"Le Sélectionneur français" 1987 (39)

INTERET DE L'ANALYSE DES PROTEINES DE RESERVE DANS L'AMELIORATION GENETIQUE DU BLE

G. BRANLARD - M. ROUSSET

INTRODUCTION

L'étude des protéines de réserve des céréales a connu un essor considérable depuis près de vingt ans grâce à l'utilisation des techniques électrophorétiques. La synthèse de ces protéines est effectuée par les polyribosomes situés sur le réticulum endoplasmique, elles passent ensuite cette membrane pour s'accumuler dans des sacs ou corpuscules protéiques qui généralement éclatent à maturité lors de la dessication du grain. Elles représentent près de 80 % des protéines totales du grain de blé et constituent la majeure partie du gluten.

Au début du siècle OSBORNE a donné une classification des protéines des grains selon leur solubitité dans des solvants. Les prolamines, solubles dans l'éthanol à 70 % et les gluténines solubles dans l'acide acétique dilué, sont les deux fractions constitutives des protéines de réserve des céréales. Ces deux fractions sont appelées gliadines et gluténines chez le blé et en moyenne elles représentent respectivement 45 et 35 % des protéines du grain. Les autres fractions (albumines et globulines) sont formées par les protéines enzymatiques et d'une manière générale par l'équipement protéique cellulaire.

Les travaux conduits sur ces protéines de réserve nous ont permis d'apprendre un peu plus de leur constitution, leur structure, leur déterminisme génétique et leur fonctionnalité.

En milieu queux les gliadines ont une structure en film alors que les gluténines ont l'aspect de fibres de 10 à 70 mm de diamètre. Leur structure dépend évidemment du milieu environnant. Les oméga gliadines, riches en soufre, ont généralement une structure en pelote tandis que les alpha, bêta et gamma gliadines sont fibrillaires.

Le poids moléculaire des gliadines est compris entre 25000 et 80000, celui des gluténines est supérieur à 10^6. Après réduction les gluténines se séparent en 2 groupes : HPM 80 à 120.000 et FPM 30 à 40 000.

La composition en acides aminés des gliadines et gluténines est très proche.

L'une et l'autre sont riches en proline et en glutamine et présentent une très faible teneur en lysine. Cette richesse : 1 - en glutamines (acide aminé clé de nombreuses voies métaboliques et de synthèse d'autres acides aminés) ainsi 2 - qu'en proline (favorisant les formes de résistance à la sécheresse et au froid) répond aux exigences de la plantule après la germination et résulte d'un contrôle génétique très étroit qui s'est mis en place au cours du processus de l'évolution.

L'étude du déterminisme génétique de ces protéines de réserve est aujourd'hui bien avancée. 6 gènes sont responsables de la synthèse des gliadines et sont situés à l'extrêmité distale des bras courts des chromosomes 1 et 6 de chacun des trois génômes A, B et D. Les gluténines de haut poids moléculaire sont sous le contrôle de 3 gènes à environ 9 Centimorgans du centromère sur le bras long des chromosomes 1A, 1B et 1D (PAYNE et al, 1983). Le déterminisme génétique des gluténines de faible poids moléculaire est en cours d'étude. Il semble que ces protéines soient elles aussi situées sur les bras courts des chromosomes 1A, 1B et 1D. Et nous verrons ci-dessous dans quelles mesures la connaissance du déterminisme génétique de ces protéines peut être utile à l'amélioration du blé.

L'étude de la fonctionnalité de ces protéines est elle aussi en cours. En fait on sait depuis longtemps que la qualité technologique d'un blé est étroitement liée aux propriétés de ténacité, d'élasticité et d'extensibilité de son gluten. Mais l'analyse des relations entre la constitution protéinique de la pâte et ses propriétés n'a débuté que vers les années 70. Depuis on sait que de nombreuses protéines de réserve sont déterminantes dans l'explication des propriétés notamment de force, de ténacité et d'extensibilité de la pâte (BRANLARD, DARDEVET, 1985 a, b). L(amélioration génétique de la qualité technologique du blé va directement être liée à l'application de ces connaissances. La présentation ci-dessous a pour objet de montrer qu'il est possible d'appliquer l'analyse de ces marqueurs biochimiques à plusieurs objectifs concernant la connaissance et l'amélioration génétique du blé.

I - LA DIVERSITE BIOCHIMIQUE ET GENETIQUE DES PROTEINES DE RESERVE.

La technique d'électrophorèse a permis de révéler la diversité des protéines de réserve. Depuis les travaux de WOYCHIK et al. (1961), FEILLET (1965) cette technique de séparation des gliadines sur gel d'amidon puis sur acrylamide a évolué et par là même la diversité, évaluée par comparaison des diagrammes entre eux, n'a cessé de croître. L'analyse fine de la diversité des gliadines d'un grand nombre de variétés cultivées en plusieurs lieux a montré que chacune d'elle avait un diagramme spécifique non qualitativement modifié par les conditions de production. AUTRAN et BOURDET, 1975 mirent à profit cette spécificité en établissant un tableau dichotomique permettant d'identifier les variétés de blé tendre et dur.

ABREVIATIONS : Gluténines HPM, (FPM) : Sous unités Gluténines de haut poids moléculaire (Faible poids moléculaire),
Electrophorèse 1D, (2D) : Electrophorèse monodimensionnelle, (bidimensionnelle).

L'électrophorèse des gliadines sur gel d'amidon permet de séparer 18 à 25 bandes. L'utilisation de l'acrylamide comme support d'électrophorèse a permis d'accroître le nombre de bandes révélées (20 à 35) et de donner une plus juste expression des quantités de protéines présentes au niveau de chacune des bandes. Sur la majeure partie des blés cultivés en France et en Europe plus de 80 bandes de mobilité différentes ont été dénombrées. En fait ce nombre n'est pas définitif et il est possible d'accroître la résolution des électrophorèses monodimensionnelles (1D) en jouant notamment sur la nature et la force ionique du tampon et de porter ainsi le nombre total de bandes à plus de 110 (COURVOISIER, 1984). Le recours à l'électrophorèse bidimensionnelle (2D) des gliadines accroît les possibilités de séparer ces protéines et selon la technique mise en oeuvre (1ère dimension/ 2nde: pH 3,2/pH 9,2 ou isoélectrofocalisation/pH 3,2)on dénombre de 40 à 55 protéines au lieu de 20 à 35 pour une variété donnée. Le nombre total de taches décelables par électrophorèse (2D) n'a pas été encore répertorié.

La diversité des gluténines observée après réduction des ponts disulfures en présence du Sodium Dodécyl Sulfate (SDS) (détergent qui cache la charge propre de la protéine) est nettement moins importante. Chaque variété possède de 1 (cas de certains blés durs) à 5 bandes des gluténines HPM. Les gluténines de faible poids moléculaire (FPM) sont également peu nombreuses lorsqu'on les observe dans ces conditions. Chaque variété possède 5 à 10 bandes majeures. D'une manière générale on sait que cette technique d'électrophorèse monodimensionnelle en milieu SDS sous estime largement la diversité des gluténines HPM et FPM. Et pour le seule fraction des gluténines HPM, 27 bandes de mobilité différentes ont été répertoriées jusqu'ici dans les collections mondiales. L'électrophorèse 2D devrait permettre d'accroître considérablement ce nombre et la comparaison des multiples diagrammes sera facilitée par les techniques d'analyse d'image.

L'analyse de ces diagrammes bidimensionnels permettra d'avancer dans l'étude génétique des gliadines (principalement alpha, bêta, gamma) ainsi que des gluténines FPM. De l'analyse génétique conduite jusqu'ici il apparaît que chaque bande des gliadines et des gluténines a une hérédité de type codominant. La présence (ou l'absence) d'un constituant correspond à un caractère monogénique pour près des 2/3 des bandes et environ 10 % d'entre elles répondent à un déterminisme bigénique (gènes dupliqués sur 2 chromosomes homoéologues). Le quart restant correspond à un ensemble de protéines non résolues en électrophorèse (1D). Ces gènes sont situés en 9 loci complexes au sein du génôme du blé.

Chacun de ces 9 loci code pour un "bloc" protéique ou groupe de 2 à 10 bandes. Pour le cas des gliadines du moins, et à la suite des recherches de biologie moléculaire, il semble que cette diversité des protéines à un loci donné ne correspondent pas à des modifications postraductionnelles mais soit plutôt l'expression d'une série de gènes de structure étroitement liés. Très rares en effet sont les recombinaisons que l'on observe entre les gènes responsables d'un groupe de bandes. Aussi le mode de transmission de ce dernier est monogénique et l'ensemble est assimilé à un allèle.

Le tableau 1 présente le nombre d'allèles des gliadines et des gluténines HPM décelé par électrophorèse (1D) de nombreuses descendances de blés d'origine française et

TABLEAU 1 - NOMBRE DE GROUPES DE BANDES TRANSMIS CHACUN COMME UN ALLELE DES GLIADINES ET DES GLUTENINES HPM

Loci situés sur le bras chromosomique	METAKOVSKY et al 1984	BRANLARD et al 1984-1985	PAYNE .LAWRENCE 1983	Type de protéines
				Gliadines
1 AS	15	16		ωγ
1 BS	18	16		ω
1 DS	8	6		ω
6 AS	13	8		α
6 BS	11	5		β
6 DS	10	7		γ
1 AL		3	3	GLUTENINES HPM
1 BL		11	11	
1 DL		6	6	

étrangère. La multiallélisme est d'une manière générale plus important chez les gliadines que chez les gluténines HPM (et cela notamment en raison de la technique d'électrophorèse en milieu SDS qui ne permet pas l'expression des différences de charge). Pour les gliadines les loci du groupe de chromosomes 6 ont moins d'allèles que ceux du groupe 1. Cet important multiallélisme trouve son origine dans le fait que ces protéines n'ont pas de propriétés fonctionnelles (dans l'édifice cellulaire ou de type enzymatique) et qu'elles forment une réserve d'acides aminés dont certains auraient été étroitement conservés pour le développement et la survie de la plantule.

Le nombre de génotypes différents pouvant être créés à partir des combinaisons alléliques observées jusqu'ici sur ces 9 loci est supérieur à 700 millions. Ce nombre sera aisément multiplié par 100 lorsqu'on aura analysé les gluténines (FPM et HPM) ainsi que les gliadines en électrophorèse 2D. Si maintenant l'on considère que la plupart des différences génétiques portant sur des acides aminés non chargés (soit 3/4 des acides aminés) ne sont pas détectées par électrophorèse on entrevoit l'immensité de cette diversité génétique.

II - APPLICATIONS A L'AMELIORATION GENETIQUE DU BLE.

Les utilisations les plus courantes de l'analyse électrophorétique des protéines de réserve portent sur la qualité des semences et des lots commerciaux (identité et homogénéité). Mais à côté de ces utilisations d'autres applications peuvent être mises en oeuvre à différents niveaux de la création variétale.

1 - IDENTIFICATION VARIETALE.

A la suite des travaux de AUTRAN J.C. et BOURDET (1975) cette possibilité d'identification des blés par l'analyse de la diversité des gliadines a été utilisée dans de nombreux pays. Ces marqueurs biochimiques s'ajoutent en effet aux nombreux caractères morphologiques du grain et de la plante qui sont utilisés dans le description et l'identification de la variété. Bien souvent ils suffisent pour identifier les cultivars, aussi sont-ils assez largement utilisés dans le commerce des grains. Cependant depuis plusieurs années il est fréquent de trouver des variétés ayant le même diagramme des gliadines. Pour aboutir à la distinction variétale on peut utiliser d'autres marqueurs tels que les gluténines HPM (BRANLARD, LE BLANC, 1986) ou des isoenzymes (Esterases, Peroxydases, Amylases, etc) ou encore chercher à accroître les limites de résolution des techniques électrophorètiques.

La possibilité d'identification sur grain est évidemment très utile pour le sélectionneur dans le contrôle lorsque des erreurs se sont introduites dans les manipulations des sachets ou tout simplement pour s'assurer de l'origine des cultivars avant les croisements.

Ces marqueurs biochimiques peuvent également être utilisés dans un contrôle d'homogénéité. Cette possibilité exige l'analyse d'un nombre important de grains (50 voire 100) mais peut s'avérer d'une grande utilité lorsque le sélectionneur a des soupçons sur l'identité et l'homogénéité d'un lot.

Ainsi l'électrophorèse des gliadines et/ou des gluténines peut permettre au sélectionneur de blé de contrôler l'originalité et la pureté des grains, de suivre avec rigueur les travaux de génétique, et parfois de gagner beaucoup de temps lorsque tel ou tel lot se révèle par là même inexploitable.

2 - CONTROLE DES HYBRIDES.

Du fait de la triploïdie de l'albumen, les protéines de réserve sont présentes à des concentrations X ou 2X chez l'hybride F_1 selon leur provenance paternelle ou maternelle respectivement. Dans les générations ultérieures F_2, F_3 etc, une protéine donnée peut se trouver à la concentration X ou 2X si elle correspond à une structure allélique hétérozygote et 3X dans le cas où les gènes responsables sont devenus ou restés homozygotes. A cette possibilité de détecter des structures hétérozygotes par la lecture de telle ou telle bande vient s'ajouter celle offerte par le mode d'expression codominant des allèles de ces protéines. La présence sur un même diagramme des protéines de deux allèles d'un gène donné permet de l'identifier sans ambiguité comme hétérozygote dans la mesure, bien sûr, où les protéines proviennent d'un unique grain. Dans le cas où l'extrait protéique est réalisé sur la farine des grains récoltés sur une plante, la conclusion ci-dessus s'applique au génotype de la plante et non à celui de chacun des grains.

Le secteur de la production des semences peut avantageusement utiliser ces possibilités de détection des formes hybrides où les parents sont distincts par ces marqueurs. Dans la production de semences de lignées pures présentant une aptitude à l'allogamie il est possible de contrôler ainsi s'il y a eu ou non fécondation croisée. Mais cette possibilité de détection des formes hybrides trouve naturellement son application dans le contrôle de la pureté des semences F_1, F_2 ou F_3.

Une semence F_1 de blé doit posséder au moins 90 % de grains hybrides pour être acceptée. Les 10 % restants peuvent être constitués de grains autofécondés ou correspondre à d'autres hybrides. Pour rejeter une semence ayant un taux d'hybride F_1 de 89 % accepté comme significativement différent du seuil de 90 % il faudrait analyser au moins 19 725 grains. Mais l'utilisation de la méthode d'échantillonnage progressif permet de limiter considérablement le nombre de grains à analyser tout en garantissant des risques de première et seconde espèce acceptable.

La distinction d'un lot de grains F_2 d'un autre de la génération F_3 peut se faire aisément en comparant les fréquences des bandes en disjonction. Pour celles qui sont codées par un couple d'allèles les fréquences de présence $p_1 = 0.75$ (sur grains F_2 récoltés sur F_1) et $p2 = 0.625$ (sur grains F_3) nécessitent, pour être estimées comme significativement différentes ($\alpha = 5$ %), l'analyse de 284 grains.

Des compromis entre les seuils d'acceptation des formes hybrides et les possibilités de contrôle de celles-ci peuvent donc être établis pour garantir l'originalité de ces semences.

3 - MARQUAGE GENETIQUE

L'électrophorèse des gliadines permet de confirmer la présence ou l'absence de chacun des six bras chromosomiques portant les gènes de ces protéines. Il en est de même pour les gluténines HPM dont les gènes sont situés sur les bras longs des chromosomes du groupe 1. Ainsi il est possible de suivre les étapes de création de monosomiques, de nullisomiques et de lignées de substitution portant sur ces chromosomes.

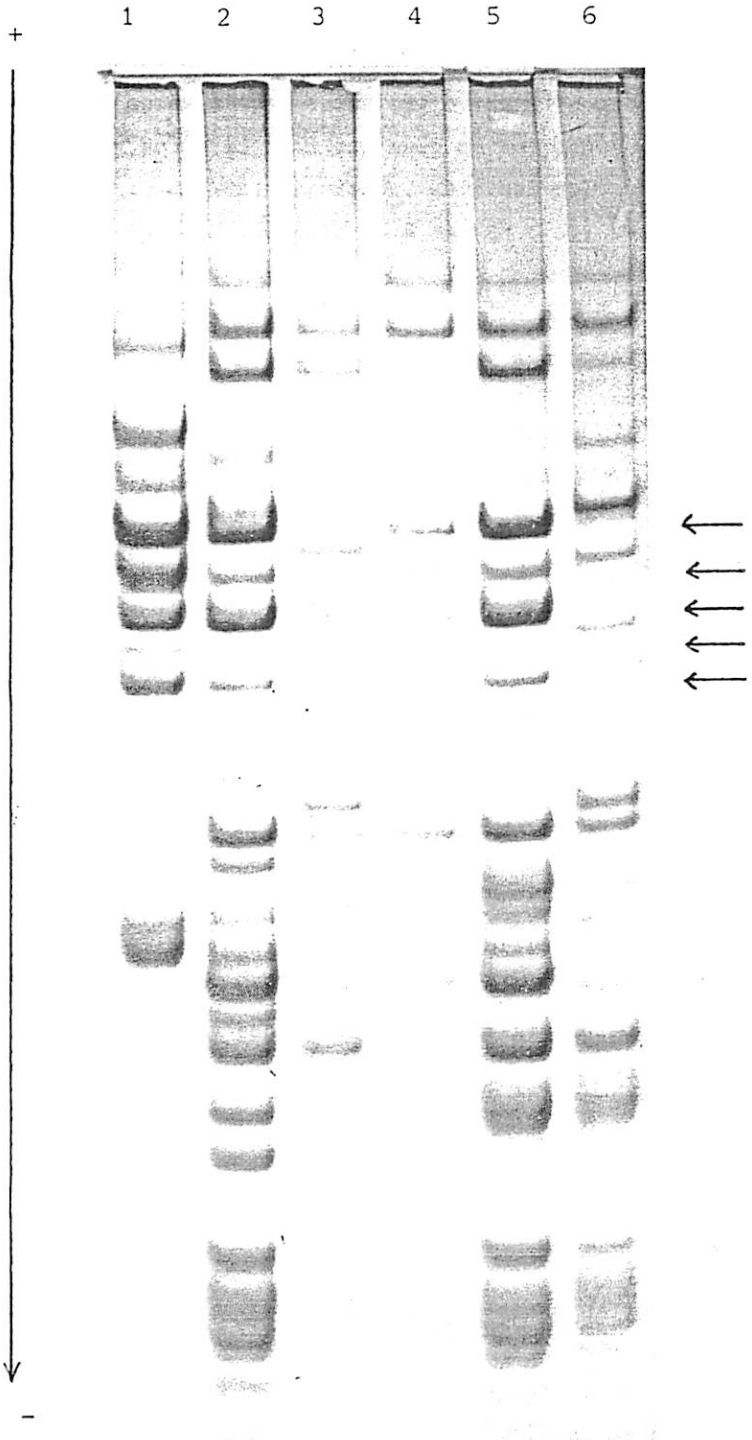
Le bras court du chromosome 1R porte les gènes responsables de la synthèse des sécalines (prolamines du seigle) ainsi que le gène qui chez certains génotypes apporte une résistance à l'oïdium. La création des blés substitués 1BS/1RS ainsi que le suivi des croisements avec ces types de blés (tels KAVKAZ RL2, ORLANDO, AURORA) peuvent aisément être contrôlés par l'observation des oméga gliadines (voir figure 1).

Les gliadines et les gluténines peuvent être également utilisées comme marqueurs de plusieurs autres caractères dont les gènes sont étroitement liés à ceux de ces protéines. Le chromosome 1B est le plus étudié à ce sujet. Deux gènes sont très liés à celui des gliadines (Gli-B1) situé sur 1BS : Yr10 conférant une résistance à certaines races de la rouille jaune (Puccinia striiformis) et Rg1, coloration rouge des glumes. On trouve aussi le gène Rf3 situé à environ 30 CM de Gli B1 et qui restaure la fertilité cytoplasmique de Triticum timopheevi (SNAPE et al., 1985). Sur le bras long du chromosome 1B, près du centromère et proche du gène des gluténines (Glu B1) se trouve le locus Sr14 qui apporte une résistance à la rouille noire (Puccinia graminis) (MC INTOSH, 1980). D'autres gènes des gliadines ont été repérés comme étroitement liés à des caractères intéressants en sélection : SOZINOV et POPERELYA (1980) ont rapporté d'étroites corrélations entre certains blocs de gliadines (groupe de bandes) et la résistance au froid. Les allèles qui codent pour ces groupes de gliadines marqueurs d'une résistance très élevée au froid se trouvent sur 5 des 6 loci des gliadines. Il est donc très probable que cette liaison résulte soit d'un apparentement au sein de leurs cultivars soit que ces allèles codent pour des gliadines ayant une teneur nettement plus élevée en proline ce qui n'a pas encore été montré. L'utilisation de ces marqueurs pour sélectionner des caractéristiques agronomiques et génétiques est possible dans certains cas comme nous venons de le voir. Des études complémentaires portant notamment sur l'importance des liaisons génétiques sont aussi nécessaires pour d'autres cas.

4 - ESTIMATION DE LA DIVERSITE.

La connaissance des multiples formes alléliques de chacun des gènes de ces protéines de réserve permet d'établir des indices d'éloignement ou de distance génétique entre individus ou populations. Chez les blés français cette diversité a été mesurée au fur et à mesure de leur inscription au Catalogue Officiel des Espèces et Variétés. On constate un resserrement de la diversité des blés, apprécié sur les protéines de réserve, mais aussi par des caractères morphologiques et agronomiques à partir des années 60 jusqu'à 1983 (BRANLARD, CHEVALET 1984 ; BRANLARD, LEBLANC 1985). le calcul de l'éloignement entre populations (diversité inter populations) peut également être fait à partir de ces marqueurs

Figure 1 - Marquage de la substitution 1BS/1RS par électrophorèse des gliadines Les blés substitués (2,4,5) possèdent les sécalines (flèches) codées par 1 RS. 1 = Seigle, 2 = Clément, 3 = Prinqual, 4 = Kavkaz, 5 = Aurora, 6 = Capitole.



(BRANLARD et al., 1986).

Cependant ces marqueurs, très polymorphes, ne proviennent que de 9 loci. Ils ne sont donc pas suffisants à eux seuls pour donner une image représentative de la diversité estimée par exemple à partir d'une vingtaine de caractéristiques morphologiques. Des recherches sont en cours pour comparer ces distances établies sur les caractéristiques biochimiques ou sur les variables morphologiques.

D'autres marqueurs tels que les protéines foliaires ou celles de l'embryon révélées par électrophorèse bidimensionnelle, devraient permettre d'accroître les possibilités d'obtenir une meilleure estimation de la diversité génétique existante. Des recherches sont donc nécessaires pour avancer :

1 - dans la construction des indices de diversité basés sur les aspects qualitatifs des diagrammes,
2 - dans l'application des outils de la biologie moléculaire à l'analyse de la diversité génétique.

5 - SELECTION POUR LA QUALITE TECHNOLOGIQUE.

La qualité d'un blé est le plus souvent évaluée par rapport à l'utilisation à laquelle il est destiné (panification, biscuiterie, biscotterie, etc.). La qualité est aussi évaluée par rapport à des critères indirects de technologie (force, tenacité, extensibilité, consistance, hydratation, recouvrance, etc) qui offrent l'avantage, par rapport aux tests directs, d'être :

1 - plus reproductibles,
2 - bien corrélés à certaines caractéristiques du produit fini,
3 - plus simples à réaliser,
4 - souvent d'une héritabilité plus élevée.

Plusieurs études ont été conduites de part le monde, pour tenter d'associer la diversité des gliadines aux caractéristiques technologiques du blé. D'abord sans succès, puis une équipe russe indiqua que des groupes de bandes de gliadines étaient associées aux valeurs de gonflement des farines dans l'acide acétique de plusieurs descendances en disjonction. Sur un ensemble de blés d'origine française, cultivés deux années de suite dans six grandes régions céréalières, on a montré que plusieurs bandes de gliadines étaient corrélées positivement et d'autres négativement à des caractéristiques technologiques. Parrallèlement des travaux entrepris par PAYNE au Plant Breeding Institute (Cambridge) montraient que certaines sous unités de gluténines HPM étaient corrélées aux valeurs du test de sédimentation SDS. Des travaux australiens et français devaient confirmer l'incidence de l'hétérogénéité qualitative des gliadines et des gluténines HPM sur la qualité de blés hélas dans de nombreux cas apparentés. Ce qui peut induire un biais important dans l'origine et la signification des corrélations observées.

A partir d'une collection très diversifiée, de part ses origines génétiques et ses aptitudes agronomiques et technologiques, cette étude de corrélation a été reprise en

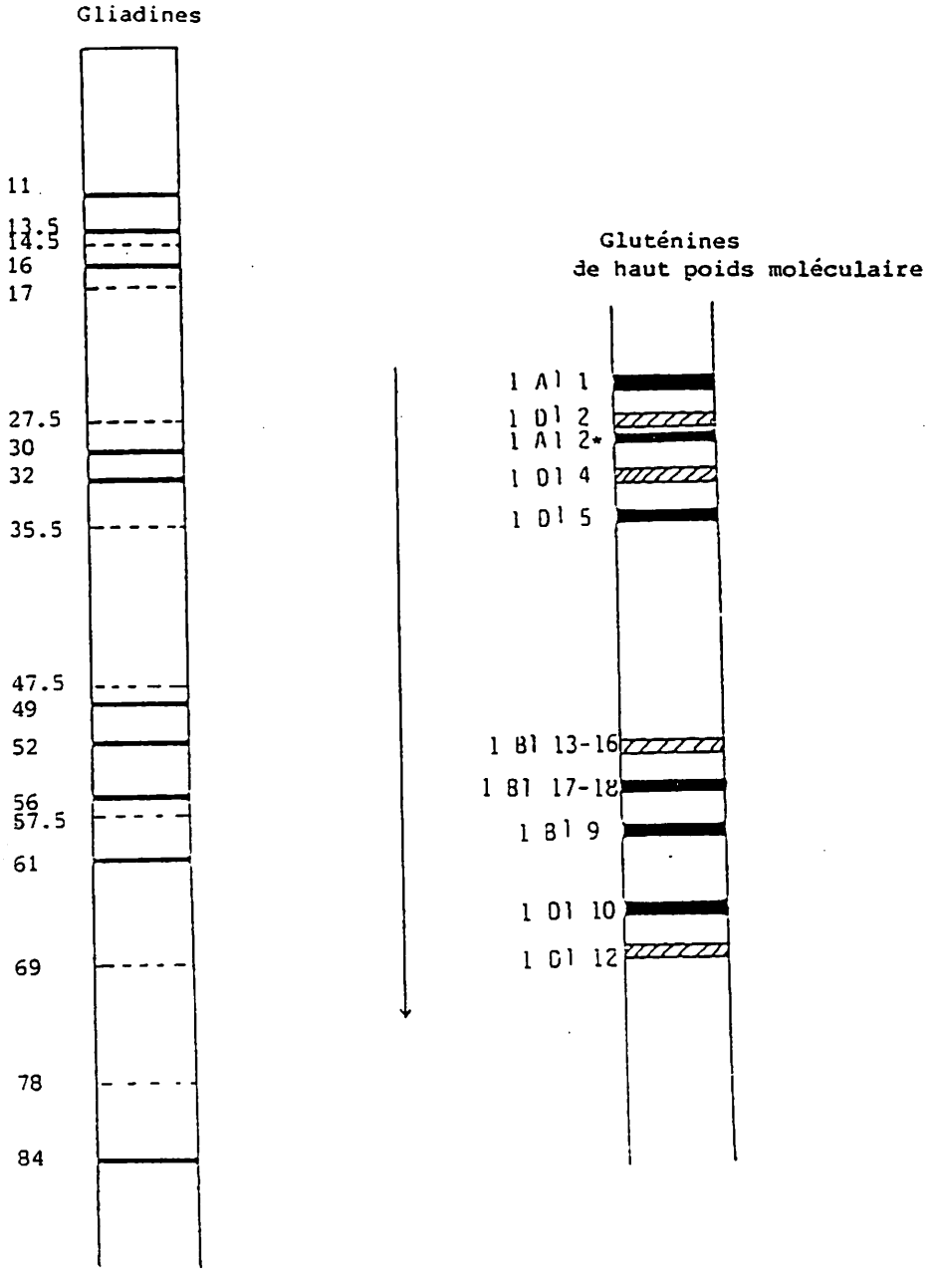


Figure 2 - Diagrammes des protéines corrélées à la qualité favorablement (trait plein), défavorablement (trait interrompu ou hachuré).

prenant soin, notamment, d'évaluer la quantité de protéines présentes au niveau de chacune des bandes électrophorétiques. La qualité des 70 blés a été appréciée notamment par les tests de Pelshenke, Zeleny et de l'alvéographe CHOPIN. La figure 2 présente les bandes de gliadines et les sous unités gluténines qui se sont révélées corrélées positivement (et négativement) avec les critères de technologie étudiés (BRANLARD, DARDEVET 1985 a, b). la majorité des gluténines HPM ont un effet marqué, soit positivement, soit négativement sur les critères rhéologiques. Certains allèles de ces gluténines HPM sont rares voire inexistants chez les blés français. Les gliadines sont essentiellement apparues corrélées à l'extensibilité de l'alvéographe et au Pelshenke.

Des études de prédiction de la qualité dans des descendances F_3 en disjonction et sur des cultivars peu ou pas apparentés ont montré que :

1 - les allèles des gluténines HPM comparativement à ceux des gliadines, correspondent à des gènes à effet majeur sur les critères rhéologiques de l'alvéographe et sur l'indice de Pelshenke.
2 - 40 à 55 % de la variabilité génétique de la qualité évaluée par ces deux tests sont expliqués par les gluténines HPM (3 loci) et les oméga gliadines (2 loci).
3 - Le test de Zeleny qui est très influencé par la teneur en protéines du grain, demeure le test le moins bien prédit par les compositions en gliadines et gluténines.

La combinaison des différents allèles responsables des bandes favorables à la qualité n'est pas réalisée actuellement chez nos blés français. Leur amélioration est donc possible.

La connaissance de ces marqueurs génétiques de la qualité ouvre des possibilités nouvelles pour l'amélioration génétique du blé tendre :

1 - en analysant la diversité des protéines de réserve on détermine la composition allélique de chacun des génotypes. On pourra ainsi choisir judicieusement les parents devant entrer dans les croisements afin d'obtenir, dans les descendances, une ou plusieurs combinaisons génétiques favorables, notamment aux critères de ténacité et d'extensibilité.
2 - en réalisant une sélection dans les générations précoces par électrophorèse sur demi grain ou sur une farine de grains d'une plante. Ces deux cas donneront des informations sur la composition allélique respectivement de l'embryon et de la plante.

Cette possibilité de sélectionner des blés à partir des marqueurs biochimiques devrait accroître l'efficacité de l'amélioration de la qualité technologique du blé. Il apparaît possible maintenant de créer des blés ayant soit une ténacité élevée, soit une forte extensibilité, soit une courbe alvéographique mieux équilibrée. L'expression des potentialités génétiques de qualité resteront toujours influencées par la teneur en protéines dont les variations en fonction des conditions agroclimatiques doivent être mieux connues.

BIBLIOGRAPHIE.

AUTRAN J.C., BOURDET A., 1975. L'identification des variétés de blé ; établissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain.
Ann. Amélior. Plantes, 25 (3), 277-301.

BRANLARD G., CHEVALET C., 1984. Sur la diversité des blés tendres cultivés en France.
Agronomie 4 (10), 933-938.

BRANLARD G., DARDEVET M., 1985. Diversity of protein and bread wheat quality :
I - Correlation between gliadin bands and technological characteristics.
Journal of Cereal Science, 3, 329-343.

BRANLARD G., DARDEVET M., 1985. Diversity of protein and bread wheat quality :
II - Correlation between HMW glutenin bands and technological quality
Journal of Cereal Science, 3 , 345-354.

BRANLARD G., LE BLANC A., 1985. Les sous unités gluténines de haut poids moléculaire des blés tendres et des blés durs cultivés en France.
Agronomie 5 (6), 467-477.

BRANLARD G., KOENING J., PICARD B., 1986. Evaluation of the genetic diversity of wheat germplasm.
Proceeding of the Eucarpia Meeting, Radzikow, 18-19 juin (in press).

COURVOISIER C., 1984. Polymorphisme des protéines de réserve du blé tendre.
Thèse Docteur d'Etat, ORSAY, 135 p.

FEILLET P., 1965. Contribution à l'étude des protéines du blé - Influence des facteurs génétiques, technologiques et agronomiques.
Ann.Technol. Agric., 14, HS.1, 1-94.

MC INTOSH R.A., 1980. Chromosome location and linkage studies with the wheat stem rust resistance gene. Sr 14.
Cereal Research Commun. 8, 315-320.

METAKOVSKY E.V., NOVOSELSKAYA A.Y., KOPUS M.M., SOBKO T.A., SOZINOV A.A., 1984.
Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one dimensional polyacrylamide gel electrophoresis.
Theor. Appl. Genet., 67, 359-368.

PAYNE P.I. and LAWRENCE G.J 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci :
Glu-A1, Glu-B1 and Glu D1 which code for high - molecular - weight subunits of glutenin in hexaploid wheat.
Cereal Research Commun. 11, 29-35.

SNAPE J.W., FLAVEL R.B., O'DELL M., HUGHES W.G.W. and PAYNE P.I., 1985.
Interchromosomal mapping of the nucleolar organiser region relative to three marker loci on chromosome 1B of wheat (Triticum eastivum).
Theor. Appl. Genet. 65, 103-111.

SOZINOV A.A., POERELYA F.A., 1980. Genetic classification of prolamines and its use for plant breeding.
Ann. technol. Agric. 99 (2), 229-245.

WOYCHICK J.H., BOUNDY J.A., DIMLER R.J., 1961. Starch gel electrophoresis of wheat proteins with concentrated urea.
Arch. Biochem. Biophys : 94, 477-482.