

INFORMATISATION DE L'IDENTIFICATION VARIETALE DES CEREALES PAR ELECTROPHORESE : UNE PREMIERE ETAPE

par J.C. AUTRAN et P. ABBAL*

Résumé

Dans la perspective d'une automatisation totale de la saisie et du traitement des électrophorégrammes utilisés pour la reconnaissance des variétés de céréales, une première étape a consisté à construire une banque informatique de diagrammes protéiques de blés tendres et de blés durs.

A partir d'un matériel IBM PC-XT, trois logiciels ont été conçus afin de :

- saisir et stocker sur disque dur des données électrophorétiques (mobilités, intensités), soit à partir de schémas de diagrammes déjà décodés visuellement, soit à partir de mesures directes sur des photographies de gels d'électrophorèse.
- Identifier une variété inconnue par interrogation de la banque de diagrammes sur la présence d'une ou plusieurs bandes discriminantes.
- Identifier une variété inconnue par comparaison globale de son diagramme avec ceux de l'ensemble des variétés françaises grâce à un calcul automatique d'indices de similarité.

La fiabilité et la souplesse de ces logiciels, ainsi que la rapidité du traitement sont discutées à partir d'exemples concrets. Les auteurs estiment ces performances supérieures à celles de l'ancien système de clé de détermination et susceptibles d'améliorer l'efficacité et le pouvoir discriminant des méthodes d'identification variétale fondées sur l'électrophorèse des protéines.

COMPUTER-BASED IDENTIFICATION OF CEREAL VARIETIES BY ELECTROPHORESIS : A FIRST STEP

Summary

In view to a complete automatization of acquisition and processing of electrophoregrams that are used in varietal identification of cereals, a first step has consisted in developing a computer-aided library of proteic electrophoretic patterns of bread wheats and durum wheats.

Using a IBM PC-XT computer, three programs were developed in order to :

- enter into memory and store on a hard disc electrophoretic data (mobility, intensity), either from manually prepared arrays or from direct measurements on photographic prints of gel slabs,
- identify an unknown variety by questioning the library about presence of some discriminant bands,
- identify an unknown variety by quantitation of the extent of its pattern homology with those of all french varieties put in memory and list all of them in order of decreasing similarity.

Reliability and flexibility of these programs, as well as rapidity of data processing were discussed from examples. The authors consider that a such system has many advantages over the previous key of identification procedure. It should allow to improve effectiveness and discriminative power of electrophoresis-based methods for identifying cereal varieties.

* Laboratoire de Technologie des Céréales. INRA. 9. place Viala. 34060 Montpellier Cedex.

possibilité d'identifier un échantillon inconnu par comparaison automatique de son diagramme (ou de quelques constituants seulement de ce diagramme) avec l'ensemble de ceux mis en mémoire. Ce système dont l'utilisation est extrêmement simple, qui est totalement ouvert et applicable à n'importe quel type d'électrophorèse, est d'ores et déjà susceptible, à partir d'un matériel largement répandu (IBM-PC), de remplacer l'ancien système de clé de détermination.

MATERIEL ET METHODES

Méthodes d'électrophorèse des protéines du blé

Les électrophorégrammes traités dans ce travail ont été obtenus par différentes méthodes :

- L'électrophorèse des gliadines en gel d'amidon, tampon lactate d'aluminium, pH 3.2 (Autran et Bourdet, 1975 ; Norme AFNOR V 03-715, 1981).

- L'électrophorèse des gliadines en gel de polyacrylamide, tampon lactate d'aluminium, pH 3.1, initialement décrite par Bushuk et Zillman (1978) et adaptée par Autran (1979).

- L'électrophorèse des protéines réduites totales en gel de polyacrylamide-SDS, tampon Tris-Glycine, pH 8.8 (Payne *et al.*, 1979 ; Autran, 1984 ; Berger et Le Brun, 1985).

Des exemples de diagrammes obtenus par chacune de ces trois méthodes sont donnés sur la figure 1.

Préparation des diagrammes

Quelle que soit la technique électrophorétique utilisée, les diagrammes ont été présentés sous une forme standard dans laquelle chaque bande est codée par un couple de valeurs mobilité/intensité. Comme cela est exposé ci-dessous (§ Saisie des données), les mobilités sont des valeurs entières calculées relativement à des bandes de référence ; les intensités des bandes sont exprimées selon une échelle de valeurs entières allant de 1 à 5. En particulier, les électrophorégrammes dont les intensités étaient anciennement schématisées au moyen des symboles tr., +, ++, +++, ont été retranscrits sous la forme chiffrée standard, d'ailleurs compatible avec la présentation utilisée par Zillman et Bushuk (1979), Lookhart *et al.*, (1983), Sapirstein et Bushuk (1985 b).

Le tableau 1 illustre cette présentation des schémas de diagrammes dans le cas de la variété française la plus cultivée actuellement : FIDEL.

Logiciels de traitement des données

Les données électrophorétiques ainsi schématisées sont introduites dans un fichier d'ordinateur. Un puissant gestionnaire de fichiers permet la constitution et la mise à jour automatique du catalogue des diagrammes. Un ensemble de logiciels permet ensuite la comparaison d'un diagramme donné (soit celui d'une variété inconnue, saisi directement, soit celui d'une variété connue, extraite du catalogue), avec l'ensemble des autres diagrammes variétaux. Cette comparaison se fonde sur le calcul d'indices

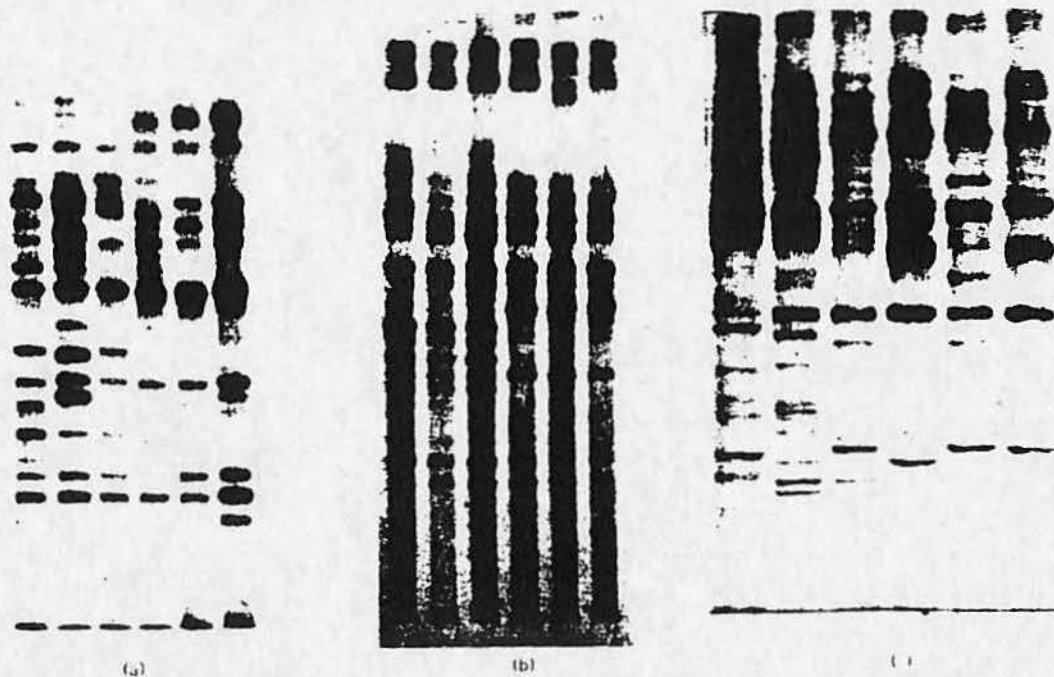


Figure 1: Exemple de diagrammes électrophorétiques utilisés dans ce travail.

(a): Electrophorèse de gliadine en gel d'amidon (blés tendres).

(b): Electrophorèse de gliadine en gel de polyacrylamide (blés durs).

(c): Electrophorèse de protéines totales (blés durs et blés tendres).

VARIETE : FESTIVAL

22	2	26	4	30	3	39	3	44	2	46	4	49	3
53	1	56	3	62	2	65	5	68	1	71	1	72	3
77	2	79	3	81	3	83	3	91	3	96	4	98	1

Tableau 1: Représentation schématique utilisée dans ce travail pour le diagramme électrophorétique des gliadines en gel d'amidon de la variété FESTIVAL.

mobilité relative = f (distance en mm)
 et arrondies à l'entier le plus proche, qui sont cette fois
 inscrites dans le fichier variétal.

Quel que soit le mode d'acquisition, les données sont stoc-
 kées dans un premier fichier sur disque dur Winchester
 10 Mo ou sur disquette 5"1/4 360 Ko MS-DOS.

Un diagramme variétal (renfermant un nombre maximum
 de 35 bandes) occupe 160 octets, dont 15 pour le nom de
 la variété, 2 pour le nombre de couples mobilités/intensi-
 tés et 2 x 70 pour les valeurs de ces 35 couples.

Un second fichier de contrôle facilite la gestion des infor-
 mations.

Ces données constituent alors une banque de diagrammes
 variétaux qui sera directement exploitable dans les diffé-
 rents programmes de traitement.

Actuellement, deux banques de diagrammes ont été cons-
 tituées :

- L'une pour les diagrammes gliadines en gel d'amidon
 des 100 variétés de blés tendres les plus cultivées en
 France. Ces diagrammes sont ceux des clés de détermi-
 nation publiées annuellement par le BIPEA.

- Une seconde renfermant les diagrammes de la totalité
 des blés durs français, soit tels qu'ils ont été publiés par
 le groupe de travail IRTAC, c'est-à-dire uniquement quali-
 tatifs (Berger et Le Brun, 1985), soit, dans une seconde ver-
 sion, en tenant compte des intensités relatives.

D'autres types de catalogues de diagrammes protéiques,
 en particulier celui des blés tendres français selon la tech-
 nique en gel de polyacrylamide actuellement à l'étude, ou
 encore celui des orges (Montebault et al., 1983), pourront
 évidemment être exploités de la même manière.

A signaler également qu'à l'intention des généticiens du
 blé, on envisage de créer rapidement une banque à partir
 des diagrammes gliadines de toutes les souches disponi-
 bles des différents progéniteurs sauvages des blés. Ceci
 dans le but de contribuer à une nouvelle approche de la
 recherche des homologues ou des "distances" génétiques
 entre variétés et espèces.

3) Consultation du fichier

Le gestionnaire de fichier permet également de consulter
 la banque de diagrammes sur l'écran ou de l'imprimer :

- soit en demandant le listing d'une variété donnée
- soit en demandant le listing complet du catalogue.

Le listing peut être obtenu :

- soit sous la forme des couples mobilité/intensité,
 comme nous l'avons illustré sur le tableau 1 ci-dessus,
- soit sous une forme compacte qui permet très facile-
 ment de visualiser les analogies et les différences entre
 variétés, chaque bande figurant par le chiffre de son inten-
 sité à une position correspondant à sa mobilité relative
 (tableau 2).

	20	30	40	50	60	70	80	90	100																		
TOP	2	4	3	1	2	2	4	2	2	2	2	5	2	2	3	1	4	3	3	4	4	2					
CAPITOLE	2	3	2	1	2	2	3	2	2	2	3	5	3	2	2	2	4	3	3	3	4	1					
HARDI	2	4	3	1	2	2	4	2	1	2	2	5	2	2	3	3	2	4	3	3	4	2					
LUTIN	2	3	2		3	1	1	3	4		1	1	3	5	2	3	3	1	4	1	3	4					
TALENT	2	3	2			2	3		1	2	3	5	1	2	1	4	3	4	3	2	4	1					
ARMINDA	2	4	3			3	3		2	2	2	5	2	1	3	3	3	3	3	3	2	2	2				
CASTAN	2	4	3	1			2	3		1	2	1	5	3	1	2	3	1	3	3	3	1	3	2	2	2	
CORIN	2	3	2	2		2	2	3	2	1	2	1	5	2	2	3	1	3	3	3	3	1	4	1	4	1	
BEAUCHAMP	2	4	2	1	3	2	4	2	1	3	3	5	2	2		3	2	3	4	3	3	2	2	2	2	2	
FIDEL	3	3	3	3	2	2	1	2	4	3	1	3	3	5	4	3	3	2	4	3	4	2	2	2	2	2	
GALA	2	4	2		2	1	4	2	1	2	3	5	2	1	3	1	3	3	3	3	1	3	1	2	2	2	
TANGO	2	4	3	1	2	2	4	2	1	2	3	5	2	1	2	1	3	3	3	3	3	4	1	4	1	1	
AQUILA	2	4	3	3		2	4		1	2	2	5	1	1	1	3	2	3	4	4	3	3	3	3	1	1	
CARLOS	2	4	3			2	4		1	2		5	1	1	2	3	1	3	3	3	3	3	4	1	1	1	
GARANT	2	4	3		3	1	1	2	2	4		1	1	3	5	1	1	2	2	4	4	1	1	4	4	2	
PURSANG	2	4	3			1	3	2		2	2	5	3	2	3	2	3	2	3	2	3	3	3	2	2	2	
SCIPION		4	3		2	2	4				3	5	2	1	3	1	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	
SABRE	2	4	3	1		2	4		1	3	2	5	2	2	3	2	4	3	3	1	2	3	4	1	1	1	
RIDL	2	4	2			2	2	4			1	2	5		1	2	3	2	3	3	3	3	3	4	1	1	
CARAT	2	4	2	3	2	2	1	2	4			3	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	1	1	
CAMP REMY	2	4	2		2	2	3	2	1	2	3	5	2	2	3	3	2	4		3	1	4	1	1	1	1	
FRANDOC	2	3	3			2	4				1	5	2	2	3	2	4	3	4	3	4	1	4	1	1	1	
FESTIVAL	2	4	3		3	2	4	3	1	3	2	5	1	1	3	2	3	3	3	3	3	4	1	4	1	1	
CATON	2	4	3	1		3	3		1	2	3	5	1	1	1	3	2	4		3	4	1	4	1	1	1	
COGAGNE	2	4	3	1		3	4		1	2	3	5	2	1	3	3	2	4	1	3	1	4	2	2	2	2	
DARIUS					2	2	3	2	2	2	3	5	2		3	1	4	3	3	3	4	1	4	2	2	2	
PRINQUAL		4	3		3	3	1	2	1	4	1	2	2	5	2	3	2	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Tableau 2 : Listing compact des schémas de diagrammes électrophorétiques en gel d'amidon des variétés françaises de blé tendre les plus cultivées actuellement.

- soit pour comparer une variété particulière se trouvant dans le catalogue, à l'ensemble des autres,
- soit pour comparer le diagramme d'une variété inconnue avec ceux de toutes les variétés du catalogue dans le but d'identifier cette variété.

1. Hypothèse de travail

L'idée de se fonder sur des indices de similarité pour comparer des électrophorogrammes avait déjà été exploitée par simple calcul manuel par Autran (1975) et, plus récemment avec les moyens de l'informatique, par Lookhart *et al.*, (1983).

Il y a évidemment de nombreuses manières de concevoir des indices de similarité entre de telles séries de données chiffrées. Nous avons donc retenu certains des principes de calcul de Lookhart *et al.*, (1983) mais avec des modifications (décidées après un certain nombre de simulations sur les variétés françaises) permettant une meilleure discrimination de ces variétés, comme cela est exposé ci-dessous.

Il est également important de préciser que, parmi nos hypothèses de travail, certaines sont d'ordre "biologique", c'est-à-dire fondées sur la nature même des électrophorogrammes, sur l'existence de constituants protéiques identifiables par des couples de valeurs mobilités/intensités. D'autres hypothèses sont davantage d'ordre empirique, c'est-à-dire qu'à partir de la connaissance des électrophorogrammes et de leur fluctuation expérimentale, laquelle influence la précision de saisie des données et la validité des comparaisons, on a décidé de donner plus ou moins de poids (notamment au moyen de l'élévation à des puissances fractionnaires) à tel ou tel paramètre objectif intervenant dans le calcul des indices de similarité.

Bien que le calcul finalement retenu soit issu de nombreuses simulations sur le pouvoir discriminant de la méthode au niveau des variétés françaises courantes, il est certain qu'on peut émettre diverses objections quant aux hypothèses retenues. Il doit être bien clair que la méthode de calcul présentée ici reste certainement perfectible. Il s'agit simplement de celle qui, dans l'état actuel de nos recherches, nous a paru le mieux discriminer les variétés en prenant pour référence leur parenté génétique ainsi que les précédents indices de similarité de Autran (1975).

2. Détail du calcul des indices de similarité

L'indice de similarité IS de deux diagrammes est constitué par le produit de 3 indices intermédiaires : I_1 , I_2 et I_3 , dont le calcul est détaillé ci-dessous :

a) Calcul de I_1 :

Tout d'abord, deux bandes sont considérées comme identiques lorsque leur mobilité a exactement la même valeur. Le nombre de **bandes identiques** entre deux variétés est appelé BI.

Pour tenir compte des fluctuations expérimentales et du fait qu'une différence d'une unité dans la mobilité peut provenir d'un léger écart dans la saisie (ou d'une déformation insuffisamment compensée par l'utilisation des bandes témoins), le calcul prend également en compte (mais, comme on le verra ci-dessous, avec moins de poids) des bandes pouvant se trouver à + ou - 1 unité de la bande comparée. Le nombre de ces bandes dont les mobilités ont été trouvées très voisines lors de la comparaison de deux diagrammes est appelé BV.

Dans le calcul de la similarité, on a décidé de donner plus de poids aux bandes de mobilité identique qui ont en outre même intensité, qu'à celles ayant des intensités différentes (ces dernières ayant une probabilité moins grande de

correspondre à la même espèce moléculaire). Pour ce faire, chaque couple de bandes identiques (ou ne différant que de + ou - 1 unité) et dont les intensités respectives sont par exemple D_1 et D_2 , est affecté d'un **coefficient de similarité CS** calculé au moyen de la formule suivante :

$$CS = \frac{D_1 + D_2}{(\text{sup.}(D_1, D_2)) \times |(D_1 - D_2)|}$$

dans laquelle on prend arbitrairement $(D_1 - D_2) = 1$ dans le cas où $D_1 = D_2$.

De cette même manière, pour un couple de bandes de même mobilité et de même intensité (par exemple 2 et 2 ou 5 et 5), CS est toujours égal à 2. Par contre, lorsque les intensités sont différentes (par exemple 5 et 4 ou 3 et 1), CS devient respectivement égal à 1.80 et à 0.65 seulement.

Lors de la comparaison de deux diagrammes, le **coefficient est automatiquement calculé pour chacun des couples de bandes présentant des mobilités identiques** (ou se trouvant à + ou - 1 unité d'écart). CS est évidemment égal à 0 lorsque la différence des mobilités est supérieure à 1. La somme de tous les CS trouvés entre les deux variétés est alors automatiquement calculée et donne un premier indice de similarité I_1 .

$$I_1 = \sum CS$$

b) Calcul de I_2 :

Pour donner plus de poids aux bandes possédant exactement la même mobilité par rapport à celles différant d'une unité (car on peut penser que cet écart donne une probabilité plus grande à avoir affaire à deux protéines différentes plutôt qu'à la même), un second indice I_2 est calculé en faisant le rapport du nombre de bandes identiques BI par la somme des bandes identiques BI et des bandes voisines BV, le tout à la puissance 0,25.

$$I_2 = \left(\frac{BI}{BI + BV} \right)^{0.25}$$

Nous avons en effet observé que le calcul utilisé par Lookhart *et al.*, (1983), c'est-à-dire le simple rapport $BI/BI + BV$ donnait trop d'importance aux bandes voisines. L'introduction d'une puissance inférieure à 1 a pour but de réduire le poids de BV sans le supprimer totalement.

c) Calcul de I_3

Pour tenir compte enfin du nombre total de bandes des diagrammes (lequel peut être sensiblement différent d'une variété à l'autre), un troisième indice I_3 a dû être introduit. En effet, si l'on considère un cas extrême où 2 diagrammes ont respectivement 10 et 20 bandes et si les 10 bandes du premier diagramme ont par hasard des mobilités correspondant exactement à 10 des 20 bandes du second diagramme, les formules ci-dessus ne permettent de mettre en évidence aucune différence, ce qui est un autre inconvénient du système de Lookhart *et al.*, (1983), notamment lorsqu'on compare des diagrammes d'espèces différentes. En désignant respectivement le nombre de bandes de la variété témoin et celui de la variété inconnue par NT et NI, le troisième indice que nous proposons est alors calculé par la formule suivante

$$I_3 = \left(\frac{\text{inf}(NT, NI)}{\text{sup}(NT, NI)} \right)^{0.25}$$

Finalement l'indice de similarité de 2 variétés IS (exprimé

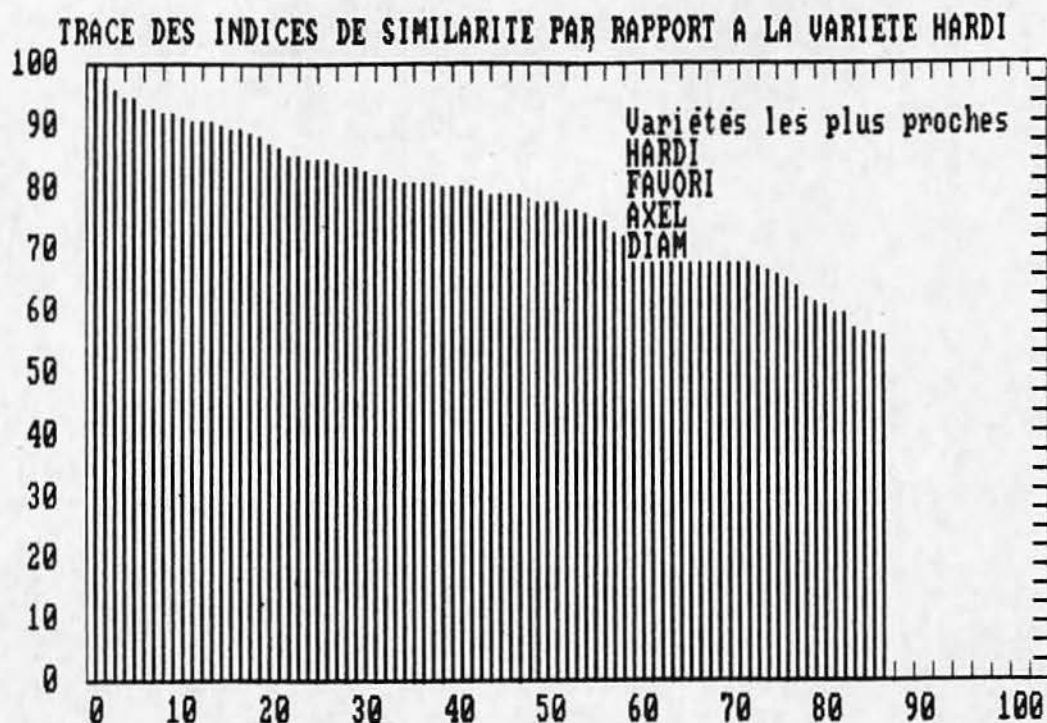


Figure 4 : Présentation graphique des indices de similarité des diagrammes de 80 variétés françaises de blé tendre calculés par rapport à la variété HARDI.

3) Comparaison entre le calcul des indices de similarité et l'ancien système de clé de détermination

Il faut bien réaliser qu'il n'y a pas identité entre le mode de calcul d'un indice de similarité (qui prend en compte toutes les bandes d'un diagramme et leurs intensités) et la "parenté" des variétés telle qu'elle ressort d'une clé dichotomique (laquelle ne prend en compte, et dans un certain ordre, que de quelques bandes et dans laquelle les faibles différences d'intensité ne sont pas considérées). En général, les variétés présentes dans la clé au sein d'un même groupe possèdent des indices de similarité voisins, mais il peut arriver qu'une accumulation de faibles différences quantitatives au niveau de bandes individuelles

(donc non prises en compte dans la clé) puisse finalement peser sur le calcul de l'indice et faire aboutir à une différence globale significative. De même, compte-tenu du mode arbitraire de constitution de la clé, notamment de l'ordre dans lequel les dichotomies sont utilisées, il ne faut pas être surpris si des variétés qui apparaissent dans le même secteur de la clé ont des indices de similarité parfois plus faibles que deux variétés se trouvant à plus grande distance. C'est que le mode de calcul est global tandis que la clé ne met en jeu qu'un nombre aussi réduit que possible de bandes jugées les plus discriminantes.

Un premier exemple où il y a parfait accord entre le calcul de l'indice de similarité et la clé a été donné ci-dessus avec les variétés HARDI, FAVORI, AXEL, DIAM (figure 4).

DIAGRAMMES DES VARIETES LES PLUS PROCHEES

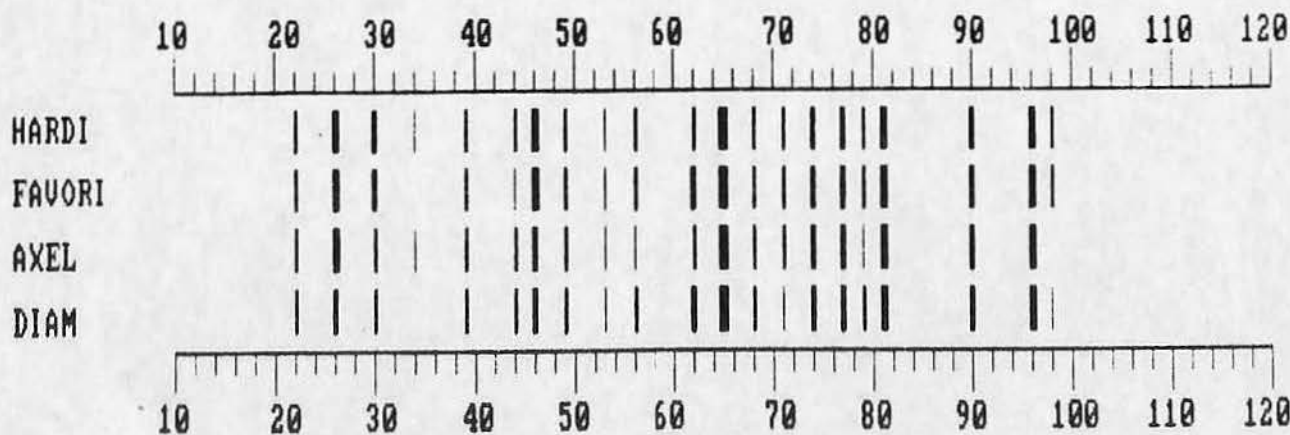


Figure 5 : Restitution graphique des schémas de diagrammes des 3 variétés trouvées les plus proches de la variété HARDI (d'après le calcul des indices de similarité de la figure 4).

Ce nouveau système, qui actuellement ne fonctionne qu'à partir de données électrophorétiques chiffrées "lues" par un expérimentateur, paraît néanmoins constituer un progrès substantiel sur le système actuel, notamment pour ce qui est de la simplicité, de la rapidité et de la fiabilité de la gestion et du traitement des données, rendant ainsi plus performante l'identification des variétés de céréales par électrophorèse.

Cette base de départ nous est en effet apparue indispensable pour l'étude des problèmes plus complexes que nous allons maintenant aborder. Dans la phase qui va suivre, nous entendons analyser les électrophorégrammes au moyen d'un système électronique du type densitomètre, interfacé à notre système informatique. Il devrait être alors possible de digitaliser les courbes et de transformer l'information brute en un ensemble de données schématisées pouvant être traitées par les logiciels décrits dans ce travail.

Dans une phase ultérieure, le problème sera de traiter, non plus des électrophorégrammes de variétés pures, mais des courbes complexes issues de diagrammes de mélanges variétaux. Il sera alors indispensable de ne plus se limiter à traiter des couples de valeurs (mobilité, intensité) mais de travailler sur la totalité de l'information des courbes densitométriques comme dans le cas des analyses de formes ou des analyses d'images. Une étude approfondie de la structure mathématique des familles de courbes qui caractérisent une variété et l'utilisation de descripteurs appropriés de ces courbes devrait permettre, comme dans le cas de l'interprétation des spectres infra-rouges, de retrouver par le calcul, avec une certaine approximation, la nature et le pourcentage des variétés présentes dans un mélange du type farine industrielle.

C'est ce que nous étudions actuellement en collaboration avec le Laboratoire de Biométrie (INRA-ENSAM-USTL-Montpellier) pour les aspects mathématiques, le Laboratoire de Sciences du sol (INRA-ENSA-Montpellier) pour le système d'analyse d'image utilisé en télédétection et le Laboratoire des Aliments pour Animaux (INRA-Nantes) pour les logiciels de traitement de spectres infra-rouges.

Nous tenons à remercier tous nos collègues du Laboratoire de Technologie des Céréales pour les remarques et suggestions qu'ils ont portées sur le manuscrit.

Bibliographie

- AUTRAN J.C., 1975 - Nouvelles possibilités d'identification des variétés françaises de blé par électrophorèse des gliadines du grain. *Ind. Alim. Agric.*, 92, 9-10, 1075-1094.
- AUTRAN J.C., BOURDET A., 1975 - L'identification des variétés de blé : Etablissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain. *Ann. Amélior. Plantes*, 25, 3, 277-301.
- BERGER M., LE BRUN J., 1985 - Nouvelle clé d'identification des variétés de blé dur. *Industries des Céréales*, 17-25.
- B.I.P.E.A. (annuel) - Clé de détermination des variétés de blé tendre par électrophorèse des gliadines. Document élaboré par l'ARCAM, l'ARIA, l'ENSMIC, le GEVES et l'INRA.
- BUSHUK W., RERIE W., ZILLMAN R.R., 1980 - Procedure manual for polyacrylamide gel electrophoresis of gliadins as a basis for wheat cultivar identification. Document of Department of Plant Science, Université de Manitoba, Canada, 13 p.
- BUSHUK W., ZILLMAN R.R., 1978 - Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. *Can. J. Plant. Sci.*, 58, 505-515.

DAL BELIN PERUFFO A., PALLAVICINI C., VARANINI Z., POGNA N.E., 1981 - Analysis of wheat varieties by gliadin electrophoregrams. I. Catalogue of electrophoregram formulas of 29 common wheat cultivars grown in Italy. *Genetica Agraria*, 35, 2, 195-208.

DAL BELIN PERUFFO A., PALLAVICINI C., CUNIBERTI T., 1981 - Identificazione di varietà di frumento geneticamente affini mediante elettroforesi su gel di poliaccrilamide. *Tecnica Molitoria*, 31, 95-101.

DRAPER S.R., CRAIG E.A., 1981 - A phenotypic classification of wheat gliadin electrophoregrams. *J. Natn. Inst. Bot.*, 15, 390-398.

DU CROS D.L., WRIGLEY C.W., 1978 - Identification of recently registered wheat cultivars. *J. of Aust. Inst. of Agric. Sci.*, 44, 22, 126-128.

ELLIS J.R.S., BEMINSTER C.H., 1977 - The identification of U.K. wheat varieties by starch gel electrophoresis of gliadin proteins. *J. Natl. Inst. Agric. Bot.*, 14, 221-231.

JONES B.L., LOOKHART G.L., HALL S.B., FINNEY K.F., 1982 - Identification of wheat cultivars by gliadin electrophoresis: Electrophoregrams of the 88 wheat cultivars commonly grown in the United States in 1979. *Cereal Chem.*, 59, 3, 181-188.

KONAREV V.G., GAVRILJUK I.P., GUBAREVA N.K., 1981 - Specificity and nomenclature of gliadin in connection with registration of wheat genetic resources. Compte-rendu du Symposium Franco-Soviétique, 10-12 février, Clermont-Ferrand, 16 p.

LOOKHART G.L., JONES B.L., HALL S.B., FINNEY K.F., 1982 - An improved method for standardizing polyacrylamide gel electrophoresis of wheat gliadin proteins. *Cereal Chem.*, 59, 3, 178-181.

LOOKHART G.L., JONES B.L., WALKER D.E., HALL S.B., COOPER D.B., 1983 - Computer-assisted method for identifying wheat cultivars from their gliadin electrophoregrams. *Cereal Chem.*, 60, 2, 111-115.

MONTEBAULT A., 1982 - Etude biochimique et génétique des protéines de l'orge. Application à l'identification des variétés d'orge et de malt. Thèse de 3^e cycle, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, juillet, 155 p.

MONTEBAULT A., AUTRAN J.C., JOUDRIER P., MOLL M., 1983 - Varietal identification of barley and malt. *J. Inst. of Brewing*, 89, 4, 299-303.

PODGAETSKAYA D.Y., 1975 - Determination of authenticity and varietal purity of wheat grain according to electrophoretic patterns of the gliadins (en russe). *Vses Nautch. Issl. Inst. Rast. im Vavilova*, 17 p.

POGNA N.E., DAL BELIN PERUFFO A., BOGGINI G., CORBELLINI M., 1982 - Analysis of wheat varieties by gliadin electrophoregrams. II. Nature, origin and quality of biotypes present in six Italian common wheat varieties. *Genetica Agraria*, 36, 1-2, 143-154.

SAPIRSTEIN H.D., BUSHUK W., 1985 - Computer-aided analysis of gliadin electrophoregram. I. Improvement of precision of relative mobility determination by using a three reference band standardization. *Cereal Chem.*, 62, 5, 372-377.

SAPIRSTEIN H.D., BUSHUK W., 1985 - Computer-aided analysis of gliadin electrophoregrams. II. Wheat cultivar identification and class comparisons. *Cereal Chem.*, 62, 5, 377-392.

SAPIRSTEIN H.D., BUSHUK W., 1985 - Computer-aided analysis of gliadin electrophoregrams. III. Characterization of the heterogeneity in gliadin composition for a population of 98 common wheats. *Cereal Chem.*, 62, 5, 392-398.

WRIGLEY C.W., 1980 - The genetic and chemical significance of varietal differences in gluten composition. *Ann. Technol. Agric.*, 29, 213-227.

WRIGLEY C.W., AUTRAN J.C., BUSHUK W., 1982 - Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins. In "Advances in Cereal Science and Technology", Vol. 5, 5, Acad. Press. (Y. Pomeranz éd.), 211-259.

WRIGLEY C.W., ROBINSON P.J., WILLIAMS W.T., 1981 - Association between electrophoretic patterns of gliadin proteins and quality characteristics of wheat cultivars. *J. Sci. Food Agric.*, 32, 433.

WRIGLEY C.W., SHEPHERD K.W., 1974 - Identification of Australian wheat cultivars by laboratory procedures. Examination of pure samples of grain. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 14, 796-804.

ZILLMAN R.R., BUSHUK W., 1979 - Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. III. Catalogue of electrophoregram formulas of Canadian wheat cultivars. *Can. J. Plant. Sci.*, 298-298 (1979).