

Contrôle de rattrapage

Marqueurs moléculaires et Amélioration des Plantes,

MODULE 'Biotechnologies et Amélioration des Plantes'
Parcours S6 : 'Biologie Appliquée aux Productions Végétales'
Juin 2015, durée : 75 minutes.

QUESTION 1

L'**argousier** (*Hyppophae salicifolia*), riche en vitamines (A, B1, B12, E, K) et en polyphénols, est une plante dioïque où seules les plantes femelles donnent des fruits d'intérêt médicinal. Traçant comme objectif, l'identification des pieds mâles et femelles, Shirkot et *al.* (2009, Indian Journal of Forestry 32, 231-237) ont étudié par électrophorèse le polymorphisme de plusieurs enzymes dont la malate déshydrogénase (MDH), la catalase (CAT) et les peroxydases (PER) extraites des feuilles d'**argousier** de sexe différent.



Ainsi des gels de 9,5% en polyacrylamide, préparés dans un tampon basique, ont été utilisés dans des électrophorèses réalisées dans un tampon lithium-borate de pH 8,3. Après révélation des différentes isoenzymes sur gel, les zymogrammes obtenus sont représentés par la figure ci-dessous.

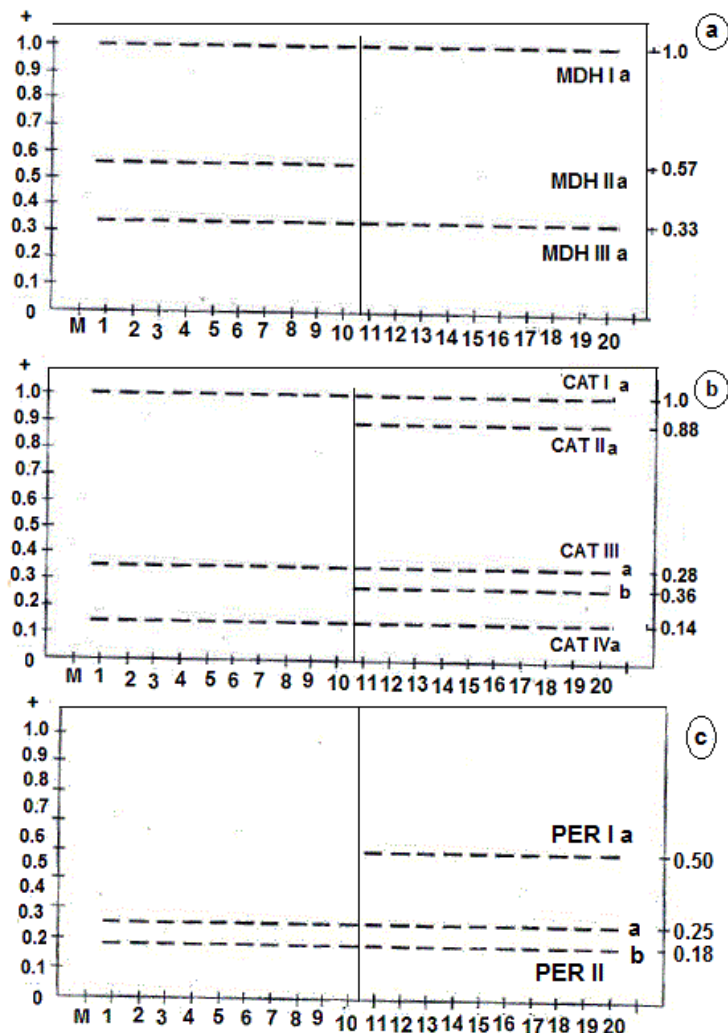
1/ Rappeler le principe de détection des isoenzymes sur gel, après électrophorèse.

2/ Quel(s) est (sont) le(s) critères moléculaires exploités dans la technique d'électrophorèse des isoenzymes ?

3/ Comment changeraient la mobilité (valeurs de Rf) des isoenzymes sur des gels de concentrations supérieures à 9,5% en polyacrylamide ?

4/ A l'aide d'un tableau citer séparément, les isoenzymes caractéristiques des sexes mâle et femelle chez l'**argousier**.

5/ Dans un tableau, citer par rapport à d'autres marqueurs (RFLP, RAPD, AFLP et SSR), les avantages de l'utilisation des isoenzymes dans ce genre d'étude ?



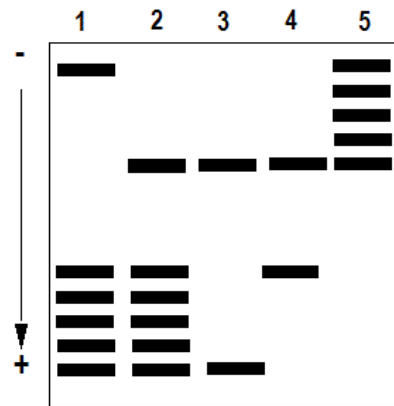
1-10: Male genotypes; 11-20: Female genotypes

Isozyme patterns of a. Malate dehydrogenase (MDH), b. Catalase (CAT) and c. Peroxidase (PER) enzyme systems in 20 genotypes of *Hippophae salicifolia*.

QUESTION 2

L'étude par électrophorèse sur gel d'amidon d'une enzyme extraite à partir d'un matériel biologique, a permis d'obtenir le zymogramme ci contre, après révélation avec les substrats spécifiques de l'enzyme.

Intépréter brièvement le zymoramme dont il est question (nombre de loci, structure de l'enzyme, nombre d'allèles et inventaire des génotypes)



Réponses succinctes

Question 1

1/ Principe de détection des isoenzymes :

- Extraction dans des conditions non dénaturantes – Electrophorèse dans des conditions non dénaturantes – Révélation des isoenzymes en ajoutant les substrats directement sur le gel après électrophorèse. Lien : <http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-detection.pdf>

2/ Critères exploités dans la Techniques des isoenzymes

- Charge électrique

3/ Sur des gels de concentration supérieure à 9,5%, les isoenzymes vont migrer lentement et leurs Rf vont diminuer. Lien : http://www.takween.com/techniques/05_Electrophorese.html

4/ Isoenzymes caractéristiques des sexes

	Mâles	Femelles
MDH IIa	+	-
CAT IIa	-	+
CAT IIIb	-	+
PER Ia	-	+

5/ Isoenzymes caractéristiques des sexes

	Avantages	Inconvénients
Isoenzymes/RFLP	Moins chères, pas de transfert, pas de purification, rapides	Conditions non dénaturantes, nombre limité, effet de l'environnement
Isoenzymes/RAPD	Moins chères, Codominance, sans PCR, rapides	Conditions non dénaturantes, nombre limité,
Isoenzymes/AFLP	Moins chères, Codominance, sans PCR, rapides	Conditions non dénaturantes, nombre limité, effet de l'environnement
Isoenzymes/SSR	Moins chères, sans PCR, rapides	Conditions non dénaturantes, nombre limité, effet de l'environnement

Question 2

Interprétation du zymogramme

- 2 zones de migrations : 2 loci indépendants
- Enzyme tétramérique
- 2 allèles

Génotypes de gauche vers la droite :

Locus 1 : BB, AA, AA, AA, AB ----- Locus 2 : AB, AB, AA, BB

Lien : <http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-heteromériques.pdf>

Contact : baaziz@uca.ma