

Etude préliminaire du polymorphisme enzymatique révélé chez quelques céréales aux premiers stades végétatifs

Aouad A.¹, Mergoum M.² et Baaziz M.¹

¹Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire des plantes, Université Cadi Ayyad, Faculté des sciences-Semlalia, B.P. S 15, Marrakech, Maroc

²Centre régional de la recherche agronomique, INRA, B.P. 589, Settat, Maroc

Résumé

Afin de mettre au point des marqueurs biochimiques et moléculaires de grand apport dans l'amélioration des céréales, la variabilité génétique montrée par 7, 12, 1 et 4 variétés de blé tendre, blé dur, triticale et orge, respectivement, est évaluée par analyse électrophorétique du polymorphisme de 6 systèmes enzymatiques correspondant aux peroxydases (POX), estérases (EST), glutamate oxaloacétate transaminase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), phosphatases acides (ACP) et endopeptidase (ENP). Les enzymes sont extraites, dans la plupart des cas, à partir des feuilles, dans le tampon TAME (pH 7.0) dilué au 1/2.

Les zymogrammes obtenus après révélation sur gel de polyacrylamide sont plus ou moins polymorphes (2 à 8 phénotypes électrophorétiques). Aucune variation intravariétale n'a été détectée. Une clé d'identification, basée sur les différents phénotypes d'isoenzymes révélés, a été établie. Elle permet de distinguer 50 % des variétés étudiées en utilisant comme matériel végétal de jeunes plants de différentes céréales. A l'exception de « Karim » variété tunisienne de blé dur, tous les cultivars de la même espèce mais d'origine étrangère sont complètement identifiés ; alors que les variétés marocaines tendent à former des groupes. Les orges n'ont en commun avec les autres céréales qu'un seul phénotype (A) de LAP, existant aussi chez le blé dur et le triticale. Les affinités d'association entre différentes variétés sont discutées dans ce travail.

Mots clés : Electrophorèse, isoenzymes, polymorphisme variétal

Abstract: Preliminary study of enzyme polymorphism revealed at the first developmental stages of some cereals with various adaptation to cultural conditions in Morocco

In order to investigate more biochemical and molecular markers that could be of helpful support in cereal breeding, genetic variation of 7, 12, 1 and 4 varieties of bread wheat, durum wheat, triticale and barley, respectively, was evaluated by electrophoretic analysis of 6 en-

zyme systems corresponding to peroxidases (POX), esterases (EST), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), acid phosphatase (ACP) and endopeptidase (ENP). Using leaf and root material, enzymes were extracted with half-diluted TAMET buffer (pH 7.0).

The enzyme zymograms obtained after electrophoresis on polyacrylamide gel, showed a polymorphism, giving rise to 2-8 electrophoretic phenotypes. No differences were detected within each variety. An isoenzyme-based key was established. It allowed the identification of 50 % of varieties studied. Excepting « Karim » tunisian variety of durum wheat, all foreign cultivars of the same species were completely identified; whereas, moroccan varieties tended to form cereal groups. Barley showed an only common LAP enzyme phenotype A, which was, also, found in durum wheats and the triticale variety. Possible relationships between cereal varieties forming different groups were, also, discussed in this study.

Key words: Electrophoresis, isoenzymes, varietal polymorphism

ملخص : دراسة أولية للتنوع الإنزيمي إبان المراحل الأولى من نمو بعض الحبوب المزروعة بالمغرب

1. عواد، م. مركوم 2 و م. بعزیز 1

1 كلية العلوم، سلاطية، مراكش، المغرب

2 المركز الجهوي للبحث الزراعي، سطات، المغرب

حتى يمكن التعرف على مزيد من المؤشرات البيوكيميائية و الجزيئية قصد استعمالها في تحسين الحبوب الزراعية، تم تقييم التنوع الجيني لدى 12، 7، 1، 4 صنفا من القمح الطري، القمح الصلب ، التريتیکال، والشعير، وقد تم ذلك بواسطة تحليل الأشباه الإنزيمية عن طريق المناقطة الكهربائية. لدى 8 إنزيمات تشمل إنزيم الأوكسدة، (Peroxidase, POX) ، إنزيمات تحليل الروابط الإستيرية من إستيراز (Esterases, EST)، و فوسفاتاز (Phosphatases, ACP)، إنزيمات تحليل الروابط الأمينية (Leucine aminopeptidase, LAP)، Endopeptidase ENP و إنزيم نقل الأمينات (Glutamate Oxaloacétate Transaminase, GOT) ، تمت عملية استخلاص كل هذه الإنزيمات غالبا من أوراق النبات، و كان ذلك بواسطة الكايح (TAMET (pH 7,0) نصف مخفف مائيا .

لقد أظهرت نماذج الأشباه الإنزيمية المحصل عليها بعد التحفز الإنزيمي فوق وسط الفصل (مادة Polyacrylamide) تنوعا ملموسا (2 إلى 8 أنماط ظاهرية). كما أنه لم يتم تسجيل أي تنوع بين نباتات تنتمي لنفس الصنف. بناءا على الأنماط الظاهرية المستتبطة من تنوع الإنزيمات التي اختبرت، تم تشكيل مفتاح للتمييز بين أصناف الحبوب، و هكذا تم تعريف 50 % من الأصناف المدروسة. باستثناء صنف القمح الصلب "كریم" التونسي، كل الأصناف الأجنبية الأصل شخصت أحادا، عكس الأصناف المغربية التي شكلت مجموعات. لم تظهر أصناف الشعير إلا تقاربا واحدا (نمط A في إنزيم LAP و الموجود عند القمح الصلب و التريتیکال مع الحبوب الأخرى. لقد ناقشت الدراسة مدى تقارب أصناف الحبوب التي تشكل مجموعات مختلفة.

الكلمات المفتاحية : المناقطة الكهربائية، الأشباه الإنزيمية، التنوع الصنفي

Introduction

Les céréales, constituant une source primordiale dans l'alimentation humaine, sont souvent exposées à des contraintes climatiques et pédologiques variées limitant ainsi, leur productivité en milieux aride et semi-aride. La sécheresse et la salinité des sols sont, de nos jours, plus préoccupantes pour le développement de la céréaliculture. La sélection variétale reste la voie la plus prometteuse pour une mise au point de variétés productives et mieux adaptées. Cette sélection est souvent basée sur des critères agro-morphologiques qui sont influencés par l'environnement.

La pratique d'une sélection variétale assistée par des marqueurs biochimiques et moléculaires est de plus en plus recommandée car elle est plus rapide et efficace. En effet, ces marqueurs reflètent les états des gènes et de leurs produits. L'électrophorèse sur gel est la méthode de choix pour la séparation des protéines, d'enzymes et d'acides nucléiques qui déterminent les différents types de marqueurs moléculaires. Ainsi, le polymorphisme enzymatique et protéique permet d'estimer le degré d'adaptation des espèces à de nouvelles conditions. Un polymorphisme élevé engendré, par exemple, par la reproduction sexuée d'une espèce, permet une adaptabilité aux variations du milieu bien supérieure à celle d'une espèce moins polymorphe qui se reproduirait par voie asexuée (Lucotte 1983). D'autres objectifs (étiquetage, sélection d'hybrides,...) peuvent être atteints par l'étude de la variation des enzymes et des protéines où l'identification variétale constitue le domaine d'application majeur. La majorité des travaux déjà faits dans ce domaine utilisent surtout les protéines de réserves du grain. Ainsi, plusieurs génotypes d'orge et de blé ont pu être identifiés par les profils électrophorétiques des protéines (Gebre *et al.* 1986 ; Roininen *et al.* 1992 ; Boujnah et Bakhella 1992). Lorsque les protéines s'avèrent insuffisantes pour la distinction de la totalité des variétés, l'étude des isoenzymes permet de révéler d'autres différences. Ainsi, Lallemand et Briand (1990), en combinant les profils des protéines, des estérases et des phosphatases, ont pu mettre au point une clef d'identification de 12 orges d'hiver et 13 orges de printemps en France. Dans d'autres cas, l'utilisation exclusive des systèmes enzymatiques a permis de caractériser plusieurs céréales tels le sorgho (Ramirez et Pisabarro 1985) et le seigle (Ollitrault et Noyer 1990). Toutefois, le polymorphisme enzymatique au niveau des feuilles et des racines de céréales reste peu étudié. Ce matériel végétal, facilement accessible, permet de faire une évaluation rapide de la variabilité génétique à tous les stades de développement des céréales. Des associations entre les isoenzymes révélées et des caractères agronomiques peuvent être recherchées, comme a été le cas, par exemple, pour *Phaseolus vulgaris* où les loci Adh-1 (alcool déshydrogénase) et Got-2 (glutamate oxaloacétate transaminase) ont été trouvés liés à un locus contrôlant la taille des graines (Vallejos et Chase 1991).

Dans cette étude préliminaire, nous décrivons la révélation au niveau du système végétatif (feuilles et racines) de quelques marqueurs enzymatiques de 7 variétés de blé tendre, 12 variétés de blé dur, 4 variétés d'orge et une variété de triticale. Ces marqueurs peuvent être utilisés dans l'identification variétale et la sélection de génotypes adaptés à différentes conditions de culture au Maroc.

Matériel et méthodes

Espèces et variétés de céréales

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de 7 variétés de blé tendre (*Triticum aestivum*), 12 variétés de blé dur (*Triticum durum*), 4 variétés d'orge (*Hordeum vulgare*) et une variété de triticale (*Triticosecale* Wittmack). Le tableau 1 résume les différentes variétés et leurs aires d'adaptation.

Tableau 1. Variétés de céréales étudiées

Espèce	Variété	Origine	Aire d'adaptation ^a
Blé tendre	1735	Maroc	-
	Achtar (1723)	Maroc	BF, SA
	ACSAD 59	ACSAD	BD, SA
	Khair (1725)	Maroc	BF, SA
	Saba (1710)	Maroc	LA (B, Ir, M)
	Kanz (1712)	Maroc	BF, SA
	Marchouch 8	Maroc	LA (BF, Ir, M)
Blé dur	Tansift (1727)	Maroc	LA (BF, BD)
	Marzak (E II 12)	Maroc	LA (BF, BD, Ir)
	Jori	CIMMYT	BF, Ir
	Sarif (1726)	Maroc	LA (BF, BD, Ir)
	Cocorit (1656)	CIMMYT	LA (BF, SA)
	Oum Rabia (1718)	Maroc	LA (BF, BD, Ir)
	Isly (E 15)	Maroc	BF, SA
	Karim (Bittern S')	Tunisie	BF, Ir
	ACSAD 65 (Stork)	ACSAD	SA, M
	Kyperounda (2777)	Chypre	BF
	Sebou (1715)	Maroc	BF, M, Ir
	Massa (1728)	Maroc	LA (BF, BD)
Orge	Rabat (071)	Maroc	M
	Asni (1579)	Maroc	LA (BF)
	Tissa (1580)	Maroc	BF, M, Ir
	Tamelalt (1703)	Maroc	LA (B, SA, A)
Triticale	Juanillio	CIMMYT	LA

^a BF : Bour favorable ; SA : Semi aride ; BD : Bour défavorable ; A : Aride ; B : Bour ; LA : Large adaptation ; Ir : Irrigué ; M : Montagnes.

Les graines désinfectées avec une solution d'hypochlorite de sodium 2 %, sont mises en germination entre deux feuilles de papier filtre imbibées d'eau distillée. La croissance des plantes est faite en serre à la lumière et à la température ambiante (mois de mars et avril).

Extraction des enzymes

Les enzymes sont extraites à + 4 °C, à partir de 0,1 g de matériel végétal (feuilles et racines) provenant de jeunes plants au stade « deux feuilles » et broyé dans 1 ml de tampon d'extraction. Après centrifugation 7 min à 9.000 g, le surnageant est récupéré dans des microtubes puis conservé à -20 °C, jusqu'à son utilisation. Deux tampons sont utilisés dans l'extraction. Le tampon TAMET (pH 7,0) (Bendiab *et al.* 1993), dilué au 1/2, est constitué de Tris 0,25 M, acide ascorbique 0,15 M, 2-mercaptoéthanol 1 % (v/v), EDTA 5,0 mM et Triton X-100 1,4 % (v/v). Le tampon Tris-Acide borique (pH 8,3) est composé de Tris 8,9 mM, acide borique 8,9 mM, 2-mercaptoéthanol 1,5 mM et Triton X-100 1 % (v/v). Il a été utilisé pour l'extraction de la glutamate oxaloacétate transaminase (GOT). Au moins 3 extractions sont effectuées par variété.

Electrophorèse

Les enzymes sont séparées à + 4 °C, sur des gels continus à 10 % en polyacrylamide. Des volumes de 0,05 ml d'extraits enzymatiques sont déposés par puits. L'électrophorèse est conduite à 200 V pendant 4-5 heures. Le tampon d'électrodes, de pH 8,1, est constitué par Tris 89 mM, acide borique 89 mM et EDTA 2,5 mM. Au moins 3 séparations électrophorétiques sont effectuées par extrait. Après électrophorèse, les isoenzymes séparées sont révélées en présence des substrats d'enzymes spécifiques. Les procédures de révélation sont celles décrites par Bendiab (1992) et Aouad (1993). Six systèmes enzymatiques sont analysés. Ils correspondent aux estérases (EST), phosphatases acides (ACP), endopeptidases (ENP), leucine aminopeptidase (LAP), peroxydases (POX) et glutamate oxaloacétate transaminase (GOT).

Résultats

Révélation des enzymes sur gel de polyacrylamide

Les premières investigations, faites avec les racines et les feuilles des différentes céréales, ont montré que ce dernier matériel présente plus d'activité que les racines pour 5 systèmes enzymatiques parmi les six, alors que seules les POX ont une activité élevée dans les racines (Fig.1). Les zymogrammes de cette enzyme présentent des bandes de mobilité relative (R_f) comprise entre 0,50 et 0,56 et où l'activité est plus élevée au niveau des racines. Les EST, faciles à révéler chez toutes les espèces étudiées, sont très polymorphes, comme le montre le nombre élevé de phénotypes isoenzymatiques (Fig.2). De nombreuses isoformes sont obtenues au milieu du gel (R_f 0,33-0,57). Quatre zones d'activité sont, ainsi, mises en évidence. Quant aux LAP, GOT, ACP et ENP, elles sont moins actives sur les gels de polyacrylamide. Concernant les autres enzymes, les LAP présentent une seule zone d'activité contenant généralement 2 bandes de R_f compris entre 0,23 et 0,30. Les isoformes des GOT sont caracté-

risées par une faible mobilité (R_f 0,14-0,27). Les ACP, moins actives, présentent 4 zones d'activité dont la plus mobile a un R_f de 0,37. Enfin, les ENP, plus polymorphes montrent des phénotypes électrophorétiques d'au moins 2 bandes. Les valeurs du R_f sont comprises entre 0,31 et 0,37. En considérant l'ensemble des enzymes étudiées, aucune variation intravariétale n'a été détectée. Les zymogrammes obtenus sont reproduits d'une manipulation à l'autre.

Figure. 1. Exemple de zymogramme (a) et diagramme (b) des peroxydases des jeunes plants des variétés de blé dur (1 : Massa (1728)), orge (2 à 5 : Rabat (071), Asni (1579), Tissa (1580) et Tamelalt (1703)) et triticale (6 : Juanillio), extraites à partir des racines et séparées sur gel de polyacrylamide (10 %). Les zones d'activité enzymatique sont indiquées par la mobilité relative (R_f) des différentes isoformes.

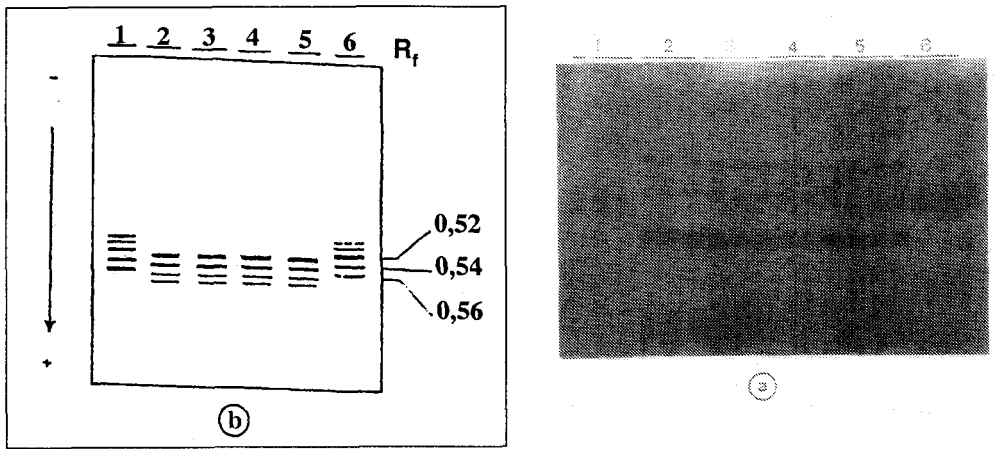
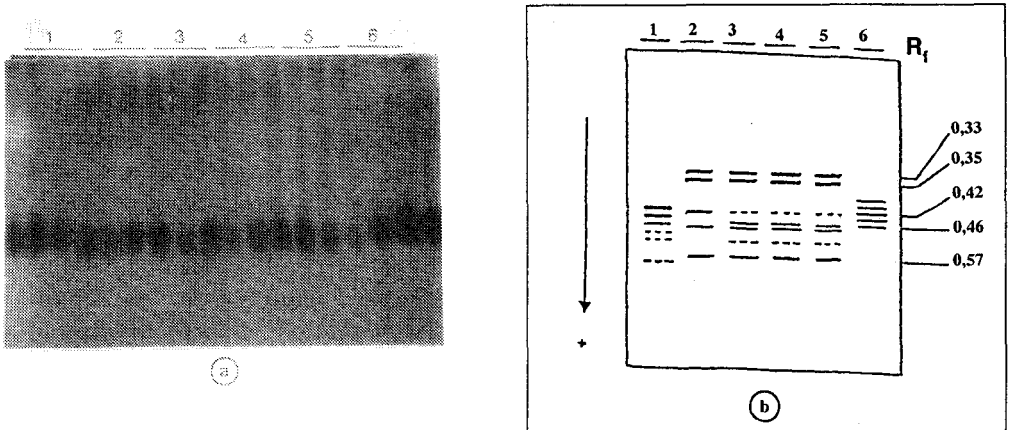


Figure. 2. Exemple de zymogramme (a) et diagramme (b) des estérases des jeunes plants des variétés de blé dur (1 : Massa (1728)), orge (2 à 5 : Rabat (071), Asni (1579), Tissa (1580) et Tamelalt (1703)) et triticale (6 : Juanillio), extraites à partir des feuilles et séparées sur gel de polyacrylamide (10 %). Les zones d'activité enzymatique sont indiquées par la mobilité relative (R_f) des différentes isoformes.



Inventaire des phénotypes électrophorétiques détectés chez les espèces et variétés étudiées.

Dans cette étude, nous interprétons les profils enzymatiques comme étant des phénotypes électrophorétiques. Concernant la variabilité enzymatique des 24 variétés, deux (A-B), trois (A-C), quatre (A-D), cinq (A-E), huit (A-H) et cinq (A-E) phénotypes électrophorétiques ont été trouvés pour les POX, LAP, GOT, ACP, ENP et EST, respectivement (Fig.3). La distribution des différents phénotypes de chaque enzyme, chez l'ensemble des variétés, est donnée dans le tableau 2. Les POX et ENP constituent, respectivement, les enzymes les moins et plus polymorphes. Ainsi, les phénotypes B des ENP et B et C de LAP sont caractéristiques des blés tendres. Par contre, le phénotype A de LAP typifié toutes les variétés de blé dur. La variété de triticale (Juanillio), se rapprochant des variétés de blé dur, reste caractérisée surtout par le phénotype D des GOT et ENP non révélé ailleurs. Les orges n'ont en commun avec les autres variétés étudiées que le phénotype A de LAP, rencontré chez les blés durs et la variété de triticale. En se basant sur la distribution des phénotypes isoenzymatiques, une clef d'identification a pu être établie pour les 24 variétés de céréales (Fig.4). Ainsi, 12 variétés sont complètement identifiées. Les variétés restantes forment des groupes d'affinité. Ainsi, on note un groupe de 4 variétés de blé dur (Oum Rabia (1718), Karim (Bittern S'), Sebou (1715) et Massa (1728)), un groupe de 2 variétés de blé dur (Tansift (1727) et Isly (E 15)), un groupe de 3 variétés de blé tendre (Achtar (1723), ACSAD 59 et Kanz (1712) et un groupe de 3 variétés d'orge Asni (1579), Tissa (1580) et Tamelalt (1703)). Aucune association n'a été remarquée entre l'orge et le blé. Aussi, la variété de triticale tend, toujours, à s'associer avec les variétés de blé, plutôt qu'avec celles de l'orge. Ainsi, à l'exception de la variété tunisienne de blé dur, « Karim », s'associant avec des variétés marocaines, tous les cultivars de blé dur d'origine étrangère sont complètement identifiées et ne se regroupent plus avec les variétés originaires du Maghreb.

Tableau 2. Phénotypes isoenzymatiques des peroxydases (POX), leucine aminopeptidase (LAP), glutamate oxaloacétate transaminase (GOT), estérases (EST), phosphatases acides (ACP) et endopeptidases (ENP) des feuilles et des racines (pour POX) de 7, 12, 1 et 4 variétés de blé tendre, blé dur, triticale et orge, respectivement

Espèce	Variété	Enzymes					
		POX	LAP	GOT	EST	ACP	ENP
Blé tendre	1735	A	A	C	B	B	A
	Achtar (1723)	A	B	A	B	A	B
	ACSAD 59	A	B	A	B	A	B
	Khair (1725)	A	B	A	B	A	A
	Saba (1710)	A	A	A	B	A	B
	Kanz (1712)	A	B	A	B	A	B
	Marchouch 8	A	C	A	A	C	B

Tableau 2. Suite

Blé dur	Tansift (1727)	A	A	A	B	A	E
	Marzak (E II 12)	A	A	C	B	A	E
	Jori	A	A	C	B	B	E
	Sarif (1726)	A	A	D	B	B	D
	Cocorit (1656)	A	A	C	B	B	C
	Oum Rabia (1718)	A	A	A	B	B	E
	Isly (E 15)	A	A	A	B	A	E
	Karim (Bittern S')	A	A	A	B	B	E
	ACSAD 65 (Stork)	A	A	A	B	B	C
	Kyperounda (2777)	A	A	A	B	C	E
	Sebou (1715)	A	A	A	B	B	E
	Massa (1728)	A	A	A	B	B	E
Orge	Rabat (071)	B	A	B	C	E	F
	Asni (1579)	B	A	B	D	D	G
	Tissa (1580)	B	A	B	D	D	G
	Tamelalt (1703)	B	A	B	D	D	G
Triticale	Juanillio	A	A	C	E	B	H

Fig. 3. Phénotypes électrophorétiques (A-H) des endopeptidases (ENP), leucine aminopeptidase (LAP), peroxydases (POX), estérases (EST), phosphatases acides (ACP) et glutamate oxaloacétate transaminase (GOT), obtenus par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (10 %) d'extraits de feuilles et de racines (pour POX) des différentes variétés de céréales. La migration des isoformes est indiquée par leurs mobilités relatives (R.).

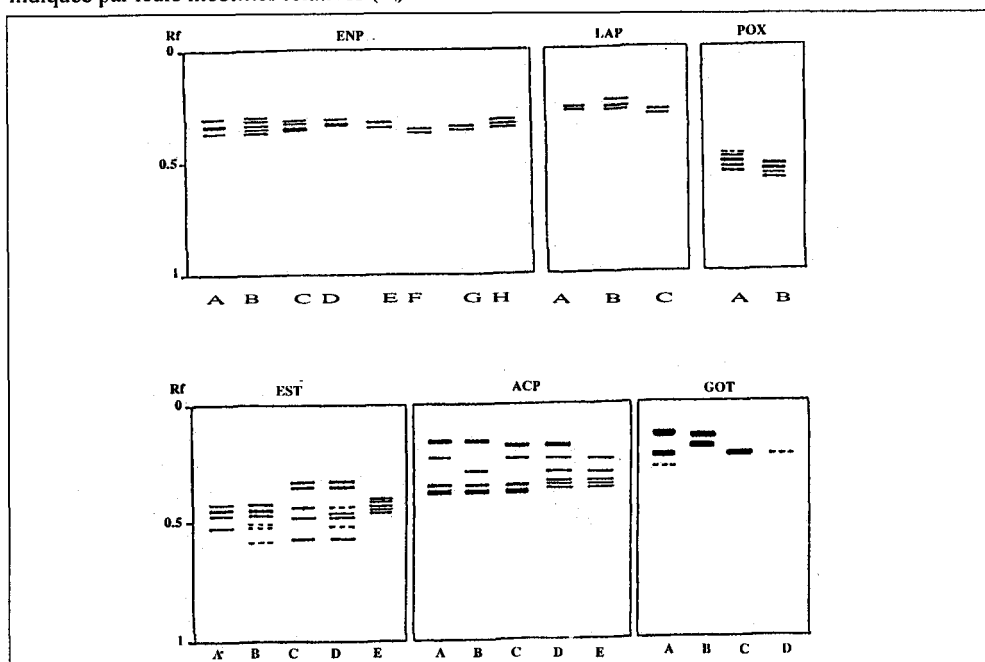
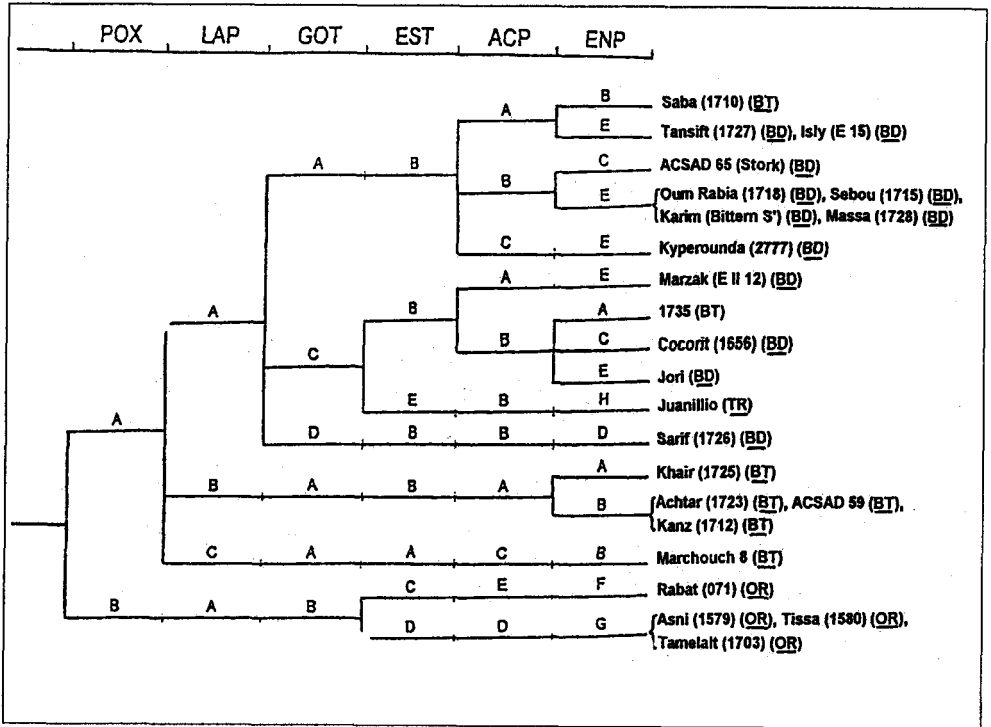


Fig. 4. Clef d'identification de 24 variétés de céréales, établie sur la base des phénotypes isoenzymatiques (A-H) des peroxydases (POX), leucine aminopeptidase (LAP), glutamate oxaloacétate transaminase (GOT), estérases (EST), phosphatases acides (ACP) et endopeptidases (ENP), révélés après électrophorèse sur gel de polyacrylamide (10 %) d'extraits de feuilles et de racines (pour POX) des variétés de blé tendre (BT), blé dur (BD), orge (OR) et triticale (TR).



Discussion

La variabilité enzymatique montrée par les 24 variétés de céréales permet de faire une première comparaison entre les espèces de céréales. En raison de leur fonction catalytique, les enzymes possèdent plusieurs isoformes, selon l'activité métabolique de chaque espèce et variété. L'absence de variation intravariétale est due à l'uniformité des variétés sélectionnées. La clé d'identification variétale a permis d'identifier 50 % des variétés étudiées avec une séparation des espèces, à l'exception de 2 blés tendres (variétés 1735 et Saba (1723) qui se rapprochent des blés durs. Des résultats similaires, découlant de comparaisons isoenzymatiques, ont été trouvés pour le sorgho (Ollitrault *et al.* 1989) et d'autres plantes, comme le fraisier (Nehra *et al.* 1991). Les variétés qui ne peuvent être différenciées constituent souvent des groupes d'affinité. Dans cette étude, la variété de blé dur « Karim », d'origine tunisienne, est liée aux variétés marocaines ; « Oum Rabia », « Sebou » et « Massa ». Aussi, la variété de blé tendre « ACSAD 59 », d'origine étrangère, reste associée aux variétés « Achtar » et « Kanz », toutes, d'origine marocaine. A l'exception de cette association de la variété ACSAD avec les 2 va-

riétés marocaines de blé tendre, il paraît que l'origine de la variété de céréale est déterminante dans la différenciation variétale. Ainsi, pour le blé dur, les variétés de CIMMYT, ACSAD et Chypre présentent des différences isoenzymatiques par rapport aux variétés marocaines. Ces variations qui reflètent des différences métaboliques pourraient traduire des adaptations culturelles différentes. Ainsi, il a été montré chez *Helianthus annuus*, la présence d'allozymes caractéristiques des génotypes de même origine (Quillet *et al.* 1992 ; Tersac *et al.* 1994). D'autres liens entre la variabilité enzymatique et l'origine géographique ont été décrits chez d'autres plantes (Wolf et Campbell 1995). Parmi les 4 variétés d'orge étudiées, seule, la variété locale « Rabat 071 », inscrite en 1956, se distingue du groupe formé par les variétés d'orge « Asni », « Tissa » et « Tamelalt », toutes, inscrites en 1984. Concernant l'orge, Gebre *et al.* (1986), étudiant les hordeines, ont montré la formation de groupe de variétés, ce qui les a amené à suggérer la présence d'identité parentale. L'examen des pedigrees de l'ensemble des variétés de céréales serait d'un grand apport dans l'interprétation de la variabilité révélée par électrophorèse.

L'utilisation des isoenzymes dans la caractérisation variétale présente plusieurs avantages. Ainsi, elle permet une identification précoce, dès les premiers stades végétatifs, bien avant la formation des grains qui constituent le site de stockage des protéines de réserves, souvent utilisées dans l'étiquetage variétal (Boujnah et Bakhella 1992 ; Bakhella *et al.* 1992 ; Tilley *et al.* 1993). La méthode isoenzymatique, n'utilisant que de petits morceaux de feuilles, est non destructive et plus économique. En plus, l'extraction des enzymes est plus simple et rapide par rapport à celle des protéines de réserves qui nécessite l'utilisation de solvants coûteux.

Conclusion

Cette étude préliminaire sur 24 variétés de céréales a permis de révéler, au niveau des systèmes foliaire et racinaire, un polymorphisme enzymatique qui peut être exploité, d'une part, dans l'identification variétale de manière précoce et non destructive et, d'autre part, dans la recherche d'associations entre les marqueurs enzymatiques et plusieurs caractéristiques agronomiques.

Remerciements

Ce travail est réalisé avec la contribution financière du Cncprest. Nous remercions le Centre régional de la recherche agronomique de l'Inra à Settat pour l'appui apporté lors de la réalisation de ce travail.

Références bibliographiques

- Aouad A. (1993). Contribution à l'étude du polymorphisme protéique et enzymatique de quelques variétés de céréales cultivées au Maroc. Certificat d'études approfondies, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- Bakhella M., Lookhart G.L. et Hosney R.C. (1992). L'utilisation de l'électrophorèse et de la chromatographie liquide à haute pression dans l'identification des variétés de blé. *Al awamia*, **75** : 63-91.
- Bendiab K. (1992). Contribution à l'étude de la variabilité enzymatique et protéique chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Apport dans l'amélioration génétique de la plante. Diplôme d'études supérieures, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- Bendiab K., Baaziz M., Brakez Z. et Sedra My H. (1993). Correlation of isozyme polymorphism and Bayoud-disease resistance in date palm cultivars and progeny. *Euphytica*, **65**: 23-32.
- Boujnah M. et Bakhella M. (1992). Identification des variétés marocaines de blé par électrophorèse des gliadines. *Al awamia*, **78** : 3-28.
- Gebre H., Khan K. et Forster A.E. (1986). Barley cultivar identification by polyacrylamide gel electrophoresis of hordein proteins : Catalog of cultivars. *Crop Sci.* **26**: 454-460.
- Lallemand J. et Briand F. (1990). Identification variétale des orges par électrophorèse. Description de 280 variétés. *Agronomie*, **6** : 447-450.
- Lucotte G. (1983). *Génétique des populations, initiation théorique et biochimique à l'étude du polymorphisme*. Inter Editions, Paris.
- Nehra N., Karatha K.K. et Stushnoff C. (1991). Isozymes as marker for identification of tissue culture and green house-grown strawberry cultivars. *Can. J. Plant Sci.* **71**: 1195-1201.
- Ollitraud P., Arnaud M. et Chantereau J. (1989). Polymorphisme enzymatique des sorghos. II - Organisation génétique et évolutive des sorghos cultivés. *Agronomie tropicale*, **44** : 211-222.
- Ollitraud P. et Noyer J.L. (1990). Polymorphisme enzymatique des sorghos. II. Identification et classification des variétés améliorées de l'Irat. *Agronomie*, **45** : 59-65.
- Quillet M.C., Vear F. et Branlard G. (1992). The use of isozyme polymorphism for identification of sunflower (*Helianthus annuus*) inbred lines. *J. Genet. Breed.* **46**: 295-304.
- Ramirez L. et Pisabarro G. (1985). Isozyme electrophoretic patterns as a tool to characterize and classify rye (*Secale cereale L.*) seed samples. *Euphytica*, **34**: 793-799.
- Roininen J., Nissila E., Puolimatka M. et Pulli S. (1992). Identification of barley cultivars using SDS-PAGE electrophoresis. *Agric.Sci.Finl.* **1**: 73-81.
- Tersac M., Blanchard P., Brunel D. et Vincourt P. (1994). Relations between heterosis and enzymatic polymorphism in populations of cultivated sunflowers (*Helianthus annuus L.*). *Theor. Appl. Genet.* **88**: 49-55.
- Tilley K.A., Lookhart G.L., Hosney R.C. et Mawhinney T.P. (1993). Evidence for glycosylation of high molecular weight glutenin subunits 2, 7, 8, and 12 from chinese spring and TAM 105 wheats. *Cereal Chem.* **70**: 602-606.
- Vallejos C.E. et Chase C.D. (1991). Linkage between isozyme markers and a locus affecting seed size in *Phaseolus vulgaris L.*. *Theor. Appl. Genet.* **81**: 413-419.
- Wolf P.G. et Campbell D.R. (1995). Hierarchical analysis of allozymic and morphometric variation in a montane herb, *Ipomopsis aggregata (Polemoniaceae)*. *J. Hered.* **86**: 386-394.