

UTILISATION DE MARQUEURS BIOCHIMIQUES (HORDÉINES) ET MOLÉCULAIRES (RAPD) POUR L'IDENTIFICATION DE SIX VARIÉTÉS D'ORGE HORDEUM VULGARE L.

D. RAMLA (1), R. AMIROUCHE (2)

(1) - INRAA, laboratoire de physiologie végétale et amélioration des plantes. C.R.P. Mehdi Boualem, B.P: 37, Baraki, 16000, Alger.

(2) - Université des sciences et de la technologie Houari Boumediène, faculté des sciences biologiques, laboratoire d'Eco-génétique, B.P: 39 El-Alia, Bab-Ezzouar, 16111, Alger.

RÉSUMÉ

Deux approches du polymorphisme électrophorétique sont testées pour l'identification et l'estimation de la diversité génétique de six variétés cultivées d'orge dont les deux principales variétés algériennes (Saida, Tichedrett), une variété-population saharienne (Tamentit) et trois autres variétés commerciales. La première approche est une analyse par SDS-PAGE du polymorphisme des protéines de réserve, les hordéines ; la deuxième, consiste en une analyse du polymorphisme moléculaire par RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Les hordéines mettent en évidence une ségrégation entre les deux variétés Saida et Tichedrett, dont le taux de similitude est relativement faible ($i = 0.56$). La variété-population (Tamentit), s'associe à la variété Saida avec le même taux de similitude ($i = 0.56$). La variété Saida paraît proche des variétés syriennes Badia ($i = 0.50$) et Rihane ($i = 0.60$) alors que la variété Tichedrett s'en éloigne avec des taux respectivement de 0.40 et 0.27. Les marqueurs RAPD ont permis de montrer que 2 des 3 amorces utilisées, produisent des fragments polymorphes. Contrairement aux hordéines, ces marqueurs montrent, une plus grande affinité entre les variétés Saida et Tichedrett ($i = 0.72$) alors que la variété saharienne (Tamentit) s'en distingue franchement ($i = 0.22$ et $i = 0.33$). Bien que le test de Mantel ne fait pas ressortir de corrélation nette entre les deux marqueurs, hordéines et RAPD, ils mettent en exergue une forte divergence inter-variétale et s'avèrent d'excellents outils pour l'évaluation de la diversité écogéographique et de la caractérisation variétale.

Mots clés : *Hordeum vulgare* L., Identification variétale, Hordéines, RAPD.

SUMMARY

Two comparative approaches of electrophoretic polymorphism are tested for evaluation of genetic diversity of six barley including the two main Algerian cultivated varieties (Saida, Tichedrett), one Saharian landrace (Tamentit) and three commercial varieties. The first approach is an SDS-PAGE analysis of hordein polymorphism ; the second consists of an analysis of molecular RAPD polymorphism (Random Amplified Polymorphic DNA). Results from hordein polymorphism highlighted a strong differentiation between the two Algerian varieties (Saida and Tichedrett) whose similarities are relatively weak ($i = 0.56$). The Saharian Tamentit showed the same similarity ($i = 0.56$) with Saida which seems to lead to a close relationships to the two Syrian varieties Badia ($i = 0.50$) and Rihane ($i = 0.60$). Whereas Tichedrett variety moved away with rates $i = 0.40$ and $i = 0.27$ relatively. The RAPD markers revealed that 2 of 3 primers produced a high level of polymorphic bands. Contrary to hordein, RAPD markers showed a higher relationship between the two varieties Saida and Tichedert with $i = 0.72$. Whereas the Saharian Tamentit was distinguished with $i = 0.22$ and $i = 0.33$ respectively. Although the Mantel test emphasized the lack of correlation between the two markers, our result underlined the high level of diversity in the Algerian varieties and revealed to be good tools for varietal characterization.

Key words : *Hordeum vulgare* L., Varietal identification, Hordein, RAPD.

INTRODUCTION

L'érosion du patrimoine phytogénétique céréalière est en grande partie due aux pratiques de l'agriculture moderne (culture monovariétale) associées aux programmes intensifs de sélection. Les variétés traditionnelles issues de la sélection locale sont ainsi peu à peu délaissées au profit de nouvelles variétés commerciales réputées performantes mais le plus souvent non adaptées aux conditions climatiques de nos régions.

En Algérie, la culture de l'orge, *Hordeum vulgare* L., en est un exemple : les variétés locales sont pratiquement en voie de disparition à l'exception de deux d'entre elles, Saïda et Tichedrett, encore appréciées par les agriculteurs pour leur tolérance à la sécheresse (BOUZERZOUR et MONNEVEUX, 1992). L'amélioration des rendements et la gestion durable des ressources phytogénétiques passent par la réhabilitation des variétés traditionnelles. Ces dernières doivent être introduites dans le schéma de création de nouveaux génotypes combinant à la fois les caractères agronomiques des cultivars locaux et ceux des variétés introduites. En effet, les gènes de résistance doivent continuellement être introduits dans des lignées élites (BAUM *et al.*, 1997). Pour cela, il est essentiel d'établir un inventaire et une évaluation de la diversité génétique existante (STRELCHENKO *et al.*, 1999). Ces objectifs peuvent être réalisés grâce à plusieurs outils d'analyse de la variabilité génétique. Les uns, classiques, reposent sur des critères biométriques, les autres, récents et plus performants, font appel à des marqueurs biochimiques et moléculaires (ADN).

Ce travail vise à tester deux types d'outils, l'un biochimique et l'autre moléculaire appliqués à l'identification de six variétés cultivées d'orge, trois variétés algériennes et trois variétés introduites.

Une première étude concerne l'analyse du polymorphisme des hordéïnes (protéines de réserves spécifiques à l'orge) par électrophorèse en gel de polyacrylamide (SDS-PAGE). Les hordéïnes sont utilisées pour l'identification variétale dans plusieurs travaux (SHEWRY et MIFLIN, 1982 ; MONTEMLBAULT, 1982 ; SHEWRY *et al.*, 1985 ; AUTRAN, 1986 ; KREIS *et al.*, 1987 ; MARCCHYLO, 1987 ; BENETRIX, 1993).

La deuxième étude porte sur la recherche de marqueurs moléculaires de l'ADN génomique par la technique PCR-RAPD (MULLIS *et al.*, 1986 ; WILLIAMS *et al.*, 1990). De nombreux travaux ont mis en évidence l'efficacité des marqueurs RAPD pour l'identification, la caractérisation et l'évaluation de la diversité génétique de l'orge cultivée *Hordeum vulgare* L. et de son progéniteur spontané *H. spontaneum* (BAUM *et al.*, 1997 ; TERZI, 1997 ; STRELCHENKO *et al.*, 1999 ; SHARMA *et al.*, 2000 ; FIGLIULO *et al.*, 2000). De plus, ces auteurs ont montré la corrélation du polymorphisme des RAPD avec les conditions écogéographiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Matériel végétal

L'analyse a englobé six variétés cultivées d'orge à six rangs d'origines échogéographiques diverses : 05 variétés cultivées issues de sélection généalogique et une variété-population saharienne largement utilisée par les agriculteurs de la région du Touat / Adrar (tableau I).

Electrophorèse des hordéïnes

L'extraction des hordéïnes a été réalisée pour chaque variété sur 05 grains. Pour les cultivars Saïda, Tichedrett, Badia, Rihane et Barberousse, les grains ont été pris à partir de lots de semence pure fournis par l'ITGC et pour Tamentit d'un lot de semence obtenu auprès d'agriculteurs. Le protocole utilisé est celui de LANDRY *et al.*, (1972) modifié par le laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire des

céréales de l'INRA-Montpellier. Les grains sont pesés puis broyés à l'aide d'un pilon dans une solution de NaCl 0,5M (15 ml de solution saline/gramme de grain). L'extrait obtenu est mis sur un agitateur rotatif pendant 02 heures à 4 °C puis dans la centrifuge à 15.000 t/mn pendant 30 mn, à 4 °C. Le culot contenant les prolamines (hordéines) subit 02 rinçages successifs à l'eau désionisée suivi d'une centrifugation à 15.000 t/mn pendant 15 mn à 4 °C. Le culot obtenu est solubilisé dans de l'isopropanol 55 % dans les mêmes proportions que la solution saline. Après agitation à température ambiante pendant 2 heures, la solution est de nouveau centrifugée. La fraction hordéine est contenue dans le surnageant. A 50 µl du surnageant sont ajoutés 15 µl de solution réductrice composée de 333 µl d'eau désionisée, 25 µl de mercaptoéthanol et 142 µl d'une solution mère tamponnée à pH 6,8 (SDS 1 g, pyronine 5 mg, glycérol 5 ml, Tris-HCl 1M 3,12 ml, eau désionisée 6 ml). Ce mélange est mis à ébullition pendant 3 minutes puis on lui ajoute 40 µl de tampon tris-HCl 1M (pH 6,8), 10 µl de SDS à 10 % et 50 µl de glycérol. L'électrophorèse est réalisée sur gel de polyacrylamide à 13 % pour le gel de résolution et 7,5 % pour le gel de concentration. La migration verticale se fait en courant continu de 20 mA pendant 3 heures. La coloration est effectuée au bleu de Coomassie R250.

Technique PCR-RAPD

La technique est réalisée selon le protocole adapté à l'espèce dans le laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire des céréales de l'INRA-Montpellier. 100 mg de feuilles récoltées à partir de 1 à 3 plantules issues de jeunes germinations sont mélangés à 100 mg de sable de rivière et broyés à froid dans 500 µl de tampon d'extraction (100 mM de Tris-HCl, 100 mM de NaCl, 50 mM d'EDTA et 2 % de SDS, pH 8,0). Le broyat est ensuite incubé avec 05 µl de protéinase K (10 mg/ml) pendant 1 h à 20 °C. Après centrifugation à 10.000 t/mn pendant 10 mn à 20 °C, le surnageant est recueilli puis

mélangé à un volume égal d'une solution de phénol/chloroforme (50 : 50 ; V/V) puis centrifugé de nouveau. Deux volumes d'éthanol absolu sont ajoutés à un volume de la phase aqueuse suivi de centrifugation. Le précipité est récupéré pour être dissout dans 500 µl de Tris-EDTA (10 mM Tris, 01 mM EDTA, pH 8,0). Après 24 heures à température ambiante, la solution est incubée pendant 1 heure à 37 °C avec 2 µl de RNase (10 mg/ml). On y additionne 500 µl de phénol/chloroforme (50 : 50 ; V/V). Après centrifugation, la phase aqueuse est précipitée dans 2 volumes d'éthanol. Une nouvelle centrifugation (10.000 t/mn, 5 mn, 20°C) est réalisée. Le culot est rincé avec 500 µl d'alcool 70°C puis centrifugé (5.000 t/mn 2 mn, 20 °C). Le culot d'ADN est sèche sous vide puis repris dans du Tris-EDTA (pH 8,0). L'amplification est réalisée dans un volume réactionnel de 25 µl composé d'eau désionisée (13,42 µl), de tampon de réaction 1x (1,5 mM en Mg²⁺), de 0,2 mM dNTPs (0,37-0,5 µM), d'amorces (Bioprobe), de 0,4 U Taq Polymérase (Appligène, 5U/µl) et de 50 ng d'ADN. Trois amorces (Bioprobe) de type Operon (OP006, OP007, OP018) ont été testées.

L'amplification est réalisée dans un thermocycleur (Perkin Elmer 2400). Le programme d'amplification comprend une phase de dénaturation initiale de 4 mn à 94 °C, une phase de 35 cycles d'amplifications (1 mn à 94 °C pour la dénaturation de l'ADN, 1 mn à 38 °C pour l'hybridation des amorces, 1 mn à 72 °C pour l'élongation) et une phase d'élongation finale de 6 mn à 72 °C.

L'électrophorèse est réalisée sur gel d'agarose à 1,5 %. Les échantillons sont préalablement préparés en mélangeant 5 µl d'un tampon de charge (bleu de bromophénol 0,25 %, xylène cyanol FF 0,25 %, glycérol 30 %) au 25 µl de l'extrait d'amplification et des marqueurs

(1kb DNA Ladder, BRL). La migration est réalisée à 80 mA. La coloration se fait par incubation des gels dans une solution de Bromure d'éthidium (2/ μ g/ml). Les bandes sont visualisées sous UV puis photographiées sur film polaroid.

Analyse des données

La diversité génétique est estimée par l'indice de similitude de Dice à partir de la matrice de présence (1) absence (0) des bandes polymorphes. La distance de Dice, le test de Mantel et la construction des dendrogrammes par UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic averages) ont été réalisés avec le logiciel NTSYS-PC (ROHLF, 1990).

RÉSULTATS

Variabilité des hordéines

L'analyse des électrophorogrammes d'hordéines (figure 1) montre que le poids moléculaire des électromorphes est compris entre 32 kDa et 66 kDa. Deux zones de migration sont visualisées. Une zone rapide et une zone lente qui caractérisent les hordéines de type B et de type C qui correspondent respectivement aux deux loci Hor1 et Hor2 décrits par DOLL et BROWN (1979), SHEWRY et MIFLIN (1982), KREIS *et al.*, (1987).

Un total de 27 bandes polypeptidiques toutes polymorphes est dénombré. Chacune des 6 variétés se singularise par au moins une bande discriminante (tableau II).

Dans le tableau III et IV, nous donnons successivement la matrice de présence-absence de ces polypeptides et celle des similarités construites à partir de l'indice de Dice (ROHLF, 1990).

Il ressort une ségrégation entre les deux principales variétés algériennes, Saida et Tichedrett, dont le taux de similitude relativement faible

est de 56 %. La population-variété saharienne Tamentit, montre un taux de similitude de même ordre ($i = 0.56$) par rapport à la variété Saida. C'est avec la variété syrienne Rihane que celle-ci présente le taux de similitude le plus important ($i = 0.60$). La variété Tichedrett montre moins d'affinités avec les autres variétés. Les taux de similitude sont compris entre 0.40 (Badia) et 0.27 (Rihane). Le dendrogramme UPGMA construit à partir de la matrice de similitude (figure 2), regroupe les variétés en 2 groupes distincts au niveau de similarité légèrement supérieur à 0.45. Le groupe (I) est composé de Saida, Tamentit et Rihane qui montrent de fortes affinités entre elles. Le second groupe (II) réunit Tichedrett à Badia à un taux voisin de 0.48. L'isolement de la variété Barberousse est remarquable.

Variabilité des marqueurs RAPD

Deux des trois amorces (OP-006 et OP-007) ont donné des profils d'amplification avec une bonne résolution des bandes (figure 3) et un haut niveau de variabilité des produits d'amplification (83,33 %). En effet, sur un nombre total de 24 fragments, 20 sont polymorphes et leur taille varie entre 217 pb et 1138 pb.

Des marqueurs RAPD sont spécifiques à certaines variétés (tableau V). La variété Saida est caractérisée par 11 bandes polymorphes dont 3 discriminantes (741 pb, 593 pb et 339 pb) ; Badia par 11 bandes polymorphes et 1 discriminante (926 pb) ; Rihane, 8 bandes polymorphes et 1 bande discriminante (663 pb). Les trois autres Tichedrett, Tamentit et Barberousse ne présentent aucune bande discriminante.

Les taux de similitude entre les six variétés (tableau VI) varient entre 22 % et 81 % exprimant une large divergence inter variétale. Dans ce cas, les 2 principales variétés algériennes, Saida et Tichedrett, montrent de plus fortes affinités entre elles par rapport à celles

obtenues par les hordéines ($i = 0.72$). Remarquons que la variété-population saharienne, Tamentit, montre ici un comportement singulier avec des taux de similitude très faibles de 0.22 et 0.33 respectivement avec Saida et Tichedrett. La variété-population Tamentit est cependant fortement liée à la variété Barberousse ($i = 0.77$).

Le dendrogramme UPGMA basé sur les indices de similitude de Dice (figure 4) confirme et met en exergue cette ségrégation en deux groupes hétérogènes rassemblant chacun des variétés algériennes et étrangères. Le premier groupe concerne les variétés Saida, Tichedrett et la variété Badia ; le deuxième concerne les variétés Barberousse et Tamentit. La variété Rihane occupe une position intermédiaire.

Corrélation entre les marqueurs hordéines et RAPD

Le test de Mantel, nous a permis de rechercher les corrélations entre les deux matrices de similitude des hordéines et des marqueurs RAPD. Les résultats, (tableau VII) donnent un coefficient de corrélation négatif très faible $r = -0.2$ pour une probabilité $P \leq 0.24$. Ceci confirme les observations précédentes et l'absence de relations nettes entre les deux marqueurs, hordéines et RAPD.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les analyses du polymorphisme des hordéines et des marqueurs RAPD ont révélé une large diversité inter variétale. La divergence importante entre les variétés Saida et Tichdrett par rapport à Tamentit met en évidence la richesse génétique de nos variétés locales. Les marqueurs utilisés constituent un outil précieux pour l'identification des variétés comme le confirment les travaux de SHEWRY et MIFLIN (1982) ; MONTEMLBAULT (1982) ; SHEWRY *et al.*, (1985) ; AUTRAN (1986) ; KREIS *et al.*, (1987) ; MARCCHYLO (1987) ; BENETRIX (1993) ;

BAUM *et al.*, (1997) ; TERZI (1997) ; STRELCHENKO *et al.*, (1999) ; SHARMA *et al.*, (2000) ; FIGLIULO *et al.*, (2000). Cependant, ces marqueurs n'ont pas permis le regroupement des six variétés selon leurs origines géographiques. Cette absence de liaison entre le regroupement phylogénétique et l'origine éco-géographique a été également constatée par ZVINGILA et POPENDIKYTE (2002) lors d'une analyse de type RAMP (Random Amplified Microsatellite Polymorphism) sur trente cultivars d'orge issus de zones géographiques diverses. Le faible nombre d'amorces utilisées et la très faible contribution du germplasm local dans la sélection des cultivars analysés en seraient les deux principales causes.

Quant à la corrélation entre les différentes classes de marqueurs, les résultats obtenus par plusieurs travaux sont variables. L'absence de corrélation entre les marqueurs moléculaires (RAPD, AFLP) et les marqueurs morphologiques (distances biométriques) ou de parenté (pedigree) a été rapportée par HELMS *et al.*, (1997) et SCHUT *et al.*, (1997) respectivement sur le soja et l'orge. Par contre, chez le blé, le grand nombre d'amorces utilisé a permis de trouver une corrélation significative entre le coefficient de diversité parentale et les marqueurs RFLP et AFLP (CORBELLINI *et al.*, 2002).

La faiblesse du nombre d'amorces utilisées pourrait expliquer en partie la non équivalence de l'information phylogénétique donnée par les différents marqueurs et ce en diminuant la probabilité d'association entre les marqueurs utilisés et les gènes contrôlant les caractères étudiés (MOURA DUARTE *et al.*, 1999).

En définitif, en dépit du faible nombre de variétés et d'amorces utilisées, nos résultats mettent en exergue la différenciation des variétés algériennes d'orge et l'intérêt de ce type de marqueurs moléculaire dans l'analyse de la diversité génétique et de l'identification variétale.

Références bibliographiques

ANONYME., (non datée). Les principales caractéristiques des variétés de céréales d'hiver cultivées en Algérie. Publication ITGC. pp.73-89.

AUTRAN J.C., 1986. Identification des céréales et autre plantes par électrophorèse, Biofutur(11) :121-125.

BAUM B.R., NEVO E., JOHNSON D.A., BEILES A., 1997. Genetic diversity in wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch) in the Near East : a molecular analysis using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. Genetic Resources and Crop Evolution 44: 147-157.

BENETRIX F., 1993. Etude biochimique, ultra-structurale et agronomique de la qualité de l'orge : Rôle des hordéines. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Montpellier. France. 120 p.

BOUZERZOUR H., MONNEVEUX P., 1992. Analyse des facteurs de stabilité du rendement de l'orge dans les conditions des Hauts-Plateaux de l'est algérien. In : Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. In Les colloques de l'INRA. P. Monneveux, M. Ben Salem Eds, Inra éditions, France, pp 139-158.

CORBELLINI M., PERENZIN M., ACCERBI M., VACCINO P., BASILIO BORGHI., 2002. Genetic diversity in wheat, as revealed by coefficient of parentage and molecular marker and its relationship to hybrid performance. Euphytica 123: 273-285.

DOLL H., BROWN A.H.D., 1979. Hordein variation in wild (*Hordeum spontaneum*) and cultivated (*H. vulgare*) barley. Can. J. Genet. Cytol. 21: 239-404.

DUARTE J.M., BOSCO DOS SANTOS J., GUNHA MELO L., 1999. Genetic Divergence among common Bean cultivars from different races on RAPD Markers. Genetic and Molecular Biology 22 : 419-426

FIGULIULO G., SPANGNAOLETTI ZEULI P.L., 2000. A nested analysis to detect relationships between genetic markers and germplasm classes of durum wheat. Plant Genetic Resources Newletter. 124 : 44-50.

HELMS T., ORF J., VALLAET G., CLEAN P.M.C., 1997. Genetic variance, coefficient of parentage and genetic distance of six Soy bean populations. Theo. Appl. Genet. 94 : 20-26.

KREIS M., WILLIAMSON M.S., FORDE B.G., 1987. Structure and regulation of expression of seed protein genes in barley. Plant Phys. Biochem. 25 : 291-302.

LANDRY J., MOUREAUX T., HUET J.C., 1972. Extractibilité des protéines du grain d'orge : dissolution sélective et composition en acides aminés des fractions isolées. Bios, 7-8 : 281-292.

MARCCHYLO B.A., 1987. Barley cultivar identification by SDS gradient Page analysis of hordein. Canadian Journal of plant science 67 : 927-944

MONTEBAULT A., 1982. Etude biochimique et génétique des protéines de l'orge. Application à l'identification des variétés d'orge et de malt. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Académie de Montpellier. France 155 p.

MULLIS K.B., FALLOONA S., SAIKI R., HORN G., ERLICH H., 1986. Specific enzymatic amplification of DNA In vitro : the polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51: 263-273.

ROHLF F.J., 1990. Numerical taxonomy and multivariate analysis system (NTSYS-Pc, Version 1.60), Exeter Software, New York

SCHUT J.W., QI X., STAM P., 1997. Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. *Theor. Appl. Genet.* 95: 1161-1168.

SHARMA K.D., SINGH B.M., SHARMA T.R., KATOCH M.L., GULERIA S., 2000. Molecular analysis of variability in *Podophyllum hexandrum* Royle - an endangered medicinal herb of northwestern Himalaya. *Plant Genetic Resources Newsletter* 124 : 57-61.

SHEWRY P.R., BRUNCE N.A.C., KREIS M., FORDE B.G., 1985. Polymorphism at the horl locus of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Biochem. Genet.* 23 : 391-404.

SHEWRY P.R., MIFLIN B.J., 1982. Genes for storage proteins of barley. *Qual. Plant Foods Hum. Nutr.* 31 : 251-267.

STRELCHENKO P., KOVALYOVA O., OKUNO K., 1999. Genetic differentiation and geographical distribution of barley germplasm based on RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46 : 193-205.

TERZI., V., 1997. RAPD marker for fingerprinting barley oat and triticales varieties. *J. Genet. & Breed.* 51: 115-120.

WILLIAMS J.K.G., KUBELIK A.E., LEVAK K.J., RAFALSKI J.A., TINJEY S.V., 1990. DNA polymorphisms amplification by arbitrary primers are useful as geneic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.

ZVINGILA D., POPENDIKYTE V., 2002. The genetic diversity of barley cultivars from the baltic states and Belarus as determined by RAMPS. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7 : 477-481.

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Diagramme électrophorétique des hordéines par SDS-PAGE de six variétés d'orge : 1. Saida ; 2. Tichedrett ; 3. Badia ; 4. Rihane ; 5. Barberousse ; 6. Tamentit
M = poids moléculaire en kilodaltons.

Figure 2 : Dendrogramme UPGMA des hordéines basé sur l'indice de Dice.

Figure 3 : Diagramme électrophorétique des marqueurs RAPD.

Figure 4 : Dendrogramme UPGMA des marqueurs RAPD basé sur l'indice de Dice.

Tableau I : Caractéristiques des variétés utilisées.

Tableau II : Nombre de polypeptides (hordéines) et PM des bandes discriminantes.

Tableau III : Matrice de présence-absence des marqueurs hordéines.

Tableau IV : Matrice de similitude basée sur l'indice de Dice pour les marqueurs hordéines.

Tableau V : Matrice de présence-absence des marqueurs RAPD.

Tableau VI : Matrice de similitude basée sur les marqueurs RAPD.

Tableau VII : Test de Mantel de corrélation entre les matrices de similitude des hordéines et des marqueurs RAPD.

Tableau I : Les principales caractéristiques des variétés utilisées.

Variétés	Pedigree	Caractéristiques	Origine	Source
Saïda	sélection généalogique dans la population locale	six rangs, sensible aux maladies, tolérante à la sécheresse, semi précoce	Population locale du nord algérien/station d'amélioration des plantes de grandes cultures	ITGC*
Tichedrett	sélection généalogique dans la population locale	six rangs, sensible aux maladies, tolérante à la sécheresse, précoce	Population locale du nord algérien/station d'amélioration des plantes de grandes cultures	ITGC
Badia		six rangs, tolérante aux maladies, sensibilité à la sécheresse, précoce	ICARDA** (Syrie). sélection ITGC/ Sidi Bel-Abbès	ITGC
Rihane	AS 46/AVT 11 ATHS 2L- 1 AP-3 AP- 0AP	six rangs, tolérante aux maladies, performante en zone sèche, précoce	ICARDA** (Syrie). sélection ITGC/ Sidi Bel-Abbès	ITGC
Barberousse (El hamra)	(259711 x (GRIGNON x ARES) x AGER	six rangs, rustique, tolérante à la sécheresse, modérément tolérante aux maladies, précoce	INRA (France) sélection ITGC	ITGC
Tamentit		six rangs	Variété popula- tion/wilaya d'Adrar/région du Touat (sud ouest algérien)	prospection organisée par l'INRAA en 1996

*Institut Technique des Grandes Cultures. **International Center For Agricultural in Research in the Dry Areas.

Tableau II : Nombre de polypeptides (hordéines) et PM des bandes discriminantes.

Variétés	Nombre d'électromorphes	PM des bandes discriminantes en kDa
Saïda	13	62
Tichedrett	12	48-58
Badia	11	32
Rihane	10	49
Barberousse	09	35-40
Tamentit	12	34

Tableau III : Matrice de présence - absence des marqueurs hordéines.

Poids moléculaires (Daltons)	Variétés					
	Saïda	Tichedrett	Badia	Rihane	Barberousse	Tamentit
66068	0	1	1	0	0	0
63095	0	0	1	0	0	1
61659	1	0	0	0	0	0
58884	0	1	0	0	0	0
54954	0	0	1	0	1	1
53703	1	1	1	0	0	1
52480	1	1	1	1	1	0
51286	1	1	0	1	1	1
50118	1	0	1	1	0	0
48977	0	0	0	1	0	0
47863	0	1	0	0	0	0
46773	0	0	0	1	1	0
45708	1	1	0	0	0	0
44668	0	0	0	1	1	1
43651	1	0	1	0	0	1
42657	1	0	0	1	0	0
41686	1	1	1	0	1	1
40738	0	1	0	0	0	0
39810	0	0	0	0	1	1
38904	1	0	1	1	0	0
38018	1	1	0	0	0	0
36307	1	0	0	1	0	1
35481	0	0	0	0	1	0
34673	1	1	0	1	0	1
33884	0	0	0	0	0	1
33113	0	1	1	0	1	0
32359	0	0	1	0	0	0

Tableau IV : Matrice de similitude basée sur l'indice de Dice pour les marqueurs hordéines.

Variétés	Indices de similitude					
	Saïda	Tichedrett	Badia	Rihane	Barberousse	Tamentit
Saïda	1.00					
Tichedrett	0.56	1.00				
Badia	0.50	0.40	1.00			
Rihane	0.60	0.27	0.28	1.00		
Barberousse	0.27	0.38	0.40	0.42	1.00	
Tamentit	0.56	0.41	0.34	0.54	0.28	1.00

Tableau V : Matrice de présence-absence des marqueurs RAPD.

Taille des bandes en paires de base	Variétés					
	Saïda	Tichedrett	Badia	Rihane	Barberousse	Tamentit
1138	0	0	0	0	1	1
1035	1	1	0	1	1	1
1005	1	1	1	1	1	0
926	0	0	1	0	0	0
888	1	1	0	0	1	1
784	0	1	1	0	0	0
741	1	0	0	0	0	0
693	0	0	0	0	1	1
663	0	0	0	1	0	0
612	1	1	1	1	0	1
593	1	0	0	0	0	0
541	1	1	1	1	1	0
530	1	1	1	0	0	0
474	0	0	1	0	1	1
422	0	1	1	1	1	1
380	0	1	1	1	1	0
339	1	0	0	0	0	0
291	0	0	0	1	1	1
227	1	1	1	0	0	0
217	1	1	1	1	1	0

Tableau VI : Matrice de similitude basée sur l'indice de Dice pour les marqueurs RAPD.

Variétés	Indices de similitude					
	Saïda	1.00				
Tichedrett	0.72	1.00				
Badia	0.54	0.81	1.00			
Rihane	0.42	0.63	0.52	1.00		
Barberousse	0.45	0.63	0.54	0.63	1.00	
Tamentit	0.22	0.33	0.22	0.40	0.77	1.00

Tableau VII : Test de Mantel de corrélation entre les matrices de similitude des hordéines et des marqueurs RAPD.

Matrix correlation (= normalized Mantel statistic Z)	r = -0.21922
Aproximate Mantel t-test :	t = - 0.808
Prob. random Z < obs. Z Out of 100 random permutations :	p = 0.2097
The one-tail probability p[random Z <= observed Z]	P<= 0.2400

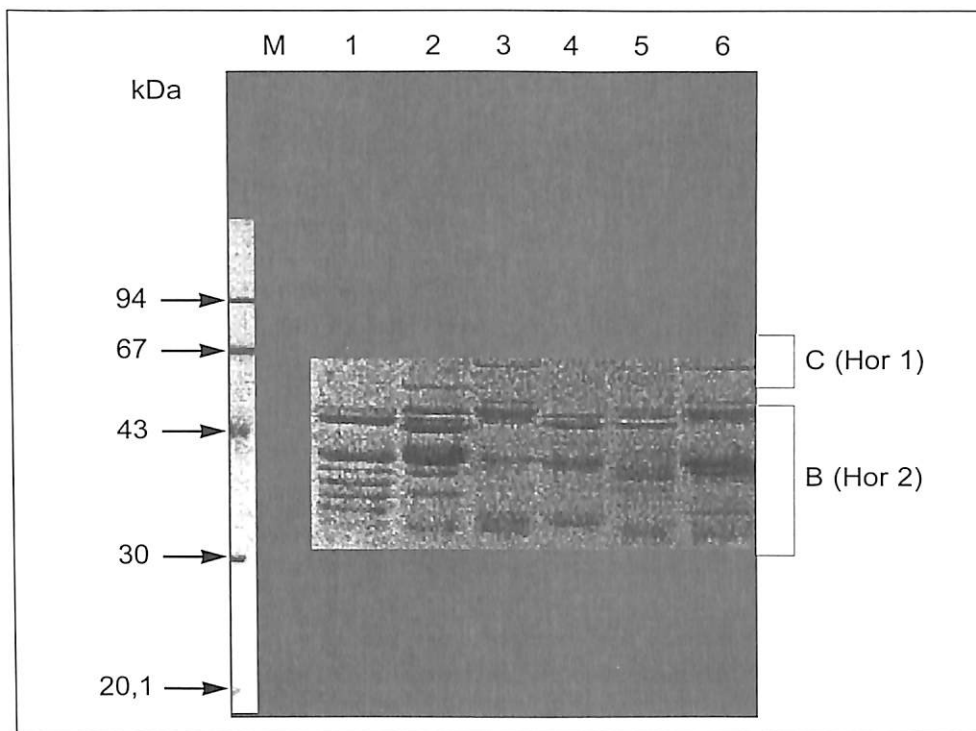


Figure 1 : Diagramme électrophorétique SDS-PAGE des hordéines de six variétés d'orge. **1 :** Saïda, **2 :** Tichedrett, **3 :** Badia, **4 :** Rihane, **5 :** Barberousse, **6 :** Tamentit, **M :** poids moléculaire en kilodaltons de marqueurs protéiques standards (Pharmacia Biotech LMW protein calibration kit).

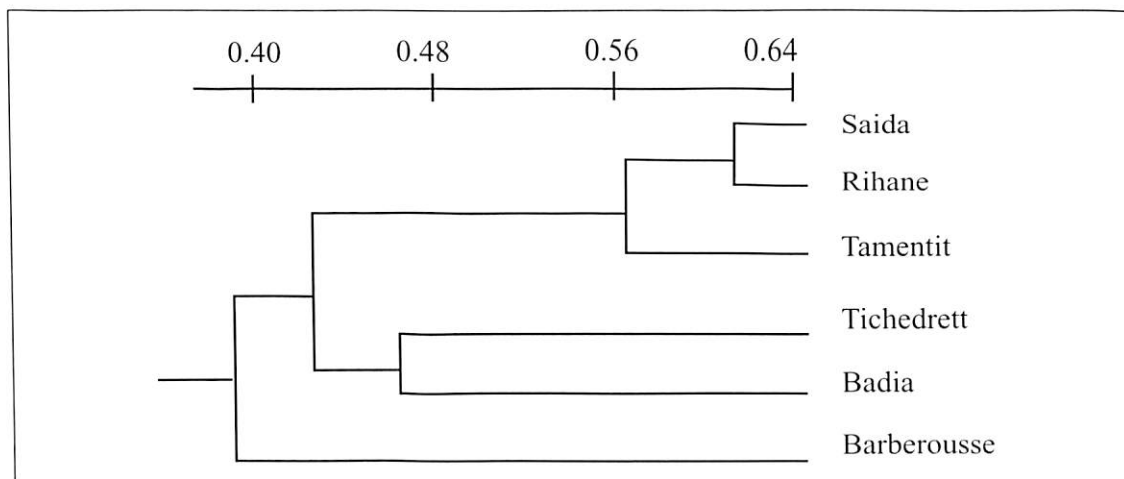


Figure 2 : Dendrogramme des hordéines basé sur la distance de Dice (UPGMA).

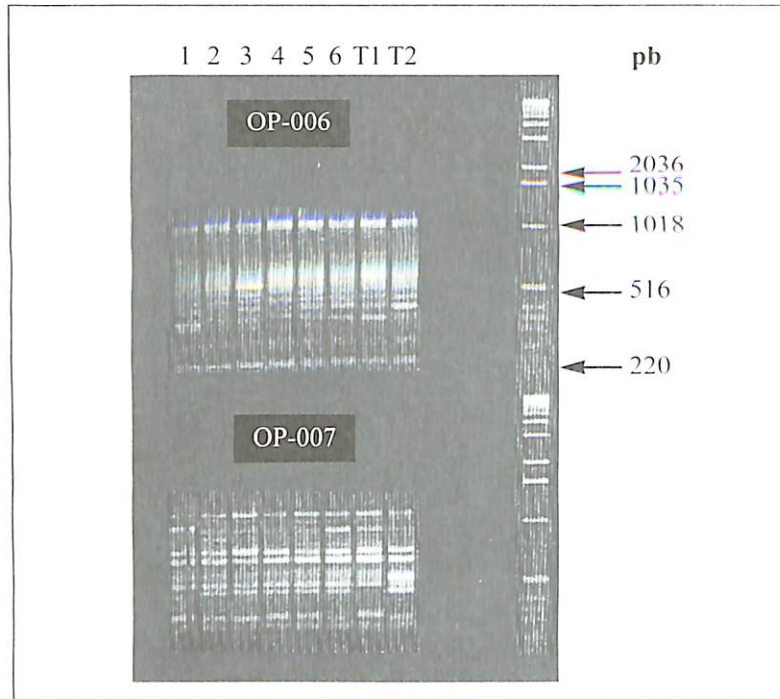


Figure 3 : Diagramme électrophorétique RAPD des six variétés d'orge générés par les deux amorces op-006 et op-007. 1 : Saïda, 2 : Tichedrett, 3 : Badia, 4 : Rihane, 5 : Barberousse, 6 : Tamentit, T1 et T2 : ADN témoin, M : DNA size marker, 1kb DNA.

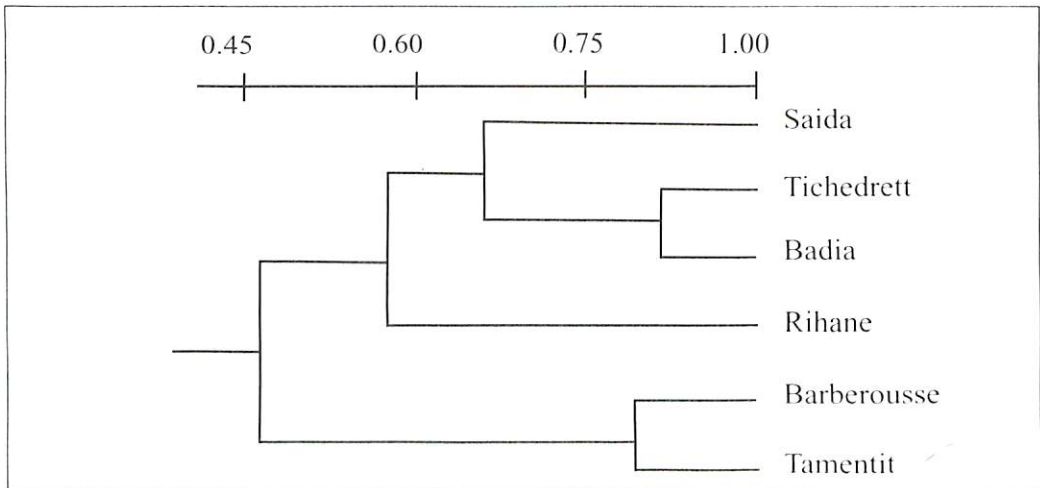


Figure 4 : Dendrogramme des marqueurs RAPD basé sur la distance de Dice (UPGMA).