semaines ,à 4°C)

SDS (0.2g)

Glycérol 4ml

Bleu de bromophénol 2ml

Tris HCL IM pH 8 0.8ml

Eau distillée 10ml

Annexe 7 : Solution pour l'électrophorèse et la préparation des gels

Tampon Tris-HCL pH :8.8 (Conserver à 4°C).

Calibrer le pH mètre si cela n'a pas été fait récemment.

- Tris (hydroxyméthyl aminomethane) 60.57g
- Eau 400ml
- Ajuster à pH8.8 avec du HCL fumant ~8 à 10 ml
- Eau qsp 500 ml

Tampon Tris –HCL pH :6.8(Conserver à 4°C)

Calibrer le pH mètre si cela n'a pas été fait récemment

- Tris (hydroxyméthyl aminomethane) 30.285g
- Eau 200ml
- Ajuster à pH 8.8avec du HCL fumant 19.5ml
- Eau 250ml

Solution stock de SDS à 10% Stocker à température ambiante.

- Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) 1g
- Eau 10ml

Solution d'ammonium peroxodisulfate à 1 % (A préparer le jour même).

- A.P.S. 0.2g
- Eau 20 ml

Tampon d'électrophorèse (Stocker à température ambiante .)

Le tampon des cuves doit être renouvelé lorsque le voltage dépasse 500V en fin de migration (environ 20 utilisations). Prévoir 4 litres par cuve .Prévoir 1 litre pour le bac supérieur à chaque électrophorèse .

- Glycine 70.55g
- Tris 15g
- SDS 5g
- Eau 5l ml

Solution de coloration (pour les gels monodimensionnels) A préparer le jour même

Mettre le TCA et le Bleu en agitation avant de préparer la solution.

T.C.A. 60% 50ml

Solution Mère de Bleu de Coomassie R250 12.5ml

Eau 250ml

Bien mettre en agitation avant l'utilisation.

Solution mère de Bleu de Coomassie R250

Bleu de Coomassie R250	10g
Ethanol 95°	qsq 1000ml

Laisser en agitation au moins 2 heures

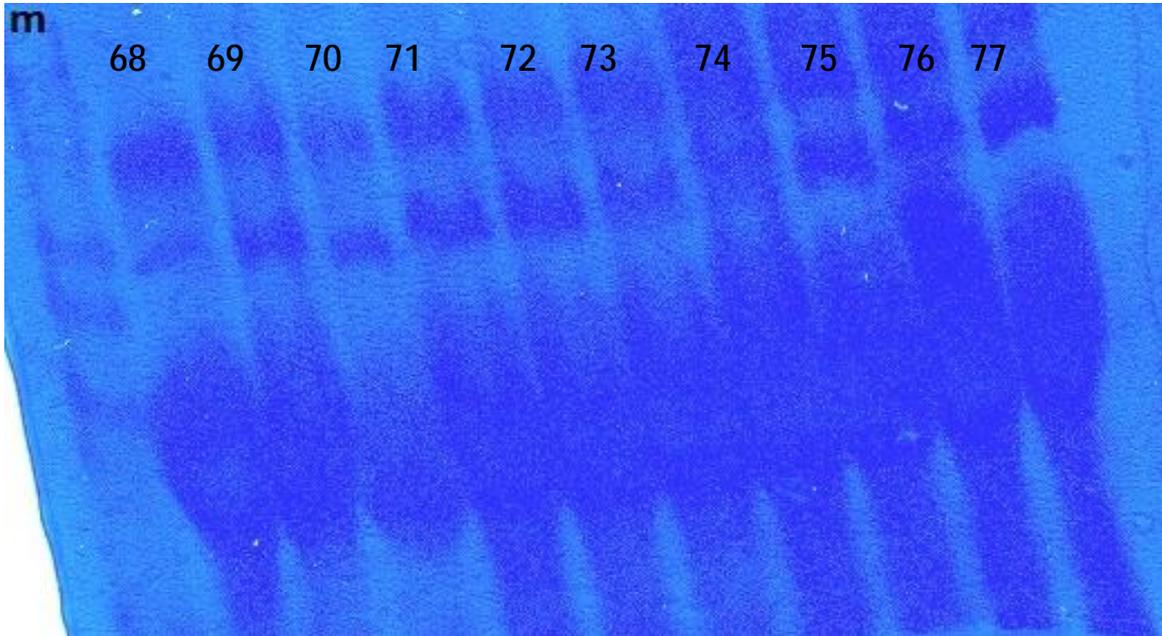
Filtrer cette solution avec un filtre plissé n°3.

Acide Trichloracétique 60 % (GANTS)

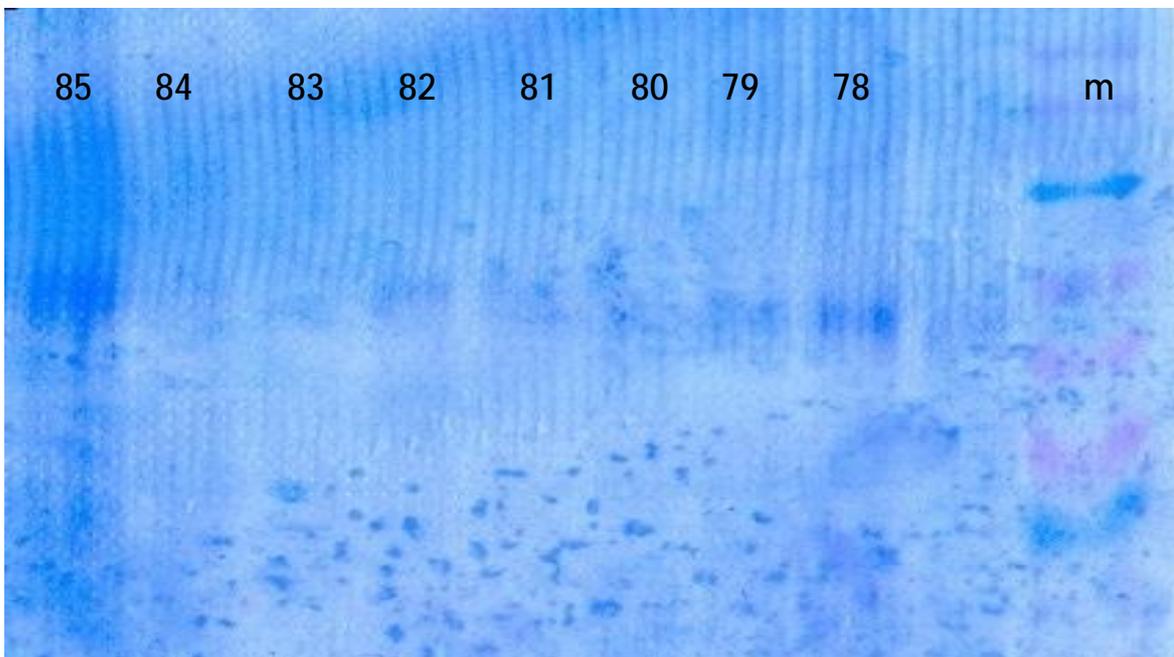
- TCA	1 Kg
- Eau Ultra pure	qsp 1667ml
- Stocker à température ambiante.	

Annexe 8 : Profil électro-phorétique (A et B) des gliadines de quelques génotypes de la variété *valenciae*.

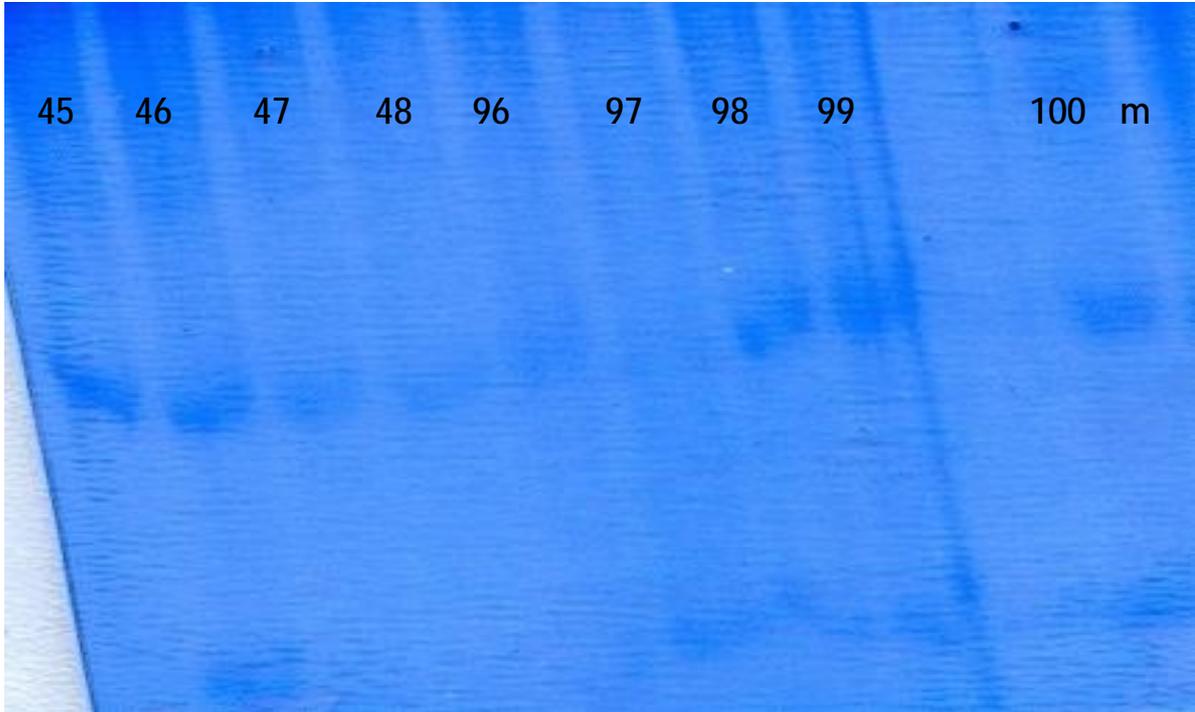
-A-



-B-

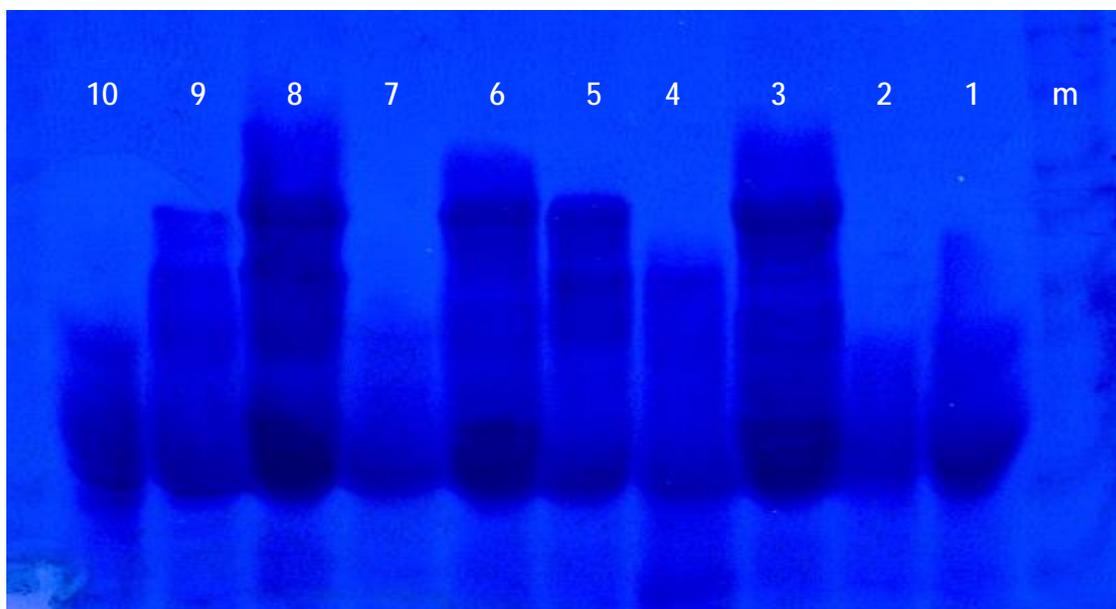


Gel électro-phorétique de quelques génotypes de la variété *italicum* (les génotypes 96 à100) et *murciense* (les génotypes 45 à 48).

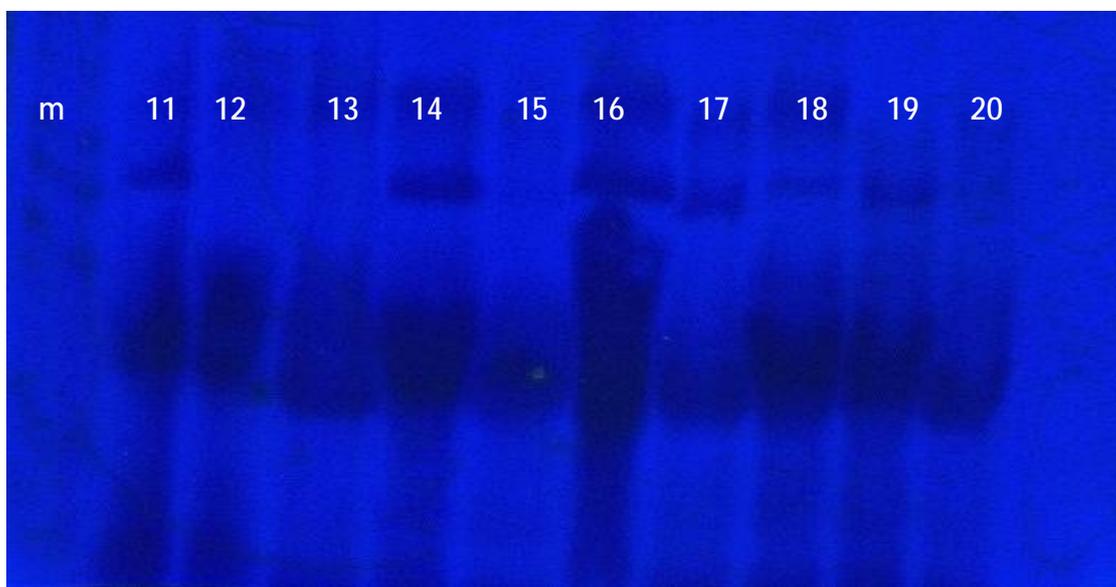


Annexe 9 : Profils électrophorétique des protéines des gluténines de 4 variétés révélés par SDS-PAGE (A , B, C , D ,E et F)

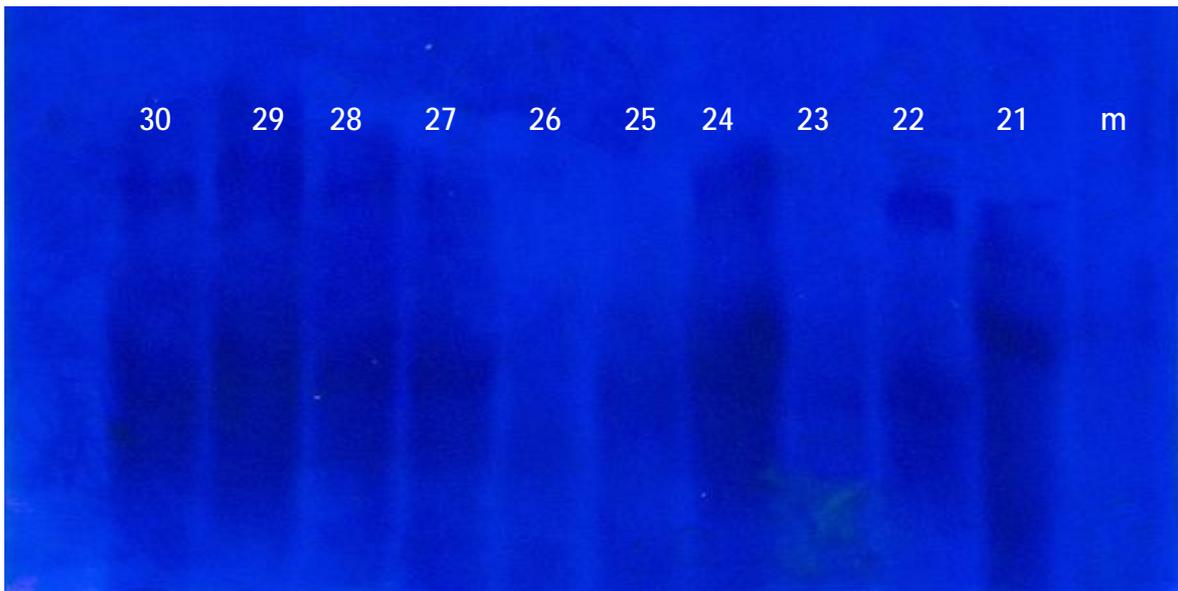
-A-



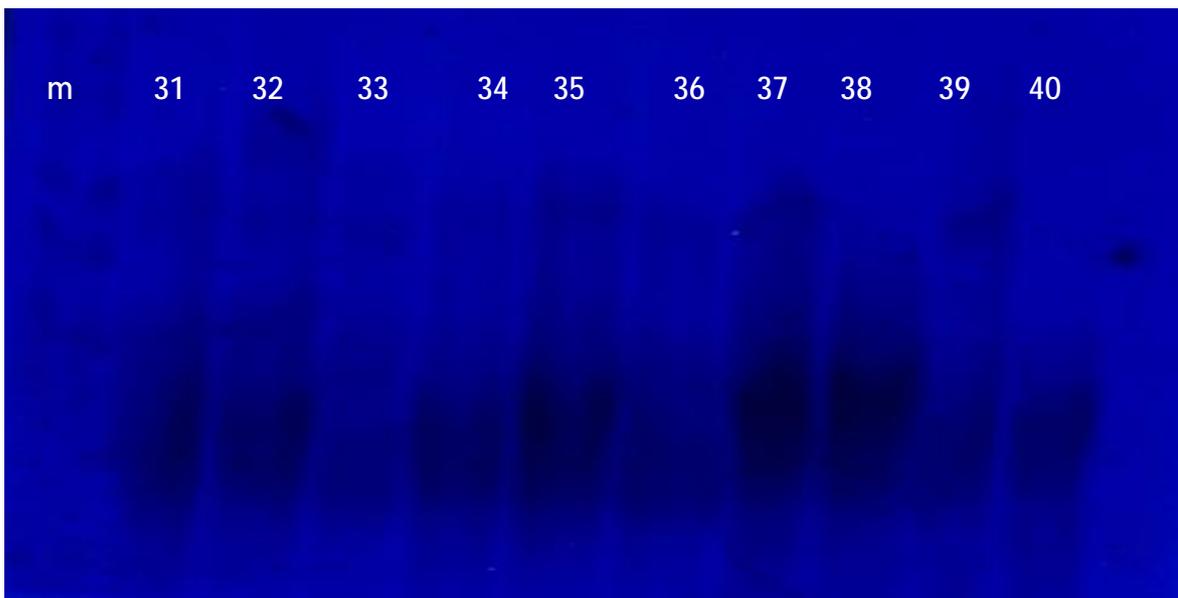
-B-



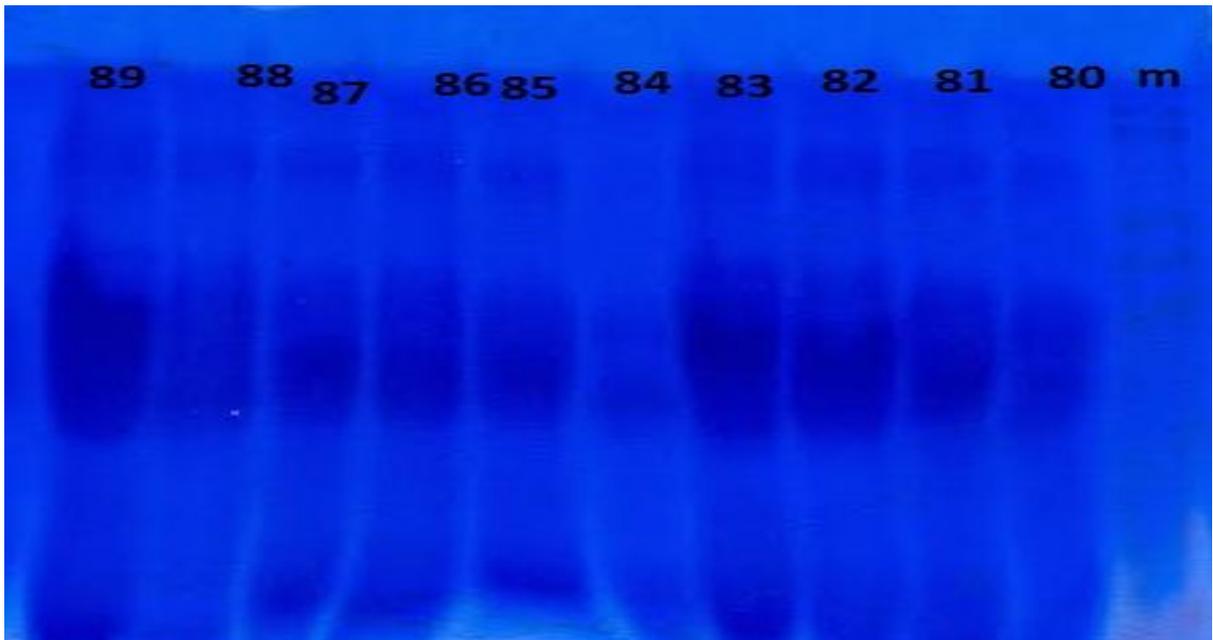
-C-



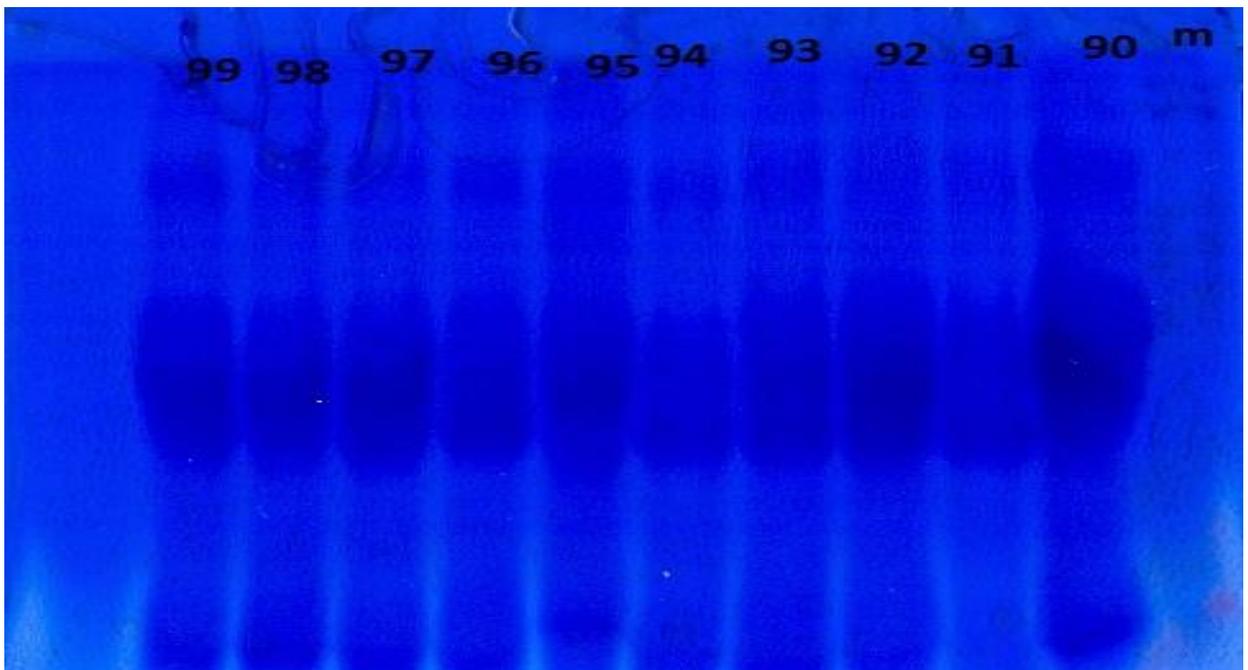
-D-



-E-



-F-



Annexe 10: Alignement multiple des séquences des gènes codants des gliadines

CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment

```

Ita32      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAA--CTAG-AGAATTCACTGATAGTCCACC
Ita26      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAA--CTAGAGATATTCACTGATAGTCCACC
Mur2       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Mur4       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Vol4       TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Vol132    TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Alex4      TTATCATCACCCACAAGACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
Alex8      TTATCATCACCCACAACACCGAGCACCACAAACTAGAGATCAATTCACTGATAGTCCACC
*****

```

```

Ita32      GAGATGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTCTCACC
Ita26      GAGATGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTCTCACC
Mur2       GAGATGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTCTCACC
Mur4       GAGATGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTCTCACC
Vol4       GAGATGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTC--TCC
Vol132    GAGATGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTC--TCC
Alex4      GAGATGGCTAAGCGGTTAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTCTCACC
Alex8      GAGATGGCTAAGCGCATAGTCCTCTTTGTGGCGGTAGTCGTCGCCCTCGTGGCTCTCACC
*****

```

```

Ita32      GTCGCTGAAGGTGAGGCCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAG
Ita26      GTCGCTGAAGGTGAGGCCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAG
Mur2       GTCGCTGAAGGTGAGGCCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGA---CAG
Mur4       GTCGCTGAAGGTGAGGCCACTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGA---CAG
Vol4       GTCGCTGAAGGTGAGGCCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAG
Vol132    GTCGCTGAAGGTGAGGCCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAG
Alex4      GTCGCTGAAGGTGAGGCCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAG
Alex8      GTCGCTGAAGGTGAGGCCCTCTGAGCAACTACAGTGTGAGCGCGAGCTCCAGGAGCTCCAG
*****

```

```

Ita32      GAGCGGAGCTCAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCC
Ita26      GAGCGGAGCTCAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCC
Mur2       GAGCGGAGCTCAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCC
Mur4       GAGCGGAGCTCAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCC
Vol4       GAGCGGAGCTCAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCC
Vol132    GAGCGGAGCTCAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCC
Alex4      GAGCGGAGCTCAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCC
Alex8      GAGCGGAGCTCAAGGCATGCCAGCAGGTCATGGACCAACAGCTCCGAGACATTAGCCCC
*****

```

```

Ita32      GAGTGCCACCCCGTCGTCGTCAGCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTG
Ita26      GAGTGCCACCCCGTCGTCGTCAGCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTG
Mur2       GAGTGCCACCCCGTCGTCGTCAGCCCGGTCGCGGGG----CCGAGCAGCAAATCGTGGTG
Mur4       GAGTGCCACCCCGTCGTCGTCAGCCCGGTCGCGGGG----CCGAGCAGCAAATCGTGGTG
Vol4       GAGTGCCACC----CGTCGTCAGCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTG
Vol132    GAGTGCCACC----CGTCGTCAGCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTG
Alex4      GAGTGCCACCCCGTCGTCGTCAGCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTG
Alex8      GAGTGCCACCCCGTCGTCGTCAGCCCGGTCGCGGGACAATCCGAGCAGCAAATCGTGGTG
*****

```

```

Ita32      CCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAA
Ita26      CCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAA
Mur2       CCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAA
Mur4       CCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAA
Vol4       CCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAA

```

Vol132 CCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAA
Alex4 CCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGCAACTCCAACAA
Alex8 CCGCCCAAGGGCGGATCTTTCTACCCCGGCGAGACCACGCCACCGCAGGAACTCCAACAA

Ita32 CGTATATTTTGGGGAATACCTGCACAAAAAGG----TATTACCCAAGTGTAA
Ita26 CGTATATTTTGGGGAATACCTGCACAAAAAGG----TATTACCCAAGTGTAA
Mur2 CGTATATTTTGGGGAATACCTGCACACTACTAAAAAGGTATTACCCAAGTGTAA
Mur4 CGTATATTTTGGGGAATACCTGCACACTACTAAAAAGGTATTACCCAAGTGTAA
Vol14 CGTATATTTTGGGGAATACCTGCACACTACTAAAAAGGTATTACCCAAGTGTAA
Vol132 CGTATATTTTGGGGAATACCTGCACACTACTAAAAAGGTATTACCCAAGTGTAA
Alex4 CGTATATTTTGGGGAATACCTGCACACTACTAAAAAGGTATTACCCAAGTGTAA
Alex8 CGTATATTTTGGGGAATACCTGCACACTACTAAAAAGGTATTACCCAAGTGTAA
***** * * *****

Nom et Prénom : ADOUI Nabila

Diplôme : Doctorat en Sciences

Filière : Biologie Végétale

Option : Biodiversité et Production Végétale

Thème : Etude moléculaire du polymorphisme des protéines de réserve d'une accession de blé dur (*Triticum durum* Desf.) cultivée en Algérie.

Résumé

La gestion et la conservation des ressources génétiques d'une espèce cultivée doivent requérir une bonne connaissance de sa variabilité morphologique et génétique pour sa conservation contre son érosion. Pour cela nous avons effectué une étude agro-morphologique, biochimique et moléculaire afin d'apprécier la diversité morphologique et agronomique intra et inter variétale, ainsi que le polymorphisme biochimique et génétique des protéines de réserve (gluténines HPM, FPM et les gliadines) existant chez les 100 génotypes appartenant aux quatre variétés locales de blé dur (*Triticum durum* Desf.), à savoir, *alexandrinum*, *merciense*, *valenciae* et *italicum* cultivées en Algérie. Les mesures des paramètres agro-morphologiques ont été réalisées à maturité des plantes.

Les résultats obtenus par les paramètres agro-morphologiques ont montré l'existence d'une diversité inter-variétale très importante entre les quatre variétés de sorte que les génotypes de la variété *alexandrinum* et la variété *italicum* possèdent les valeurs les plus performantes, alors que les génotypes de la variété *murciense* montrent les valeurs les plus réduites.

L'analyse biochimique par électrophorèse monodimensionnelle (SDS-PAGE) a révélé la présence d'un faible polymorphisme intra variétale et un polymorphisme important entre les génotypes des quatre variétés ; les génotypes de la variété *alexandrinum* et *murciense* possèdent des bandes α - β - γ gliadines, alors que les génotypes de la variété *valenciae* présentent des bandes de type γ et ω gliadines.

L'étude moléculaire porte sur trois types de techniques, à savoir la technique PCR/Bulk, le marquage moléculaire à travers le marqueur PCR/RFLP et le séquençage des gènes codant des gliadines. Les deux amorces Glu-DX5 et LA1 destinées à l'amplification de gènes des gluténines mettent en évidence la pauvreté de ces gènes chez tous les génotypes des quatre variétés. Alors que l'amorce 56MN utilisée pour l'amplification des gènes des gliadines, montre l'abondance de ces derniers chez tous les génotypes des quatre variétés. Pour le marqueur PCR/RFLP appliqué sur onze génotypes des quatre variétés sélectionnées sur la base de leurs abondance en gènes des gliadines ont produit le même nombre d'amplifiant de poids moléculaire 536 pb. Avec onze fragments monomorphes. L'analyse du séquençage de deux génotypes sélectionnées de chaque variété montre l'existence d'un très faible polymorphisme entre les génotypes des quatre variétés et révèlent qu'ils sont très liés génétiquement.

Mots clés : Blé dur, polymorphisme, gènes codant, gluténines, gliadines, diversité morphologique, marqueurs moléculaires RFLP, séquençage

Jury:

BAKA M.	Président	Pro.	Univ. Frères Mentouri –Constantine1
BOUDOUR L.	Rapporteur	Pro.	Univ. Frères Mentouri –Constantine1
BENMOHAMED A.	Examinateur	Pro.	Univ. Farhat ABBAS –Sétif1
YAHIA A.	Examinateur	Pro..	C U.Abdelhafid BOUSSOF –Mila
F. BAHLOULI	Examinateur	Pro.	Univ .Mohamed BOUDIAF –M'sila
HAMOUDA D.	Examinateur	M.C.A	Univ.Des Frères Mentouri –Constantine1