

Remplissage en azote des siliques et des graines de colza (*Brassica napus* L.) : estimation des flux par marquage isotopique et caractérisation des protéines impliquées dans la mise en réserve

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 10, Numéro 3, 226-31, Mai 2003, Colza : enjeux et nouvelles synergies de la recherche, FONDAMENTAL

Auteur(s) : Laurence ROSSATO, Philippe LAINE, A. OURRY, UMR INRA\UCBN 950, Physiologie et Biochimie végétales, Institut de Recherche en Biologie Appliquée, Esplanade de la Paix, Université de Caen, 14032 Caen Cedex, France.

Author(s) : Laurence ROSSATO, Philippe LAINE, A. OURRY

Résumé : Le colza (*Brassica napus* L.) est une culture connue pour présenter des capacités élevées d'absorption du nitrate, d'où son qualificatif de culture piège à nitrate. Cependant, la quantité d'azote présent dans les tissus récoltés est généralement faible en raison d'une part, d'une faible efficacité de remobilisation de l'N foliaire, et d'autre part, de la chute de feuilles sénescentes dont la teneur en azote peut rester élevée (ce qui n'est pas sans conséquence sur le bilan environnemental de cette culture). La mise en réserve transitoire de cet azote par la plante (préalablement à la chute des feuilles) pourrait améliorer l'efficacité de remobilisation de l'N des feuilles vers les graines. Il a par exemple été montré chez les espèces ligneuses et herbacées que l'N peut être stocké de façon transitoire sous forme de protéines de réserve des organes végétatifs (VSP). Ces VSP peuvent ensuite être hydrolysées et constituent alors une source d'N non négligeable pour les organes puits en croissance. Les objectifs de ce travail ont donc été de quantifier les flux d'azote au sein de la plante grâce à un marquage ¹⁵N, d'identifier les tissus « source » et de mettre en évidence l'existence d'hypothétiques protéines de réserve (VSP).

Summary : Oilseed rape (*Brassica napus* L.) is known for its high capacity to absorb mineral N from the soil profile and therefore can be grown as a catch crop to reduce nitrate leaching from arable cropping systems. However, the N harvest index of this crop is usually low, due in part to a low ability to remobilize N from leaves and to the fall of N-rich leaves which allows a significant amount of N to return to the environment. Our hypothesis of work was that the efficiency with which leaf N is mobilized to the seeds might be improved by increasing N storage within the plant through alternative sinks. It has, for example, been shown in both herbaceous and woody species that N can be transiently stored as vegetative storage proteins (VSP), which can be hydrolyzed to supply developing sinks with N. The objectives of this study were first, to quantify and distinguish by ¹⁵N labelling between the origin of the N used for pod filling, namely from uptake or from vegetative tissue mobilization, secondly to describe the kinetic behaviour of different source tissues and, lastly, to identify some proteins that might be involved in N storage.

Mots-clés : *Brassica napus* L., recyclage interne d'N, réserves azotées, absorption de NO₃⁻, VSP

Keywords : *Brassica napus* L., nitrogen mobilization, nitrogen storage, nitrate uptake, VSP

ARTICLE

Auteur(s) : Laurence ROSSATO¹, Philippe LAINE¹, A. OURRY¹

¹ UMR INRA/UCBN 950, *Physiologie et Biochimie végétales, Institut de Recherche en Biologie Appliquée, Esplanade de la Paix, Université de Caen, 14032 Caen Cedex, France*

Reçu le 17/12/02

Accepté le 25/02/03

Le colza (*Brassica napus* L.) est une culture connue pour absorber à l'automne des quantités d'azote largement supérieures à d'autres cultures, quand celui-ci est disponible. Cette caractéristique en fait une culture potentiellement épuratrice de l'excédent nitrique du sol. Cependant, l'azote absorbé (et stocké) n'est pas forcément valorisé par la culture en terme de rendement ni de quantité protéique des graines. Cette dernière reste faible compte tenu de ce qui pourrait potentiellement être transféré dans les graines. Ainsi, une part importante de l'azote précédemment absorbé et assimilé n'est pas valorisée pour le remplissage des tissus reproducteurs en raison de l'abscission précoce des feuilles sénescentes dont la teneur en N peut rester élevée [1]. Cette perte d'azote *via* la chute des feuilles mortes (encore très riches en azote) n'est pas sans conséquence sur le bilan environnemental d'une culture de colza. Si la plante pouvait réaliser une mise en réserve transitoire de cet azote au lieu de le perdre par la chute des feuilles, cela pourrait contribuer à réduire les risques de retour vers l'environnement de cet élément tout en étant valorisée postérieurement en terme d'augmentation de la quantité d'azote dans les tissus récoltés. La compréhension des mécanismes qui empêchent cette mise en réserve d'azote pourrait constituer une piste acceptable pour augmenter l'efficacité d'utilisation de l'azote absorbé. L'objectif général de ce travail vise donc à obtenir une meilleure connaissance de la physiologie du colza d'hiver, en particulier en ce qui concerne la dynamique d'accumulation et de mobilisation des réserves azotées et leur implication dans le remplissage des siliques et des graines. Deux aspects ont été pris en compte : i) qualitatif, par la détermination de la nature des réserves et des organes de stockage, ainsi que la détermination des stades phénologiques importants dans la gestion des réserves azotées, ii) quantitatif, par l'estimation de la contribution de ces réserves au remplissage des siliques et des graines.

Résultats expérimentaux

Contribution de l'azote absorbé et remobilisé à la croissance et au développement du colza d'hiver (Brassica napus L. var Capitot)

L'utilisation d'un marquage continu à l'azote 15 a permis de quantifier la contribution de l'azote absorbé et remobilisé à la croissance et au développement du colza, du stade C1 (montaison) au stade G5 (graines colorées). Nos résultats ont révélé l'existence de deux phases distinctes : i) une phase d'absorption importante de l'azote minéral qui se poursuit jusqu'au stade G1 (début de la formation des siliques). Cette phase se caractérise par une forte absorption d'azote (*figure 1*) et par une remobilisation de l'azote des feuilles sénescentes principalement au profit de la hampe (comprenant la tige principale et celle des ramifications), des inflorescences et du pivot, qui constituent par ordre décroissant les organes puits les plus importants pour l'azote mobilisé (*figure 2A*). ii) une phase de mobilisation de l'azote accumulé dans les tissus végétatifs de la plante, à l'exception des racines secondaires, pour permettre à partir du stade G1 (début de la formation des

siliques) le remplissage des siliques et des graines (*figure 2B*), à une période où la plante a cessé toute absorption d'azote exogène (*figure 1*). Ainsi, nos résultats ont montré que le remplissage en azote des siliques et des graines, alors que l'absorption de NO_3^- a cessé, fait intervenir d'une part les feuilles comme réservoir essentiel, mais que le rôle « tampon » joué par la hampe florale et le pivot est essentiel face à l'asynchronie existant entre la mobilisation de l'azote foliaire et son transfert indirect vers les tissus reproducteurs. Il faut noter que d'autres auteurs [2] ont également décrit un arrêt de l'absorption d'azote durant la phase de remplissage des siliques et montré l'importance de la contribution des feuilles, des tiges et des parties souterraines au remplissage des siliques et des graines. Ces auteurs expliquaient l'arrêt de l'absorption au moment du remplissage des siliques uniquement par les conditions particulièrement sèches à cette période. Toutefois, nos résultats obtenus à partir de plantes cultivées en conditions d'azote non limitant et en l'absence de stress hydrique suggèrent que l'arrêt de l'absorption observé au stade G1 (début de la formation des siliques) ne serait pas lié à l'absence d'azote dans le milieu ou encore à un autre effet indirect d'un facteur de l'environnement (sécheresse par exemple). Il serait probablement une résultante du programme ontogénétique. Ainsi, des résultats obtenus au laboratoire semblent indiquer que l'activité des systèmes de transport du nitrate (HATS et LATS) est inhibée par le méthyl-jasmonate, hormone probablement synthétisée au moment de la floraison par les inflorescences [3]. Nous avons pu par ailleurs identifier les principales transitions entre le comportement puits et source que peuvent avoir certains tissus au cours du cycle de culture (*figure 3*). Ceci nous a permis en particulier d'illustrer l'effet « tampon » joué par le pivot et la hampe florale. Avant l'apparition des inflorescences, alors que l'absorption de NO_3^- reste importante, les pivots, les racines secondaires et les feuilles constituent des puits importants pour l'azote minéral nouvellement absorbé. Toutefois, la population de feuilles étant hétérogène, les plus âgées peuvent présenter un comportement d'organe source. Celles-ci contribueront d'ailleurs largement à fournir de l'azote au pivot et à la hampe lors de son développement progressif. La floraison marque l'arrêt de l'absorption et en conséquence, les feuilles entrant en sénescence fournissent une source importante d'assimilats azotés. Selon l'importance du développement des tissus reproducteurs, l'azote des feuilles sera plus ou moins largement affecté vers la hampe et le pivot pour une mise en réserve transitoire. Ces réserves seront alors massivement utilisées pour le remplissage des siliques alors que l'excision des feuilles intervient bien avant le stade G5 (graines colorées). L'estimation de la force puits ou source qui peut caractériser transitoirement chaque organe au cours du cycle (*figure 3*) a par ailleurs permis de classer ces organes selon leur capacité respective à importer ou exporter de l'azote. Ainsi, les résultats obtenus révèlent qu'avant l'apparition des inflorescences, les feuilles et le pivot constituent par ordre décroissant les organes puits les plus importants pour l'azote minéral absorbé. En effet, la force puits des feuilles ($+0,62 \text{ mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$) est alors 1,5 fois plus élevée que celle du pivot ($+0,41 \text{ mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$). Toutefois, au cours du développement de l'appareil reproducteur, la force source des feuilles les plus âgées ($-0,83 \text{ mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$) est plus importante que la force puits des feuilles les plus jeunes ($+0,62 \text{ mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$) ce qui permet d'attribuer à l'ensemble de la population de feuilles un comportement net de source. Ainsi, l'azote absorbé ou provenant des feuilles sénescentes est progressivement détourné au profit des inflorescences, de la hampe florale, et du pivot qui constituent par ordre de priorité les organes puits les plus puissants vis-à-vis de l'azote, si l'on en juge par la comparaison de leur force puits respective ($+1,85$, $+0,64$ et $+0,41 \text{ mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$, *figure 3*). A la fin de la floraison, la force puits des siliques est élevée ($+1,32 \text{ mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$) et les feuilles constituent l'organe source le plus puissant pour ce remplissage ($-0,89 \text{ mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$). Toutefois, la contribution du pivot et de la hampe est

également essentielle, la force source de ces organes étant équivalente et de l'ordre de $-0,35 \text{ mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$.

L'ensemble de ces résultats permet de dresser une proposition de modèle conceptuel concernant la répartition des flux d'azote au sein du colza au cours de son développement, ce qui permet d'identifier les phases critiques, les paramètres et de proposer quelques boucles de régulation. A partir de la montaison (stade C1), la répartition des quantités d'azote absorbé au sein des différents organes sera donnée par le modèle d'absorption existant au laboratoire (Malagoli *et al.*, 2002 ; en cours de rédaction). La quantité d'azote foliaire non remobilisable restitué à l'environnement est définie par la teneur en azote et la biomasse sèche des feuilles mortes au stade G1 (fin de la floraison). La quantité d'azote foliaire remobilisable correspond à la différence entre la quantité d'azote foliaire au stade C1 et la quantité d'azote non remobilisable. En fin de floraison, l'azote remobilisable pour le remplissage des siliques est stocké dans les organes sources (feuilles, hampe et pivot). La quantité d'azote total est définie par la teneur en azote et la biomasse sèche des organes sources au stade G1 (fin de la floraison). La quantité d'azote non remobilisable sera déterminée pour la hampe, le pivot et les feuilles respectivement à partir de la teneur en azote et la biomasse sèche de la hampe, du pivot et des feuilles mortes au stade G5 (graines colorées). La quantité d'azote remobilisable pour le remplissage correspond à la différence entre la quantité d'azote total en fin de floraison et la quantité d'azote non remobilisable. Ainsi, ce modèle est basé sur différentes hypothèses. La remobilisation de l'azote des feuilles serait contrôlée par le rythme de développement de la hampe florale et du pivot jusqu'au stade G1 (fin de la floraison) (contrôle par la force des puits). Toutefois, on pourrait émettre l'hypothèse que la vitesse de remplissage des compartiments « tampon » (hampe et pivot) pourrait être limitée par la quantité d'azote foliaire remobilisable (limitation par la source). De la même façon, la remobilisation de l'azote des feuilles, de la hampe florale et du pivot à partir du stade G1 serait sous le contrôle du rythme de développement des siliques (contrôle par la force des puits). Si l'on se base sur les travaux réalisés chez le pois [4], la vitesse de remplissage des siliques serait quant à elle limitée par la quantité d'azote disponible (limitation par les sources).

Identification et caractérisation d'une protéine de réserve (VSP) chez le colza d'hiver (Brassica napus L. var Capitol)

La combinaison de techniques isotopiques (marquage ^{15}N) et électrophorétiques a permis de montrer qu'une mise en réserve transitoire d'azote sous forme protéique intervient chez le colza d'hiver, du stade C1 (montaison) au stade G1 (début de la formation des siliques). Une protéine de 23 kDa semble impliquée dans ce stockage transitoire d'azote. Elle s'accumule principalement au sein du pivot jusqu'à la fin de la floraison (stade G1) (*figure 4*) et sa synthèse semble en partie favorisée par un recyclage interne d'azote résultant d'un processus de sénescence foliaire (*figure 2A*). Cette protéine est glycosylée et présente deux isoformes de $p_i = 5,4$ et $5,5$ ayant une séquence N-terminale identique. Ce séquençage partiel a permis d'obtenir des anticorps polyclonaux dirigés contre la protéine de 23 kDa à partir d'un peptide de synthèse de même séquence. L'immunolocalisation tissulaire a révélé que la protéine est accumulée uniquement au niveau des cellules du parenchyme cortical périphérique du pivot. Elle est localisée dans les vacuoles des cellules situées à proximité des vaisseaux conducteurs du phloème (*figure 5*). En outre, une protéine homologue à la 23 kDa a pu être détectée dans les feuilles et les inflorescences, mais le potentiel d'expression de cette protéine existe aussi dans la hampe florale. La protéine de 23 kDa est remobilisée lors du développement et du remplissage des siliques, ce qui correspond au stade où le pivot passe de l'état de puits à l'état de

source, si l'on en juge par l'évolution de son contenu en azote. Ainsi, les produits d'hydrolyse de cette protéine pourraient donc contribuer au remplissage en azote des graines à une période où l'absorption d'azote est réduite (*figure 1*). L'application de méthyl-jasmonate ou d'acide abscissique stimule la synthèse de la protéine de 23 kDa dans le pivot de colza. Nous avons donc choisi d'approfondir le rôle de signal joué par le méthyl-jasmonate (constituant odoriférant et volatil des fleurs) sur l'absorption, les processus de sénescence (transpiration, photosynthèse, teneur en chlorophylles) et sur l'induction de la synthèse de la protéine de 23 kDa. Les résultats de ce travail complémentaire confirment de façon surprenante que l'accumulation de cette protéine de réserve n'est pas liée à l'absorption, mais au recyclage préférentiel de l'azote endogène des feuilles sénescentes. L'absorption d'azote est en effet très rapidement (en moins de 6 heures) inhibée par le méthyl-jasmonate (*figure 6*). Ainsi, comme l'atteste déjà la littérature [5, 6], le méthyl-jasmonate déclencherait la sénescence des feuilles et la remobilisation des deux sous-unités de la RubisCO. L'azote remobilisé à partir des feuilles sénescentes favoriserait alors la synthèse de la protéine de 23 kDa dans le pivot, et celle d'une protéine homologue dans la hampe, les inflorescences et les feuilles. Le poids moléculaire de cette protéine est de 23 kDa dans la hampe et de 24 kDa dans les inflorescences et les feuilles. Des résultats similaires ont été obtenus chez d'autres plantes annuelles. Ainsi, chez le soja, le méthyl-jasmonate, composé associé à la sénescence des feuilles, est capable d'induire la synthèse des VSP (Vegetative Storage Protein) lorsqu'il est libéré dans l'atmosphère [7]. Chez le colza, la protéine de 23 kDa est totalement remobilisée lors du développement de l'appareil reproducteur. Cette protéine pourrait donc jouer le rôle de molécule azotée « tampon » entre l'hydrolyse de la RubisCO et la libération des acides aminés pour le remplissage des siliques. Sa remobilisation permettrait le remplissage en azote des graines, à une période où l'absorption est réduite *via* le méthyl-jasmonate produit par les inflorescences. Toutefois, le rôle de signal naturel capable d'induire la sénescence foliaire et la synthèse de la protéine de 23 kDa, proposé pour le méthyl-jasmonate est sujet à réflexion. Cette hypothèse pourrait être fondée si l'on considère que le méthyl-jasmonate est un constituant odoriférant et volatil des fleurs. Ainsi, lors de la floraison du colza en conditions de plein champ, la concentration de méthyl-jasmonate produit par les inflorescences d'un peuplement dense de colza pourrait être suffisante pour augmenter et accélérer la sénescence foliaire et la synthèse de la protéine de 23 kDa. Il pourrait s'agir d'un véritable signal permettant aux plantes les plus retardées dans leur développement d'achever leur cycle de reproduction. Ceci pourrait expliquer par exemple pourquoi l'accumulation de la protéine de 23 kDa est toujours plus importante en conditions de plein champ. Cependant, certains auteurs restent sceptiques quant au rôle éventuel de signal naturel joué par le méthyl-jasmonate libéré dans l'atmosphère lors de la floraison. Ainsi, selon Staswick [7], si le méthyl-jasmonate est capable d'induire la synthèse des VSP chez le soja à des concentrations atmosphériques atteignant 40 à 80 μM et parfois moins [8], il ne pourrait pas, en conditions de plein champ, s'accumuler en concentration suffisante pour provoquer une réponse au sein des plantes. La mise en mouvement des masses d'air préviendrait en effet une telle accumulation [7]. Afin de vérifier cette hypothèse, une collaboration avec le Dr. I. Baldwin du Max Planck Institute for Chemical Ecology (Allemagne) est en cours pour quantifier la volatilisation de cette hormone au champ au sein du couvert végétal et également sur organe isolé au laboratoire.

Quels arguments nos résultats fournissent-ils pour attribuer à la protéine de 23 kDa un rôle de VSP ?

Si l'on se réfère aux critères que Wittenbach [9] et Staswick [10] ont proposé, un certain nombre d'éléments vont dans ce sens : i) Le niveau d'accumulation de la protéine de 23 kDa est potentiellement élevé puisqu'elle constitue la protéine majeure du pivot à la fin de la floraison (stade G1) (*figure 4*). Cette protéine est également détectée dans la hampe, les feuilles et les inflorescences. ii) Le cycle accumulation/mobilisation de cette protéine coïncide avec les flux d'azote tels que nous les avons évalués par marquage isotopique. iii) Enfin, la protéine de 23 kDa est localisée à proximité du phloème. Cette localisation à proximité des vaisseaux conducteurs pourrait, comme chez le soja [10], faciliter par la suite sa remobilisation. Toutes ces caractéristiques vont dans le sens d'une fonctionnalité en tant que VSP. Par ailleurs, il existe de nombreuses analogies avec les caractéristiques des VSP du soja ou d'autres espèces : i) Comme les VSP identifiées chez le soja [11, 12, 13] ou chez l'arabette des dames [14], la synthèse de la protéine de 23 kDa est induite par un apport externe de méthyl-jasmonate. ii) Comme la plupart des VSP étudiées notamment chez les ligneux [15] et chez la luzerne [16], les isoformes de cette protéine sont glycosylées. Le rôle de cette glycosylation serait de favoriser l'adressage de ces protéines vers des compartiments cellulaires de stockage comme la vacuole [17]. iii) L'accumulation de la protéine de 23 kDa est, comme chez le soja, maximale au moment de la floraison. Cette protéine étant également remobilisée lors du développement des siliques, elle pourrait potentiellement jouer un même rôle fonctionnel dans le remplissage en azote des graines.

Conclusion

L'analyse des flux d'azote au sein de la plante a montré que bien que significative, la contribution du pivot à la fourniture d'azote pour le remplissage des siliques, n'était pas de même ampleur que celle assurée par les feuilles. On pourrait donc estimer, un peu rapidement, que la VSP putative de 23 kDa du pivot ne présente agronomiquement qu'un intérêt restreint. Cependant, il est admis que le colza présente une forte capacité d'absorption racinaire du nitrate, et paradoxalement une efficacité relativement faible pour assurer le transfert de cet élément vers les tissus récoltés. On pourrait penser que la sénescence foliaire intervient trop précocement par rapport aux besoins en azote des tissus reproducteurs. La hampe et le pivot pourraient alors jouer une fonction de stockage transitoire d'azote entre cette sénescence foliaire précoce et le remplissage des graines. Les mécanismes impliqués, et leur éventuelle manipulation (visant à améliorer la remobilisation de l'azote des feuilles avant leur chute et donc favoriser le remplissage des graines) pourrait constituer une piste agronomiquement acceptable pour augmenter la quantité d'azote dans les tissus récoltés (Nitrogen Harvest Index pour les anglo-saxons).

RÉFÉRENCES

1. Dejoux JF, Recous S, Meynard JM, Trinsoutrot I, Leterme P. The fate of nitrogen from winter-frozen rapeseed leaves : mineralization, fluxes to the environment and uptake by rapeseed crop in spring. *Plant Soil* 2000 ; 218 : 257-72.
2. Merrien A, Palleau JP, Maisonneuve C. Besoins en éléments minéraux du colza cultivé en France. In *Physiologie et élaboration du rendement du colza*, CETIOM-INRA, Paris, 1988 : pp 34-46.

- 3.** McEwan M, MacFarlane Smith WH. Identification of volatile organic compounds emitted in the field by oilseed rape (*Brassica napus* L. spp. *oleifera*) over the growing season. *Clinical and Experimental Allergy* 1998 ; 28 : 332-8.
- 4.** Lhuillier-Soundele A. Analyse de l'élaboration de la teneur en azote des graines chez le pois (*Pisum sativum* L.). Modélisation de l'azote vers les graines en remplissage. Thèse de Doctorat d'Université, INA P-G, Dijon, 1999 : 117p.
- 5.** Sembdner G, Parthier B. The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1993 ; 44 : 569-89.
- 6.** Creelman RA, Mullet JE. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1997 ; 48 : 355-81.
- 7.** Staswick PE. Jasmonate, genes, and fragrant signals. *Plant Physiol* 1992 ; 99 : 804-7.
- 8.** Falkenstein E, Groth B, Mithofer A, Weiler EW. Methyl jasmonate and α -linolenic acid are potent inducers of tendril coiling. *Planta* 1991 ; 185 : 316-22.
- 9.** Wittenbach VA. Purification and characterization of a soybean leaf storage glycoprotein. *Plant Physiol* 1983 ; 73 : 125-9.
- 10.** Staswick PE. Storage proteins of vegetative plant tissues. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol* 1994 ; 45 : 303-22.
- 11.** Anderson JM. Jasmonic acid-dependent increases in the level of specific polypeptides in soybean suspension cultures and seedlings. *J. Plant Growth Regul* 1988 ; 7 : 203-11.
- 12.** Mason HS, Mullet JE. Expression of two soybean vegetative storage protein genes during development and in response to water deficit, wounding and jasmonic acid. *Plant Cell* 1990 ; 2 : 569-79.
- 13.** Staswick PE. Novel regulation of vegetative storage proteins genes. *The Plant Cell* 1990 ; 2 : 1-6.
- 14.** Berger S, Bell E, Sadka A, Mullet JE. *Arabidopsis thaliana Atvsp* is homologous to soybean *VspA* and *VspB*, genes encoding vegetative storage protein acid phosphatases, and is regulated similarly by methyl jasmonate, wounding, sugars, light, and phosphate. *Plant Mol Biol* 1995 ; 27 : 933-42.
- 15.** Stepien V, Sauter JJ, Martin F. Vegetative storage proteins in woody plants. *Plant Physiol Biochem* 1994 ; 32 : 185-92.
- 16.** Cunningham SM, Volenec JJ. Purification and characterization of vegetative storage proteins from alfalfa (*Medicago sativa* L.) taproots. *J Plant Physiol* 1996 ; 147 : 625-32.
- 17.** Mason HS, Guerrero FD, Boyer JS, Mullet JE. Proteins homologous to leaf glycoproteins are abundant in stems of dark-grown soybean seedlings. Analysis of proteins and cDNAs. *Plant Mol Biol* 1988 ; 11 : 845-56.

Illustrations

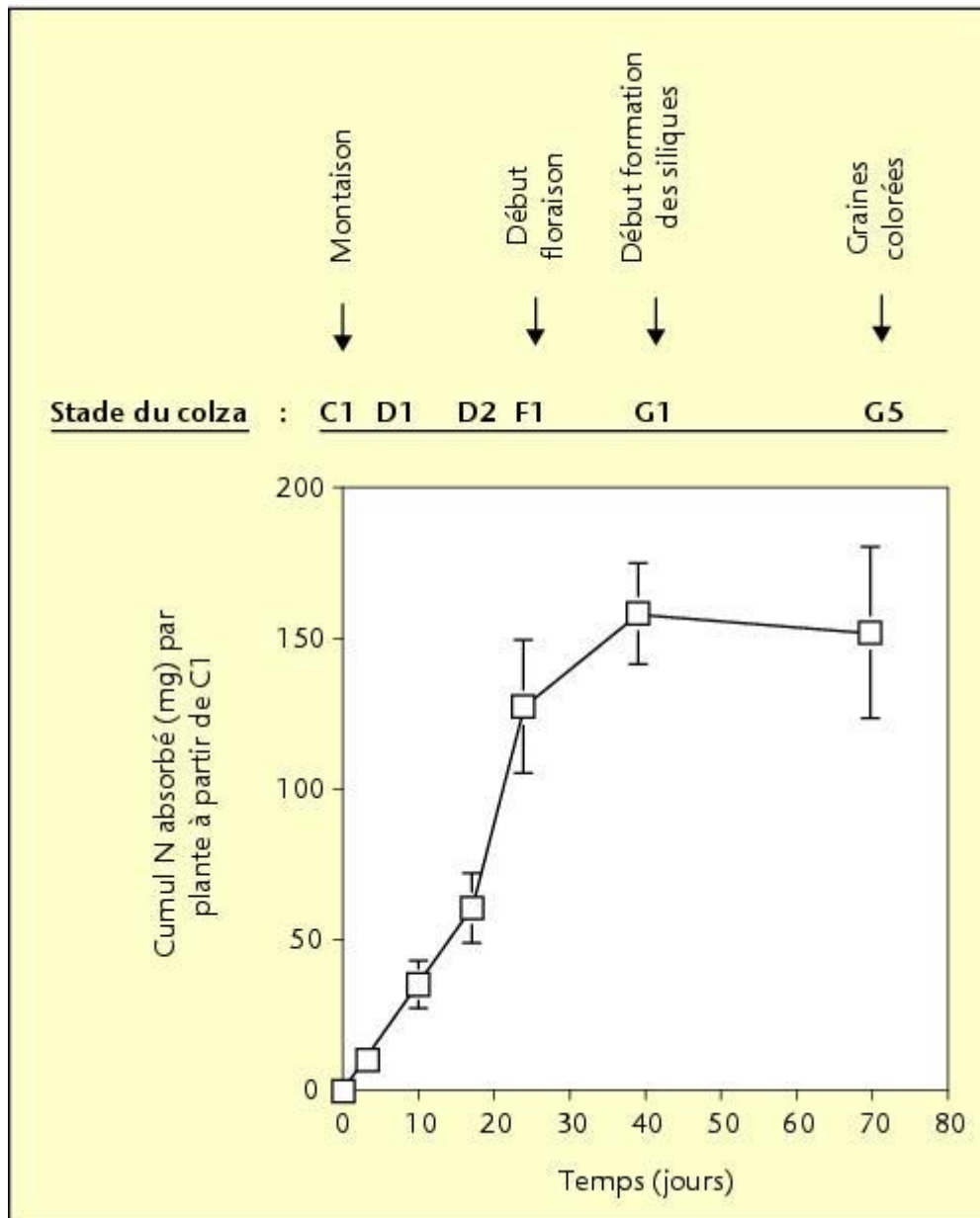


Figure 1. Evolution de l'absorption cumulée de l'azote (exprimée en mgN.plante^{-1}) estimée par marquage au $^{15}\text{NO}_3^-$ pendant 70 jours. Les barres verticales indiquent \pm l'écart-type de la moyenne pour $n = 6$, lorsqu'elles sont plus grandes que le symbole.

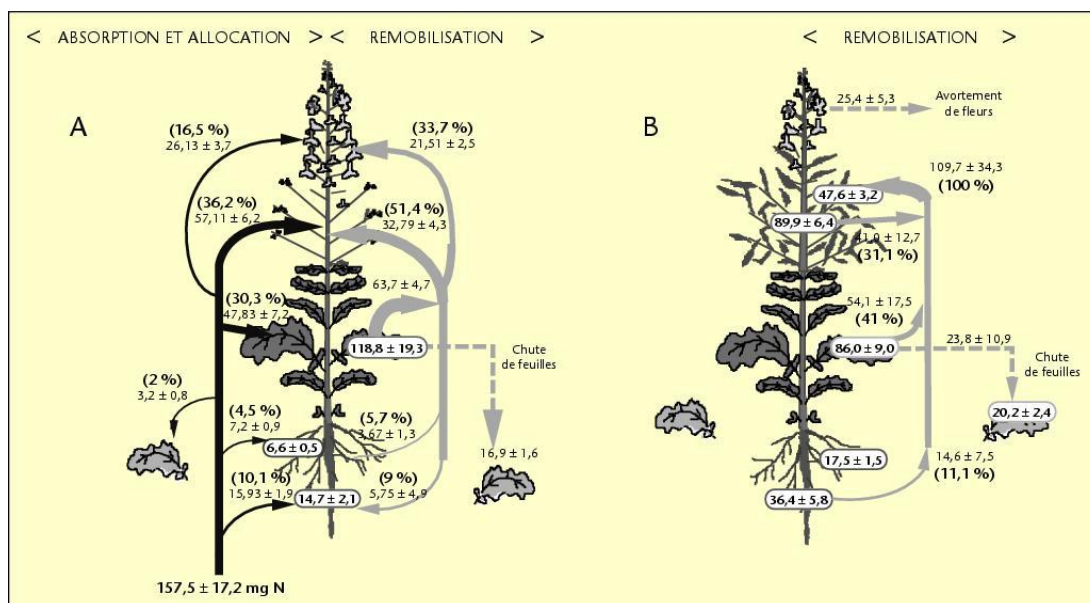


Figure 2 : A. Bilan des transferts d'N absorbé (flèches de gauche) et remobilisé (flèches de droite) en mgN·plante⁻¹ au sein de la plante entre les stades C1 (montaison) et G1 (début de la formation des siliques). Les chiffres entre parenthèses indiquent la répartition entre organes en % de l'azote absorbé (à gauche) ou en % de l'azote remobilisé à partir des feuilles vertes (à droite). La quantité totale d'azote présent au sein de chaque organe au début de l'expérimentation (stade C1) est donnée dans les boîtes. Chaque valeur correspond à la moyenne ± l'écart-type de la moyenne pour n = 6. **B :** Bilan des transferts d'N total (absorbé et remobilisé) en mgN·plante⁻¹ au sein de la plante entre les stades G1 (début de la formation des siliques) et G5 (graines colorées). Les chiffres entre parenthèses indiquent la contribution de chaque organe au remplissage en azote total des siliques et des graines. Le contenu initial en azote total de chaque organe au stade G1 est donnée dans les boîtes. Chaque valeur correspond à la moyenne ± l'écart-type de la moyenne pour n = 6.

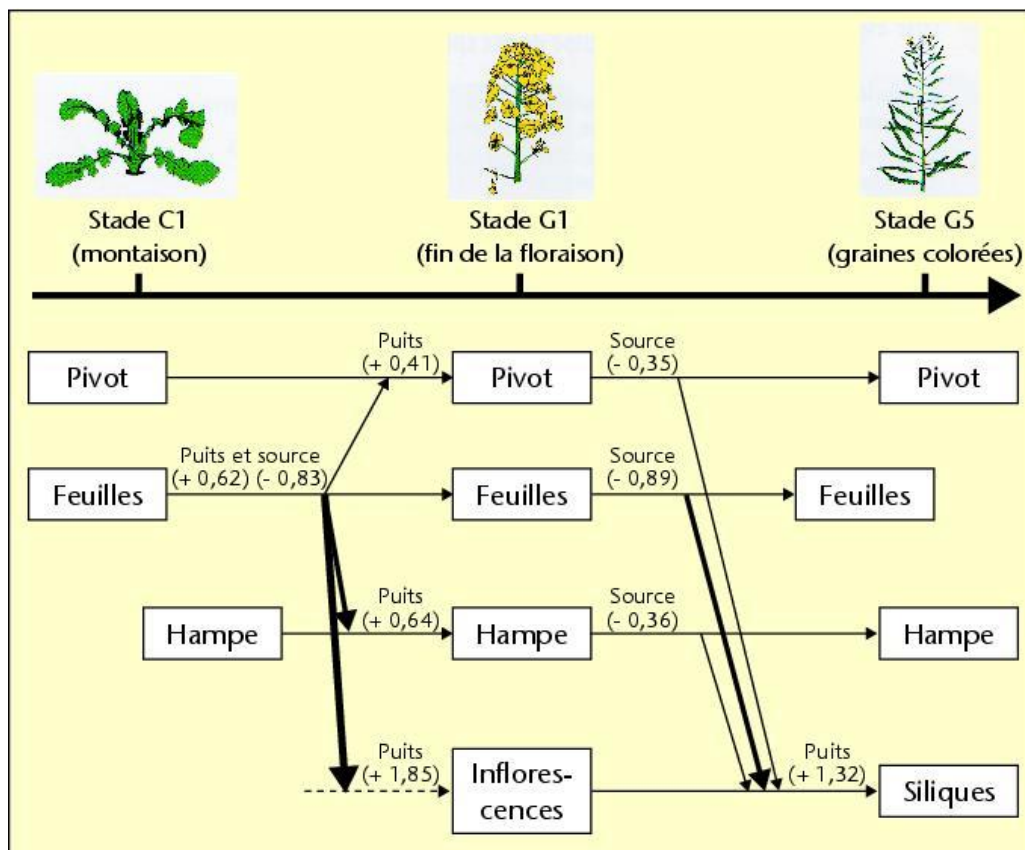


Figure 3. Schéma identifiant au cours du cycle de culture les principales transitions entre le comportement net de puits et source que peuvent avoir certains tissus du stade C1 (montaison) au stade G5 (graines colorées). Les chiffres entre parenthèses représentent la force puits ou source du tissu, exprimée en $\text{mgN}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}\cdot\text{j}^{-1}$.

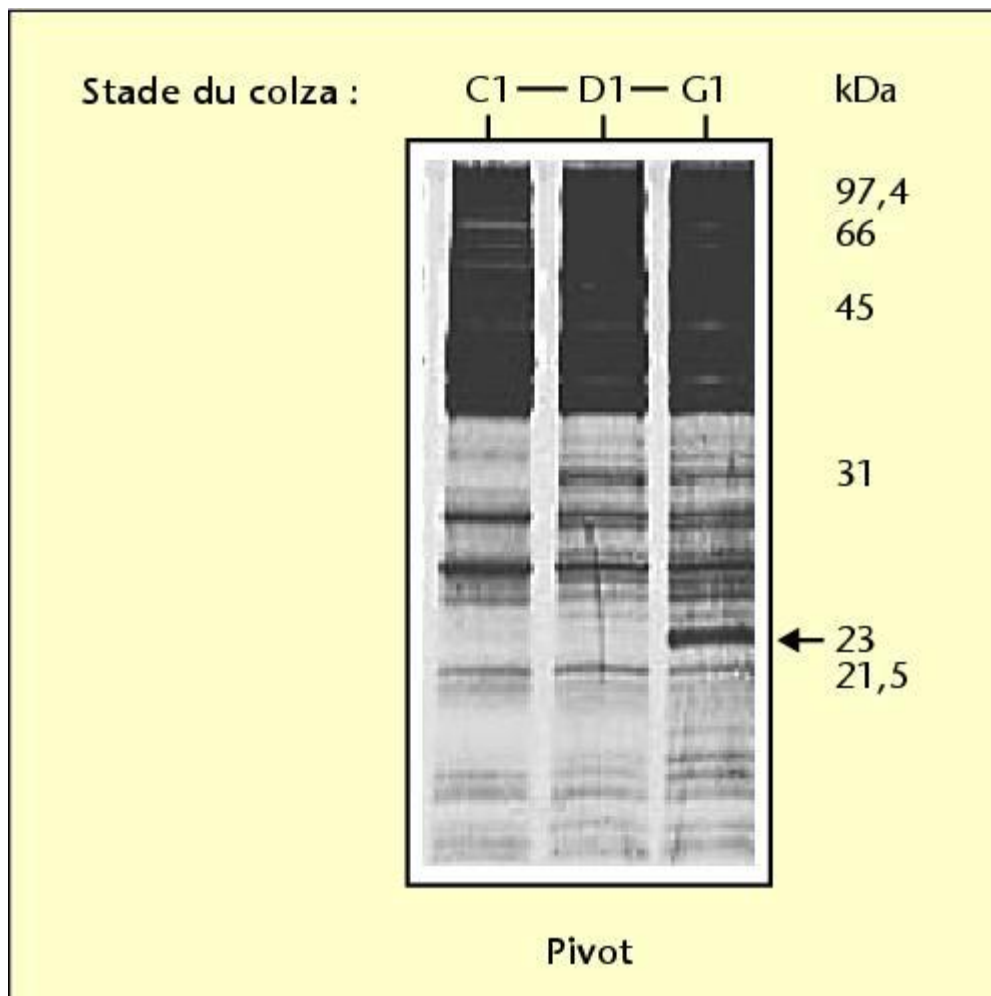


Figure 4. Evolution du profil électrophorétique (SDS-PAGE, 15 %) des protéines solubles du pivot de colza (*Brassica napus* L.) de la montaison (stade C1) jusqu'au début de la formation des siliques (stade G1). Les électrophorèses SDS-PAGE sont réalisées avec un dépôt de 3,4 µg de protéines solubles par puits et sont révélées par coloration argentique. La flèche désigne la protéine de 23 kDa.

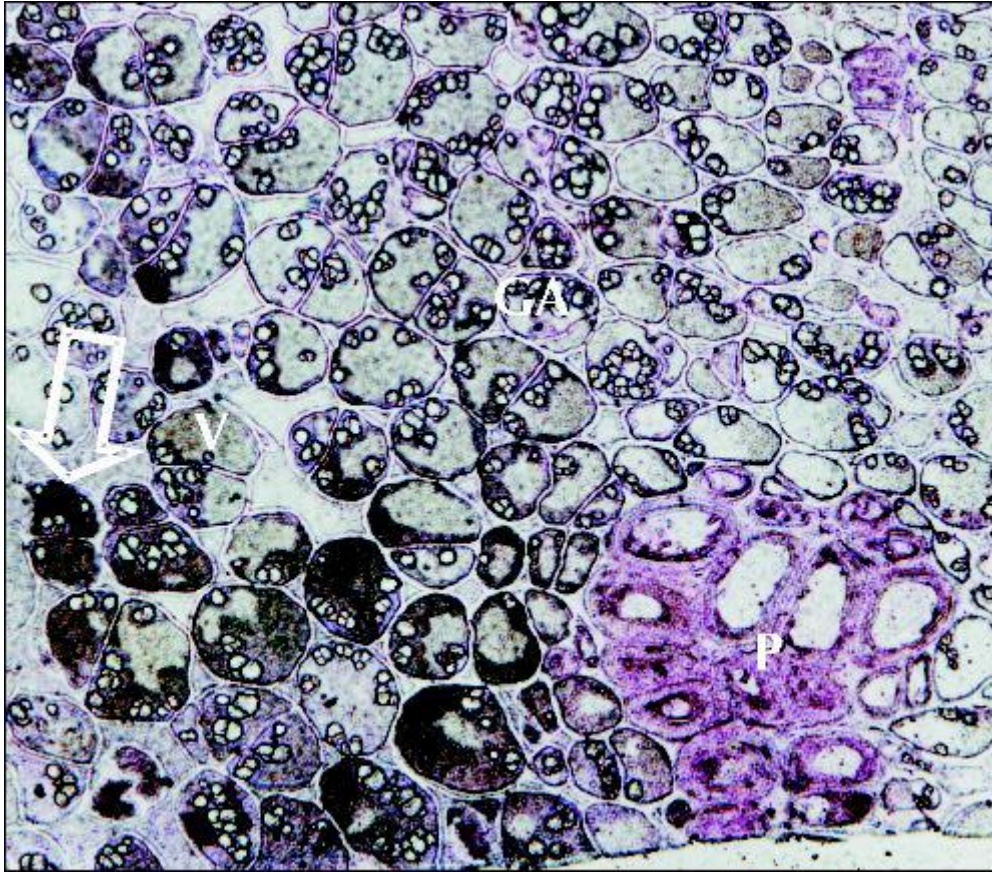


Figure 5. Immunolocalisation tissulaire de la VSP du pivot de colza. Les coupes transversales de pivot sont incubées avec des anticorps anti-VSP (23 kDa). **GA**, grains d'amidon (achromatiques) ; **P**, phloème ; **V**, vacuole. La coloration brune révèle la présence de VSP.

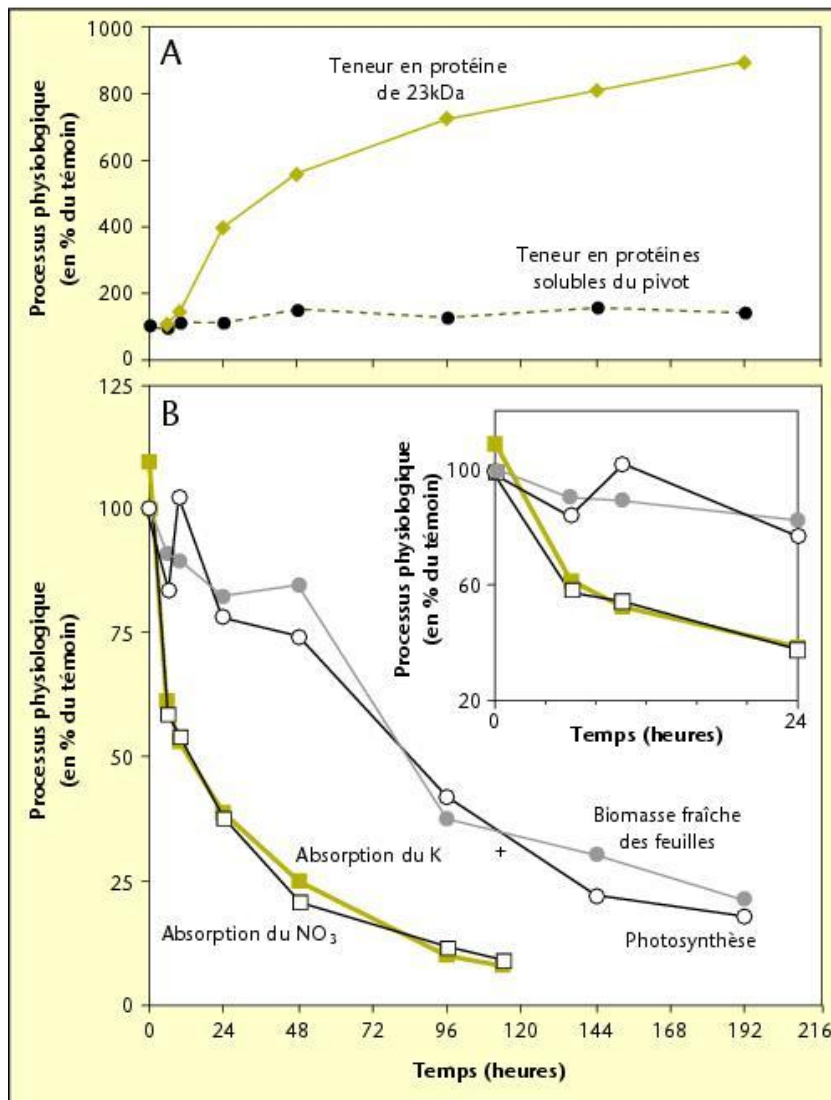


Figure 6. Effets relatifs d'un apport de méthyl jasmonate (MeJa) en fonction du temps de traitement. Les différents processus physiologiques mesurés (A : teneur en protéine de 23 kDa et en protéines solubles du pivot, B : absorption du NO_3^- et du K^+ , photosynthèse et biomasse fraîche des feuilles) sont exprimés en % du témoin. L'encart représente un agrandissement des effets du MeJa sur les 24 premières heures.