

## **BIOGÉNÈSE DES MONOTERPÈNES (\*)**

### **I - Localisation et sécrétion**

**A. LAMARTI (\*\*), A. BADOUC (\*\*\*), G. DEFFIEUX (\*\*\*),  
J.-P. CARDE (\*\*\*\*)**

*Les leucoplastes jouent un rôle primordial dans la biosynthèse des monoterpènes, selon un processus intense et bref. Le transport et l'accumulation de ces composés seraient assurés par le réticulum endoplasmique. Des structures d'association de type membranaire se mettent en place entre les leucoplastes et le réticulum endoplasmique. Les cellules sécrétrices vivantes mais inactives peuvent retrouver leur potentialité de synthèse terpénique après une blessure.*

## **SITES DE BIOSYNTHÈSE**

Les structures anatomiques spécialisées dans la sécrétion des composés terpéniques volatils sont très diverses : idioblastes, trichomes, laticifères, poches et canaux, etc. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe (1-2).

---

(\*) *Manuscrit reçu le 25 Avril 1994.*

(\*\*) *Département de Biologie, Faculté des Sciences Mhanach II, BP 2121 Tetouan, Maroc.*

(\*\*\*) *Laboratoire de Mycologie et Biologie végétale, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Université de Bordeaux II, 3, place de la Victoire, 33000 Bordeaux Cedex*

(\*\*\*\*) *CNRS URA 568, Laboratoire de Physiologie cellulaire végétale, Université de Bordeaux I, av des Facultés, 33405 Talence Cedex.*

Les systèmes sécréteurs en phase d'activité appartiennent à des tissus jeunes (3-4). Leur formation est toujours extrêmement précoce, transitoire (5), leur existence parfois fugace (trichomes caducs). Le plus souvent, ils sont rapidement l'objet d'un processus de dégénérescence non réversible (6). La production des terpènes en leur sein est liée au développement souvent hypertrophique de deux compartiments privilégiés : le plastidome et le réticulum endoplasmique (7-11).

La participation directe à l'élaboration des terpènes d'autres compartiments cellulaires - enveloppe nucléaire, mitochondries (2), appareil de Golgi (12), vacuome (13) - a été fréquemment suggérée antérieurement sur la base d'observations ultrastructurales. Mais aucun fait expérimental probant ne permet de confirmer ces hypothèses.

Bien que le plastidome soit particulièrement polymorphe, l'aspect caractéristique de nombreuses cellules sécrétrices en phase d'activité correspond à des leucoplastes (14) qui prennent une extension considérable lors de leur différenciation (12,15-16). Ce sont des plastes non chlorophylliens, volumineux, amiboïdes, multilobés et mutuellement imbriqués (12,17).

Cette forme complexe des leucoplastes traduit sans doute beaucoup plus l'effet des contraintes stériques intracellulaires qu'un programme morphogénétique spécifique et reflète également les modifications conformationnelles subies par les plastes dans le courant cytoplasmique (18). L'exploitation efficace d'un tel modèle nécessite l'utilisation de techniques modernes de reconstitution tridimensionnelle assistée par ordinateur (19-21).

La différenciation plastidiale a fait l'objet de nombreuses études intégrant notamment les techniques de la biologie moléculaire (22). La différenciation fait intervenir une multitude de réactions biochimiques : synthèse de macromolécules, structuration du système membranaire, mise en place de l'appareil photosynthétique, etc.

Matine (13) suggère qu'il y a deux processus de formation des leucoplastes des poches sécrétrices chez le Calamondin (*Citrofortunella mitis* (Blanco) Ingram & Moore, *Rutaceae*) : une différenciation depuis des proplastes au cours de la prolifération cellulaire et une re-différenciation à partir d'autres états, notamment des chloroplastes.

La composition des leucoplastes en lipides et en particulier en galactolipides se rapproche de celle que l'on observe dans les autres catégories de plastes (23). En ce qui concerne leur équipement enzymatique, les leucoplastes des cellules sécrétrices se distinguent par la quasi-absence de ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco) (24).

Les leucoplastes sont principalement caractérisés par l'absence de thylakoïdes et de ribosomes (<sup>14</sup>). Ils sont entourés d'une enveloppe à double membrane et on trouve dans leur stroma très dense des plastoglobules et des fibrilles d'ADN (<sup>25</sup>) (Figure 1). L'absence de ribosome s'accompagne d'une diminution considérable des ARN plastidiaux décelables par des techniques cytochimiques (<sup>25-26</sup>).

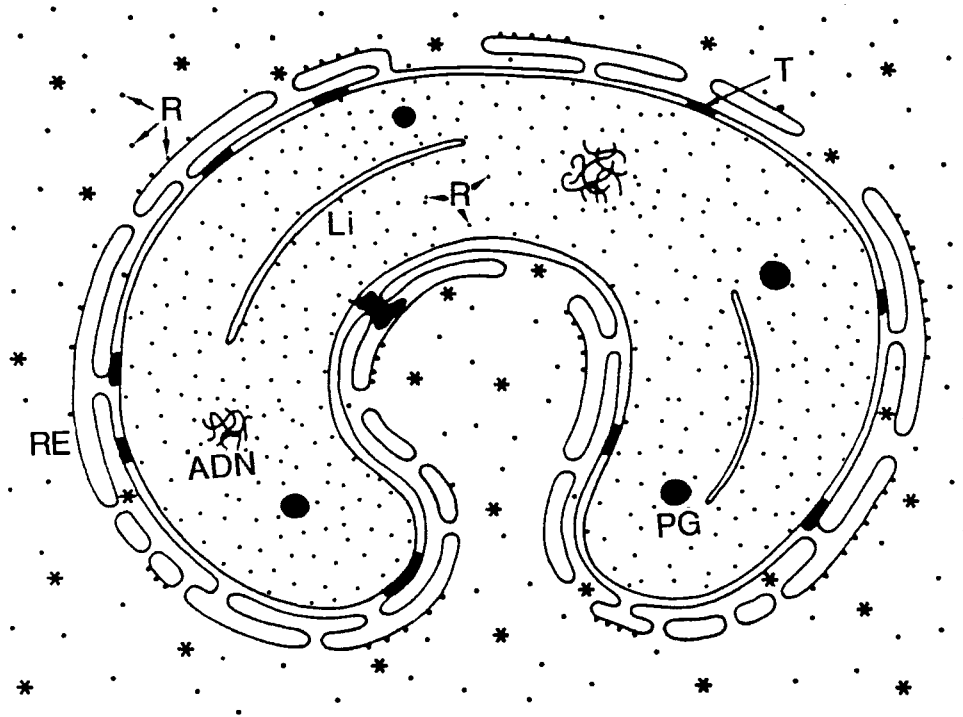


Fig. 1 : Structure schématique du leucoplaste sécréteur (<sup>1</sup>)

ADN : fibrilles d'acide désoxyribonucléique

PG : plastoglobules

R : ribosomes

RE : réticulum endoplasmique

T : terpènes

Li : lamelle interne

Il existe une corrélation étroite entre la présence de monoterpènes dans les extraits volatils et la présence de leucoplastes dans les cellules sécrétrices (<sup>27</sup>). Toutefois, certains tissus tels l'épiderme, les faisceaux vasculaires et les cellules de l'albumen peuvent contenir des leucoplastes caractéristiques qui sont impliqués dans des métabolismes autres que terpéniques (<sup>28-29</sup>).

## ÉLABORATION ET SÉCRÉTION

Dans les conditions normales, les leucoplastes constituent le support indispensable de séquences enzymatiques conduisant à l'élaboration des monoterpènes (30-31). Ils sont capables de former le diphosphate de géranyl en C<sub>10</sub> (GPP), de farnésyle en C<sub>15</sub> (FPP) et de géranylgeranyl en C<sub>20</sub> (GGPP). Malgré la présence de prényltransférases actives, seul le diphosphate de géranyl est métabolisé (32) conduisant à la synthèse des monoterpènes. Cette dernière exige la présence de diphosphate de diméthylallyle (DMAPP) et d'ions divalents, particulièrement Mn<sup>2+</sup> (31).

Il semble que le cytoplasme des cellules sécrétrices ne joue qu'un rôle indirect dans la biosynthèse des monoterpènes (13) bien qu'étant le siège des activités de prényltransférases (Figure 2).

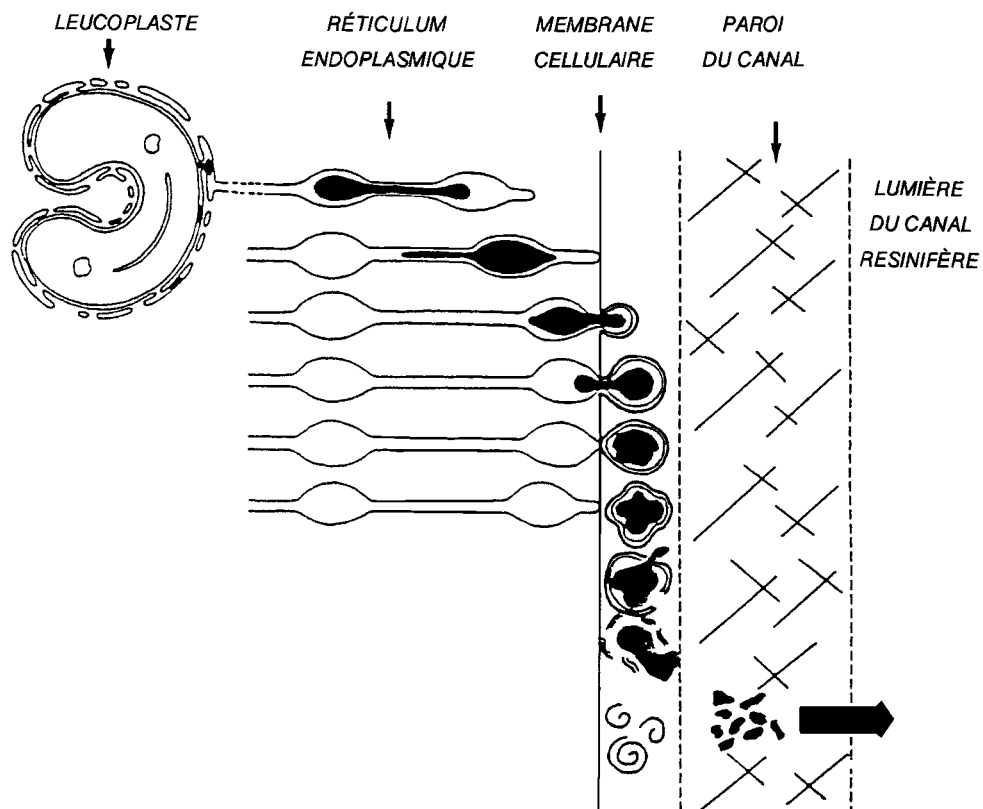


Fig. 2 : Modalités du transfert des terpènes dans les cellules des canaux sécréteurs des Conifères (7).

Les leucoplastes n'élaborent pas les hydrocarbures sesquiterpéniques en C<sub>15</sub> qui sont synthétisés dans un autre compartiment membranaire, le réticulum endoplasmique lisse ou granulaire (33-34).

Dans toutes les cellules végétales, des relations de proximité voire de continuité, existent entre le réticulum endoplasmique et les plastes (35-37). Cependant, la fréquence de telles associations est particulièrement élevée dans les cellules sécrétrices contenant des leucoplastes (38-39).

Tout laisse croire chez le genre *Pinus* (7,40-41) qu'au niveau de l'enveloppe des leucoplastes pleinement différenciés est élaborée la majeure partie de la sécrétion terpénique, matérialisée par des accumulations fortement osmiophiles (Figure 3).

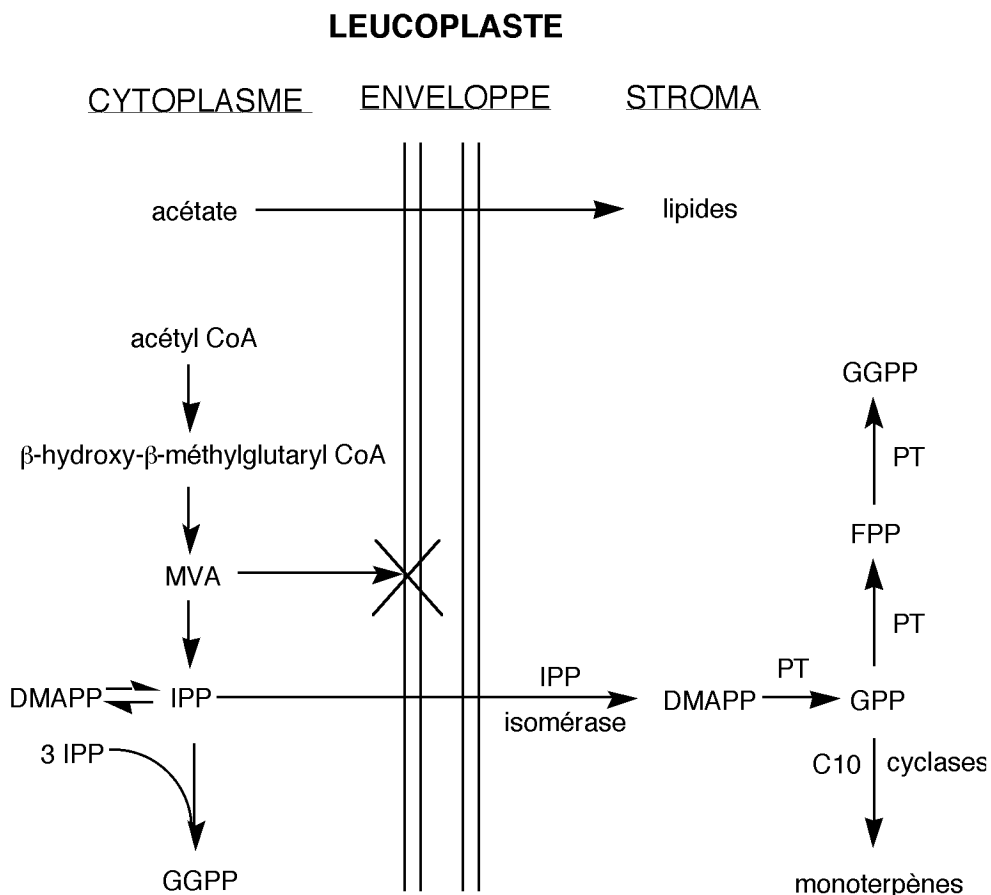


Fig. 3 : Compartimentation de la biosynthèse des monoterpènes dans les cellules sécrétrices (42). Le diphosphate d'isopentényle (IPP), élaboré dans le cytoplasme, pénètre par un mécanisme encore inconnu dans le leucoplaste, où il subit dans le stroma l'isomérisation en diphosphate de diméthylallyle (DMAPP). MVA : acide mévalonique ; PT : prényltransférases

Du réticulum endoplasmique fenestré est étroitement associé à l'enveloppe plastidiale qu'il recouvre sur toute sa surface. C'est par l'intermédiaire de continuités membranaires qui s'établissent entre la membrane externe de l'enveloppe et la face interne de saccules réticulaires que transitent les substances terpéniques. Elles sont ensuite prises en charge par le réticulum endoplasmique cellulaire et acheminées jusqu'au périplasme d'où elles sont transférées jusqu'à la lumière du canal résinifère. La réalisation séquentielle de toutes ces étapes spécialisées dans la sécrétion des terpènes est un processus hautement compartimenté (43).

Il peut arriver que des cellules sécrétrices inactives puissent retrouver leur potentialité de synthèse terpénique ; c'est ce qui se passe lors d'une blessure (accident, fente, gemmage, compression, piqûre d'insecte, attaque de champignons). Dans ce cas, la reprise d'activité sécrétrice s'accompagne d'une régénération limitée de structures fonctionnelles à leucoplastes (44-45).

Marpeau *et al.* (46) ont précisé par des excisions de tissus corticaux primaires sur des jeunes pousses de Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait. ; *Pinaceae*) que la réactivation des cellules sécrétrices induit un fonctionnement sécrétoire de type secondaire caractérisé par la synthèse quasi-exclusive d' $\alpha$ - et de  $\beta$ -pinène.

## RÉFÉRENCES

- 1 - Fahn (A.) - *Secretory tissues in plants*. - London New York San Francisco, Academic Press, 1979, 302 p.
- 2 - Fahn (A.) - Secretory tissues in vascular plants. - *N. Phytol.*, 1988, **108**, 229-257.
- 3 - Charon (J.), Launay (J.), Vindt-Balguerie (E.) - Ontogenèse des canaux sécréteurs d'origine primaire dans le bourgeon de Pin maritime. - *Can. J. Bot.*, 1986, **64**, 2955-2964.
- 4 - Charon (J.), Vindt-Balguerie (E.), Launay (J.) - Ontogenèse des canaux sécréteurs d'origine primaire dans la jeune plante de *Pinus pinaster*. - *Can. J. Bot.*, 1990, **68**, 2119-2126.
- 5 - Bernard-Dagan (C.), Carde (J.P.), Gleizes (M.) - Étude des composés terpéniques au cours de la croissance des aiguilles du Pin maritime : comparaison de données biochimiques et ultrastructurales. - *Can. J. Bot.*, 1979, **57**, 255-263.

- 6 - Carde (J.P.) - Évolution infrastructurale du système sécréteur des canaux dans les aiguilles du Pin maritime - *Soc. Bot. Fr. Coll. Sécrét. Végét.*, 1976, **123**, 181-189.
- 7 - Carde (J.P.) - Le fonctionnement des cellules sécrétrices des canaux chez le Pin maritime : données de la microscopie électronique. - *104e Congr. Natl. Soc. Savantes, Bordeaux, Sciences, Fasc. II.*, 1979, 275-286.
- 8 - Bosabalidis (A.), Tsekos (I.) - Ultrastructural studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa* Ten. I. Early stages of the gland cells differentiation. - *Protoplasma*, 1982, **112**, 55-62.
- 9 - Bosabalidis (A.), Tsekos (I.) - Ultrastructural studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa* Ten. II. Development of the essential oil-accumulating central space of the gland and process of active secretion. - *Protoplasma*, 1982, **112**, 63-70.
- 10 - Heinrich (G.), Schultze (W.), Pfab (I.), Böttger (M.) - The site of essential oil biosynthesis in *Poncirus trifoliata* and *Monarda fistulosa*. - *Physiol. Vég.*, 1983, **21**, 257-268.
- 11 - Sevinat-Pinto (I.), Antunes (T.) - Glandular Trichomes of *Teucrium scorodonia* L. Ultrastructure and Secretion. - *Flora*, 1991, **185**, 207-213.
- 12 - Charon (J.), Launay (J.), Carde (J.P.) - Spatial Organization and Volume Density of Leucoplasts in Pine Secretory Cells. - *Protoplasma*, 1987, **138**, 45-53.
- 13 - Matine (A.) - *Biosynthèse d'isoprénoïdes par des protoplastes et plastes isolés du fruit de Calamondin*. Thèse Doct. Univ. Bordeaux I, 1990.
- 14 - Carde (J.P.) - Leucoplasts : a distinct kind of organelles lacking typical 70S ribosomes and free thylakoids. - *Eur. J. Cell Biol.*, 1984, **34**, 18-26.
- 15 - Thomson (W.W.) - Development of non-green plastids. - *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1980, **31**, 375-394.
- 16 - Charon (J.) - *Différenciation et fonctionnement des canaux sécréteurs dans les bourgeons de Pin maritime (Pinus pinaster Ait.) : études structurale et ultrastructurale*. Thèse Doct. Univ. Paris VI, 1983.
- 17 - Rohr (R.), Dexheimer (J.), Kieffer (M.) - Étude tridimensionnelle du complexe sécréteur plastes-réticulum endoplasmique dans les poils glandulaires d'*Hygrophila difformis* (Acanthacées). - *Can. J. Bot.*, 1980, **58**, 1859-1871.
- 18 - Kachar (B.), Bridgman (P.C.), Reese (T.S.) - Dynamic shape changes of cytoplasmic organelles translocating along microtubules. - *J. Cell Biol.*, 1987, **105**, 1267-1271.

- 19 - Tuohy (H.), McConchie (C.), Knox (R.B.), Szarski (L.), Arkin (A.) - Computer assisted three-dimensional reconstruction technology in plant cell image analysis : applications of interactive computer graphics. - *J. Microsc. (Paris)*, 1987, **147**, 83-88.
- 20 - Young (S.J.), Royer (S.M.), Groves (P.M.), Kinnamon (J.C.) - Three-dimensional reconstructions from serial micrographs using the IBM PC. - *J. Electron Microsc. Techn.*, 1987, **6**, 207-217.
- 21 - Willis (B.), Turner (J.N.), Collins (D.N.), Roysam (B.), Holmes (T.J.) - Developments in three-dimensional stereo brightfield microscopy. - *Microsc. Res. Tech.*, 1993, **24**, 437-451.
- 22 - Oren-Shamir (M.), Hadjeb (N.), Newman (L.A.), Price (C.A.) - Occurrence of the chromoplast protein Chr A correlates with a fruit-color gene in *Capsicum annuum*. - *Plant Mol. Biol.*, 1993, **21**, 549-554.
- 23 - Gleizes (M.), Marpeau (A.), Pauly (G.), Belingheri (L.) - Polar lipid composition and galactolipid biosynthesis in isolated leucoplasts of *Citrofortunella mitis*. - *Dev. Plant Biol.*, 1984, **9**, 343-346.
- 24 - Suire (C.), Cheniclet (C.), Walter (J.), Cartayrade (A.), Pradeille (G.), Carde (J.P.) - Immunological investigations on the presence of ribulose biphosphate carboxylase in Calamondin plastids. - *Eur. J. Cell Biol.*, 1988, **47**, 198-205.
- 25 - Cheniclet (C.), Carde (J.P.) - Differentiation of leucoplasts : Comparative Transition of Proplastids to Chloroplasts or Leucoplasts in Trichomes of *Stachys lanata* Leaves. - *Protoplasma*, 1988, **143**, 74-83.
- 26 - Cheniclet (C.), Carde (J.P.) - Ultrastructural localization of RNAs in plastids with an RNase-gold method. - *Biol. Cell*, 1987, **59**, 79-88.
- 27 - Cheniclet (C.), Carde (J.P.) - Presence of leucoplasts in secretory cells and of monoterpenes in the essential oil : a correlative study. - *Isr. J. Bot.*, 1985, **34**, 219-238.
- 28 - Boyle (S.A.), Hemmingsen (S.M.), Dennis (D.T.) - Uptake and Processing of the Precursor to the Small Subunit of Ribulose 1,5-Bisphosphate Carboxylase by Leucoplasts from the Endosperm of Developing Castor Oil Seeds. - *Plant Physiol.*, 1986, **81**, 817-822.
- 29 - Plaxton (W.C.) - Leucoplast pyruvate kinase from developing Castor oil seeds. Characterization of the enzyme's degradation by a cysteine endopeptidase. - *Plant Physiol.*, 1991, **97**, 1334-1338.
- 30 - Gleizes (M.), Pauly (G.), Carde (J.P.), Marpeau (A.), Bernard-Dagan (C.) - Monoterpene hydrocarbon biosynthesis by isolated leucoplasts of *Citrofortunella mitis*. - *Planta*, 1983, **159**, 373-381.



- 31 - Pauly (G.), Belingheri (L.), Marpeau (A.), Gleizes (M.) - Monoterpene formation by leucoplasts of *Citrofortunella mitis* and *Citrus unshiu*. Steps and conditions of biosynthesis. - *Plant Cell Rep.*, 1986, **5**, 19-22.
- 32 - Gleizes (M.), Camara (B.), Walter (J.) - Some characteristics of terpenoid biosynthesis by leucoplasts of *Citrofortunella mitis*. - *Planta*, 1987, **170**, 138-140.
- 33 - Gleizes (M.), Carde (J.P.), Pauly (G.), Bernard-Dagan (C.) - *In vivo* formation of sesquiterpene hydrocarbons in the endoplasmic reticulum of pine. - *Plant Sci. Lett.*, 1980, **20**, 79-90.
- 34 - Belingheri (L.), Pauly (G.), Gleizes (M.), Marpeau (A.) - Isolation by an aqueous two-polymer phase system and identification of endomembranes from *Citrofortunella mitis* fruits for sesquiterpene hydrocarbon synthesis. - *J. Plant Physiol.*, 1988, **132**, 80-85.
- 35 - Douce (R.), Joyard (J.) - Does the plastid envelope derive from the endoplasmic reticulum ? - *Trends Biochem. Sci.*, 1981, **6**, 237-239.
- 36 - Douce (R.), Joyard (J.) - The regulatory role of the plastid envelope during development. - in Baker (N.R.) & Barber (J.) *Chloroplast biogenesis*, Elsevier Science Publishers, 1984, p 71-132.
- 37 - Whatley (J.M.), McLean (B.), Juniper (B.E.) - Continuity of chloroplast and endoplasmic reticulum membranes in *Phaseolus vulgaris*. - *New Phytol.*, 1991, **117**, 209-217.
- 38 - Cheniclet (C.) - *Organisation ultrastructurale des cellules terpénogènes et composition des secrétats terpéniques volatils : existe-t-il une relation fonctionnelle ?* Thèse Doct. Sci. Univ. Bordeaux II, 1984.
- 39 - Carde (J.P.) - Electron microscopy of plant cell membrane - in Packer (L.) & Douce (R.) *Methods in enzymology*, Vol. 148, New York, Academic Press, 1987, **148**, p 599-622.
- 40 - Carde (J.P.), Bernard-Dagan (C.), Gleizes (M.) - Membrane systems involved in synthesis and transport of monoterpene hydrocarbons in pine leaves. - in Mazliak (P.), Benveniste (P.), Costes (C.) & Douce (R.) *Biogenesis and Function of Plant Lipids*, Amsterdam, Elsevier Biomedical Press, 1980, p 441-444.
- 41 - Carde (J.P.), Pauly (G.), Cheniclet (C.) - Cell structure and volatile terpene compounds : is there a relationship ? - *Dev. Plant Biol.*, 1982, **8**, 523-526.
- 42 - Bernard-Dagan (C.) - Les substances de réserve du Pin maritime : rôle éventuel des métabolites secondaires. - *Actual. Bot.*, 1988, (1), 25-40.

- 43 - Bernard-Dagan (C.), Pauly (G.), Marpeau (A.), Gleizes (M.), Carde (J.P.), Baradat (P.) - Control and compartmentation of terpene biosynthesis in leaves of *Pinus pinaster*. - *Physiol. Vég.*, 1982, **20**, 775-795.
- 44 - Croteau (R.), Gurkewitz (S.), Johnson (M.A.), Fisk (H.J.) - Biochemistry of oleoresinosis. Monoterpene and diterpene biosynthesis in lodgepole Pine samplings infected with *Ceratocystis clavigera* or treated with carbohydrate elicitors. - *Plant Physiol.*, 1987, **85**, 1123-1128.
- 45 - Cheniclet (C.), Bernard-Dagan (C.), Pauly (G.) - Terpene biosynthesis under pathological conditions. - in Mattson (W.J.), Levieux (J.) & Bernard-Dagan (C.) *Mechanisms of woody plant defenses against insects*, New York Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 1988, p 117-130.
- 46 - Marpeau (A.), Walter (J.), Launay (J.), Charon (J.), Baradat (P.), Gleizes (M.) - Effects of wounds on the terpene content of twigs of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) II. Changes in the volatile terpene hydrocarbon composition. - *Trees (Berlin)*, 1989, **4**, 220-226.

## ABSTRACT

### Monoterpene biogenesis I - Localization and secretion

The leucoplasts play a primordial role in the biosynthesis of monoterpenes, with an intense and brief process. The transport and the accumulation of these compounds would be provided by endoplasmic reticulum. Membranous association structures are set up between leucoplasts and endoplasmic reticulum. Living but inactive secretious cells can find again their potentiality of terpenic synthesis after a wound effect.

**Key-words:** monoterpenes, compartmentation, leucoplast.

---