

LA PHOSPHOGLUCOISOMERASE ET LA MALATE DESHYDROGENASE : DEUX NOUVEAUX SYSTEMES ENZYMATIQUES POLYMORPHES CHEZ L'OIGNON

A. ROUAMBA¹ et A. RICROCH²

¹Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA - Station de Farako-bâ
01 BP 910 Bobo-Dioulasso 01 Burkina Faso

²Université Paris-Sud XI, CNRS UPRES-A 8079, Laboratoire Ecologie, Systématique, Evolution, Bât. 362
91405 Orsay Cedex, France

RESUME

Le nombre de systèmes enzymatiques polymorphes chez l'oignon est très limité. Les études antérieures ont montré que seuls quatre enzymes : l'alcool déshydrogénase (ADH EC.1.1.1.1), la 6-phosphogluconate déshydrogénase (6-PGD EC.1.1.1.43), l'enzyme malique (ME EC.1.1.1.40) et l'estérase (EST EC.3.1.1.1) sont polymorphes. Ce faible niveau de systèmes enzymatiques polymorphes rend plus difficile l'analyse de la diversité génétique des populations d'oignon en vue de la sélection au moyen des marqueurs iso enzymatiques. Dans le but d'accroître le nombre de systèmes enzymatiques polymorphes chez cette espèce, les investigations ont porté sur les enzymes phosphoglucoisomérase (PGI EC.5.3.1.9) et malate déshydrogénase (MDH EC.1.1.1.37), dont la structure et l'hérédité sont controversées. Nous avons obtenu des zymogrammes reproductibles et interprétables. La phosphoglucoisomérase (PGI) a une structure dimérique et est codée par un locus (PGIA), avec trois allèles tandis que la malate déshydrogénase (MDH) est codée par trois loci (A, B et C). Les loci A et B seraient monomorphes et le locus C serait polymorphe. Ces résultats ont porté à six le nombre de systèmes enzymatiques polymorphes (ADH, 6PGD, ME, EST, PGI et MDH).

Mots-Clés : Oignon, *Allium cepa* L., polymorphisme enzymatique, structure, hérédité, Burkina Faso.

ABSTRACT

PHOSPHOGLUCOISOMERASE AND MALATE DEHYDROGENASE : TWO NEW POLYMORPHIC ENZYME SYSTEMS IN ONION

The number of polymorphic enzyme systems of onion is very limited. Previous studies showed that only four enzymes, alcohol dehydrogenase (ADH EC 1.1.1.1), 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD EC 1.1.1.43), malic enzyme (ME EC.1.1.1.40) and esterase (EST EC.3.1.1.1) are polymorphic. This little variation of polymorphic enzyme systems of onion makes the selection, using iso enzymatic markers, of onion local populations, more difficult. In order to increase the number of polymorphic systems, studies were conducted on Phosphoglucoisomerase (PGI EC 5.3.1.9) and Malate dehydrogenase (MDH), whose structure and inheritance were not agreed upon. Reproductive and interpretable zymograms (PGI and MDH) were obtained. PGI is a dimeric enzyme and is encoded by a single locus (PGIA), with three alleles. MDH is a dimeric enzyme and is encoded by three loci (A, B and C). A and B loci are monomorphic, as opposed to locus C, which is polymorphic. These results brought the number of polymorphic enzyme systems up to 6 (ADH, 6PGD, ME, EST, PGI and MDH).

Key-words : Onion, *Allium cepa* L., enzyme polymorphism, structure, inheritance, Burkina Faso.

INTRODUCTION

L'évaluation de la variabilité au sein des populations végétales sur la base des caractères agro-morphologiques est l'approche la plus répandue, compte tenu de son accessibilité. Néanmoins, l'hérédité souvent complexe des caractères étudiés et les interactions entre le génotype et le milieu restreignent le niveau d'appréciation de la diversité.

Depuis quelques années, le développement de nouvelles techniques de marquage moléculaire basées sur le principe de l'électrophorèse a permis d'étudier la variabilité au niveau moléculaire : les marqueurs iso enzymatiques permettent de révéler le polymorphisme au niveau des protéines enzymatiques (Lewontin et Hubby, 1989) ; les marqueurs RFLP et les RAPD permettent de révéler le polymorphisme au niveau de l'ADN (Helentjaris *et al.*, 1985). Cependant, il faut rappeler que les deux types de marqueurs (phénotypiques et isozymiques) se complètent pour une meilleure description du phénotype des variétés.

D'une manière générale, l'analyse du polymorphisme enzymatique du genre *Allium* a été très peu exploré. Durant nos investigations, l'ensemble de ces systèmes enzymatiques peut être réparti en trois groupes :

- les systèmes dont la structure et l'hérédité sont connues : La 6-phosphogluconate déshydrogénase (6-PGD) est codée par deux loci. Le locus le plus près de l'anode est monomérique et celui du côté de la cathode est dimérique avec deux allèles (Peffley, communication personnelle). L'alcool déshydrogénase (ADH) est codée par un locus et seulement deux allèles ont été identifiés jusqu'à présent (Peffley *et al.*, 1985 ; Peffley et Orozco, 1987 ; Loaiza-Figuera et Weeden, 1990). L'enzyme malique (ME EC 1.1.1.40) et l'estérase (Est EC 3.1.1.1.) sont codés chacun par un locus et présentent trois allèles (Loaiza-Figuera et Weeden, 1990) ;

- les systèmes dont la structure et l'hérédité ne sont pas encore connues : La glutamique-oxalotransaminase (GOT EC 2.6.1.1.), la phosphatase acide (PAC EC 3.1.3.2) et la catalase (CAT EC 1.11.1.6). Des hypothèses sur l'hérédité de ces enzymes ont été émises (Peffley et Orozco, 1987 ; Loaiza-Figuera et Weeden, 1990). La glutamique-oxalo-

transaminase (GOT) serait codée par deux loci. Le locus ayant le niveau de migration le plus bas serait polymorphe, avec trois allèles identifiés. L'autre locus est monomorphe; la phosphatase acide (PAC) serait codée par deux locus. Le locus ayant le niveau de migration le plus bas serait polymorphe. Sept allèles ont été trouvés. Le second locus serait monomorphe; la catalase (CAT) serait codée par un locus, avec trois allèles identifiés. Des schémas de croisements entre individus présentant des zymogrammes différents (AF, F1, F2, BC) ont donc été proposés en vue de tester ces hypothèses (Ricoch, 1990) ;

- les systèmes dont la structure et l'hérédité sont controversées : La phosphoglucoisomérase (PGI) serait codée par 2 loci, avec respectivement 2 et 4 allèles identifiés (Loaiza-Figuera et Weeden, 1990 ; Peffley *et al.*, 1985) observent de nombreuses bandes résultant de modifications post-transcriptionnelles. L'enzyme aurait probablement une structure dimérique et serait codée par un locus (Peffley, communication personnelle). La malate déshydrogénase (MDH) serait codée par un locus, avec 2 allèles décrits par Loaiza-Figuera et Weeden, 1990. Par contre, Peffley *et al.*, 1985 soutiennent l'hypothèse que la malate déshydrogénase (MDH) serait codée par 2 loci avec 4 allèles, les nombreuses bandes observées seraient dues à des modifications post-transcriptionnelles.

L'objectif de cette étude est de contribuer à augmenter le nombre de systèmes enzymatiques polymorphes pour une meilleure analyse de la diversité génétique des oignons en général et des oignons de jours courts d'Afrique de l'Ouest en particulier.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL VEGETAL

Le matériel suivant a été utilisé pour l'amélioration de la technique d'extraction du système PGI et de lecture des systèmes PGI et MDH :

- trois populations parentales (P1, P2, P3) obtenues par deux autofécondations successives, leurs hybrides F1 (HF1) correspondant au croisement de P1 x P2 et P1 x P3 et leurs descendants F2. Ce matériel

végétal d'origine tempérée comprend les populations «Rouge de Brunswick»; «Blanc de Juin» et «Jaune paille des Vertus» différentes par la couleur de leurs tuniques externes et classées par ordre décroissant de précocité à la bulbification ;

- deux populations parentales (P4, P5) obtenues par deux autofécondations successives, leur hybride F1 correspondant au croisement de P4 x P5 et leurs descendants F2. Ce matériel végétal est originaire d'Afrique de l'Ouest. Il s'agit des variétés populations «Violet de Galmi» et «Blanc de Tarna» originaires du Niger. Elles diffèrent par la couleur de leurs tuniques protectrices et par leur aptitude à la conservation. Le «Violet de Galmi» est un oignon de garde, tandis que le «Blanc de Tarna» est un oignon destiné à être séché.

En ce qui concerne le conditionnement du matériel végétal, les graines ont d'abord été mises à germer dans du terreau en serre. Les plantules ont été arrosées tous les deux jours et n'ont reçu aucun traitement fongicide et insecticide. Les protéines enzymatiques ont été extraites sur les 2 à 3 premières feuilles au dessus des cotylédons des jeunes plantes âgées de 5 à 6 semaines (150 à 300 mg de feuille).

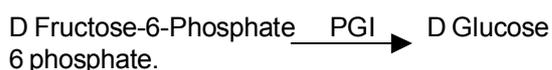
METHODES

La technique d'électrophorèse sur gel d'amidon a été utilisée dans l'étude des systèmes enzymatiques.

Systèmes enzymatiques étudiés

PGI (EC. 5. 3. 1. 9)

La phosphoglucosomérase (PGI) ou phosphohexose isomérase (PHI) ou glucosephosphate isomérase (GPI) est une enzyme dimérique qui catalyse la transformation du fructose-6-phosphate en glucose 6 phosphate selon la réaction suivante :

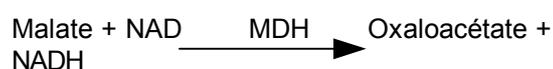


Elle est codée par deux loci dont l'un actif dans le cytoplasme et l'autre dans les chloroplastes chez le maïs (Gottlieb, 1981), également deux loci chez le sorgho (Modern *et al.*, 1989) et un locus chez le mil (Trigui, 1984, Peffley *et al.*, 1985).

Chez le genre *Allium*, elle semble être codée par un locus, avec un allèle chez *A. cepa* et *A. fistulosum* (Peffley et Orozco-Castillo, 1987). Peffley (communication personnelle) a confirmé l'existence d'un seul locus chez *A. cepa*, mais l'enzyme serait dimérique et présenterait de nombreuses modifications post-transcriptionnelles. Loaiza-Figuera et Weeden (1990) ont montré que l'enzyme est plutôt codée par 2 loci, avec 2 à 4 allèles.

MDH (EC. 1.1.1.37)

La malate déshydrogénase est une enzyme dimérique du cycle de Krebs qui catalyse la réaction suivante:



Dans les cellules du maïs, les formes cytosoliques sont codées par deux loci, les formes mitochondriales par 3 loci (Newton et Schwartz, 1980). L'acide ascorbique inhibe préférentiellement les formes du cytosol (Goodman *et al.*, 1980).

Chez l'oignon, elle est codée par un locus à deux allèles (Loaiza-Figuera et Weeden, 1990) et Peffley (communication personnelle).

Techniques d'électrophorèse

Extraction et migration des protéines

Les fragments de feuilles ont été broyées dans 150 à 200 µl de tampon d'extraction (Tableaux 1 et 2), sur une plaque réfrigérée ou dans une chambre froide (0° à 5 °C). Le broyage a été facilité par l'addition de quelques milligrammes de sable de Fontainebleau. Chaque extrait a été ensuite recueilli dans un micro tube de 1,5 ml et centrifugé pendant 10 mn à 10000 tours/mn. Le surnageant a été récupéré pour l'étude des allozymes.

Les procédures et la composition des tampons d'extraction et de migration, inspirées par les travaux de Goodman *et al.* (1980), Shields *et al.* (1983), Trigui *et al.* (1986), sont présentées dans les tableaux 1 et 2. La révélation des isozymes a été faite selon les méthodes de Peffley *et al.* (1985) et de Ricoch (1990), avec quelques modifications portant essentiellement sur l'extraction de PGI. Pour l'extraction de cet enzyme, les feuilles, ont été trempées dans de l'azote liquide à - 196 °C avant d'être broyées. Un nombre d'individus entre 24 et 48 ont été analysés par population et par système enzymatique.

Tableau 1 : Procédures d'extraction et de migration des protéines.*Protein migration and extraction procedures.*

Systèmes enzymatiques analysés	Organe prélevé	Type de tampon d'extraction	Lieu d'extraction	Système de gel et pH	Temps de migration (h)
Isomérases					
PGI	Feuille	TEa	PR+Azote liquide à -196°C	Hist pH 5,7	8
Oxydo-réductases					
MDH	Feuille	TEg	PR	Hist pH 6,5	5 à 6

TEg = Tampon d'extraction à base de glutathion (Tableau 2) / Extraction tampon from glutathion (Table 2)

TEa = Tampon d'extraction à base d'acide ascorbique (Tableau 2) / Extraction tampon from ascorbic acid (Table 2)

PR = Paillasse Réfrigérée / Refrigerated palliasse

Hist = Histidine / Histidin

Tableau 2 : Conditions d'extraction, de migration des enzymes PGI et MDH.*PGI, MDH enzymes migration and extraction conditions.*

Tampons d'extraction				
PGI			MDH	
0,1 M Tris HCl	605,7mg		0,1 Tris HCl	
10 µM KCl	37,27 mg		Glutathion	
0,1µM MgCl ₂	1 mg			
14 µM β-mercapto-éthanol	50 l		Ajusté à pH 7-7,5 avec NaOH	
1 µM EDTA	18,6 mg			
0,1 M acide ascorbique	281,5 mg			
0,2 g/l PVPP	10 g			
H ₂ O	50 ml			
(Broyage après trempage de la matière fraîche dans l'azote liquide environ 1 minute à -196°C)				
Tampons de migration (Gel)				
PGI			MDH	
L-Histidine	10,88 g/l		L-Histidine	
A. citrique	4,12 g/l		Acide citrique	
Ajusté à pH 5,7 avec acide citrique			Ajusté à pH 6,5 avec acide citrique	
Tampons de migration (Bac)				
PGI			MDH (pH 6,5)	
0,009 M L-Histidine			0,016 M L-Histidine	
0,003M a. citrique			0,002 M acide Citrique	
Proportion 1 : 6			Proportion 1 : 3	
Conditions de migrations				
PGI			MDH	
	Jour	nuit	jour	
Puissance :	19,2 w	6 w	Puissance :	
Intensité :	60 A	30 A	Intensité :	
Voltage :	320 V	180 V	Voltage :	
Temps :	8 H	16 H	Temps :	

PGI : Phosphoglucosomérase MDH : Malate deshydrogénase

Codage des allèles

Le codage des isozymes a été effectué selon la procédure suivante :

- les différents locus d'un système enzymatique donné portent tous le nom abrégé de ce système, auquel on ajoute une lettre de l'alphabet. La lettre A désigne le locus le plus proche de la cathode, la lettre Z celui situé le plus près de l'anode. Par exemple, le système enzymatique malate déshydrogénase s'écrit MDH. S'il comporte deux loci, on écrit MDHA et MDHB. MDHA désigne le locus dans la zone de faible migration et MDHB le locus dans la zone de forte migration ;

- les différents allèles d'un même locus portent le nom de ce locus (exemple MDHA) auquel on affecte un chiffre allant de 1 à n. Le chiffre permet d'identifier l'allèle dans ce locus. Par exemple, si le locus MDHA comporte deux allèles, l'allèle le plus près de la cathode prend le chiffre 1. Tandis que l'allèle le plus près de l'anode prend le chiffre 2 (MDHA1 et MDHA2).

RESULTATS

STRUCTURE ET HEREDITE DU SYSTEME PGI

Le profil de la phosphoglucoisomérase (PGI) obtenu avec le tampon à base de glutathion tel que préconisé par Peffley *et al.* (1985) est

présenté sur la figure 1a. De nombreuses bandes sont observées chez les homozygotes et les hétérozygotes. Par contre, lorsque les allèles des protéines extraites migrent dans les conditions expérimentales décrites dans le tableau 2, une réduction importante du nombre de bandes et une meilleure séparation des isozymes (Figure 1b) sont observées. On distingue une bande chez les homozygotes et trois bandes chez les hétérozygotes. L'interprétation génétique de ce système enzymatique est illustrée sur la figure 1c.

STRUCTURE ET L'HEREDITE DU SYSTEME MDH

Avec le tampon d'extraction à base de glutathion préconisé par Peffley *et al.* (1985) et utilisé pour le MDH, de nombreuses bandes non distinctes sont détectées chez les homozygotes et chez les hétérozygotes. Par contre, dans les conditions d'extraction et de migration mises au point dans cette étude (Tableau 2), des zymogrammes reproductibles de la malate déshydrogénase (MDH) ont été obtenus (Figure 2a). On observe des bandes bien distinctes permettant une bonne séparation des isozymes. L'interprétation génétique de ce système enzymatique est donnée par les figures 2b et 2c.

Le tableau 3 ci-après récapitule les résultats obtenus sur la structure et l'hérédité des deux systèmes enzymatiques étudiés (PGI et MDH).

Tableau 3 : Structure et hérédité des deux systèmes enzymatiques (PGI et MDH) chez l'oignon.

Structure and inheritance of two enzymatic systems (PGI and MDH) in onion.

Systèmes enzymatiques	Structure	Hérédité	Références
PGI →	Dimérique	1 locus 3 loci	PGIA 3 allèles P MDHA 1 allèle M*
MDH →	Dimérique*	MDHB MDHC	1 allèle M* 2 allèles P*

* = Hypothèse ; P = Polymorphe ; M = Monomorphe

*= Hypothesis ; P = Polymorphic ; M = Monomorphic

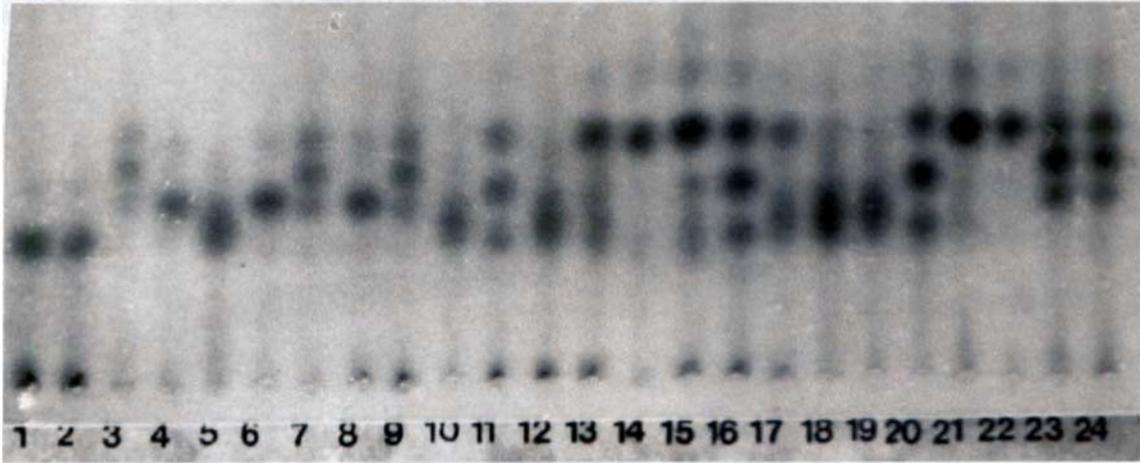


Figure 1a : Profil de la phosphoglucosomérase (PGI).

Phosphoglucosomérase (PGI) profile.

Extraction des protéines avec du glutathion
Proteins' extraction with glutathion.

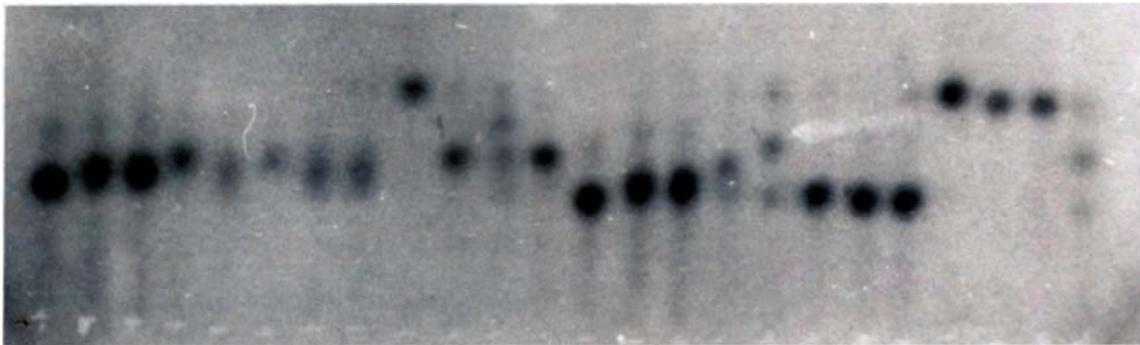


Figure 1b : Profil de la phosphoglucosomérase (PGI).

Phosphoglucosomérase (PGI) profile.

Extraction des protéines avec acide ascorbique + azote liquide.
Proteins' extraction with ascorbic acid and liquid nitrogen.

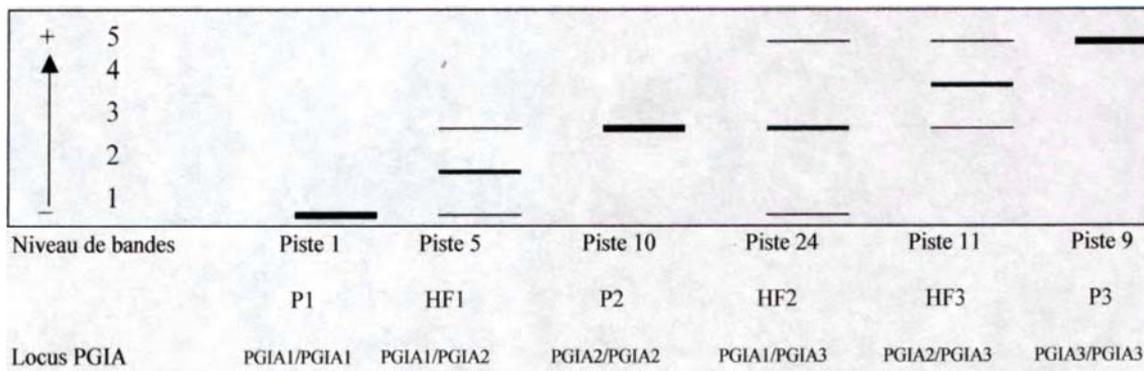


Figure 1c : Interprétation génétique du système PGI.

Genetic interpretation of PGI system.

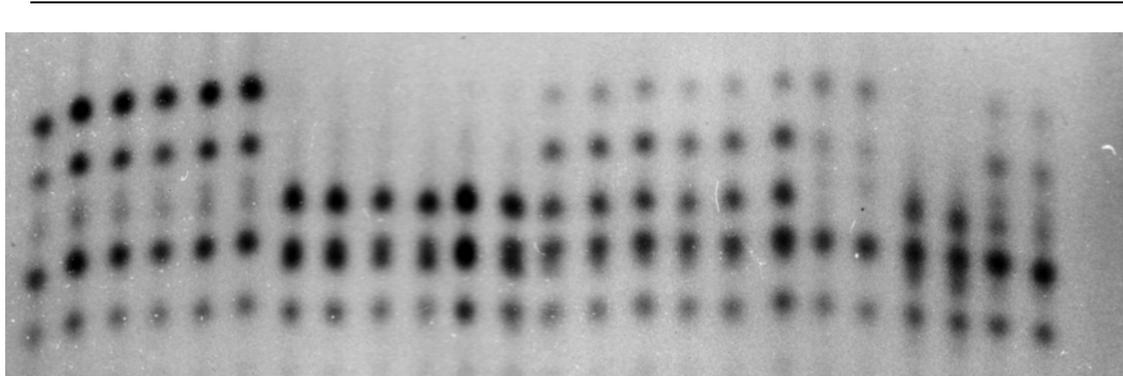


Figure 2a : Profil de la malate deshydrogénase (MDH)

Profile of malate deshydrogenase (MDH).

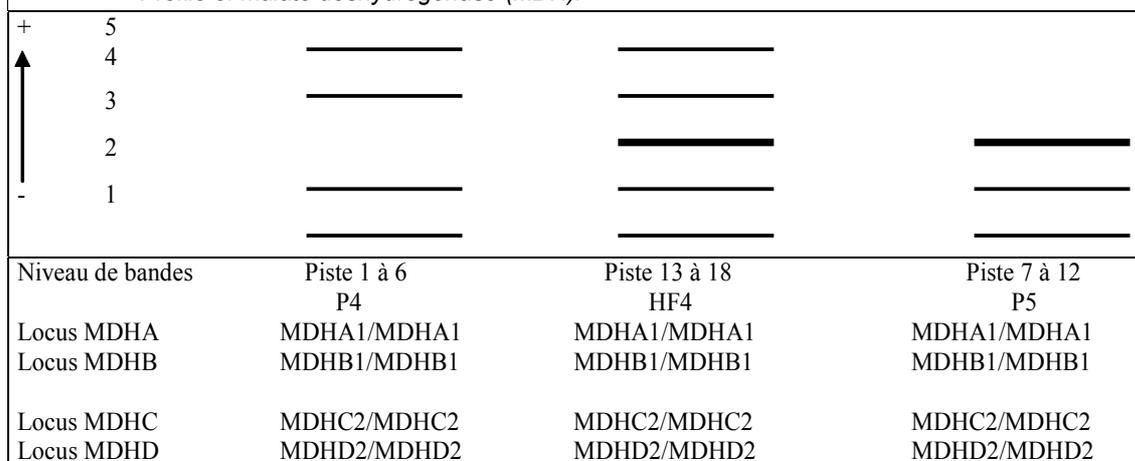


Figure 2b : Interprétation génétique du système MDH avec l'hypothèse de trois loci.

Genetic interpretation of MDH system on the basis of three loci hypothesis.

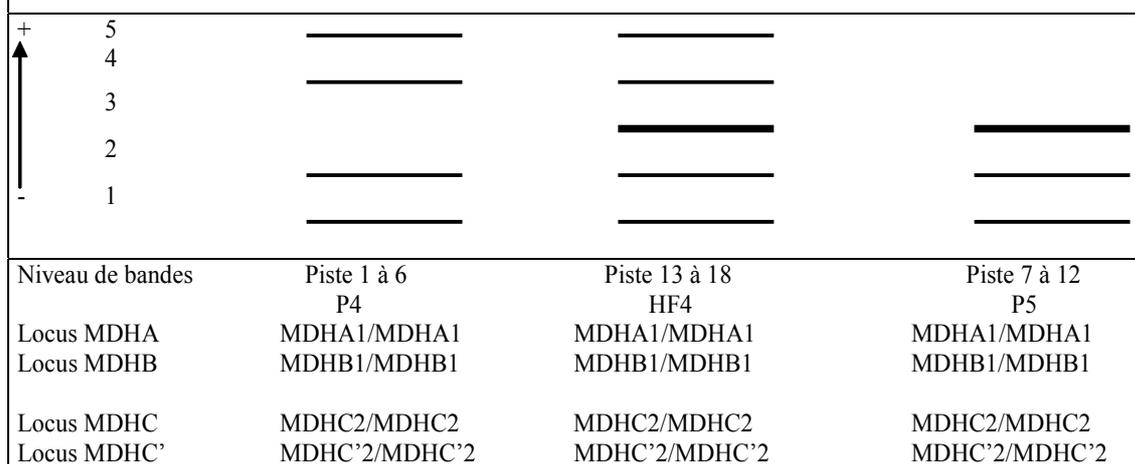


Figure 2c : Interprétation génétique du système MDH avec l'hypothèse de trois loci (duplication du locus MDHC en MDHC').

Genetic interpretation of MDH system on the basis of three loci hypothesis (duplication of MDHC locus in MDHC').

DISCUSSION

STRUCTURE ET L'HEREDITE DU SYSTEME PGI

L'extraction des protéines avec le tampon à base du glutathion préconisé par Peffley *et al.* (1985) a permis d'obtenir de nombreuses bandes chez les homozygotes et chez les hétérozygotes (Figure 1a). Grâce à l'amélioration de la technique d'extraction décrite ci-dessus, une réduction du nombre de bandes et une meilleure séparation des isozymes ont été observées (Figure 1b). Les nombreuses bandes correspondraient probablement à des modifications post-transcriptionnelles et seraient conformes aux résultats de Peffley *et al.* (1985). Quelques dégradations ont cependant été visibles, mais n'ont pas altéré pas la qualité des zymogrammes, ce qui permet de confirmer le génotype des populations parentales.

L'analyse du zymogramme du PGI a permis de proposer l'interprétation génétique suivante : trois niveaux de bandes (un, trois et six), sont observables sur le profil de la PGI correspondant aux allèles PGIA1, PGIA2 et PGIA3. Les interactions entre allèles sont représentées par les niveaux 2, 4 et 5. Le parent P1 homozygote PGIA1/PGIA1 (piste 1) et le parent P3 homozygote PGIA3/PGIA3, (piste 9), ont donné, par croisement, l'hybride HF2 PGIA1/PGIA3 (piste 24) montrant 3 niveaux de bandes dont la bande du milieu est équidistante des deux extrêmes. De plus, elle montre une coloration plus intense traduisant une interaction entre les allèles PGIA1 et PGIA3. Suivant la même démarche, on montre que l'hybride HF1 PGIA1/PGIA2 (piste 5), est le produit de croisement entre les lignées P1 (piste 1) et P2 (piste 10), alors que l'hybride HF3 PGIA2/PGIA3 (piste 11) porte les bandes parentales P2 (piste 10) et P3 (piste 9). Cependant, on remarque que les 3 bandes de l'hybride F1 HF1 (pistes 5, 7 et 8), n'ont pas été bien distinctes.

Sur le zymogramme de la PGI, on distingue un locus avec 3 allèles permettant ainsi de reconstituer les génotypes des individus homozygotes et hétérozygotes dans la population. L'analyse des descendance F1 et F2 montre que PGI est bien une enzyme dimérique codée par un locus (Figure 1b) avec trois allèles (PGIA1, PGIA2 et PGIA3). Les résultats de Peffley (communication personnelle)

et de Loaiza-Figuera et Weeden (1990) n'ont pas été confirmés. Les zymogrammes de la phosphoglucosomérase obtenus avec les populations locales d'oignon d'Afrique de l'Ouest, s'ajustent aux interprétations génétiques proposées sur les populations parentales et leurs hybrides F1 et F2.

LA STRUCTURE ET L'HEREDITE DU SYSTEME MDH

Dans les conditions d'extraction et de migration décrites dans le tableau 2, des zymogrammes reproductibles de la malate déshydrogénase (MDH) et une bonne séparation des isozymes (Figure 2a) ont été obtenues. L'analyse des zymogrammes de MDH a permis ainsi de proposer l'interprétation génétique suivante :

Le parent P4 (piste 1) donne 4 bandes aux niveaux un, 2, 4 et 5. Aucune bande interprétable comme étant le produit d'une interaction n'a été détectée, ce qui permet d'admettre l'hypothèse de 4 loci (A, B, C et D). Le parent P5 (piste 7) donne 3 bandes de niveaux un, 2 et 3 correspondant aux loci MDHA, MDHB-MDHC (confondus) et MDHD. La forte coloration de la 2^e bande traduirait probablement un dédoublement des loci MDHB et MDHC. P4 (piste 1) et P5 (piste 7), étant deux lignées homozygotes. Les loci MDHA et MDHB ont été identiques dans P4 et P5, alors que les loci MDHC et MDHD ont été différents. Ils ont donné par croisement un hybride F1 HF4 (piste 13) à 5 niveaux de bandes correspondant aux loci MDHA, MDHB, MDHC et MDHD (Figure 2b) :

- le niveau un : locus MDHA monomorphe ;
- le niveau deux : superposition du locus MDHB monomorphe et de l'allèle MDHC1 du locus MDHC (P5) ;
- le niveau trois : superposition de l'allèle MDHD1 du locus MDHD (P5) et de l'interaction MDHC1 et MDHC2 ;
- le niveau quatre : superposition de l'allèle MDHC2 du locus MDHC (P4) et de l'interaction MDHD1 et MDHD2 ;
- le niveau cinq : l'allèle MDHD2 du locus MDHD (P4).

Au niveau des hybrides F1, la détermination des génotypes reste problématique. En effet, on observe pour tous les individus F1, le même zymogramme. Ceci n'est pas compatible avec

l'hypothèse initiale : enzyme dimérique codée par quatre loci présentant six allèles. L'hypothèse alternative proposée est la suivante : la malate déshydrogénase serait codée par 3 loci avec 4 allèles. Les deux premiers (MDHA et MDHB) seraient monomorphes, le 3^e, (MDHC) polymorphe (Figure 2b) se serait dupliqué en MDHC' (Figure 2c). Les génotypes, reconstitués à partir du zymogramme de la malate déshydrogénase, (MDH) a permis de distinguer les homozygotes de 3 à 4 bandes et les hétérozygotes à 5 bandes. Cette interprétation reste tout de même en désaccord avec les hypothèses de Peffley *et al.* (1985), Loaiza-figuera et Weeden (1990) et de Peffley (communication personnelle).

L'interprétation génétique, montre que la malate déshydrogénase (MDH) est une enzyme dimérique codée par 3 loci dont deux monomorphes et un polymorphe. On dénombre 4 allèles (MDHA1, MDHB1, MDHC2 et MDHC'2). Cette interprétation est en désaccord avec les hypothèses de Peffley *et al.* (1985), Loaiza-Figuera et Weeden (1990), et de Peffley (communication personnelle).

CONCLUSION

Ce travail a permis de proposer un schéma d'interprétation cohérent de la structure et de l'hérédité des systèmes enzymatiques PGI et MDH, grâce à une amélioration de la technique d'extraction et de révélation. PGI constitue, grâce à cette étude, un système enzymatique utilisable pour les analyses électrophorétiques chez le genre *Allium* dont la structure et le déterminisme génétique ont été établis. En effet l'enzyme, dimérique, est codé par un locus à trois allèles. L'hypothèse émise sur la structure

et l'hérédité du système MDH pour l'analyse de la variabilité inter et intra population d'oignon est basée sur MDH, une enzyme dimérique codée par 3 loci à 4 allèles. Ces résultats ont porté à 6 le nombre de systèmes enzymatiques polymorphes chez le genre *Allium* (ADH, 6PGD, EST, ME, PGI et MDH) et permettent d'entreprendre une analyse plus approfondie de la diversité génétique chez l'oignon.

REFERENCES

- Goodman (M. M.), Stuber (C.W.), Lee (C. N.) and (F. M.) Johson. 1980. Genetic control of malate dehydrogenase isozymes in maize. *Genetics*, 94 : 153 - 168.
- Gottlieb (L. D.). 1981. Electrophoretic evidence and plant populations. *Progress in Phytochemistry*, 7 : 1 - 46.
- Helentjaris (T.), King (G.), Slocum (M.), Siedenstrang (C.) and (S.) Wegmans. 1985. Restriction fragment length polymorphism as probes for plant diversity and their development as tools for applied plant breeding. *Plant. Mol. Biol*, 5 : 109 - 118.
- Lewontin (R. C.) and (J. L.) Hubby. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54 : 595 - 609.
- Loaiza-Figuera (F.) and (N. F.) Weeden. 1990. Effects of seed increase procedures on isozyme polymorphism in *Allium*. In : FAO/IBPGR, Plant Genetic Resources. Newsletter, 83/84 : 1 - 3.
- Modern (C.W), (J. F.) Doebley and (K. F.) Schertz. 1989. Allozyme variation in old world races of *Sorghum bicolor* (Poaceae). *Amer. J. Bot*, 76 (2) : 247 - 255.

- Newton (K. J.) and (D.) Schwartz. 1980. Genetic basis of the major malate dehydrogenase isozymes in maize. *Genetics*, 95 : 425 - 442.
- Peffley (E. B.), (J. N.) Corgan, (K. E.) Horak and (S. D.) Tanksley. 1985. Electrophoretic analysis of *Allium* additional lines. *Theor. Appl. Genet*, 71 : 176 - 184.
- Peffley (E. B.) and (C.) Orozco-Castillo. 1987. Polymorphism of isozymes within plant introductions of *Allium cepa* L. and *A. fistulosum* L. *Hort-Science*, 22, 956 - 957.
- Peffley (E. B.) and (L.) Currah. 1988. Genomic localization of isozyme loci in *Allium fistulosum*. In *Eucarpia 4th Allium Symposium*, Wellesbourne, 79 - 84.
- Ricroch (A.). 1990. Evaluation des ressources génétique de populations locales d'*Allium cepa* L. et analyse de la bulbification en conditions naturelles et contrôlées. Thèse présentée à l'université de Paris-XI, Orsay en vue de l'obtention du diplôme de grade de Docteur en Sciences, 79 p.
- Shields (C. R), Orton (T. J.) and Stuber (C. W.). 1983. An outline of general resource needs and procedures for the electrophoretic separation of active enzymes from plant tissue. in : *T : Isozymes in Plant Genetics and Breeding*, edited by S. D Tanksley and T. J Orton. Part A. Elsevier, Amsterdam, 443 - 468.
- Trigui (N.), Sandmeier (M.), Salanoubat (M.) et (J.) Pernes. 1986. Utilisation des données enzymatiques et morphologiques pour l'étude des populations et de la domestication des plantes : I. Séparation et identification génétique d'isozymes chez le mil (*Pennisetum typhoides* Burm. Stapf et Hubb). *Agronomie* 6 : 779 - 788.