

Zeitschrift: Boissiera : mémoires de botanique systématique
Band: 19 (1971)

Artikel: Valeur systématique des différences présentées par les protéines contenues dans les graines de plusieurs taxons de *Leucanthemum* (Composées, Astéracées)

Autor: Mmiège, Marie-Noëlle
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-895475>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 19.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Valeur systématique des différences présentées par les protéines contenues dans les graines de plusieurs taxons de *Leucanthemum* (Composées, Astéracées)

MARIE-NOËLLE MIÈGE

Introduction

Cette étude entre dans le cadre de recherches plus vastes dont le but est de déceler les différences qui peuvent exister entre les protéines des graines d'espèces données et de rechercher dans quelle mesure elles peuvent contribuer à préciser leur position taxonomique.

Bien que les résultats obtenus par l'étude des protéines végétales soient encore fragmentaires, ils se sont révélés extrêmement utiles; mentionnons seulement la lumière qui fut faite sur la génétique compliquée des blés grâce à l'étude des protéines par l'équipe américaine de JOHNSON.

Nous avons pensé qu'il serait d'un grand intérêt de s'adresser, pour une étude des protéines, à des taxons sur lesquels une recherche cytotoxonomique approfondie avait déjà été réalisée. C'est pour cette raison que nous avons choisi les *Leucanthemum* dont la cytologie est bien connue grâce aux travaux réalisés dans le service du professeur FAVARGER, à Neuchâtel, par M. VILLARD ¹.

Matériel et méthodes

Appartenant à 4 taxons, 6 échantillons furent analysés. Sur le tableau 1 figurent le n° de référence utilisé au cours de l'expérimentation, la désignation actuelle de l'échantillon, la date de récolte et le nombre chromosomique.

La petite dimension des fruits imposa une étude sur la farine totale, c'est-à-dire obtenue par mouture de l'akène complet, téguments compris. Par ailleurs, la quantité réduite de matériel dont nous disposions (100 mg à 3 g) nécessita l'emploi de micro-méthodes et orienta les recherches vers l'analyse de caractères à la fois significatifs et révélables à l'état de traces; c'est pourquoi cette première étude est principalement centrée sur des recherches enzymatiques.

¹ Nous remercions M. le Professeur FAVARGER qui eut l'obligeance de nous fournir le matériel végétal de ce travail.

Ech. n°	Désignation actuelle (et désignation antérieure)	Lieu et date de récolte	Nombre chromo- somique
1	<i>L. praecox</i> var. <i>autumnale</i>	Liddes 17.7.66	2n = 18
2	<i>L. vulgare</i> (<i>Ch. leucanthemum</i>)	Robertsau 13.6.64	2n = 36
3	<i>L. vulgare</i> (<i>Ch. leucanthemum</i>)	? 28.6.65	2n = 36
4	<i>L. vulgare</i> (<i>Ch. leucanthemum</i>)	Dorlisheim 25.4.70	2n = 36
5	<i>L. adustum</i> (<i>Ch. leucanthemum</i> subsp. <i>montanum</i>)	Champex 1970	2n = 54
6	<i>L. cuneifolium</i>	Queyras 10.8.65	2n = 72

Tableau 1. — Caractéristiques du matériel utilisé.
L. = *Leucanthemum*; *Ch.* = *Chrysanthemum*.

Pour économiser le matériel, les constituants de la graine ne furent pas déterminés dans le détail. Seule, la teneur en azote total de chaque farine a été précisée. Un bilan d'extraction totale fut cependant réalisé, mais sur une seule espèce, celle disponible en plus grande quantité (échantillon n° 4).

Le même protocole d'extraction fut appliqué à toutes les graines. Après mouture, la farine fut soumise à cinq extractions salines (NaCl 4% dans tampon phosphate pH 7), les trois premières à +2°C, les deux dernières à +20°C. Les troisième et cinquième extraits ne contenaient plus que des traces d'azote. Ayant constaté l'absence de prolamines, l'étape suivante fit appel à la soude 0.1 (N à +2°C) pour solubiliser les glutélines. L'azote résiduel fut alors dosé.

L'azote total fut déterminé par la méthode colorimétrique de NESSLER après minéralisation sulfurique.

Les globulines et albumines furent isolées des extraits salins par dialyse des solutions provenant de la dissolution dans l'eau distillée des protéines précipitées des extraits par saturation de ces derniers en sulfate d'ammonium. Après élimination totale de ce sel, les globulines précipitées, séparées de la solution albuminique et purifiées par lavages répétés à l'eau bidistillée, furent redissoutes en solutions aussi concentrées que possible et conservées congelées. (Ce mode de conservation fut jugé préférable à la lyophilisation qui, dans le cas présent, accentue le caractère de faible solubilité de cette classe de protéines. Ce caractère n'est pas général aux globulines; dans d'autres familles en effet, les Légumineuses par exemple, les globulines supportent parfaitement la lyophilisation et se redissolvent ensuite intégralement en solution concentrée et homogène.) Les albumines, restées en solution après dialyse, furent isolées et conservées par lyophilisation, procédé qui n'altéra pas leur hydrosolubilité.

Les glutélines furent analysées à partir des extraits salins concentrés.

L'analyse de toutes les familles protéiques isolées fut réalisée par électrophorèse en gel d'agarose sur lames de 7.5×2.5 cm.

Les conditions d'électrophorèse furent rigoureusement standardisées (3 ml de gel par lame; tampon véronal pH 8.6; $\Gamma: 2 = 0.033$; 110 V; 5 mA par lame; 30 minutes; migration réalisée en chambre froide à $+2^{\circ}\text{C}$) afin de pouvoir comparer des préparations réalisées successivement. Des essais simultanés furent également effectués et confirmèrent la reproductibilité des diagrammes obtenus selon la méthode adoptée.

Afin d'adjoindre aux données qualitatives, représentées par les emplacements des bandes de migration, les données fournies par l'intensité de ces bandes, nous avons cherché à soumettre à l'électrophorèse des solutions protéiques de même concentration. Ceci fut facile pour les albumines et les glutélines dont les lyophilisats se remettent intégralement en solution. Pour les globulines, le problème se complique un peu. La remise en solution du précipité obtenu après dialyse n'est pas totale et fournit une suspension qui fut filtrée préalablement à l'analyse électrophorétique. La teneur du filtrat en protéine ne put être dosée en raison de la très faible quantité de matériel disponible. Ce sera alors l'intensité de coloration en noir amide des protéinogrammes généraux qui servira de référence quantitative.

Les diagrammes électrophorétiques furent de 2 sortes:

- protéinogrammes généraux fournis par coloration des protéines, après migration, par le noir amide;
- enzymogrammes particuliers permettant de révéler la position et l'activité relative d'isoenzymes par incubation, aussitôt après la migration électrophorétique, en présence de divers substrats. La recherche des isoenzymes suivants donne des résultats positifs: peroxydases, phosphatases (acides + alcalines), malique deshydrogénases, estérases (d'acides carboxyliques).

Résultats

DIAGRAMMES ÉLECTROPHORÉTIQUES

Protéinogrammes généraux.

Seules les glutélines offrent, après traitement au noir amide, une bonne résolution et une coloration suffisamment intense. Les albumines et globulines sont faiblement colorées et assez diffuses (pl. V). La solubilité de ces deux familles protéiques est faible et les solutions saturées ne fournissent encore que des diagrammes pâles. Dans les mêmes conditions, les globulines et albumines de légumineuses par exemple donnent des diagrammes surcolorés. Les protéinogrammes obtenus ici seront surtout précieux pour estimer les activités enzymatiques en fonction de la richesse en protéine de la solution de départ évaluée par l'intensité de coloration au noir amide.

Enzymogrammes.

Les albumines ont manifesté, en général, de plus nettes activités enzymatiques que les globulines. Une opinion souvent admise est que, chez les graines, les globulines sont des substances strictement de réserve et ne sont pas métaboliquement actives. Ce jugement ne se vérifie pas ici: les albumines, bien que plus actives, n'ont pas le monopole des propriétés enzymatiques.

Diagrammes combinés.

Les courbes densitométriques des diagrammes électrophorétiques (protéinogrammes et enzymogrammes) furent établies et les surfaces relatives à chaque fraction intégrées automatiquement. Les courbes furent groupées sur un même graphique pour chaque taxon, fournissant des diagrammes combinés. Les caractéristiques de ces diagrammes sont exprimées quantitativement par la valeur des surfaces intégrées; ces données serviront de base à la comparaison des taxons.

COMPARAISON DES ALBUMINES

La plupart des albumines sont extraites à +2°C. Une extraction à température ambiante succédant à celle effectuée à basse température ne solubilise des albumines en quantité non négligeable que pour le *Leucanthemum vulgare* (n° 4) et, à un degré moindre, le *Leucanthemum cuneifolium* (n° 6). Les albumines extraites aux deux températures ont les mêmes propriétés électrophorétiques.

La figure 1 permet de comparer les taxons étudiés sur la base de leurs protéinogrammes (noir amide) et de chacune de leurs activités enzymatiques: estérasique, peroxydasique et phosphatasique. Nous constatons que certains enzymogrammes ne diffèrent que par des variations quantitatives mineures (estérases) alors que d'autres révèlent des différences quantitatives importantes (phosphatases: pic 1) et que d'autres enfin affirment des particularités qualitatives évidentes (peroxydases).

Ces différences seront plus facilement évaluées et chiffrées si l'on peut confronter sur un même graphique, pour chaque espèce, les activités enzymatiques, entre elles d'une part, et avec le protéinogramme correspondant d'autre part (diagrammes combinés, fig. 2).

Une première évaluation quantitative des données est fournie par la valeur de la surface délimitée par la courbe densitométrique correspondant à chaque fraction, que cette fraction soit révélée par activité enzymatique ou par coloration protéique. Ces valeurs sont comparables entre elles puisque les électrophorèses mirent en jeu des quantités identiques d'albumines. Cette première série de données rend compte de la quantité de la fraction considérée en référence à la quantité totale d'albumines, quantité identique pour tous les essais; autrement dit, elle est le reflet de la constitution relative des albumines.

Une deuxième série de données reflètera les particularités métaboliques des graines de chaque espèce. Elle est obtenue en comparant les activités enzymatiques entre elles.

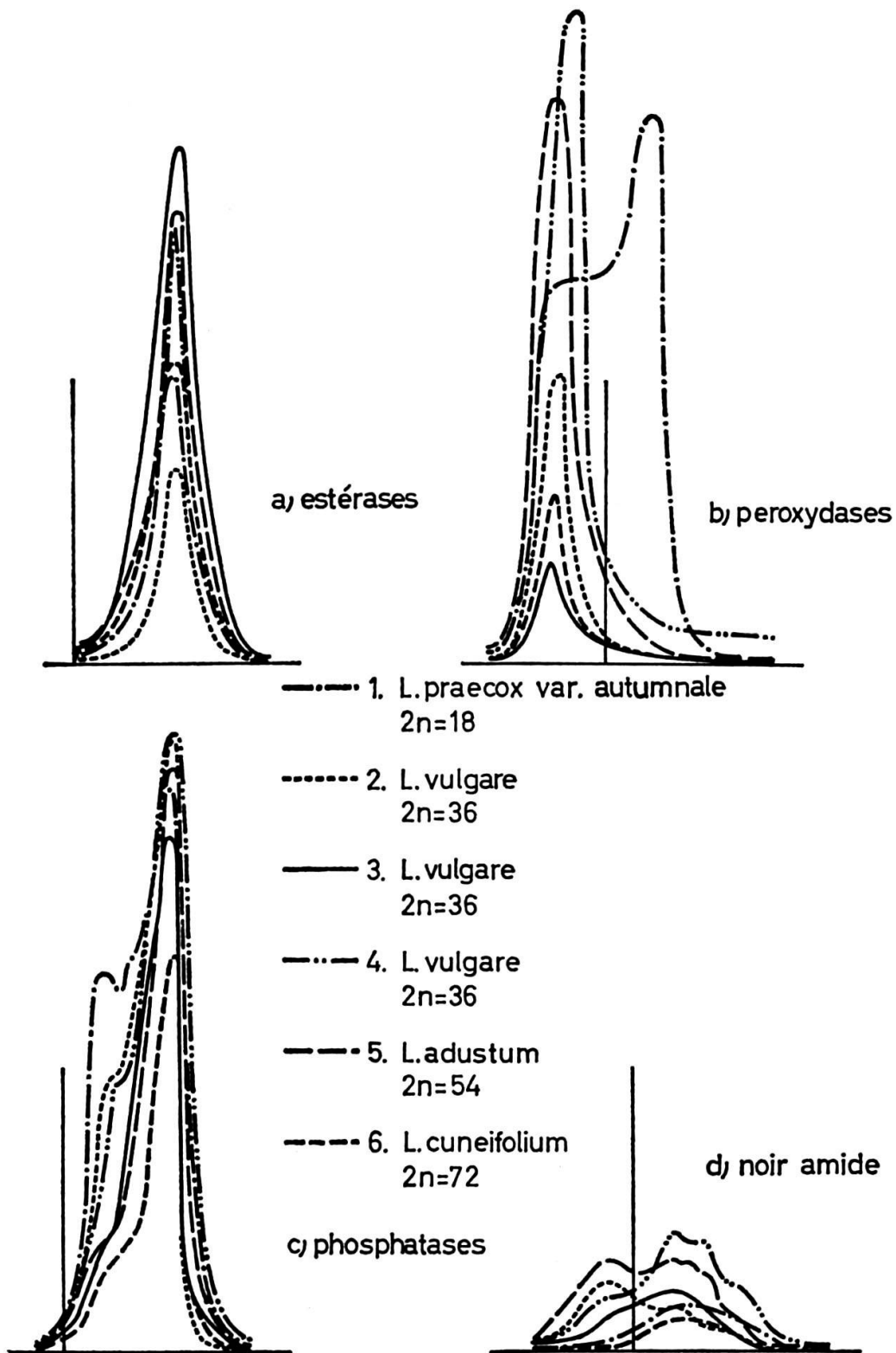
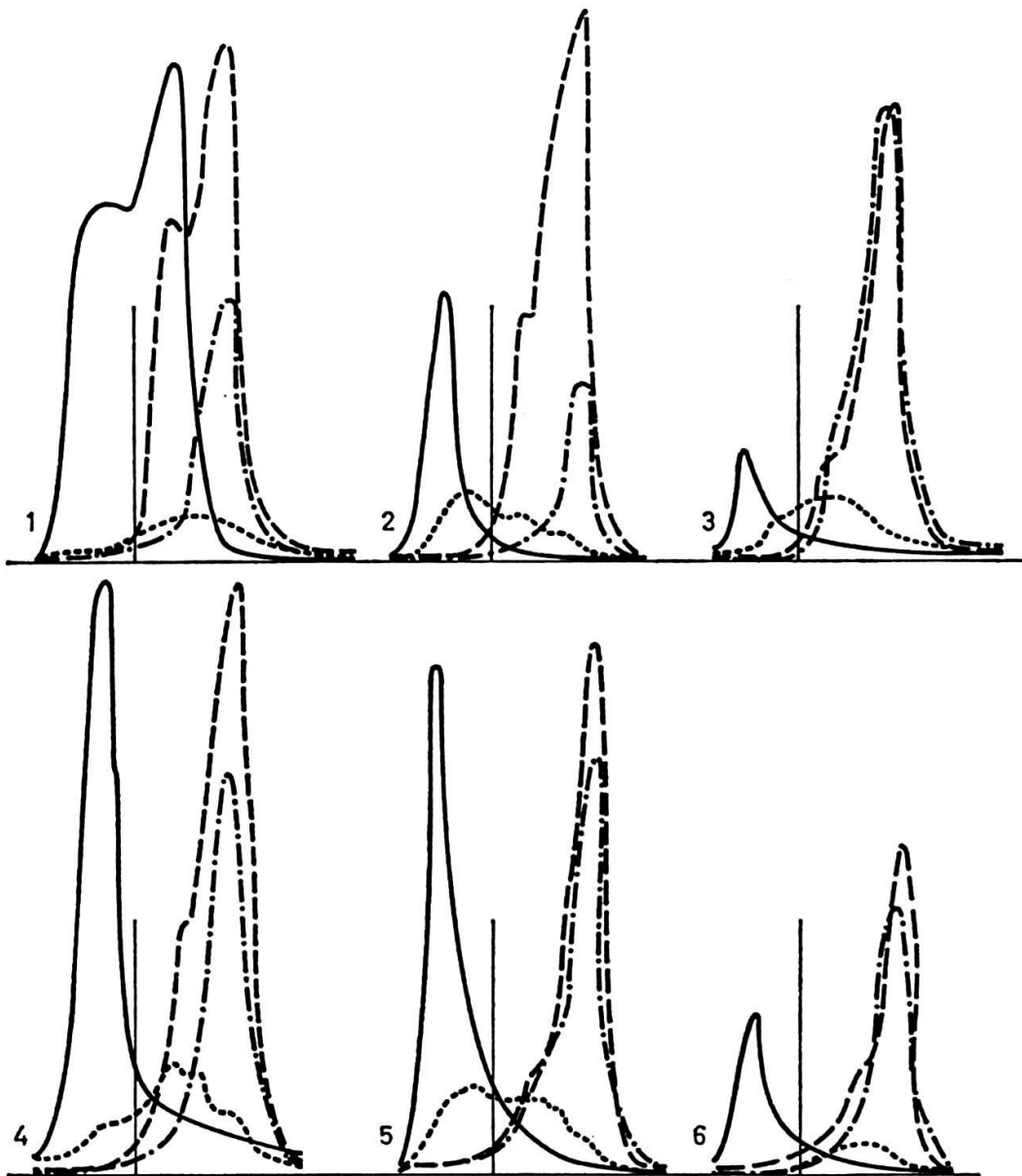


Fig. 1. — Courbes densitométriques des protéinogrammes (d) et des isoenzymogrammes (a-c) des albumines.



cm r _{exp}	noir amide		estérases	peroxydases		phosphatases	
	-0,4	+0,7 +1,3	+1,0 +1,8	+1,9	-1,0	+0,9	+0,8
1	0	10	32	50	65	35	55
2	8	11	26	30	0	20	57
3	4	16	65	13	0	9	46
4	6	25	58	68	8	18	68
5	14	20	60	60	5	12	55
6	0	8	33	20	0	8	30

— peroxydases
 - - - phosphatases
 noir amide
 - · - · estérases

Fig. 2. — Courbes densitométriques des électrophorétogrammes des albumines, groupées par échantillons (n^{os} 1 à 6).

	Fractions	Distance de migration en cm	N ^o d'expérience des échantillons					6 ¹
			1	2	3	4	5	
1 ^{re} série	<i>per</i> 1	-0.8 à -1.0	50	30	13	68	60	20
	<i>per</i> 2	+0.9	65	0	0	8	5	0
	<i>ph</i> 1	+0.8	35	20	9	18	12	8
	<i>ph</i> 2	+2.0	55	57	46	68	55	30
	<i>est</i>	+1.9	32	26	65	58	60	33
	<i>na</i> 1	-0.4	0	8	4	6	14	0
	<i>na</i> 2	[+0.7 +1.0 +1.3 +1.8]	10	11	16	25	20	8
2 ^e série	<i>at</i>		237	133	133	220	192	91
	<i>ph</i> 1 : <i>ph</i> 2		0.66	0.35	0.20	0.26	0.22	0.27
	<i>est</i> : <i>at</i>		0.13	0.20	0.49	0.26	0.31	0.36
	<i>ph</i> 1 : <i>at</i>		0.15	0.15	0.07	0.08	0.06	0.08
	<i>ph</i> 2 : <i>at</i>		0.23	0.42	0.34	0.31	0.28	0.33
	<i>ph</i> (1+2) : <i>at</i>		0.38	0.57	0.37	0.40	0.35	0.42
	<i>per</i> 1 : <i>at</i>		0.21	0.22	0.10	0.31	0.31	0.22
	<i>per</i> 2 : <i>at</i>		0.48	0.22	0.10	0.35	0.34	0.22
3 ^e série	<i>at</i> : <i>na</i>		23.7	7.0	6.7	7.1	5.6	11.0
	<i>ph</i> (1+2) : <i>na</i>		9.0	3.5	2.7	2.8	2.0	4.7
	<i>per</i> (1+2) : <i>na</i>		11.5	1.6	0.6	2.5	1.9	2.5

Tableau 2. — Valeurs fournies par l'intégration des surfaces situées sous les portions des courbes densitométriques correspondant aux diverses fractions albuminiques.

at = activité enzymatique totale; *est* = estérase; *na* = noir amide; *per* = peroxydases; *ph* = phosphatases.

¹ Les données relatives à cette variété n'ont pas une valeur aussi rigoureuse que celles concernant les autres taxons étudiés. La quantité totale d'albumines recueillie ne fut que de 1.3 mg. Cette quantité fut dissoute dans le même volume d'eau que les 2 mg des autres albumines et les données recueillies ajustées en les multipliant par le facteur 2/1.3; elles figurent donc ici sous réserve, à titre indicatif et afin de compléter les données que fournira l'analyse des globulines de cette espèce qui fut réalisée dans des conditions normales sur un matériel moins parcimonieux.

Enfin une indication utile (troisième série de données) est fournie en comparant, pour chaque espèce, l'activité enzymatique totale à la quantité de protéine estimée par l'intensité de coloration par le noir amide. On pourra s'étonner que cette intensité ne soit pas identique pour tous les taxons étudiés puisque les solutions albuminiques soumises à l'électrophorèse avaient toutes la même teneur en lyophilisat. Les différences observées peuvent tenir à la composition des protéines et surtout à des pertes relatives de solubilité. Cet ajustement permet de ramener l'activité enzymatique décelée à la quantité réellement correspondante de protéines soumises à l'électrophorèse en introduisant les facteurs solubilité et stabilité relatives des protéines.

Le tableau 2 groupe toutes ces données. Les valeurs manifestement originales ont été encadrées. Soulignons les plus marquantes:

- il existe chez le diploïde *Leucanthemum praecox* (n° 1) une peroxydase à mobilité anodique qui n'existe chez aucune autre espèce;
- l'activité enzymatique totale proportionnellement à la teneur en protéines, reflétée par la coloration au noir amide, est d'une supériorité très marquée chez le *L. praecox* (n° 1);
- l'activité estérasique, relativement à l'activité enzymatique totale, est la plus forte chez le tétraploïde *L. vulgare* (n° 3) et la plus faible chez le *L. praecox* (n° 1);
- les deux phosphatases décelées sont d'importance relative variable: la moins mobile est proportionnellement beaucoup plus importante chez le *L. praecox* (n° 1).
- Enfin le tétraploïde *L. vulgare* (n° 3) se signale par la plus faible activité relative de ses peroxydases.

Toutes ces différences, ainsi que d'autres moins évidentes, sont exprimées en langage binaire dans le tableau 3, qui comporte 20 comparaisons, ce qui permet d'évaluer (tabl. 4) le pourcentage de communauté entre les échantillons étudiés.

Nous voyons que la plus grande affinité est présentée entre l'hexaploïde *L. adustum* (n° 5) et la tétraploïde *L. vulgare* (n° 4) puis entre les deux tétraploïdes *L. vulgare* (n° 3 et 4), ceci en grande partie à cause du faible pouvoir peroxydasique du tétraploïde (n° 3). Nous constatons que le pourcentage de communauté, élevé entre les échantillons catalogués n° 1, 5, 6 et 4 (deux tétraploïdes, l'hexaploïde et l'octoploïde) diminue dès qu'interviennent le tétraploïde n° 3 et surtout le *L. praecox* (n° 1). Ces deux échantillons présentent entre eux, encore moins d'affinité qu'avec tous les autres.

Voyons alors si les caractères des autres familles protéiques confirment ces résultats.

COMPARAISON DES GLOBULINES ET GLUTÉLINES

Globulines.

L'extraction à +20°C succédant à celle à +2°C solubilise une quantité de globulines relativement faible, variable suivant les espèces. Il semble que ces protéines aient les mêmes caractères que celles extraites à +2°C, comme on peut le constater en fig. 3, et comme cela avait déjà été noté à propos des albumines.

Facteur	Limite ¹	N ^o d'expérience des échantillons					
		1	2	3	4	5	6
<i>per</i> 1	>35	+	—	—	+	+	—
<i>per</i> 2	>10	+	—	—	—	—	—
<i>ph</i> 1		+	+	+	+	+	+
<i>ph</i> 2		+	+	+	+	+	+
<i>est</i>		+	+	+	+	+	+
<i>na</i> 1		—	+	+	+	+	—
<i>na</i> 2		+	+	+	+	+	+
<i>ph</i> 1 : <i>ph</i> 2	>0.4	+	—	—	—	—	—
<i>at</i>	>140	+	—	—	+	+	—
<i>at</i> : <i>na</i>	>15	+	—	—	—	—	—
<i>est</i> : <i>ät</i>	>0.4	—	—	+	—	—	—
	<0.15	+	—	—	—	—	—
<i>per</i> (1+2) : <i>na</i>	>3	+	—	—	—	—	—
<i>per</i> 1 : <i>at</i>	≤0.1	—	—	+	—	—	—
<i>per</i> (1+2) : <i>at</i>	≤0.1	—	—	+	—	—	—
<i>per</i> (1+2) : <i>at</i>	>0.4	+	—	—	—	—	—
<i>ph</i> 1 : <i>at</i>	=0.15	+	+	—	—	—	—
<i>ph</i> 2 : <i>at</i>	>0.2	+	+	+	+	+	+
<i>ph</i> (1+2) : <i>at</i>	>0.3	+	+	+	+	+	+
<i>ph</i> (1+2) : <i>na</i>	≥4	+	—	—	—	—	—

¹ Les limites sont choisies de manière à mettre en relief les différences les plus significatives.

Tableau 3. — Réduction des données du tableau 2 en un mode à une alternative (mêmes abréviations qu'en tableau 2).

On remarque que la fraction cathodique révélée au noir amide est indépendante de l'activité peroxydasique située à ce niveau de migration, les plus fortes activités se manifestant dans des cas où aucune coloration au noir amide n'est décelée (fig. 3, n^{os} 1a et 3b).

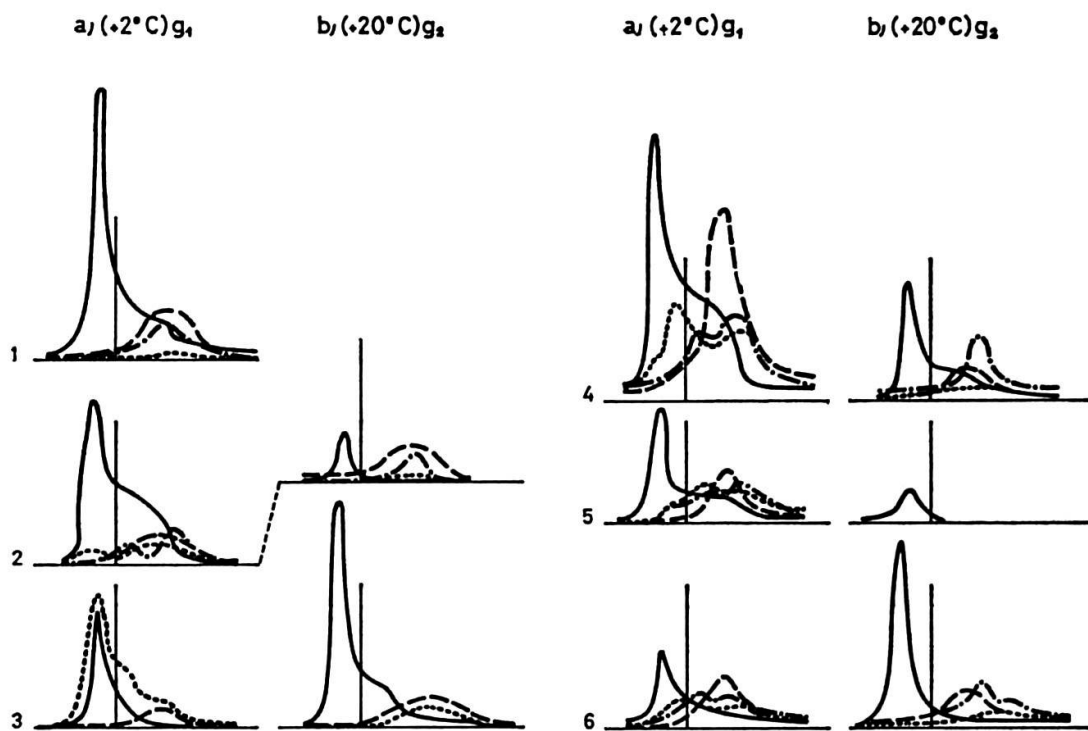
Les données quantitatives fournies par les diagrammes de la figure 3 sont groupées dans le tableau 5 et transposées en mode binaire dans le tableau 6 permettant ainsi de classer les taxons par affinité (tabl. 7). Pour utiliser comparativement les valeurs des surfaces, elles ont dû être appréciées en référence à l'intensité de coloration au noir amide, en raison de la difficulté qu'il y eut à obtenir des solutions globuliniques de même concentration, la faible quantité de matériel n'ayant pas permis de doser ces solutions.

L'examen du tableau 5 révèle la grande originalité du *L. praecox* (n^o 1), originalité dont est responsable la très faible concentration en protéines des solutions soumises à l'électrophorèse (appréciée par l'intensité de coloration au noir amide), faiblesse

N° des échantillons		1	2	3	4	5
2		50				
3		30	80			
4		55	85	70		
5		55	85	75	100	
6		50	90	80	85	85

Communauté	Espèces (2n)	Echantillons
100%	<i>L. vulgare</i> (36) ——— <i>L. adustum</i> (54)	4 ——— 5
85-90%		
70-80%		
50-60%		
30%	<i>L. praecox</i> (18) ——— <i>L. vulgare</i> (36)	1 ——— 3

Tableau 4. — Pourcentages de communauté entre les échantillons tirés du tableau 3, et classement par affinités.



	<i>na</i>		<i>est</i>		<i>ph</i>		<i>per</i>	
	<i>g</i> ₁	<i>g</i> ₂	<i>g</i> ₁	<i>g</i> ₂	<i>g</i> ₁	<i>g</i> ₂	<i>g</i> ₁	<i>g</i> ₂
1	2	—	9	—	13	—	22	—
2	7	3	5	—	12	—	15	5
3	22	2	—	—	4	8	8	14
4	20	3	12	6	25	6	27	16
5	14	—	8	—	10	—	9	3
6	10	5	4	4	6	4	7	18

— peroxydases
 - - - phosphatases
 noir amide
 - . - . estérases

Fig. 3. — Courbes densitométriques des électrophorétogrammes des globulines, groupées par échantillons (n^{os} 1 à 6).

qui n'empêche pas une forte activité peroxydasique. En ce qui concerne les autres taxons, on ne distingue pas de différences marquantes, surtout lorsque les caractères sont considérés globalement pour les deux groupes de globulines. Le *L. vulgare* (n° 3) est mis en relief par la faible activité enzymatique de ses globulines extraites à basse température. Ses globulines extraites à température ambiante sont, en revanche, les plus actives, particularité qu'il partage avec le *L. vulgare* (n° 4).

Le classement par affinités (tabl. 7) rejoint celui fourni par l'étude des albumines. Les résultats combinés se résument ainsi: les échantillons catalogués n° 2, 4, 5, 6 sont proches, le tétraploïde *L. vulgare* n° 3 est plus singulier, le plus original est le diploïde *L. praecox*.

Fractions		N° d'expérience des échantillons					
		1	2	3	4	5	6
g ₁	at	44	32	12	64	27	17
	na	2	7	22	20	14	10
	at : na	22.0	4.6	0.6	3.2	2.0	1.7
	per : na	11.0	2.1	0.4	1.3	0.6	0.7
	ph : na	6.5	1.8	0.2	1.2	0.7	0.6
	est : na	4.5	0.8	0.0	0.6	0.6	0.4
g ₂	at	0	5	22	28	3	26
	na	0	3	2	3	1	5
	at : na	0.0	1.7	11.0	9.3	3.0	5.2
	per : na	0.0	1.7	7.0	5.3	3.0	3.6
	ph : na	0.0	0.0	4.0	2.0	0.0	0.8
	est : na	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	0.8
g ₁ +g ₂	at	44	37	34	92	30	43
	na	2	10	24	23	15	15
	at : na	22.0	3.7	1.4	4.0	2.0	2.9
	per : na	11.0	2.0	0.9	1.9	0.8	1.7
	ph : na	6.5	1.2	0.5	1.3	0.7	0.7
	est : na	4.5	0.5	0.0	0.7	0.5	0.6

Tableau 5. — Données numériques caractéristiques tirées de la valeur des surfaces situées sous les portions de courbes densitométriques relatives aux diverses fractions globuliniques (mêmes abréviations qu'en tableau 2 et fig. 3).

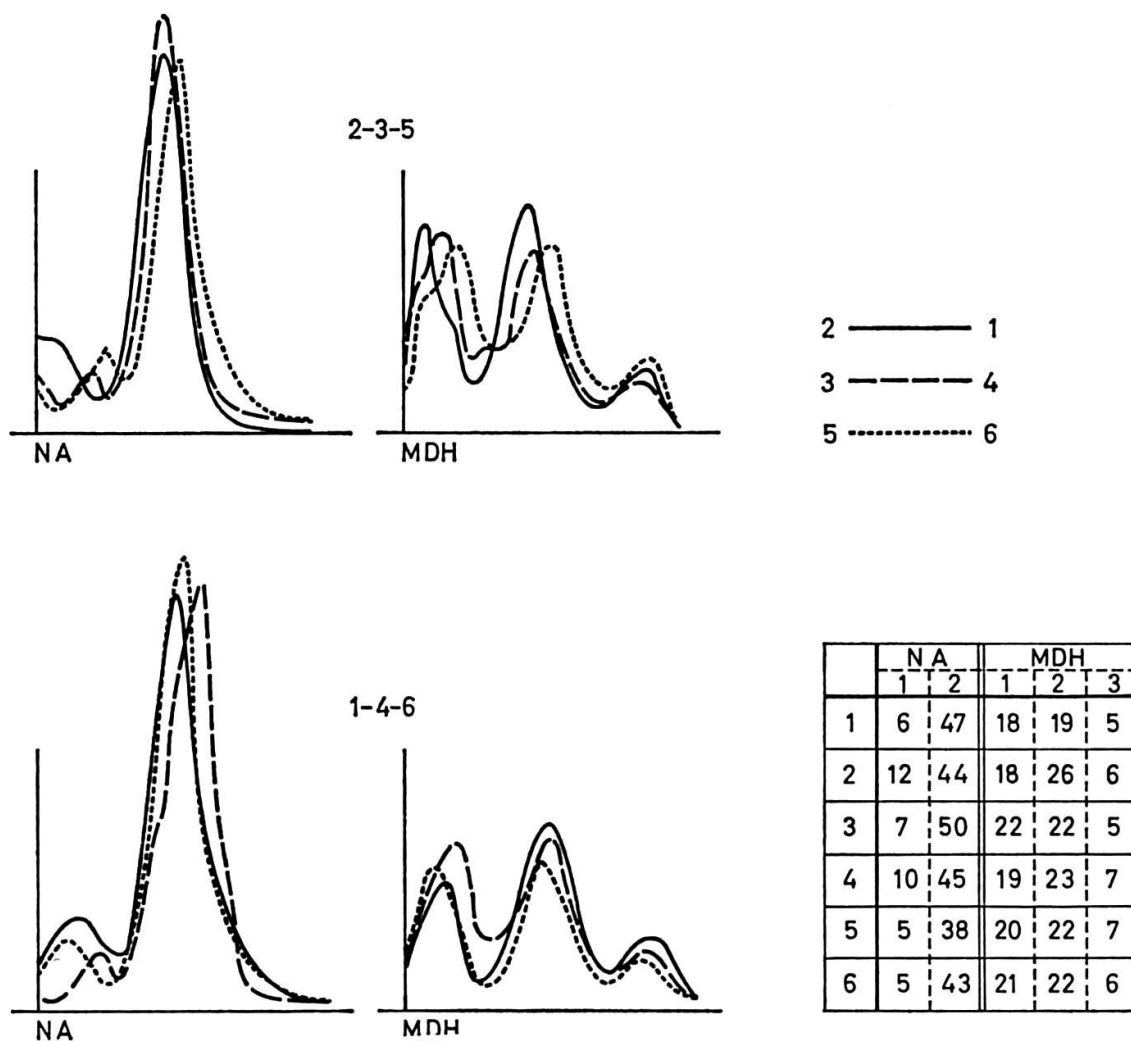


Fig. 4. — Courbes densitométriques des électrophorétogrammes des glutélines, colorés au noir amide (NA) ou par le test d'activité malique-deshydrogénasique (MDH). Les chiffres correspondent aux n^{os} des échantillons.

	Facteurs	Limite	N° d'expérience des échantillons					
			1	2	3	4	5	6
g ₁	at : na	>10	+	-	-	-	-	-
	at : na	<1	-	-	+	-	-	-
	per : na	>5	+	-	-	-	-	-
	per : na	<1	-	-	+	-	+	+
	ph : na	>2	+	-	-	-	-	-
	ph : na	<0.3	-	-	+	-	-	-
	est : na	>1	+	-	-	-	-	-
	est : na	=0	-	-	+	-	-	-
g ₂	g ₂	absentes	+	-	-	-	-	-
	g ₂	traces	-	-	-	-	+	-
	at : na	>6	-	-	+	+	-	-
	per : na	>5	-	-	+	+	-	-
	ph : na	≥2	-	-	+	+	-	-
	est : na	>1	-	-	-	+	-	-
g ₁ +g ₂	at : na	>10	+	-	-	-	-	-
	per : na	>10	+	-	-	-	-	-
	ph : na	>2	+	-	-	-	-	-
	est : na	>1	+	-	-	-	-	-

Tableau 6. — Réduction des données du tableau 5 en un mode à une alternative (mêmes abréviations qu'en tableau 2 et fig. 3).

Glutélines.

Le protéinogramme des glutélines (pl. V d-e) et son densitogramme (fig. 4) montrent une grande analogie entre les taxons étudiés. Deux fractions anodiques se distinguent nettement dont une prédominante. La seule différence, mineure, concerne la position de la bande la moins mobile, différence qui ne paraît pas significative. Les tests enzymatiques furent négatifs. Celui de la malique déshydrogénase révéla trois fractions dont deux correspondaient aux fractions révélées par le noir amide. Cette coloration n'est cependant pas imputable à la présence de malique déshydrogénase car elle est également obtenue, avec la même intensité, lorsque le test est effectué sans substrat. Au total, trois fractions sont révélées qui ne sont pas caractéristiques des espèces, mais peut-être du genre ou de la famille, car ce diagramme est totalement différent de celui présenté par les glutélines de Légumineuses par exemple.

CARACTÈRES DIVERS

Les diverses données qu'il fut possible d'établir avec la modeste quantité de matériel disponible sont reportées dans le tableau 8.

N ^o des échantillons	1	2	3	4	5
2	50				
3	11	61			
4	28	78	72		
5	39	89	61	67	
6	45	94	67	72	94

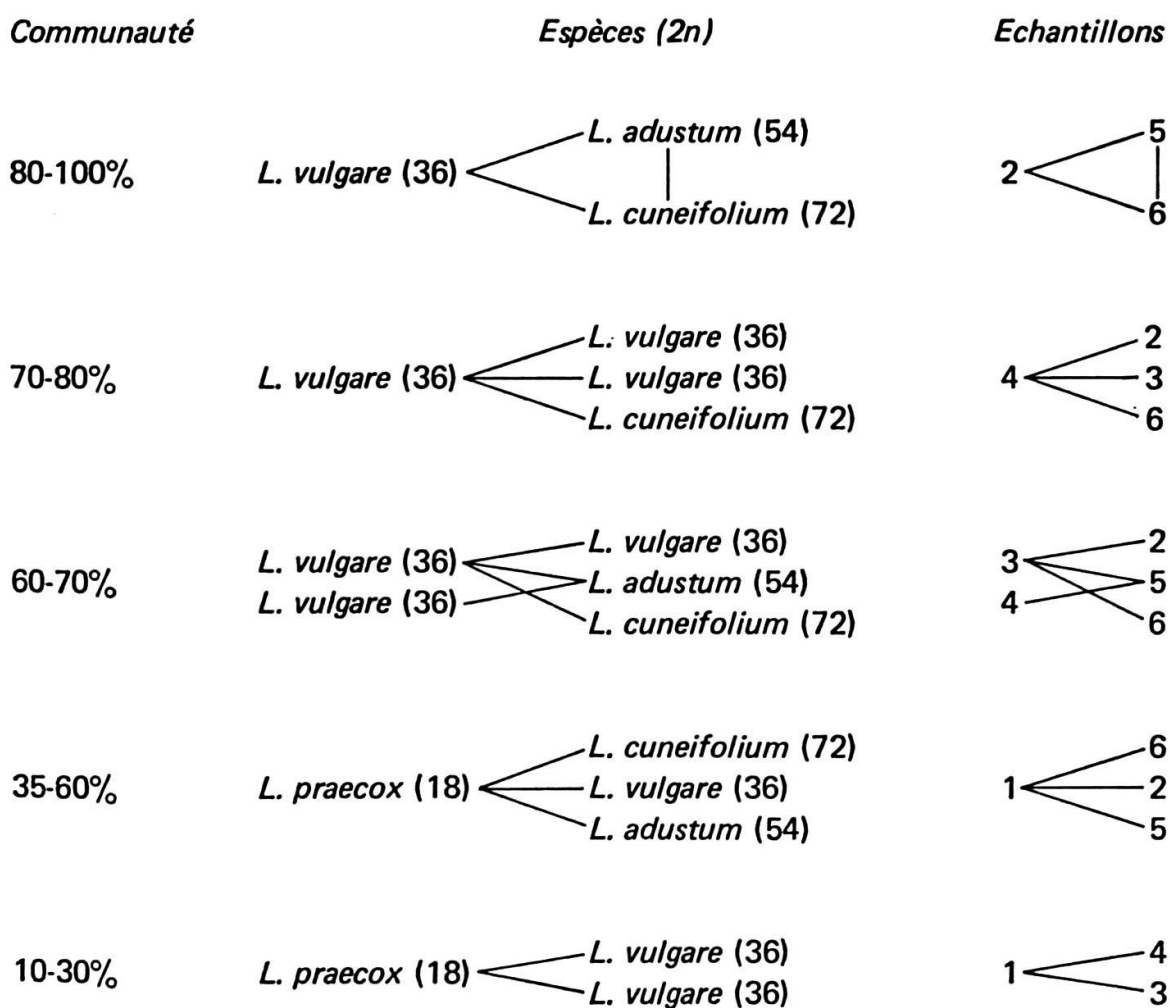


Tableau 7. — Pourcentages de communauté entre les échantillons tirés du tableau 6, et classement par affinités.

N ^o d'expérience	1	2	3	4	5	6
	2n = 18	36	36	36	54	72
aspect de la farine	brun gris	brun gris	brun gris	brun gris	brun foncé, collante	grise
coloration des extraits salins (solution)	jaune-vert clair	jaune clair	jaune foncé opalescent	jaune-brun		jaune
coloration des extraits sodiques lyophilisés	beige soutenu	blonde	marron	marron clair	marron foncé	beige clair
extraction à 20°C succédant à celle à 2°C	—	+	+	+	+	+
solubilité des globulines évaluée par colorabilité au noir amide	faible	moyenne	moyenne	faible	moyenne	faible
N total γ /mg de farine	25.0	30.6	31.8	32.8	28.9	36.6
N non extrait γ /mg de farine	7.6	11.4	11.1	10.2	13.2	10.5

Tableau 8. — Différences manifestées par la farine et les extraits des échantillons étudiés.

Le tableau 9 fournit, à titre indicatif et non comparatif les résultats d'un bilan d'extraction exhaustive réalisé sur un *L. vulgare* à 2n = 36 (n^o 4).

La teneur en azote des graines varie de 2.5 à 3.7%, ce qui représenterait une richesse approximative en protéine de 15 à 23%. Le diploïde *L. praecox* se signale par sa plus faible teneur en azote (2.5%) ainsi que par la faible solubilité de ses globulines aussi bien à 2°C qu'à 20°C.

L'hexaploïde *L. adustum* se distingue par la dimension plus grande de ses akènes qui, par ailleurs, fournissent une farine collante et tamisant mal.

L'extraction mettant en jeu les solvants classiques n'est pas exhaustive: l'azote résiduel est élevé, de 29% à 45% environ de l'azote total de la farine. Dans les mêmes conditions le taux d'azote non extrait d'une farine de cotylédons d'une légumineuse, la dolique par exemple, n'est que de 1.5%. Il est vrai qu'ici, contrairement aux essais sur la dolique, les enveloppes des fruits n'ont pas été éliminées et entrent dans la constitution de la farine.

N total	N extraits salins	N albumines	N globulines	N glutélines	N résiduel
100	52.8	17.0	35.8	17.7	29.5

Tableau 9. — Bilan d'extraction exhaustive d'une farine de *L. vulgare* à 2n = 36 (n^o 4).

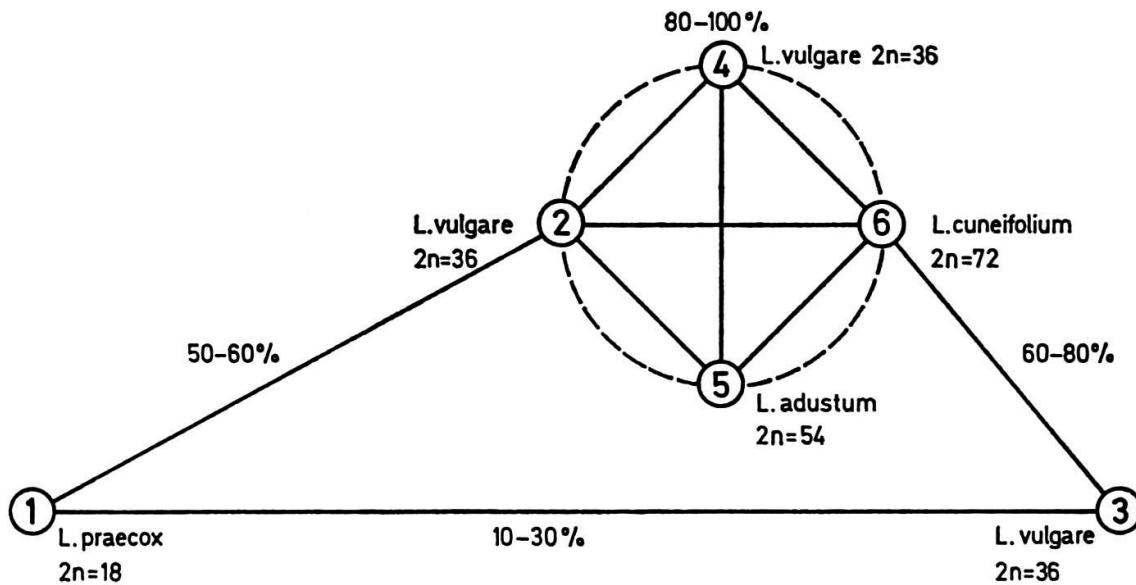


Fig. 5. — Illustration des affinités que présentent entre eux les échantillons analysés de *L. vulgare* s.l.

Conclusions

Les déductions que nous pouvons tirer actuellement de cette première étude sont nécessairement prudentes du fait de la nécessité de réaliser, et nous nous y employons, une étude approfondie de toutes les influences extra-génétiques sur la constitution des protéines de graines, en général. Un tel programme doit être entrepris sur un matériel disponible abondamment et génétiquement contrôlé, provenant de cultures expérimentales : c'est un travail de longue haleine qui n'a pas encore, à notre connaissance, été réalisé, mais qui seul permettra de faire des déductions taxonomiques certaines à partir de variations observées dans la constitution de ces protéines.

Parmi les facteurs pouvant intervenir, il nous semble important de contrôler particulièrement le degré de maturation au moment de la récolte, le mode de conservation des graines et la durée de conservation.

Examinons maintenant, toutes réserves faites quant à la cause génétique des différences observées, les déductions taxonomiques qu'il conviendrait de faire si les facteurs que nous venons de mentionner se révèlent avoir été sans influence.

L'espèce *Leucanthemum vulgare* sensu lato est une espèce complexe dont les composants sont très proches les uns des autres par la plupart de leurs caractères. Or notre première constatation est que, dans l'ensemble, les propriétés des protéines des échantillons étudiés sont très voisines et que les différences doivent se chercher dans le détail. Hormis le caractère le plus frappant qui singularise les isoperoxydases du *L. praecox*, les différences présentées se manifestent sur le plan, non pas qualitatif, mais uniquement quantitatif. Or, il n'en est pas toujours ainsi : les diverses espèces

de *dioscorées* que nous étudions actuellement manifestent les unes envers les autres de biens plus considérables singularités.

Le groupe des *Leucanthemum* représenté ici serait donc assez homogène, comme le constate M. VILLARD. Cependant, les différences morphologiques conduisent cet auteur à distinguer les di- et tétraploïdes des polyploïdes plus élevés, alors que nos constatations nous portent à séparer le diploïde *L. praecox* de tous les autres.

La figure 5 illustre les degrés d'affinité, d'après leurs caractères protéiques, des six échantillons étudiés. Le *L. praecox* mis à part, les autres taxons se révèlent assez peu différents les uns des autres. Cependant, l'échantillon n° 3 se distingue des deux autres tétraploïdes (n° 2 et 4). Le coefficient de similitude entre les n° 3 et 2 est seulement de 61 %. Ces trois types de *Leucanthemum* constitueraient des variétés et auraient certains de leurs gènes donneurs différents. Il faut cependant relever que les lots de *Leucanthemum vulgare* n° 3 et 4 ont des dates de récolte éloignées. Les divergences constatées sont alors peut-être dues à des modifications biochimiques ayant eu lieu, pendant 4 années de conservation, dans la graine quiescente. Nous espérons être en mesure, après les expérimentations que nous avons en cours, de préciser ce point très important. Mais des années d'observations sont nécessaires pour cette vérification.

Les isoenzymogrammes paraissent en particulier d'un grand intérêt. Nous retrouvons de façon remarquablement constante certaines enzymes: une peroxydase catodique qui pourrait être caractéristique du genre ou de la famille (une telle peroxydase n'existe pas, en effet, chez la Légumineuse *Lablab niger*); une phosphatase est également constante dans toutes les espèces (+2 cm); l'autre phosphatase a, par contre, une variabilité spécifique et variétale. Mais les variations les plus grandes à ce niveau sont, non pas qualitatives, mais quantitatives et sont fournies par l'activité enzymatique totale ainsi que par les rapports entre les activités des diverses enzymes. Ceci révèle, en effet, le métabolisme latent de la graine, métabolisme qui orientera les premières différenciations.

Quant à la fidélité des divers caractères protéiques étudiés, l'accumulation de résultats d'études semblables à celle-ci, mais réalisées sur d'autres groupes taxonomiques, permettra d'établir lesquels, parmi eux, ont la valeur taxonomique la plus indépendante des influences exogènes. Toutes les précisions apportées conduiraient à mieux interpréter les rapports existant entre les protéines présentes dans les graines et le génôme du taxon considéré.

DISCUSSION

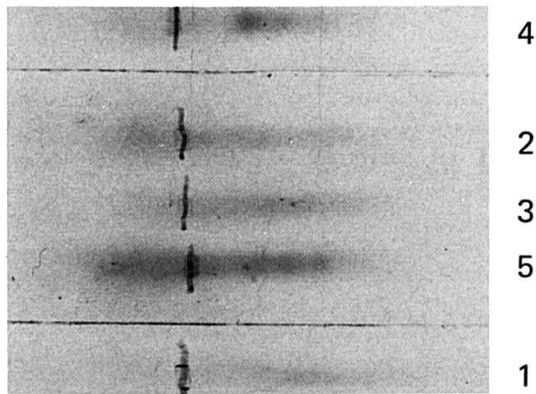
GONZALEZ BERNALDEZ relève que des difficultés inhérentes au matériel ont été constatées aussi sur des graines de *Trifolium subterraneum*. Là, les conditions de culture semblent avoir une influence très peu marquée sur les résultats. Par contre, le degré de maturité lors de la récolte et les conditions de conservation jouent un grand rôle. Il faudrait arriver à fixer un moment physiologique précis pour la récolte des graines et à standardiser, dans la mesure du possible, les conditions de conservation (p. ex. basse température et atmosphère de CO₂).

M^{me} MIÈGE ajoute qu'une autre précaution à prendre est de travailler toujours sur de la farine fraîchement moulue. Dans la farine, même conservée à basse température, les transformations sont beaucoup plus sensibles que dans les graines entières. Dans certains cas, avec de la farine fraîchement moulue mise au congélateur, les caractères de solubilité sont déjà modifiés après 24 heures de conservation et deviennent très différents après deux semaines. La conservation de solutions (congélation, lyophilisation?) pose aussi des problèmes: là, les changements peuvent être encore plus sensibles.

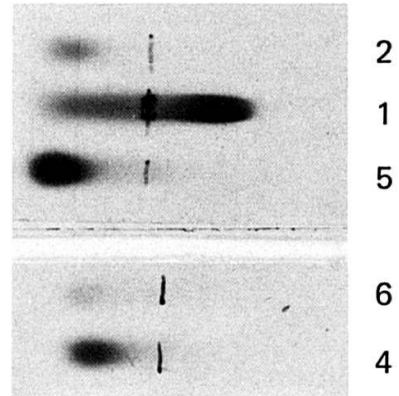
VALENTINE pense qu'il serait intéressant d'étendre ces études et, notamment, de comparer les différents taxons diploïdes du complexe du *Leucanthemum vulgare*. Il cite comme exemple celui localisé dans l'ouest de l'Angleterre (le taxon tétraploïde correspondant étant beaucoup plus répandu).

M^{me} MIÈGE relève la difficulté qu'il y a à obtenir des quantités suffisantes de graines et sollicite l'aide des collègues qui pourraient lui en procurer. La connaissance des diagrammes électrophorétiques des différents taxons diploïdes serait en effet particulièrement précieux puisqu'il devrait permettre d'identifier la provenance des génomes des taxons polyploïdes.

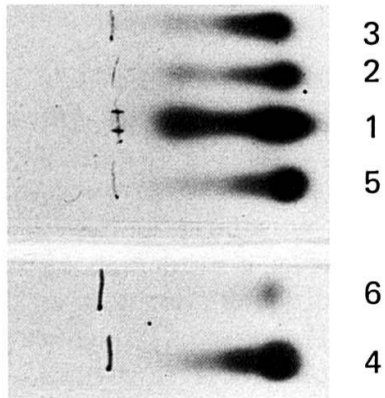
FAVARGER souligne l'intérêt taxonomique des résultats présentés, qui confirment notamment les particularités morphologiques et écologiques très nettes du *Leucanthemum praecox* var. *autumnale*.



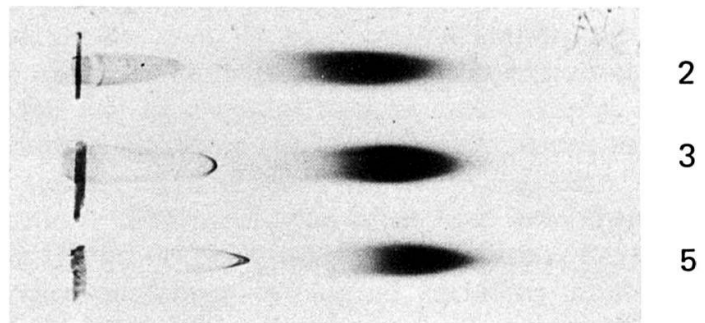
a



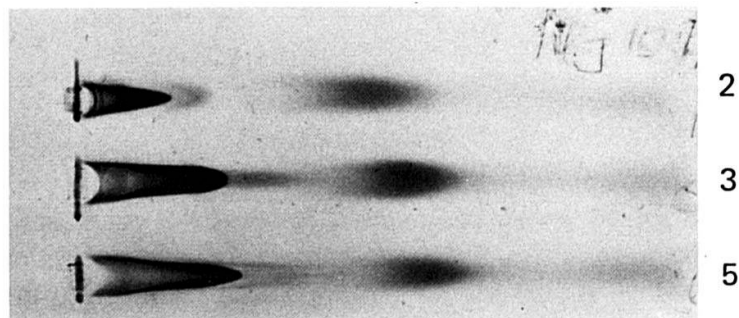
b



c



d



e

Photographies des protéinogrammes et isoenzymogrammes des albumines (a-c) et des glutélines (d, e): a et d, coloration au noir amide; b, activité peroxydasique; c, activité phosphatasique; e, coloration obtenue par le test d'activité malique-deshydrogénasique. Les chiffres correspondent aux n^{os} des échantillons.