

## CARACTÉRISATION DES VARIÉTÉS-POPULATIONS D'ORGES (*HORDEUM VULGARE L.*) D'ALGÉRIE PAR ACIDE-PAGE DES HORDÉINES

S. TRABSI, R. AMIROUCHE

Université des Sciences et de Technologie Houari Boumediene (USTHB), Faculté des Sciences Biologiques, Laboratoire de Biologie et de Physiologie des Organismes - Equipe de Taxonomie, Physiologie et Microbiologie végétales. BP n° 32 El Alia, Bab Ezzouar, 16111 Alger.

### RÉSUMÉ

Plus de 30 variétés-populations d'orges (*Hordeum vulgare L.*) issues des principales régions agro-climatiques du nord de l'Algérie ont fait l'objet d'une analyse de la variabilité biochimique par électrophorèse des protéines de réserve. Les collectes ont été effectuées dans les zones où prédominent encore des pratiques agricoles traditionnelles. Dans ces zones, le patrimoine ancestral adapté aux contraintes du milieu, subit une érosion génétique et est menacé de disparition. Les électrophorèses des hordéines par Acid-PAGE ont permis de distinguer deux zones de migration correspondant aux deux principaux loci Hor-C et Hor-B. Les phénotypes Hor-B sont nombreux et marquent un fort taux de polymorphisme, exploitable dans l'identification variétale.

*Mots clés* : *Hordeum vulgare*, Identification variétale, Variétés-populations, Erosion génétique, Hordéines, Acid-PAGE.

### SUMMARY

Electrophoretic analysis of barley storage proteins was performed on more than 30 landraces accession collected from main climatic areas of the North of Algeria. The sampling was carried out in the zones where still prevail traditional farming and where the genetic erosion is noted. This fact will constitute a threat on the extinction of the ancestral patrimony of environment adaptation. The Acid-PAGE of hordein has revealed two ranges of bands distinguished by their Electrophoretic mobility, they corresponding at the two main loci Hord-C and Hord-B. The phenotype Hord-B are numerous and mark a strong rate of polymorphism useful for varietal identification.

*Key words* : *Hordeum vulgare*, Varietal identification, Variety-populations, Genetic erosion, Hordeins, Acid-PAGE.

## INTRODUCTION

L'orge est l'une des principales céréales cultivées en Algérie. Elle occupe 35% à 40% de la surface céréalière totale (BENMOHAMMED, 2004). Sa culture est pratiquée dans le système formel et informel. Les semences utilisées dans le système formel sont dites à haut rendement et sont fournies par des institutions nationales (CCLS et l'OAIC\*). Au cours de chaque campagne agricole, la gamme variétale utilisée à l'échelle nationale ne dépasse guère 8 variétés contrôlées parmi lesquelles on retrouve les deux principales variétés Saida et Tichedrett issues de la sélection locale (ZAGHOUANE *et al.*, 2004). Les autres variétés traditionnelles algériennes sont délaissées.

En revanche, le second système est caractérisé par une pratique traditionnelle où l'orge est cultivée sur des surfaces réduites. Dans chaque localité, la semence utilisée, dite du pays, est caractérisée par sa rusticité et son potentiel adaptatif ancestral. Le mode de conservation est familial et n'échappe pas à la contamination par les variétés utilisées dans le système formel. Cette contamination est entretenue en l'absence de toute opération d'épuration des semences avant utilisation. Par conséquent, les génotypes locaux, qui représentent une précieuse ressource phytogénétique, sont en voie de disparition.

Les variétés traditionnelles algériennes, subsistent-elles encore ? Sont-elles conservées dans les isolats où la pratique agricole traditionnelle est résiduelle ? Notre démarche méthodologique tient compte des trois principales étapes d'études sur les ressources phytogénétiques : Prospection et collecte, identification et évaluation. Elle repose sur des données d'analyses pluridisciplinaires phénologiques, morphologiques, biochimiques et moléculaires.

Le présent travail, concerne un ensemble de variétés-populations collectées auprès de paysans développant encore une agriculture traditionnelle de type familiale. Nous exposerons les résultats d'analyse du polymorphisme biochimique par électrophorèse des hordéines, les prolamines des orges. L'intérêt de ces protéines de réserve réside dans leur stabilité génétique et leur indépendance qualitative à l'égard des fluctuations agro-climatiques (FEILLET et BOURDET, 1967 ; MARCHYLO et LABERGE, 1980). Chez les orges, il existe deux principales variantes de cette technique : l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS ou SDS-PAGE (SHEWRY *et al.*, 1978 ; MONTEBAULT *et al.*, 1983) et l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu acide ou Acid-PAGE (COOKE et CLIFF, 1983). C'est cette deuxième technique, préconisée par l'ISTA\* que nous avons utilisé pour la caractérisation des variétés traditionnelles d'orges algériennes.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Le matériel végétal provient de campagnes de prospection et de collectes menées entre 1989 et 1992 à travers l'Algérie du Nord. Les lieux de collectes et les étages bioclimatiques sont donnés dans le tableau I.

Les extractions des hordéines et les conditions d'électrophorèse en milieu acide sont adaptées selon la méthode préconisée par COOKE et CLIFF (1983). Les extractions sont effectuées sur 10 caryopses par échantillon, appartenant à dix individus différents. Les graines sont broyées dans une solution composée d'éthanol 30%, d'urée 18% et de  $\beta$ -mercaptoéthanol 1%. Après centrifugation à 12000 trs/min. Le surnageant est conservé à 4° C. 15 $\mu$ l de l'extrait protéique, sont déposés dans les puits de gels de polyacrylamide à 10 % de concentration.

Les gels, de dimension 180 x 160 x 1mm, sont coulés dans une cuve verticale du type Lagon. La migration est réalisée dans un tampon lactate de sodium 3mM, pH = 3. Elle est soumise à un champ électrique de 20 mA durant 2 heures environ à 4°C. Les gels sont ensuite colorés dans une solution d'acide acétique 15% et de Bleu de Comassie R-250 à 1% durant une nuit. Les bandes sont révélées après passage du gel dans une solution de décoloration constituée d'acide acétique 15% et d'éthanol 5%.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'analyse électrophorétique des hordéines a permis de mettre en évidence les deux principaux constituants de ces prolamines : les hordéines B et les hordéines C (figure 1). Sur l'ensemble des gels réalisés, nous n'avons pas décelé les autres catégories de bandes qui accompagnent souvent le spectre électrophorétique des hordéines. Ces bandes sont décrites par KØIE *et al.*, (1976) et SHEWRY *et al.*, (1980) comme étant des hordéines A et D. En effet, beaucoup d'auteurs considèrent que seuls les zones B et C des hordéines sont de véritables prolamines des orges. Ils classent les protéines de la zone A, souvent présentes dans l'extrait des hordéines, avec les albumines et les globulines. Quant à la fraction D, caractérisée par un poids moléculaire élevé, son appartenance aux prolamines chez les orges est discutée (SHEWRY *et al.*, 1978).

### Etude des profils électrophorétiques

Les hordéines C, caractérisées par un poids moléculaire élevé et une faible mobilité électrophorétique, apparaissent dans la partie supérieure du gel. Quant au deuxième constituant, hordéines B, il occupe la partie anodique du gel. La lecture des gels et les diagrammes correspondants (figure 2), nous a

permis de dénombrer au total 22 bandes réparties de manière presque équivalente sur les deux zones.

La zone des hordéines C renferme dix bandes qui ont générés 5 profils différents sur l'ensemble des échantillons analysés (figure 3 a). Le diagramme C2, avec une fréquence de 62%, est incontestablement le plus répandu. Avec une fréquence relative inférieure à 3%, les phénotypes C1, C3 et C5, sont au contraire plus rares. Les bandes n° 4 et n° 6 des hordéines C (figure 2b) sont très rares puisqu'on ne les rencontre qu'au niveau de l'échantillon d'El Kherba récolté dans les monts du Zaccar.

En ce qui concerne la zone hordéines B, elle est constituée de 12 bandes. La combinaison de ces électromorphes, produit 18 diagrammes différents (figure 3). Leur fréquence chez les variétés-populations analysées varie entre 16 % (profils fréquents) et 3% (profils rares). Malgré un nombre de bandes presque égales, les résultats montrent clairement que les bandes de la zone B sont plus polymorphes. Cela confirme l'intérêt accordé à cette fraction dans l'identification variétale des orges.

Par ailleurs, on constate le haut degré de similitude qui existe entre certains diagrammes des hordéines B (figure 3a). Les diagrammes B2, B4 et B5 ne diffèrent que par la présence d'une bande mineure.

### Variabilité phénotypique des variétés-populations

Les relations phénotypiques, basées sur le degré de similitude des profils électrophorétiques des hordéines, entre les variétés-populations algériennes analysées sont représentées par le dendrogramme de la figure 4. On constate que les échantillons s'agrègent en trois principaux groupes.

Le premier groupe associe 10 variétés-populations provenant dans leur majorité des Monts des Aurès, des Bibans et du Djebel Boutaleb situés dans la partie Est de l'Algérie. Seul l'échantillon d'El Kherba provient des Monts du Zaccar. Les profils électrophorétiques présentent des affinités avec celui de la variété de référence Tichedrett.

Le deuxième est formé de 11 variétés-populations provenant de diverses régions agro-climatiques. Les échantillons récoltés dans les régions de l'Ouest constituent 45 % de cet ensemble ; ceux de l'Est représentent 36 %. Les autres, proviennent de Benhar et de Boughzoul caractérisés par des conditions bioclimatiques arides. Les variétés-populations de cet ensemble montrent de fortes similitudes avec la deuxième variété de référence Saida.

Le troisième ensemble est constitué de 11 variétés-populations d'origine géographiques variées. Dans ce groupe, les échantillons de l'Est sont nombreux. Ils représentent 73% et proviennent principalement des Aurès, du Boutaleb et des Bibans. Dans cet ensemble, on note également de fortes similitudes avec la variété Saida. Ces résultats montrent que les variétés-populations présentant des affinités avec la variété Saida, sont structurées en sous-ensembles qui se distinguent par la régularité des bandes n° 11, 12 et 22.

## CONCLUSION

Les analyses électrophorétiques des hordéines menées sur 32 variétés-populations, collectées dans différentes zones agro-climatiques, ont permis de distinguer deux fractions polymorphes majeures correspondants aux loci Hor-B et Hor-C. La fraction hordéine C est peu variable, néanmoins elle permet de distinguer nettement les deux génotypes locaux Saida et

Tichedrett. Par contre, les hordéines B montrent un taux de polymorphisme élevé ce qui leur confère un intérêt dans les tests biochimiques d'identification variétale (SHEWRY *et al.*, 1980 ; DOLL et ANDERSEN, 1981). Ce polymorphisme a été, également, mis en évidence chez des espèces spontanées d'orge (AMIROUCHE *et al.*, 1988 ; AMIROUCHE et MISSET, 2003).

Les résultats montrent que la répartition géographique du profil électrophorétique du type Saida est large. Le profil du type Tichedrett est plus rare, il est localisé principalement dans les massifs montagneux de l'Est algérien.

## REMERCIEMENTS

Les analyses expérimentales ont été réalisées en collaboration avec l'équipe de Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura Sezione di Fiorenzuola d'Arda (PC) Italie. Nous tenons à exprimer nos remerciements au D' V. Terzi et au D' A.M. Stanca pour leur aimable collaboration et disponibilité.

### Références bibliographiques

AMIROUCHE R., MISSET M.T., 2003. Hordein polymorphism in diploids and tetraploids mediterranean populations of the *Hordeum murinum* L., complex. *Plant Systematics & Evolution*, 242 : 83-99.

AMIROUCHE R., KOUBA R., OURARI M., TRABSI S., 1988. Evaluation génétique des orges d'Algérie. Résultats préliminaires d'études cytogénétiques, écophysiologicals et du polymorphisme électrophorétique de *H. murinum* et *H. marinum*. *Ann. Inst. Nat. Agron. (El-Harrach, Alger)* 12 (1) : 703-714

BENMOHAMMED A., 2004. La production de l'orge et possibilités de développement en Algérie. *Céréaliculture*, 41 : 34-38. ITGC, Alger.

COOKE R.J., CLIFF E.M., 1983. Barley cultivar characterisation by electrophoresis. I. A method for acid polyacrylamide gel electrophoresis of hordein proteins. *Journal of the National Institute of Agricultural Botany*, 16 : 189 - 195.

DOLL H., ANDERSEN B., 1981. Preparation of barley storage protein, Hordein, for analytical sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *Analytical Biochemistry*, 115 : 61-66.

FEILLET P., BOURDET A., 1967. Composition protéique et caractéristiques génétiques des blés. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 49 (10) : 1273-1283.

KØIE B., INGUERSEN J., ANDERSEN A. J., DOLL H., EGGUM B.O., 1976. Evaluation of seed protein alterations by mutation breeding. *Proc. Res. Coordination, Meeting Hahnenklee, 1975, I.A.E.A., Vienna*, 55-61.

MARCHYLO B.A., LABERGE D.E., 1980. Barley cultivar identification by electrophoretic analysis of hordein proteins. I. extraction and separation of hordeins and environmental effects on the hordein electrophoregram. *Can. J. Plant. Sci.*, 60 : 1343-1350.

MONTEBAULT A., AUTRAN J.C., JOURDIER P., 1983 - Varietal identification of barley and malt. *Journal of the institute of Brewing*. 89 : 299-302.

SHEWRY P.R., AUTRAN J.C., NIMMO C., LEW J.L., KASADRA D., 1980. N-terminal amino acid sequence homology of storage proteins components (prolamins) from barley (*Hordeum vulgare* L.) and a diploid Wheat (*Triticum monococcum* L.). *Nature (London)*, 286 (31) : 520-522.

SHEWRY P.R., PRATT H.M., MIFLIN B.J. 1978. Varietal identification of single seed of barley by analysis of hordein polypeptides. *J. Sci. Food. Agric.*, 29 : 587-596.

SHEWRY P.R., PRATT H.M., FAULKS A.J., PARMAR S., MIFLIN B.J. 1979. The storage protein (hordein) polypeptide pattern of barley (*Hordeum vulgare* L.) in relation to varietal identification and disease resistance. *Journal of the National Institute of Agricultural Botany*, 15 : 34-50.

ZAGHOUANE O., ROLLAND Y., ZAGHOUANE-BOUFENAR F., 2004. Situation et perspective de la production de semences de céréales. *Céréaliculture*, 41: 21-26. ITGC, Alger.

## Liste des légendes des figures et tableaux

**Tableau I** : Liste des stations de récoltes.

**Figure 1** : Exemple d'un gel d'hordéines obtenu par acid-PAGE.

Les bandes révélées au bleu de Comassie, sont réparties en deux zones : hordéines B et hordéines C.

**Figure 2** : Diagramme des hordéines de 32 variétés-populations d'orges algériennes.

Les flèches indiquent les bandes n° 4 et 6 propres à la variété-population d'Aghbal.

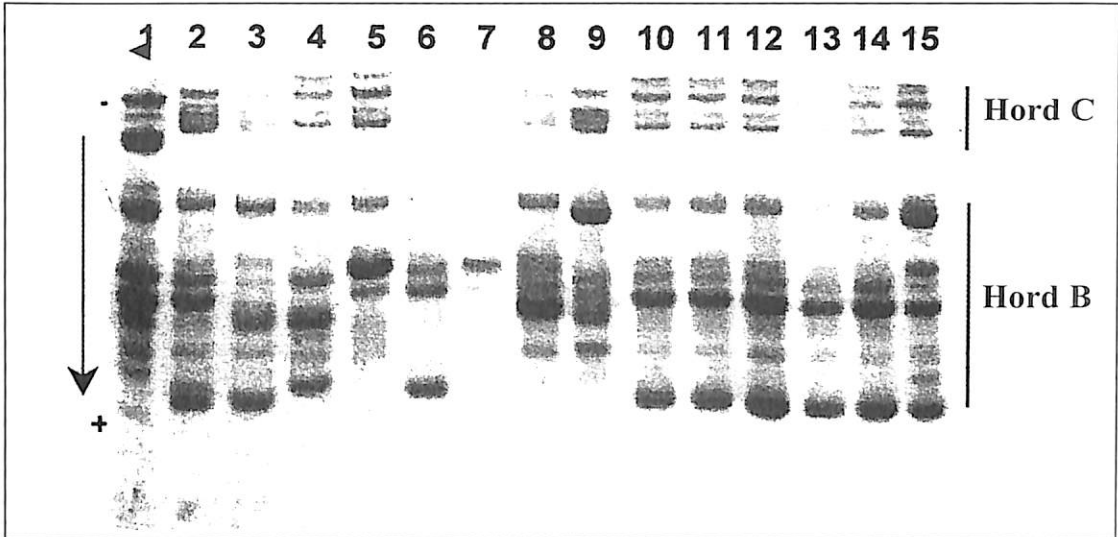
1 - Boughzoul I, 2 - Si El Haouas, 3 - Frenda, 4 - Bouzdjar, 5 - Sebkhia d'Oran, 6 - Ouled Abed, 7 - Bouzghaia, 8 - El Kherba, 9 - Boudjlid, 10 - Aghbal, 11 - Tamzirt, 12 - El Kherba, 13 - Derrag, 14 - Bir Henni, 15 - Bajrou, 16 - Merrouana, 17 - Médina, 18 - Chélia, 19 - Ain Soltane, 20 - Chott El Mallah, 21 - Ras El Oued, 22 - Bouhllala, 23 - Ouled Silini, 24 - Z'mala, 25 - Ouled Sidi Said, 26 - Moudjber, 27 - Benhar, 28 - Thniet El Abar, 29 - Sidi Feth Allah, 30 - Ourtene, 31 - Sidi Ali, 32 - Ain El Hares.

**Figure 3** : Différents phénotypes d'hordéines B (a) et hordéines C (b) observées chez 32 variétés-populations d'orges algériennes.

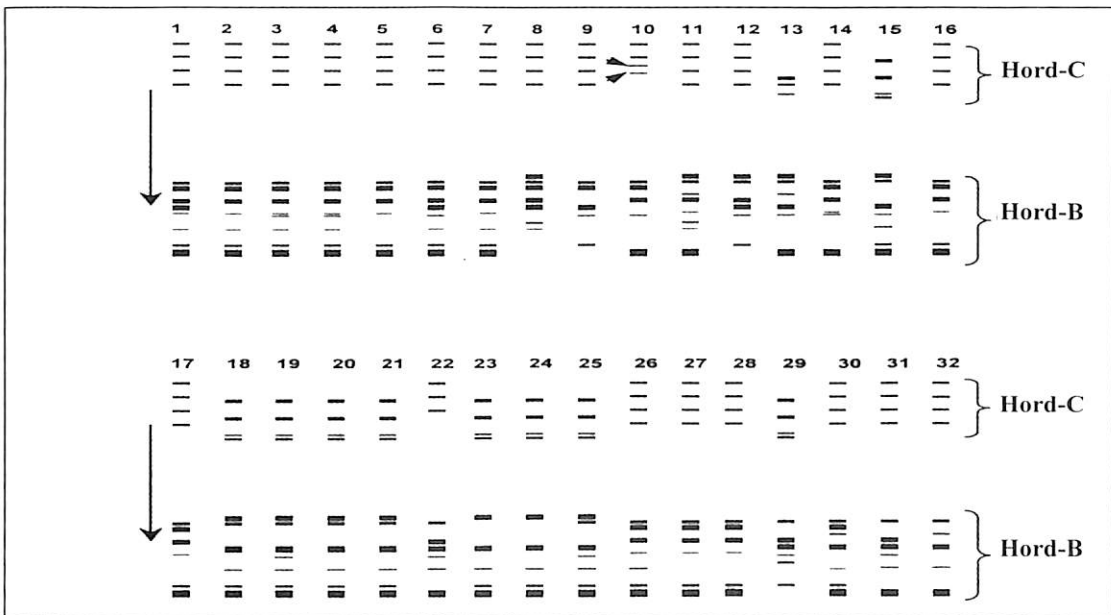
**Figure 4** : Relations phénotypiques entre 32 variétés-populations basées sur le degré de similitude (méthode UPGMA).

**Tableau I : Liste des stations de récoltes.**

Code	Localité	Région	Etage bioclimatique
T3	Moudjbar	Djelfa	semi-aride sup. frais
T6	Si Haoues	Tiaret	semi-aride inf. frais
T7	Frenda	Tiaret	semi-aride sup. frais
T9	Bouzedjar	Oran	semi-aride sup. chaud
T10	Sebkha	Oran	semi-aride inf. chaud
T12	Ouled Abed	Chlef	semi-aride inf. tempéré
T14	Bouzghaia	Ténés	semi-aride sup. tempéré
T15	Ténés	Ténés	semi-aride sup. chaud
T16	Boudjlid	M' Zaccar	semi-aride sup. tempéré
T17	Aghbal	M' Zaccar	sub-humide tempéré
T18	Tamzirt	M' Zaccar	sub-humide tempéré
T19	El Kherba	M' Zaccar	semi-aride sup. tempéré
T20	Derrag	M' Zaccar	sub-humide froid
T24	Bir Henni	Chott El Hodna	aride inf. tempéré
T26	Bajrou	Ain Azel	semi-aride inf. frais
T29	Merouana	Batna	semi-aride inf. frais
T33	Medina	M' Chelia	semi-aride sup. froid
T34	Chelia I	M' Chelia	sub-humide froid
T41	Ain Soltane	Guelma	sub-humide tempéré
T44	Chott El Maleh	Sétif	semi-aride inf. frais
T45	Ras El Oued	Bordj Ghdi	semi-aride sup. froid
T46	Bouhlala I	Bordj Ghdir	sub-humide froid
T49	Ouled Silini	Bordj Ghdir	sub-humide froid
T51	Z'mala	Bordj Ghdir	sub-humide froid
T52	Ouled Sidi Said	Bordj Ghdir	semi-aride sup. froid
T58	Boughzoul	Djelfa	semi-aride sup. tempéré
T60	Benhar	Djelfa	semi-aride sup. tempéré
T61	Thniet El Abar	M' des Aurès	semi-aride sup. froid
T62	Sidi Fathallah	M' des Aurès	semi-aride inf. frais
T63	Ouertène	M' des Aurès	semi-aride inf. frais
T65	Sidi Ali	M' des Aurès	semi-aride sup. froid
T66	Ain El Hares	M' des Aurès	semi-aride inf. frais



**Figure 1** : Exemple d'un gel d'hordéines obtenu par Acide-PAGE  
 Les bandes, révélées au bleu de Coomassie, sont réparties en deux zones :  
 Hordéines B et hordéines C.

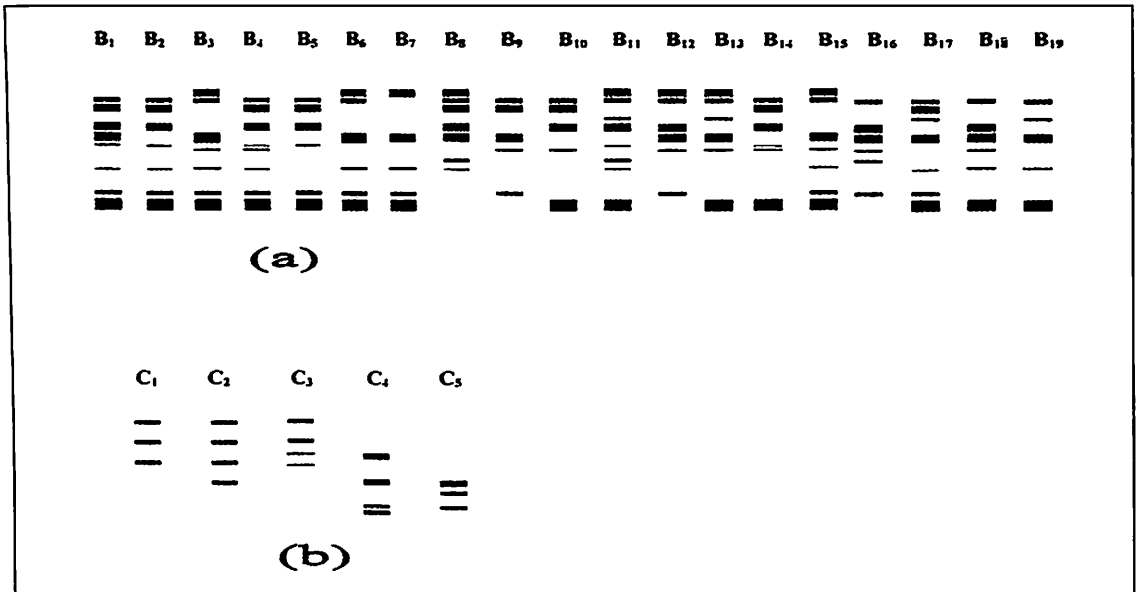


**Figure 2** : Diagramme des hordéines de 32 variétés-populations d'orges algériennes.

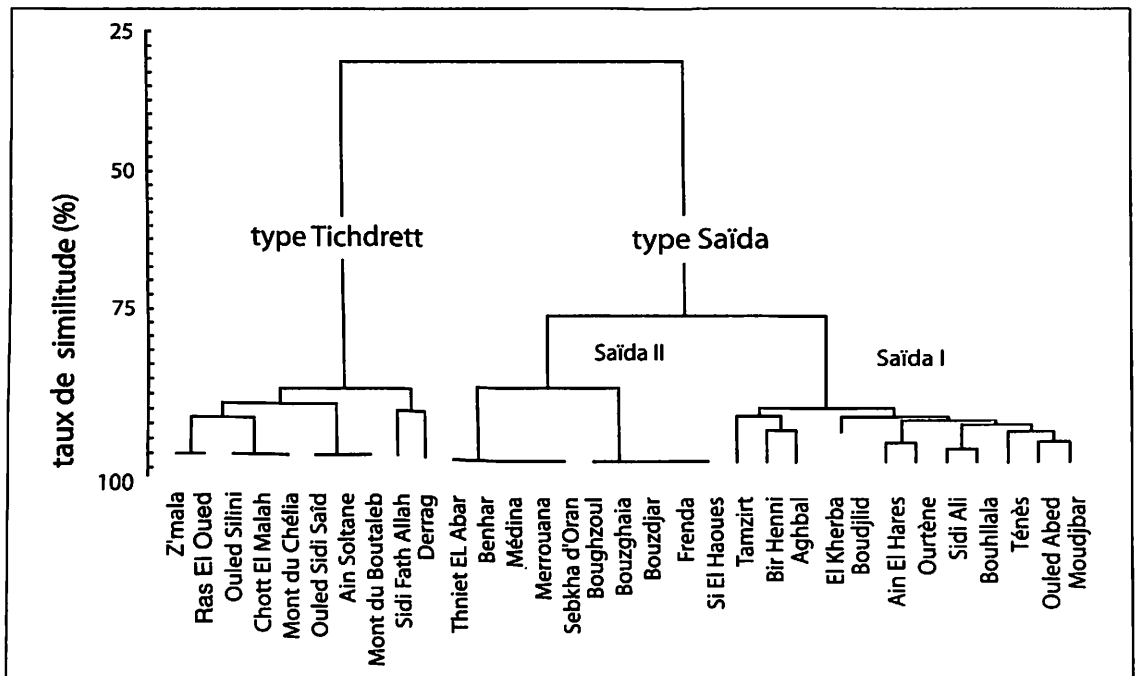
Les flèches indiquent les bandes n° 4 et 6 propres à la variété-population d'Aghbal.

1-Boughzoul 1. 2-Si El Haouas. 3-Frenda. 4-Bouzdjar. 5-Sebkha d'Oran. 6-Ouled Abed. 7-Bouzghaia. 8-El Kherba. 9- Boudjlid. 10-Aghbal. 11-Tamzirt. 12-El Kherba. 13-Derrag. 14-Bir Henni. 15-Bajrou. 16-Merrouana. 17-Médina. 18-Chélia. 19-Ain Soltane. 20-Chott El Mallah. 21-Ras El Oued. 22-Bouhlala. 23-Ouled Silini. 24-Z'mala. 25-Ouled Sidi Saïd. 26-Moudjber. 27-Benhar. 28-Thniet El Abar. 29-Sidi Fethallah. 30-Ourten. 31- Sidi Ali. 32-Ain El Hares.





**Figure 3 :** Différents phénotypes d'hordéines B (a) et d'hordéines C (b) observés chez 32 variétés-populations d'orges algériennes.



**Figure 4 :** Relations phénotypiques entre 32 variétés-populations basées sur le degré de similitude (méthode UPGMA).