

Variabilité biochimique des protéines de réserves chez quelques accessions d'orge de sud-tunisien

F. GUASMI¹, S. DRINE¹, T. TRIKI¹, F. BOU SORRA¹, K. NAGEZ¹

¹ Institut des Régions Arides. 4119 Médenine .Tunisie.

* Auteur correspondant: guasmifer@yahoo.fr

Abstract - A total of 80 accessions of Barley (*Hordeum vulgare* L.) from arid regions of Tunisia were collected and evaluated by biochemical markers. Analyses show that barley seeds are rich in proteins, that are between 36.25 and 67.53% of the dry matter. The solubilization of the different classes and their splitting by SDS-PAGE indicates that they are rich in prolamine (49.81%), which are formed of four sub units varying from 18-52 kDa. Globulins represent 13.75% with six units between 13 and 55 kDa. The fraction of glutelin present 28.69% of total protein and consists of three subunits (13- 34 kDa), albumins are poorly represented (7.74%). The splitting protocol of prolamins shows four groups of polypeptides: hordein A (14-17 kDa) and hordeins D (80-100 kDa) each formed by a single polypeptide, hordeins B (17-30 kDa) and hordeins (35-70 kDa) respectively formed by 6 and 4 polypeptides.

Key words: barley, arid regions of Tunisia, Genetic diversity, proteins, Hordeins.

Résumé - L'étude a porté sur 80 accessions d'orge caractéristiques du sud-tunisien. Les analyses montrent que les graines d'orge sont riches en protéines ont des taux de matière sèche qui se situent entre 36,25 et 67,53 %. La solubilisation des différentes classes protéiques et leur fractionnement par SDS-PAGE montrent qu'elles sont riches en prolamines (49.81 %) qui sont formées de quatre sous unités de PM variant de 18 à 52 kDa. Les globulines représentent 13.75 % avec six unités dont le PM varie entre 13 et 55 kDa. La fraction des glutélines, présente 28.69 % des protéines totales et formée de trois sous unités (13- 34 kDa), alors que les albumines sont très peu représentées (7.74 %). Le protocole de fractionnement des prolamines permet de distinguer quatre groupes de polypeptides : Hordéine A (14 - 17 kDa) et Hordéines D (80 - 100 kDa) formée chacune par un seul polypeptide, Hordéines B (17 - 30 kDa) et les hordéines C (35 - 70 kDa) formées respectivement par de 6 et 4 polypeptides.

Mots clé: Orge, sd-tunisien, diversité génétique, protéines de réserves, hordéines.

1. Introduction :

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est une plante annuelle, autofécondée qui a fait objet à des études génétiques considérables, c'est un diploïde ($2n = 2x = 14$), avec un grand génome de 5.3×10^9 bp/1 C (Ramsay et al. 2000). En Tunisie, l'orge est la plupart du temps cultivée dans les régions semi-arides et arides au centre et au sud du pays. Durant le dernier siècle, les surfaces cultivées sont passées de 450.000 à 800.000 hectares (Grando et al. 2005). Le cultivar (*Hordeum vulgare* L.) est largement cultivé dans la région semi-aride pour le pâturage et la production de grains (Oueslati et al. 2005). L'orge concassée est utilisée pour préparer le pain ou kisra, malthouth, d'chich et le fric. Les repas préparés à partir de la farine d'orge incluent l'assida, le b'sissa, et le dardoura (Grando et al. 2005). L'évaluation de la variabilité des ressources génétiques est d'un grand intérêt pour la sélection et la création de nouvelles variétés. Cette évaluation a longtemps été basée sur des caractéristiques morphologiques, physiologiques et agronomiques. Ces marqueurs possèdent des nombreux inconvénients, en effet, ils sont longs à observer, lourds à réaliser et peuvent être influencés par des facteurs externes (environnement), d'où la nécessité d'utiliser d'autres marqueurs plus performants. Contrairement aux marqueurs traditionnels, les marqueurs moléculaires et biochimiques (telles les protéines) ne sont pas influencés par les fluctuations de l'environnement, deviennent de plus en plus utilisés pour l'étude de la variabilité génétique. Ces marqueurs sont aussi devenus un outil essentiel



d'amélioration des plantes et ouvrent de nouvelles perspectives pour le sélectionneur (Najimi et al. 2003). Les protéines de réserve sont actuellement l'aliment de base de l'Homme. Le besoin protéique journalier avoisine 0.8 g de protéine/jour/kg, soit environ 56 g de protéine par jour pour un homme de 70 Kg (Penko. 2001). Les protéines de réserve végétales fournissent la moitié des protéines totales et sont constituées d'un mélange en proportions variables de diverses catégories de protéines réparties en classes ou groupes sur la base de leurs solubilités : les albumines solubles dans l'eau et les globulines solubles dans les solutions salines. Les prolamines sont solubles dans les alcools dilués comme l'éthanol 70 % ou l'isopropanol 55 %. Les glutélines et les protéines résiduelles sont partiellement solubles dans les solutions acides ou alcalines diluées. La différence de concentration de ces diverses fractions protéiques illustre souvent la valeur nutritive des graines. Les légumineuses sont plus riches en albumines et globulines tandis que les céréales sont riches en prolamines et glutélines. D'autre part, les légumineuses ont des teneurs plus élevées en protéine 20 à 40 % du PS, alors que les céréales n'en contiennent, en général, pas plus de 10 à 15 % (Guéguen and Lemarié. 1996). Les protéines principales de réserve de l'orge sont les hordéines (prolamines), fraction soluble dans l'iso-propanol, et les hordénins (glutélines), mais la Protéine Z (Peltonen et al. 1994 ; Ziegler 1999) et la β -amylase, (β -amylase se compose de protéines monomériques avec les poids moléculaires entre 53-64 kDa), qui sont des globulines, semblent également se comporter comme protéines de réserve (Qi et al. 2006). Les protéines principales de réserve d'endosperme sont les hordéines solubles dans l'alcool. Elles représentent 30-50 % de toutes les protéines du grain (Kirkman et al. 1982). En se basant sur le poids moléculaire et la composition en soufre, les Hordéines peuvent être divisées en trois groupes principaux de polypeptide: protéines riches en soufre (S-riche), pauvre en soufre (S-pauvre), et à poids moléculaire élevé (HMW : high molecular weight) (Pelger et al. 1993). Les hordéines se composent de quatre fractions, hordéine B (riche en soufre), hordéine C (pauvre en soufre), \square -hordéin ou hordein A (riche en soufre) et hordéine D (HMV), remarquables par leur mobilité électrophorétique (poids moléculaire) et leurs compositions en acides aminés (Shewry et al. 1985). Les hordeins B sont les principales protéines de réserve dans le grain d'orge. Elles représentent 80-90 % de toute la fraction des hordéines et 30-40 % de l'azote du grain (Shewry et al. 1985) (poids moléculaire 35-46 kDa). Les hordéines C (poids moléculaire 55-75 kDa) représentent 10-30 % de la fraction des hordéines. Les hordéines \square (poids moléculaire 20 kDa) représentent 1-2 % de la fraction des hordéines, alors que les hordéines D (poids moléculaire 100 kDa), n'en représentent qu'environ 2-4 %.

C'est dans ce cadre que se situe le présent travail dont l'objectif est d'étudier la variabilité biochimique de 80 accessions d'orge en se basant sur des descripteurs biochimiques (teneurs en protéines de réserves).

2. Matériels et méthodes:

2.1. Matériel végétal

Les graines utilisées dans notre étude ont été collectées des différentes régions du sud-tunisien (78 accessions), une au Nord de la Tunisie et une au Pakistan (Figure 1).

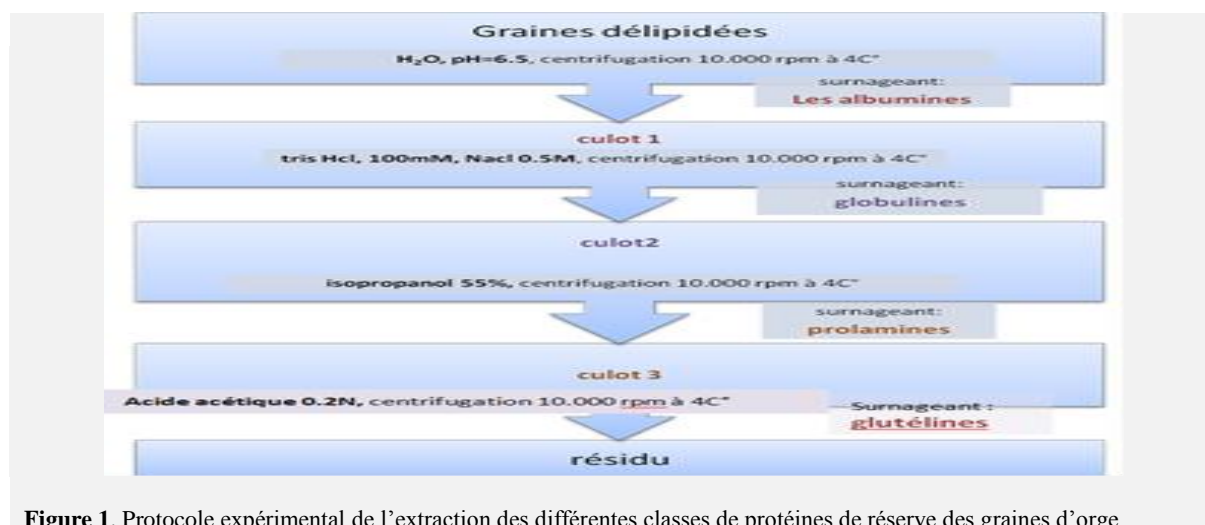


Figure 1. Protocole expérimental de l'extraction des différentes classes de protéines de réserve des graines d'orge.

Ces graines ont été semées dans la parcelle de l'IRA (El Fjé) à l'institut des régions arides de Médenine (IRA). La liste des accessions étudiées ainsi que leurs codes et le lieu de collecte de leurs semences sont donnés dans le tableau 1. Les graines ont été semées en Octobre et la collecte est faite au mois de Mai (2010).

Tableau 1. Désignation des différentes stations de collecte des grains d'orges « Ardhaoui » étudiées.

Code	accessions	Lieu de collection	Code	accessions	Lieu de collection
1	El mourra	Tataouine	41	Tarf ellil	Médenine
2	Echahbania 1	Médenine	42	Oued el khil 3	Tataouine
3	Tataouine ejdida	Tataouine	43	Elmdon	Gabès
4	Oued el khil 2	Tataouine	44	Beni khddache centre	Beni khddache
5	Gasbett gomri	Tataouine	45	Missawa1	Tataouine
6	El bagbag 3	Tataouine	46	Bir ezzwai	Médenine
7	Lamaat	Tataouine	47	Grager 2	Tataouine
8	El ferch 1	Tataouine	48	Bniri	Ben guerdane
9	Ksar ouled boubaker	Tataouine	49	Oued erbaai	Ben guerdane
10	Mareth	Gabès	50	Zmorten	Gabes
11	Labyar 2	Ben keddache	51	Essolb	Zarzis
12	Swittir	Médenine	52	Gormassa	Tataouine
13	Bir ezzwai	Médenine	53	Ferjania 2	Médenine
14	Tlalite	Tataouine	54	Ksar oun 1	Tataouine
15	Bir 30	Tataouine	55	Bir addim	Tataouine
16	Oued el khil	Tataouine	56	Oued elhalouf	Médenine
17	Dkilet toujene	Gabès	57	Thahret el gbour 2	Médenine
18	Amadi	Tataouine	58	Ksar ouled dbab	Tataouine
19	Elmejni	Gabès	59	Ksar ejdid	Médenine
20	Belkir	Gafsa	60	El mawouna	Tataouine
21	Mgitt 2	Tataouine	61	Ezzahra 2	Tataouine
22	Belkhir 3	Gafsa	62	Elmziraa	Tataouine
23	Missawa	Tataouine	63	Lagrabette	Médenine
24	Gomrassen	Tataouine	64	Bouzrida	Tataouine
25	Gattouffa	Tataouine	65	Echahbania	Tataouine
26	Manzel mgor 1	Ben khddache	66	Gormassa 2	Tataouine
27	Manzel mgor 2	Ben khddache	67	Lahyet mars	Tataouine
28	Bir lahmer 2	Tataouine	68	Gomrassen 1	Tataouine
29	Essaidane	Ben Guerdane	69	Aiin tounine	Gabes
30	Matmatta jdida 1	Gabès	70	Jellala	Ben guerdane
31	El bhira 1	Médenine	71	Thahret elgbour	Médenine
32	El bhira 2	Médenine	72	Elbagbag 2	Tataouine
33	El bag bag 1	Tataouine	73	Ben gzayel	Médenine
34	Matmata jdida 2	Gabès	74	Mazreet ben slama	Gabès
35	Labyar 1	Ben khddache	75	Grage 1	Tataouine
36	Hjar	Médenine	76	Oued el khil 1	Tataouine
37	Errssifett	Zarzis	77	Switir 1	Médenin
38	Erremtha 2	Tataouine	78	Chenenni	Tataouine
39	El ferch 2	Tataouine	79	Orge Pakestani	Pakistan
40	Chehbania 2	Tataouine	80	Rihane	Tunis

2.2 Extraction des différentes classes de protéines de réserves de l'orge

Afin d'extraire toutes les classes des protéines de réserve de l'orge, nous avons mis au point un protocole de fractionnement des différentes catégories de protéines en se basant sur leur différence de solubilité. Puis, la concentration en protéines de chaque fraction est déterminée par la méthode de Bradford (1976). L'ensemble des étapes du fractionnement est résumé dans la figure 2

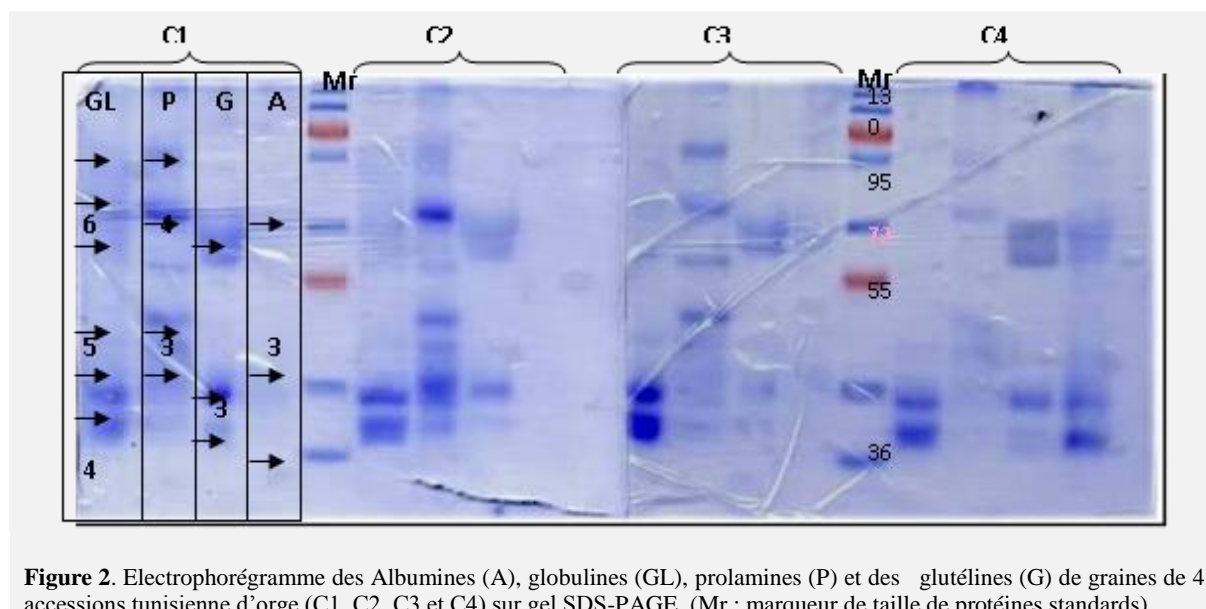


Figure 2. Electrophorégramme des Albumines (A), globulines (GL), prolamines (P) et des glutélines (G) de graines de 4 accessions tunisienne d'orge (C1, C2, C3 et C4) sur gel SDS-PAGE. (Mr : marqueur de taille de protéines standards).

2.3. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

L'estimation des quantités de chaque catégorie de protéines est réalisée par le dosage de Bradford (1976).

2.4. Extraction des hordéines

L'extraction des hordéines est faite selon Dakir et al. (2002) avec quelques modifications.

2.5. Electrophorèse des protéines sur gel de polyacrylamide

La méthode utilisée dans ce travail est l'électrophorèse verticale sur plaque en mini gel de polyacrylamide (Laemmli 1970).

3. Résultats et discussions

3.1. Teneurs en protéines de réserve des différentes accessions d'orge

Les résultats de dosage ont permis de donner des estimations des protéines totales solubilisées, ainsi que les différentes classes de protéines de réserve. Le tableau 2 comprend les teneurs en protéines de chaque fraction des graines des 80 accessions d'orge. Elles sont données en mg par g de matière sèche et en pourcentage de protéines totales.

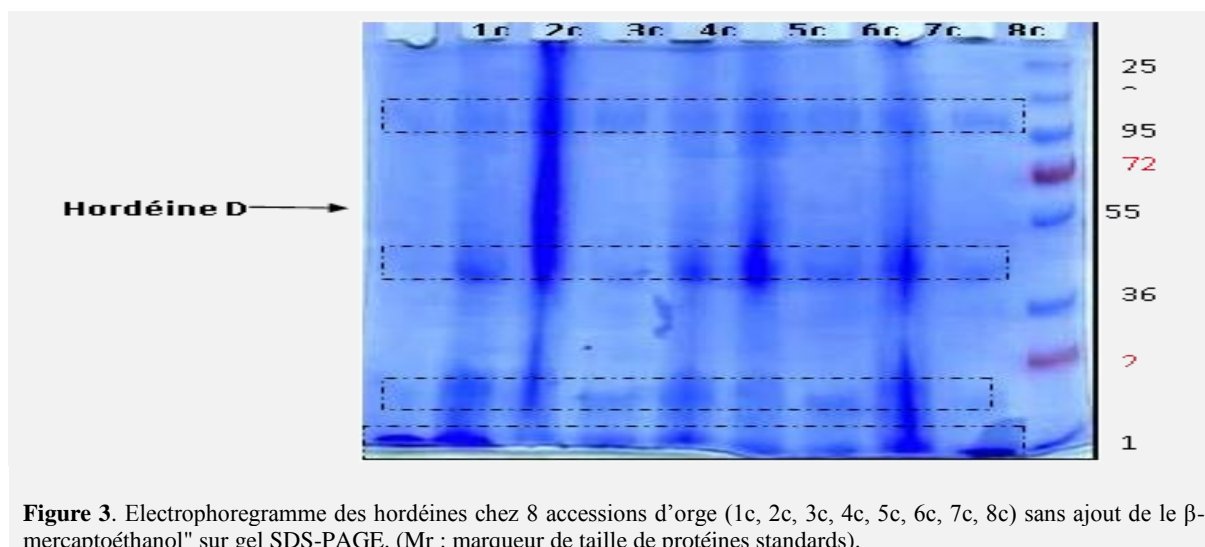
L'examen du tableau 2 permet de remarquer que les graines d'orge sont riches en protéines, avec une moyenne de 529,83 mg/g de matières sèches (MS), soit environ 52,98% du poids sec. Les Prolamines sont les protéines majeures. Elles forment 49,80 % des protéines totales, suivies des glutélines qui forment 28,69 % puis les globulines et les albumines qui sont très faibles et représentent respectivement 13,75 % et 7,77 %. Les analyses montrent une variation des teneurs en protéines observée : puisque les 80 accessions étudiées ont été cultivés dans des conditions environnementales (sol, climat) similaires, on estime que cette variation est d'origine génétique. Le cultivar Rihane (Tunis) est considéré le plus performant des autres accessions, il est très riche en contenu pour toutes les fractions, contrairement au cultivar chehbaniya 2 (Tataouine) qui était le plus pauvre en contenu.

Tableau 2. Teneurs en protéines et compositions en classes protéiques de réserve des graines de 80 populations d'orge « *Hordeum vulgare* L. ».

Albumine		Globuline		Prolamine		Glutéline		Protéines totales	
mg/g MS*	protéines totales (%)	mg/g MS*	protéines totales (%)	mg/g MS*	protéines totales (%)	mg/g MS*	protéines totales (%)	mg/g MS	%de matière sèche
30,21	5,59	66,15	12,25	295,55	54,73	148,12	27,43	540,03	54,00
35,16	7,35	60,88	12,73	258,15	54,00	123,90	25,92	478,09	47,81
34,72	6,91	66,48	13,22	266,73	53,06	134,76	26,81	502,69	50,27
54,00	10,57	54,89	10,75	243,61	47,69	158,31	30,99	510,81	51,08
45,42	9,47	55,51	11,58	281,88	58,79	96,66	20,16	479,47	47,95
39,78	8,17	59,87	12,30	276,40	56,80	110,60	22,73	486,65	48,66
47,61	7,69	87,17	14,08	341,60	55,18	142,66	23,05	619,04	61,90
50,13	10,98	43,26	9,47	224,35	49,14	138,85	30,41	456,59	45,66
48,13	8,72	88,73	16,08	260,98	47,29	154,03	27,91	551,87	55,19
44,52	8,00	71,92	12,92	289,77	52,06	150,37	27,02	556,59	55,66
39,78	8,20	77,00	15,88	236,22	48,71	131,95	27,21	484,95	48,50
42,53	8,17	42,53	8,17	285,78	54,90	149,73	28,76	520,57	52,06
38,75	7,69	76,60	15,20	257,93	51,20	130,52	25,91	503,80	50,38
25,90	5,38	25,90	5,38	250,37	51,97	179,54	37,27	481,71	48,17
35,48	7,05	69,23	13,75	222,60	44,22	176,10	34,98	503,41	50,34
32,93	5,45	72,73	12,03	346,73	57,34	152,30	25,19	604,69	60,47
35,11	6,16	79,67	13,97	288,20	50,54	167,26	29,33	570,24	57,02
40,42	7,84	92,26	17,90	243,25	47,20	139,40	27,05	515,33	51,53
40,86	9,05	70,15	15,54	224,60	49,75	115,85	25,66	451,46	45,15
11,61	2,24	84,59	16,28	242,75	46,72	180,64	34,77	519,59	51,96
29,35	5,70	95,95	18,63	234,50	45,54	155,15	30,13	514,95	51,50
40,81	7,18	59,47	10,46	278,18	48,95	189,88	33,41	568,34	56,83
43,23	8,52	76,73	15,12	250,40	49,33	137,21	27,03	507,57	50,76
42,81	8,48	68,04	13,48	254,60	50,44	139,34	27,60	504,79	50,48
34,87	6,73	74,55	14,39	280,80	54,22	127,70	24,66	517,91	51,79
35,95	6,71	75,87	14,16	229,73	42,86	194,42	36,27	535,97	53,60
37,87	7,07	91,87	17,15	247,65	46,23	158,32	29,55	535,71	53,57
52,15	8,58	71,42	11,75	326,10	53,64	158,32	26,04	607,99	60,80
35,14	7,90	51,11	11,49	226,95	51,04	131,43	29,56	444,63	44,46
31,23	6,21	86,84	17,26	242,47	48,20	142,54	28,33	503,07	50,31
35,67	6,90	52,18	10,10	273,50	52,92	155,48	30,08	516,83	51,68
46,17	7,83	69,07	11,71	287,80	48,79	186,90	31,68	589,93	58,99
36,98	6,62	98,84	17,70	284,50	50,96	138,00	24,72	558,32	55,83
34,07	6,04	96,00	17,03	280,50	49,76	153,10	27,16	563,67	56,37
39,75	7,94	85,12	16,99	240,23	47,96	135,81	27,11	500,92	50,09
35,99	7,35	92,17	18,82	241,00	49,20	120,70	24,64	489,86	48,99
49,89	9,52	76,50	14,59	240,30	45,83	157,60	30,06	524,29	52,43
29,06	5,26	78,77	14,26	264,70	47,93	179,77	32,55	552,30	55,23
28,42	5,21	85,34	15,64	280,33	51,37	151,57	27,78	545,66	54,57
43,50	12,00	41,09	11,34	138,96	38,33	138,96	38,33	362,50	36,25
49,03	11,62	57,19	13,56	157,77	37,41	157,77	37,41	421,76	42,18
49,11	10,07	31,72	6,50	235,85	48,34	171,18	35,09	487,86	48,79
36,37	7,44	73,73	15,08	238,15	48,72	140,61	28,76	488,86	48,89
33,49	5,83	68,97	12,00	327,27	56,96	144,85	25,21	574,59	57,46
35,11	7,64	74,27	16,16	157,85	34,34	192,38	41,86	459,61	45,96
32,38	5,29	85,53	13,97	322,37	52,66	171,83	28,07	612,11	61,21
54,70	9,59	63,52	11,14	263,70	46,24	188,37	33,03	570,29	57,03
31,72	5,74	99,43	17,98	242,32	43,83	179,38	32,45	552,85	55,29
55,79	9,92	72,00	12,80	278,95	49,60	155,62	27,67	562,36	56,24
60,25	11,18	76,03	14,11	230,88	42,83	171,88	31,89	539,04	53,90
35,07	6,24	68,23	12,14	323,43	57,57	135,07	24,04	561,80	56,18
47,37	9,38	76,03	15,05	250,33	49,56	131,43	26,02	505,16	50,52
41,37	7,96	67,67	13,02	227,40	43,76	183,24	35,26	519,68	51,97
52,95	9,18	87,84	15,23	262,88	45,59	172,98	30,00	576,65	57,67
32,07	6,34	50,56	10,00	276,83	54,73	146,37	28,94	505,84	50,58
57,05	11,34	72,29	14,37	269,53	53,58	104,15	20,70	503,02	50,30
36,26	6,47	82,22	14,66	271,93	48,49	170,37	30,38	560,78	56,08
30,02	5,53	88,16	16,23	257,73	47,43	167,44	30,82	543,36	54,34
53,28	11,15	85,08	17,80	244,62	51,17	95,08	19,89	478,06	47,81
32,90	6,81	87,64	18,13	247,97	51,29	114,95	23,78	483,46	48,35
31,57	5,18	72,36	11,87	356,93	58,55	148,80	24,41	609,66	60,97
33,70	5,73	86,86	14,78	326,57	55,56	140,68	23,93	587,81	58,78
35,93	6,47	76,03	13,69	334,37	60,20	109,06	19,64	555,39	55,54
57,61	11,42	58,32	11,56	237,80	47,14	150,68	29,87	504,41	50,44
45,34	8,98	68,34	13,54	217,60	43,12	173,35	34,35	504,63	50,46
37,09	7,37	75,11	14,93	235,78	46,87	155,10	30,83	503,08	50,31
53,79	10,48	74,43	14,51	230,43	44,91	154,48	30,11	513,13	51,31
54,10	8,77	87,60	14,21	335,07	54,34	139,87	22,68	616,64	61,66
57,43	12,02	81,95	17,16	223,50	46,79	114,78	24,03	477,67	47,77
32,24	5,10	82,68	13,07	333,17	52,67	184,49	29,16	632,57	63,26
34,53	7,32	56,90	12,06	256,68	54,41	123,66	26,21	471,77	47,18
35,57	5,91	71,23	11,84	350,53	58,25	144,42	24,00	601,75	60,18
34,15	6,23	55,83	10,19	279,65	51,04	178,26	32,54	547,89	54,79
39,58	7,17	77,17	13,99	243,43	44,12	191,54	34,72	551,72	55,17
35,20	7,70	75,34	16,48	231,20	50,58	115,40	25,24	457,13	45,71
49,78	7,94	61,04	9,74	343,60	54,83	172,29	27,49	626,71	62,67
53,53	9,29	86,36	14,99	244,40	42,43	191,73	33,29	576,02	57,60
35,87	6,90	88,46	17,02	272,17	52,37	123,22	23,71	519,72	51,97
49,63	7,35	78,24	11,59	352,00	52,12	195,45	28,94	675,32	67,53
50,97	9,04	65,37	11,60	256,25	45,47	190,98	33,89	563,57	56,36
40,62	7,74	72,75	13,75	264,87	49,81	151,59	28,69	529,83	52,98

3.2. Fractionnement des classes des protéines de réserve pour les accessions d'orge

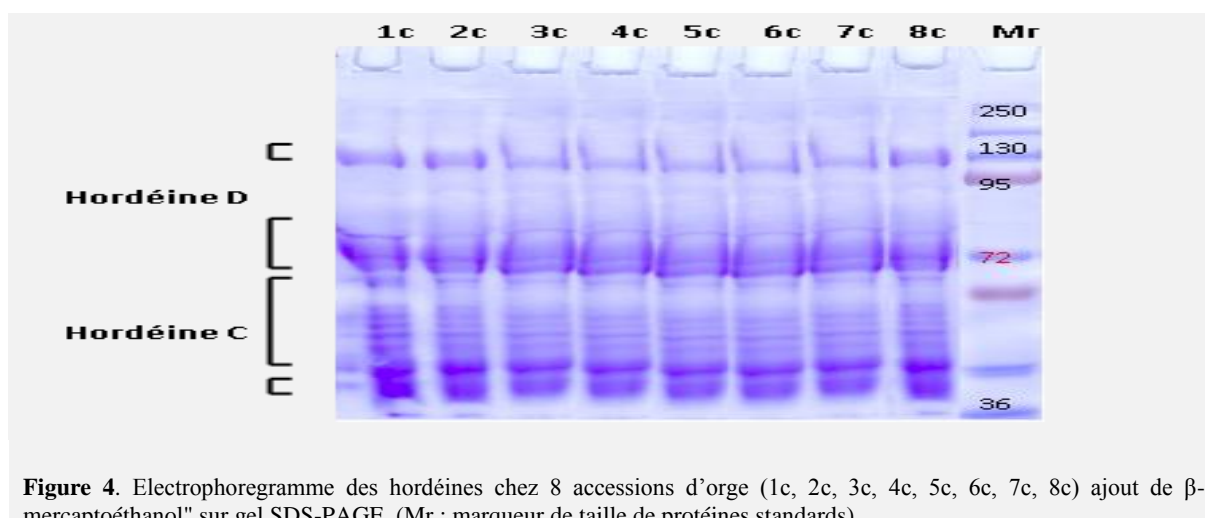
La solubilisation des différentes classes protéiques de réserve et leur fractionnement des graines d'orge nous ont permis de caractériser les PM des sous unités de chaque classe (Figure 3).



Les globulines sont formées d'une quantité importante de sous unités de PM égale à 13 kDa (GL1) et d'autres chaînes d'environ 17 kDa (GL2). Des chaînes sous forme de traces de poids moléculaires plus élevés sont situées à 20-55 kDa (GL3, GL4, GL5 et GL6). Pour les prolamines, quatre sous unités sont révélées. Ce sont P1, P2, P3 et P4 aux environs 18, 25, 38 et 52 kDa, respectivement ; dont P3 est la plus abondante. Les albumines de graines d'orges présentent trois sous unités moins abondantes de poids moléculaires entre 11 et 36 kDa (A1, A2, A3). Quant aux glutélines, trois sous unités ont pu être révélées. Ce sont Gt1, Gt2, Gt3 aux environs de 13, 17 et 34 kDa, respectivement ; dont G2 est la plus abondante.

3.3. Analyse du polymorphisme des hordéines des accessions d'orge

L'étude protéique par électrophorèse sur gel de polyacrylamide a concerné seulement 8 accessions, Le protocole de fractionnement des prolamines émane de celui de Chmelik et al, (2002). Selon la solubilité des hordéines dans l'éthanol 70 %; ce protocole a donné 4 groupes de polypeptides (A, B, C et D). La séparation par électrophorèse sur gel de polyacrylamide 13 %, en conditions dénaturantes a permis de visualiser les différentes bandes qui diffèrent par leurs poids moléculaire (Figure 4). Ainsi, au niveau de cette catégorie de molécules, l'électrophoregramme n'a pas permis de déceler une variabilité entre les accessions étudiées.



En vue de mieux révéler le polymorphisme, le protocole de Penko et al. (2001) permettant la dissociation ou la dénaturation des protéines sous l'action du réducteur des liaisons S-S "le β -mercaptoéthanol" a été testé sur les mêmes accessions. Par ce protocole, la protéine prend ainsi une forme allongée dont la longueur est proportionnelle à la masse moléculaire et il y a une séparation des chaînes polypeptidiques reliées par les ponts disulfures (Fig 5).

Quatre groupes de polypeptides classés par ordre de mobilité électrophorétique décroissante ont été déterminés. Ces groupes diffèrent par leur masse moléculaire. Il s'agit de :

Hordéine A (γ): dont le poids moléculaire se situe entre 14 kDa et 17 kDa. Cette famille est formée par un seul polypeptide.

Hordéines B : dont le poids moléculaire se situe entre 17 kDa et 30 kDa. Cette famille est formée de 6 polypeptides. Les hordéines B sont les principales protéines de réserve dans le grain d'orge.

Hordéines C : dont le poids moléculaires se situe entre 35 kDa et 70 kDa. Cette famille est formée de quatre polypeptides.

Hordéines D : dont le poids moléculaires se situe entre 80 kDa et 100 kDa.

Au total nous avons mis en évidence 12 polypeptides des hordéines chez chaque accession. Les profils sont presque homologues chez les différentes accessions.

Les protéines de réserve constituent actuellement l'aliment de base de l'homme. Selon Cheftel et al. (1985), le besoin protéique journalier avoisine 0,8 g de protéine/jour/kg, soit environ 56 g de protéines par jour pour un homme de 70 kg. Les différences en proportions entre ces diverses fractions protéiques illustrent souvent la valeur nutritive des graines. La teneur en protéines du grain d'orge est déterminée par des facteurs génétiques, environnementaux et nutritionnels. Les travaux de Smith (1990) ont montré que la teneur en protéines des grains d'orge est facilement affectée par les conditions environnementales, comme la disponibilité de l'azote et de l'eau, la température et l'intensité lumineuse. Le caractère teneur en protéines présente par ailleurs des notables interactions «génotype-milieu». Le dosage a permis de déterminer la teneur des graines analysées en protéines qui se situe entre 36,25 et 67,53 % de matière sèche. Cette teneur est relativement importante comparée à celle trouvée dans d'autres travaux sur l'orge et d'autres céréales. Selon André et al. (1992), la teneur en protéines du grain d'orge varie entre 11 à 13 % du poids sec (PS). Aghae-Sarbarzeh (2005) a montré que les cultivars d'orge d'Iran comprennent 8,4 à 10,78 % de protéines. Abdel-Fattah (2005) a déterminé la teneur en protéines de l'orge d'Egypte, il a trouvé des valeurs entre 13 et 14 % du PS. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Andersson et al. (1999). Nous constatons aussi que les graines d'orge du sud tunisien sont riches en protéines. On peut expliquer ces teneurs élevées par la disponibilité de l'azote au niveau du sol. En effet, J.-C. Qi, et al. (2006) soutient que la nutrition en azote est le facteur le plus important affectant la teneur en protéines de réserve et surtout des hordéines chez l'orge. On peut déduire que le sol sur lequel est menée la culture est très riche en azote. Des recherches ont montré que le pourcentage des protéines le plus élevé est trouvé dans les régions arides et semi arides. Les teneurs en prolamines des graines d'orge étudiées sont aussi importantes que celles trouvées dans d'autres travaux. Elles sont comprises entre 34,34 % et 60,20 % avec une moyenne de 49,81 %. Kirkman et al. (1982) ; Shewry et al. (1982) ont trouvé des valeurs entre 30 % et 50 % des protéines totales. Nous avons démontré que l'orge est plus riche en prolamines et glutélines avec des proportions de 49,80 % et 28,69 % des protéines totales. Nos résultats sont en accord avec ceux de Kreis et al. (1986) qui ont montré que les légumineuses sont plus riches en albumines et en globulines, tandis que les céréales sont riches en prolamines et glutélines. Nassri et al. (2007) lors de ses travaux sur les graines de Pin pignon (conifère), a démontré qu'elles sont riches en protéines, avec environ 244,06 mg/g MS, soit environ 25 % du PS. Concernant la teneur en albumine, les valeurs se situent entre 2,24 % et 12,02 % avec une moyenne de 7,74 %. Nos résultats sont en accord avec ceux de Robert et al. (1995) qui ont montré que cette fraction représente 5 à 15 % des protéines chez les céréales. Les teneurs des globulines chez les accessions étudiées se situent entre 6,50 % à 18,02 % avec une moyenne de 13,75 % des protéines totales. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Gustavo et al. (2002) sur l'orge qui montre qu'elles représentent 3 à 18 % des protéines totales. Dans nos études nous avons trouvé que la teneur des glutélines varie de 34,34 % à 60,20 % avec une moyenne de 49,81 %. Ces résultats sont en accord avec ceux de Robert et al. (1995) qui ont montré que les glutines sont formées d'un ensemble hétérogène de protéines de structure et de protéines de réserve et constituent 20 % à 55 % des protéines totales de l'orge. D'autres travaux seraient nécessaires afin de mieux cerner la qualité des protéines des graines d'orge. De nombreuses techniques

existent et peuvent être exploitées dans ce but, à titre d'exemples la technique de spectrométrie de masse et l'électrophorèse bidimensionnel des protéines. Une nouvelle technique nommée « la FPLC : Fast Protein Liquid Chromatography », utilisée par Fernando et al. (1994) est très efficace pour l'étude de la composition en protéines chez l'orge, le blé et le riz.

4. Références

- Abdel-Fattah A., El Sayed A., (2005)** The International Workshop on Food Barley Improvement 14-17. Improvement of Food Hull-less Barley in Egypt.
- Aghaee-Sarbarzeh M., Yousefy A., Ansary Y. et al (2005)** the International Workshop on Food Barley Improvement 156-160. Barley Improvement in Islamic Republic of Iran: Present Status and Future Prospects Food.
- Andersson AM., Andersson R., Autio K. et al (1999)** J Cereals Sci 183-191. Chemical composition and microstructure of two naked waxy barleys.
- André G., Hubert B. (1992)** Edition Quae 768- 772. Amélioration des espèces végétales cultivées, objectifs et critères de sélection,
- Bradford MM.,(1976)** Anal Biochem 248 - 254. A Rapid and sensitive Method for the quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein.
- Chmelik J., Rehulka P., Strlcova M. et al (2002)** Vyroba 261-264. Proteomic analysis of different extracts from barley grains.
- Cinara E. et Suzana C. (2007)** Genet Mol Biol 425-433. Hordein variation in Brazilian barley varieties (*Hordeum vulgare* L.) and wild barley.
- Dakir E., Ruiz M., Garcia P. et al (2002)** Gene Res Crop Evol 619 - 631. Genetic variability evaluation in a Moroccan collection of barley, *Hordeum vulgare* L., by means of storage proteins and RAPDs.
- Fernando G., Chirido T., Carlos A. et al (1994)** Food Chem 2460-2465. Fractionation of Wheat, Barley, and Rye Prolamins by Cation Exchange FPLC.
- Grando S., Helena GM. (2005)** Proceedings of the International Workshop on Food Barley Improvement, ICARDA 156 -160.
- Gustavo A., Slafer JL., Roxana S. et al (2002)** Haworth Press 665-670. Food Barley: Importance, Uses and Local Knowledge.
- Kirkman MA., Shewry PR., Mifflin BJ. et al (1982)** Food Agric 115-127. The effect of nitrogen nutrition on the lysine content and protein composition of barley seeds.
- Kreis M., et Shewry PR. (1992)** Molecular Biology and Biotechnology 319-334. The control of protein synthesis in developing barley seeds in Barley.
- Najimi B., El Jaafari S., Jlibène M. et al (2003)** Biotechnol Agron Soc Environ 17-35. Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes.
- Nassri N., et Triki SCR. (2007)** Biologies 402-409. Les protéines de réserve du pin pignon (*Pinus pinea* L.).
- Oueslati O., Ben Hammouda M., Ghorbal MH. et al (2005)** Agro Crop Sci 249-254. Barley Autotoxicity as Influenced by Varietal and Seasonal Variation.
- Payne PI. et Annu Rev Plant (1987)** Physiol 141-153. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on breadmaking quality.
- Pelger S., Torbjorn S., et Bengt O. (1993)** Heredita 219-231. Evolution of hordein gene organization in three *Hordeum* species.
- Peltonen J., Hannu R., Reino A. et Silja H. (1994)** Hereditas 231 -239. Hordein and malting quality in northern barleys.
- Penko A., Christiane B., Maria Z., et Philippe M. (2001)** Genet Res Crop Evol 353-360. Hordein polymorphism and variation of agromorphological traits in a collection of naked barley.
- Qi JC., Zhang GP., et Zhou MXJ. (2006)** Cereals Sci 102-107. Protein and hordein content in barley seeds as affected by nitrogen level and their relationship to beta-amylase activity.
- Ramsay L., Macaulay M., degli Ivanissevich S. et al (2000)** Genet 997- 1005. A simple sequence repeat-based linkage map of barley.
- Robert J., et Ruckebusch Y. (1995)** Editions Quae 398-393. Nutrition des ruminants domestiques ingestion et digestion.
- Shewry PR. et Mifflin BJ. (1982)** Qual Plant Mater Veg 251 -267. Genes for the storage proteins of barley.
- Shewry PR., Kreis M., Parmar S. et al (1985)** Biochemical Societies 61-64. Identification of α -type hordeins in barley.
- Shewry PR., Halford NG., Tatham AS. (1992)** J Cereals Sci 105-120. The high molecular weight subunits of wheat glutenin.
- Ziegler P. (1999)** J Cereals Sci 195-204. Cereals beta-amylases.
- Laemmli UK. (1970)** Nature 680 - 685. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.