

SUR LES CAROTÉNOÏDES DES PLANTES

par **G. MACKINNEY**

Department of Nutritional Sciences, University of California, Berkeley.

En 1962, j'ai étudié dans leur ensemble des problèmes relatifs aux Caroténoïdes des fruits (1) et j'ai rédigé une révision du chapitre « Carotenoids and Vitamin A », au tome II de *Metabolic Pathways*. Récemment, j'ai eu l'honneur de présenter quelques résultats de mes recherches à l'Académie d'Agriculture de France (3), puis d'en exposer l'ensemble, sur invitation de M. le directeur GUÉRIN et de MM. les professeurs LAVOLLAY et TRÉMOLIÈRES, en une leçon professée dans le cadre de la Chaire de Biologie Appliquée du C. N. A. M., sous la présidence du professeur Jean DUFRENOY.

A peine est-il nécessaire d'expliquer le problème qui me confronte maintenant. Le plagiat d'un autre écrivain est justement condamné, mais le plagiat de soi-même ne peut que provoquer l'ennui parmi les lecteurs. Il faut donc se limiter à l'exposé des résultats du nouveau travail, même si celui-ci n'est pas complètement élaboré.

Par bonheur, une idée assez intéressante s'est présentée à moi par hasard. En revenant d'une excursion à la Vallée de la Mort, en Californie, j'ai aperçu, à 1 000 m d'altitude, une espèce de cuscute (barbe-de-moine), très bien colorée, qui m'a rappelé un travail déjà ancien, sur une espèce de cuscute qui pousse dans les marais salins, *C. salina*, où j'avais démontré en 1935 (4) que les principaux pigments caroténoïdes étaient les carotènes α , β et γ , le lycopène et la rubixanthine.

Depuis lors, on a découvert plusieurs autres pigments, par exemple le ζ -carotène, le neurosporène, où l'on croit reconnaître des intermédiaires dans la biosynthèse du lycopène et du β -carotène chez la tomate. Ainsi, je me suis demandé : ces composés existent-ils aussi, fût-ce en quantité minime, dans ces plantes extraordinaires, de la famille des Convolvulaceae, qui fleurissent, mais manquent de chlorophylle et sont donc parasites ; je présenterai ici les résultats de ces recherches.

Antérieurement (1) j'avais donné un résumé de la fonction, chez les plantes, des caroténoïdes, pigments accessoires dans la photosynthèse. Une partie de la lumière qu'ils absorbent est transférée à la chlorophylle *a*. On sait que la chlorophylle toute seule est un pigment assez dangereux dont l'effet, qui pourrait être mortel, est évité par la présence des caroténoïdes. Le cycle qui permet la reconstitution de la chlorophylle après l'excitation par la lumière est contrôlé par un autre cycle, à caractère caroténoïde : la zeaxanthine passe à son dérivé di-époxy, violaxanthine, qui revient ensuite à l'état originel, de zeaxanthine.

Une propriété très caractéristique de la chaîne polyène est l'aptitude à former des ions carboniums, en présence d'un donneur de protons ou d'un récepteur d'électrons : ainsi on arrive aux complexes « charge-transfert » tels que le pourpre rétinien. Sans doute y-a-t-il aussi de tels complexes dans la plante mais leur rôle ou leurs rôles demeurent actuellement inconnus.

Considérons maintenant les problèmes de la biosynthèse : dans les feuilles caduques, les chloroplastes disparaissent plus ou moins graduellement à l'automne : les chlorophylles se décolorent et il ne reste que les caroténoïdes résiduels en quantité moindre que dans la feuille verte.

Cependant, dans divers fruits, les chloroplastes se transforment en chromoplastes et la question qui se pose est : la biosynthèse des caroténoïdes dans ces fruits s'effectue-t-elle par les mêmes voies que dans les feuilles ?

A peine est-il nécessaire de classer les types principaux de caroténoïdes. On sait qu'il y a trois sortes d'hydrocarbures caroténoïdes :

- 1) ceux de structure chimique acyclique ;
- 2) ceux qui possèdent un anneau à l'extrémité d'une chaîne linéaire ;
- 3) ceux qui possèdent un anneau à chaque bout de la chaîne.

Dans la première classe on peut commencer par le phytoène $C_{40}H_{64}$ et arriver au lycopène $C_{40}H_{56}$ en passant au cours de déhydrogénations successives par le phytofluène, le ζ -carotène et le neurosporène. La deuxième classe contient quatre composés : le β -zeacarotène et le γ -carotène, et aussi l' α -zeacarotène et le δ -carotène. Finalement, dans la troisième classe, nous trouvons les carotènes α et β .

Les travaux de GOODWIN et ses collègues, et de SIMPSON, NAKAYAMA et CHICHESTER avec les tomates (5) et les levures (6) montrent qu'il y a deux séries :

1. β -zeacarotène \rightarrow γ -carotène \rightarrow β -carotène
2. α -zeacarotène \rightarrow δ -carotène \rightarrow α -carotène.

On sait aussi, dans les fruits des tomates, que la synthèse du lycopène dépend de la température, non celle du β -carotène, sauf lorsque nous rencontrons le gène *B*, auquel cas la formation du β -carotène est affectée (1).

Par conséquent, pour la synthèse de ce composé, il faut envisager deux voies : l'une contenant la série β -zeacarotène, γ -carotène et β -carotène et l'autre complètement hypothétique (3 p. 1214) dans un schéma qui montre les barrières créées par les divers gènes contrôlant la synthèse des caroténoïdes des tomates.

Puisque l'on trouve ces séries si les gènes le permettent, on peut s'imaginer avec confiance que les séries ci-dessus mentionnées y jouent un rôle. Il est nécessaire alors de savoir si les séries sont affectées par la température.

En l'absence de preuve du contraire on peut le supposer. En ce moment notre deuxième voie est complètement hypothétique à moins que nous n'acceptons la possibilité pour le lycopène de se transformer en β -carotène par fermeture des anneaux, auquel cas ce serait cette réaction qui serait affectée par la température. Il me semble que nous devrions examiner plus en détail la réaction des chloroplastes actifs avant de suggérer un mode d'évolution autrement que de manière très générale.

Cependant, en quelque lieu que ce soit, il y a grand intérêt à étudier les plantes anormales, et il n'y a pas de doute que les cuscutes ne soient anormales à l'excès : les graines tombent au sol où elles bourgeonnent et les pousses filamenteuses s'attachent à l'hôte.

La couleur est jaune paille (*C. subinclusa*) rouge vif (*C. salina*) et rouge brique chez *C. denticulata* (parasite de l'*Astragalus*) dont j'ai obtenu 50 g (poids frais).

On dispose maintenant de méthodes beaucoup plus directes et plus simples que par le passé. L'extraction des polyènes nécessite des solvants n'absorbant pas dans l'ultraviolet. L'éther de pétrole contient habituellement des composés benzénoïdes que l'on doit éliminer par passage à travers le gel d'acide silicique.

On peut préparer un premier extrait avec du méthanol, puis on transfère à l'éther de pétrole. Pour éviter les difficultés qui peuvent survenir ensuite sur la colonne, le plus simple est de faire évaporer la solution sous vide et de dissoudre de nouveau dans la plus petite quantité possible d'éther de pétrole.

Une colonne d'absorbant MgO, dilué 1 : 2 avec SiO_2 suffit pour atteindre le but désiré.

On peut distinguer les caroténoïdes par la couleur, le phytofluène par la fluorescence, mais le phytoène ne se manifeste pas sur la colonne : on le trouve dans la première partie (fraction) de l'éluat de la colonne, précédant la zone de fluorescence.

Si le spectre d'absorption est faible ou rendu flou par des impuretés, on transfère sur une petite colonne de Al_2O_3 et ainsi on résout le phytoène, même en quantité assez minuscule. On peut éluer successivement le phytoène, les carotènes α et β avec l'éther de pétrole. Après déplacement de l' α -carotène on obtient une accélération au niveau de la zone du β -carotène avec l'éther de pétrole contenant 1 à 2 p. cent d'acétone ; au niveau ζ carotène avec 5 p. cent et au niveau

des hydrocarbures adsorbés plus fortement avec l'éther de pétrole contenant 10 p. cent acétone : ceci ne s'applique pas au lycopène. Lorsqu'il ne reste plus que le lycopène et les xanthophylles, on enlève ces xanthophylles avec du méthanol en masse, le lycopène ne bouge pas. Tout le reste est enlevé mais le lycopène fortement adsorbé ne se dissout pas dans le méthanol ; la couleur devient pourpre probablement par formation de micro-cristaux, facilement déplacés par le benzène.

En ce moment on ne peut répéter les essais avec *C. salina* car ce n'est pas la saison.

Entre *C. salina* et *C. denticulata* existent des similarités et des différences.

Chez *C. salina* nous avons établi la présence de carotènes $-\alpha$, $-\beta$ et $-\gamma$, de lycopène et de rubixanthine, avec probablement d'autres polyènes, au sujet desquels nous ne savons encore rien.

Examinons maintenant le cas de *C. denticulata* : les trois principaux pigments en microgramme par gramme de poids frais sont les suivants :

γ -carotène 69,0 (dont 37,8 sous forme *trans*, 31,2 mono-*cis* avec peut-être une trace de di-*cis*) ; β -carotène 34,6 ; une xanthophylle (5,6) donnant une couleur bleue avec HCl et par conséquent contenant un groupe epoxy.

En outre, on trouve en très petites quantités : phytoène, 1,7 ; phytofluène, 1,5 ; ζ -carotène 0,2 ; β -zeacarotène 12, lycopène 1-2.

Évidemment, chez *C. denticulata* manquent les carotènes $-\alpha$, $-\alpha$ *zea* et $-\delta$ ainsi que la rubixanthine.

En conclusion : nous avons comparé aux phénomènes se manifestant dans les conditions normales, chez les fruits de tomates qui mûrissent, des phénomènes relatifs à des séries homologues dans des conditions anormales, chez la plante ayant perdu l'aptitude à réaliser la synthèse de la chlorophylle.

RÉFÉRENCES

- | | |
|--|---|
| (1) <i>Fruits d'Outre-Mer</i> 17 , 341, (1962). | (4) <i>J. biol. chem.</i> 112 , 421, (1935). |
| (2) <i>Metabolic Pathways</i> , Editor D. M. Greenberg, Vol. 2. Academic Press, New York (1968). | (5) <i>Biochem. J.</i> 105 , 99, (1967). |
| (3) <i>C. R. Acad. d'Agriculture</i> , 53 , 1209, (1967). | (6) <i>J. Bact.</i> 88 , 1688, (1964). |
| | (7) <i>Bot. Gaz.</i> 124 , 180, (1963). |

