

Etude izoenzymatique d'une espèce de Poux de l'homme (*Pediculus humanus*)

M.F. RIANDEY (ORSTOM-Bondy)
B. FOKAM SIMO (Cameroun)

INTRODUCTION :

Cette espèce, sensible, étudiée par Valade (1985) est élevée au laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles de Bondy dans le but de tester les produits pédiculicides des fabricants, afin de dire si oui ou non ces produits sont efficaces, c'est-à-dire s'ils tuent ou non les poux.

L'élevage est conservé sensible car aucun des poux ayant subi les tests ne revient dans l'élevage. Il est éliminé de toutes façons, que le résultat soit positif ou négatif.

Depuis quelques temps déjà, une recrudescence de poux est observée principalement dans les écoles et certains parents se désolent de ne pouvoir débarrasser la tête de leurs enfants de ces parasites. Autrement dit, il semble que les produits de lutte ne soient plus aussi efficaces qu'autrefois. Devant cette constatation, il nous a semblé urgent d'essayer de comprendre le mécanisme de résistance des poux aux insecticides comme cela est en cours pour les insectes vecteurs de parasites que sont certains moustiques.

Dans ce travail, il n'est que très peu question de résistance proprement dite. Notre but a été surtout de caractériser cette espèce de référence puisque réputée sensible, pour pouvoir la comparer à d'autres, les populations naturelles qui, elles, seraient résistantes.

L'essai de caractérisation de cette espèce s'est fait grâce à une méthode très largement utilisée depuis quelques décennies et qui est l'électrophorèse et plus particulièrement en ce qui nous concerne l'électrophorèse d'isoenzymes.

ELECTROPHORESE D'ISOENZYMES - DEFINITIONS

Les enzymes sont des protéines qui ont pour fonction d'être des catalyseurs biologiques.

- En tant que protéines, ce sont des macromolécules constituées de longues chaînes d'acides aminés dont les résidus possèdent des charges individuelles. La résultante de ces charges individuelles confère à la protéine une charge nette. Nous travaillons en gel d'amidon et dans cette sorte de gel, l'encombrement stérique de la molécule ne joue pas. Donc, dans un gel où demeurent en solutions des protéines, la vitesse de migration de celles-ci dépend essentiellement de leur charge positive ou négative suivant les conditions (les conditions, ce sont le pH de l'extrait qui est constitué ici d'un broyat de poux homogénéisé ; le pH du gel ; le pH de la solution de bac). En théorie donc, deux protéines différant par un seul acide aminé peuvent avoir des migrations électrophorétiques différentes.

- En tant que catalyseurs biologiques, les enzymes ont une activité spécifique qui peut être visualisée sur les gels après la migration si on leur fournit leur substrat spécifique et le colorant capable de se lier au produit de la réaction enzymatique. Il apparaît donc sur les gels des bandes colorées le long des trajets de migration des échantillons, constituant ce qu'on appelle le "Zymogramme" (Hunter et Markert, 1957).

On désigne par Isoenzymes ou Isozymes les bandes apparues sur un même zymogramme (Markert et Moller, 1959) c'est-à-dire des enzymes ayant la même activité spécifique mais de mobilité électrophorétique différente.

La synthèse des enzymes est dirigée par l'Acide DésoxyriboNucléique. Du fait de la colinéarité qui existe entre la séquence des acides aminés d'une protéine et celle des bases de l'ADN constituant les gènes, deux isoenzymes peuvent donc représenter deux gènes différents ou bien deux allèles d'un même gène.

INTERPRETATION GENETIQUE DES ZYMOGRAMMES :

Les enzymes ou isoenzymes, pour être actives, peuvent être constituées d'une ou plusieurs chaînes protéiques. C'est ce qu'on appelle la structure quaternaire de l'enzyme.

Si une enzyme est active avec une seule chaîne, l'enzyme est monomère ;
si 2 chaînes sont nécessaires, l'enzyme est dimère ;
si 3 chaînes sont nécessaires, l'enzyme est trimère , *etc.* et
si de nombreuses chaînes sont nécessaires, on dit que l'enzyme est oligomérique.

Comment cela se traduit-il sur un zymogramme ? Prenons le cas le plus simple de 2 allèles codominants d'un même gène chez un organisme diploïde. Les différentes figures possibles sont résumées dans le tableau I.

Tableau I : Interprétation des zymogrammes

Enzyme	Homozygote 1	Homozygote 2	Hétérozygote	Nbre de bandes
Monomère	A ■	B ■	■ B ■ A	2
Dimère	A ■	B ■	■ BB ■ BA ■ AA	3
Trimère	A ■	B ■	■ BBB ■ BBA ■ BAA ■ AAA	4
Tétramère	A ■	B ■	■ BBBB ■ BBBA ■ BBAA ■ BAAA ■ AAAA	5
Pentamère	A ■	B ■	■ BBBBB ■ BBBBA ■ BBBAA ■ BBAAA ■ BAAAA ■ AAAAA	6
Hexamère	A ■	B ■	■ BBBBBB ■ BBBBBA ■ BBBBAA ■ BBBAAA ■ BBAAAA ■ BAAAAA ■ AAAAAA	7

MATERIEL ET METHODES :

Matériel

Avant la manipulation, les poux sont laissés à jeun pendant deux jours. Puis la veille, les lots de poux sont triés en fonction de l'âge (quatre semaines pour poux jeunes, sept semaines pour les vieux) et du sexe et on les place au congélateur à -80°C jusqu'à leur utilisation. Ils sont alors broyés et homogénéisés dans environ deux μl d'eau froide. L'extrait est absorbé par un confetti de papier Watman n° 1 qu'on dépose ensuite sur le gel d'amidon.

Electrophorèse

Les conditions opératoires sont les suivantes : système Brewer(1970) remanié par Second et Trouslot(1980) et par nous-même : plaques d'amidons horizontales à 12 % ; tampon de gel : Histidine - HCl 5 mM pH 6 ou pH 8 contenant du NaCl 2,5 mM ; tampon de bac : respectivement citrate de sodium 0,41 M pH 6 ou pH 8. Pour la migration qui dure environ quatre heures avec un courant de 9,5 V/cm , les gels d'amidon sont réfrigérés à 5°C grâce à des plaques à circulation d'eau et un cryostat.

Révélation

Elle se fait à 37°C à l'obscurité. Les gels coupés dans le sens de l'épaisseur sont immergés dans un mélange adéquat :

Pour MDH et GOT, méthode de Shaw et Prasad (1970) modifiée comme suit :

MDH : 86 ml de Tris HCl 0,1 M pH 8,5, 25 mg de NAD¹, 10 ml de malate de sodium 0,5 M, 2 ml de PMS², 2 ml de NBT³.

GOT : 100 ml Tris HCl 0,5 M pH 8,5, 200 mg d'acide aspartique, 100 mg d'acide α céto glutarique ; incubation 30 mn ; puis on ajoute 2 mg de pyridoxal phosphate et 400 mg de Fast Blue BB .

Pour IDH, LDH, PGI, PGM, méthodes de Brewer modifiées :

IDH : 100 ml Tris HCl 0,1 M pH 8,5, 20 mg NADP⁴, 1 ml de MgCl₂ 0,4 M, 200 mg de Isocitrate de sodium, 2 ml de PMS, 2 ml de NBT.

¹ NAD: Nicotinamide Adénine Dinucléotide

² PMS: Phénazine Méthosulfate (1 mg/ml)

³ NBT: Nitrobleu de Tétrazolium (10 mg/ml)

⁴ NADP: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

LDH : voir MDH : on remplace le malate de sodium 0,5 M par du lactate de sodium 1 M.

PGI : 45 ml de Tris HCl 0,5 M pH 8,5, 10 mg de NADP, 1 ml de MgCl₂ 0,4 M 100 mg de fructose 6 Phosphate, 2 ml de PMS, 2 ml de NBT, 5 Unités de G6PDH⁵ et 50 ml d'Agar à 2 %.

PGM : voir PGI : on remplace le fructose 6 phosphate par du glucose 1 phosphate contenant du glucose 1-6 diphosphate.

Est : méthode de Scandalios (1969) modifiée : incuber le gel 20 mn dans du tampon phosphate 0,1 M pH 6,5, jeter puis incuber 10 mn avec 97 ml de tampon phosphate et 3 ml d'un mélange de $\alpha + \beta$ naphtylacétate à 1 % chacun dans acétone ; enfin ajouter 100 mg de Fast Blue RR.

RESULTATS :

DETERMINISME GENETIQUE

Les enzymes ont été choisies en fonction de nos possibilités et aussi en fonction de leur rôle possible dans les mécanismes de résistance, les estérases en particulier. C'est ainsi que sept systèmes enzymatiques ont été révélés :

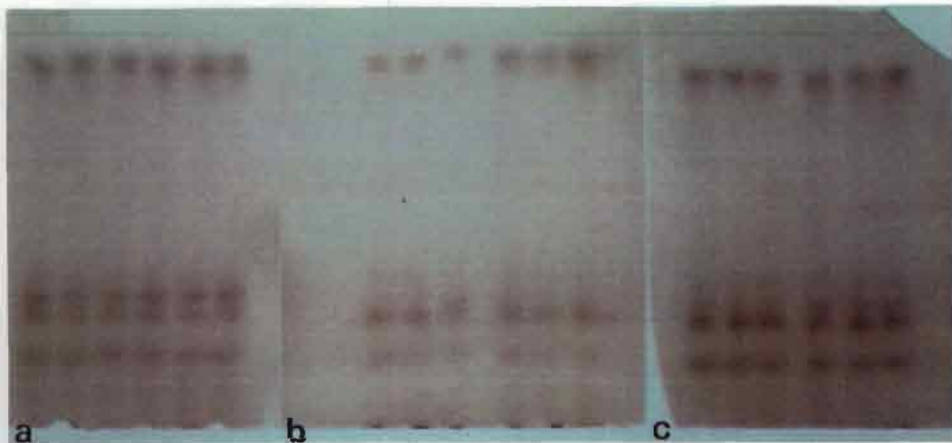
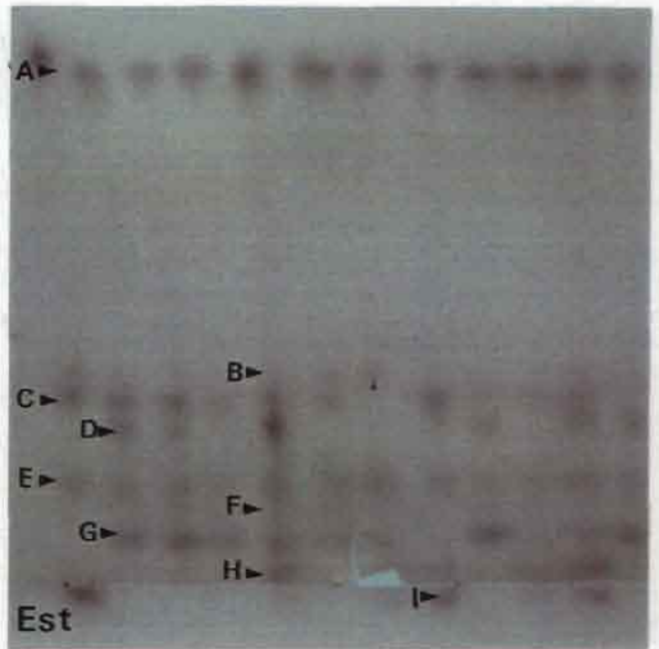
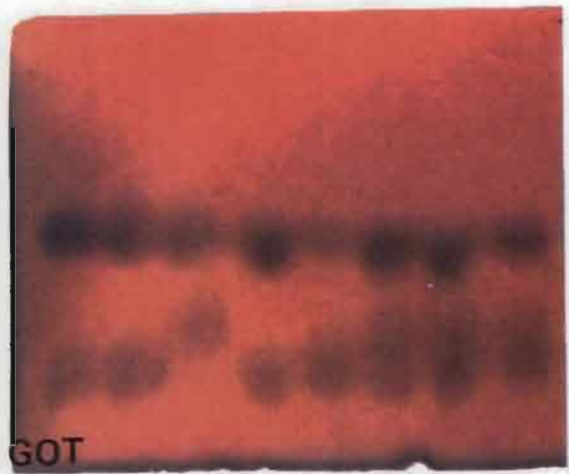
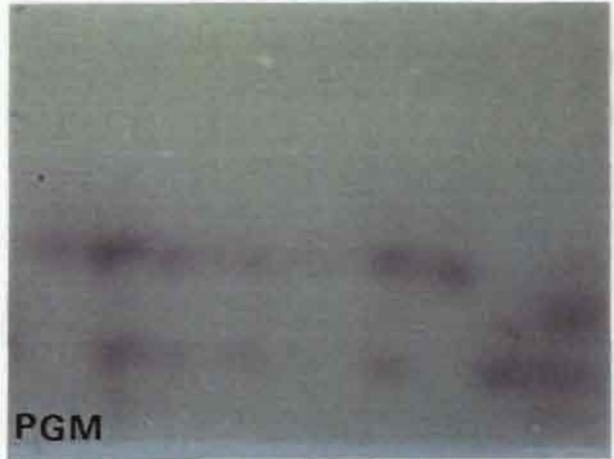
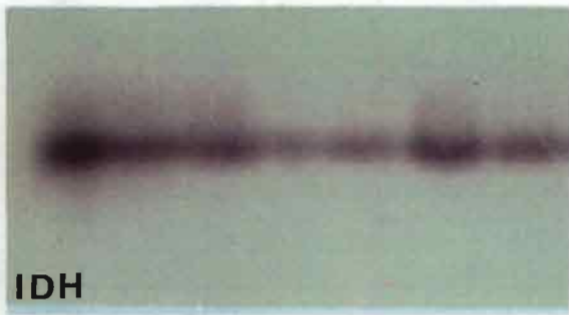
MDH : Malate déshydrogénase
IDH : Isocitrate déshydrogénase
LDH : Lactate déshydrogénase
GOT : Glutamate oxaloacétate transaminase
PGI : Phosphogluco isomérase
PGM : Phosphoglucomutase
Est : Estérases

En ce qui concerne les MDH, aucune variabilité n'a été observée et de plus, les zymogrammes étaient assez confus. Pour les autres enzymes (voir planche photo), les remarques suivantes peuvent être faites :

IDH : aucune variabilité n'a été observée mais par contre le zymogramme est très clair. N'ayant pas de variabilité, on ne peut rien conclure quand à la pluralité des chaînes constituant l'enzyme.

LDH (pH 8) : on observe une variabilité importante. Par analogie avec ce qu'on trouve en général pour les LDH, l'observation des zymogrammes fait penser à la présence de deux gènes et d'une enzyme tétramère. Les deux enzymes présentes peuvent avoir des activités différentes suivant qu'elles proviennent de deux organes différents et cela expliquerait les intensités

⁵ G6PDH : Glucose 6 Phosphate Déshydrogénase



Inhibition des Estérases:
 a) Témoin
 b) + Fénirothion
 c) + Esérine

variables que nous observons. Ici, plus de cinq positions de bandes sont repérées et donc au moins l'un des deux gènes serait diallélique.

GOT (pH 8) (fig. 1) : on observe trois types de figures qui correspondent à la présence de deux gènes GOT 1 et GOT 2 dont l'un GOT 2 est invariable. Le locus GOT 1, lui, est diallélique (allèle S comme Slow et F comme Fast) et l'enzyme correspondante est monomère.

PGM (pH 8) (fig. 2) : les zymogrammes sont assez confus. On peut cependant observer cinq types de figures qui font penser à la présence d'un gène et de trois allèles (1, 2 et 3) dont l'un (2) est rare. L'enzyme serait monomère. Malgré un assez grand nombre d'individus testés (270), une classe d'hétérozygotes (2-3) n'a jamais été observée.

PGI (pH 8) (fig. 3) : les zymogrammes montrent qu'on est en présence d'un seul gène et de ses deux allèles S et F. L'enzyme est dimère puisque les hétérozygotes présentent un zymogramme à trois bandes.

Est (pH 6) (fig. 4) : un grand nombre de bandes est observé. On a pu en compter huit au total. Par analogie à ce qui a été fait sur les *Culex* par N. Pasteur (1977), nous leur avons donné un nom de A à I par ordre de migration décroissante. Malgré un assez grand nombre de poux analysés (250 au total), il ne nous a pas été possible de déterminer le nombre de loci, ni d'allèles par locus. On ne peut qu'émettre les hypothèses suivantes, l'enzyme étant monomère.

Loci Est 1 et Est 2 : pour les bandes G.H.I. qu'on observe parfois ensemble sur le même individu.

Locus Est 3 : bande F + 1 allèle nul

Locus Est 4 : bande E invariable

Locus Est 5 : bande B et D + 1 allèle nul

Locus Est 6 : bande C (rose) + 1 allèle nul

Locus Est 7 : bande A invariable

De nombreux allèles nuls sont présents contribuant un peu plus à la difficulté du repérage.

ZYMOGRAMMES DE POUX

fig. 1: GOT

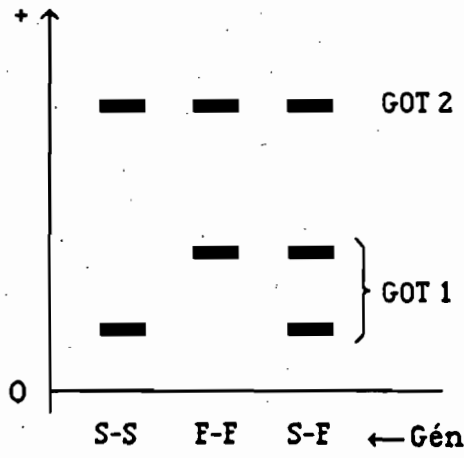


fig. 2: PGM



Fig. 3: PGI

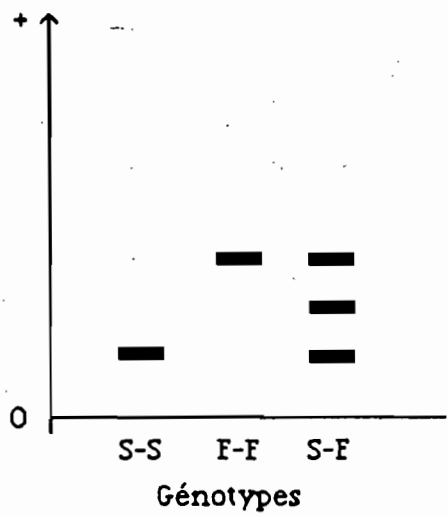
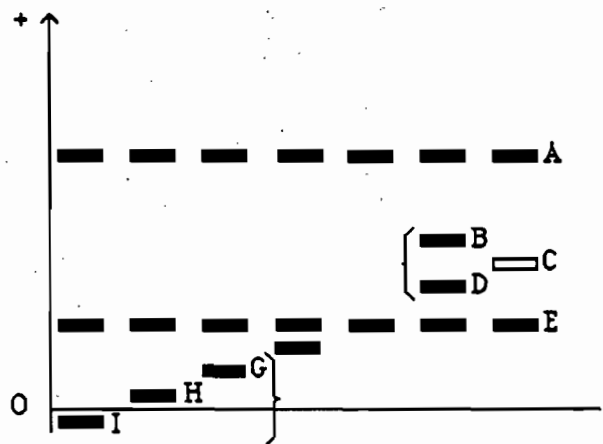


Fig. 4: EST



EXPERIENCE D'INHIBITION :

Pour tenter de confirmer la parenté génétique entre les différents isoenzymes d'Est, nous avons essayé de les regrouper par type d'Estérase suivant le tableau donné par Augustinsson dans Wilkinson (1965) Pour cela nous avons utilisé 2 types d'inhibiteurs : un organophosphate tel que le Fenitrothion et un carbamate tel que l'ésérine tous deux à la concentration de 10^{-3} M. Nous avons d'abord travaillé sur des mélanges d'individus : la seule inhibition que nous avons pu mettre en évidence est celle de la bande rose C qui est totalement inhibée par l'organophosphate et un peu inhibée par l'ésérine (voir planche photo). Aucune autre bande ne se trouve inhibée par rapport au témoin. Les bandes G, H, I n'apparaissent pas mais n'apparaissent pas non plus chez le témoin. L'activité de ces bandes est trop faible et se trouve diluée dans le mélange si bien qu'elles n'apparaissent plus, même chez le témoin. Des essais individu par individu ont également été tentés sans résultat. Là encore on se heurte à une activité trop faible pour certaines bandes. Les seules conclusions que l'on puisse tirer de cette expérience est de pouvoir dire que :

1) la bande rose (C) est une aliestérase, sa synthèse est dirigée par un gène au moins diallélique (un allèle donnant 1 enzyme active et un nul donnant soit une enzyme inactive soit pas d'enzyme du tout .

2) les bandes A et D non inhibées sont des arylestérases. Cela peut avoir une importance quant au substrat à utiliser pour une meilleure révélation.

ETUDE DE POPULATIONS

Pour les enzymes telles que Est, PGM et PGI pour lesquelles nous avons analysé un assez grand nombre d'individus, deux types de tests statistiques ont pu être effectués :

. Test de conformité avec la loi de Hardy-Weinberg qui nous permet de dire si la population est en équilibre et s'il y a panmixie. Si la population est en équilibre génétique, cela signifie que les fréquences des allèles comme celles des génotypes restent les mêmes de génération en génération ; et il y aura panmixie si l'association des caractères se fait au hasard au moment de la reproduction.

. Test de conformité qui nous permet grâce à un tableau de contingence de comparer entre elles deux ou plusieurs populations afin de dire si elles sont ou non identiques.

Estérases :

Loi de Hardy-Weinberg : Locus Est 5 : il est représenté par les bandes B et D plus 1 allèle nul. Le tableau II rend compte des résultats obtenus : du fait d'un allèle nul, nous ne pouvons observer que des phénotypes et non des génotypes. Mais si l'on considère qu'on est en conformité avec la loi de Hardy-Weinberg, on peut estimer les fréquences p' q' r' grâce à la correction de Bernstein décrite par N. Pasteur *et al.* (1987) Nous voyons que le χ^2 est très élevé. Au niveau de cette zone l'équilibre de Hardy-Weinberg n'est pas vérifié : il est possible qu'il y ait un déséquilibre dans la population, ou bien notre hypothèse de départ est fautive et donc les bandes B et D ne seraient pas l'expression d'un même gène.

Tableau II : Test de Hardy-Weinberg au locus Est. 5.

Fréquence des allèles B, D et nul respectivement :
 $p' = 0,1755$, $q' = 0,3743$, $r' = 0,4477$.

Phénotypes	B	D	0	BD	Σ	χ^2 1 ddl
Génotypes	BB + B0	DD + D0	00	BD		
observés	15	62	43	38	158	27,86***
Effectifs	4,89 + 24,92	22,10 + 52,95				
théoriques	29,81	75,05	31,71	20,80	157,378	

Locus Est. 6 : il correspond à l'expression d'un gène avec deux allèles l'un actif l'autre nul. Sur les zymogrammes, il est représenté par la bande C rose qui est une aliestérase. Le tableau III rend compte des résultats. On voit tout de suite que l'équilibre de Hardy-Weinberg est respecté donc, notre hypothèse un gène deux allèles dont l'un est récessif est utilisable.

PGM

1) Test de Hardy-Weinberg : nous n'avons pas observé d'allèle nul ce qui facilite les calculs mais nous sommes en présence d'un allèle rare ce qui est aussi très gênant.

Sur la totalité des effectifs deux types de calcul ont été faits (tableau IV):

- en tenant compte de l'allèle rare
- en ne tenant pas compte de l'allèle rare

*** significatif au seuil 1/1 000

Tableau III : Test de Hardy-Weinberg au locus Est. 6

Fréquence de + : p = 0,6542, fréquence de 0 : q = 0,358

Phénotypes	+	0	Σ
Génotypes	++ et +0	00	
Effectifs observés	204	30	234
Effectifs théoriques	96,45 + 107,56 204,01	29,99	234

Tableau IV : PGM : Test de Hardy-Weinberg

1/ Tous les allèles sont pris en compte

Fréquences alléliques

1 : 0,38

2 : 0,01

3 : 0,61

génotypes	1-1	2-2	3-3	1-2	1-3	2-3	Σ	χ ² 4ddl
observés	48	2	110	2	112	0	274	136,90***
effectifs								
théoriques	39,57	0,03	102	2,08	127,0	3,34	274	

2/ Sans tenir compte de l'allèle 2, les fréquences alléliques deviennent

1 : 0,385

3 : 0,615

génotypes	1-1	1-3	3-3	Σ	χ ² 4ddl
observés	48	112	110	270	4,17*
effectifs					
théoriques	40,02	127,86	102,12	270	

* significatif au seuil 5 %

Dans le 1er cas, on voit que certains effectifs théoriques sont < 5 ce qui en principe ne nous permet pas de faire le test.

Dans le 2ème cas, nous nous rapprochons de l'équilibre. Il y a un déficit de l'hétérozygote 1-3 ce qui pourrait signifier soit la présence d'allèle nul mais, nous n'en avons jamais observé, soit que les individus homozygotes sont favorisés par rapport aux hétérozygotes.

Par la suite, seuls les allèles 1 et 3 ont été pris en compte en séparant les populations par âge et par sexe, l'équilibre de Hardy-Weinberg est respecté à chaque fois sauf pour un petit nombre d'individus de sexe connu et d'âge inconnu. Cet effectif de 13 mâles d'âge inconnu (tableau V) contenu dans la population totale fait en sorte que l'équilibre de Hardy-Weinberg n'est plus vérifié, il le devient si l'on soustrait ces 13 mâles (tableau V).

Tableau V : PGM ; Test de Hardy-Weinberg ; mâle i : mâle d'âge inconnu

Génotypes Populations	1-1	1-3	3-3	Σ	χ^2 1 ddl
mâle i 0 t	2 0,47	1 4,00	10 8,53	13 13	7,48 **
Population totale - mâle i 0 t	46 39,09	111 122,28	100 95,63	257 257	2,46 NS

2) Comparaison de populations : tableau de contingence (tableau VI). Le χ^2 n'est pas significatif : les sous-populations comparées sont identiques et donc ni le sexe, ni l'âge n'ont d'influence sur l'apparition des caractères au locus PGM.

Pour résumer, les résultats obtenus avec cette enzyme PGM présentent certains inconvénients :

- 1 allèle rare qui nous interdit tout calcul statistique à moins d'augmenter considérablement les effectifs,
- des effectifs parfois faibles qui nous font émettre des réserves quant aux conclusions à tirer (tableau VI:individus jeunes) .

** significatif au seuil 1 %
NS non significatif

Tableau VI : PGM ; Test de conformité

Génotypes Populations	1-1	1-3	3-3	Σ	χ^2
femelles jeunes	0	5	8	13	6 ddl 4,74 NS
femelles vieilles	8	20	18	46	
mâles jeunes	3	5	5	13	
mâles vieux	7	18	13	38	

- il est par ailleurs mauvais de travailler avec des petits effectifs et de les additionner ensuite (ex : effectif de 13 avec les mâles d'âge inconnu). Cela montre qu'il y a un problème d'échantillonnage : les poux sont élevés par date dans des cristallisoirs et de plus, ce sont des insectes qui bougent peu. Cela ne favorise pas la panmixie. Malgré tout cela, nous pensons qu'il y a de grandes chances pour que ni le sexe, ni l'âge n'aient d'influence sur l'apparition des caractères biochimiques que sont les allèles du locus PGM.

PGI :

D'après le tableau VII a , nous voyons qu'il y a conformité avec la loi de Hardy-Weinberg en ce qui concerne la population totale. Pour savoir si l'âge et le sexe intervenaient sur la manifestation des caractères, nous avons comparé différentes sous-populations par des tableaux de contingence (tableau VII b). Nous voyons qu'on n'observe aucune différence entre jeunes et vieux, ni entre mâles et femelles mais lorsqu'on différencie les sexes par âge, le χ^2 est significatif. On remarque alors que les fréquences alléliques concernant les femelles jeunes sont différentes des autres sous-populations. Nous avons donc utilisé le test de contingence pour voir si ces femelles jeunes se démarquaient des autres sous-populations. Le tableau des comparaisons (tableau VII c) montre que ce sont bien les femelles jeunes qui se distinguent des autres. Cependant, à l'examen des effectifs, on peut observer que ceux des femelles jeunes ainsi que ceux des mâles jeunes sont faibles et qu'en particulier, il y a un excédent de génotypes SS chez les femelles jeunes. Donc, pour affirmer qu'il y a un effet âge-sexe, il faudrait le vérifier en augmentant les effectifs des sous-populations jeunes. Il est donc pour le moment bien difficile de conclure mais on peut raisonnablement penser qu'en augmentant les effectifs, on aboutira à une population homogène.

Tableau VII : PGI

a) Test de Hardy-Weinberg : Fréquences alléliques : S = 0,36
: F = 0,64

génotypes effectifs	S-S	S-F	F-F	Σ	χ^2 1ddl
observés	38	105	107	250	2,07 NS
théoriques	32,5	115	102,5	250	

b) Test de conformité:

Sous-populations: jeunes (4S) ; vieux (7S)
Femelles (F) ; Mâles (M)
Femelles jeunes (Fj); Mâles jeunes (Mj)
Femelles vieilles (Fv) ; Mâles vieux (Mv)

génotypes populations	S-S	S-F	F-F	Σ	χ^2
4S	19	48	40	107	2ddl 5,049 NS
7S	19	62	83	164	
F	13	22	33	68	2ddl 3,495 NS
M	7	29	25	61	
Fj	8	9	6	23	6ddl 15,223*
Fv	5	13	27	45	
Mj	2	13	7	22	
Mv	5	16	18	39	

Fréquences alléliques : Fj : S = 0,54, F = 0,56 ; Fv : S = 0,26, F = 0,74
Mj : S = 0,39, F = 0,61 ; Mv : S = 0,33, F = 0,67

c) Test de conformité sur une partie des sous-populations

comparaison	ddl	χ^2
Fv, Mj, Mv	4	6,106 NS
Fj, Fv	2	8,562 *
Fj, Mj	2	4,384 NS
Fj, Mv	2	4,846 NS

CONCLUSIONS

Ce travail sur les poux n'est qu'une étude préliminaire. Cependant, certaines conclusions peuvent être dégagées :

Toutes les enzymes testées peuvent être utilisées pour l'étude des populations naturelles.

. Mais dans tous les cas, des effectifs plus importants sont nécessaires pour confirmer

- soit la non variabilité (IDH, MDH),
- soit les hypothèses de déterminisme génétique

. Il faut aussi envisager des expériences de croisements

- pour vérifier les hypothèses émises quant aux déterminismes génétique des GOT, PGI, PGM et Estérases ;
- pour essayer de trouver les déterminismes génétiques des LDH et de certaines Estérases.

. Par ailleurs, il faut noter qu'il est important de travailler avec un effectif assez important à chaque manipulation et de faire en sorte que la prise d'échantillons se fasse bien au hasard. Il serait bon également de vérifier en augmentant les effectifs en particulier pour PGI que ni l'âge ni le sexe n'ont d'influence sur la fréquence d'apparition d'un génotype. C'est particulièrement important pour l'âge car lorsque nous prélèverons des populations naturelles, il sera impossible de connaître leur âge.

BIBLIOGRAPHIE

- BREWER, G. J., 1970 - An Introduction to Isozymes Techniques.
Academic Press. New York. San Francisco. London. 186 p.
- HUNTER, R. L., MARKERT, C. L., 1957 - Histological demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels.
Science, 125 : 1294-1295.
- MARKERT, C. L., MOLLER, F., 1959 - Multiple forms of enzymes : tissue, ontogenic, and species specific patterns.
Proc. Nat. Acad. Sci., 45 : 753-763.
- PASTEUR, N., 1977 - Recherche de génétique chez *Culex pipiens pipiens* L.
Thèse Doc. Univ. Sciences et Techniques du Languedoc.
- PASTEUR, N., PASTEUR, G., BONHOMME, F., CATALAN, J. et BRITTON-DAVIDIAN, J., 1987
Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines.
Tech. Doc. Lavoisier. 217 p.
- SCANDALIOS, J. G., 1969 - Genetics control of multiple molecular forms of enzymes in plants : a review.
Biochemical Genetics, 3 : 37-79.
- SECOND, G., TROUSLOT, P., 1980 - Electrophorèse d'enzymes de riz.
Travaux et Documents de l'ORSTOM, 120, 88 P.
- SHAW, C. R. and PRASAD, R., 1970 - Starch gel electrophoresis of enzymes, a compilation of recipes.
Biochemical Genetics, 4 : 297-320.
- VALADE, M., 1985 - Le pou de l'homme *Pediculus humanus* Linné, 1758. Observations biologiques. Evaluations de l'activité de différents insecticides.
Travaux et Documents de l'ORSTOM, 194 : 262 p.
- WILKINSON, J. H., 1965 - Isoenzymes.
Science Paperbacks, 369 p.