

## INFLUENCE DE L'ÉCLAIREMENT SUR LES VARIATIONS ONTOGÉNIQUES DES TENEURS EN SCOPOLAMINE ET EN HYOSCYAMINE DES FEUILLES DE *DATURA METEL*

L. COSSON

Laboratoire du Phytotron C.N.R.S., 91-Gif-sur-Yvette, France

(Received 29 April 1969)

**Résumé**—*Datura metel* Sims cultivé en conditions totalement artificielles, au Phytotron du C.N.R.S. de Gif-sur-Yvette, a permis de mettre en évidence une très grande influence de la durée et de l'intensité de l'éclairement sur l'évolution, durant l'ontogenèse de la plante, des teneurs en alcaloïdes. Un éclairement intense et de longue durée favorise principalement l'accumulation de la scopolamine. Un éclairement faible et de longue durée provoque un étiolement des plantes qui présentent un rapport scopolamine/hyoscyamine inférieur à celui existant dans les autres conditions.

**Abstract**—*Datura metel* Sims grown in completely artificial conditions, in the Phytotron of C.N.R.S. at Gif-sur-Yvette, demonstrates the great influence of day-length and intensity of light, during ontogenesis of the plant, on the formation of alkaloids. Long days and intense light promotes the accumulation of scopolamin. Long days in dim light gives etiolated plants with a scopolamin/hyoscyamin ratio lower than that obtained in other conditions.

### INTRODUCTION

DANS un travail précédent effectué sur *Datura tatula* L.<sup>1</sup> nous avons montré la nécessité d'un éclairement long et intense pour provoquer l'augmentation de la teneur en scopolamine lors de la floraison de la plante. *D. tatula* L. appartient au groupe possédant la faculté d'époxyder l'hyoscyamine seulement dans les stades de jeunesse de la plante. Nous avons entrepris une étude similaire sur *D. metel* Sims (Syn. *D. innoxia* Mills.), espèce chez laquelle la scopolamine est toujours l'alcaloïde prédominant quel que soit l'âge de la plante.<sup>2</sup>

Les plantes sont cultivées comme précédemment dans les salles à éclairage artificiel du Phytotron à température constante de 27°, l'humidité relative étant de 65 pour cent. Cinq conditions d'éclairement quotidien sont utilisées: 9 h, 16 h d'éclairement intense, éclairement continu intense, 9 h d'éclairement intense suivies de 7 h de faible intensité, et 9 h d'éclairement intense après lesquelles la nuit est interrompue par une demi—heure d'un éclairement rouge; (en abrégé: 9 h, 16 h, 24 h, 9 h + 7 h, 9 h + R).

### RESULTATS

Cinq "stades" sont distingués durant l'ontogenèse; le premier étant celui des jeunes plantules montrant leurs cotylédons déployés horizontalement; au stade 2 la plante possède 7 à 9 feuilles; le stade 3 est caractérisé par la présence du premier bouton floral alors qu'il a 1 cm de long environ; le stade 4 est marqué par l'épanouissement de la première fleur, et le 5ème correspond au début de maturation du premier fruit.

<sup>1</sup> L. COSSON, P. CHOUARD et R. PARIS, *Lloydia* **29**, 19 (1966).

<sup>2</sup> G. VERZAR-PETRI, *Acta Biol. Hung.* **16**, 141 (1965).

TABLEAU I. CARACTÉRISTIQUES PHYSIOLOGIQUES DES DIFFÉRENTS STADES, DANS LES CINQ CONDITIONS D'ÉCLAIREMENT

Stades*	Eclaircissement				
	9 h	9 h + R	9 h + 7 h	16 h	24 h
Stade 1	T 13 à 15	11 à 15	15 à 19	11 à 13	11 à 13
Stade 2	T 36	39 à 42	49 à 55	37 à 40	38 à 43
	H 6 à 8	7 à 12	19 à 34	13 à 22	11 à 22
	F 7 à 8	7 à 9	6 à 9	8 à 9	8 à 9
Stade 3a	T 44 à 51	49 à 50	61 à 69	48 à 52	46 à 59
	H 12 à 17	17 à 25	40 à 73	30 à 49	30 à 50
	F 8 à 10	10 à 12	10 à 12	11 à 13	10 à 13
Stade 3b	T 83-93-141			83-93-141	83-93-141
	H 124 à 200			124 à 200	120 à 200
	h 74 à 87			74 à 87	60 à 75
	N 7 à 12			7 à 12	6 à 15
Stade 4	T 48 à 63	55 à 65	73 à 85	R.O.† 87 à 130	P. 9 h† 61 à 84
	H 20 à 28	30 à 47	63 à 106	120 à 200	119 à 126
	h 17 à 20	21 à 34	50 à 92	55 à 87	200
	N 3	3	3	11 à 12	60
	n 1er ou 2ème 1 à 2	1er ou 2ème 1 à 2	1er ou 2ème 1	7ème ou 9ème 1	8 à 10
	N.n.				6ème ou 8ème 1
Stade 5	T 56 à 79	63 à 71	79 à 92	94 à 137	1 plante/ 70 à 91
	H 27 à 35	30 à 43	67 à 109	127 à 200	11 en 148
	h 17 à 20	26 à 34	47 à 100	58 à 87	jours génée
	N 3 à 5	3 à 4	3 à 5	8 à 13	dans son
	m 1er ou 2ème 2 à 3	1er ou 2ème 2 à 3	1er 1	4° — ou 7° ou 9° 1	développement
	N.n.				2er ou 3ème 1 à 2

\* T. Durée écoulée (en jours, entre le semis et le stade indiqué); H: hauteur totale de la plante (en cm); F: nombre de feuilles; h: hauteur de la plante jusqu'à la première ramification; N: nombre total de niveaux de ramification; n: numero du premier niveau de ramification portant une fleur ou un fruit; N.n: nombre total de niveaux de ramification portant une fleur ou un fruit.

† R.O. : Plantes restant dans leur condition d'origine; P. 9 h: Plantes ayant passé 7 à 9 jours en 9 h au stade 3a.

Suivant l'éclairage reçu par les plantes, les vitesses de croissance et de développement sont très différentes ainsi que le montre le Tableau 1. Une particularité est montrée par les plantes se développant en 16 h et un éclairage continu: le premier bouton floral apparu (stade 3a), se dessèche alors qu'il n'est long que de 1 cm, la ramification se développe, un autre bouton se forme qui se dessèche à son tour, la nouvelle ramification se produit et le phénomène se poursuit ainsi donnant des plantes qui ont jusqu'à douze niveaux de ramification; un seul niveau présente une fleur épanouie (entre le sixième et le neuvième et pour certaines plantes seulement), tous les autres étant stériles. Cette prolongation de ce "stade" 3 a été appelé "stade 3b."

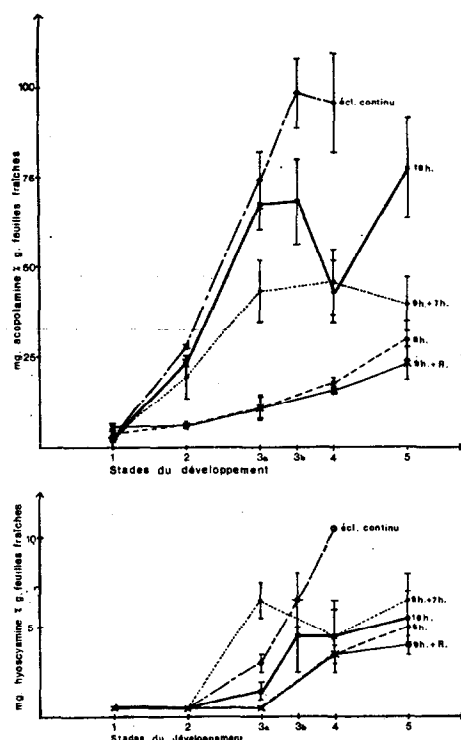


FIG. 1. VARIATIONS ONTOGÉNIQUES DE LA SCOPOLAMINE ET DE L'HYOSCYAMINE SELON L'ÉCLAIREMENT. (TENEUR EXPRIMÉE EN mg POUR 100 g DE FEUILLES FRAÎCHES).

Le dessèchement des premiers boutons floraux ne se produit pas si, dès l'apparition du premier bouton floral les plantes sont mises pendant 7 à 9 jours en 9 h d'éclairage et font ensuite retour dans leur condition d'origine (16 h ou 24 h). Dans ce cas le premier bouton floral poursuit son développement et la plante montre une fleur qui s'épanouit et qui conduit au fruit.

Les extractions et les dosages de la scopolamine et de l'hyoscyamine sont effectués sur les feuilles aux cinq stades décrits et également à différents moments du stade 3b pour les plantes cultivées en 16 h et en éclairage continu. Les teneurs exprimées en mg pour 100 g de feuilles fraîches sont représentées graphiquement sur la Fig. 1, avec l'intervalle de confiance de chaque moyenne correspondant au coefficient de sécurité de 95 pour cent.

En premier lieu, elles mettent en évidence l'absence d'influence de l'interruption de la

nuit par un éclairage rouge: dans nos conditions expérimentales cette interruption est sans effet sur le métabolisme des alcaloïdes. Par contre l'allure générale des graphiques c'est-à-dire l'évolution des teneurs en alcaloïdes durant l'ontogenèse est fortement influencée par les conditions de l'éclairage.

En ce qui concerne la scopolamine, il y a une augmentation lente en jours courts (de 9 h ou de 9 h + R), durant l'ontogenèse de la plante; au contraire, en jours longs de 16 h, une augmentation brutale se produit entre les stades 1, 2 et 3, suivie d'une diminution à la floraison (stade 4), et d'une nouvelle augmentation au début de la maturation du premier fruit. En éclairage continu l'évolution des teneurs en scopolamine est similaire à celle observée en 16 h, mais sans diminution très significative à la floraison. (Les dosages au stade 5, en éclairage continu n'ont pu être effectués, les feuilles terminales étant gênées dans leur développement par les plafonds des salles à cause de la grande taille de la plante). Il faut remarquer par ailleurs que c'est en éclairage continu que sont observées les plus fortes teneurs en scopolamine.

En 9 h + 7 h la scopolamine augmente jusqu'au stade 3 d'une manière analogue à celle en 16 h, mais ensuite elle se stabilise. Ainsi pour les quatre premiers stades les teneurs exprimées

TABLEAU 2. VALEURS DES RAPPORTS SCOPOLAMINE/HYOSCYAMINE SELON L'ÉCLAIREMENT REÇU PAR LES PLANTES

Stades	Eclairage:			
	9 h	9 h + 7 h	16 h	24 h
Stade 3a	21,9 ± 5,9	6,9 ± 1,3	37,6 ± 8,2	25,5 ± 3,8
Stade 3b			16 ± 6,9	15,4 ± 4,7
Stade 4	5,6 ± 1,5	11,1 ± 2,6	11,8 ± 6	Non calculable
Stade 5	6,1 ± 1,2	6,6 ± 2,1	16 ± 6,3	Non calculable

Chaque moyenne est accompagnée de son intervalle de confiance pour le coefficient de sécurité de 95 %.

en mg pour 100 g de feuilles fraîches sont très proches de celles des plantes en jours longs, et identiques à celles-ci, si on les exprime en mg pour 100 g de feuilles sèches. Par contre au stade 5 elles sont confondues avec celles des jours courts. Dans cette condition d'éclairage les plantes ont un aspect étiolé.

D'une façon générale ce sont les feuilles des plantes cultivées en jours longs, sous un fort éclairage, qui présentent des valeurs élevées en scopolamine.

Les résultats des dosages de l'hyoscyamine montrent que cet alcaloïde existe en quantité très inférieure à la scopolamine. Pour tous les conditionnements lumineux il n'est présent qu'à l'état de traces, évaluées à 0,5 mg pour 100 g de feuilles fraîches, aux stades 1 et 2. Au stade 3a apparaissent des différences importantes: alors qu'il n'est toujours pas dosable en jours courts (9 h et 9 h + R) la teneur la plus élevée (6,5 ± 1 mg % g P.F.), est observée en 9 h + 7 h. Au stade 5 il n'existe aucune différence significative entre les cinq conditions lumineuses.

L'étude du rapport de la scopolamine sur l'hyoscyamine, à partir du stade 3a (Tableau 2), met en évidence sa diminution, durant l'ontogenèse, pour les plantes en jours courts (9 h et 9 h + R), et en jours longs de 16 h, ce qui est à rapprocher des résultats connus pour cette espèce:<sup>3</sup> la scopolamine reste toujours l'alcaloïde principal des feuilles mais le rapport

<sup>3</sup> G. VERZAR-PETRI, *Die Pharmazie* **21**, 48 (1966).

scopolamine/hyoscyamine diminue tout au long de développement; dans nos conditions expérimentales il est un peu plus élevé chez les plantes en jours longs de 16 h, aux stades 3 et 5, que chez celles cultivées en jours courts de 9 h et de 9 h + R: un éclairciment long et intense favorise l'accumulation de la scopolamine. Par contre en 9 h + 7 h, dès le stade 3, ce rapport est beaucoup plus faible que dans les autres conditions, et il ne varie que faiblement par la suite: cette valeur faible au stade 3 est principalement due à l'accumulation de l'hyoscyamine; la quantité de scopolamine présente étant plus proche de celle trouvée chez les plantes en 16 h que de celle des plantes en jours courts de 9 h. Il faut enfin ajouter que ces plantes en 9 h + 7 h ont un aspect étoilé (Tableau 1).

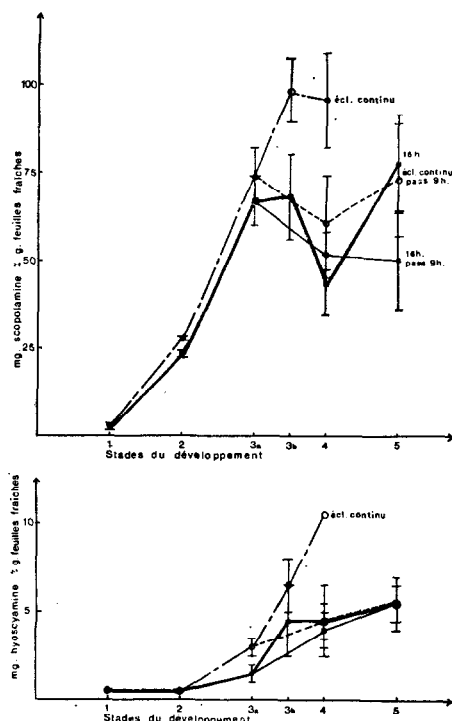


FIG. 2. VARIATIONS ONTOGÉNIQUES DE LA SCOPOLAMINE ET DE L'HYOSCYAMINE. COMPARAISON ENTRE LES PLANTES TOUJOURS ÉLEVÉES DANS LEUR CONDITION D'ORIGINE (16 h OU ÉCLAIREMENT CONTINU) ET CELLES AYANT PASSÉ 10 JOURS EN 9 h POUR HÂTER LA FLORAISON.

La Fig. 2 illustre graphiquement les variations ontogéniques de la scopolamine et de l'hyoscyamine (en mg % g de feuilles fraîches), des plantes toujours cultivées en 16 h ou en éclairciment continu, comparées à celles ayant passé 7 à 9 jours en 9 h, au stade 3a, avant de faire retour dans leur condition d'origine: aucune différence significative n'est observable dans le cas des plantes cultivées en 16 h, alors que pour celles cultivées en éclairciment continu la teneur en scopolamine est supérieure, au stade 4, pour le lot étant toujours resté dans cette condition.

## DISCUSSION

D'une façon très générale, l'ensemble de ces résultats indique qu'un éclairciment long et intense favorise l'accumulation des alcaloïdes: les teneurs les plus élevées sont observées en

éclairage continu et en 16 h d'éclairage journalier intense. On peut donc formuler l'hypothèse qu'un éclairage long et intense permet à l'ensemble du processus métabolique conduisant aux alcaloïdes de se dérouler avec un rendement supérieur à celui existant chez les plantes cultivées en jours courts de 9 h. De plus les teneurs en valeur absolue, de la scopolamine et de l'hyoscyamine, et le rapport de l'un sur l'autre montrent que la scopolamine est en proportion un peu plus forte chez les plantes en 16 h, l'éclairage long et intense favorisant l'accumulation de la scopolamine, au moins à certains stades du développement, soit en favorisant l'époxydation, soit en empêchant une destruction de la scopolamine formée.

Le cas des plantes cultivées en 9 h + 7 h (condition ne présentant pas de différence énergétique par rapport à 9 h), montre qu'un autre phénomène a lieu car dans ce cas on obtient pour le stade 3a, un rapport scopolamine hyoscyamine beaucoup plus faible que dans toutes les autres conditions, ceci étant dû principalement à une accumulation de l'hyoscyamine car la teneur en scopolamine est bien supérieure à celle observée en 9 h et proche de celle des plantes cultivées en 16 h. Il pourrait s'agir dans ce cas d'une diminution précoce, dès le stade 3a, du taux d'époxydation de l'hyoscyamine en scopolamine. Ce résultat pourrait être lié à l'aspect étioilé des plantes et serait à rapprocher de ceux déjà trouvés concernant l'action de l'étiollement.<sup>4, 5</sup>

La lumière intervient donc fortement pour déterminer et la teneur totale en alcaloïdes et la proportion de scopolamine et d'hyoscyamine dans les feuilles de *Datura metel* Sims.

On peut ainsi distinguer trois sortes d'évolution ontogénique des alcaloïdes selon que l'éclairage est de jour court (9 h et 9 h + R), de jour long et intense (16 h), et de jour long non intense (9 h + 7 h).

Chez cette espèce lumière intervient donc et par la durée de l'éclairage et par son intensité, alors que chez *D. tatula* L. seul un éclairage tout à la fois long et intense provoquait une augmentation de la scopolamine à la floraison.<sup>1</sup>

Par ailleurs, chez *D. tatula* L. la teneur la plus forte était observée chez des plantes cultivées sous l'éclairage qui menait le plus rapidement à l'épanouissement (stade 4), alors que chez *D. metel* Sims les teneurs les plus élevées se trouvent chez les plantes recevant un éclairage qui provoque un grand retard de la floraison.

On peut donc énoncer que, pour une espèce donnée, la teneur en alcaloïdes des feuilles dépend étroitement du stade physiologique atteint par la plante et du conditionnement lumineux sous lequel elle s'est développée, les autres facteurs de l'environnement étant maintenus constants.

## MATERIEL ET METHODE

Les plantes sont cultivées en conditions totalement artificielles dans les salles du Phytotron où l'éclairage est donné par les plafonds lumineux constitués de tubes fluorescents et de lampes à incandescence donnant au niveau des plantes de 14000 à 18000 lux pendant une durée journalière de 9 h, ou de 16 h, ou d'une façon continue ("24 h"). En 9 h + 7 h, les neuf premières heures sont constituées de cet éclairage, suivies de sept heures pendant lesquelles seules sont allumées quelques lampes à incandescence dispensant seulement environ 100 lux, condition permettant de réaliser un éclairage de jours longs de type photopériodique, les sept heures d'éclairage faible n'ayant pas d'action sur la photosynthèse. En 9 h + R la nuit est interrompue durant une demi-heure par un éclairage rouge clair.

Les semis sont effectués dans de la vermiculite, les plantes sont rempotées sur laine de verre (verrane), recouvertes de vermiculite et arrosées deux fois par jour: le matin avec une solution nutritive<sup>6</sup> le soir avec de l'eau désionisée. L'extraction est toujours faite à la même heure entre 15 h et 16 h.

<sup>4</sup> H. FLUCK, *Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég.* 7 (1961).

<sup>5</sup> A. SAINT-FIRMIN et R. R. PARIS, *C. R. Acad. Sci. Paris* 267, 1448 (1968).

<sup>6</sup> P. CHOUARD et M. TRAN THANH VAN, *C. R. Acad. Sci. Paris* 259, 4783 (1964).

Au stade 1 la totalité des parties aériennes est utilisée; à partir du stade 2 le prélèvement ne concerne que le sommet de la plante comportant trois ou quatre feuilles et par conséquent aux stades 4 et 5 seulement l'extrémité du dernier rameau portant une fleur ou un fruit. Pour ces deux derniers stades, les boutons floraux, les fleurs ou les fruits sont éliminés, le cas échéant, avant l'extraction. Ceci permet donc l'étude de la teneur en alcaloïdes des feuilles au maximum de leur croissance.

La technique employée pour l'extraction et le dosage des alcaloïdes a été décrite antérieurement.<sup>7</sup> Elle consiste essentiellement en une fixation-extraction à l'éthanol bouillant. Après purification, l'extrait est repris par l'éthanol et chromatographié sur papier Whatman n° 1 en chromatographie ascendante à 15° avec le solvant: n-BuOH, acide acétique, H<sub>2</sub>O (4-1-5 V). La révélation se fait par pulvérisation du réactif de Draggendorff (formule de Munier et Macheboeuf). Le dosage est effectué par comparaison de l'égalité de l'intensité des taches d'une gamme de l'extrait avec celle de témoins de scopolamine ou d'hyoscyamine, chaque spot témoin contenant deux micro-grammes de chacune de ces bases.

Pour chaque stade de chaque condition lumineuse sept à onze dosages ont été effectués, répartis sur trois séries expérimentales. Les résultats énoncés sont les moyennes de ces dosages, accompagnées de leur intervalle de confiance calculées pour un coefficient de sécurité de 95 pour cent.

*Remerciements*—L'auteur tient à manifester toute sa gratitude à Mme. Dequeant pour son dévouement durant ce travail.

<sup>7</sup> R. R. PARIS et L. COSSON, *C. R. Acad. Sci. Paris* **260**, 3148 (1965).