

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE. — *Sur les pigments polyphénoliques (anthocyanes et flavonoïdes) des jeunes feuilles de Manguier (Mangifera indica L.).* Note (*) de MM. René Raymond Paris et Henri Jacquemin, présentée par M. Roger Gautheret.

A l'état jeune, les feuilles de Manguier sont riches en substances polyphénoliques : anthocyanes (surtout glucoside de pétonidine), flavonoïdes (mangiférine), leucoanthocyanes et tanins. Les anthocyanes, localisés au niveau du tissu lacuneux, sont abondants au moment de la croissance et disparaissent ensuite.

Au cours de recherches sur les anthocyanes foliaires d'arbres tropicaux (2) nous avons été amenés à étudier les feuilles de Manguier. Chez beaucoup d'arbres en climat tropical, les feuilles à l'état jeune présentent une coloration rouge intense, puis cette teinte est masquée peu à peu par l'apparition de chloroplastes au cours de la croissance de la feuille. Ce phénomène de rougissement se produit également chez quelques plantes de la zone tempérée, notamment chez l'Ailante, le Chêne et la Vigne, mais l'intensité et la durée de ce phénomène sont beaucoup moins marquées. Si la forme et la poussée des feuilles de Manguier ont été bien décrites par différents auteurs (2), par contre les variations de coloration ne semblent pas avoir été étudiées. A l'éclatement des bourgeons, les feuilles présentent une teinte rouge foncé à la face supérieure tandis que la face inférieure possède une coloration violet pourpre. Le développement dure environ douze jours, la courbe de croissance présente une première phase de démarrage durant 4 jours, au cours de laquelle la vitesse de croissance augmente régulièrement ; on observe ensuite une phase de développement rapide qui dure 5 à 6 jours ; la vitesse reste à peu près constante à environ 3 cm par jour. La dernière phase ne porte que sur 2 jours avec ralentissement considérable de la croissance. La feuille atteint alors sa taille définitive. Au point de vue de la pigmentation, à la fin de la période de croissance rapide, le limbe perd son aspect brillant et vernissé pour devenir terne et mat. L'ensemble évolue rapidement vers le brun-vert puis devient vert clair. Il faut noter que, pendant toute la vie de la feuille, la coloration du limbe reste homogène depuis le pétiole jusqu'à l'apex. Dans deux autres cas étudiés *Theobroma cacao* L. et *Lophira alata* Banks. (2) il n'en est pas de même : chez le Cacaoyer, les cellules à pigments forment un réseau et chez l'Azobé, la coloration rouge disparaît d'abord à un bout avant de s'achever à l'extrémité opposée.

Nos essais ont été effectués sur des feuilles juvéniles à divers stades de développement en provenance du Centre O. R. S. T. O. M. d'Adiopodoumé (Côte-d'Ivoire). Les pigments polyphénoliques ont été étudiés par chromatographie sur papier après extraction par le méthanol chlorhydrique à 1 % dans le cas des anthocyanes et après fixation à l'alcool bouillant pour les flavonoïdes suivant des techniques déjà utilisées au laboratoire [(3), (5)]. Pour obtenir des taches nettes, il est souvent nécessaire de procéder à une purification par chromatographie préparative sur papier avec le mélange de Partridge et élution par le méthanol chlorhydrique. Les pigments anthocyaniques sont examinés avant et après hydrolyse totale (avec l'acide chlor-

O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 4452

Cote : B-

15 OCT. 1970

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 4452

hydrique 2 N pendant 30 mn au bain-marie bouillant) ou partielle (avec l'acide chlorhydrique 2 N à la température de 70°). Les anthocyanidines sont identifiées en présence de témoins (cyanidine, pétunidine, paeonidine, delphinidine) en utilisant les mélanges suivants : I. Acide acétique-acide chlorhydrique-eau (30-3-10) (Forestal) ; II. N-butanol-acide chlorhydrique 2 N (1-1) ; III. Acide formique-acide chlorhydrique-eau (5-2-3) ; IV. *m*-crésol-acide chlorhydrique-acide acétique (1-1-1). L'identification est confirmée par l'examen du spectre après élution à l'aide de méthanol contenant 0,01 % de HCl et après examen des modifications provoquées par le chlorure d'aluminium. Les sucres sont également caractérisés par chromatographie des liqueurs d'hydrolyse, l'acide étant éliminé par passage sur un échangeur d'ion (Amberlite IR 4 B). On utilise, sur papier « Whatman 1 », les deux mélanges suivants : A. Alcool isoamylique-pyridine-eau (7-6-2) ; B. Phénol saturé d'eau ammoniacale à 1 %. Les dosages d'anthocyanes sont effectués par densitométrie à l'aide d'un appareil « Photovolt » (6). Les autres substances polyphénoliques sont étudiées également par chromatographie sur papier, mais à partir du traitement à l'alcool bouillant. On procède à l'identification des génines et des sucres après hydrolyse acide suivant les méthodes habituelles en procédant avec des témoins et en s'aidant de réactions colorées différentielles ou de spectres ultraviolets effectués dans des conditions variées (addition de chlorure d'aluminium, d'acétate de sodium, d'acide borique). Pour la localisation dans les tissus des substances polyphénoliques, nous avons essayé les réactifs utilisés en chromatographie sur papier pour révéler ces dérivés ; en dehors du fixateur de Regaud et du dichromate de potassium, ont été ainsi utilisés l'acétate basique de plomb, l'acétate d'uranyle (pour les anthocyanes), la vanilline chlorhydrique et les vapeurs d'acide chlorhydrique (pour les flavanes). Pour les pigments flavoniques a été employée la technique au chlorure d'aluminium déjà préconisée par l'un d'entre nous (1) ; pour obtenir des résultats plus nets, il y a intérêt à traiter au préalable les coupes par du chloroforme, afin d'éliminer des impuretés gênantes, notamment la chlorophylle. En ce qui concerne les anthocyanes, grâce à la chromatographie sur papier (technique descendante avec le solvant de Partridge, durée 48 h) ont pu être séparés quatre pigments rouges A, B, C et D, de R_f respectifs 0,26, 0,34, 0,41 et 0,48, la substance B étant de beaucoup la plus abondante. A l'aide des techniques indiquées ci-dessus, ces substances ont pu être identifiées respectivement aux 3-monoglucosides de delphinidine, pétunidine, paeonidine et cyanidine. Les autres dérivés phénoliques ont été séparés à partir d'un extrait aqueux et par chromatographie à deux dimensions (butanol acétique et acide acétique à 10 %). Les feuilles de Manguier renferment des leucoanthocyanes et en particulier leucodelphinidine et leucocyanidine (il n'a pas été trouvé de leucopétunidine bien que la pétunidine soit l'aglycone principal des anthocyanes), elles contiennent de plus des tanins catéchiques et un peu de tanin gallique : après action du formol chlorhydrique de Stiasny, le filtrat fournit un précipité bleu-noir avec les sels ferriques. Quant aux pigments flavoniques, toujours étudiés en chromatographie à deux dimensions, ils sont représentés surtout par de la mangiférine ou aphloïol (tetrahydroxy-1, 3, 6, 7 xanthone 2 C-glucoside) (4) accompagnée de deux substances de même fluorescence dont l'une correspond sans doute à la méthyl-3

mangiférine. Il existe enfin des acides-phénols du type caféique à fluorescence bleue. Au point de vue de la localisation, dans la très jeune feuille les vacuoles à anthocyanes se trouvent uniquement dans les couches de cellules situées contre l'épiderme inférieur ; au cours du développement de la feuille, les anthocyanes se répandent dans les autres cellules du tissu lacuneux mais non dans le tissu palissadique. La disparition des anthocyanes s'effectue avant que la teneur en chlorophylle ait atteint son maximum ; quant à la mangiférine, elle semble répandue dans tous les tissus de la feuille à l'exception du xylème ; chose curieuse, la teneur est élevée au niveau du sclérenchyme (à l'état jeune). Ainsi, chez la feuille de Manguier, les anthocyanes sont accompagnés d'autres substances polyphénoliques : dérivés de flavones, de flavanes, tanins. Pour les anthocyanes, la génine dominante n'est pas comme dans le cas général la cyanidine mais la pétunidine. En accord avec les travaux de M^{me} Tronchet (7) sur la localisation périphérique des pigments polyphénoliques, contrairement à ce qui se passe pour les flavonoïdes souvent localisés dans les épidermes, les anthocyanes se trouvent surtout dans le parenchyme lacuneux. Ces pigments existent pendant la morphogenèse, cependant la feuille a terminé sa croissance avant la disparition de ces pigments rouges.

Ces essais sur des feuilles jeunes d'arbres en climat tropical montrent qu'il existe de nombreux types de pigments anthocyaniques (anthocyanes de jeunesse, de vieillesse, anthocyanes pathologiques et par traumatisme) ils peuvent apparaître avant ou après les chloroplastes, leur métabolisme doit être envisagé, non pas séparément, mais en rapport avec celui d'autres dérivés polyphénoliques, notamment les flavonoïdes.

(*) Séance du 15 juin 1970.

(1) P. DELAVEAU et R. PARIS, *Rev. Soc. fr. Physiol. végét.*, 15, p. 99 ; *Comptes rendus*, 267, Série D, 1968, p. 317.

(2) H. JACQUEMIN, Recherches sur les anthocyanes foliaires de trois arbres tropicaux : *Mangifera indica* L., *Theobroma Cacao* L., *Lophira alata* Banks, *Thèse Doct. ès Sciences*, Paris, 1969.

(3) M. PARIS, Contribution à l'étude biochimique de la Salicaire *Lythrum Salicaria* L., *Thèse Doct. Etat. (Pharm.)*, Paris, 1967.

(4) R. PARIS et S. ETCHEPARE, *Comptes rendus*, 258, 1964, p. 5377.

(5) R. PARIS et M. PARIS, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1963, p. 1597.

(6) P. RIBÉREAU-GAYON, *Les composés phénoliques des végétaux*, Dunod, Paris, 1968.

(7) J. TRONCHET, *Comptes rendus*, 266, Série D, 1968, p. 882.

(Laboratoire de Matière médicale, Faculté de Pharmacie,
4, avenue de l'Observatoire, 75-Paris, 6^e.)