



HAL
open science

Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge II. Caractères particuliers liés à l'état homozygote ou hétérozygote

Louis Roux, Yvette Roux

► **To cite this version:**

Louis Roux, Yvette Roux. Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge II. Caractères particuliers liés à l'état homozygote ou hétérozygote. *Agronomie*, 1983, 3 (1), pp.57-66. <hal-00884485>

HAL Id: hal-00884485

<https://hal.science/hal-00884485v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge

II. Caractères particuliers liés à l'état homozygote ou hétérozygote

Louis ROUX & Yvette ROUX

I.N.R.A., Laboratoire d'Etude du Métabolisme intermédiaire et de Nutrition minérale, F 78000 Versailles.

RÉSUMÉ

*Asperge,
Electrofocalisation,
Isoenzymes,
Peroxydase,
Phosphatase acide,
Homozygotie,
Hétérozygotie.*

La distribution dans le feuillage des isoenzymes de la peroxydase et de la phosphatase acide a été étudiée chez les hybrides F₁ entre génotypes homozygotes et chez 2 ensembles de clones homozygotes issus par culture d'anthers de 2 clones hétérozygotes. La méthode employée a été l'électrofocalisation sur gel de polyacrylamide en gradient de pH 3,5 à 9,5 ou 4 à 6,5.

Les peroxydases cathodiques (types α et β) et les peroxydases anodiques (niveaux III et IV) s'expriment de manière indépendante ; il en est de même pour les peroxydases cathodiques (types α et β) et les phosphatases acides (types PA₂ et PA₃). A l'intérieur des isoperoxydases existent plusieurs groupes de caractères alléliques : α/β , IV₁/IV_{2ss}, III₁/III₂, I₃/I_{1ss} ; d'autre part un linkage existe entre les gènes codeurs à l'intérieur de chacun des ensembles suivants d'isoperoxydases : α_1 à α_4 , β_1 à β_4 ; IV₁ III₁, IV_{2ss} III₂. L'expression des allèles chez les hybrides est additive mais la proximité des pI des allèles fait que, dans quelques cas, certaines isoenzymes en masquent d'autres.

Ces résultats permettent de définir des critères d'homozygotie ou d'hétérozygotie applicables aux génotypes d'asperge.

SUMMARY

*Asparagus,
Electrofocusing,
Isoenzymes,
Peroxidase,
Acid phosphatase,
Homozygosis,
Heterozygosis.*

Biochemical characterization of clones and lines of asparagus. II. Distinctive characters related to homozygous or heterozygous state

Patterns of isoenzymes (peroxidase and acid phosphatase) in cladophylls have been studied in F₁ hybrids between homozygous genotypes and in 2 sets of homozygous clones obtained by anther culture from 2 heterozygous clones. The method used has been electrofocusing on polyacrylamide gel in a pH gradient of 3.5 to 9.5 or 4 to 6.5.

Cathodic peroxidases (α and β types) and anodic peroxidases of levels III and IV behaved independently ; the same applied to cathodic peroxidases (α and β types) and acid phosphatases (PA₂ and PA₃ types). Within isoperoxidases, there were several groups of allelic characters : α/β , IV₁/IV_{2ss}, III₁/III₂, I₃/I_{1ss} ; in addition linkage existed between the coding genes within each of the following sets of isoperoxidases : α_1 to α_4 , β_1 to β_4 ; IV₁ III₁, IV_{2ss} III₂. Allele expression in the hybrids was additive, but due to the pI proximity of alleles some isoenzymes masked others in some cases.

These results lead to criteria for the determination of homozygosis or heterozygosis in asparagus genotypes.

I. INTRODUCTION

Dans une première étude (ROUX L. & ROUX Y., 1981), nous avons montré comment il était possible d'identifier les génotypes d'asperge, homozygotes ou hétérozygotes, par l'examen des diagrammes d'électrofocalisation des isoenzymes foliaires de la peroxydase et de la phosphatase acide.

Le nombre élevé d'isoenzymes observées amène à se poser la question de l'existence éventuelle de plusieurs loci, d'allèles multiples en un même locus, de l'existence ou non de liaisons entre les divers loci. Seule l'étude de la descendance des génotypes étudiés peut fournir des éléments de

réponse et permettre d'évaluer le caractère homo- ou hétérozygote de l'expression de certaines isoenzymes. De nombreuses études de ce type ont déjà été réalisées chez les plantes cultivées et, parmi les travaux concernant notamment les peroxydases, on peut citer ceux portant sur le maïs (HAMILL & BREWBAKER, 1969), l'orge (FELDER, 1976) et la tomate (RICK *et al.*, 1974 ; RICK & FOBES, 1976). L'objectif ici est de fournir aux généticiens un ensemble de critères d'évaluation de l'homozygotie ou de l'hétérozygotie du matériel végétal basés sur l'examen des isoenzymes, utilisables notamment au cours de l'obtention de lignées d'asperge par rétrocroisements.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Origine du matériel végétal

Les génotypes étudiés sont issus des travaux de sélection menés par L. CORRIOLS et C. DORÉ à la Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A. Versailles. La particularité de cette étude réside dans le fait que, à côté d'hybrides F_1 entre lignées homozygotes obtenues par rétro-croisements (CORRIOLS-THEVENIN, 1979), nous avons pu examiner la dispersion des caractères chez les individus homozygotes obtenus par culture d'anthers (DORÉ, 1979) à partir de clones mâles hétérozygotes.

B. Extraction des enzymes. Séparation des isoenzymes par électrofocalisation

Le mode d'extraction des enzymes, les modalités de séparation des isoenzymes par électrofocalisation sur gel de polyacrylamide en gradient de pH de 3,5 à 9,5 et la mise en évidence de tel ou tel type d'isoenzymes ont déjà été décrits (ROUX L. & ROUX Y., 1981).

Pour améliorer la séparation des peroxydases à point isoélectrique (pI) acide ou peroxydases anodiques, nous avons utilisé aussi un gradient de pH de 4 à 6,5. Dans ce cas, les plaques de gel sont de mêmes dimensions ($L \times l \times h = 122 \times 110 \times 1$ mm) et de même origine (firme LKB) que celles avec gradient de pH de 3,5 à 9,5. Les caractéristiques de ce type de séparation sont celles préconisées par la firme LKB, si ce n'est une durée d'électrofocalisation augmentée de 2 h pour améliorer la qualité des séparations (tabl. 1).

III. RÉSULTATS

A. Clones homozygotes issus par culture d'anthers d'une plante mâle hétérozygote

1. Clones dérivés du clone hétérozygote « Costaud »

Neuf clones (2 ♀ et 7 ♂) dérivés du clone « Costaud » ont pu être comparés à celui-ci. Les résultats obtenus par électrofocalisation en gradient de pH 3,5 à 9,5 sont rassem-

TABLEAU 1

Caractéristiques des électrofocalisations sur gel de polyacrylamide en gradient de pH 4 à 6,5.
Features of electrofocusing in polyacrylamide gel for the pH range 4 to 6,5.

Tampon cathodique	β -alanine 0,1 M
Tampon anodique	Acide glutamique 0,1 M + Acide phosphorique 0,5 M
Volume maximum d'échantillon	25 μ l
Puissance, voltage, intensité (Valeurs plafond)	12,5 W, 2 000 V, 25 mA
Température de refroidissement	5° C
Durée de la séparation	4 h 1/2

blés dans le tableau 2, selon le code précédemment décrit (ROUX L. & ROUX Y., 1981).

a) Peroxydases anodiques

La variabilité qui s'exprime chez les peroxydases anodiques a été réexaminée en gradient de pH 4 à 6,5 ce qui permet une étude plus fine des niveaux III et IV. On constate alors que la complexité des diagrammes augmente car des isoenzymes masquées en gradient de pH 3,5 à 9,5 apparaissent ici (fig. 1).

— L'ensemble d'isoenzymes dénommé IV_2 , caractérisé par 2 isoenzymes très intenses, présente, en gradient de pH 4 à 6,5, deux variantes selon la nature des bandes

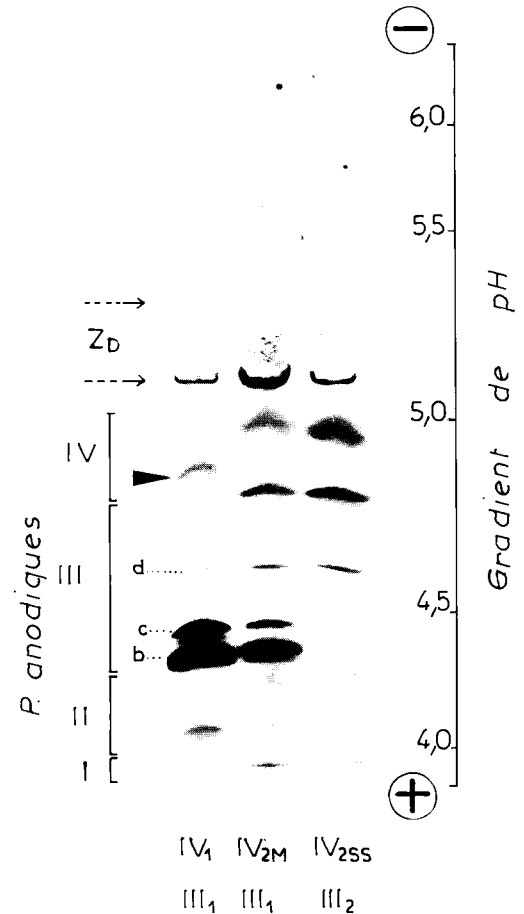


Figure 1

Diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases anodiques obtenus avec un gradient de pH étroit (4 à 6,5).

Clone mâle hétérozygote « Costaud » (au centre) entouré de 2 clones homozygotes issus de lui par culture d'anthers : C4 (à gauche) et C11 (à droite). Z_D : zone de dépôt des échantillons. ► Bande caractéristique de l'ensemble IV_1 : chez le clone hétérozygote « Costaud » cette bande est présente en association avec l'ensemble IV_{2ss} , le tout constituant l'ensemble IV_{2M} . Avec le gradient de pH 4 à 6,5 les peroxydases cathodiques sont pratiquement exclues du gel ; dans les peroxydases anodiques, le niveau I, très comprimé, est de peu d'intérêt.

Electrofocusing patterns of anodic peroxidases obtained with a narrow pH gradient (4 to 6,5).

Male heterozygous clone « Costaud » (at the center) surrounded by 2 homozygous clones derived from it by anther culture : C4 (on the left) and C11 (on the right).

Z_D : sample application zone. ► Characteristic band of IV_1 set : in the heterozygous clone « Costaud » this band is associated with the IV_{2ss} set, the whole making up the IV_{2M} set.

With the pH gradient of 4 to 6,5, cathodic peroxidases are practically excluded from the gel ; for anodic peroxidases, level I is very compressed and of little significance.

supplémentaires décelables dans l'intervalle délimité par ces 2 isoenzymes :

variante IV₂ stricto sensu ou IV_{2ss} (seulement chez les génotypes homozygotes) : 2 bandes intermédiaires faibles, dont une est très peu visible ;

variante IV_{2M} (clone hétérozygote « Costaud ») : présence d'une bande intermédiaire souvent floue mais que sa position et sa révélation plus intense distinguent nettement des bandes intermédiaires présentes dans la variante IV_{2ss}.

Les résultats de croisements entre génotypes présentant respectivement les caractères IV₁ et IV_{2ss} (cf. § C) montrent que la variante IV_{2M} est en fait l'expression additive des caractères IV₁ et IV_{2ss} dont on observe la disjonction chez les individus issus de culture d'anthers (tabl. 2). IV_{2ss} et IV_{2M} présentent, en gradient de pH 3,5 à 9,5, la même apparence « IV₂ » car les 2 isoenzymes majeures caractéristiques de l'ensemble IV₂ masquent les isoenzymes de pI très voisins de l'ensemble IV₁ en fusionnant avec elles. Même en gradient de pH 4 à 6,5, il faut une électrofocalisation de durée supérieure à la normale pour distinguer les variantes IV_{2ss} et IV_{2M}. Il y a donc allélisme, avec une expression additive chez les hétérozygotes, entre les gènes codant pour les isoenzymes qui caractérisent l'ensemble IV₁ et ceux codant pour les isoenzymes qui caractérisent l'ensemble IV_{2ss}.

— Dans l'ensemble d'isoenzymes nommé III₁, l'importance et la proximité des isoenzymes *b* et *c* font que la présence simultanée éventuelle sur les diagrammes des isoenzymes caractéristiques de l'ensemble III₂, d'intensité plus faible, n'est pas décelable. Pourtant, aussi bien les diagrammes des clones dérivés de « Costaud » (fig. 1) que les diagrammes d'hybrides de clones où « Costaud » est le parent mâle (étudiés dans une publication ultérieure) démontrent que « Costaud » présente 2 séries d'isoenzymes (III₁ et III₂) codées par des allèles. Deux isoenzymes sont communes aux 2 séries : ce sont les isoenzymes *d* et *e* (ROUX L. & ROUX Y., 1981) (l'isoenzyme *e*, peu visible en gradient de pH 3,5 à 9,5, n'est pratiquement pas identifiable en gradient de pH 4 à 6,5).

— Les ensembles d'isoenzymes décrits sous les vocables I₁, I₂ et I₃ (ROUX L. & ROUX Y., 1981) présentent probablement des isoenzymes communes à côté d'autres particulières à l'un ou à l'autre ensemble. Lorsqu'il y a additivité de 2 ensembles, il en résulte soit un aspect intermédiaire mal défini, soit la « pseudo-dominance » de l'un d'entre eux : c'est le cas de « Costaud », où seul est reconnaissable l'aspect I₃, alors qu'en fait la disjonction observée dans les clones dérivés (tabl. 2) révèle qu'y

coexistent les isoenzymes caractéristiques des ensembles I₃ et I₁. Concernant l'aspect I₁, déjà considéré comme polymorphe (ROUX L. & ROUX Y., 1981), sa caractérisation plus précise, en faisant appel à des critères plus détaillés, devient ici nécessaire : on distinguera l'ensemble I₁ mixte (I_{1M}), indice d'hétérozygotie (cf. § C et fig. 4) et l'ensemble I₁ *stricto sensu* (I_{1ss}), indice d'homozygotie. Chez une partie des clones dérivés de « Costaud » par culture d'anthers, est présent l'ensemble I_{1ss} caractérisé par 2 isoenzymes encadrant une bande intermédiaire floue ; cet ensemble est toujours accompagné de façon complémentaire par 2 isoenzymes (souvent confondues en une bande unique) situées dans le niveau II (fig. 2 : voir la lignée 913 qui présente la même caractéristique). Globalement, on constate donc un allélisme I_{1ss}/I₃, mais il n'est pas possible ici de désigner de façon précise les isoenzymes qui se correspondent.

Au total le clone « Costaud » est homozygote pour les gènes codant pour les peroxydases cathodiques de type β et hétérozygote pour ceux codant pour les peroxydases anodiques :

diagramme apparent : IV₂ III₁ I₃

diagramme théorique :

(IV₁) + IV_{2(ss)} III₁ + ((III₂)) ((I_{1ss})) + I₃

(Entre simples parenthèses : caractère mis en évidence par le gradient de pH 4 à 6,5. Entre doubles parenthèses : caractère ne pouvant être mis en évidence que par des études de descendance).

b) Phosphatases acides

Tous les clones dérivés de « Costaud » (tabl. 2) présentent le type PA₂ qui serait exprimé chez « Costaud » à l'état homozygote. Toutefois, compte tenu de la complexité du diagramme des phosphatases acides, des variations de détail du type PA₂ peuvent passer inaperçues.

2. Clones dérivés du clone hétérozygote « François »

Sept clones homozygotes ont pu être comparés à la plante de départ (tabl. 3).

L'allélisme déjà rapporté entre les gènes codant pour les peroxydases des types α et β (ROUX L. & ROUX Y., 1981) s'exprime ici par la partition de ces caractères entre les différents clones. Par contre, les gènes codant pour les peroxydases anodiques seraient ici présents à l'état homozygote. Avec les mêmes réserves que pour le clone « Costaud », le type PA₂ (phosphatases acides) s'exprimerait aussi à l'état homozygote.

TABLEAU 2

Description par les diagrammes d'isoenzymes (électrofocalisation en gradient de pH 3,5 à 9,5) des clones homozygotes dérivés du clone « Costaud » par culture d'anthers.

Description by isoenzyme patterns (electrofocusing in pH gradient 3.5 to 9.5) of homozygous clones derived from the clone « Costaud » by anther culture.

	Peroxydases cathodiques	Peroxydases anodiques	Phosphatases acides
Clone « Costaud »	type β	IV ₂ III ₁ I ₃	PA ₂
4 clones dérivés (2 ♂, 2 ♀)	type β	IV ₂ III ₂ I ₁	PA ₂
5 clones dérivés (tous ♂)	type β	IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₂

TABLEAU 3

Description par les diagrammes d'isoenzymes (électrofocalisation en gradient de pH 3,5 à 9,5) des clones homozygotes dérivés du clone « François » par culture d'anthères.

Description by isoenzyme patterns (electrofocusing in pH gradient 3.5 to 9.5) of homozygous clones derived from the clone « François » by anther culture.

	Peroxydases cathodiques	Peroxydases anodiques	Phosphatases acides
Clone « François »	type $\alpha\beta$	IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₂
2 clones dérivés (1 ♂, 1 ♀)	type α	IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₂
5 clones dérivés (1 ♂, 4 ♀)	type β	IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₂

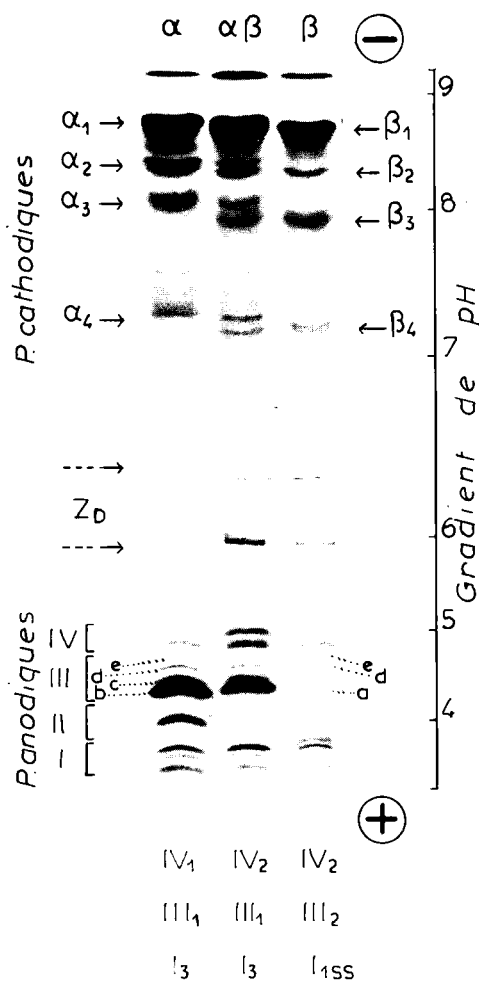


Figure 2

Diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases (gradient de pH 3,5 à 9,5) d'un hybride entre lignées homozygotes.

Parents : lignée 517 (♀, à gauche) et lignée 913 (♂, à droite). Hybride au centre.

Dans les peroxydases cathodiques, l'additivité de « α » et « β » est manifeste. Dans les peroxydases anodiques, l'additivité des caractères parentaux est masquée ; seul le gradient de pH 4 à 6,5 permet de la déceler partiellement (voir fig. 3).

Electrofocusing patterns of peroxidases (pH gradient of 3.5 to 9.5) in a hybrid between homozygous lines.

Parents : line 517 (♀, on the left) and line 913 (♂, on the right). Hybrid at the center.

For cathodic peroxidases, the additivity of « α » and « β » is obvious. For anodic peroxidases, the additivity of parental characters is hidden ; only the pH gradient of 4 to 6.5 allows it to be partly detected (see fig. 3).

B. Clones hétérozygotes

Parmi les clones hétérozygotes précédemment décrits (ROUX L. & ROUX Y., 1981), un examen des peroxydases anodiques en gradient de pH 4 à 6,5 a permis de voir que l'aspect IV₂ présenté par les clones femelles « Brune », « Estelle » et « Déesse » masque en fait une hétérozygotie de même nature que celle de « Costaud » (cf. § A), les isoenzymes caractéristiques des ensembles IV₁ et IV_{2SS} étant simultanément présentes. En outre, au niveau III, où tous les clones présentent un aspect apparent III₁, l'isoenzyme *d* masque, chez les clones « Annette », « Déesse », « Frivole » et « Jules », en gradient de pH 3,5 à 9,5, une isoenzyme de pI plus élevé, nommée *d'* (fig. 3, « Déesse »). En fait, la complexité réelle du diagramme des peroxydases anodiques de certains clones hétérozygotes va au-delà de ce que peut mettre en évidence l'électrofocalisation en gradient de pH 4 à 6,5 et elle ne peut être décelée qu'au travers de l'étude des hybrides entre clones hétérozygotes.

C. Hybrides entre lignées ou clones homozygotes

Huit hybrides F₁ impliquant 5 lignées homozygotes (n^{os} 483, 517, 627, 913, 929) et 3 clones homozygotes obtenus par cultures d'anthères (C4, E1, P1) précédemment décrits (ROUX L. & ROUX Y., 1981) ont été étudiés. Le tableau 4 récapitule les caractéristiques des diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases et des phosphatases acides telles qu'elles apparaissent en gradient de pH 3,5 à 9,5. Le nombre de plantes distinctes examinées a varié de 10 à 20 selon les hybrides.

1. Peroxydases

Lorsque les 2 parents présentent le même diagramme d'isoenzymes, le fait que les hybrides présentent tous ce même diagramme est simplement une confirmation de l'homozygotie des parents au niveau des gènes codant pour ces isoenzymes.

Lorsque les parents diffèrent par certains caractères, il y a additivité des caractères des parents. Cette additivité, compte tenu des possibilités analytiques, se traduit de 4 façons différentes sur les diagrammes d'électrofocalisation :

— Additivité perceptible avec le gradient de pH 3,5 à 9,5.

Additivité des caractères α et β (p. ex. 517 × 913, fig. 2).

— Aspect nouveau faussement simple du diagramme de l'hybride par rapport à ceux des parents, résultant d'une

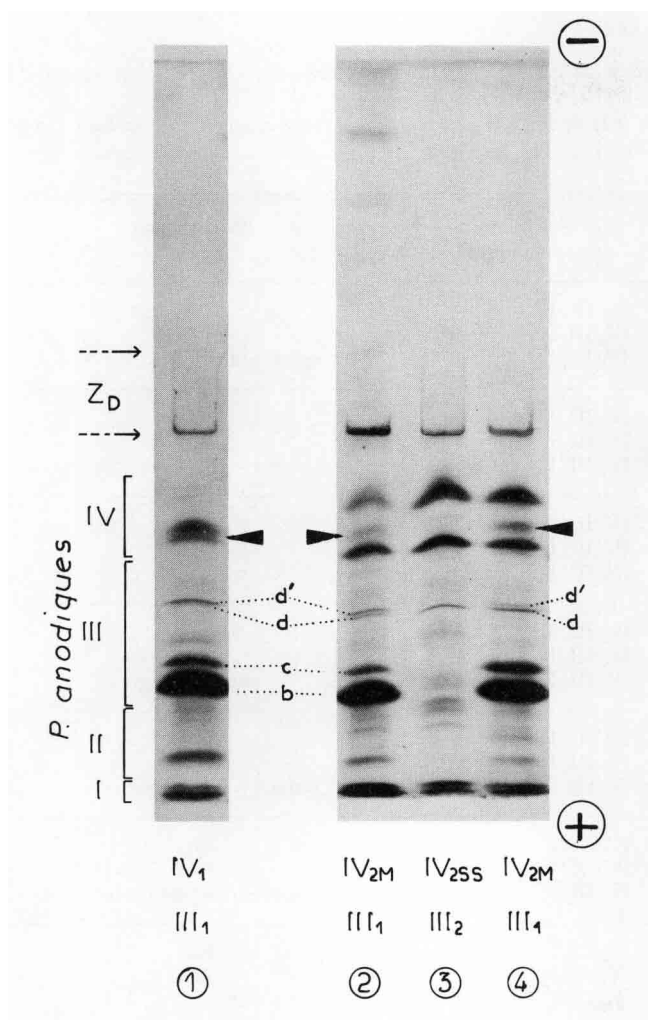


Figure 3

Diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases obtenus avec un gradient de pH étroit (4 à 6,5).

① et ③ Lignées homozygotes 517 et 913 ; ② Hybride 517 (♀) × 913 (♂) ; ④ Clone femelle hétérozygote « Déesse ». Z_D : zone de dépôt des échantillons. ► Bande caractéristique de l'ensemble IV_1 , présente aussi en association avec l'ensemble IV_{285} , le tout constituant alors l'ensemble IV_{2M} . On observe ici un dédoublement de cette bande (lignée 517), ceci dépendant de la netteté de la séparation.

Electrofocusing patterns of peroxidases obtained with a narrow pH gradient (4 to 6.5).

① and ③ : homozygous lines 517 and 913 ; ② : hybrid 517 (♀) × 913 (♂) ; ④ : female heterozygous clone « Déesse ». Z_D : zone for sample application. ► Characteristic band of IV_1 set, also present in association with the IV_{285} set (the whole making up the IV_{2M} set). A splitting of this band (line 517) can be observed here depending on the sharpness of the separation.

association d'isoenzymes à pI très voisins, particulières à chaque parent.

Additivité des caractères I_3 et I_2 : aspect I_{1M} où seulement 2 bandes ressortent (p. ex. 517 × 483, fig. 4).

— Additivité inapparente en gradient de pH 3,5 à 9,5 où un caractère masque l'autre (fig. 2). Le gradient de pH 4 à 6,5 permet de la mettre en évidence (fig. 3).

Additivité des caractères IV_1 et IV_{285} (p. ex. 517 × 913).

— L'additivité est inapparente en gradient de pH 3,5 à 9,5 (fig. 2) et reste inapparente en gradient de pH 4 à 6,5 (fig. 3).

Additivité des caractères III_1 et III_2 (p. ex. 517 × 913) : les bandes b et c de l'ensemble III_1 sont à la fois très proches et très intenses, ce qui masque les bandes spécifiques de l'ensemble III_2 .

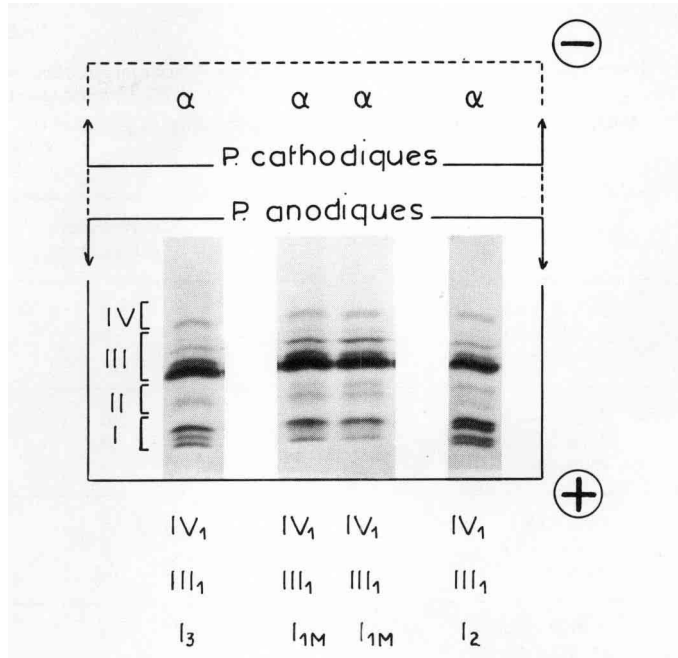


Figure 4

Diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases (gradient de pH 3,5 à 9,5) d'un hybride entre lignées homozygotes.

Seule la portion anodique des diagrammes est représentée dans sa totalité. Respectivement à gauche et à droite, lignées 517 et 483 ; au centre, hybride 517 (♀) × 483 (♂) en 2 exemplaires.

Les 2 lignées ne diffèrent que par le niveau I des peroxydases anodiques ; l'hybride présente un aspect faussement simple au niveau I (I_{1M}) dû au regroupement d'isoenzymes de pI très voisins.

Electrofocusing patterns of the peroxidases (pH gradient of 3.5 to 9.5) from a hybrid between homozygous lines.

Only the anodic part of the patterns is entirely represented. Respectively on the left and on the right, lines 517 and 483 ; at the center hybrid 517 (♀) × 913 (♂) in duplicate.

The 2 lines are only different in level I of anodic peroxidases ; the hybrid has a falsely simple aspect at level I (I_{1M}) due to the merging of isoenzymes with very close pI.

Problème particulier de l'isoenzyme d au niveau III

En gradient de pH 3,5 à 9,5, on met en évidence au niveau III, quel que soit le génotype étudié (clones ou lignées ou hybrides), une seule isoenzyme, nommée d (fig. 2), commune aux différents groupements possibles d'isoenzymes observés à ce niveau. En gradient de pH 4 à 6,5, on constate dans certains cas la présence d'une isoenzyme d' , de pI légèrement supérieur à celui de d (fig. 3). En regroupant l'ensemble des données acquises à ce sujet, 2 cas se présentent :

- isoenzyme d seule présente : cas le plus fréquent.
- présence simultanée de d et d' :
 - clones hétérozygotes : « Annette », « Déesse », « Fricole », « Jules ».
 - clones homozygotes : E9.
 - lignées homozygotes : 180, 483, 511, 517.

L'isoenzyme d' présente un double intérêt : étant particulière à certains génotypes, elle fournit un élément supplémentaire de caractérisation ; d'autre part, sa présence dans un hybride est une confirmation de l'implication de tel ou tel parent (par ex. : hybride 517 × 913).

2. Phosphatases acides

Dans les diagrammes relatifs aux hybrides, l'expression des caractères parentaux revêt 3 aspects (tabl. 4) :

- Aspect additif où l'on reconnaît les traits caractéristi-

TABLEAU 4

Description par les diagrammes d'isoenzymes (électrofocalisation en gradient de pH 3,5 à 9,5) des hybrides entre clones (cl.) et lignées (l.) homozygotes ou entre lignées.

Description by isoenzyme patterns (electrofocusing in pH gradient 3.5 to 9.5) of hybrids between homozygous clones (cl.) and lines (l.) or between lines.

Parents et hybrides	Peroxydases cathodiques	Peroxydases anodiques	Phosphatases acides
1. 929 (♀) 1. 517 (♂) hybrides	α α α	IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₃ PA ₁ aspect additif « PA ₁ + PA ₃ »
1. 517 (♀) 1. 483 (♂) hybrides	α α α	IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₂ IV ₁ III ₁ I _{1M}	PA ₁ PA ₂ aspect « PA ₂ dominant »
cl. E1 (♀) 1. 627 (♂) hybrides	α β αβ	IV ₁ III ₁ I ₂ IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I _{1M}	PA ₂ PA ₃ aspect PA _{2-A}
1. 929 (♀) cl. C4 (♂) hybrides	α β αβ	IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₃ PA ₂ aspect PA _{2-A}
1. 517 (♀) cl. C4 (♂) hybrides	α β αβ	IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₁ PA ₂ aspect « PA ₂ dominant »
1. 517 (♀) cl. P1 (♂) hybrides	α β αβ	IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₁ PA ₂ aspect « PA ₂ dominant »
1. 517 (♀) 1. 627 (♂) hybrides	α β αβ	IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₃	PA ₁ PA ₃ aspect additif « PA ₁ + PA ₃ »
1. 517 (♀) 1. 913 (♂) hybrides	α β αβ	IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₂ III ₂ I _{1ss} IV ₂ III ₁ I ₃	PA ₁ PA ₃ aspect additif « PA ₁ + PA ₃ »

ques de l'un et l'autre parents : hybrides « PA₁ × PA₃ » (fig. 5).

— Aspect où prédominent les traits de l'un des parents, accompagnés de bandes nouvelles, probablement par association d'isoenzymes de pI très voisins, spécifiques de l'un ou l'autre parent : « PA₂ × PA₃ » (fig. 6). Cet aspect a déjà été décrit sous le vocable PA_{2-A} chez certains clones hétérozygotes (ROUX L. & ROUX Y., 1981).

— Aspect où l'on reconnaît seulement les traits caractéristiques de l'un des parents : hybrides « PA₁ × PA₂ » où seules les bandes caractéristiques du type PA₂ sont clairement discernables (fig. 7).

IV. DISCUSSION

Les peroxydases anodiques situées au niveau II n'ont pas été prises en compte dans le présent travail à cause de l'irrégularité de leur présence (ROUX L. & ROUX Y., 1981). En ce qui concerne les autres peroxydases, une expression allélique a été mise en évidence pour les caractères suivants :

peroxydases cathodiques : type α et type β
peroxydases anodiques IV₁ et IV_{2ss}
III₁ et III₂
I₃ et I_{1ss}

Lorsque des caractères allèles sont simultanément codés (clones hétérozygotes, hybrides F₁ entre génotypes homozygotes), leur expression est additive mais, compte tenu de la proximité des pI des isoenzymes dans certaines zones des diagrammes d'électrofocalisation, certaines isoenzymes peuvent en masquer d'autres et apparaître ainsi faussement dominantes. Les couples d'allèles de type α et β sont bien définis : α₁-β₁, α₂-β₂, α₃-β₃, α₄-β₄ ; par contre, chez les peroxydases anodiques, si l'allélisme est manifeste au niveau des ensembles d'isoenzymes (par ex. allélisme III₁/III₂), il n'est pas possible d'établir des correspondances précises au niveau de chacune des isoenzymes en cause.

La stabilité de l'expression groupée des peroxydases cathodiques, soit de type α, soit de type β, suggère un linkage très étroit entre les gènes correspondants ou un effet pléiotropique. De même, la permanence de l'association des caractères IV₁ et III₁ d'une part, IV_{2ss} et III₂ d'autre part, paraît relever aussi d'un linkage entre les gènes correspondants. Deux arguments sont en faveur de cette dernière hypothèse : d'une part, les clones homozygotes issus par culture d'anthères du clone hétérozygote « Costaud » présentent soit l'une, soit l'autre association de caractères (mais 9 d'entre eux seulement ont pu être étudiés) ; d'autre part, si l'on considère l'ensemble des lignées (obtenues par rétrocroisements) et des clones homo-

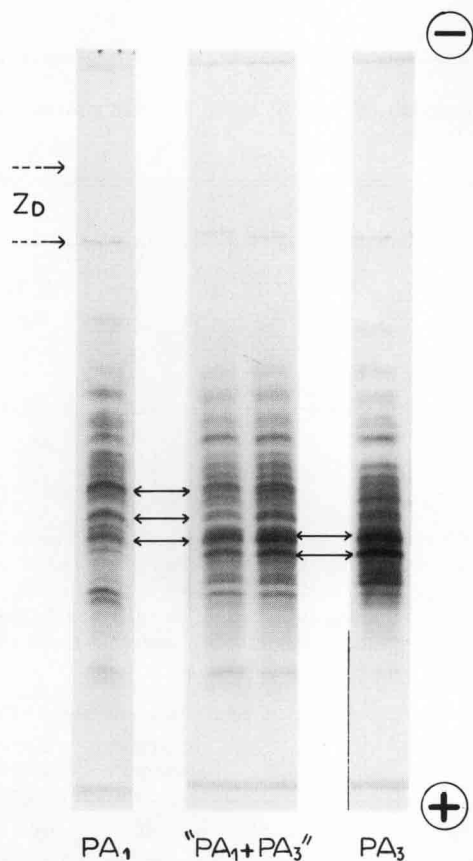


Figure 5

Diagrammes d'électrofocalisation des phosphatases acides : hybride (au centre, en 2 exemplaires) entre une lignée de type PA_1 (lignée 517, à gauche) et une lignée de type PA_3 (lignée 913, à droite).

Les traits distinctifs de chacun des parents (signalés par des flèches) sont reconnaissables chez l'hybride. Z_D : zone de dépôt des échantillons. Gradient de pH 3,5 à 9,5.

Electrofocusing patterns of acid phosphatases : hybrid (at the center in duplicate) between a line of PA_1 type (line 517 on the left) and a line of PA_3 type (line 913 on the right).

Distinctive features of each parent (indicated by arrows) are recognizable in the hybrid. Z_D : sample application zone. pH gradient of 3.5 to 9.5.

zygotes (obtenus par culture d'anthers) que nous avons étudiés jusqu'ici, nous avons observé 29 fois l'association $IV_1 III_1$ et 10 fois l'association $IV_{2ss} III_2$, jamais une association de type intermédiaire. Nous ne possédons pas de données assez précises sur les peroxydases anodiques du niveau I pour définir leurs liens génétiques éventuels avec les peroxydases des niveaux III et IV.

Le tableau 5 rassemble les combinaisons observées entre les diagrammes des peroxydases et des phosphatases acides chez les 39 génotypes homozygotes étudiés jusqu'ici. Un test d'indépendance entre les peroxydases cathodiques de type α et β d'une part et les peroxydases anodiques des niveaux III et IV d'autre part, tend à montrer, au seuil de probabilité 5 p. 100, que 2 groupes de loci indépendants sont impliqués dans l'expression de ces peroxydases ($\chi^2 < 3,84$; 1 d.d.l.).

En ce qui concerne les phosphatases acides, les diagrammes sont complexes, de nombreuses isoenzymes sont communes aux différents types de diagrammes de base (PA_1 , PA_2 , PA_3) et, de ce fait, ni l'existence très probable d'allèles, ni la dispersion éventuelle des loci ne peuvent être précisées. S'agissant des liens génétiques possibles entre

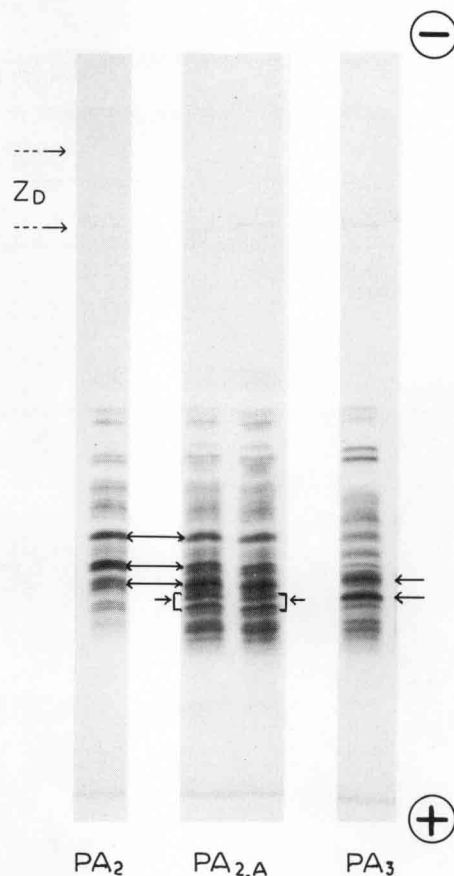


Figure 6

Diagrammes d'électrofocalisation des phosphatases acides : hybride (au centre, en 2 exemplaires) entre un clone homozygote femelle de type PA_2 (clone E1, à gauche) et une lignée de type PA_3 (lignée 627, à droite).

Les traits distinctifs de chacun des parents sont signalés par des flèches. L'hybride présente essentiellement les caractéristiques du type PA_2 plus 2 bandes particulières (signalées par un crochet), le tout constituant le type PA_{2-A} .

Z_D : zone de dépôt des échantillons. Gradient de pH 3,5 à 9,5.

Electrofocusing patterns of acid phosphatases : hybrid (at the center in duplicate) between a female homozygous clone of PA_2 type (clone E1 on the left) and a line of PA_3 type (line 627 on the right).

Distinctive features of each parent are indicated by arrows. The hybrid presents essentially the characteristics of PA_2 type with 2 additional bands (indicated by a square bracket), the whole making up the PA_{2-A} type.

Z_D : sample application zone. pH gradient of 3.5 to 9.5.

phosphatases acides et peroxydases, il ressort du tableau 5 qu'il y a indépendance d'expression, au seuil de probabilité de 5 p. 100, entre les peroxydases cathodiques de type α et β d'une part et les phosphatases acides de type PA_2 et PA_3 d'autre part ($\chi^2 < 3,84$; 1 d.d.l.).

V. CONCLUSION

A partir des résultats obtenus, on peut dresser un tableau des divers groupements d'isoenzymes visibles sur les diagrammes d'électrofocalisation, représentant l'expression homozygote ou hétérozygote de certaines portions du génome (tabl. 6). Les ensembles III_1 et I_3 (peroxydases anodiques) ne figurent pas dans le tableau car ils peuvent, dans certains cas, masquer d'autres isoenzymes (cf. III Résultats) ; il en est de même pour les diagrammes de phosphatases acides de type PA_2 car on a vu qu'ils pou-

TABLEAU 5

Dispersion des caractères entre peroxydases cathodiques de type α et β , peroxydases anodiques des niveaux III et IV et phosphatases acides chez 39 génotypes homozygotes.

Scattering of characters between cathodic peroxidases (α and β types), anodic peroxidases (III and IV levels) and acid phosphatases in 39 homozygous genotypes.

Peroxydases cathodiques		α		β	
Peroxydases anodiques		IV ₁ III ₁	IV ₂ III ₂	IV ₁ III ₁	IV ₂ III ₂
Phosphatases acides	PA ₁	4	0	1	0
	PA ₂	7	2	11	5
	PA ₃	5	0	1	3

TABLEAU 6

Critères d'homozygotie ou d'hétérozygotie à retenir lors de l'examen des diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases et des phosphatases acides.

Homozygosis or heterozygosis criteria to be accepted when examining the electrofocusing patterns of peroxidases and acid phosphatases.

	Expression homozygote	Expression hétérozygote
Peroxydases cathodiques	α ou β	$\alpha\beta$
Peroxydases anodiques	IV ₁ ou IV _{2ss} III ₂ I _{1ss}	IV _{2M} I _{1M}
Phosphatases acides	PA ₁ * PA ₃ *	« PA ₁ + PA ₃ » PA _{2-A}

* Avec réserves — voir discussion.
* With reserves — see discussion.

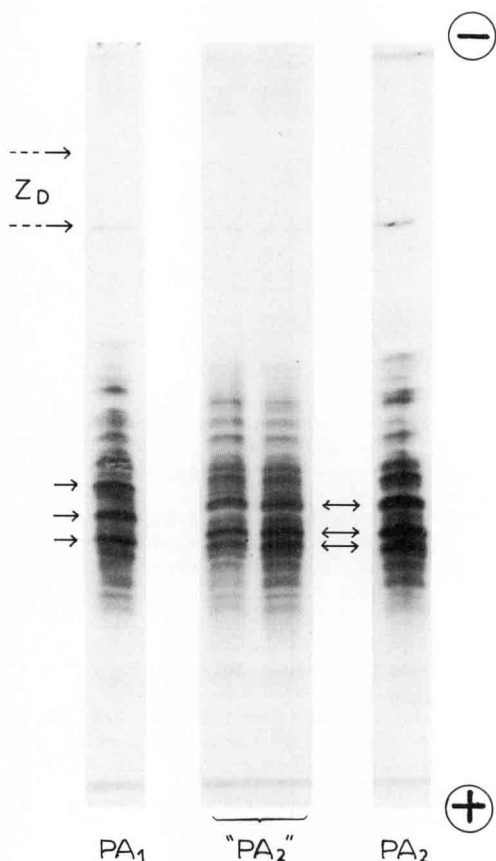


Figure 7

Diagrammes d'électrofocalisation des phosphatases acides : hybride (au centre, en 2 exemplaires) entre une lignée de type PA₁ (lignée 517, à gauche) et un clone mâle homozygote de type PA₂ (clone PI, à droite).

Les traits distinctifs de chacun des parents sont signalés par des flèches. Chez l'hybride seules sont apparentes les caractéristiques du type PA₂.

Z_D : zone de dépôt des échantillons. Gradient de pH 3,5 à 9,5.

Electrofocusing patterns of acid phosphatases : hybrid (at the center in duplicate) between a line of PA₁ type (line 517 on the left) and a male homozygous clone of PA₂ type (clone PI, on the right).

Distinctive features of each parent are indicated by arrows. In the hybrid, only the characteristics of PA₂ type are visible.

Z_D : sample application zone. pH gradient of 3.5 to 9.5.

vaient masquer, dans certains cas, un état hétérozygote (croisement « PA₁ × PA₂ »). En outre, les diagrammes de phosphatases acides de type PA₁ ou PA₃ représentent avec réserve une expression homozygote car, compte tenu de la complexité de ces diagrammes, l'existence de variantes inapparentes est possible.

En présence d'une lignée obtenue par rétrocroisements, la présomption d'homozygotie peut être ainsi confortée à 3 niveaux complémentaires au travers des diagrammes d'électrofocalisation :

- Identité avec la plante femelle d'origine.
- Identité entre elles des plantes de la lignée multipliées par graines.
- Compatibilité des diagrammes d'électrofocalisation avec les critères d'homozygotie du tableau 6.

Lorsque la comparaison avec la plante homozygote femelle d'origine n'est plus possible, les 2 autres conditions deviennent primordiales. Si on met en évidence une expression homozygote à la fois dans les peroxydases cathodiques et anodiques et dans les phosphatases acides, le fait que soient impliqués des loci indépendants augmente la valeur indicative des résultats.

Reçu le 6 avril 1982.
Accepté le 2 septembre 1982.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Corriols-Thevenin L., 1979. Different methods in asparagus breeding. *Proc. 5th Int. Asparagus-Symp.*, 8-20. Ed. by G. Reuther, Geisenheim, W. Germany, 315 p.

Doré C., 1979. Anther culture as a way towards F₁ hybrids. *Proc. 5th Int. Asparagus-Symp.*, 87-90. Ed. by G. Reuther, Geisenheim, W. Germany, 315 p.

Hamill D. E., Brewbaker J. L., 1969. Isoenzyme polymorphism in flowering plants. IV. The peroxidases isoenzymes of maize (*Zea mays*). *Physiol. Plant.*, **22**, 945-958.

Felder M. R., 1976. Genetic control of four cathodal peroxidase isozymes in barley. *J. Hered.*, **67**, 39-42.

Rick C. M., Zobel R. W., Fobes J. F., 1974. Four peroxidase loci in red-fruited tomato species: genetics and geographic distribution. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 835-839.

Rick C. M., Fobes J. F., 1976. Peroxidase complex with concomitant anodal and cathodal variation in red-fruited tomato species. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 900-904.

Roux L., Roux Y., 1981. Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge (*Asparagus officinalis* L., Liliacées). *Agronomie*, **1**, 541-548.