

Localisation *in situ* et analyse microspectrofluorimétrique des composés phénoliques végétaux : une approche complémentaire des analyses biochimiques.

Laurence MONDOLOT*, Claudine CAMPA**, Philippe LA FISCA*, Pauline GUINOT*, Claude ANDARY*.

* Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie, UMR 5175 CEFE, Faculté de Pharmacie, Université Montpellier 1, 15 avenue Charles Flahault, F-34293 Montpellier cedex 5, France laurence.mondolot@univ-montpl1.fr, ** IRD, Equipe Génomique Comparative et Fonctionnelle de l'Adaptation, UMR 1097 DIAPC, 911 av. Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5, FRANCE

1) Optimisation de l'extraction de composés phénoliques tinctoriaux :

La localisation *in situ* montre que les anthraquinones, colorants rouges de *Rubia tinctorum* L. sont situés uniquement dans le parenchyme cortical des racines (Fig. 1).

De même, l'observation *in situ* des flavonoïdes de *Serratula tinctoria* L. associée à une analyse microspectrofluorimétrique a mis en évidence la localisation spécifique de la lutéoline dans les cellules stomatiques alors que son hétéroside se trouve dans les cellules du parenchyme palissadique.

2) Mise en évidence de nouvelles molécules :

Des études de localisation des composés phénoliques dans les feuilles de différentes espèces de caféiers ont permis de mettre en évidence une xanthone, la mangiférine, jamais citée jusqu'à présent dans le genre *Coffea* ni même dans la famille des Rubiaceae. Cette xanthone s'accumule dans les vacuoles des cellules du parenchyme lacuneux de quelques espèces de caféier, dont *Coffea pseudozanguebariae* et *C. arabica* L. bourbon pointu (Fig. 2).

3) Etudes des mécanismes de résistance des plantes et de leur physiologie :

Dans l'exemple tournesol/*Sclerotinia*, ce sont les composés caféoylquiniques très concentrés chez l'espèce résistante qui s'accumulent rapidement lors d'une attaque par le pathogène (Fig. 3). Le caféier Robusta (*Coffea canephora* Pierre) est particulièrement riche en ces composés caféoylquiniques. Ces derniers sont étroitement associés aux chloroplastes dans les feuilles jeunes, parfois vacuolaires ou associés à l'amidon (Fig. 4) et impliqués dans les processus de lignification après stress (Fig. 5). *C. canephora* est plus résistant aux maladies que *Coffea arabica* ce qui confirme une fois de plus l'importance des composés phénoliques dans les mécanismes de résistance des plantes.

L'histolocalisation des composés phénoliques, confirmée par microspectrofluorimétrie, affine et parfois éclaire les analyses biochimiques et constitue un outil précieux dans la compréhension du fonctionnement des plantes et de leurs voies métaboliques.

Bibliographie

- 1- Guinot P., Gargadennec A., La Fisca P., Fruchier A., Andary C. & Mondolot L. 2009 - *Serratula tinctoria*, a source of natural dye: flavonoid pattern and histolocalization. *Industrial Crops and Products* **29**: 320-325
- 2 - Talamond P., Mondolot L., Gargadennec A., de Kochko A., Hamon S., Fruchier A. & Campa C., 2008 - First report on mangiferine (C-glucosyl-xanthone) isolated from leaves of a wild coffee plant, *Coffea pseudozanguebariae* (Rubiaceae). *Acta Botanica gallica* **155**: 513-519.
- 3 - Mondolot-Cosson L., Andary C., Guang-Hui D. & Roussel J.L., 1997 - Histolocalisation de substances phénoliques intervenant lors d'interactions plante-pathogène chez le Tournesol et la Vigne. *Acta Botanica Gallica* **144**: 353-362
- 4 - Mondolot L., La Fisca p., Buatois B., Talansier E., de Kochko A. & Campa C., 2006 - Caffeoylequinic acid content and histolocalization in *Coffea canephora* developing leaves. *Annals of Botany* **98**: 33-40.

1) Optimisation de l'extraction

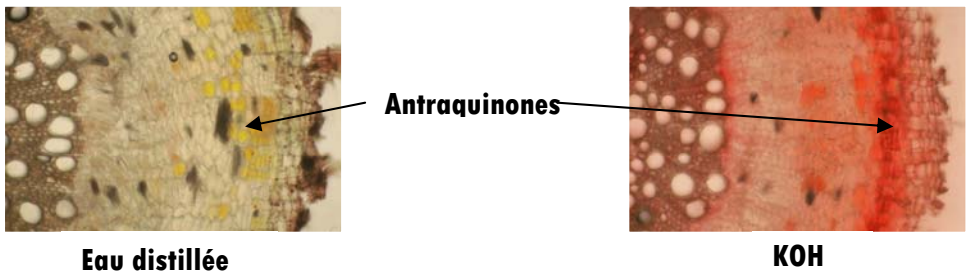


Fig. 1 : CT de racine de *Rubia tinctorum*, visible

2) Mise en évidence de molécules

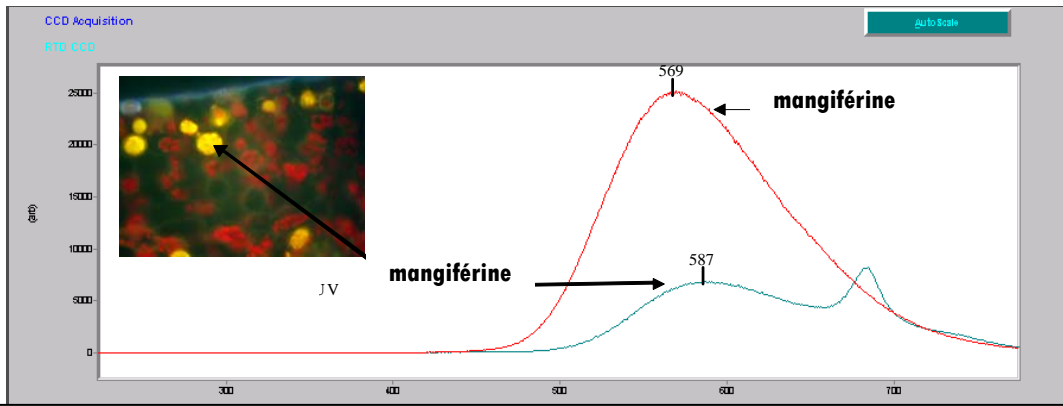


Fig. 2 : Comparaison des spectres d'émission de fluorescence des vacuoles du limbe de *C. pseudozanguebariae* avec un standard de mangiférine, réactif de Neu (DPBA), 365 nm.

3) Etude des mécanismes de résistance

Fig. 3 : Stress biotique (*Sclerotinia sclerotiorum*)

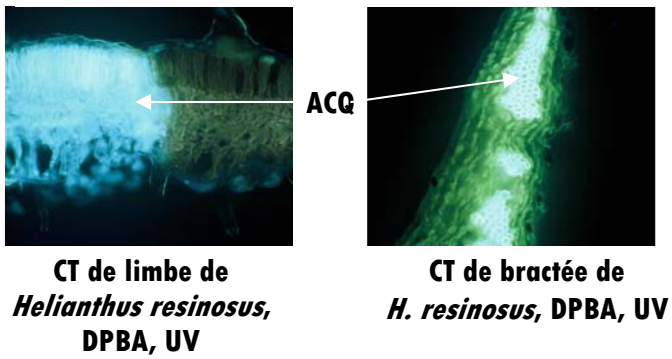
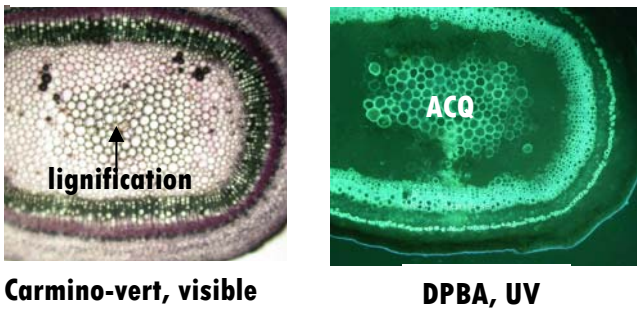


Fig. 4 : CT de tige de *C. canephora*, stress chaleur



4) Etat physiologique

Fig. 5 : CT de tige de *C. canephora*, parenchyme médullaire, DPBA, UV

