

Comparaison entre les lectines des graines de quelques Phaseolus : relations entre le polymorphisme observé, la mise en culture et l'hybridation possible entre espèces

Autor(en): **Manen, Jean-Francois**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **33 (1978)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-880207>

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.

Comparaison entre les lectines des graines de quelques *Phaseolus*: relations entre le polymorphisme observé, la mise en culture et l'hybridation possible entre espèces

JEAN-FRANCOIS MANEN

Résumé

MANEN, J.-F. (1978). Comparaison entre les lectines des graines de quelques *Phaseolus*: relations entre le polymorphisme observé, la mise en culture et l'hybridation possible entre espèces. *Candollea* 33: 193-200. En français, résumé anglais.

L'activité agglutinante et le diagramme électrophorétique des lectines purifiées de l'extrait brut des graines de 16 variétés de *Phaseolus vulgaris*, de 2 variétés de *Ph. acutifolius* et de 2 variétés de *Ph. coccineus* sont comparés. Cette étude permet de différencier les 3 espèces, de suggérer des possibilités d'hybridation entre les cultivars de *Ph. vulgaris* et ceux des 2 autres espèces, et de révéler une influence de la mise en culture de *Ph. vulgaris* sur la structure moléculaire des lectines.

Abstract

MANEN, J.-F. (1978). Comparison between lectins from seeds of some *Phaseolus*: relations between observed polymorphism, domestication and possible hybridization between species. *Candollea* 33: 193-200. In French, English abstract.

The agglutinating activity and the electrophoretic pattern of purified lectins from seeds' crude extract of 16 *Phaseolus vulgaris* varieties, 2 *Ph. acutifolius* varieties and 2 *Ph. coccineus* varieties are compared. This study permits to differentiate the 3 species, to suggest possibilities of hybridization between the cultivars of *Ph. vulgaris* and those of the two other species, and to show an influence of the domestication of *Ph. vulgaris* on the molecular structure of the lectins.

Introduction

Pour comparer des variétés ou des espèces différentes, il est intéressant de comparer une protéine homologue à tous ces individus (MIÈGE, 1975). Les lectines des graines de *Phaseolus vulgaris* L. cv. *contender* sont des glycoprotéines ayant la propriété d'agglutiner les érythrocytes et dont la fonction est incertaine. Elles sont facilement purifiables directement par chromatographie d'affinité et ont été étudiées en détail (MANEN & MIÈGE, 1977; MANEN, 1978). Elles sont formées

des 5 tétramères (visibles en électrophorèse sur gel de polyacrylamide 7.5%, pH 4.5) qu'il est possible de former avec 2 sous-unités A et B (visibles en électrophorèse sur gel de polyacrylamide 10% en présence de SDS), soient: AAAA, AAAB, AABB, ABBB et BBBB. D'une part dans le but d'élucider la biologie des lectines, d'autre part pour tester l'utilité des lectines en taxonomie, nous avons étudié l'activité agglutinante et les diagrammes électrophorétiques des lectines purifiées à partir d'un extrait brut de 16 variétés ou cultivars de *Phaseolus vulgaris*, de 2 variétés de *Ph. acutifolius* et de 2 variétés de *Ph. coccineus*.

TOMS & WESTERN (1971) relèvent parmi les variétés de *Phaseolus vulgaris* testées dans la littérature, des extraits aux propriétés lectiniques variées. La majorité d'entre eux agglutinent les érythrocytes. Les uns sont non spécifiques, d'autres sont spécifiques des groupes A, B ou O. D'autres enfin, n'ont pas d'activité agglutinante sur les sangs testés.

JAFFE & al. (1972) montrent qu'une activité érythroagglutinante peut être mise en évidence dans les extraits de toutes les variétés de *Phaseolus vulgaris* testées (même de celles prétendues inactives). Pour cela ils utilisent des érythrocytes provenant de 9 animaux différents ainsi que des érythrocytes humains des groupes A, B et O. De plus, les érythrocytes sont traités ou non à la trypsine ou à la pronase, dont l'effet peut être le démasquage de récepteurs lectiniques sur la surface des érythrocytes. De cette manière, ces auteurs sont arrivés à différencier 4 groupes, parmi les variétés de *Phaseolus vulgaris*:

- un groupe A: agglutine tous les érythrocytes, sauf ceux de vache non traités à la trypsine;
- un groupe B: agglutine tous les érythrocytes, sauf ceux de vache traités ou non traités à la trypsine;
- un groupe C: agglutine uniquement les érythrocytes de vache traités à la trypsine;
- un groupe D: agglutine uniquement les érythrocytes de hamster traités à la pronase.

Le groupe A semble être une combinaison des groupes B et C, mais l'étude génétique entreprise montre que les propriétés du groupe A sont héritées en un caractère simple et dominant.

Ces travaux montrent que, à l'intérieur d'une même espèce, on trouve des différences importantes dans le comportement spécifique des lectines. Si bien que dans la seule espèce de *Phaseolus vulgaris* on trouve la majeure partie des différentes activités lectiniques trouvées dans tout le règne végétal. Ceci rend difficile la simple utilisation de la spécificité des lectines pour l'étude taxonomique d'espèces éloignées. Cependant, elle peut être intéressante pour l'étude d'espèces voisines, ou de variétés d'une même espèce.

De ce point de vue, l'étude de la structure (séquence, composition, structure quaternaire, etc.) des lectines peut être plus intéressante. MILLER & HSU (1975) ont montré que les sous-unités A et B de *Phaseolus vulgaris*, dont les activités sont différentes, ont une séquence NH₂-terminale très semblable, ne différant que pour les 7 premiers acides aminés. FORIERS & al. (1977) étudient la séquence des 25 premiers acides aminés de la partie NH₂-terminale de différents monomères lectiniques isolés de graines de légumineuses (*Lens culinaris*, *Pisum sativum*, *Glycine max*, *Arachis hypogaea*, *Phaseolus vulgaris*). Ils remarquent une homologie importante entre ces séquences, et pensent que ces protéines ont une origine

génétique commune. C'est sur ce type d'étude que pourrait être fondée l'utilisation des lectines en taxonomie.

Matériel et méthodes

Provenance des graines

Elles nous ont été données par le D^r R. Maréchal (Faculté des sciences agronomiques de l'état, Phytotechnie des régions chaudes, B-5800 Gembloux), qui nous a aussi transmis tous les renseignements concernant ces graines.

	<i>Provenance</i>	<i>N°</i>	<i>Nom du cultivar</i>
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>aborigineus</i> Buch. Considérées comme la forme sauvage de <i>Phaseolus vulgaris</i> , dont l'aire unique est la Cordillère des Andes, depuis le nord de l'Argentine jusqu'en Amérique centrale. Bractéoles lancéolées, plus courtes que le calice. Graines relativement petites.	Argentine	29	
	(inconnue)	190	
<i>Ph. vulgaris</i> L. var. <i>vulgaris</i> (cultivars) Formes cultivées, dont beaucoup sont originaires du Mexique. Bractéoles larges recouvrant complètement le calice. Graines relativement grosses.	Zaïre	8	Ibundu
	Zaïre	12	Wulma
	Zaïre	13	Cuarentino
	Zaïre	34	S G 44
	Burundi	266	Colorado
	Burundi	267	H 4508
	Angola	311	Alho de Perdiz
	Nicaragua	309	Veracruz
	Chine	163	?
	Europe	68	Tendergreen
<i>Ph. vulgaris</i> L. var. <i>vulgaris</i> (sauvageoïdes) Considérées comme des formes cultivées au début de la domestication et retournées à l'état sauvage (échappées de culture) ou comme des métissages entre les formes sauvages et les formes cultivées. Grandes bractéoles larges (comme <i>vulgaris</i>). Graines petites (comme <i>aborigineus</i>).	Europe	293	Type coco
	Mexique	406	
	Mexique	407	
<i>Ph. acutifolius</i> A. Gray var. <i>acutifolius</i> Forme sauvage, originaire du Mexique.	Mexique	544	
<i>Ph. acutifolius</i> A. Gray var. <i>latifolius</i> Forme cultivée par les Indiens du Nouveau-Mexique et de l'Arizona.	Mexique	502	
<i>Ph. acutifolius</i> A. Gray var. <i>latifolius</i> Forme cultivée par les Indiens du Nouveau-Mexique et de l'Arizona.	Costa-Rica	333	Terapy bean
<i>Ph. coccineus</i> L. var. <i>coccineus</i> (cultivars)	Ruanda	15	Blanc n° 5
	?	90	?

Activité agglutinante spécifique

L'activité agglutinante contre des érythrocytes A, B et O, est mesurée sur des extraits bruts de graines entières (MANEN, 1978). Elle est exprimée par le titre d'agglutination obtenu, rapporté à 1 mg de protéines (Lowry).

Purification des lectines

Chromatographie d'affinité sur sépharose 4B-thyroglobuline (MANEN & MIÈGE, 1977).

Electrophorèse sur gel de polyacrylamide

Non dénaturante, pH 4.5 et dénaturante en présence de SDS (MANEN, 1978).

	N ^o	Titre d'agglutination/mg Lowry		
		A ₁	B	O
<i>Phaseolus vulgaris</i>	8	31.8	31.8	31.8
	12	46.8	46.8	46.8
	13	32.8	32.8	32.8
	34	25.7	25.7	25.7
	68	27.7	13.8	13.8
	163	15.6	15.6	15.6
	266	34.4	34.4	34.4
	267	34.9	34.9	34.9
	293	16.6	16.6	16.6
	309	31.3	31.3	31.3
	311	11.8	11.8	11.8
	406	37.4	37.4	37.4
	407	27.7	27.7	27.7
544	32.8	32.8	32.8	
— subsp. <i>aborigineus</i>	29	7.5	7.5	7.5
	190	16.6	16.6	16.6
<i>Phaseolus coccineus</i>	15	16.4	16.4	16.4
	90	7.6	3.8	1.9
<i>Phaseolus acutifolius</i>	502	31.3	31.3	31.3
	333	37.4	37.4	37.4

Tabl. 1. — Activité agglutinante spécifique (par mg Lowry) des extraits bruts des graines de 16 variétés de *Phaseolus vulgaris*, et de 2 variétés de *Ph. coccineus* et *acutifolius*, contre des érythrocytes humains des groupes A₁, B et O.

Résultats

Le tableau 1 montre que les graines de toutes les variétés et cultivars des espèces étudiées ont une activité agglutinante. De plus toutes ces activités sont aspécifiques, sauf peut-être pour le cultivar 90 de *Phaseolus coccineus*, qui a une certaine spécificité pour le groupe A₁.

L'aspect quantitatif de l'activité agglutinante ne donne pas beaucoup de renseignements, et n'a aucun pouvoir ségréatif entre les espèces ou entre les variétés.

Les lectines de l'extrait brut des graines de toutes ces variétés ont été purifiées sur Sépharose-thyroglobuline. Seules les lectines de la forme sauvage de *Phaseolus acutifolius* (502) n'ont pas de spécificité pour la thyroglobuline.

La figure 1 représente les diagrammes électrophorétiques des lectines purifiées (il manque donc le 502). Celui des lectines de l'extrait brut du cultivar "contender" est représenté à titre de comparaison. Seuls 3 cultivars de *Phaseolus vulgaris* ont exactement les mêmes diagrammes électrophorétiques que "contender" (il s'agit des 2 cultivars européens [68, 293], comme "contender", et d'un cultivar de l'Angola). Les 2 variétés *aborigineus* ont aussi le même diagramme, cependant les 2 sous-unités constitutives des 5 tétramères observés ne sont pas séparables en SDS (poids moléculaire trop proche). De nombreux cultivars (8, 12, 13, 34, 266, 267, 309), ainsi que les sauvageïdes (406, 407, 544) ont une bande majeure de mobilité égale à celle du tétramère AABB de "contender". Mais pour aucun d'entre eux, les deux monomères A et B n'ont pu être mis en évidence en SDS. Pour certains d'entre eux (13, 34, 407, 309, 266) des bandes mineures de même mobilité que AAAA, AAAB, BBBB et BBBA existent. Dans ce groupe il apparaît, en SDS, une importante bande mineure de mobilité proche de celle de la bande majeure.

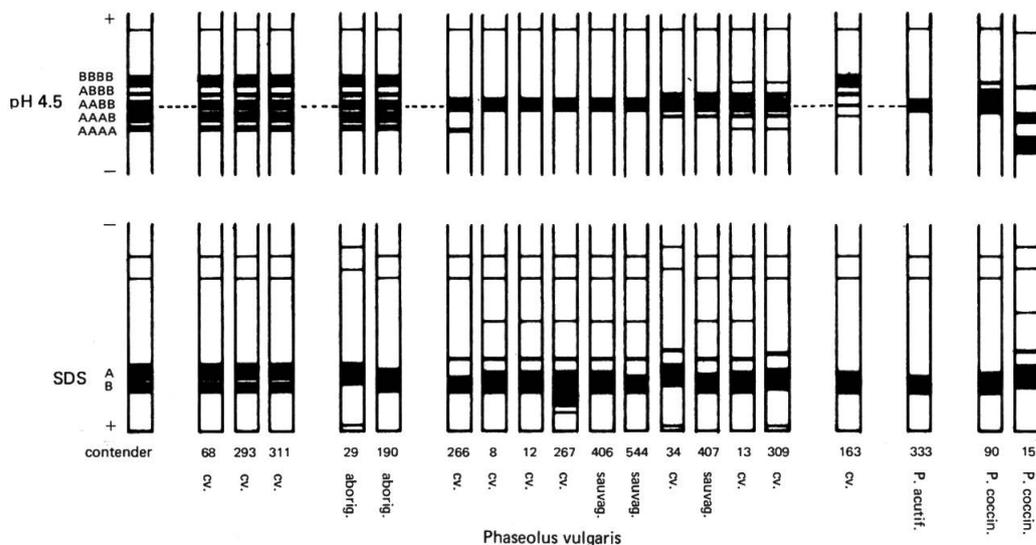


Fig. 1. — Diagramme électrophorétique (pH 4.5 et SDS) des lectines purifiées de l'extrait brut de 16 variétés de *Phaseolus vulgaris*, de 2 variétés de *Ph. coccineus* et d'une variété de *Ph. acutifolius*.

Elle ne peut toutefois être assimilée à l'un des monomères, car si seul AABB existe, A et B devrait être d'égale intensité.

Le cultivar chinois (163) est intéressant car il contient principalement le tétramère BBBB, donc presque uniquement le monomère B.

Le cultivar *acutifolius* est très semblable au groupe *vulgaris*, caractérisé par la présence unique des tétramères AABB.

Les cultivars *coccineus* semblent assez différents de ceux des deux autres espèces.

Discussion

Un grand nombre de cultivars de *Phaseolus vulgaris*, comprenant les sauvageoïdes se caractérisent par un seul tétramère. La question se pose de savoir s'il ne s'agit pas d'un tétramère constitué de 4 sous-unités identiques (une seule bande majeure en SDS). Cependant, la variété *aborigineus* montre qu'il est possible d'avoir 2 sous-unités non discernables en SDS. Le fait qu'il s'agit vraisemblablement d'un tétramère AABB est confirmé par le fait que dans certains cas, on distingue des bandes correspondant aux 4 autres tétramères (AAAA, AAAB, BBBB, BBBA). D'ailleurs un grand nombre de travaux signalent, chez *Phaseolus vulgaris*, 2 sous-unités différentes, inséparables en SDS, car leurs PM sont trop voisins, mais de composition ou de charges différentes (WEBER & al., 1972; MILLER & HSU, 1975; PUSZTAI & WATT, 1974).

La formation des tétramères lectiniques semble être contrôlée à deux niveaux:

- au niveau de la synthèse des deux monomères A et B: le cultivar chinois de *Phaseolus vulgaris* (163) comporte uniquement la sous-unité B. Tous les autres contiennent les 2 sous-unités A et B. Il est peut-être possible de trouver des variétés ne contenant que la sous-unité A;
- au niveau de la polymérisation entre les 2 sous-unités, lorsqu'elles sont présentes: ou bien la polymérisation donne les 5 tétramères en répartition non gaussienne (type "contender" et *aborigineus*, polymérisation non au hasard), ou bien la polymérisation donne surtout le tétramère AABB (tous les autres cultivars ainsi que les sauvageoïdes, polymérisation au hasard). Il est par ailleurs à remarquer que l'activité agglutinante spécifique des extraits bruts des cultivars type "contender" et *aborigineus* est environ inférieure de moitié à celle des autres types.

Il serait intéressant de savoir si tous les *aborigineus* (forme sauvage) sont du type "contender" (2 sous-unités présentes, formant les 5 tétramères), ou s'il existe des types différents, en particulier quant au nombre de sous-unités présentes et quant à leur type de polymérisation (travail en cours). Cette dernière situation serait d'ailleurs étonnante car les différences proviendraient d'écotypes différents alors que l'aire de cette espèce (Andes) est assez restreinte. Cette question est intéressante non seulement du point de vue taxonomique, mais du point de vue de la biologie des lectines. Il est probable que la mise en culture du *Phaseolus vulgaris*, impliquant des opérations de sélection, et la formation d'écotypes divers,

ont été responsables du polymorphisme observé au niveau des lectines en particulier. L'étude de cette question permettant une relation entre la constitution des lectines de *Phaseolus vulgaris* et les conditions écologiques (sélection pour tel ou tel caractère, conditions climatiques, etc.), peut, peut-être, concourir à une appréciation de la fonction ou de la biologie des lectines.

Les échantillons de *Phaseolus acutifolius* comprenaient une variété sauvage (*latifolius*) et un cultivar. La variété sauvage, à l'inverse de tous les *vulgaris*, n'a pas d'affinité pour la thyroglobuline, alors que les lectines du cultivar ont pu être purifiées sur Sépharose-thyroglobuline. Ainsi l'espèce *Phaseolus acutifolius* est fortement différenciée de l'espèce *vulgaris*, les caractéristiques du cultivar résultant vraisemblablement d'une hybridation avec *vulgaris* (le croisement est possible entre ces 2 espèces).

Les diagrammes électrophorétiques des lectines des 2 cultivars de *Phaseolus coccineus* sont très différents de ceux des 2 autres espèces, quoique pour l'un d'eux (15), on retrouve en SDS, les mêmes bandes mineures que celles observées chez certains *vulgaris*. La probabilité de croisement entre *vulgaris* et *coccineus* pourrait, dans ce cas aussi, expliquer les similitudes observées entre ces deux espèces.

Bien que cette étude ait porté sur un petit nombre d'échantillons, et surtout sur un trop grand nombre d'échantillons cultivés par rapport aux espèces sauvages, elle a permis de bien différencier les 3 espèces étudiées, d'entrevoir les possibilités d'échange entre elles, et de poser quelques problèmes à l'intérieur de l'espèce *Phaseolus vulgaris*. Ainsi la valeur des lectines en taxonomie est confirmée. Cependant la seule étude de l'activité agglutinante est tout à fait insuffisante. Il est important de purifier ces molécules agglutinantes et même d'étudier la composition et la séquence en acides aminés des 2 sous-unités A et B, pour déceler les différences possibles, suggérées par les différences de mobilité électrophorétique observée.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- FORIERS, A., E. VAN DRIESSCHE, R. DE NEVE, L. KANAREK & A. D. STROSBERG (1977). The subunit structure and N-terminal sequences of the α and β subunits of the lentil lectin (*Lens culinaris*). *FEBS Lett.* 75: 237-239.
- JAFFE, W. G., O. BRÜCHER & A. PALOZZO (1972). Detection of 4 types specific phytohemagglutinins in different lines of beans (*Phaseolus vulgaris*). *Z. Immun. Forsch.* 142: 439-447.
- MANEN, J.-F. (1978). Contribution à la caractérisation et à la biologie des lectines dans la graine de *Phaseolus vulgaris* L., var. contender. *Saussurea* 9: 23-44.
- & M.-N. MIÈGE (1977). Purification et caractérisation des lectines isolées dans les albumines et les globulines de *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Veg.* 15: 163-173.
- MIÈGE, J. (1975). Les protéines des graines en taxonomie et phylogénie végétales. In: MIÈGE, J. (éd.), *Les protéines des graines*: 305-365. Georg, Genève.
- MILLER, J. & R. HSU (1975). Extensive homology between the subunits of PHA mitogenic proteins derived from *Phaseolus vulgaris*. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 72: 1388-1391.
- PUSZTAÏ, A. & W. B. WATT (1974). Isolectins of *Phaseolus vulgaris*. A comprehensive study of fractionation. *Biochim. Biophys. Acta* 365: 57-71.
- TOMS, G. C. & A. WESTERN (1971). Phytohemagglutinins. In: HARBORN, J. B., D. BOULTER & B. L. TURNER, (éds.), *Chemotaxonomy of the Leguminosae*: 367-462. Academic Press, London & New York.

WEBER, T. H., H. ARO & C. T. NORDMAN (1972). Characterization of lymphocyte-stimulating blood cell-agglutinating glycoproteins from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *Biochim. Biophys. Acta* 263: 95-105.