

Extractibles volatils des feuilles de sequoia sempervirens français, influence de la position dans la canopée

LATORRE Loïc, MEHATS Jeremy, ROBLES Eduardo, CHARRIER Bertrand

IPREM – Université de Pau et des Pays de l'Adour, E25 UPPA, CNRS, IPREM,
Mont de Marsan, France

latorre@univ-pau.fr

Mots clés : sequoia sempervirens, terpènes, feuilles, extractibles, dominant, dominé

Introduction

Dans le contexte de changement climatique et de la nécessaire rapide adaptation des forêts françaises, de nombreuses essences exotiques font l'objet d'essai d'acclimatation depuis bientôt 40 ans.

Essence utilisée comme arbre d'ornement pendant près de deux siècles, le sequoia à feuilles d'if s'avère être une essence forestière présentant de nombreux atouts. Originaire de la côte californienne et dernier représentant de son genre, le sequoia toujours vert fait l'objet d'une sélection clonale importante par les équipes de l'AFOCEL puis du FCBA depuis 1976. A cette occasion différents patrimoines génétiques et différents critères d'adaptation ont pu être sélectionnés en vue d'une adaptation aux différents climats de la France métropolitaine.

Des plantations expérimentales ont été effectuées dans le Sud-Ouest, en Bretagne mais aussi dans le Centre et sur le pourtour méditerranéen. Il s'avère que le sequoia est une essence bien plus plastique qu'initialement supposée tant en terme climatologique que pédologique et les accroissements dans les stations les plus favorables surpassent nettement les productions des essences plus traditionnelles (jusqu'à 50 m³/ha/an). Ces résultats ont été publiés par Hainry et Colombet (2019) ainsi que par Gourdin et Boissesson (2013 ; 2015)

La sylviculture du sequoia se doit d'être très dynamique. L'essence supporte facilement la concurrence et doit être plantée à forte densité (1250 tiges/ha) avec une première éclaircie au bout de 12 à 15 ans puis une éclaircie tous les 5 à 8 ans avec un âge d'exploitation final vers 40 ans. Rejetant facilement de souche et capable de supporter l'ombrage, les plantations de sequoia peuvent rapidement être traitées en futaie irrégulière.

De part sa production importante de biomasse, l'étude de la valorisation des différents compartiments de cet arbre, dont le bois, permettrait d'envisager de nouvelles perspectives de valorisation. C'est dans une perspective d'utilisation de *Sequoia sempervirens* en tant que nouvelle essence forestière ou en diversification de la production sylvicole que nous étudions les potentialités de cet arbre tout d'abord en analysant la composition chimique des feuilles avant de s'intéresser à l'analyse physico-chimique du bois.

Matériel et méthodes

Prélèvements

Des feuilles de séquoia ont été prélevées durant 2 périodes (décembre 2023 – mars 2024 ; août 2024 – septembre 2024). Les prélèvements ont été faits sur des arbres de tailles et d'âge différent (rejet de souche et arbres dominants) sur 3 sites distincts (Montagut, Lâa-Mondrans et Arudy) situés dans les Pyrénées Atlantiques. Le site de Montagut (plantation : 1986) est issu de graines (origine USA) et de boutures (origine France), le site d'Arudy est issu de graines

(origine France, collectées sur un parc de 4 semenciers), le site de Lâa-Mondrans est issu d'un clonage. Les feuilles sont collectées sur des rameaux d'âge variable prélevés de manière à refléter la diversité des âges des feuilles sur chaque arbre. Les rameaux sont conservés dans des sacs hermétiques à -18°C avant l'analyse.

Extraction

Les feuilles sont séparées des rameaux puis broyées à l'aide d'un mixeur de cuisine jusqu'à obtenir des fragments de 2 à 5 mm. 3,0 g ($\pm 0,1g$) sont mis à macérer dans 30 mL de cyclohexane dans un erlenmeyer bouché à température ambiante pendant 48h. L'ensemble est filtré par gravité sur papier Watman puis le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif (température du bain : 30°C ; température du réfrigérant : 5°C ; pression : 150 mPa). L'extrait sec est ensuite dilué dans 3,0 mL de méthanol anhydre puis réparti dans 2 vials à chromatographie. Pour la quantification des monoterpènes, un étalon interne (isobutylbenzène) a été ajouté à la concentration de $0,100 \pm 0,002mg \cdot mL^{-1}$. Le TMAH est utilisé comme agent de méthylation et quelques gouttes de phénolphtaléine sont ajoutées comme indicateur de fin de réaction.

Les analyses ont été réalisées sur un appareil de chromatographie Perkin Elmer Clarus 590 équipé d'une colonne capillaire et couplé à un spectromètre de masse Perkin Elmer Clarus SQ8S. Le détecteur est équipé d'une source d'ionisation par impact électronique avec une énergie de 70 eV. Les conditions suivantes ont été mises en place :

- Injecteur : volume d'injection : 1 μ L, débit d'injection : 10 mL/min, gaz vecteur : hélium, température de l'injecteur : 300 °C
- Colonne : Elite-5MS longueur : 30 m, diamètre : 250 μ m, épaisseur de film : 0,25 μ m
- Four : rampe de 50 à 190 °C (8 °C/ min), de 190 à 300 °C (15 °C/ min) puis 300 °C / 10 min
- Spectromètre de masse : ligne de transfert : 200 °C, température de la source : 180 °C

Les analyses sont effectuées pour chaque période et pour chaque arbre en triplicat.

Analyses statistiques

Les analyses univariées (ANOVA) ont été établies avec l'outil intégré du logiciel libreoffice Calc ; les analyses multivariées (ACP) ont été faites à l'aide de bibliothèque panda et du logiciel python. Les représentations graphiques ont été obtenues avec jupyter notebook.

Les incertitudes ont été calculées à l'aide du logiciel libre GUMMC.

Résultats et discussion

Peu d'analyses ont été effectuées sur les feuilles des séquoias à ce jour. Pour ce qui concerne la provenance américaine, Hall et Langenheim (1986) ont mis en évidence une très faible variabilité intra arbre mais une forte dépendance de la composition en monoterpènes vis à vis de la provenance géographique. Le séquoia étant une essence à faible dispersion des graines, on peut supposer une influence du génotype mais aussi des facteurs abiotiques. Des prélèvements sur des branches basses reflètent donc la composition de l'ensemble de l'arbre. Okamoto et al (1981) ont montré une forte variabilité saisonnière dans la composition en composés volatils des feuilles. Le Tab. 1 récapitule les compositions relatives moyennes mesurées sur des séquoia californiens.

Pour les séquoias cultivés dans le Sud-Ouest de la France, les monoterpènes que nous avons pu identifier sont moins divers et nous avons pu mettre en évidence une nette distinction entre les

arbres dominants et les individus dominés. Les résultats de nos analyses sont résumés dans le Tab. 2.

Tab. 1 : composition relative (% des monoterpènes totaux) des séquoias californiens

no	composé	Pourcentage moyen	C.V.
1	α thujène	0,1	0,19
2	α pinène	16,5	0,14
3	camphène	0,2	1,12
4	β pinène	0,2	1,30
5	sabinène	27,6	0,07
6	myrcène	7,7	0,11
7	Limonène + β phellandrène	27,4	0,07
8	Cis- β -ocimène	0,1	0,65
9	γ terpinène	15,7	0,13
10	P-cymène	1,8	0,54
11	terpinolène	2,9	0,18

Source : Hall and Langenheim (1986)

Tab. 2 : composition relative (% des monoterpènes totaux) des séquoias cultivés en France

no	composé	Arbre dominant (n=33)		Arbre dominé (n=31)	
		Pourcentage	variance	pourcentage	variance
1	α thujène	1,80	0,01	2,06	0,02
2	α pinène	37,66	0,31	31,78	0,55
3	sabinène	14,52	0,25	18,08	0,74
4	myrcène	6,26	0,09	7,32	0,04
5	Limonène + β phellandrène	26,26	0,03	25,46	0,01
6	Cis- β -ocimène	0,97	0,24	0,86	0,38
7	γ terpinène	8,18	0,01	10,05	0,03
8	P-cymène	1,98	0,22	1,86	0,31
9	terpinolène	2,36	0,00	2,53	0,00
	Total monoterpènes	1,310		2,172	

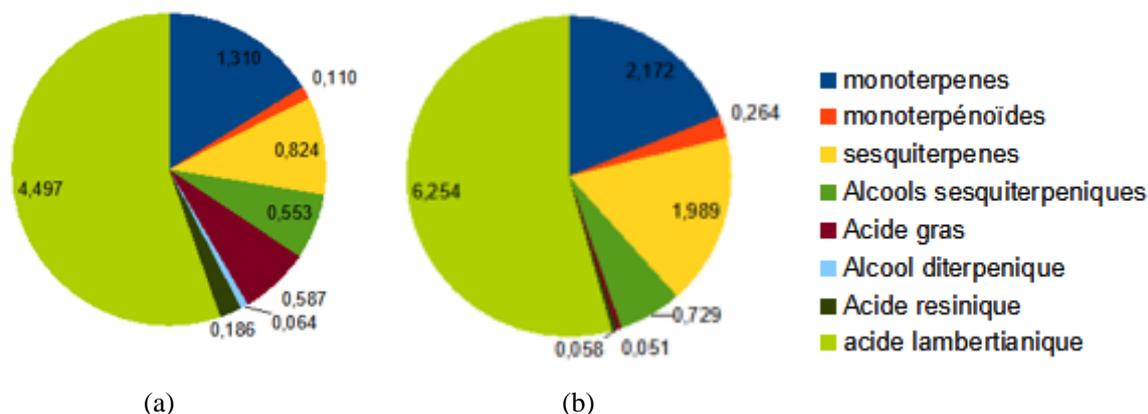
(total exprimé en mg/g de feuille sèche)

Nos analyses montrent que le séquoia pourrait être utilisé comme source de biomolécules pour l'industrie, cette essence pourrait être une alternative et/ou un complément au pin maritime. Ces mesures permettent d'envisager une valorisation des rémanents d'élagage ainsi qu'une exploitation des rejets de souches en fonction des molécules ciblées par l'utilisateur final.

Nous avons analysé toutes les molécules volatiles en GC-MS et nous avons pu identifier 55 molécules classées en fonction de leur type. La répartition de ces molécules (en pourcentage des extractibles totaux) pour les 2 étages est indiquée dans les Fig. 1a et 1b.

Le composé majoritairement extrait est un acide diterpénique de la famille des labdane, l'acide lambertianique. Cette molécule identifiée pour la première dans les aiguilles de pin à sucre (*Pinus lambertiana*) puis du pin de Corée (*Pinus koraiensis*). Lee et al (2016) ont pu démontrer que cette molécule a une activité antiobésité. Cette molécule présente en grande quantité dans les feuilles de séquoia (de 4 à 6 mg/g de feuille sèche) est aussi un antitumoral mais également un précurseur d'autres molécules dont les effets thérapeutiques sont avérés comme l'ont montré Tolstikova and al (2004) ainsi que Jeong et al (2017).

Le *Sequoia sempervirens* montre via ces premiers travaux sur les feuilles qu'il est une source naturelle de molécules d'intérêts industriels et pharmaceutiques. Cette source peut être facilement valorisée avec de faibles coûts d'extraction, et de part la production importante de biomasse de cette essence, elle pourrait être un apport pour l'industrie chimique européenne dans un contexte de forte concurrence internationale. Les analyses qui seront prochainement menées sur le bois compléteront cette première étape sur le potentiel de valorisation que peut apporter cette essence.



(a) (b)
Fig. 1 : concentration moyenne des extractibles (en mg/g de feuille sèche) :
(a) arbres dominants ; (b) arbres dominés

Remerciements

Les auteurs remercient le FCBA pour son appui technique et le CRPF Nouvelle-Aquitaine pour son aide dans l'identification et le suivi des parcelles de séquoia.

Références

- Lee MS, Lee SO, Kim SH, Lee EO, Lee HJ (2016) Anti-cancer effect of lambertianic acid by inhibiting the AR in LNCaP cells, *Int. J. Mol. Sci.*, 17(7), 1066; <https://doi.org/10.3390/ijms17071066>
- Jeong A, Kim JH, Lee HJ, Kim SH (2017) Reactive oxygen species dependent phosphorylation of the liver kinase B1/AMP activated protein kinase/ acetyl-CoA carboxylase signaling is critically involved in apoptotic effect of lambertianic acid in hepatocellular carcinoma cells. *Oncotarget*. Jul 26;8(41):70116-70129. doi: <https://10.18632/oncotarget.19592>. PMID: 29050265; PMCID: PMC5642540.
- Lee MS, Cho SM., Lee Mh et al. (2016) Ethanol extract of *Pinus koraiensis* leaves containing lambertianic acid exerts anti-obesity and hypolipidemic effects by activating adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK). *BMC Complement Altern Med* 16, 51 <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1031-2>
- Tolstikova T, Sorokina I, Dolgikh M, Kharitonov Yu., Chernov S., Shul'ts É, Tolstikov G (2004) Neurotropic activity of lambertianic acid adducts with N-substituted maleinimides, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, Vol 38, Issue 10, p532.
- Hainry D, Colombet M (2009) Bilan des introductions et perspectives d'utilisation du Séquoia toujours vert (*Sequoia sempervirens*) en Bretagne, CRPF Bretagne, 12 p. <http://www.crfp.fr/bretagne/pdfinformation/Sequoia%20toujours%20vert.pdf>
- Gourdin H, Fauconnier T (2015) Les séquoias, champions de la biomasse. La Forêt Privée, n°344.

de Boisseson J-M (2015) Quelques réussites d'espèces forestières introduites en Aquitaine, FCBA info.

Harvengt L, Bouvet A, de Boisseson J-M Berthelot A, Fauconnier T (2013) Le *Sequoia sempervirens* : un géant de la biomasse, FCBA info.

George D. Hall GD, Langenheim JH (1986) Within-Tree Spatial Variation in the Leaf Monoterpenes of *Sequoia sempervirens* Biochemical Systematics and Ecology, Vol. 14, No. 6, pp. 625-632.

Robert A. Okamoto, Barbara O. Ellison,' and Richard E. Kepner (1981) Volatile Terpenes in *Sequoia sempervirens* Foliage. Changes in Composition during Maturation J. Agric. Food chem. No. 29, pp. 324-326