

Evolution des protéines de graines de *Phaseolus vulgaris* var. contender pendant la phase quiescente en relation avec le degré de maturation des graines et les modalités de leur conservation

Autor(en): **Grange, A. / Miège, M.N. / Miège, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **83 (1973)**

Heft 1

PDF erstellt am: **03.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-58437>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Evolution des protéines de graines de *Phaseolus vulgaris* var. *contender* pendant la phase quiescente en relation avec le degré de maturation des graines et les modalités de leur conservation

par A. Grange, M.N. Miège et J. Miège

Manuscrit reçu le 14 novembre 1972

Les protéines de graines sont étudiées par de nombreux chercheurs poursuivant des buts divers orientés selon trois grandes directions: celle des taxonomistes qui exploitent les caractères protéiques pour mieux démêler les liens phylogénétiques, celle des agronomes qui se proposent l'amélioration des protéines végétales et celle des biologistes qui cherchent à pénétrer la biologie de la graine au repos à la lumière des deux états dynamiques qui l'entourent, la maturation de l'embryon et la germination.

Notre travail consiste à rechercher les modifications que subissent les protéines dans les dernières étapes de la maturation et à observer les altérations subies par ces protéines sous l'influence du vieillissement en conditions variées de conservation. Les connaissances ainsi acquises seront utiles aussi bien aux taxonomistes, qui déplorent d'être gênés dans l'analyse de leurs données par l'ignorance de la portée de ces influences non génétiques, qu'aux agronomes qui ont intérêt à savoir si tel ou tel mode de conservation est bénéfique ou nuisible à la valeur alimentaire.

C'est avec ces objectifs que nous avons entrepris l'étude des graines de *Phaseolus vulgaris* variété *contender*. Nous allons rendre compte successivement des modifications, au niveau des protéines principalement, liées à la maturation et à la conservation.

La récolte a lieu pour trois degrés de maturité que nous dénommons mI, mII et mIII, repérés par l'aspect et la couleur des gousses et des graines et définis plus exactement par leur pourcentage de matière sèche (tableau 1).

Pour la conservation, de tous les modes à l'étude, nous rendrons compte ici surtout des modifications liées au mode le plus altérant, soit conservation à 40°C, à l'obscurité, en atmosphères sèche et humide (tableau 2). Les modifications seront recherchées dans les domaines suivants: caractères physiques, pouvoir germinatif, répartition des différentes formes d'azote et enfin état des protéines et enzymes après électrophorèse.

Tableau 1: Caractérisation des degrés de maturité

stades de maturité	aspect		% de matière sèche	poids sec par grain (g)	(m/mIII).100
	gousses	grains			
mI	verdâtres charnues	verdâtres à crèmes	45	0,398	87,7
mII	jaunâtres charnues	crèmes	51	0,419	92,3
mIII	sèches	crèmes	87	0,454	100

I. Evolution des caractères physiques

La maturation se traduit par une forte dessiccation, étape nécessaire à la vie ralentie de la graine, et par un gain simultané appréciable de matière sèche (tableau 1). Les derniers stades de maturation voient la disparition de la chlorophylle des téguments et cotylédons, disparition déjà presque complète au stade mI.

Tableau 2: Modes de conservation et pigmentation

conditions de conservation			durée de conservation (mois)				
température	lumière	humidité relative	0	1	3	6	9
-10° C	-		crème				
+ 2° C	-	30%					
20° C	+	0 (P ₂ O ₅)	beige clair				
		50-60			chamois clair	brun	brun foncé
	-	0 (P ₂ O ₅)					
		50-60					
40° C	-	2- 4	chamois clair				
		96-100	brun foncé				

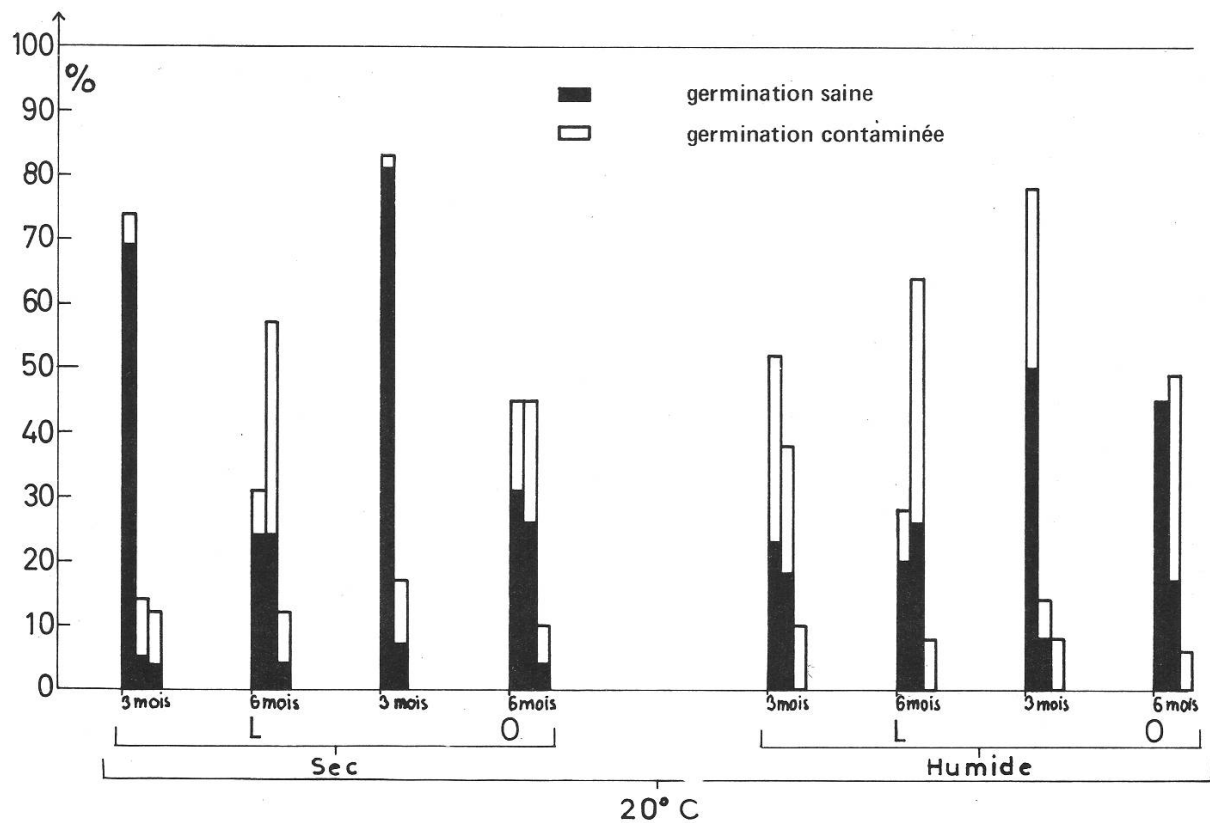
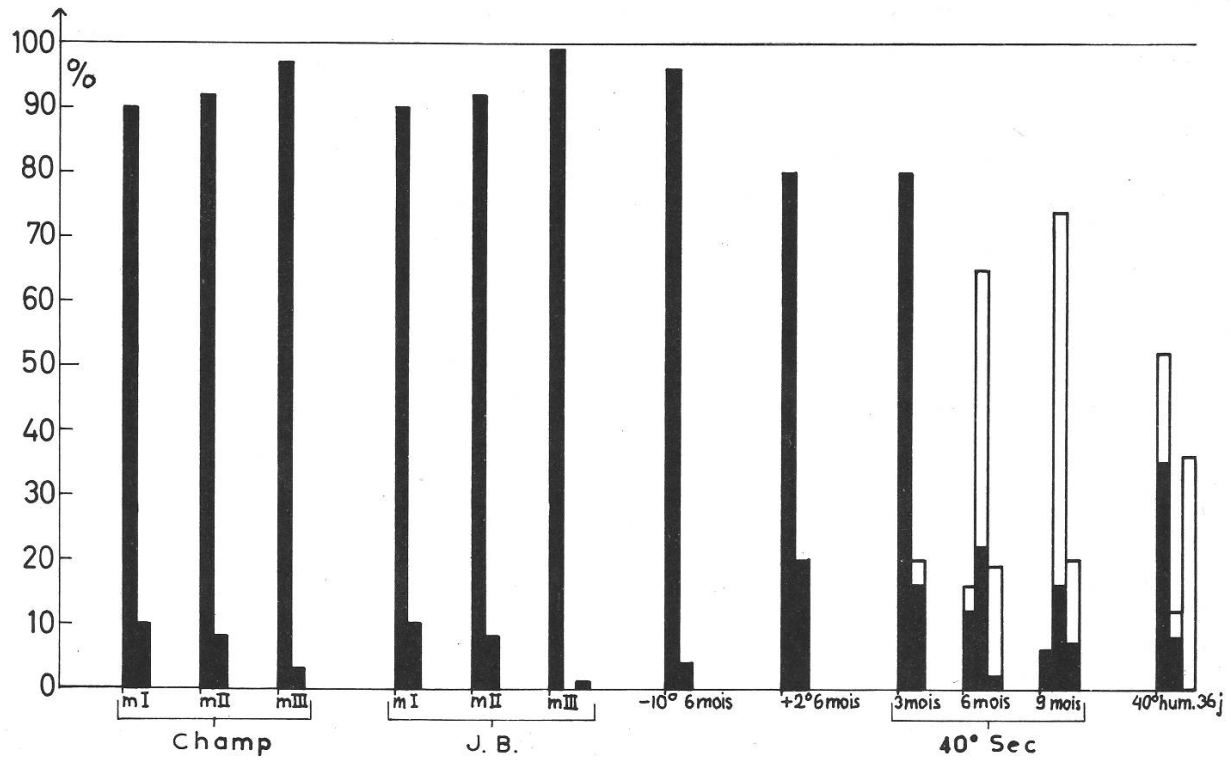


Fig. 1:
Tests de germination. Ordonnée: % de germination.

Pendant la conservation à haute température, 40⁰ C (tableau 2), un processus de pigmentation est induit très rapidement par l'action combinée de la température et d'une humidité saturante. En atmosphère sèche, l'induction se produit également mais beaucoup plus lentement. A 20⁰ C, en atmosphère humide et à l'obscurité, on n'observe aucune pigmentation, en revanche, à la lumière, on retrouve après 9 mois la même pigmentation qu'à 40⁰ C en atmosphère humide après 1 mois. Dans ce dernier cas, l'action de la lumière serait remplacée par celle d'une forte température en atmosphère humide. On connaît en effet le cas de champignons et micro-organismes où l'action de la lumière sur la synthèse pigmentaire peut-être remplacée, ou mimée, par celle de composés chimiques agissant à des sites sans doute différents du site d'action de la lumière. Ainsi le parachloromercuribenzoate (pcmb) et le parahydroxymercuribenzoate (phmb) induisent la pigmentation chez *Fusarium aquaeductum* cultivé à l'obscurité et l'antimycine A chez *Mycobacterium marinum*. Il se pourrait que ces facteurs physico-chimiques, pcmb, phmb, antimycine A, température, lumière bloquent un répresseur de la synthèse des enzymes nécessaires à la pigmentation, répresseur probablement de nature protéique.

II. Evolution du pouvoir germinatif

Les graines sont mises à germer à l'obscurité, sans stérilisation des téguments, sur papier humide après 24 h. de trempage, à température ambiante (figure 1). Nous constatons immédiatement que, si le stade de maturité importe peu, les différences sont au contraire marquées après conservation. Alors que la conservation au froid (-10⁰ C et + 2⁰ C) n'a pas diminué, après 6 mois, ni le pouvoir germinatif, ni l'auto-résistance aux infections, (c'est à dessein que nous n'avons pas travaillé en milieu stérile) ces deux capacités sont grandement diminuées après conservation à 40⁰ C. En outre, on note une forte proportion de plantules anormales, surtout lorsque l'effet de l'humidité s'ajoute à celui de la température. Il est probable que ces dégradations physiologiques sont liées et proviennent d'altérations moléculaires notamment au niveau des protéines et peut-être aussi des acides nucléiques.

Tableau 3: Répartition des différentes formes d'azote

	Axe	Cotylédons
N total (en % du poids sec)	7,2	4,4
Protéines salino-solubles	35	20,5
Globulines	15	10,5
Albumines	5,5	4

III. Evolution de la repartition des différentes formes d'azote

Les teneurs en azote total et protéique sont nettement supérieures chez l'axe germinatif. Elles se répartissent comme suit pour la maturité III.

Il faut signaler que l'on ne remarque pas de différences significatives au niveau de cette répartition ni pour la maturation ni pour la conservation.

Pour éliminer les petites molécules des extraits protéiques, nous avons utilisé, complémentirement à la dialyse, la filtration sur gel „Sephadex“ G 25 fine. Cette filtration ne remplace pas la dialyse qui reste pour nous le moyen unique de séparer albumines et globulines, protéines fonctionnellement différentes et localisées sans doute en des sites cellulaires distincts. (Une étude est en cours pour le préciser). Les diagrammes d'élution obtenus par cette filtration (fig. 2) mettent en évidence les modifications survenues au niveau des petites molécules, peptides probablement pour une grande part, de poids moléculaire voisin de 5000 ou inférieur. Ces diagrammes présentent un aspect caractéristique des germes et des cotylédons avec, dans chaque cas, la présence d'un pic principal à volume d'élution (V_e) proche du volume vide de la colonne utilisée (V_0) et correspondant au pic de sortie des protéines, et un nombre variable de pics secondaires.

La maturation n'influe pas sur les profils d'élution des extraits d'axe mais provoque des modifications sur ceux de cotylédons: importance relative grandissante du pic principal, diminution du nombre de pics secondaires surtout entre mII et mIII.

Si la conservation à 40⁰ C ne semble pas affecter les profils d'élution des extraits d'axe, elle modifie en revanche ceux des extraits de cotylédons. Il semble y avoir une dégradation des molécules peptidiques correspondant au pic secondaire de mIII, molécules que l'on retrouve réparties entre deux pics très voisins correspondant à des molécules plus petites (augmentation du V_e). (fig. 3).

IV. Etat des protéines et enzymes révélées après électrophorèse

a) *Au cours de la maturation:* alors que nous constatons, par les profils d'élution sur la résine „Sephadex“ G 25, une grande variabilité des peptides et petites molécules pour les extraits bruts de cotylédons, nous observons au contraire une remarquable constance des diagrammes électrophorétiques des protéines cotylédonaires, surtout des globulines. Il est intéressant de noter que les enzymes liées aux réserves cotylédonaires ne sont pratiquement pas modifiées (à partir du stade mI). On peut se demander si ces enzymes sont mises en place relativement tôt pour présider à l'accumulation des réserves. D'autre part, leur activité après dessiccation complète, pourrait laisser supposer également qu'elles sont en attente du rôle qu'elles devront jouer lors de la germination.

Quant aux protéines d'axe, les modifications apportées par la maturation sont plus sensibles; elles se traduisent ainsi: pour les globulines, apparition au niveau

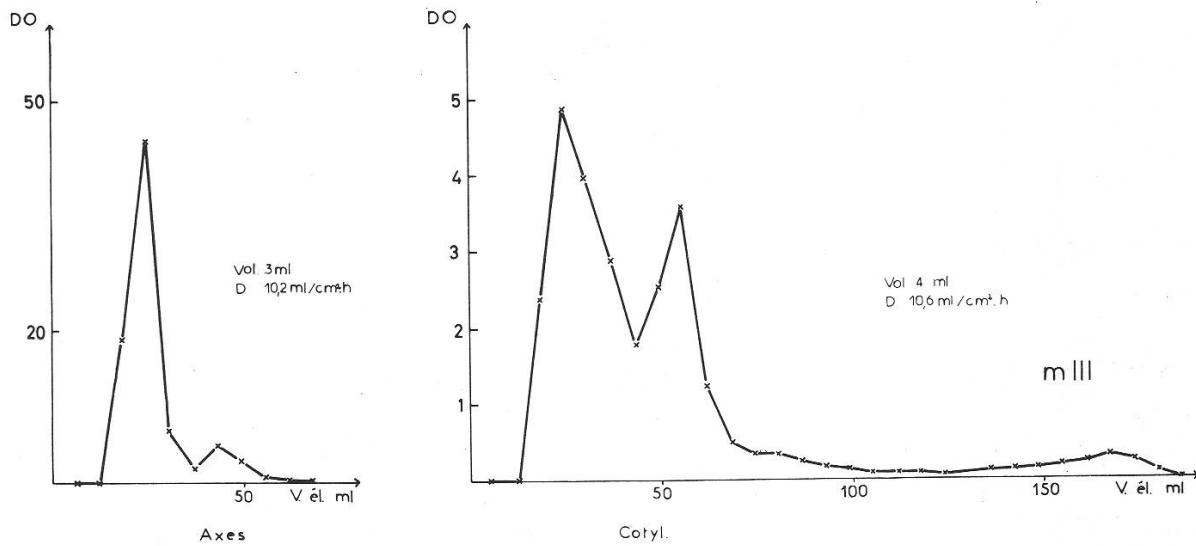
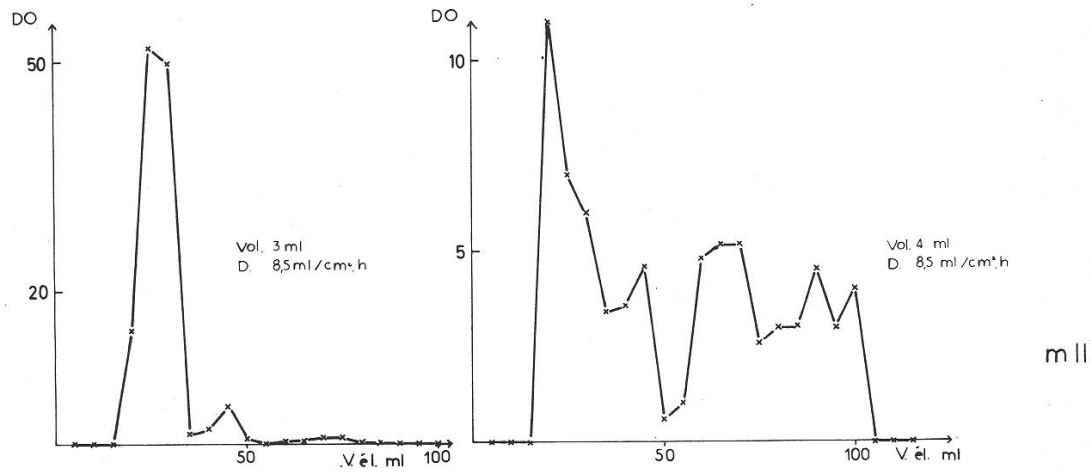
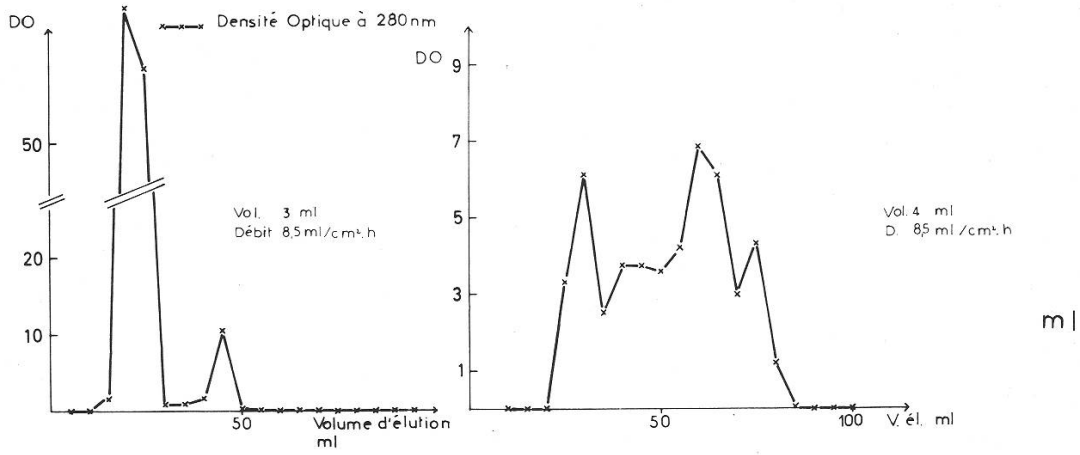


Fig. 2:

Diagrammes d'éluion: Chromatographie sur gel Sephadex G 25 fine. Colonne 15 x 25 cm, Extraits E₁ E₂. Ph. vg. 3 stades de maturité.

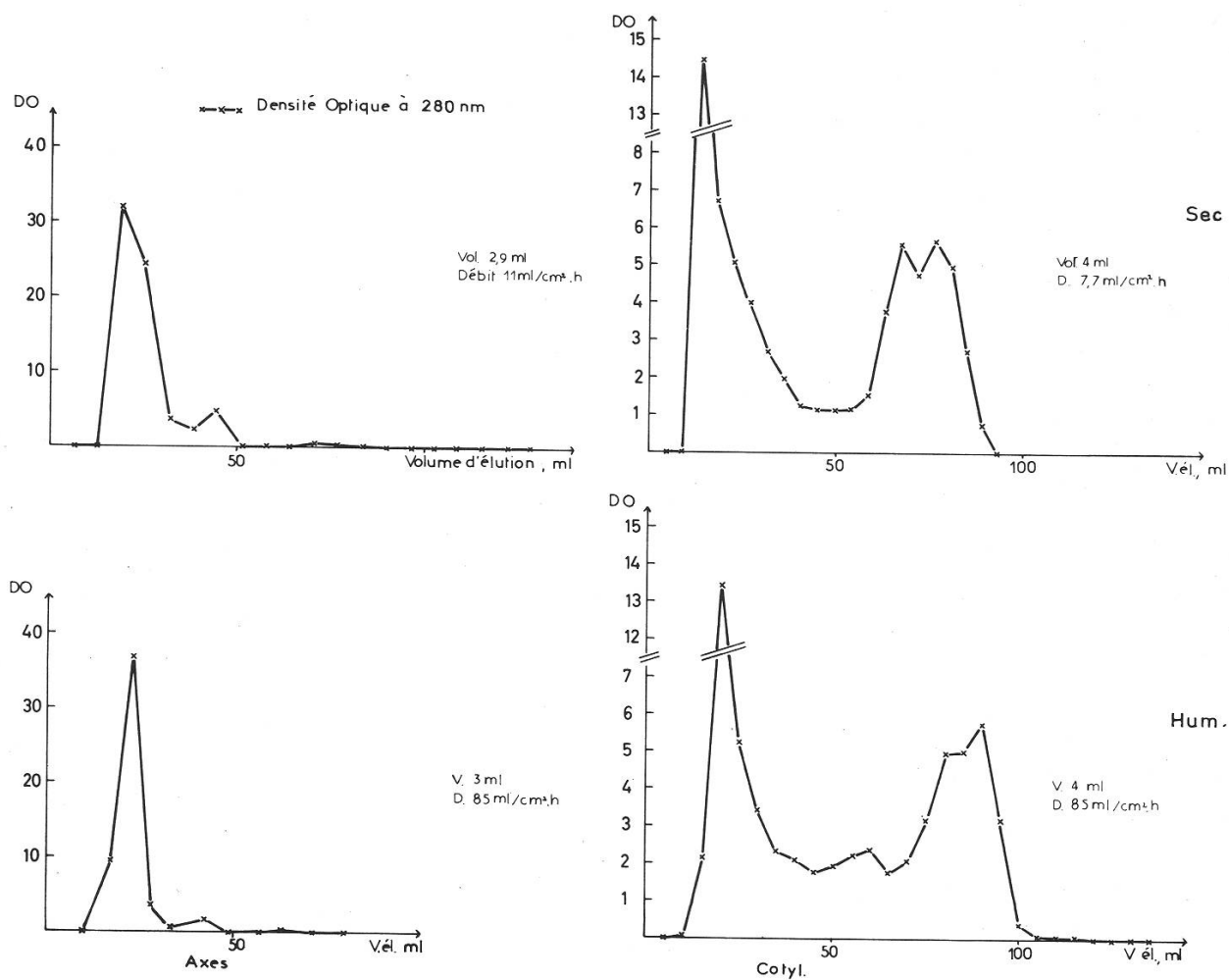


Fig. 3:

Diagrammes d'éluion: Chromatographie sur gel Sephadex G 25 fine. Colonne 15 x 25 cm, Extraits E₁ E₂. Ph. vg. 40°C.

des protéines totales d'une nouvelle fraction anodique et par le dédoublement de la fraction principale dont la mobilité a été augmentée (fig. 4-a); pour les albumines, si les diagrammes des stades mI et mII sont quasi identiques, ceux du stade mIII, correspondant à la graine quiescente, varient beaucoup (fig. 4-b). Déjà nettes sur les protéinogrammes globaux, ces différences se précisent sur les zymogrammes: on relève l'apparition d'une phosphatase anodique peu mobile, le renforcement d'une estérase catodique et l'apparition de nouvelles estérases anodiques, enfin l'apparition d'une nouvelle malate deshydrogénase à grande mobilité tandis que la zone homologue des stades mI et mII manifeste une activité amoindrie.

b) *Pendant la conservation*: En ce qui concerne la conservation (fig. 5-a), il convient de signaler, en référence à mIII et pour les graines conservées à 40°C en atmosphère sèche, la simplification des diagrammes surtout sensible chez

les axes et de façon plus précise au niveau des protéines totales et des activités estérases. Des différences plus importantes apparaissent en revanche entre les deux modes de conservation à 40⁰ C, pour les albumines d'axe, modifications dues à la chaleur humide: allure indifférenciée du protéinogramme total, très apparente sur l'enregistrement densitométrique (fig. 5-b), individualisation d'une phosphatase et disparition d'une autre à mobilité nulle à pH 8,60, et enfin disparition d'une activité estérasiqye cependant qu'une autre à plus grande mobilité anodique diminue fortement.

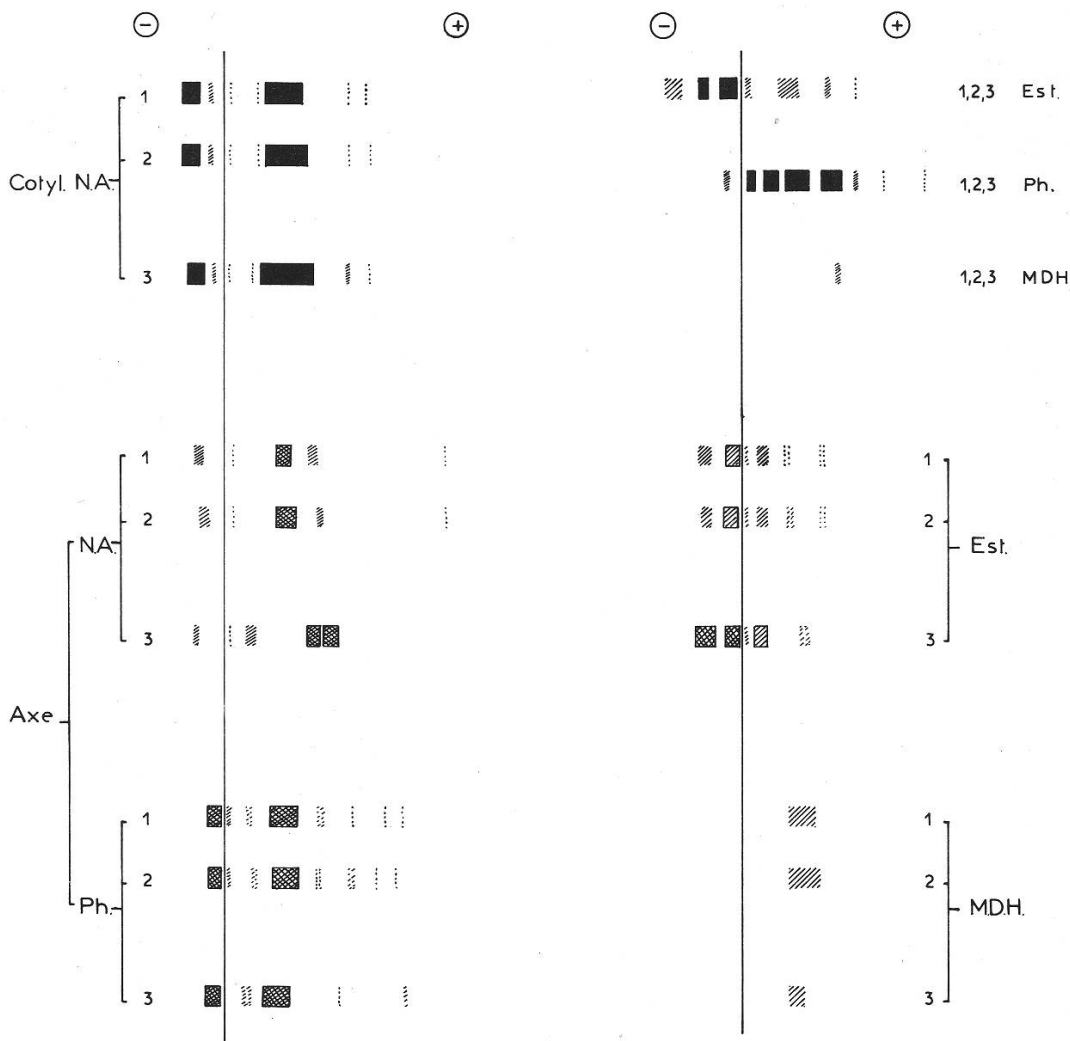


Fig. 4-a:

Diagrammes électrophorétiques en gel d'agarose: Globulines d'axe et de cotylédons. Migration 40 mn: tampon barbital-Na, f.i. 0,33, pH 8,60. 1 maturité I, 2 maturité II, 3 matrié III. NA noir amide, Ph phosphatases, Est estérases, MDH malate deshydrogénases.

V. Conclusions

Ces premiers résultats confirment la nécessité d'analyser séparément axe et cotylédons. Les modifications apparues au niveau des axes embryonnaires seraient, dans le cas contraire, effacées par suite du rapport des masses qui est d'environ 1 à 65. Il apparaît en effet que les protéines d'axes germinatifs et, de façon plus précise, la fraction albuminique, sont plus variées que celles de cotylédons et se prêtent donc à une analyse plus fine. Malheureusement pour les taxonomistes, elles présentent des variations plus importantes en fonction de l'état physiologique de la graine (stade de maturité, vieillissement). Nous sommes un peu surpris de constater ces faits car on pouvait supposer que toute l'individualité génétique inscrite dans le phénotype était réfugiée dans l'axe

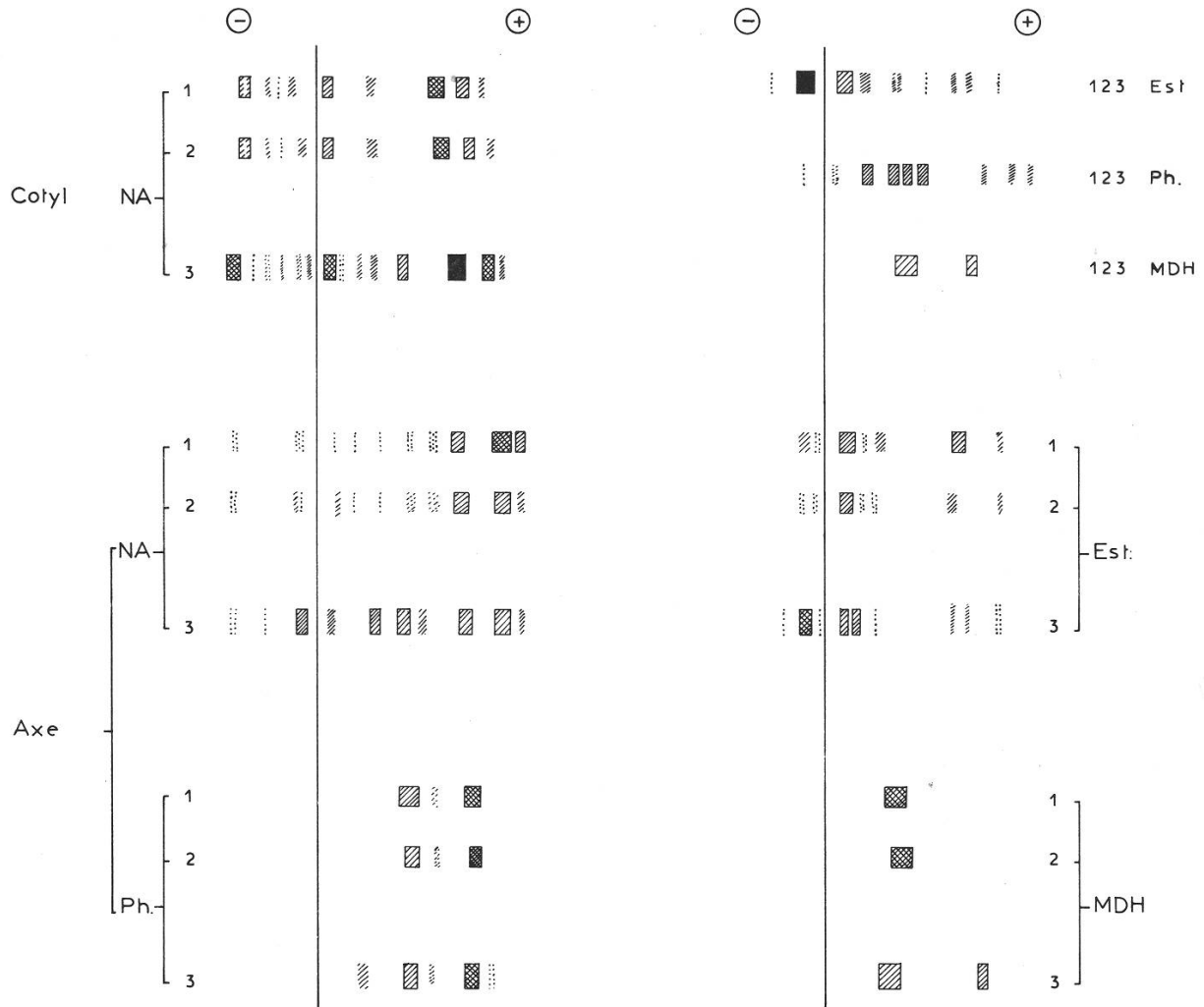


Fig. 4-b:

Diagrammes électrophorétiques en gel d'agarose: Albumines d'axe et de cotylédons.
Légendes: voir fig. 4-a. Migration 25 mn.

embryonnaire laissant aux organes de réserves, ici les cotylédons, le rôle de tampon vis à vis de l'extérieur. Or il n'en est rien puisque ce sont les cotylédons qui présentent la plus faible variabilité non génétique au niveau des protéines contrairement à ce qui se passe pour les petites molécules.

Cet aspect du phénomène présente un avantage: dans le cas de graines trop petites pour permettre une séparation du tissu de réserve, l'analyse des protéines de la graine entière reflètera l'état des protéines cotylédonaires qui, paradoxalement, sont les plus utiles puisque les moins variables quand on veut comparer des taxons à partir de graines dont on ignore les modalités de récolte et de conservation. Mais il va de soi que cette solution est un pis aller et nos résultats prouvent qu'il importe de ne comparer que des lots de graines récoltées au même stade de maturité, la maturité totale étant évidemment la plus indiquée parce que la plus sûre, et conservées de manière identique, les meilleures conditions de conservation étant celles bloquant au maximum la vie de la graine sans dénaturation, c'est-à-dire les basses températures (soit -10°C , soit $+2^{\circ}\text{C}$, nous ne pouvons trancher encore).

Nous avons pu remarquer également l'effet protecteur de la dessiccation sur les protéines enzymatiques de même que sur les potentialités physiologiques des graines conservées en conditions limites (40°C). Nous ne pouvons pour l'instant

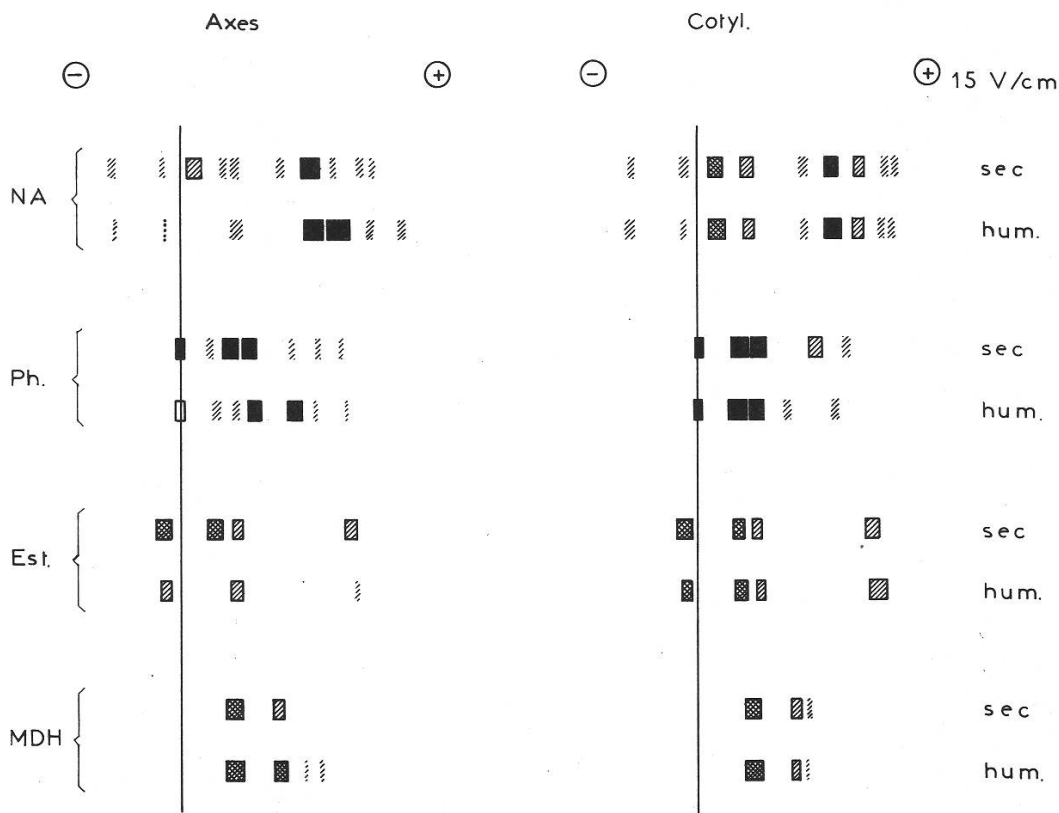


Fig. 5-a:

Diagrammes électrophorétiques en gel d'agarose: Alumines Ph. vg. 40°C . Migration 40 mn: tampon barbital-Na f.i. 0,33, pH 8,60.

que souligner le lien qui existe entre l'altération de ces potentialités, pouvoir germinatif, résistance aux infections et les modifications moléculaires des protéines et surtout des enzymes. Ces modifications sont sans doute l'indice de changements plus profonds s'étendant peut-être aux acides nucléiques comme semblerait en être un indice la croissance de plantules anormales.

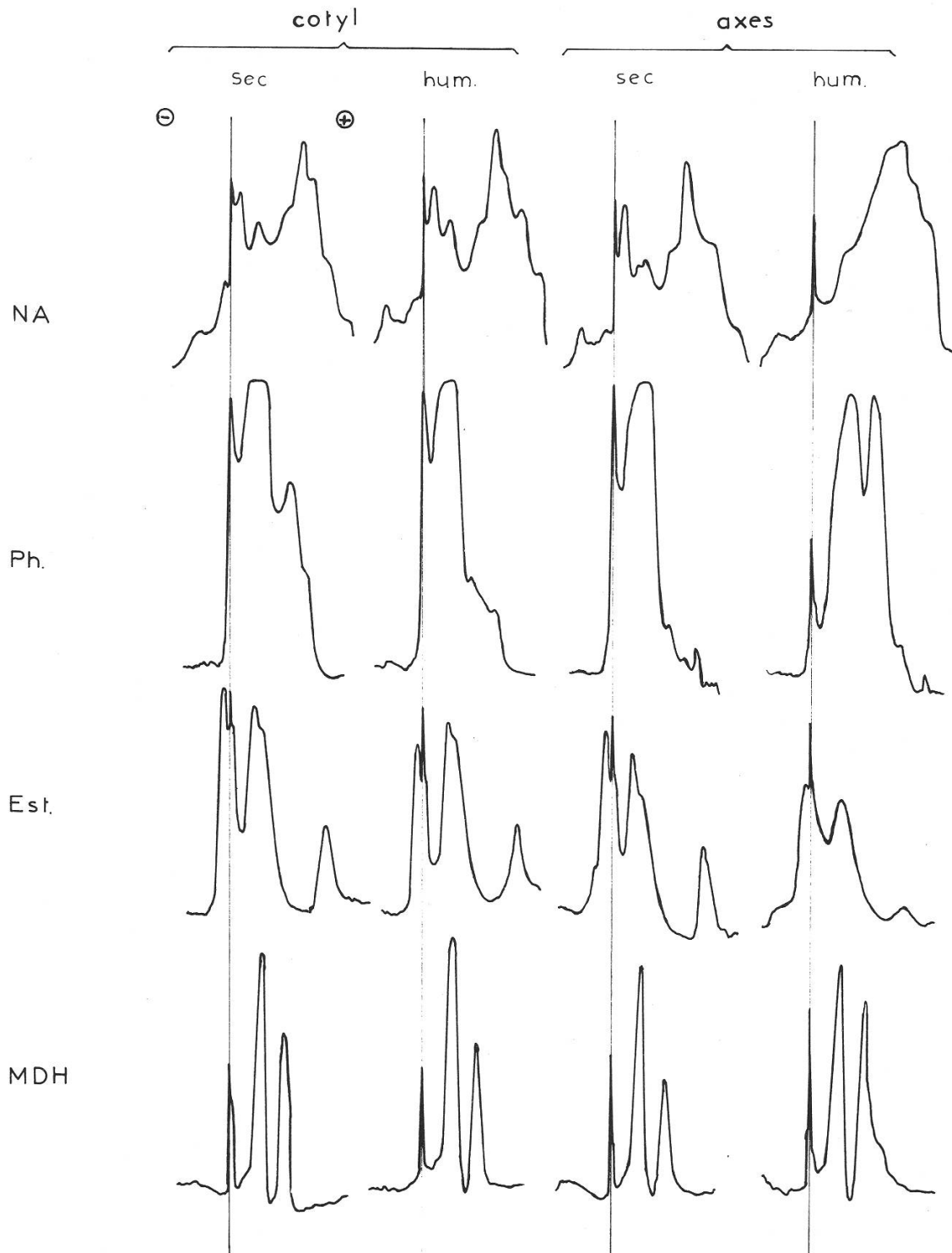


Fig. 5-b:
Diagrammes électrophorétiques: courbes densitométriques Ph. vg. 40° C.

Zusammenfassung

In Bohnensamen der Sorte *contender* wurden die Proteine der Keimlingsachse und der Keimblätter in Abhängigkeit von der Reifung und der Aufbewahrung unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Die Keimkraft nahm mit dem Altern der Samen ab. Chromatographische (Sephadex G 25) und elektrophoretische Untersuchungen (Agarosegel) zeigten, dass niedermolekulare Verbindungen und Peptide in Extrakten der Keimblätter (dagegen nicht in denjenigen der Achse) starken Schwankungen unterworfen sind. Im Gegensatz dazu verändern sich die Albumine der Keimlingsachse im Laufe der Reifung und Lagerung der Samen wesentlich stärker als diejenigen der Keimblätter.

Summary

Changes in bean seed proteins in relation to seed maturation and storage conditions

In bean seeds, the proteins of the embryo axis and the cotyledons were studied in relation to maturation and storage under different conditions. The degree of germination decreased with the age of the seeds. Chromatographic (Sephadex G 25) and electrophoretic studies (agarose gel) showed that low molecular compounds and peptides changed very much in extracts of cotyledons but not in those of the axis. In contrast to this, albumins of the embryo axis changed much more than those of cotyledons during maturation and storage of seeds.

Adresse des auteurs:

Institut de Botanique systématique de l'Université
et Conservatoire botanique
route de Lausanne 192
1200 Genève