



Qualité des protéines de colza

Colette Larre, Nathalie Nesi, Véronique Sole

► To cite this version:

Colette Larre, Nathalie Nesi, Véronique Sole. Qualité des protéines de colza : quels acquis?. 22. Carrefour de la sélection du colza, Jan 2015, St Malo, France. pp.25. hal-01208729

HAL Id: hal-01208729

<https://hal.science/hal-01208729>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Qualité des protéines de colza: quels acquis?

- **Colette LARRE et Véronique SOLE, INRA Nantes**
Biopolymères, Interactions et Assemblages (BIA)



- **Nathalie NESI, INRA Rennes**
Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes (IGEPP)

22^{ème} carrefour de la sélection du colza – 21 & 22 Janvier 2015 – Saint-Malo



Sommaire

- Contexte et enjeux des protéines végétales
- Le colza : source de protéines végétales
- Structure des protéines de réserve (2S et 12S)
- Teneur en protéines chez le colza
- Variabilité de la composition protéique de la graine
- Impact de la composition protéique sur les apports nutritionnels
- Impact de la composition protéique sur les fonctionnalités
- Bilan et perspectives

Contexte et enjeux des protéines végétales

- **Défi: nourrir 9 milliards d'individus en 2050**
- **Stagnation de la consommation d'huile à l'horizon H2020**
 - Augmentation ~3%/an jusqu'en 2020
 - Stabilisation de la demande alimentaire mondiale (~26kg/an/pers. sauf en Afrique)
 - Saturation du taux d'incorporation dans les biocarburants européens (4,5% -> 6-7%)
 - Dominance de l'huile de palme (50 -> 100 Mt hors accident climatique)



Contexte et enjeux des protéines végétales

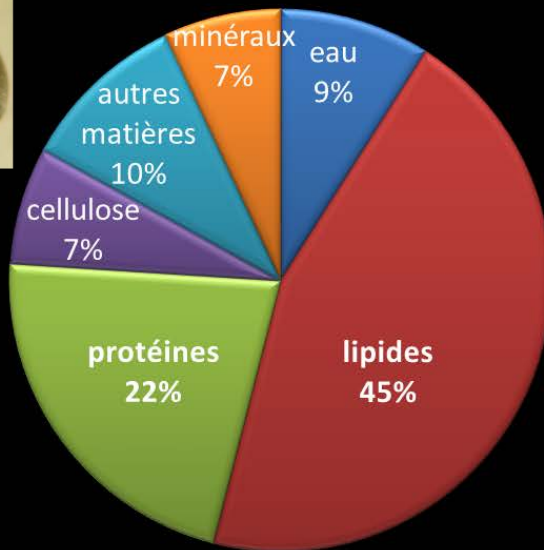
- **Défi: nourrir 9 milliards d'individus en 2050**
- **Stagnation de la consommation d'huile à l'horizon H2020**
- **Augmentation de la demande mondiale en protéines végétales entre 2020-2030**
 - Alimentation animale via les tourteaux (aquaculture, monogastriques)
 - Alimentation humaine (↑ prot. totales)
 - Protéines d'origine animale: + nutrition, - ressources limitées
 - Protéines d'origine végétale: + nutrition, - faible consommation
 - Maintien de la part des protéines dans la consommation=> rééquilibrer la proportion de protéines végétales vs animales

Le colza: source de protéines végétales

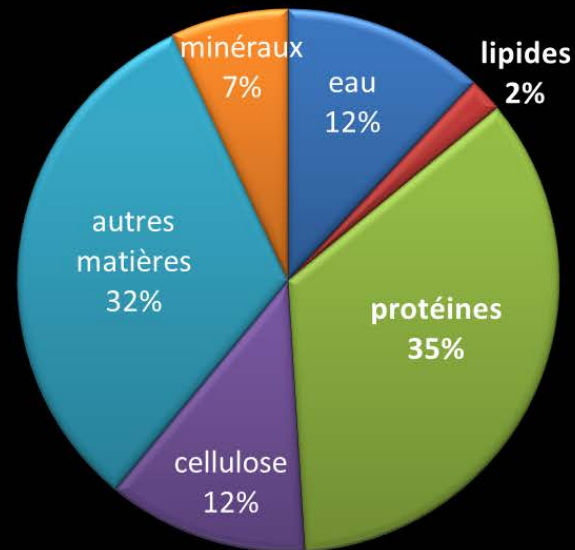
■ Composition de la graine et du tourteau



Composition de la graine



Composition du tourteau



■ Marché

- 2,3 Mt de tourteau sont produites en France (2013/2014) et sont entièrement utilisées pour l'alimentation des animaux d'élevage (source Cetiom)

Tourteau de colza et apports nutritionnels

- **Composition en acides aminés en adéquation avec les recommandations de la FAO pour l'alim. humaine**
 - Riche en lysine et teneur en tryptophane satisfaisante (Godon, 1996)
- **Digestibilité**
 - Classement de régimes protéiques suivant leur REP (Ratio d'Efficacité Protéique = gain de poids pour un groupe testé / quantité de protéines totales consommées)

Protéines animales

Viande de bœuf

Caséine

REP > 2 haute

Protéines végétales

Soja

Colza

Pois

Blé

1,5 < REP < 2 intermédiaire

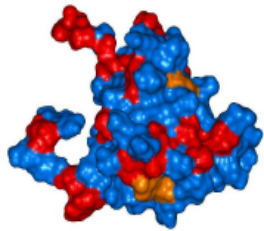
1 < REP faible

(d'après Friedman 1996 et Rozan 1997)

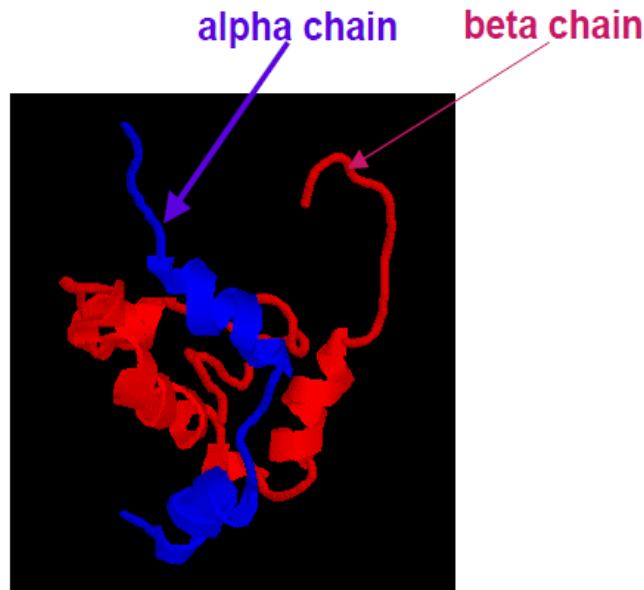
Les protéines de réserve: napines

Albumines de type 2S: les napines (13,4 – 46,1 %)

- Réserves azotées
- Riches en acides aminés soufrés (8 cystéines) + lysine
- Famille multigénique et nombreuses isoformes
- Structure globulaire: chaînes alpha + beta (4 ponts SS)



MW: 14 kDa
pI: 10-11



M _w (g/mol) – isoforme	13 920
Nbre d'acides aminés	127
% hydrophobes AA	42
pI	10-11
Charge nette pH 7	+10
Ponts SS	4 2 intra 2 inter



Les protéines de réserve: napines

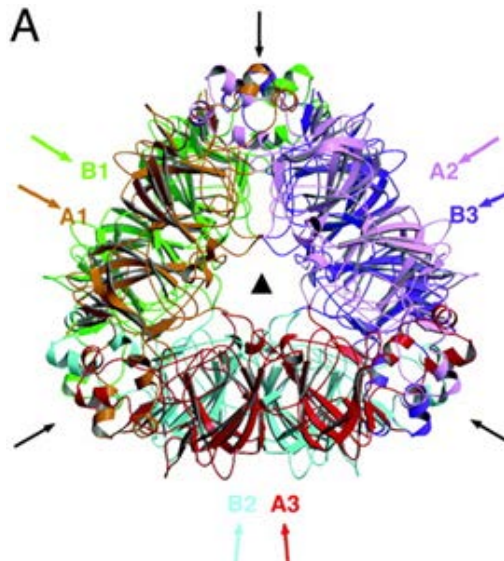
Albumines de type 2S: les napines (13,4 – 46,1 %)

- Organisation génomique chez Arabidopsis
 - 5 gènes (At2S1-At2S5)
 - 4 en tandem sur le chr. 4 (At4g27140, At4g27150, At4g27160, At4g27170)
 - 1 gène isolé sur le chr. 5 (At5g54740)
- Organisation génomique chez le colza
 - 16 gènes identifiés sur la séquence de référence Darmor-*bzh*
 - 6 en tandem sur A1, 5 en tandem sur C1, 2 en tandem sur A3, 3 gènes isolés sur A3, A8, C7
- Expression, traduction, maturation
 - Expression des gènes pendant le développement de la graine
 - Formation de précurseurs de 21 kDa
 - Clivage protéolytique post-traductionnel
 - Maturation pour aboutir à deux chaînes polypeptidiques de 4,5 et 10 kDa

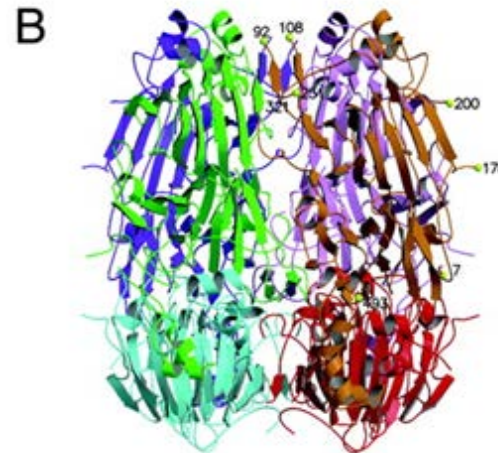
Les protéines de réserve: cruciférines

Globulines de type 12S: les cruciférines (26,5 – 65,3 %)

- Réserves azotées
- Riches en glutamine, asparagine et arginine
- Moins riches en AA soufrés que les 2S (2 cystéines)
- Structure globulaire: hexamère
 - 6 sous-unités $\alpha\beta$, organisées en 2 trimères $(\alpha\beta)_3$
 - α : polypeptide acide en périphérie,
 - β : polypeptide basique dans le cœur hydrophobe



Pro-cruciférine recombinante (12S) de colza

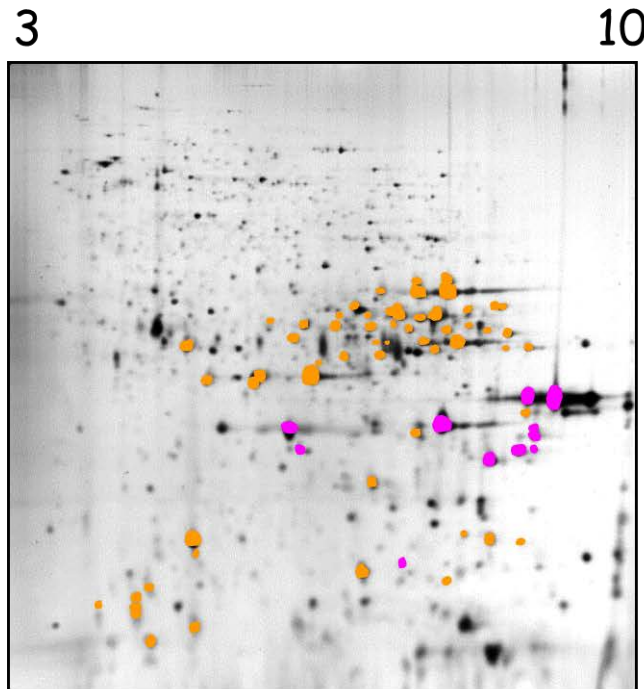


MW 300 kDa
pI $\approx$ 5

Les protéines de réserve: cruciférines

Globulines de type 12S: les cruciférines (26,5 – 65,3 %)

- Organisation génomique: une famille multigénique
 - 3 gènes chez Ath : AtCRA1 (At5g44120), AtCRB (At1g03880), AtCRC (At4g28520)
 - 9 gènes identifiés chez le colza : A1, A2, A6, A8, A10, C1, C5, C7, C8
 - Nombreuses modifications post-traductionnelles (surtout polypeptide alpha)



980 spots
Immunoblotting et Spectrométrie de Masse

● 57 spots correspondant aux polypeptides alpha

● 15 spots correspondant aux polypeptides bêta



Forte variabilité des polypeptides alpha

Nombreuses modifications post traductionnelles

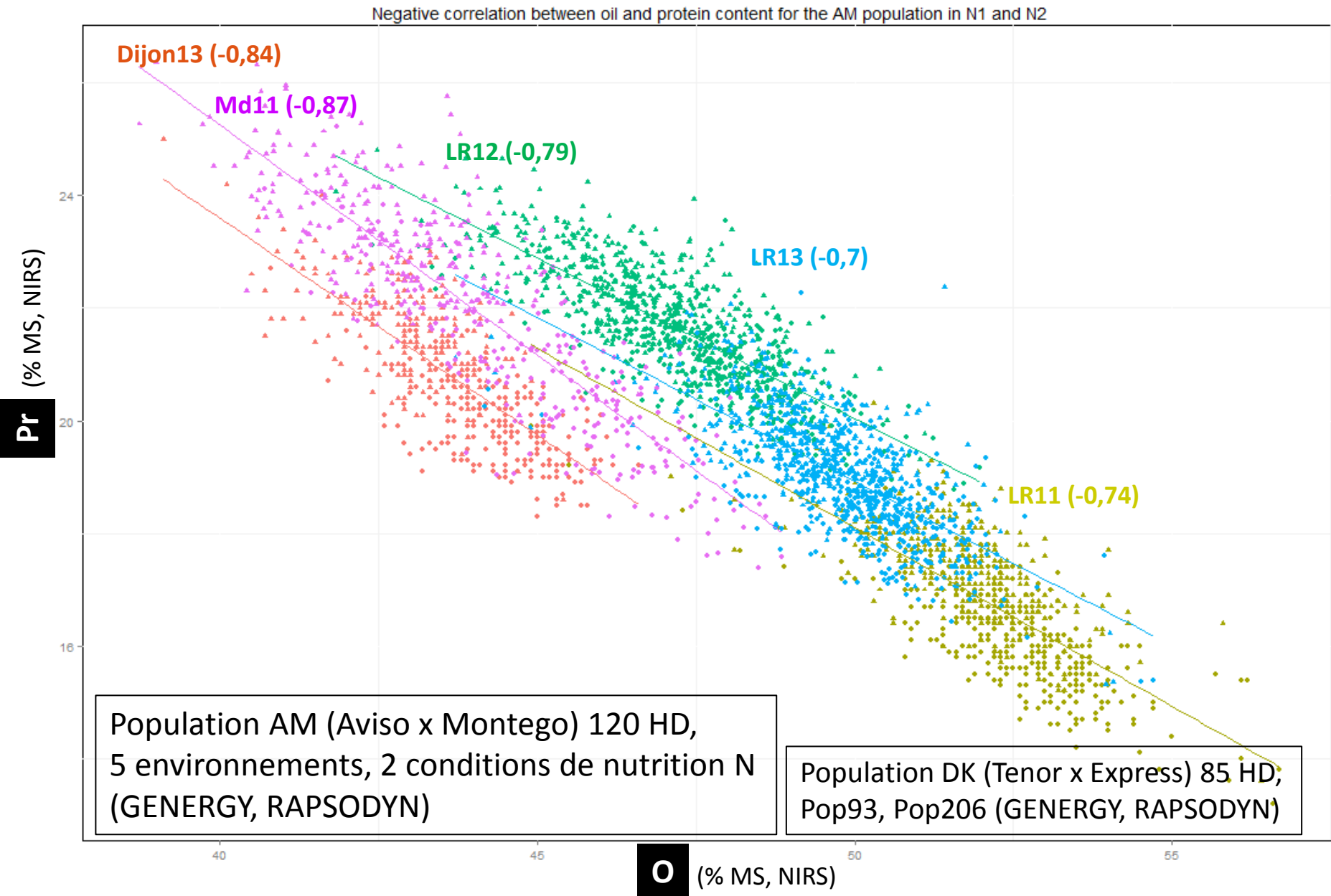
Position actuelle des protéines de colza

- Incorporation des tourteaux de colza dans les rations alimentaires des animaux
- Qualité inférieure des tourteaux de colza par rapport aux tourteaux de soja : teneur en protéines inférieure, faible digestibilité
- ⇒ Dénaturation des protéines pendant la trituration (broyage, toastage, désolvantation ...)
- ⇒ Facteurs intrinsèques à la graine : teneur en fibres, présence de composés phénoliques et d'acide phytique ...

Enjeux

- Teneur en protéines totales
- Composition en protéines de réserve de la graine de colza
- Impact sur les fonctionnalités des protéines de colza

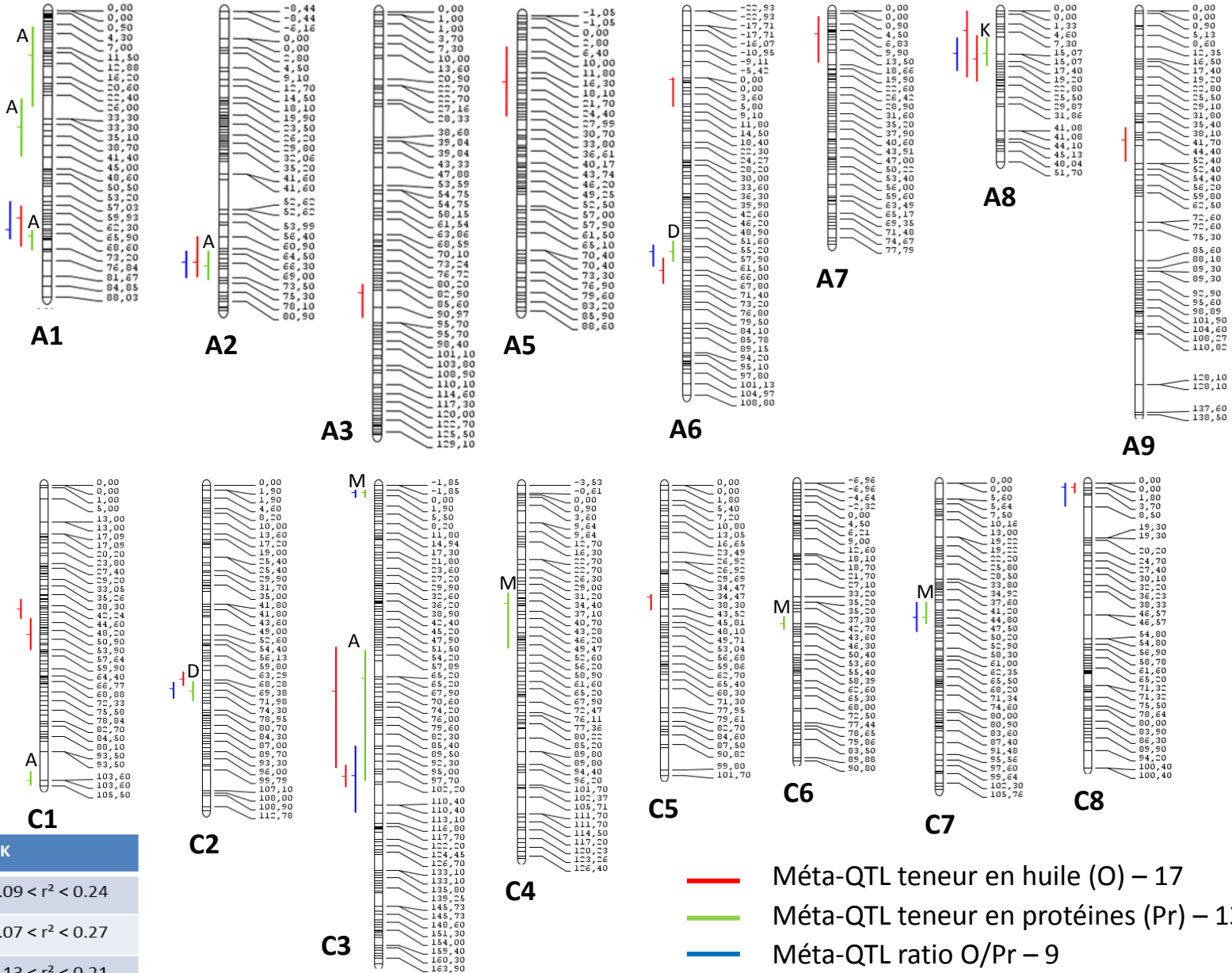
Teneur en protéines totales et homéostasie lipides/protéines dans la graine



Teneur en protéines totales et homéostasie lipides/protéines dans la graine

QTL de teneur en huile ou en protéines

Analyse de liaison sur les populations AM et DK puis méta-analyse de QTL. Localisation des QTL sur la carte projetée DK->AM.

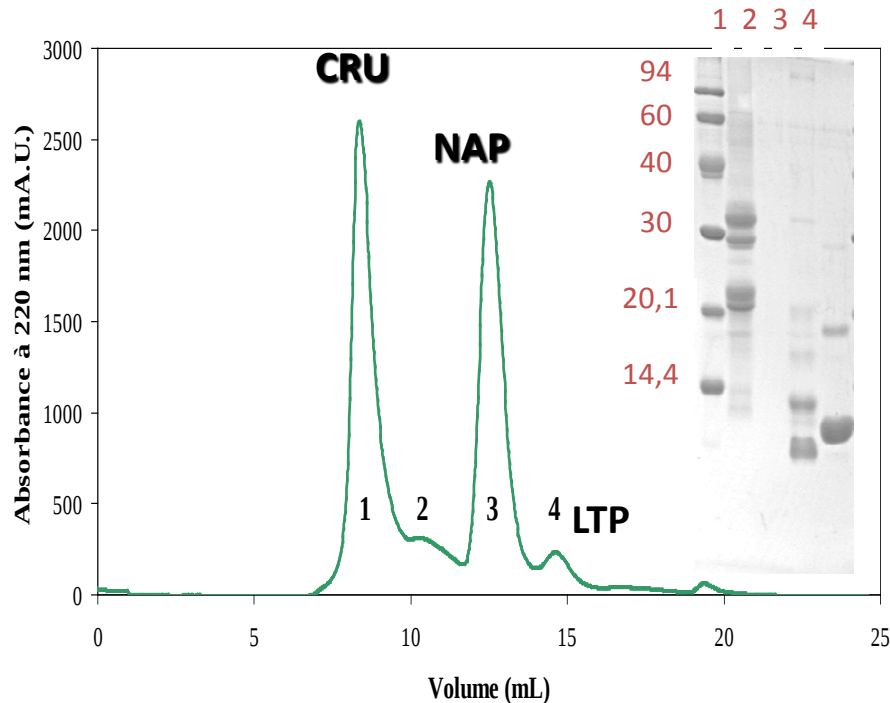


	AM	DK
O	$0.09 < r^2 < 0.18$	$0.09 < r^2 < 0.24$
Pr	$0.09 < r^2 < 0.21$	$0.07 < r^2 < 0.27$
O/Pr	$0.13 < r^2 < 0.19$	$0.13 < r^2 < 0.21$

Variabilité de la composition en protéines de réserve

■ Analyse des protéines de réserve par chromatographie

1. Extraction/Purification: broyage, délipidation, extraction des protéines
2. Analyse quantitative et qualitative



Gel filtration (*Superdex 75*)

Cruciferin (CRU)

Napin (NAP)

Lipid Transfer Protein (LTP)

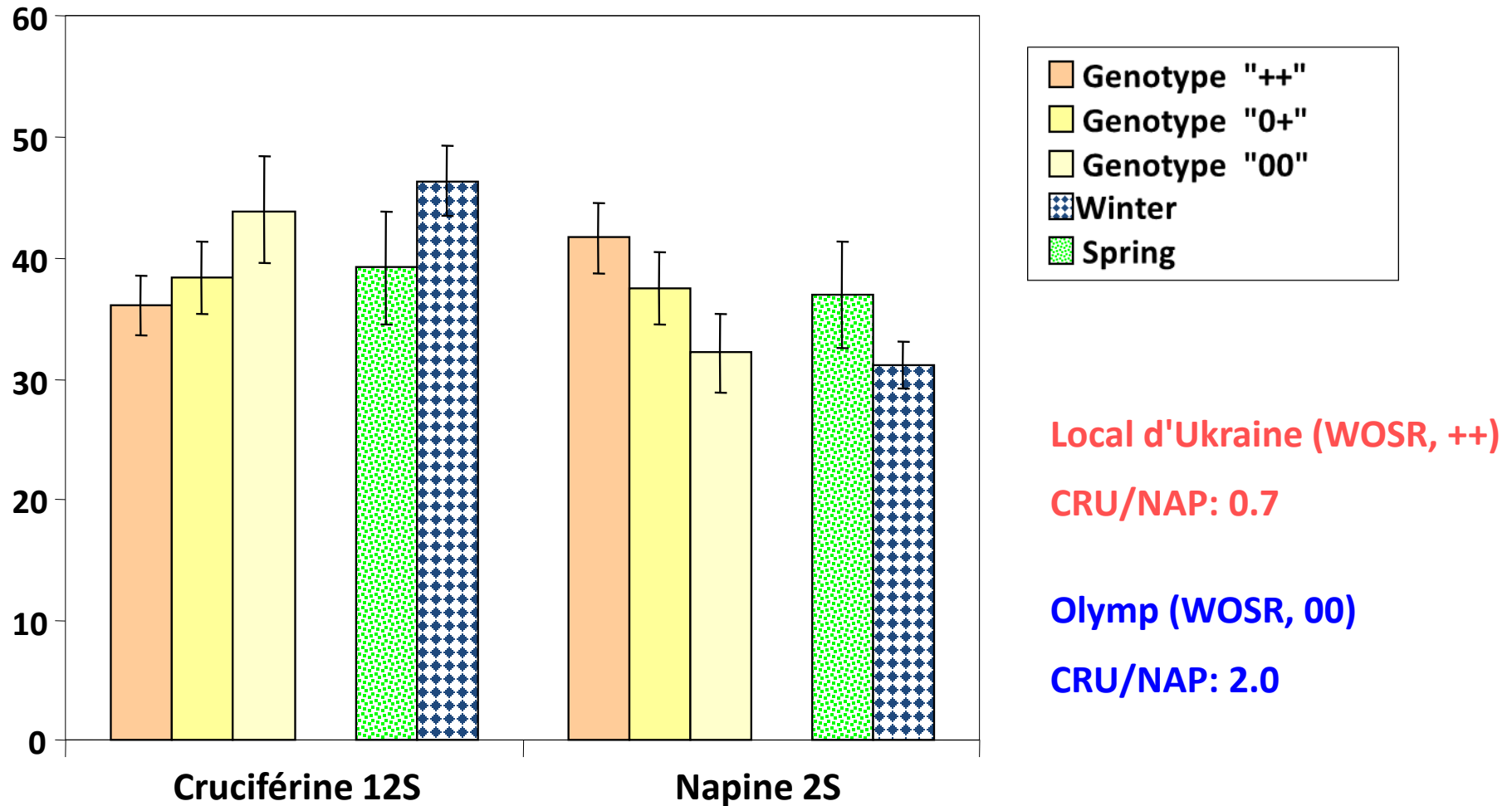
Proportions
relatives

Variabilité de la composition en protéines de réserve

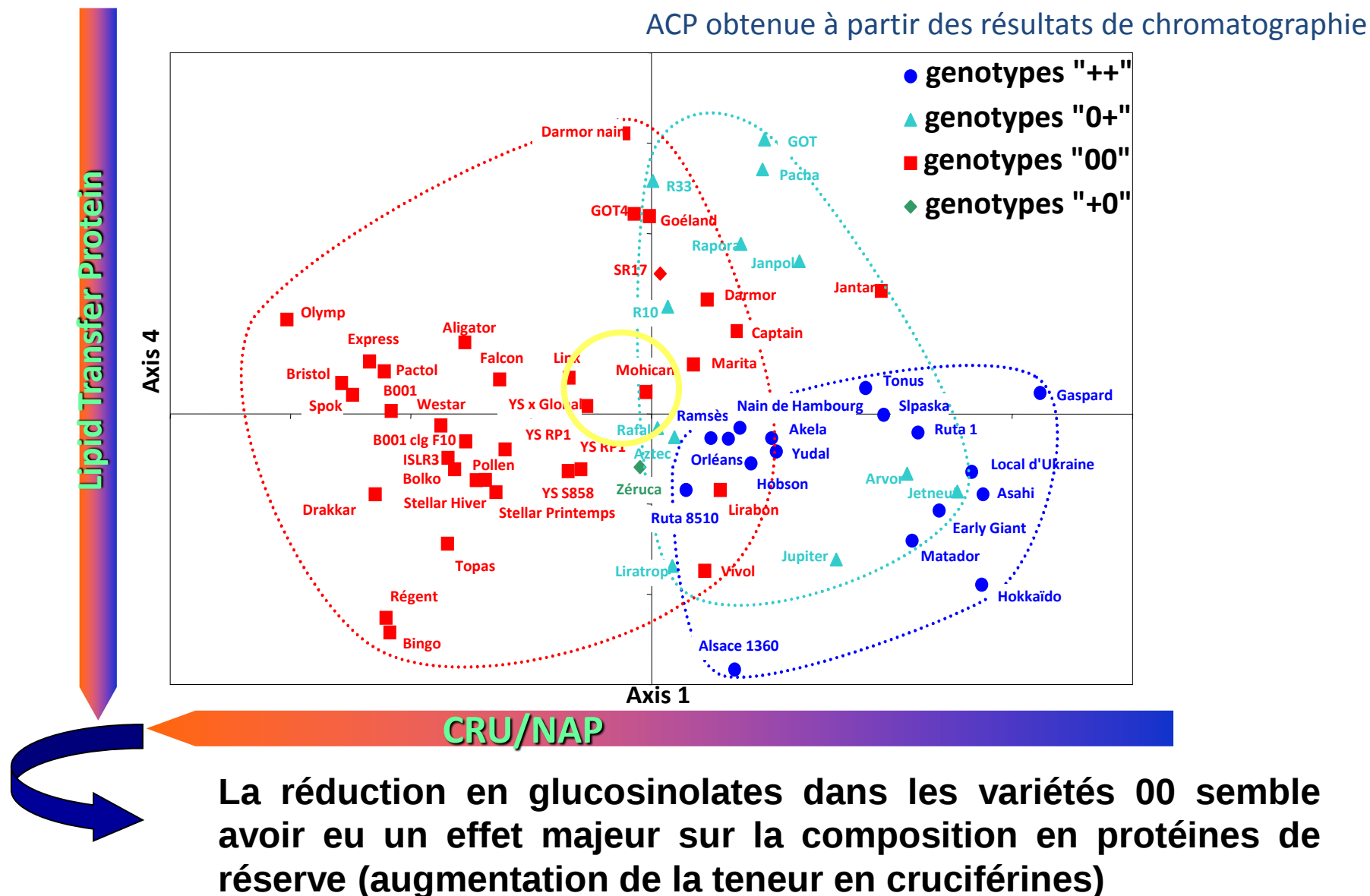
- **Etude variétale de la composition en 12S/2S chez le colza (thèse C. Malabat, 2002)**
 - 65 accessions de colza oléagineux
 - 17 WOSR ++, 12 WOSR 0+, 1 WOSR +0, 23 WOSR 00, 12 SOSR 00 dont 4 YS

- **Résultats majeurs**
 - Le taux de protéines dans les extraits varie de 32 – 40%
 - Les variétés 00 ont généralement :
 - une plus faible teneur en protéines totales
 - une plus forte proportion de cruciférines
 - Les 12S et 2S représentent toujours 75-80% des protéines de totales de la graine, ce qui suggère l'existence de mécanisme(s) de régulation

Variabilité de la composition en protéines de réserve



Variabilité de la composition en protéines de réserve



Variabilité de la composition en protéines de réserve

- **Contrôle génétique de l'accumulation de 12S et 2S** (Schatzki, Ecke, Becker, Möllers 2014)
 - Population Express (00) × R53 (++) comprenant 229 HD
 - Extraction simplifiée et analyse par électrophorèse en conditions dénaturantes (SDS-PAGE)
 - Détection et cartographie de QTL (12S, 2S, 12S/2S)
- **Résultats majeurs**
 - Corrélation négative entre 12S et 2S; 12S/2S et GSL (-0.81)
 - 3 QTL 2S (expliquent 47% de la variance phénotypique), 2 QTL 12S (35%)
 - Co-localisation de QTL sur C9 pour 12S, 2S, 12S/2S, GSL (+ O, Pr)
- **Impact des conditions environnementales**
 - Une limitation des apports soufrés induit une réduction de la teneur en napines partiellement compensée par des températures élevées (Brunel-Muguet S. et al. submitted)

Impact de la composition protéique sur les apports nutritionnels

■ Composition en acides aminés selon le rapport 12S/2S

	CRU ¹ NAP ² g AA / 100g prot.		Soja ³	Blé ⁴	Cru/Nap 2 0.5		~ colza 00 (Olymp)	~ colza ++ (Local d'Ukraine)
Met	1.84	2.06	1.10	2.11	1.91	1.98		
Cys	1.07	6.69	2.30	2.24	2.94	4.81		
Lys	3.45	9.08	6.75	2.52	5.26	7.17		
Trp	1.18	1.41	1.60	1.32	1.25	1.33		

⇒ L'équivalence « soja » dépend du rapport 12S/2S et donc de la variété
⇒ Impact pour la nutrition animale

1. Schwenke et al. *Nahrung*, 1981,25,271

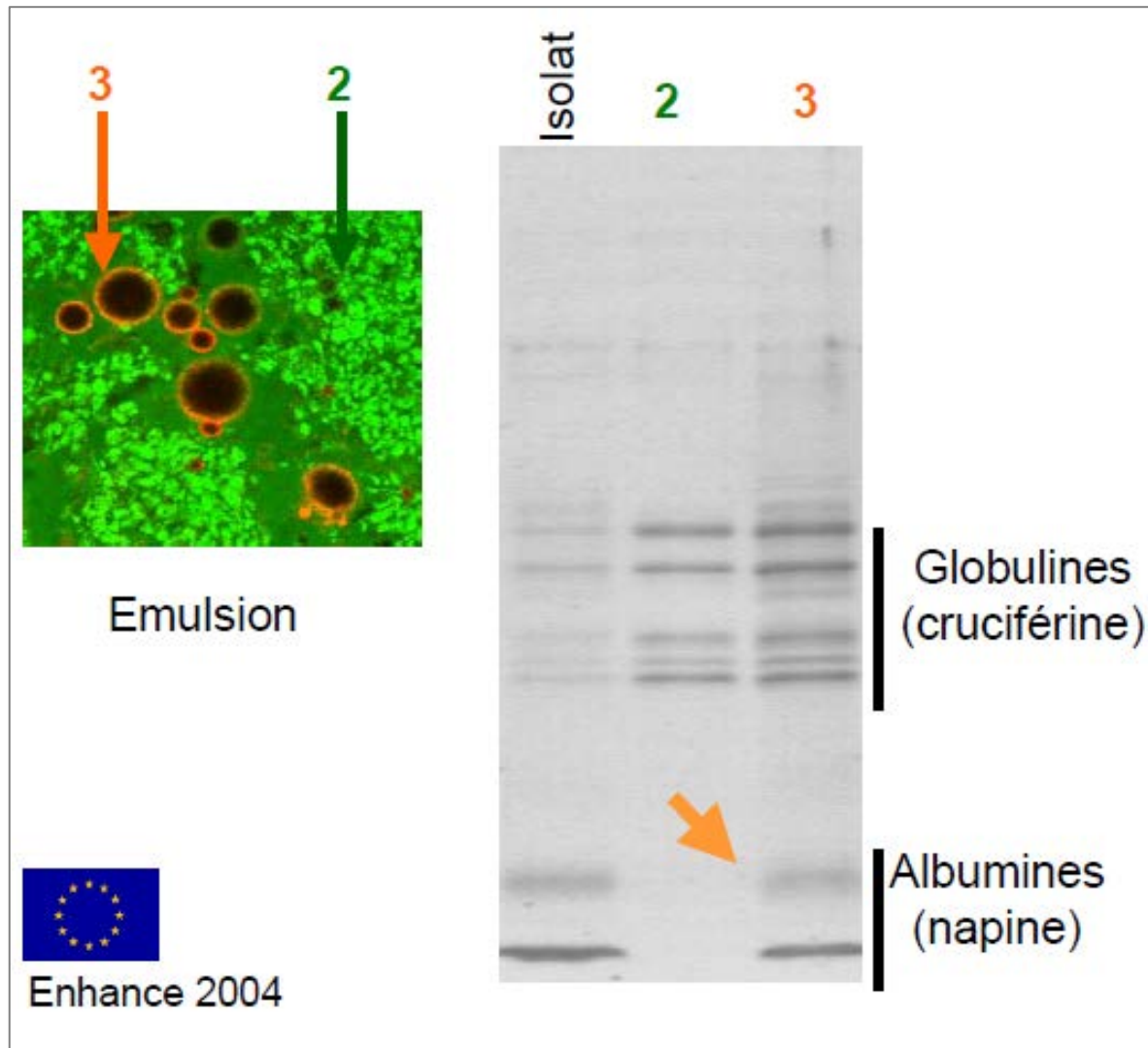
2. Malabat et al. 2002 (2SS3 isoform)

3. Petzke et al. *Pl. Foods Hum. Nutr.*, 1997,50,151

4. Lazstity, 1984

Impact de la composition protéique sur les fonctionnalités

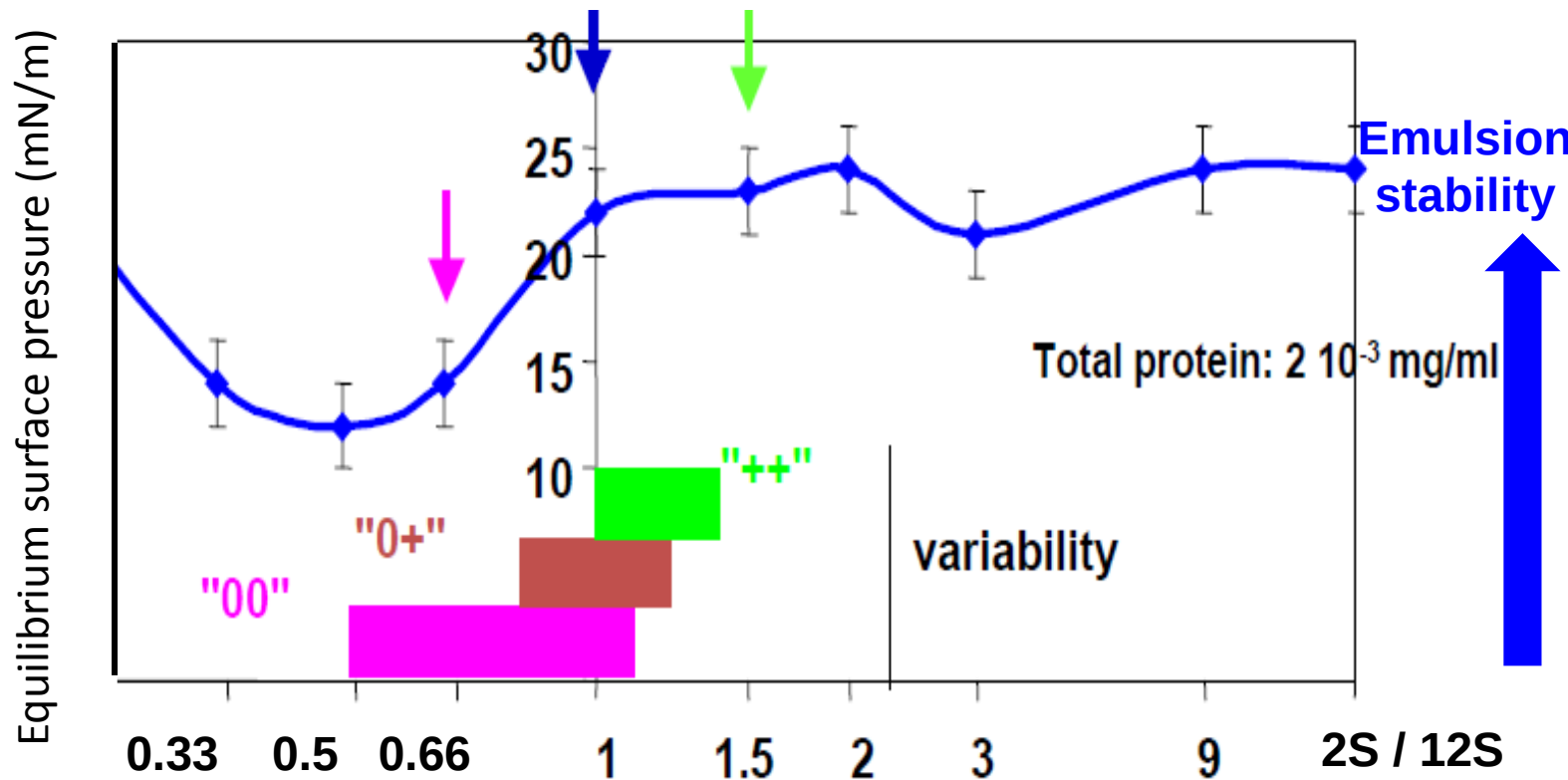
- Propriétés émulsifiantes des napines



Impact de la composition protéique sur les fonctionnalités

■ Propriétés tensio-actives des napines

- Tension de surface à l'interface air/eau selon le rapport 2S / 12S



- Augmentation de la stabilité des émulsions avec des extraits enrichis en napines

Bilan

- Les protéines de réserve sont majoritaires dans la graine (75-80 %)
- Qualité nutritionnelle satisfaisante des protéines de colza
 - Impact fort et souvent négatif des procédés (perte de solubilité des protéines)
 - Impact des facteurs anti-nutritionnels (polyphénols, phytates) sur la solubilité, digestibilité des protéines de colza → intérêt des graines jaunes
 - Utilisation en alimentation humaine au Canada : statut FDA en 2008 pour concentré de colza (Burcon)
- Fonctionnalités des protéines de colza (napines)
 - Propriétés émulsifiantes et moussantes seules ou en interactions avec des polysaccharides (pectines)
- Les variétés récentes cultivées (00) sont plus riches en 12S
- Mécanisme d'équilibre entre les teneurs de 12S et 2S
- La composition en protéines de réserve montre une grande variabilité qui pourrait être exploitée pour améliorer la qualité des tourteaux et des produits dérivés aux niveaux nutritionnel et/ou fonctionnel

Perspectives

- Développer des méthodes plus haut débit pour analyser la composition protéique (ex. immunochimie, NIRS ...)
- Confirmer la variabilité 12S/2S sur une population qui maximise la diversité génétique du colza
- Identifier les déterminants génétiques et moléculaires qui contrôlent la teneur et la composition en protéines de réserve
- Confirmer les propriétés fonctionnelles des protéines de colza à partir d'extraits protéiques issus de lots de graines (utilisation d'accessions présentant des compositions contrastées)
- « Réactivation » des collaborations entre généticiens et biochimistes

Merci de votre attention

22^{ème} carrefour de la sélection du colza – 21 & 22 Janvier 2015 – Saint-Malo

