

# Constitution chimique des plantes et systématique : signification taxonomique de la connaissance des protéines et acides nucléiques

Autor(en): **Miège, Marie-Noëlle**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Candollea : journal international de botanique systématique = international journal of systematic botany**

Band (Jahr): **23 (1968)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-880349>

## **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.

## **Constitution chimique des plantes et systématique : Signification taxonomique de la connaissance des protéines et acides nucléiques**

MARIE-NOËLLE MIÈGE

### RÉSUMÉ

La connaissance de la constitution chimique des organismes végétaux devient, grâce aux progrès des techniques biochimiques, de plus en plus précise. Ce travail est une mise au point des données recueillies à ce jour dans ce domaine et une discussion sur la valeur taxonomique de ces critères.

L'auteur sépare les critères chimiques sur la base de leur signification génétique, distinguant ainsi ceux des protéines et acides nucléiques d'un côté et ceux des substances non protéiques de l'autre.

Les substances chimiques issues du métabolisme secondaire ne sont pas directement liées au potentiel génétique des organismes; elles dévoilent cependant un aspect très précieux de l'histoire de l'évolution et de la sélection des organismes végétaux, conduisant à une meilleure connaissance de la phylogénie. En tenant compte à la fois de la présence des composés secondaires et des voies biosynthétiques de leur élaboration, de nouvelles et efficaces données ont pu être fournies aux taxonomistes. Des exemples sont présentés, tirés de l'étude des classes chimiques suivantes: glucides; constituants phénoliques, flavonoïdes et anthocyanes; alcaloïdes; terpènes; lipides; aminoacides.

Mais les véritables affinités et différences existant entre les organismes sont génétiques. Elles sont reflétées, directement, par la constitution des acides nucléiques et des protéines nucléaires; indirectement, par la structure des protéines cytoplasmiques.

Parmi les protéines cellulaires globales, il faut distinguer les protéines présentes en quantité suffisante pour être décelées par les techniques actuelles d'électrophorèse et de chromatographie, et les enzymes qui ne sont généralement révélées que par des traitements spécifiques ou par immunochimie. La signification taxonomique des unes et des autres a été discutée à l'aide d'exemples concrets. Chez les angiospermes, les graines représentent la source de protéines la plus intéressante pour le taxonomiste.

Parmi les protéines nucléaires, celles dont la structure est directement liée aux gènes ont retenu plus particulièrement l'attention, principalement les histones.

Enfin, les derniers progrès réalisés en taxonomie grâce aux recherches sur la constitution des acides nucléiques ont été exposés.

### SUMMARY

The knowledge of the chemical constitution of plant organisms is becoming, thanks to biochemical improving techniques, more and more accurate. This work is a sifting of

information about new data collected up to now in the field of the organisms' chemical composition and a discussion about taxonomic value of these criteria.

The author separates chemical criteria on the basis of their genetical meaning, thus distinguishing characters of proteins and nucleic acids on the one hand, chemical criteria other than proteic on the other.

Chemical substances, products of secondary metabolism, are not directly related to the genetic potential of organisms. Nevertheless, they reveal a valuable aspect of the evolutionary history and selection of the organisms, leading to a better concept of the phylogeny. Taking into account both the occurrence of the secondary products and the biosynthetic paths of their elaboration, new and effective data became available to taxonomists. Examples are given, drawn out from the study of the following chemical classes: glucids; phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins; alkaloids; terpens; lipids; amino acids.

But the real affinities and differences between organisms are the genetic ones and these are reflected, directly, by the composition of their nucleic acids and nuclear proteins, indirectly, by the structure of their cytoplasmic proteins.

Among the whole cellular proteins, one must distinguish, on the one hand, proteins present in amount sufficient for their detection by present day electrophoretical and chromatographic techniques, and, on the other hand, enzymes which, usually, are only revealed by specific or immunochemical treatments. The taxonomic significance of both has been discussed with the help of concret examples. In Angiosperms, seeds supply the taxonomist with the most interesting proteins.

As for nuclear proteins, special attention has been paid to those whose structure is directly related to genes, in particular, the histones.

Finally, recent improvements achieved in taxonomy through research on the constitution of nucleic acids have been commented.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Unsere Kenntnis der chemischen Konstitution der lebenden Organismen wird dank der technischen Fortschritte der Biochemie immer genauer. Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick über die bis heute bekanntgewordenen Tatsachen aus diesem Bereich und bespricht ihre taxonomische Verwendbarkeit.

Verfasserin scheidet die chemischen Gegebenheiten aufgrund ihrer genetischen Bedeutung in zwei Hauptgruppen: die sich auf Eiweisse und Nukleinsäuren beziehenden einerseits, die Nichteiweissstoffe betreffenden andererseits.

Die Produkte des Sekundärstoffwechsels stehen nicht in direkter Beziehung zum Genbestand der Organismen; dennoch veranschaulichen sie einen sehr wesentlichen Aspekt der Wirkung von Evolution und Selektion und ermöglichen eine bessere Kenntnis der phylogenetischen Vorgänge. Durch gleichzeitige Berücksichtigung der sekundären Stoffwechselprodukte und des Verlaufs ihrer Biosynthese wurden der Taxonomie wertvolle neue Grundlagen geliefert. Beispiele aus den folgenden Stoffgruppen werden aufgeführt: Glukoside; Phenolderivate, Flavonoide und Anthocyane; Alkaloide; Terpene; Lipide; Aminosäuren.

Die grundlegenden Beziehungen und Unterschiede zwischen den Organismen sind genetischer Natur. Sie ergeben sich direkt aus der Konstitution der Aminosäuren und Kerneiweisse, indirekt aus der Struktur der Eiweisse des Cytoplasmas.

Im globalen Eiweissbestand der Zelle unterscheidet man die mengenmässig wichtigen Proteine, welche sich durch die gebräuchlichen elektrophoretischen und chromatographischen Methoden trennen und nachweisen lassen, und die Enzyme, die spezieller, insbesondere immunochemischer Methoden bedürfen. Die systematische Bedeutung beider Eiweissgruppen wird besprochen und durch Beispiele belegt. Bei den Angiospermen stellen die Samen die in dieser Hinsicht interessantesten Eiweissquellen dar.

Unter den Kerneiweissen fanden diejenigen spezielle Beachtung, deren Struktur direkte Beziehungen zur Gensubstanz aufweist, insbesondere die Histone.

Abschliessend wird über die letzten für die Systematik bedeutsamen Fortschritte in der Ermittlung des Baus der Nukleinsäuren berichtet.

## INTRODUCTION

Les biologistes sont au centre actuellement d'une des plus excitantes périodes de découvertes, et les taxonomistes ne peuvent pas rester en dehors du grand courant des progrès biologiques. Il devient de plus en plus évident que les méthodes et les techniques de la biochimie peuvent être avantageusement utilisées par le taxonomiste, lui permettant d'établir un grand nombre de données nouvelles étroitement en rapport avec la systématique.

Les techniques actuelles permettent d'étudier la distribution de nombreux sous-produits du métabolisme, souvent appelés produits secondaires; mais ce sont surtout les progrès sans cesse réalisés dans le domaine de la biologie moléculaire et, particulièrement, dans la connaissance de la biosynthèse des protéines qui, appliqués à la recherche génétique, permettront d'arriver au cœur des différences systématiques entre les organismes. Kloz et al. (1959) résumant ainsi la place qu'il faut maintenant accorder à la recherche protéique en taxonomie: « Les composants protéiques de la matière vivante représentent des caractéristiques importantes des unités systématiques ou taxons. On doit maintenant parler directement des caractères des protéines ou « protènes » et d'un complexe de caractères protéiques ou « proténome ». Un tel complexe définit un taxon aussi bien et peut-être mieux, que ne le font les autres caractères; le proténome, en effet, peut être considéré comme un facteur primaire (acides nucléiques), alors que tous les autres caractères (produits du métabolisme secondaire, facteurs morphologiques, réactivité physiologique au milieu...) sont des caractères dérivés ou secondaires. »

Or, peut-être à cause des exigences inhérentes à l'étude des protéines, c'est, jusqu'à ces dernières années, surtout l'étude des produits du métabolisme secondaire qui a intéressé les chimiotaxonomistes. En fait, c'est en partie à cause des nombreuses recherches que la plupart de ces substances ont suscitées en pharmacologie ou en agronomie, qu'elles ont intéressé les taxonomistes.

## I. NATURE ET VALEUR DES CRITÈRES CHIMIQUES NON PROTÉIQUES

Il ne fait pas de doute, remarque Erdtman (1964), que les recherches chimiques peuvent être utilisées et le seront dans l'avenir de plus en plus largement afin de projeter le maximum de lumière sur les problèmes phylogéniques qui sont parmi les plus difficiles et les plus intrigants que la nature propose.

Le problème de l'appréciation des données en taxonomie est particulièrement épineux et, si les informations chimiques sont d'une importance taxonomique majeure, les intégrer dans le lot des données morphologiques n'est pas facile. La morphologie, base sur laquelle la systématique classique est établie, dépend de la constitution génétique d'une manière beaucoup plus complexe que celle révélée par ce côté de la physiologie qui a trait à la biosynthèse des composés secondaires. Cependant, ces biosynthèses peuvent révéler de nombreux aspects de la phylogénie. Chaque étape d'une synthèse exige un système enzymatique génétiquement contrôlé qui peut être modifié ou perdu à la suite de mutations génétiques subies au cours de l'évolution et

qui ont conduit au monde végétal actuel, si complexe que les systématiciens reconnaissent, parmi les seules angiospermes, 250 000 espèces réparties dans près de 300 familles !

Toutes ces mutations, responsables de cette diversité, se traduisent par des altérations de la structure des constituants, dont la connaissance est ainsi précieuse pour le taxonomiste, mais, plus encore que ces composés, ce sont les processus biosynthétiques permettant leur élaboration qui seront significatifs et permettront de révéler les liens phylogéniques. Aussi est-il bon de préciser brièvement quelles sont les principales voies biosynthétiques et comment elles peuvent être affectées par les mutations.

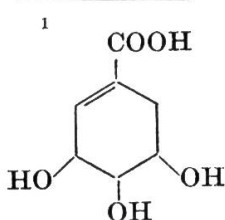
Auparavant rappelons une règle reconnue il y a longtemps et que les pharmacologistes appelaient la « règle de pourcentage de fréquence » : plus universel sera le mécanisme métabolique qui conduit à un composé secondaire, plus grande sera la chance de rencontrer ce produit, donc plus faible sera sa signification. Autrement dit, la signification taxonomique d'un composé secondaire est proportionnelle à sa complexité biologique. Ainsi, la facilité de l'hydroxylation des composés benzéniques permet d'assurer que les processus tels que ceux d'hydroxylation des pigments flavonoïdes se produiront de façons répétées et indépendantes. Par contre d'autres oxydations telles que celles des positions saturées dans les molécules d'acides aminés ou de triterpènes seront beaucoup moins probables et par là hautement significatives.

### 1. Principales voies biosynthétiques

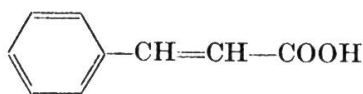
Parmi les voies biosynthétiques les plus importantes nous en distinguerons quatre.

#### a) La voie de l'acide shikimique <sup>1</sup>.

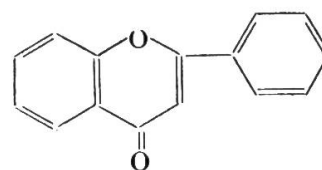
L'acide shikimique, produit intermédiaire entre les composés glucidiques et les dérivés benzéniques, conduit aux acides aminés aromatiques tels que la tyrosine, la phénylalanine et aux précurseurs de la lignine tels que l'alcool coniferyl, l'alcool



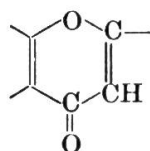
acide shikimique



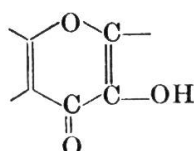
acide cinnamique



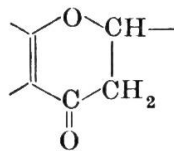
flavone



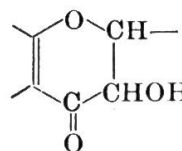
flavone  
(simplif.)



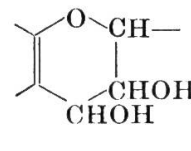
flavonol



flavanone



flavanonol



leucoanthocyane

cinnamyl oxygéné. Des composés volatils dérivés de cette voie se rencontrent dans de nombreuses espèces de *Cinnamomum* où leur production est parallèle à la lignification. Trois groupes d'huiles se différencient selon des processus compétitifs de méthylation et d'oxydation: ce sont les groupes safrol, eugénol et méthyleugénol. La phylogénie au sein du genre *Cinnamomum* est reflétée par la répartition de ces groupes d'huiles.

Cet acide shikimique conduit, d'autre part, par l'intermédiaire de l'acide cinnamique, par addition de 3 unités acétates (avec l'intervention de la coenzyme A), aux flavonoïdes et aux pigments anthocyanes. La route la plus directe de biosynthèse des anthocyanes est probablement la suivante: flavanones → flavanonols → flavenols → anthocyanines.

Il existe chez les plantes, outre les pigments anthocyaniques bien connus, des centaines de composés apparentés: les flavonoïdes. Les flavonoïdes et les anthocyanes sont très communs et résultent de la voie biosynthétique principale. Cependant, l'existence de composés plus rares et de structures particulières résultant de l'union d'acide cinnamique et d'unités acétates dans des proportions différentes de celles des flavonoïdes et anthocyanes, atteste l'existence d'une voie biosynthétique de rechange pour assembler les produits formés lorsque survient l'interruption de la biosynthèse normale des flavonoïdes. Parmi ces produits dérivés citons la zingerone, l'acide pipérique, le curcumin, la cortisoline.

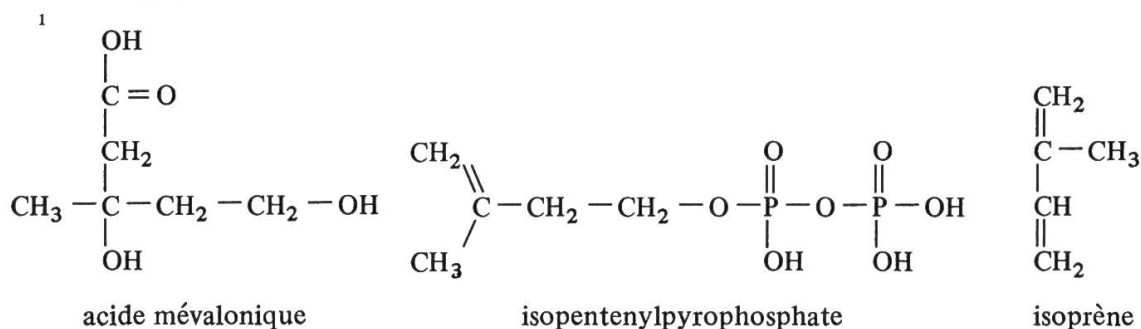
b) *La voie de la condensation acéto-acétyl.*

Par cette voie, 2 chaînons bicarbonés formés au cours du cycle respiratoire se condensent (par l'intermédiaire de la coenzyme A). Cette condensation conduit aux acides gras, métabolites fondamentaux, mais aussi à la formation de composés acétyléniques particuliers. Par la condensation d'unités acétates, cette voie est reliée à la précédente qui comporte la condensation d'unités acétates sur l'acide cinnamique.

c) *La voie de l'acide mévalonique*<sup>1</sup>.

L'acide mévalonique provient de la condensation de 3 unités acétates (3 acétylcoenzyme A) et conduit à l'isopentenylpyrophosphate précurseur de l'isoprène. Les isopentenylpyrophosphates peuvent, par condensation jusqu'à plusieurs centaines de fois, former des composés tels que le caoutchouc ou, par cyclisations et oxydations diverses, conduire à des composés volatils: les terpènes.

L'acide mévalonique conduit également aux groupes isoprénoïdes tels que le groupe phytol de la chlorophylle, les caroténoïdes, stéroïdes, etc.



d) *La voie conduisant aux alcaloïdes.*

Cette voie est complexe et reliée aux autres. Les alcaloïdes sont généralement définis comme étant des substances azotées basiques renfermant un ou plusieurs noyaux hétérocycliques azotés, produits par les végétaux et doués d'activité physiologique sur les animaux. Leur biosynthèse dérive d'un ou de plusieurs aminoacides. On a tenté de classer ces substances en familles sur la base présumée de leur aminoacide d'origine; l'ennui est que la biosynthèse de la plupart des quelques centaines d'alcaloïdes existant est encore assez obscure. Cependant, en dépit de cette grande diversité, on ne reconnaît qu'un nombre relativement restreint de précurseurs (phénylalanine, tyrosine, tryptophane, unités acétates, méthionine, ornithine). En outre, les types de réactions impliqués sont peu nombreux et comprennent surtout des acylations, des aldolcondensations, des C-méthylations et des oxydations spécifiques assez complexes qui sont directement liées à la formation de nouveaux noyaux cycliques. On peut distinguer parmi les alcaloïdes deux grands groupes: le groupe morphine dérivé de la tyrosine et le groupe indol dérivé du tryptophane.

Ces principales voies métaboliques peuvent, comme nous l'avons signalé, se rejoindre pour former des composés particuliers qui atteignent alors une complexité élevée. Un exemple est donné par la roténone qui est un produit des 3 premières voies métaboliques<sup>1</sup>. De tels composés doivent permettre de vérifier la loi du pourcentage de probabilité; il en est bien ainsi et l'on constate que la distribution de cette substance est très restreinte et se limite à quelques genres d'une sous-famille de Légumineuses (*Dalbergieae*). Mais cette connection entre certaines voies métaboliques semble réservée surtout aux organismes supérieurs. Ainsi, bien que certaines voies de l'acide shikimique et de la condensation acétoacétate existent chez les bactéries, les algues et les champignons, elles ne semblent pas se combiner: on ne trouve, en effet, presque jamais de flavonoïdes chez ces organismes.

## 2. Exemples particuliers

Quelques exemples précis vont permettre d'illustrer les relations taxonomiques qui ont pu être déduites de l'étude des produits chimiques secondaires des plantes.

a) *Glucides et glucosides.*

La très faible complexité des glucides laisse prévoir qu'ils n'ont certainement pas de grande signification taxonomique. Quelques considérations intéressantes ont permis cependant certaines mises au point: c'est ainsi que MacLeod et MacCorquodale (1958), après avoir étudié les carbohydrates hydrosolubles des graines de 22 espèces de graminées, ont constaté qu'il était possible, ignorant les données morphologiques, de distinguer absolument plus de la moitié des espèces examinées sur la seule base de leur contenu en ces substances. Après avoir comparé les contenus des graines étudiées, ces auteurs ont pu tirer les conclusions suivantes:

---

<sup>1</sup> La roténone dérive des isoflavones: par gain d'un C supplémentaire il y a formation d'un second noyau hétérocyclique, et par gain d'une unité isopentenyl cyclique puis réarrangement interne il y a formation d'un noyau furane.

- Les *Bromeae* forment une véritable tribu naturelle, tout à fait distincte des *Brachypodieae*, des *Festuceae* et des *Hordeae*.
- Les *Hordeae* forment une tribu naturelle, *Hordeum* se distinguant quelque peu des autres genres examinés.
- Toutes les *Festuceae* contiennent un  $\beta$ -glucosane soluble en plus ou moins grande quantité, mais les 2 genres: *Lolium* et *Festuca*, se distinguent par la présence d'un trisaccharide inhabituel.
- Chez les *Aveneae*, 2 genres: *Anthoxanthum* et *Holcus*, diffèrent des autres par l'absence totale de  $\beta$ -glucosane. L'inclusion de ces 2 genres dans les *Aveneae* est légèrement suspecte sur le plan morphologique. Sur le plan du contenu en carbohydrates hydrosolubles, ces 2 genres montrent des affinités avec les *Agrostideae* et, à un degré moindre, avec *Phalaris*.

Quant aux glucosides, ils proviennent de voies biosynthétiques diverses puisque leur aglycone peut être de nature variée<sup>1</sup>. Leur étude prendra place dans les différentes familles chimiques auxquelles appartiennent les aglycones. Mentionnons cependant ici le cas des glucosides cyanogénétiques: les systématiciens les ont beaucoup étudiés mais n'ont pu leur attribuer de valeur taxonomique. La cyanogenèse est commandée par 2 paires d'allèles contrôlant la présence de glucose d'une part, celle de l'enzyme hydrolysante d'autre part; mais il existe trop de glucosides pouvant fournir de l'acide cyanhydrique pour que ce caractère ait une signification taxonomique valable. On a cependant remarqué que les présences conjuguées du glucide cyanogénétique et de l'enzyme étaient plus fréquemment réalisées dans les pays chauds.

b) *Constituants phénoliques, flavonoïdes, pigments anthocyaniques.*

Elaborés par la même voie biosynthétique, ces composés englobent des classes chimiques nombreuses étroitement apparentées où figurent, à côté des flavonoïdes vrais, des chalcones, isoflavones, aurones, stilbènes, acides cinnamiques, coumarines, etc.

Les constituants phénoliques sont surtout intéressants pour préciser les rapports liés à l'évolution: en effet, les processus biosynthétiques dont ils dérivent semblent être irréversibles au-delà d'une certaine étape; quand une enzyme disparaît elle ne peut être regagnée et c'est alors le point de départ d'un changement de direction. Mais, s'il est possible d'affirmer qu'un groupe possédant un certain composé phénolique ne peut dériver d'un autre qui en contient un plus hautement modifié, par contre on ne peut souvent pas savoir quel groupe a conduit à un autre groupe.

Quant aux flavonoïdes, de complexité plus grande, ils ne sont presque jamais rencontrés chez les végétaux inférieurs et même chez les cryptogames. En revanche,

---

<sup>1</sup> Hétérosides oxygénés: l'aglycone comprend un hétérocycle oxygéné (anthocyanes, flavonoïdes); hétérosides stéroïques: stéroïdes, cardiotoniques (digitosine, strophanthoside); hétérosides à acide gallique (tanins).



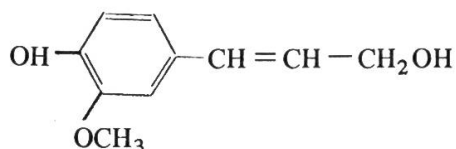
ils sont toujours présents chez les plantes vasculaires. Cette liaison des flavonoïdes avec la vascularité n'est pas fortuite: ces composés sont un des maillons du processus de lignification. Les lignines, en fait, peuvent être considérées comme des flavonoïdes au sens large, mais leur chimie est aussi compliquée que celle des résines synthétiques et plus difficile à établir car on n'en connaît pas encore les véritables unités de base; on admet généralement que les précurseurs sont des unités de phenylpropane agencées de certaines façons (l'alcool coniferyl<sup>1</sup> est prôné par beaucoup de chimistes).

L'un des grands intérêts taxonomiques des flavonoïdes est leur remarquable indépendance vis-à-vis des conditions écologiques. C'est ce que vient de confirmer une étude récente, entreprise pour tester la valeur de ce critère et conduite sur l'une des plus petites angiospermes, le *Spirodela*. Cette plante peut être cultivée artificiellement en milieu stérile. 58 traitements différents, certains à base d'auxine et d'acide gibberellique, ont révélé que la composition en flavonoïdes était invariable. La formation de ces substances, du moins chez cette plante, est si bien contrôlée intrinsèquement qu'elle est totalement insensible aux facteurs écologiques. Le seul ennui pour utiliser les flavonoïdes comme critère taxonomique c'est que ces composés sont vraiment très répandus: il est possible de rencontrer le même produit dans des groupes très éloignés.

Un autre caractère intéressant des flavonoïdes est la remarquable corrélation qui existe entre leur présence et la morphologie, corrélation qui permet de lier la morphologie à une cause physiologique et biochimique. Ici, la vascularité est liée au dépôt de lignine, lui-même concomitant à la présence d'un type de flavonoïdes: les leucoanthocyanes<sup>2</sup>. D'une manière générale on a remarqué, dans les espèces ligneuses, qu'à côté des leucoanthocyanes les flavonols prédominent, et que dans les espèces herbacées ce sont les flavones et les flavanones qui sont en majorité; la présence de leucoanthocyanes, flavonols et hydroxacides est associée à la formation de lignine alors que la présence de flavones et méthoxacides est liée à une tendance à l'inhibition de la lignification. On a constaté également que, chez une même plante, les flavonoïdes trouvés dans les tissus ligneux sont, en règle générale, des homologues réduits de ceux trouvés dans les feuilles: ainsi quand la quercitine est présente dans les feuilles, on trouve de la dihydroquercitine dans le bois; la morine dans les feuilles donnera de la dihydromorine dans le bois, etc. L'interruption du processus de lignification semble particulièrement liée à l'absence de flavonols.

Considérons maintenant le cas des betacyanines, pigments parfois improprement appelés anthocyanes azotés; ces composés, qui contiennent de l'azote dans un noyau indol et un noyau pyridine, ne sont pas chimiquement apparentés aux anthocyanes. Ces pigments betacyanines se rencontrent dans environ 10 familles dont la plupart

<sup>1</sup> Alcool coniferylique:



<sup>2</sup> A partir de ce caractère morphologique, Hutchinson avait distingué deux phylums chez les angiospermes, l'un herbacé, l'autre ligneux.

sont classées dans l'ordre des *Centrospermales*. Les familles qui produisent des betacyanines ne produisent apparemment pas d'anthocyanes, ainsi ces pigments s'excluent mutuellement. Or, la seule propriété que ces 2 types de composés ont en commun est une absorption à 545 m $\mu$  environ; on est tenté d'en déduire que le rôle majeur de ces composés dans les plantes est rempli par la couleur. Taxonomiquement, toutes les plantes à betacyanines n'ont pas été placées dans les *Centrospermales*; ainsi, la famille des Didiéracées, plantes produisant des betacyanines, ne fait pas partie de cet ordre.

c) *Alcaloïdes*.

Bien que les connaissances sur la distribution des alcaloïdes, leur rôle dans la plante et les voies biosynthétiques de leur élaboration soient encore incomplètes, les données recueillies sont souvent d'un très grand intérêt taxonomique.

La distribution de ces substances dans le règne végétal est intéressante en ce sens qu'elle est très restreinte et confinée à quelques groupes taxonomiques particuliers. La plupart des plantes en sont dépourvues: ainsi on n'en a pas trouvé jusqu'à présent dans les Labiées ni les Rosacées. Cependant la position phylogénique semble peu liée à ce caractère; on note toutefois que si un genre renferme des espèces à alcaloïdes on ne rencontrera pas dans ce genre, sauf exception, d'espèces qui en soient totalement dépourvues: toutes en posséderont au moins des traces.

En ce qui concerne les alcaloïdes particuliers, on remarque que la présence de certains d'entre eux est liée à une très haute spécificité: l'exemple classique est celui de la morphine confinée à la seule espèce *Papaver somniferum*; un autre exemple d'exclusivité, moins restreinte cependant, est celui de la necine qui ne se trouve que dans le genre *Senecio*. Cependant la plupart des alcaloïdes se rencontrent en mélanges très variés chez une même plante. Ainsi, chez une Apocynacée, le *Rauwolfia*, on ne dénombre pas moins de 20 alcaloïdes. Mais les combinaisons d'alcaloïdes d'une même espèce peuvent varier considérablement en fonction de la provenance géographique: par exemple des *Aconitum napellus* du Tyrol, d'Auvergne et de Haute-Marne ont révélé des teneurs en digitaline et autres alcaloïdes très différentes.

Fait taxonomique intéressant, il existe un alcaloïde commun à toutes les espèces d'une famille: c'est la protopine des Papaveracées; or cet alcaloïde est aussi présent chez les Fumariacées; ce rapprochement a contribué à révéler les liens de parenté qui existent entre ces deux familles. Une autre distribution taxonomique intéressante est celle des alcaloïdes isoquinolines qui forment un groupe très vaste apparemment dérivé de la tyrosine: ces alcaloïdes se rencontrent presque toujours dans un groupe de familles qui a longtemps été considéré par les taxonomistes comme faisant un groupe naturel, l'ordre des *Ranales*.

d) *Terpènes*.

Ces substances (polymères de l'isoprène) ont fait l'objet de nombreuses études. Produites par environ 2000 espèces de plantes supérieures réparties dans une soixantaine de familles, elles sont particulièrement caractéristiques pour les Pinacées, Ombellifères, Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Labiées et Composées. Ces substances

sont présentes également chez les Graminées. De Wet (1967), étudiant le genre *Dichanthium* de cette famille, a constaté une étroite correspondance entre la composition en huiles essentielles et les caractères morphologiques.

Chez les conifères, en particulier chez les pins, les terpènes cycliques constituent la majeure partie de la fraction volatile de l'oléorésine; ce sont les produits terminaux du métabolisme. L'examen de centaines d'espèces de pins a permis d'établir que la composition de la fraction terpènes cycliques est caractéristique de chaque espèce et indépendante de la saison ou du lieu géographique. Par ailleurs, la connaissance de la composition des terpènes des espèces reliques a été très utile pour établir les rapports phylogéniques et éclairer les voies possibles d'évolution des espèces contemporaines. C'est ainsi qu'on a pu établir que le *Pinus jeffreyi*, espèce relique californienne, occupait une position intermédiaire entre le groupe *Macrocarpae* et le groupe *Australes* plus récent.

D'un autre côté, la composition des terpènes des pins peut apporter de nouvelles données à l'histoire des continents. Ainsi, les mêmes composants terpéniques existent chez les pins d'Amérique occidentale et d'Asie orientale; ceci suggère l'existence d'un continent aujourd'hui disparu, situé dans le Pacifique entre l'Asie du Nord et l'Amérique du Nord, d'où ces pins seraient originaires. Les routes de migration sont également éclairées par l'étude de ces constituants: la plupart des pins européens du sud-ouest ont la même composition que ceux d'Amérique orientale, ce qui laisse penser que ces pins vinrent en Europe par le Groenland et le Spitzberg; alors que le pin sylvestre, qui possède les mêmes terpènes que les pins asiatiques, serait sûrement venu en Europe par l'Asie.

Si la connaissance des terpènes des pins aide à établir leur taxonomie, en revanche, la composition des huiles essentielles des *Eucalyptus* tend à compliquer la classification de ce genre si divers morphologiquement. Si, en général, les changements morphologiques sont concomitants aux changements dans la composition chimique des huiles essentielles, il existe des variations dans ce dernier facteur chez des *Eucalyptus* tout à fait identiques morphologiquement, différences qui ne sont dues ni au sol, ni au climat ou à un autre facteur écologique. Ceci a conduit à l'introduction du terme « forme chimique » pour distinguer ces variants.

Parmi les autres constituants terpéniques étudiés, citons les caroténoïdes (squalène, carotène, xanthophylle, ribixanthine, etc.). Valadon et Mummery (1968), après avoir étudié la distribution de ces substances dans les tissus non photosynthétisants de nombreuses plantes supérieures et de champignons, arrivent à la conclusion que les caroténoïdes ne présentent aucune valeur taxonomique, surtout parce que la température et les radiations lumineuses et ultraviolettes exercent une grande influence sur leur composition quantitative et qualitative.

#### e) *Lipides.*

L'intérêt taxonomique de ces substances fut généralement fortuitement révélé à la suite d'études d'intérêt économique ou médical. Une très grande variété d'huiles et de matières lipidiques diverses sont synthétisées par les plantes qui les emmagasinent dans leurs graines et fruits. Ainsi la composition en acides gras des graines et fruits des *Palmae* est un caractère spécifique très intéressant. Par ailleurs, l'étude des

acides chaulmoogriques <sup>1</sup> illustre bien le profit que la taxonomie a tiré des recherches médicales: les huiles de diverses espèces de la famille des Flacourtiacées étaient utilisées depuis longtemps par les indigènes africains, indiens et chinois pour le traitement de la lèpre. Leur analyse a révélé que les plus efficaces contenaient des glycérides de la série des acides chaulmoogriques et que ces substances étaient confinées à certaines tribus de cette très utile famille.

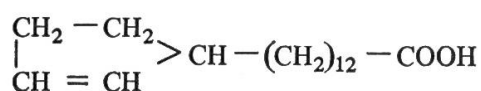
f) *Aminoacides.*

Il reste, avant de clore cet examen de l'intérêt taxonomique des substances non protéiques, à considérer le cas des acides aminés libres. Les aminoacides, pierres unitaires fondamentales de l'édifice protéique, peuvent exister à l'état isolé et libre dans les organismes végétaux. C'est surtout chez les graines que l'intérêt taxonomique de ces substances fut révélé. Ainsi, les Légumineuses semblent se caractériser par la présence dans leurs graines d'un aminoacide particulier: la canavanine, ainsi dénommé parce qu'il fut tout d'abord découvert chez trois espèces de *Canavalia* étroitement apparentées. Depuis, cet acide fut trouvé présent dans les graines de 31 espèces de Légumineuses. L'apparente restriction de cet aminoacide libre à la famille des Légumineuses suggérait que sa biosynthèse était, directement ou indirectement, associée à la présence des bactéries fixatrices d'azote dans les nodosités des racines des plantes de cette famille. Bell (1960), pour vérifier cette hypothèse, fit pousser le *Medicago sativa* et le *Trifolium pratense* en présence et en l'absence de leurs *Rhizobium*, mais il dut constater que la biosynthèse de la canavanine ne dépendait pas des bactéries fixatrices d'azote des nodosités.

Toujours chez les Légumineuses, Casimir et le Marchand (1966) ont amélioré la taxonomie des Phaséolinées en étudiant les acides aminés et les peptides libres des graines. Ils ont ainsi montré que les *Vigna* se distinguent des *Phaseolus*, *Lablab* et *Dolichos* par l'absence d'acide pipécolique, que, d'autre part, les *Phaseolus* et les *Lablab* sont très proches, enfin que l'absence d'asparagine et d'un peptide particulier distingue les *Macroptilium* des *Phaseolus* et des autres genres de la tribu.

Au terme de cet aperçu sur l'intérêt présenté par la présence chez les plantes de substances chimiques non protéiques, nous constatons que la valeur taxonomique de ce caractère est très variable suivant les classes chimiques de ces composés et aussi suivant les processus biosynthétiques qui ont conduit à leur élaboration. Ces substances, à elles seules, ne peuvent fournir une expression significative du potentiel génétique des plantes qui les contiennent. Néanmoins, de leur confrontation, les taxonomistes ont pu, dans certains cas, recueillir de très intéressantes données qui ont orienté ou précisé leurs classifications.

<sup>1</sup> L'acide chaulmoogrique est un acide gras à chaîne alicyclique à cycle terminal insaturé à 5 atomes de carbone:



## II. CONNAISSANCE DES PROTÉINES ET DES ACIDES NUCLÉIQUES ET TAXONOMIE

Nous allons maintenant considérer le cas des protéines et des acides nucléiques, examinant tout d'abord comment, théoriquement, ces substances sont significatives en taxonomie, exposant ensuite quels progrès les recherches dans ce domaine ont permis de réaliser, pour entrevoir, enfin, les possibilités de cette science encore toute jeune: la taxonomie fondée sur les critères protéiques.

### 1. *Valeur théorique des critères protéique et nucléique en taxonomie*

#### A. ACIDES NUCLÉIQUES: CONNAISSANCE GÉNÉTIQUE DIRECTE.

Les gènes conditionnent la spécificité et même l'individualité des organismes. La connaissance de leur structure et la comparaison des différences que ces structures présentent, d'un organisme à l'autre, devraient donc permettre de déduire les affinités qui les lient. Le message que porte un gène s'exprime par la succession des codons qui le constituent. Connaître un gène revient donc à déterminer la séquence des bases qui composent son ADN. Nous verrons quelles réalisations sont faites dans ce domaine et l'intérêt qu'elles offrent ; mais la connaissance directe des acides nucléiques des gènes n'est pas la seule manière possible d'apprécier leurs différences de structure.

#### B. PROTÉINES CELLULAIRES: REFLET INDIRECT DES GÈNES.

Crick et al. (1961) ont révélé que, de la séquence des bases dans les gènes, dépendait la séquence des aminoacides dans les protéines dont ces gènes commandaient la synthèse. La connaissance de la séquence des aminoacides de chaque protéine présente dans un organisme fournirait évidemment une révélation directe de la séquence des bases dans les gènes; mais très peu de protéines ont été étudiées de façon aussi détaillée; en outre, une telle étude n'est pas applicable à un mélange de protéines. Mais la séquence des aminoacides dans une protéine, ou structure primaire, conditionne tout l'arrangement moléculaire protéique, c'est-à-dire les structures secondaire, tertiaire et quaternaire; or, de ces structures, dépendent la charge électrique nette et la taille de la molécule protéique. C'est pourquoi les techniques électrophorétiques et chromatographiques permettront d'apprécier les différences de structure des molécules protéiques avec, nous le verrons, une précision de plus en plus grande.

#### C. PROTÉINES NUCLÉAIRES: REFLET DIRECT DES GÈNES.

Les protéines nucléaires, fraction particulière des protéines cellulaires globales, sont liées de façon encore assez obscure aux ADN; même si elles ne font pas partie du matériel génétique lui-même, elles doivent avoir un rôle dans le fonctionnement, l'expression des gènes et la régulation de leur activité. Les protéines essentielles du noyau sont les protamines et les histones, protéines basiques liées à l'ADN pour former une nucléoprotéine, substance complexe fondamentale des gènes. Les pro-

tamines ne se rencontrent jamais dans les tissus somatiques mais dans les tissus germinaux, notamment dans les spermatozoïdes de certaines espèces. Les histones sont présentes dans tous les tissus somatiques. A côté de ces protéines nucléaires fondamentales existent des protéines non histones dont la teneur varie suivant les tissus et conditionne la taille des noyaux. Ces protéines forment un ensemble complexe, encore mal connu, se répartissant en :

- protéines du suc nucléaire (globulines),
- protéines des ribosomes nucléaires,
- protéines acides du nucléole,
- protéines non histones des chromosomes,
- constituants protéiques de la membrane nucléaire et
- enzymes.

Parmi toutes les protéines nucléaires, les plus significatives du point de vue taxonomique sont celles dont la structure est directement liée à celle des gènes. A cet égard, les protéines acides et les histones semblent présenter un intérêt tout particulier.

Le contrôle de l'activité des gènes par les histones est maintenant reconnu; ces protéines seraient, de ce fait, responsables de la différenciation des tissus. Mais pour le taxonomiste, l'intérêt des histones réside surtout dans la manière dont ces protéines exercent leur contrôle sur les gènes. Si ces substances, comme on le pense actuellement, agissent comme supprimeurs de l'activité des gènes en les empêchant de fonctionner comme « templates » pour la reproduction d'ARN messenger, la séquence des amino-acides d'une histone serait spécifique et correspondrait à des séquences particulières de nucléotides de l'ADN correspondant. Nous verrons si ces hypothèses ont pu être vérifiées et quelles applications en découlent pour le taxonomiste.

Mais les histones ne sont pas les seules protéines nucléaires directement liées aux acides nucléiques. On a pu montrer que les protéines acides du noyau interviennent probablement dans le fonctionnement des histones en se liant momentanément à elles pour libérer l'ADN et lui permettre d'assurer la synthèse d'ARN messenger. Les particularités structurales des histones, conséquentes à leur liaison avec les ADN, se trouveraient donc reflétées par des particularités correspondantes de la structure des protéines acides.

## 2. *Application à la taxonomie de la connaissance des protéines et acides nucléiques*

### A. ORIGINE DES PROTÉINES ET ACIDES NUCLÉIQUES ÉTUDIÉS.

Sur le plan taxonomique, les protéines cellulaires envisagées globalement ont été particulièrement étudiées. Il importe de connaître dans quels tissus seront localisées les protéines significatives.

Chez les végétaux supérieurs, les protéines des feuilles ont été étudiées mais peu intensivement. Les protéines des graines ont davantage attiré les taxonomistes et cet attrait est théoriquement justifié, les graines étant le lieu de convergence du départ et de l'aboutissement du cycle vital; tout l'héritage génétique de la plante s'y trouve condensé, dans les ADN bien sûr, mais aussi dans les protéines. Busson et al. (1959)

ont d'ailleurs constaté que la composition chimique d'une graine est beaucoup moins sujette à variations que celle des autres organes de la plante. L'étude des acides nucléiques des graines est encore peu pratiquée, mais une voie nouvelle a été récemment suggérée à la suite d'études établissant que des ARNm à vie longue subsistent dans la graine et pourraient bien porter l'information concernant les toutes premières synthèses qui se produiront au début de la germination. Toutefois, cette voie est encore trop peu explorée pour permettre de juger de la valeur taxonomique de ce critère.

En revanche, les études sur les protéines totales de la graine sont très nombreuses et nous allons les détailler. Mais auparavant, considérons le cas des organismes sans graines. Parmi les végétaux inférieurs, les champignons sont très étudiés par les taxonomistes. Cet ordre végétal, du fait de son importance aussi bien comme source de matériel biologique que comme facteur pathogène, exige, plus que tout autre peut-être, une taxonomie précise et judicieuse; aussi de nombreux mycologues ont-ils cherché à appliquer de nouveaux critères de classification. Clare et al. (1968) ont étudié les protéines totales et enzymatiques des champignons, ce qui leur a permis de préciser et de compléter la classification de nombreuses espèces qui était jusqu'alors basée principalement sur la morphologie des structures reproductives sexuées. Ces auteurs reconnaissent aux protéines solubles non enzymatiques des champignons inférieurs une importance taxonomique; il leur paraît possible qu'elles soient des protéines de réserve non catalytiques, mais vraisemblable également qu'elles aient une fonction cellulaire active. Cette fonction dépendrait des caractéristiques moléculaires pouvant avoir une influence sur la pression osmotique et le pH et, par là, sur toutes les fonctions métaboliques. Ces protéines pourraient ainsi être les facteurs essentiels du contrôle de l'environnement physique intracellulaire. Elles rempliraient un rôle analogue à celui des protéines sériques. Chez ces dernières, des changements mineurs entraînent des anomalies physiologiques<sup>1</sup>, des changements majeurs ont une conséquence fatale; des changements dans la structure de ces protéines de champignons pourraient avoir des effets analogues et soit être léthaux, soit conduire à des changements physiologiques entraînant des modifications désavantageuses au point de vue de la sélection; ces altérations physiologiques pourraient être suffisantes également pour conférer aux colonies affectées un isolement reproductif conduisant au développement, à partir de ces colonies, d'espèces distinctes. Ceci, par exemple, expliquerait la grande variabilité protéique constatée au sein de l'espèce collective *Thanatephorus cucumeris*, à partir de laquelle on peut maintenant, sur la base des critères protéiques, distinguer des espèces différentes.

#### B. ETUDE DES PROTÉINES CELLULAIRES TOTALES: PROTÉINOGRAMMES.

Comme nous l'avons vu, la séquence des aminoacides compose un code qui reflète le génotype, mais il n'est pas facile d'établir cette séquence pour chaque protéine, et de plus, pour que cette analyse ait un sens, il est nécessaire que la protéine

---

<sup>1</sup> Un exemple bien connu est celui de la formation de cellules anormales d'hématies: cause d'une grave maladie, elle est provoquée par la simple substitution, dans une zone de la chaîne polypeptidique de l'hémoglobine, de la valine à l'acide glutamique; or cette variation reflète le remplacement, dans l'acide nucléique, d'une paire T-A par une paire G-C.

isolée soit pure; or c'est rarement le cas et l'on se trouve très souvent, après isolement et fractionnement, en présence de mélanges de protéines apparentées ayant en commun un certain nombre de caractères physico-chimiques. Quelques protéines pures cependant ont été étudiées après isolement: la plus célèbre est l'hémoglobine: on en connaît maintenant toute la structure. Bennet et Dreyer (1964) ont pu déduire, de l'examen des chaînes polypeptidiques qui la constituent, les changements consécutifs à l'évolution et en tirer des conclusions phylogéniques.

Mais d'une manière générale, il n'est pas nécessaire d'établir la séquence des aminoacides des molécules protéiques pour les comparer entre elles; il suffira d'apprécier les répercussions de cette structure sur la charge nette des molécules protéiques. Ainsi, les mutations génétiques accumulées qui distinguent les espèces peuvent être identifiées, en partie, par leurs effets sur la mobilité des fractions spécifiques du spectre protéique. C'est souvent par la combinaison des techniques chromatographiques et électrophorétiques, qui permettent aux différences de charge nette et de taille des molécules protéiques de se manifester conjointement, que les résolutions les plus fines seront obtenues. Les nombreux problèmes que posent l'extraction, le fractionnement et l'analyse des protéines ont été résolus à la suite d'études approfondies. Baudet et Mossé (1963), Mossé et Baudet (1965) et Moureaux (1965) ont analysé les protéines de graines de graminées, Miège (1968) a étudié en détail les protéines des graines d'une légumineuse africaine, le *Lablab niger*, analysant séparément les protéines des cotylédons et celles de l'axe germinatif.

La structure moléculaire pourra s'exprimer également par la complémentarité entre la partie haptène de molécules protéiques antigéniques et le motif spécifique de la molécule anticorpale correspondante. Cette complémentarité peut être fortuite et naturelle — c'est le cas des lectines ou phythémagglutinines — mais, généralement d'origine immune, elle résulte de la réaction d'un organisme animal étranger à l'injection de substances antigéniques, le plus souvent protéiques: c'est la base d'une science particulière, l'immunochimie.

Dans tous les cas, le taxonomiste recueillera des diagrammes caractéristiques (électrophorétochromatogrammes, chromatogrammes, immunoélectrophorétochromatogrammes) qui lui permettront de comparer entre elles les protéines de diverses provenances: par comparaison, recoupement, déduction, il obtiendra des données nombreuses et nouvelles qui l'aideront à orienter ou affirmeront ses classifications.

De nombreux auteurs ont eu recours aux techniques électrophorétiques. La mobilité sous tension électrique dans des gels de faible porosité (amidon, polyacrylamide, etc.) est déterminée par la charge nette et la forme des molécules protéiques en solution; des gels à porosité élevée (agar, agarose, etc.) font surtout intervenir la charge moléculaire; des gels complexes (agarose-sephadex) sont de plus en plus utilisés et donnent, dans certains cas, d'excellents résultats.

Clare et al. (1968) ont établi les diagrammes de nombreuses espèces de champignons en se basant sur la présence ou l'absence de bandes de mobilités différentes, sans tenir compte de l'intensité relative de ces bandes. Leur étude fut étendue à de nombreuses espèces: 14 espèces de *Pythium* (Phycomycètes), deux espèces de *Saccharomyces* et deux de *Schizosaccharomyces* (Ascomycètes), une de *Thanatephorus* (Basidiomycètes), quatre de *Fusarium* (Deuteromycètes). Par comparaison des électrophorétochromatogrammes (obtenus en gel d'amidon après coloration au noir amide), ils ont



pu conclure que les différentes espèces de champignons ont des protéinogrammes caractéristiques; alors que les différences interspécifiques sont nettes, les variations intraspécifiques sont très faibles, même si les échantillons étudiés proviennent de contrées très éloignées ou, en ce qui concerne les parasites, d'hôtes différents. Dans un cas, une grande variabilité intraspécifique a cependant été observée, mais ce fut pour fournir une preuve de plus de la spécificité de ces diagrammes. L'espèce concernée, le *Thanatephorus cucumeris* (= *Rhizoctonia solani*), était en effet considérée comme espèce collective; s'il en était bien ainsi, on devait s'attendre à une grande variation des diagrammes protéiques: c'est bien ce que révélèrent les électrophorogrammes, dont la comparaison devait permettre l'établissement d'espèces différentes à partir de l'espèce collective.

Chez les végétaux supérieurs, la technique électrophorétique fut également exploitée avec succès. Johnson et al. (1965, 1967) ont résolu ainsi de nombreux problèmes génétiques concernant les Graminées. A la donnée de base de la technique électrophorétique, qui est l'appréciation de la charge nette et de la taille des molécules protéiques, ils ont adjoint des données supplémentaires qui augmentent le pouvoir résolutif des diagrammes: soit, par exemple, en évaluant, après agrandissement photographique, la mobilité de chaque bande en référence à deux bandes-test d'un spectre général, soit encore en reliant à la donnée qualitative fournie par le diagramme électrophorétique un paramètre quantitatif obtenu par densitométrie. Etudiant les protéines des graines, ces auteurs ont vérifié expérimentalement que le spectre protéique d'amphiploïdes synthétiques est la somme des deux spectres parentaux. Ils ont pu apprécier très finement les affinités spécifiques et l'origine des génomes dans des séries amphiploïdes de *Triticum*. Par ailleurs, ils ont pu trancher une question controversée sur l'identification des génomes d'un *Aegilops* tetraploïde. Une étude générale sur les espèces du genre *Triticum* et leurs génomes leur ont, d'autre part, permis de constater que les homologues spectrales reflètent les affinités génétiques et phylogénétiques.

De leur côté, Coulson et Sim (1964) ont montré la valeur systématique des électrophorétogrammes des protéines hydrosolubles des graines aux niveaux infra-spécifiques sur 34 cultivars de *Triticum aestivum*. Le diagramme total est typique pour chaque variété; de plus, il est invariable pour une même variété développée dans des lieux géographiques différents. D'une manière générale, ces auteurs ont constaté que les composants de faible mobilité électrophorétique sont caractéristiques des espèces mais sont communs entre les variétés. En outre, ils ont poussé leur investigation au niveau du genre chez les Graminées dans le but de voir à quels constituants électrophorétiques était liée la capacité particulière du blé à former du gluten. Le fait frappant qui ressort de la comparaison des diagrammes des protéines hydrosolubles des graines de millet, maïs, mil, seigle, chiendent, orge et blé est l'absence de fractions de faible mobilité chez tous les genres sauf le blé. Toutefois, le seigle, le chiendent et l'orge contiennent quelques constituants dans cette région; or il est intéressant de noter que le seigle et, à un degré moindre, le chiendent sont les seuls genres, avec le blé, à présenter une aptitude à former du gluten suffisante pour permettre une panification convenable. Tous ces résultats suggèrent une nouvelle méthode de classification des protéines de blé ainsi que la possibilité d'une identification précise des différents blés, identification actuellement extrêmement difficile.

### C. ETUDE DES ENZYMES ET DES OLIGOPROTÉINES.

Les protéinogrammes sur lesquels sont basées les études que nous venons de mentionner, établis après migration à travers un gel par coloration à l'aide de colorants acides (noir amide, nigrosine, bleu de bromophenol, etc.) ne révèlent que les protéines présentes en quantité suffisante; de ce fait, les enzymes figurent très rarement dans les protéinogrammes classiques. Or ces protéines commandent toute la biologie de la plante, et des différences à leur niveau sont très caractéristiques du point de vue génétique, mais elles sont très difficiles à déceler et il faut alors avoir recours à des méthodes particulières. L'une d'elles permet à des activités enzymatiques déterminées de se manifester après la migration électrophorétique en révélant ces activités par coloration spéciale. Une autre méthode utilise la précipitation spécifique antigène-anticorps au sein même du gel de migration. De très faibles quantités de protéines peuvent ainsi être révélées. Nous allons examiner les progrès que ces deux techniques ont permis dans le domaine de la taxonomie.

#### a) *Enzymogrammes.*

Clare et al. (1968) ont montré que les enzymes, qui ne représentent chez les champignons que 1 à 2% des protéines totales, pouvaient être bien révélées par les tests d'activité. Alors que les différences dans les protéinogrammes reflétaient les particularités au niveau de l'espèce, ces auteurs ont constaté que les diagrammes enzymatiques pouvaient avoir, selon les enzymes considérées, des significations taxonomiques différentes: certains enzymogrammes ont un haut degré de variabilité intraspécifique et peuvent être de grande valeur aux niveaux infraspécifiques, d'autres apparaissent être caractéristiques des espèces tandis que d'autres encore révèlent des similitudes interspécifiques qui laissent supposer qu'ils pourraient être caractéristiques des genres. Les diagrammes de certains isoenzymes seront donc de plus grande valeur que les protéinogrammes pour caractériser les groupes taxonomiques infraspécifiques; par ailleurs, l'étude d'autres isoenzymes caractéristiques d'un genre contribuera à un groupement plus rationnel des espèces.

Franke (1967) a, de son côté, étudié les *Physarales* (myxomycètes). La technique immuno-chimique qu'il utilise, la double diffusion, lui permet de mesurer l'intensité de la réaction de précipitation mais ne donne pas de détails sur la composition des protéines constitutives. Les relations sérologiques entre les espèces qu'il a testées ne coïncident généralement pas avec la taxonomie courante basée sur la morphologie et la fructification.

Chez les végétaux supérieurs, le grand pouvoir révélateur des enzymogrammes a été mis à profit par Newton Barber et al. (1968) pour étudier les génomes des Triticinées. Ils ont révélé les isoenzymes estérases et comparé les enzymogrammes obtenus provenant d'une lignée de blé hexaploïde, de ses mono- et nullisomiques et de divers hybrides. Ils ont pu ainsi établir qu'une molécule oligomère d'estérase est constituée de 4 protomères, chacun contrôlé par un gène situé sur un chromosome différent. En comparant les positions des protomères révélées sur les enzymogrammes,

ils ont constaté, par exemple, que les génomes B et D<sup>1</sup> sont plus étroitement apparentés entre eux qu'avec le génome A. Cette recherche sur un système isoenzyme a révélé un fait très intéressant: l'existence d'au moins trois enzymes hybrides. L'aptitude des protéines à s'hybrider multiplie les effets de la variabilité génétique. L'extension de ces recherches permettra peut-être, pensent les auteurs, de montrer que la formation d'enzymes hybrides est responsable de deux phénomènes: celui de l'hybride-vigueur ou hétérosis et celui que représente le succès des polyploïdes (auto- ou allo-ploïdes) dans leur colonisation de nouveaux et différents habitats. Certaines enzymes hybrides pourraient être stabilisées contre les fluctuations de l'environnement et, ainsi, permettre à la plante de survivre à des conditions extrêmes.

b) *Immunoélectrophorétogrammes.*

Les premières recherches sérologiques débutèrent après que Nuttall (1901) eut appliqué à la zootaxonomie les interactions antigène-anticorps. L'application de telles recherches à la botanique systématique date de l'apparition du « Serologische Stammbaum » de Mez et Ziegenspeck (1926); mais ce n'est que depuis 1954 que les méthodes sérologiques, développées et améliorées, présentent un véritable intérêt pour le systématique. Les méthodes immunologiques ont, en effet, considérablement progressé en dépit de certaines limitations et de possibilités d'artefacts et de réactions asystématiques dues probablement au fait que ces méthodes ne permettent l'étude que de la partie immunologiquement active de la molécule protéique, c'est-à-dire des déterminants qui ne représentent qu'une petite section de toute la molécule. Une autre limitation repose sur les réactions biologiques individuelles des animaux utilisés pour la préparation des antiserums.

Il existe de nombreuses façons d'exploiter, à des fins systématiques, les réactions de précipitation spécifique antigène-anticorps. Voici les principales:

b<sub>1</sub>) *Révélation de propriétés hémagglutinantes naturelles.*

Certaines protéines particulières possèdent la propriété d'agglutiner naturellement les globules rouges. De telles protéines appelées « lectines » ou « phythémagglutinines » sont caractéristiques de certaines familles, notamment des Légumineuses. Cette propriété semble tout à fait fortuite et il n'a pas été, jusqu'à présent, possible de lui trouver une justification. Certains auteurs (Boyd et al. 1958, Krupe 1956) supposaient que la propriété que possèdent les lectines de se lier spécifiquement à certains carbohydrates des érythrocytes justifierait leur présence dans la graine: ces protéines, par exemple, joueraient un rôle métabolique en se combinant, au moment de la germination, avec des sucres analogues à ceux des érythrocytes pour en assurer le transport. Mais les essais de Martin et al. (1964) infirmèrent cette hypothèse et il fallut constater que la présence de lectines dans les plantes ne se justifie apparemment par aucune nécessité. Les lectines ne sont pas le seul exemple de l'existence de structures protéiques dont la curieuse analogie apparaît fortuite. Ainsi, le « Jack bean »

<sup>1</sup> Les blés à pain (*Triticum aestivum*) sont hexaploïdes. Trois progéniteurs diploïdes ont été révélés: *Triticum monococcum* (génome A), *Aegilops speltoides* (génome B) et *Aegilops squarrosa* (génome D).

(*Canavalia ensiformis*) contient des quantités d'uréase très importantes pouvant atteindre 0,15% du poids de la graine, alors que chez les animaux les organes spécialisés dans le métabolisme de l'urée n'en contiennent que de beaucoup plus faibles quantités. L'uréase semble ici tout à fait superflue pour la vie de la graine et de la future plantule; ce serait par une coïncidence, tout de même assez curieuse, que cette protéine présenterait une similitude de structure rigoureuse avec l'enzyme animale.

b<sub>2</sub>) *Immunochimie.*

Toutes les autres méthodes, basées sur la réaction de précipitation antigène-anticorps, font appel à un organisme animal intermédiaire chez lequel on provoque la formation d'anticorps spécifiques des protéines à étudier qui, injectées dans le corps de l'animal, y jouent le rôle d'antigène et déclenchent une réaction immunitaire. A partir des antiserums obtenus, il est possible:

- soit d'apprécier quantitativement l'importance de la réaction de précipitation antigène-anticorps par mesures néphélométriques et comparaison des valeurs fournies par les taxons à étudier en référence à un taxon type;
- soit d'étudier visuellement les arcs de précipitation obtenus par double diffusion, dans des gels appropriés, entre extraits protéiques de divers taxons et antiserum préparé à partir d'un mélange des taxons à étudier ou d'un taxon étalon;
- soit, et c'est sûrement la méthode la plus fine, de comparer les arcs obtenus par diffusion de la solution protéique à étudier contre un immunosérum approprié, la diffusion ayant lieu après migration électrophorétique. Comme certaines méthodes permettent maintenant une très fine résolution électrophorétique, la diffusion de la bande de migration multiplie la résolution et rend possible la révélation de protéines présentes en très faibles quantités, notamment des enzymes

Malgré les limitations de ces méthodes, de nombreux résultats ont pu être obtenus. Ainsi, Lester et al. (1965), après avoir appliqué la méthode de diffusion après migration électrophorétique à la famille des Légumineuses (14 espèces de *Baptisia* et 58 genres appartenant à trois tribus des Papilionacées), concluent que les différences sérologiques sont inexistantes entre les espèces. En revanche, les mêmes techniques qu'ils appliquèrent aux genres d'algues unicellulaires, morphologiquement plus simples, de *Chlorococcum* et *Tetracystis* révélèrent des différences interspécifiques très nettes. Ils en conclurent qu'il n'est pas possible de juger à priori de la valeur taxonomique des critères immunologiques; ceci confirme l'aspect limitatif de cette méthode dont nous avons déjà parlé.

Par contre, Kloz et al. (1959) ont tiré des conclusions systématiques très positives d'une étude sérologique basée cette fois sur l'appréciation de l'importance de la réaction de précipitation antigène-anticorps. Ils constatent, toujours chez les Légumineuses, que les protéines, aussi bien de réserve que de structure, ont une spécificité caractéristique d'un taxon donné. Mais ils notent que les différences génériques sont plus prononcées entre les protéines de réserve (cotylédons des graines) qu'entre les protéines de structure (feuilles et parties subcotylédonaires des plantules). Ces auteurs expliquent ainsi ces différences: les caractères protéiques des parties subcotylédonaires de la plantule de même que ceux des protéines des feuilles sont phylogéniquement plus vieux que ceux des protéines de réserve des cotylédons. Ils indiquent une origine

commune des différents taxons de manière plus prononcée que ne le font les caractères protéiques des réserves cotylédonaire qui ont subi une différenciation à des étapes plus tardives de la phylogénèse. Ce fait fut noté, du point de vue morphologique, par Darwin. D'autre part, les rapports entre taxons révèlent que les similitudes entre protéines de structure sont plus grandes entre taxons proches (espèces) qu'entre taxons plus éloignés (genres, familles). Par ailleurs, il existe des différences au moins aussi grandes entre les caractères protéiques des divers organes d'un même taxon qu'entre les caractères protéiques des mêmes organes de taxons différents, autrement dit, les différences se produisant dans les caractères protéiques durant l'ontogénèse sont du même ordre de grandeur que celles se produisant pendant la différenciation phylogénique.

A l'appréciation de l'intensité de précipitation antigène-anticorps, Kloz et al. (1966 a, b) adjoignirent les données qualitatives fournies par la méthode électrophorétique; par ailleurs, ils étudièrent les caractères protéiques non seulement dans leur ensemble mais aussi à partir de familles protéiques séparées: albumines et globulines; ils purent alors résoudre le problème confus de la classification des *Phaseolus*. C'est ainsi qu'ils constatèrent que les différences immuno-chimiques entre les graines de *Phaseolus vulgaris* ssp. *vulgaris* et de *Phaseolus vulgaris* ssp. *aborigeneus* étaient minimales et qu'il s'agissait là d'une seule et même espèce. Très près de cette espèce se situe *Phaseolus coccineus*; plus loin figure *Phaseolus acutifolius* et enfin, tout à fait éloignés, les *Phaseolus lunatus* et *aureus*. Etendant cette étude à tout le genre *Phaseolus*, ils établirent qu'il existe une relation positive entre les caractères protéiques d'une part, l'affinité à la greffe, l'origine géographique et l'aptitude aux croisements d'autre part. De plus, ils montrèrent que l'évolution des caractères protéiques à travers les générations d'hybrides issus de croisements interspécifiques est contrôlée par des lois semblables à celles qui régissent la genèse des caractères morphologiques.

La systématique d'autres familles que celle des Légumineuses a été influencée par la connaissance des caractères protéiques: c'est ainsi que Vaughan et al. (1965), étudiant trois espèces de *Brassica* (les *B. nigra*, *oleracea* et *campestris*), ont confirmé la distinction établie entre ces taxons, en révélant toutefois des relations étroites entre le *B. campestris* et le *B. oleracea*. Ils confrontèrent, à cette occasion, les techniques sérologiques et les méthodes électrophorétiques simples et conclurent à la supériorité de la méthode électrophorétique qui présente, en outre, l'avantage d'être plus simple et plus rapide.

Très récemment, une révision de la famille des Renonculacées a été réalisée par Jensen (1968), qui introduisit l'étude des caractères sérologiques afin d'obtenir une conception plus complète des relations phylogéniques. Les analyses sérologiques, réalisées à partir des protéines des graines mûres, ont porté sur 20 genres (*Aconitum*, *Actaea*, *Adonis*, *Anemone*, *Aquilegia*, *Callianthemum*, *Caltha*, *Cimicifuga*, *Clematis*, *Coptis*, *Delphinium*, *Eranthis*, *Helleborus*, *Hydrastis*, *Leptopyrum*, *Myosurus*, *Nigella*, *Ranunculus*, *Thalictrum* et *Trollius*): Grâce à l'évaluation quantitative des réactions sérologiques, l'auteur put établir les degrés de similitude sérologique entre les genres d'une part, les espèces d'autre part. Confrontant toutes les données ainsi recueillies, il établit un tableau général des affinités sérologiques chez les Renonculacées qu'il appela « système de correspondance sérologique ». De ce système, il put tirer des résultats importants:

- Les *Hydrastis* sont plus semblables aux Renonculacées qu'aux Berbéridacées. L'affinité la plus grande s'est manifestée d'une part avec *Aquilegia*, *Leptopyrum* et *Thalictrum*, d'autre part avec *Coptis*, *Actaea* et *Cimicifuga*.
- Les genres *Aquilegia*, *Leptopyrum* et *Thalictrum*, que déjà les caractères phytochimiques et caryologiques rapprochent, devraient, si l'on considère les affinités sérologiques, former un groupe particulier dans la famille. Le genre *Thalictrum* cependant se sépare quelque peu des deux autres.
- Les autres genres à fruits en follicules, bien distincts les uns des autres, ont de fortes affinités avec le groupe des *Coptis*, *Actaea* et *Cimicifuga*, ces deux derniers genres étant sérologiquement indifférenciables et très proches des *Coptis*. L'*Eranthis* a étonnamment peu de similitudes sérologiques avec les autres Renonculacées. Par ailleurs, l'opinion générale, qui veut que les genres *Delphinium* et *Aconitum* soient très semblables, est justifiée par les réactions sérologiques, l'*Aconitum lycoctonum* étant le plus proche des *Delphinium*. Le genre *Nigella* est sérologiquement isolé et peut probablement être joint aux *Helleborus*. Il se peut, d'autre part, que la correspondance entre *Caltha* et *Trollius* soit moins importante qu'on ne le croyait jusqu'ici. Sérologiquement, *Trollius* est plus proche des *Adonis* et peut être considéré comme formant un pont entre les genres à follicules et les genres à akènes.
- Les genres à akènes, à l'exclusion de *Thalictrum*, forment un groupe plutôt uniforme ayant des affinités avec les genres *Trollius* et *Adonis*. *Callianthemum* est intermédiaire entre *Ranunculus* et *Adonis*, plus proche semble-t-il cependant de ce dernier. Enfin, les similitudes sérologiques entre *Anemone* et *Clematis* aussi bien qu'entre *Ranunculus* et *Myosurus* confirment les opinions systématiques généralement adoptées.

Toutes les protéines, dont la connaissance est, nous venons de le voir, d'un très grand intérêt pour le taxonomiste, ont été étudiées à l'état natif, c'est-à-dire avec le souci de ne modifier en rien, par les opérations d'isolement et d'analyse, l'organisation macromoléculaire. Il pouvait être intéressant cependant de connaître, sans considération de structure, la nature et les proportions relatives des aminoacides constitutifs et de rechercher la valeur taxonomique des données recueillies. C'est ce que firent Busson et al. (1959) sur les Papilionacées. Ils ont constaté une remarquable constance de la composition en aminoacides des protéines des graines de Légumineuses analysées (9 géotypes de *Soja*, 20 d'*Arachis*, 5 de *Voandzeia*, 10 de *Phaseolus*, tous cultivés côte à côte, et de nombreux *Kerstingelia geocarpa* développés dans des contrées différentes). Or cette constance des proportions relatives des aminoacides constitutifs des protéines contraste avec une variation assez notable de la teneur en azote protéique, teneur influencée aussi bien par les facteurs génétiques que par les facteurs écologiques<sup>1</sup>. D'autre part, les études des auteurs précédemment cités ayant étudié cette famille montrent que les différences dans les édifices moléculaires protéiques, révélées par électrophorèse et chromatographie, existent et sont d'autant plus grandes que les individus sont génétiquement plus éloignés. Il semblerait alors qu'à partir d'un pool d'acides aminés assez uniforme au sein d'un groupe taxonomique lâche

<sup>1</sup> Les auteurs toutefois n'ont évalué la teneur en azote protéique qu'en fonction de celle en azote total.

(famille), les édifices moléculaires protéiques réalisés soient différents pour chaque groupe taxonomique restreint (genre, espèce) et d'autant plus que les groupes taxonomiques sont plus éloignés génétiquement.

#### D. ETUDE DES PROTÉINES NUCLÉAIRES.

Si les protéines qui ont jusqu'ici intéressé les taxonomistes sont presque exclusivement les protéines cellulaires, les protéines nucléaires n'en présentent pas moins un intérêt considérable. De leur étude si nouvelle, le taxonomiste n'a pu tirer encore que des données éparses. Mais la voie est ouverte et nous allons, à la lumière des résultats déjà acquis, considérer les espoirs qu'elle permet.

Nous avons décrit précédemment la diversité et le rôle des protéines nucléaires. Parmi elles, celles qui semblent devoir refléter le plus directement le capital génétique d'un organisme sont les protéines acides et surtout les histones. Or les histones, dont l'on découvre actuellement le rôle si important dans le fonctionnement des gènes et peut-être même dans le contrôle de la division cellulaire, sont l'objet d'un très grand nombre de recherches. Leur analyse et leur fractionnement sont de plus en plus précis, ce qui fournit au taxonomiste un champ d'exploration tout neuf et très prometteur.

Les histones sont un mélange complexe de fractions diversement riches en arginine et lysine. Elles se répartissent en 3 classes: histones riches en lysine ( $l/a > 4$ ), modérément riches en lysine ( $l/a$  de 1 à 4), enfin riches en arginine ( $l/a < 1$ ). Les histones sont extraites par traitement acide à partir de noyaux isolés; malheureusement, ce traitement est assez brutal et risque d'entraîner des dénaturations. Vendrely (1964) souligne la nécessité d'avoir recours à des techniques aussi peu agressives que possible. Lui-même, pour analyser la séquence des aminoacides de l'histone, a imaginé un fractionnement préalable de la nucléoprotéine par autolyse aseptique.

Les premiers résultats fournis par l'analyse des histones et concernant leur spécificité sont contradictoires. Certains auteurs, étudiant les histones de tissus ou d'espèces divers, décelaient des différences, d'autres ne relevaient que des similitudes. Vendrely (1964) attribua ces divergences aux imperfections des méthodes d'analyse. Il préconisa le remplacement de l'analyse globale par un fractionnement préalable de l'histone. Très récemment cependant, des auteurs mettant en jeu les plus récentes techniques d'analyse arrivèrent à une appréciation apparemment contradictoire de la spécificité des histones. Johns (1966) compare les histones végétales et animales. Il sépare, à partir des histones de thymus de mammifères par chromatographie sur CM cellulose, 3 fractions diversement riches en lysine et arginine, puis soumet chaque fraction à l'électrophorèse en gel d'amidon à pH 2.3: il obtient ainsi des diagrammes détaillés. Il isole alors les histones du germe de blé. Il les trouve de composition tout à fait différente de celle des histones provenant de thymus de mammifères: elles ne contiennent aucune fraction riche en arginine et seulement une fraction riche en lysine. Iwai (1964), toutefois, a obtenu une histone riche en arginine dans les embryons de riz.

Ces divers résultats indiqueraient que les histones seraient très différentes suivant les classes d'organismes. Or Smith (1968), qui a étudié la séquence des aminoacides des histones dans le but de révéler, entre protéines homologues, les différences liées à l'évolution, arrive à des conclusions, du moins partielles, plutôt opposées. Il choisit pour cette étude des organismes situés aux deux extrémités de l'échelle évo-

lutionnaire: le veau (thymus) et le pois (plantule). Une étude préalable des enzymes de ces organismes et notamment de la cytochrome C lui avait permis de prévoir une différence portant sur 75% des résidus aminoacides; or il ne constata que 2 substitutions dans la fraction IV des histones. Il a déterminé la séquence des 19 premiers résidus de la chaîne peptidique constituant cette fraction et les a trouvés complètement identiques; il conclut plaisamment: « nous sommes tous frères par nos histones ». Cependant, la similitude établie par Smith ne porte, jusqu'ici, que sur une fraction des histones et ne s'oppose pas à la possibilité de différences existant entre d'autres fractions. Peut-être la fraction IV de Smith est-elle liée à une fonction vitale universelle, ce qui n'empêcherait pas d'autres fractions d'être liées constitutionnellement aux gènes qui sont évidemment différents chez le pois et le veau.

Desveaux-Chabrol (1968), dans une mise au point récente, constate qu'en effet, il est difficile actuellement de reconnaître une spécificité qualitative aux histones dont cependant le rôle de contrôleur sélectif de l'expression des gènes est indiscutablement reconnu. Cette analyse conduit d'ailleurs à se demander si les cellules animales et végétales n'ont pas des comportements plus différents qu'on ne le croit généralement. Ainsi Bonner (1963) montre, *in vitro*, que l'histone de chromatine de cotylédons de pois permet l'expression de la synthèse de globuline, protéine normalement fabriquée par les cotylédons. S'il remplace, dans le même système acellulaire, la chromatine de cotylédons de pois par la chromatine de bourgeons de pois, la globuline n'est pas fabriquée. Si alors il enlève l'histone de la chromatine de bourgeons, l'ADN restant se met à fabriquer la globuline. Ainsi le gène qui commande la synthèse de globuline de cotylédons existe sur l'ADN de bourgeons et sans doute sur tous les ADN des cellules de pois, mais il est réprimé par les histones. Seule, l'histone de cotylédons a une structure qui lui permet de ne pas coller, à l'endroit de ce gène, à l'ADN lui permettant ainsi d'exprimer son message.

Or Barr et Butler (1963) veulent reproduire les expériences de Bonner en les appliquant au thymus de veau, mais ils ne peuvent arriver au même résultat et rendre aussi évidente l'inhibition spécifique d'histones pour des portions particulières de l'ADN.

De l'étude de Desveaux-Chabrol, il ressort que, si l'histone remplit effectivement le rôle de contrôleur sélectif de l'expression des gènes, la manière dont est effectué ce contrôle ne réside pas seulement dans des modifications de structure des histones. Des modifications quantitatives jouent sûrement aussi un rôle important. En outre interviendraient, dans l'action répressive ou dérèpressive des histones vis-à-vis de l'ADN, d'autres substances, elles-mêmes hautement spécifiques comme des ARN dérèpresseurs ou des groupes acides banaux répondant à des « signaux ».

Après l'examen des recherches sur les histones, on constate que le matériel végétal a été la source de fort peu de ces études et qu'en outre les taxonomistes ne semblent pas s'y être, jusqu'ici, intéressés.

Quant aux protéines acides nucléaires, elles ont été beaucoup moins étudiées que les histones. Leur isolement sans dénaturation est encore plus difficile. Wang (1966) expose une technique qui permet de les obtenir isolées en solution. Mais, malgré l'intérêt fonctionnel des protéines acides et leur importance quantitative (elles peuvent représenter jusqu'à 40% des protéines nucléaires), leur étude est encore trop nouvelle et obscure pour attirer les taxonomistes.



## E. ETUDE DES ACIDES NUCLÉIQUES.

Nous arrivons, avec les acides nucléiques, à la connaissance directe du capital génétique. L'étude des ADN et des ARN est devenue, grâce aux récents progrès des techniques (Raj Bhandary et Stuart 1966), une méthode appropriée à la taxonomie. Toutefois, le pouvoir résolutif de ces méthodes n'approche pas encore celui de la caractérisation des protéines cellulaires.

La manière la plus pratique actuellement, pour permettre au taxonomiste de tirer parti des différences génétiques portées par les acides nucléiques, est la méthode d'hybridation des spires isolées d'acides nucléiques, qui permet d'établir le degré d'homologie des ADN parmi les organismes. Par homologie d'ADN, les auteurs signifient la communauté d'unités de fonction présentée par les ADN chromosomiques concernés. Expérimentalement, on sépare les 2 chaînes d'ADN, puis on les laisse se recombiner d'après leur complémentarité. Si l'on mélange des espèces d'ADN différents, seuls les fragments complémentaires se recombineront, on en déduit alors le pourcentage de séquences nucléotidiques communes.

En réalité, cette méthode est surtout efficace pour distinguer les organismes inférieurs. Chez les bactéries, en effet, les variations dans la composition en base des ADN sont très importantes. Par contre, les organismes supérieurs tendent à avoir une composition moyenne en bases peu variée: les vertébrés, par exemple, ont une valeur moyenne totale de guanine+cytosine égale environ à 42% des bases totales, aussi la technique d'hybridation ne suffit-elle plus pour distinguer leurs ADN. Cette méthode, théoriquement séduisante, a été pratiquée intensément par certaines équipes. Bolton (1966) et Hoyer et al. (1964) par exemple l'ont appliquée à la systématique animale. Baldwin et Kidson (1968) constatent que les relations phylogéniques entre bactéries, établies grâce à d'autres critères, sont largement confirmées par l'hybridation ADN-ADN; mais ils remarquent que cette technique ne peut être appliquée aux vertébrés qu'avec une confiance limitée. Ces auteurs ont alors recours à d'autres techniques telles que la distribution à contre-courant dans des systèmes à deux phases, distribution commandée par la composition en bases; de cette façon, ils révèlent des différences sensibles dans les séquences de bases d'ADN d'organismes de positions systématiques voisines.

D'autres techniques ont permis d'apprécier les différences de constitution présentées par divers ADN et ARN. Mac Indae et Munro (1967) ont obtenu des diagrammes détaillés d'ARN ribosomique par électrophorèse sur gel d'agarose de fractions successives provenant de centrifugation différentielle en gradient de saccharose. La chromatographie par échange d'anions a également rendu de grands services dans l'analyse des acides nucléiques.

Les ARN des graines sont particulièrement intéressants à étudier d'un point de vue taxonomique. Dure et Waters (1965) ont montré que dans les graines mûres, les synthèses étant suspendues, l'ARN messenger disparaît, disparition corrélative à une augmentation, au cours de la maturation, de l'activité ribonucléasique. Cependant il persiste, dans la graine mûre, une quantité d'ARNm qui présente la particularité d'être stable. Marre et al. (1965) voient dans les propriétés de cet ARNm subsistant dans la graine quiescente un caractère taxonomique très intéressant: c'est, en effet, cet ARNm qui va commander les premières synthèses de la germination. Cherry

(1962) avait déjà suggéré, après avoir étudié les acides nucléiques de la graine mûre, qu'une fonction biochimique spécifique, telle que la synthèse protéique, devait exiger un certain type d'ARN dans les premières étapes de la germination pour la formation d'enzymes. Par la suite, Cherry et Lessman (1967) ont isolé des pousses de maïs, par chromatographie sur Kieselgur, un ARNm à longue vie. Mais cet ARN messager est particulier aux monocotylédones et ces auteurs ne l'ont pas trouvé dans le pois par exemple. Il serait principalement abondant chez les graminées.

Morton et Raison (1963) ont confirmé le caractère stable de cet ARNm particulier, isolé de l'albumen de blé. Ils ont montré que l'actinomycine D n'inhibe pas l'incorporation d'acides aminés par les ribosomes situés sur la membrane des corps protéiques contenus dans les cellules cotylédonaire, ce qui suggère que cette incorporation ne dépend pas d'une liaison ADN-ARN. Ces auteurs expliquent la longévité de cet ARN porteur du code de synthèse par le fait que l'accumulation des protéines de réserve ne nécessite ni contrôle, ni régulation. Mais malgré l'intérêt théorique que présente cet ARN, trop peu d'études ont été réalisées dans ce domaine particulier pour apprécier la valeur taxonomique de ce caractère.

#### CONCLUSIONS

Ayant considéré, sous un aspect théorique d'abord, puis pratique, tous les avantages que les progrès considérables réalisés, ces dernières années, dans les domaines de la biologie, de la biochimie et de la technique pouvaient apporter à la taxonomie, nous nous sommes surtout attachée à mettre en relief, parmi toutes les voies ouvertes au phytotaxonomiste, celles qui lui réserveraient les meilleurs résultats.

De la confrontation des travaux entrepris dans ce domaine, il ressort que, si certaines voies sont très séduisantes et encore peu explorées, d'autres ont fait leur preuve en taxonomie et sont plus sûres.

Si toutes les protéines d'un organisme sont intéressantes à étudier pour le taxonomiste, ce sont, jusqu'à présent, les protéines cellulaires totales qui ont fourni les données les plus incontestables et les plus constructives. S'engager dans l'étude des protéines des graines est suivre une voie sûre bien qu'encore neuve, où les résultats sont promis.

Mais, assuré de recueillir des résultats dans cette voie, le chimiotaxonomiste ne devra pas pour autant négliger l'étude des protéines nucléaires. Cette voie, si séduisante, encore très peu explorée par les phytotaxonomistes, en lui permettant de pénétrer toujours plus avant dans la connaissance des admirables mécanismes de la biologie cellulaire, lui permettra de connaître, avec une précision de plus en plus grande, le potentiel génétique des organismes végétaux, base sur laquelle repose et qui justifie toute la taxonomie.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Alston, R. E. et B. L. Turner (1966) Biochemical methods in systematics. In W. A. Jensen et L. G. Kavaljian (ed.): *Plant biology to day, advances and challenges* (92-113) Mac Millan, London.

- Baldwin, H. et C. Kidson (1968) Recognition of DNA base sequence differences among vertebrates. *Nature* 217: 1256-1257.
- Barr, G. C. et J. A. V. Butler (1963) Histones and gene function. *Nature* 199: 1170-1171.
- Baudet, J. et J. Mossé (1963) Extraction des protéines des graines. III Extraction par l'eau et les solutions salines des protéines de la farine de blé. *Ann. Physiol. Veg.* 5: 303-319.
- Bell, E. A. (1960) Canavanine in the Leguminosae. *Biochem. J.* 75: 618-620.
- Bennet, Cl. et W. Dreyer (1964) Genetic coding for protein structure. *Ann. Rev. Biochem.* 33: 205-234.
- Birch, A. J. (1963) Biosynthetic pathways. In T. Swain (ed.): *Chemical plant taxonomy*. Academic Press, London et New York.
- Bolton, E. T. (1966) Nucleic interactions. A molecular approach to the study of genes and their products. *Cancer Research* 26: 1964-1970.
- Bonner, J., R. L. Huang et R. V. Gilden (1963) Chromosomally directed protein synthesis. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 150: 893-900.
- et J. E. Varner (1965) *Plant biochemistry*. Academic Press, London et New York.
- Boyd, W. C., D. T. Everhart et M. H. MacMaster (1958) The anti-N lectin of *Bauhinia purpurea*. *J. Immunol.* 81: 414.
- Busson, F., A. Georgin, R. Carbiener, J. Lanza et H. Dubois (1959) Contribution à l'étude de l'influence des facteurs variétaux et écologiques sur la composition en amino-acides des végétaux. *Ann. Nutr. Aliment.* 14: 171-176.
- Casimir, J. et G. Le Marchand (1966) Répartition et importance systématique des amino-acides et peptides libres des Phaseolinae. *Bull. Jard. Bot. Etat Bruxelles* 36: 53-56.
- Cherry, J. H. (1962) Nucleic acid determination in storage tissues of higher plants. *Pl. Physiol.* 37: 670-678.
- et K. J. Lessman (1967) Comparison of nucleic acids in Maize shoots and pea epicotyls. *Am. J. Bot.* 54: 181-188.
- Clare, B. G., N. T. Flentje et M. R. Atkinson (1968) Electrophoretic patterns of oxydo-reductases and other proteins as criteria in fungal taxonomy. *Austral. J. Biol. Sci.* 21: 275-295.
- Coulson, C. B. et A. K. Sim (1964) Proteins of various species of wheat and closely related genera and their relationship to genetical characteristics. *Nature* 202: 1305-1308.
- Crick, F. H. C., L. Barrett, J. Brenner et R. J. Watts-Tobin (1961) General nature of the genetic code for proteins. *Nature* 192: 1227-1232.
- Davis, P. H. et V. H. Heywood (1963) Taxonomic evidence. III Phytochemistry. In P. H. Davis and V. H. Heywood: *Angiosperm taxonomy* (232-258). Oliver & Boyd, Edinburgh & London.
- Desveaux-Chabrol, J. (1968) Biologie des histones. *Ann. Biol.* 7: 369-427.
- De Wet, J. H. J. (1967) Essential oils as taxonomic aids in the classification of *Dichanthium parviflorum*. *Am. J. Bot.* 54: 384-387.
- Dure, L. et L. Waters (1965) Long lived messenger RNA: evidence from cotton seed germination. *Science* 147: 410-412.
- Erdtman, H. (1964) Some aspects of chemitaxonomy. In T. Swain (ed.): *Chemical plant taxonomy* (89-126). Academic Press, London & New York.

- Franke, R. G. (1967) Preliminary investigation of the double diffusion technique as a tool in determining relationships among some myxomycetes, order Physarales. *Am. J. Bot.* 54: 1189-1197.
- Heignauer, R. (1963) *Chemotaxonomie der Pflanzen*. 2. Birkhäuser Verlag, Basel & Stuttgart.
- Hoyer, B. H., B. J. MacCarthy et E. T. Bolton (1964) A molecular approach in the systematic of higher organisms. *Science (USA)* 144: 959-967.
- Iwai, K. (1964) *The nucleohistones*. Holden-Day. San Francisco.
- Jensen, U. (1968) Serologische Beiträge zur Systematik der Ranunculaceae. *Bot. Jahrb.* 88: 269-310.
- Johns, E. W. (1966) The fractionation and characterisation of histones and their interaction with desoxyribonucleic acid. In: *The cell nucleus-metabolism and radiosensitivity* (115-124) Taylor & Francis, London.
- Johnson B. L. (1967) Confirmation of the genome donors of *Aegilops cylindrica*. *Nature* 216: 859-862.
- D. Barnhart et O. Hall (1967) Analysis of genome and species relationships in the polyploid wheats by protein electrophoresis. *Am. J. Bot.* 54: 1089-1098.
  - et O. Hall (1965) Analysis of phylogenetic affinities in the Triticinae by protein electrophoresis. *Am. J. Bot.* 52: 506-513.
- Kloz, J., V. Turkova et E. Klozova (1959) Serological investigation of taxonomic specificity of proteins in various plant organs in some taxons of the family Viciaceae. *Biol. Plantarum (Praha)* 2: 126-137.
- E. Klozova et V. Turkova (1966a) Protein characters and relationship between *Phaseolus vulgaris* ssp. *aborigenus* Burk. and related taxons of the genus *Phaseolus*. *Biol. Plantarum (Praha)* 8: 187-196.
  - E. Klozova et V. Turkova (1966b) Chemotaxonomy and genesis of protein characters with special reference to the genus *Phaseolus*. *Preslia* 38: 229-236.
- Krupe, M. (1956) *Blutgruppenspezifische pflanzliche Eiweisskörper (phytagglutinine)*. Enke, Stuttgart.
- Lester, R. N., R. E. Alston et B. L. Turner (1965) Serological studies in *Baptisia* and certain other genera of the Leguminosae. *Am. J. Bot.* 52: 165-172.
- Mac Indae, W. et M. H. Munro (1967) Species of RNA from liver cell fractions separated on agarose gels. *Biochim. Biophys. Acta* 134: 458-460.
- MacLeod, A. H. et H. Corquodale (1958) Water soluble carbohydrates of seeds of the gramineae. *New Phytol.* 57: 168-182.
- Marre, E., S. Cocucci et E. Sturani (1965) On the development of the ribosomal system in the endosperm of germinating castor bean seeds. *Pl. Physiol.* 40: 1162-1170.
- Martin, F. W., E. Waszczenko-Zacharczenk, W. C. Boyd et K. F. Schertz (1964) Lectin content of the Lima bean during development of the seed and seedling. *Ann. Bot.* 28: 319-324.
- Mez, C. et H. Ziegenspeck (1926) Der Königsberger serodiagnostische Stammbaum. *Bot. Arch.* 13: 483-485.
- Miège, M.-N. (1968) Contribution à l'étude des protéines des graines d'une Légumineuse: *Lablab niger* Medik. I. Etude cytochimique de la graine. II. Etude des conditions d'extraction. III. Analyse et fractionnement des extraits. (A paraître.)

- Morton, R. K. et J. K. Raison (1963) A complete intracellular unit for incorporation of amino-acids into storage protein utilising ATP generated from phytate. *Nature* 200: 429-433.
- Mossé, J. et J. Baudet (1965) Extraction des protéines de graines. IV. Extraction exhaustive et fractionnement des protéines de la farine de blé. Composition en amino-acides des 17 fractions séparées. *Ann. Physiol. Vég.* 6: 283-302.
- Moureaux, Th. (1965) Extraction des protéines de graines. V. Les composés phosphorés de la farine de blé, facteurs du fractionnement protéique au cours de l'épuisement de la farine par l'eau. *Ann. Physiol. Vég.* 7: 5-24.
- Newton Barber, H., C. J. Driscoll, P. M. Long et R. S. Vickery (1968) Protein genetics of wheat and homoeologous relationships of chromosomes. *Nature* 218: 450-452.
- Nutall, G. H. F. (1901) The new biological test for blood in relation to zoological classification. *Proc. Roy. Soc. London Ser. B* 69: 150-153.
- Raj Bhandary, L. et A. Stuart (1966) Nucleic acids—sequence analysis. *Ann. Rev. Biochem.* 35: 759-788.
- Smith, E. (1968) [Rapport d'un exposé sur l'évolution des protéines du professeur R. Smith à la 20<sup>e</sup> réunion annuelle de la Fondation Ciba]. *Nature* 218: 522-523.
- Valadon, L. R. G. et R. S. Mummery (1968) Taxonomic significance of carotenoïds. *Nature* 217: 1066-1067.
- Vaughan, J. G., A. Waite, D. Boulter et S. Waiters (1965) Taxonomic investigation of several Brassica species using serology and separation of proteins by electrophoresis on acrylamid gel. *Nature* 208: 704-705.
- Vendrey, R. (1964) Les protéines du noyau en interphase. In T. H. Schiebler, A. G. E. Pearce et H. H. Wolff (éd.) 2<sup>e</sup> congrès international d'histochemie et de cytochemie. (50-61) Springer, Berlin, Göttingen & Heidelberg.
- Wang, T. Y. (1966) The chromatin and nucleolar acidic proteins: isolation, characteristics and roles in nuclear metabolism. In: *The cell nucleus-metabolism and radiosensitivity*. (243-258). Taylor & Francis, London.