

Note de recherche

Variabilité de l'hélianthinine isolée à partir de graines de lignées de tournesol à faible et haute teneur en acide oléique

C. OUAZZANI¹, L. CHABRAOUI²

(Reçu le 14/11/2018; Accepté le 18/07/2019)

Résumé

Les sources de protéines végétales représentent une place importante dans les pays en voie de développement et complètent une alimentation dominée par les glucides, telles que les céréales et autres sources d'amidon. Les sources de protéines végétales sont moins chères et constituent des matières azotées largement utilisées en alimentation animale. Les graines de tournesol (*Helianthus annuus*) sont une source de matière première recherchée pour l'alimentation humaine et animale. La composition des graines de tournesol est influencée par les facteurs génétiques et environnementaux. Ce travail a pour objectif la comparaison des protéines de réserve majeures de tournesol après fractionnement en albumines et globulines et analysées en SDS PAGE chez les variétés locales et sélectionnées par l'INRA de Montpellier. L'hélianthinine est une protéine majeure de réserve au niveau des graines de tournesol. La composition en polypeptides de l'hélianthinine est hétérogène due à l'hétérogénéité des familles de gènes correspondants. L'analyse électrophorétique sur gel de polyacrylamide, en présence de SDS, et des fractions de polypeptides isolées à partir de graines de 24 génotypes de tournesol obtenus par l'INRA de Montpellier ont révélé des polypeptides de l'hélianthinine de PM respectifs de 43,8 kD, 43,5 kD, 43,3 kD, 27, 2 kD, 26,4 kD et 24,6 kD. Ces polypeptides présentent des variabilités chez les génotypes sauvages, hybrides et lignées normales et à teneur élevée en acide oléique. Les génotypes caractérisés par une teneur élevée en acide oléique ont deux polypeptides de 43,8 kD, 43,3 kD, et ont le peptide de 24,6 kD et se rapprochent de l'hybride *Helianthus Argophyllus x Helianthus Annuus*. La population d'origine Russe Vniimk et la population Russe Armavir présentant une teneur normale en acide oléique, présentent un profil électrophorétique similaire.

Mots-clés: Hélianthinine, Tournesol, *Helianthus annuus*, Protéines végétales, Électrophorèse

Variability of helianthinin in high and normal oleic acid sunflower seed

Abstract

Helianthinin is a major storage protein of the sunflower seed. The polypeptides composition of helianthinin is heterogeneous and corresponded to the family gene heterogeneity. The SDS electrophoresis polyacrylamide gel analyses of total fractions of proteins extracted from 24 of sunflower genotypes developed by INRA of Montpellier have revealed a variable helianthinin polypeptide. The electrophoretic analysis revealed specific polypeptide of wild genotypes, hybrids, normal and high oleic acid breeding line. These results show six variables polypeptides of helianthinin with molecular weight of 43.8 kD, 43.5 kD, 43.3 kD, 27.2 kD, 26.4 kD et 24.6 kD. The high oleic content genotype has three polypeptides of 43.8 kD, 43.3 kD and 24.6 kD, similar to the hybrid *Helianthus Argophyllus x Helianthus Annus*. The Russian population Vniimk and the Armavir population with normal oleic acid have similar helianthinin electrophoretic profile.

Keywords: Helianthinin, Sunflower, *Helianthus annuus*, Plant Proteins, Electrophoresis

INTRODUCTION

Les graines de tournesol contiennent 40 % d'huiles et avec le colza et l'olivier, elles constituent l'une des principales plantes sources d'huile alimentaire. Les graines de tournesol constituent une source importante en vitamine E. Ces antioxydants combattent le vieillissement provoqué par les radicaux libres; ils limitent les risques d'apparition de pathologies cardio-vasculaires et de certains cancers. Il existe deux types d'huile de tournesol: l'huile linoléique dite classique et l'huile oléique issue de nouvelles variétés de tournesol.

L'huile de tournesol classique apporte les acides gras oméga 6, l'oléique apporte les oméga 9. Cette huile a l'avantage d'avoir une résistance à la température lors des cuissons et des fritures. La graine de tournesol est riche en nutriments, en protéines, fibres et minéraux et elle contient les neuf acides aminés essentiels. Ses qualités

technologiques, dont le goût et l'odeur caractéristique, lui confèrent son utilisation pour compléter les préparations alimentaires, soupes, desserts.

Les graines de tournesol font des collations nutritives en plus d'agrémenter les salades et pâtes. Son huile peut remplacer le beurre et la graisse végétale. La sélection variétale des protéines des graines permet de constituer des outils nécessaires pour l'identification variétale pour la prévision des qualités nutritionnelles et technologiques.

Beaucoup de travaux ont été effectués sur l'analyse des polypeptides de réserve de graines de légumineuses cultivées (Perrot, 1995), de féverole (Pasqualini *et al.*, 1991), de *Vigna unguiculata* (Fosto *et al.*, 1994). Nwaga *et al.*, (2000) ont révélé le polymorphisme important des albumines majeures chez l'arachide par rapport aux légumineuses et le lien entre l'absence de polypeptides et la teneur élevé en lipides.

¹ Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Maroc

² Hôpital Avicenne, Rabat, Maroc

Les graines de tournesol accumulent deux majeurs groupes de protéines de réserve, l'hélianthinine 11 S globulin et l'albumine 2 S (Derbishire *et al.*, 1976). L'hélianthinine est une protéine oligomérique constituée de six sous unités. (Anisimova *et al.*, 1989).

Ces dernières années, les variétés de tournesol produisant une teneur élevée en acide oléique ont été développées à partir d'un mutant Pervenets, obtenu après mutation des graines de la population Peredovic (Saldatov, 1976). Les lignées et les hybrides dérivés à partir du mutant Pervenets développent des graines avec une teneur de 80 % d'acide oléique.

Une complémentarité entre les tournesols linoléique et oléique pourrait être utilisée en huiles combinées, en vue d'un équilibre diététique mono/poly-insaturé dont l'effet serait d'assurer l'expression optimale des paramètres de protection vis-à-vis des maladies cardiovasculaires.

Beaucoup de travaux ont été réalisés sur la variabilité des protéines de réserve isolées à partir de graines de différents génotypes de tournesol (Anisimova, 1998; Anisimova 1994). Différents travaux (Hongtrakul *et al.*, 1998; Lacombe *et al.*, 1999; Lacombe et Bervillé, 2002) ont montré la différenciation de génotypes HOAC et LO par des RFPs, OleLOR et OleHOS respectivement en utilisant l'ADNc de l'oléate désaturase comme sonde. Les variations des allèles oleHOS, oleLOR et LO ont été mis en évidence (Lacombe et Bervillé, 2002).

L'analyse du polymorphisme des polypeptides de l'hélianthinine permet de constituer des marqueurs moléculaires des différents génotypes HOAC et LOAC.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal: 23 génotypes constitués de lignées, populations, hybrides sauvages et populations proviennent de l'INRA ENSAM de Montpellier (Tableau 1).

Les protéines de l'hélianthinine sont extraites à partir des graines de tournesol selon la méthode décrite par Schwenke *et al.*, (1975) et analysées en SDS PAGE (Laemmli, 1970).

RÉSULTATS

L'ensemble des génotypes étudiés présentent des polypeptides de PM respectifs 43,8 kD, 43,5 kD, 43,3 kD, 38,1 kD, 27,2 kD, 26,4 kD, 24,6 kD, 23,6 kD, et 23 kD (Tableau 2).

Les génotypes LR1, 98B1, la population Russe Armavisky, le génotype LR417 ont un profil électrophorétique équivalent à celui de la population Russe Vniimk 8931 avec la présence des polypeptides de 43,8 kD, 43,5 kD, 38,1 kD, 27,2 kD, 26,4 kD, 23,2 kD et 23 kD.

Les génotypes PAC2 et 83HR4 ont une faible concentration du polypeptide de 27,2 kD et ont un polypeptide de 24,6 kD supplémentaire par rapport à la population Russe Vniimk 8931.

La population marocaine 2603 CIRO présente une faible concentration du polypeptide de 27,2 kD par rapport à la population Russe Vniimk 8931.

Tableau 1: Matériel végétal utilisé

Code	Origine
LR1	<i>H. debilis</i> MPHE215 x <i>H. annuus</i> 85 B6
LR2 -9	<i>H. argophyllus</i> x <i>H. annuus</i> FS 20.6.2
LR4 17	NSH x 45 (flower hybride de novi sad)
RHA 274	Croisements complexes, d'origine dont djanoviski 8281
HA89	Pop russe Vniimk 89 31
RHA 266	Cn-953-88-3 <i>H. annuus</i> sauvage restaurateur américain
PAC2	HA61 x restaurateur étiole, restaurateur
83 HR4	Croisements complexes entre (Vniimk 65 40 (6509))
RHA345	Haut oléique dérive de Pervenets et RHA274
2603	Population Marocaine
CANP3	Pop Armavisky 9345 Russia armavir
RT1B11	Cycle tardive Population synthétique
HA285	Mennonite rr tournesol de bouche mainteneur
HA292	Mennonite RR tournesol de bouche
HA308	Mennonite rrr de bouche mainteneur
98B1	Isolement restaurateur fallax 1991 mainteneur CMS fal
98R1	Isolement restaurateur fallax 1991 restaurateur CMS fal
99R1	Isolement restaurateur fallax 1991 restaurateur CMS fal
92B6 H	Argophyllus
HA345	
HA304 A	

Le génotype RHA266 n'a pas le polypeptide de 26,4 kD et a une faible concentration du polypeptide de 43,3 kD par rapport à la population Russe Vniimk 8931.

Les génotypes 92B6, RHA 345, RHA 274, 98 R1, ont un polypeptide de 24,6 kD supplémentaire par rapport à la population Russe Vniimk 8931.

Les génotypes HA 292, HA 285, HA 308 A mennonites ont un profil électrophorétique équivalent à celui de la population Russe Vniimk 8931.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le génotype 83HR4 présentant une teneur élevée en acide linoléique a un profil électrophorétique similaire à celui du génotype PAC2. La population Russe Armavisky et le génotype Fallax 98 B1 et le génotype tolérant au phomopsis présentent un profil électrophorétique similaire et diffère de la population Marocaine CIRO. Le génotype RHA 266 restaurateur Américain diffère de tous les autres génotypes par l'absence du polypeptide de 26,4 kD et de la faible concentration du polypeptide de 43,3 kD. La population Russe Armavisky CANP3 caractérisé par une teneur normale en acide oléique a un profil électrophorétique similaire à celui de la population Russe Vniimk 8931. Le génotype RHA345 caractérisé par la teneur élevée en acide oléique a un profil électrophorétique similaire à celui

Tableau 2: Polypeptides variables des fractions de globuline isolées à partir des akènes de différents génotypes de Tournesol

Polypeptides variables	Variétés
43,8 kD ±	92B6 – 89 HR2- HA285- HA304A-99R1- RT1B11-
43,5 kD, 43,3 kD +	LR1-LR2-99R1-HA89-2603 83HR2- RHA274-RHA345- 98B1 98R1-HA308A-83HR4- CANP3-92B6
43,3 kD ±	RHA266
27,2 kD ±	92B6- LR2- 99R1-PAC2-2603- 98B1- RHA274-HA292-98R1- 83HR4
27,2 kD --	RHA 266
26,3 kD --	RHA266
24,6 kD --	RHA266- 2603-HA285- HA304A-LR1 HA8998B1-CANP3-HA292- HA308A-LR417 HA89- HA345
24,6 kD +	RHA274- 98R1- 99R1- 83HR4- PAC2- RHA345-92B6 PAC2-LR2
± : présent en faible concentration par rapport à la population russe Vniimk 8931, -- : absent, + : présent	

du génotype 92B6, RHA274 et le cytoplasme résinosus 98R1.

Ces résultats concordent avec ceux d'Anisimova *et al.*, (1991) qui révèlent la présence ou l'absence de constituants polypeptidiques de l'hélianthinine caractéristiques pour un groupe de variétés. Ces résultats concordent aussi avec ceux d'Anisimova *et al.*, (1998) qui révèlent des gènes spécifiques des variétés Pervenets, hybrides, cultivées et sauvages.

Ces résultats concordent avec ceux d'Anisimova qui révèlent la stabilité de polypeptides majeurs de l'hélianthinine au sein de différents génotypes et la variabilité génétique d'autres polypeptides. Anisimova *et al.*, (1991) ont révélé la similitude des polypeptides de l'hélianthinine chez les variétés présentant des caractères spécifiques de productivité et de résistance à l'orobanche.

Les travaux de Kabbaj *et al.*, (1996) montrent la variation d'expression de l'oléate et la linoléate désaturase chez différents génotypes de tournesol. Les génotypes HOC présentent une augmentation de l'expression du gène de l'oléate désaturase par rapport aux génotypes présentant une teneur normale en acide oléique. Les génotypes HOC présentent une diminution de l'expression du gène de la linoléate désaturase par rapport au génotype normal en acide oléique (Kabbaj *et al.*, 1996).

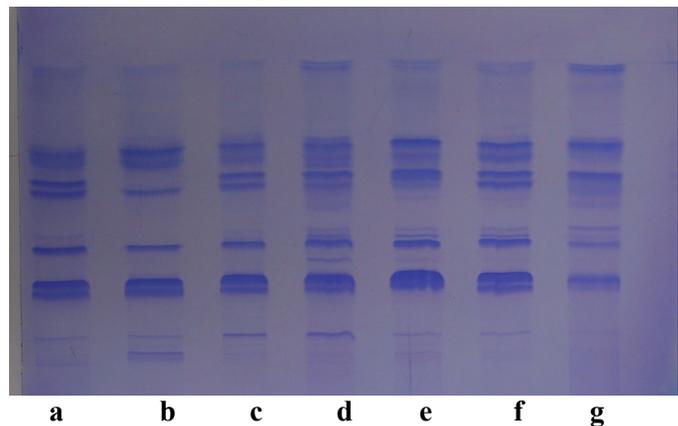


Figure 1: SDS PAGE (15 %) des fractions de Globuline. a- 92 B6, b- LR1, c- LR2, d-99R1, e- HA89, f- RHA 266, g- LR417

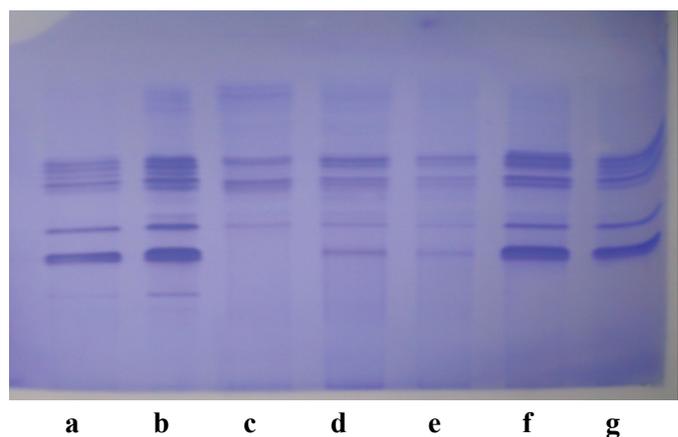


Figure 2: SDS PAGE (15%) des différentes fractions de globuline, a- 98 R1, b- HA308, c- HA304, d- HA304, e- CANP3, f- RHA345, g- PAC2

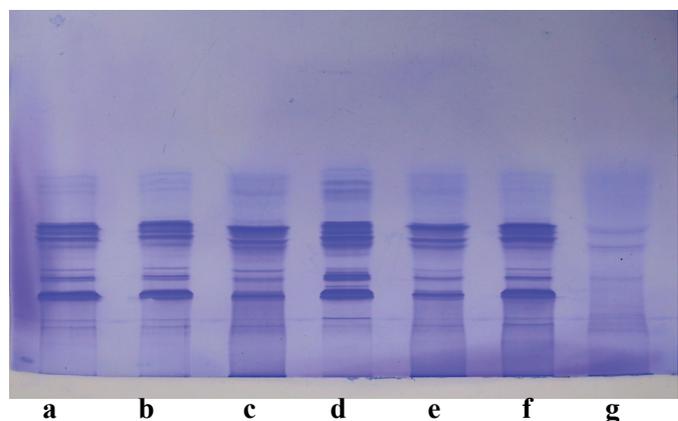


Figure 3: SDS PAGE des différentes fractions de globuline, a- 98R1, b-2603, c- 89HR2, d- 83HR2, e- HA285, f-g- RHA274

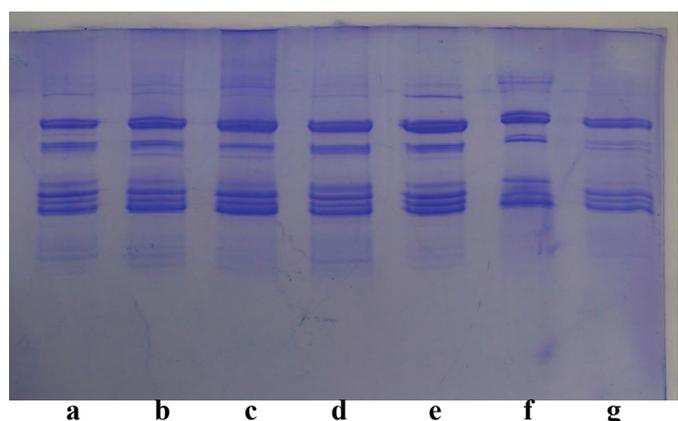


Figure 4: SDS PAGE des différentes fractions de globuline, a- 83HR4, b- RHA274, c- 2603, d- LR1, e- RHA345, f- RHA266, g- HA292

Ces résultats contribuent à l'identification des polypeptides de l'hélianthinine isolée à partir de graines de tournesol présentant des caractères génotypiques et agronomiques variables.

Ces travaux doivent être poursuivis pour rechercher le lien entre la présence de ces polypeptides et la composition variable en acides gras au niveau des graines de tournesol. L'analyse de la charge des protéines et de la composition en acides aminés permettra d'apporter des informations complémentaires sur la qualité nutritionnelle et leur valorisation dans les techniques de biotechnologies.

RÉFÉRENCES

- Anisimova I.N., Gavriljuk, I.P., Konarev, V.G. (1991). Identification of sunflower lines and varieties by helianthin electrophoresis. *Plants varieties and seeds* 4: 133-141.
- Anisimova, I. N., Konarev, A. V., Rozhkova, V. T., Gavrilova, V. A., Fido, R. J., Tatham, A. S., and Shewry, P. R. (1999). Variability of seed storage proteins within the sunflower gene pool. In *Genetics and Breeding for Crop Quality and Resistance* (pp. 331-338). Springer, Dordrecht.
- Anisimova, I. N. (1994). Seed proteins as markers in *Helianthus*. *Compositae: Systematics, Proceedings of International Compositae. Proceeding of the international compositae conference, Kiev 1994*. 2: 627-641.
- Derbyshire, E., Wright, D. J., and Boulter, D. (1976). Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds. *Phytochemistry*, 15: 3-24.
- Fotso, M., Azanza, J. L., Pasquet, R., and Raymond, J. (1994). Molecular heterogeneity of cowpea (*Vigna unguiculata* Fabaceae) seed storage proteins. *Plant Systematics and Evolution*, 191: 39-56.
- Lacombe, S., and Bervillé, A. (2000). Analysis of desaturase transcript accumulation in normal and in high oleic oil sunflower development seeds. In Proc. of the XV Int. Sunflower Conf. Toulouse, pp Pl A1-7.
- Kabbaj, A., Abbott, A. G., and Bervillys, A. (1996). Expression of stearate, oleate and linoleate desaturase genes in sunflower with normal and high oleic contents. *Helia*, 19: 1-17.
- Lacombe, S., and Bervillé, A. (2000). Analysis of desaturase transcript accumulation in normal and in high oleic oil sunflower development seeds. In Proc. of the XV Int. Sunflower Conf. Toulouse, pp Pl A1-7.
- Lacombe, S., Léger, S., Kaan, F., and Bervillé, A. (2002). Inheritance of oleic acid content in a F2 and a population of recombinant inbred lines segregating for the high oleic trait in sunflower. *Helia* 25: 85-94.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680.
- Nwaga, D., Omoloko, C., Nfonfu, A., & Totanji, V. P. (2000). Caractérisation des protéines de réserve des graines d'arachide (*Arachis hypogea* L.) et du niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp.): Protein contents of two groundnuts (*Arachis hypogea* L.) and cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Agronomie Africaine*, 12: 115-126.
- Perrot, C. (1995). Les protéines de pois : de leur fonction dans la graine à leur utilisation en alimentation animale. *INRA Prod. Anim.* (3) 151-164.
- Pasqualini, S., Lluch, C., and Antonielli, M. (1991). Seed storage proteins in several genetic lines of *Vicia faba*. *Plant physiology and biochemistry*, 29(5), 507-515.
- Pedalino M et al (1990). Cowpea genetic resources LITA Ibaden 81-89.
- Schwenke, K. D., Schultz, M., & Linow, K. J. (1975). Isolierung und Charakterisierung des II-S-Globulins aus Sonnenblumensamen (*Helianthus annuus* L.). *Food/Nahrung*, 19(9-10), 817-822.