

## Biochimie

# L'épineuse question du parfum des roses

D'où vient le parfum des roses? Après dix ans de recherche, des biologistes ont réussi à identifier les mécanismes à l'origine de cette odeur particulière.

**Jean-Claude Caissard**, biochimiste

## Repères

- La finesse olfactive de la rose est apportée par une classe de molécules, les terpènes.
- Il a fallu dix ans pour comprendre comment l'un d'entre eux, le géraniol, est synthétisé chez la rose.
- Le gène qui permet sa fabrication existe aussi chez l'homme, mais dans un rôle totalement différent puisqu'il s'agit d'un antimutagène.

Lorsqu'on évoque les roses, on pense aux variétés vendues par les fleuristes, colorées, délicates... mais dépourvues de parfum. On pense rarement aux variétés qui sentent l'anis, la pêche, voire la punaise et qui jalonnent les jardins d'ornement. Si l'on devait définir l'odeur typique des roses, ce serait celle des variétés que l'on collectionne depuis le XVIII<sup>e</sup> siècle et qui fleurissaient hier dans les jardins de nos grands-mères ou celle des variétés cultivées pour l'industrie du parfum, au Maroc, en Turquie, et à Grasse, en France.

Une analyse de cette odeur caractéristique révèle l'existence d'une centaine de molécules volatiles, parmi lesquelles moins d'une dizaine participent à l'odeur de la rose. Depuis une dizaine d'années, nous étudions les voies de synthèse biologique de ces quelques molécules. Récemment, nous avons ainsi mis en évidence qu'un gène habituellement impliqué dans la lutte contre les mutations génétiques chez les bactéries, les plantes et l'homme est, chez la rose, à l'origine de la synthèse des molécules odorantes, participant pleinement à son parfum typique (1).

Les molécules odorantes émises par les roses se classent en trois familles biochimiques. La première, celle des oxylipides, contient des molécules volatiles dérivées des acides gras. On y trouve par exemple des hexénols, aussi présents dans l'herbe coupée. La deuxième famille contient des molécules dérivées de la

phénylalanine, un acide aminé. Parmi elles, on peut citer l'eugénol, majoritaire dans l'odeur des clous de girofle. On peut aussi noter l'alcool phényléthylique, présent en grande quantité dans l'eau de rose après distillation.

La dernière famille, celle des terpènes, rassemble les produits de la polymérisation de deux molécules à cinq carbones. On retrouve cette famille de molécules dans toutes les plantes. Chez la rose, certains terpènes apportent une finesse olfactive qui permet aux parfumeurs de distinguer les extraits naturels des produits artificiels. C'est cette famille de molécules qui nous a intéressés. Plus spécifiquement, nous avons travaillé sur le géraniol, un terpène de structure acyclique qui participe au parfum particulier de la rose et que l'on retrouve dans d'autres essences comme celles du géranium odorant ou du basilic.

Pas une seule voie de biosynthèse des composés odorants de la rose n'était connue lorsque nous avons débuté notre travail, il y a une dizaine d'années. En 2006, Philippe Huguency et Mark Cock, nos partenaires de l'École normale supérieure de Lyon, ont été les premiers à caractériser l'une de ces voies, celle du diméthoxytoluène, la molécule conférant à certaines roses chinoises une odeur dite de « thé ». Jean-Louis Magnard et Sylvie Baudino, mes collègues du laboratoire de biotechnologies végétales appliquées aux plantes aromatiques et médicinales, de l'université Jean-Monnet, à Saint-Étienne, ont, quant à eux, entrepris de comparer deux variétés de roses génétiquement proches : Papa Meilland, très odorante, et Rouge Meilland, non odorante. L'idée



de cette expérience était de vérifier si la production des molécules odorantes a bien une origine génétique. Le séquençage à haut débit n'existant pas à l'époque, il a fallu comparer les ARN messagers (ARNm) des deux plantes, autrement dit les molécules produites juste après la lecture des gènes, avant que la protéine soit synthétisée. Ils ont réalisé ce travail de comparaison aux stades des boutons fermés et des fleurs épanouies. Cela leur a permis de distinguer les ARNm produits à ces deux stades. Ils ont ainsi mis en évidence la présence d'un ARNm en très grande quantité, exclusivement dans les fleurs épanouies de la rose Papa Meiland (odorante), révélant un gène, le NUDX1, hautement actif au moment de l'émission du parfum. Ce gène s'est révélé coder une enzyme de la famille des Nudix hydrolases de type 1. L'élucidation de sa fonction exacte chez la rose nous a demandé dix ans de travail.

### SYNTHÈSE D'UNE MOLÉCULE ODORANTE

La première stratégie a été de caractériser l'expression du gène NUDX1. Grâce à la mise en place d'outils génomiques par l'équipe de Mohammed Bendahmane, de l'ENS de Lyon, et par le groupe National Rose (2), nous avons mis

en évidence que ce gène s'exprime uniquement dans les pétales, au moment de l'épanouissement des roses, c'est-à-dire au moment de l'émission du bouquet odorant. En outre, nous avons montré que le gène NUDX1 s'exprime 7 000 à 20 000 fois plus dans les roses parfumées que dans celles sans parfum.

La deuxième stratégie a été de corréler l'expression du gène avec l'émission de molécules par les pétales. Pour une dizaine de variétés de roses, l'expression du gène NUDX1 est corrélée à la présence de terpènes acycliques. Une corrélation n'ayant pas forcément un lien de causalité direct, nous avons complété ces observations par l'étude d'une lignée transgénique de rosiers Old Blush, dont l'expression du gène NUDX1 avait été inhibée. Nous avons ainsi établi que la lignée transgénique ne produit plus le géraniol habituellement synthétisé par cette variété.

Une autre indication majeure nous a été fournie par Fabrice Foucher et son équipe, de l'Inra d'Angers, qui ont établi une carte génétique du rosier, c'est-à-dire une représentation des chromosomes sur lesquels sont indiquées les positions des gènes. Ils ont réalisé ce travail sur les descendants d'un croisement entre deux variétés de rosiers : Old Blush et *Rosa wichurana*. ●●●

▲ *L'industrie du parfum a besoin de grandes quantités de pétales. Elle s'approvisionne dans différentes régions du monde, notamment dans la Vallée des roses, au Maroc.*



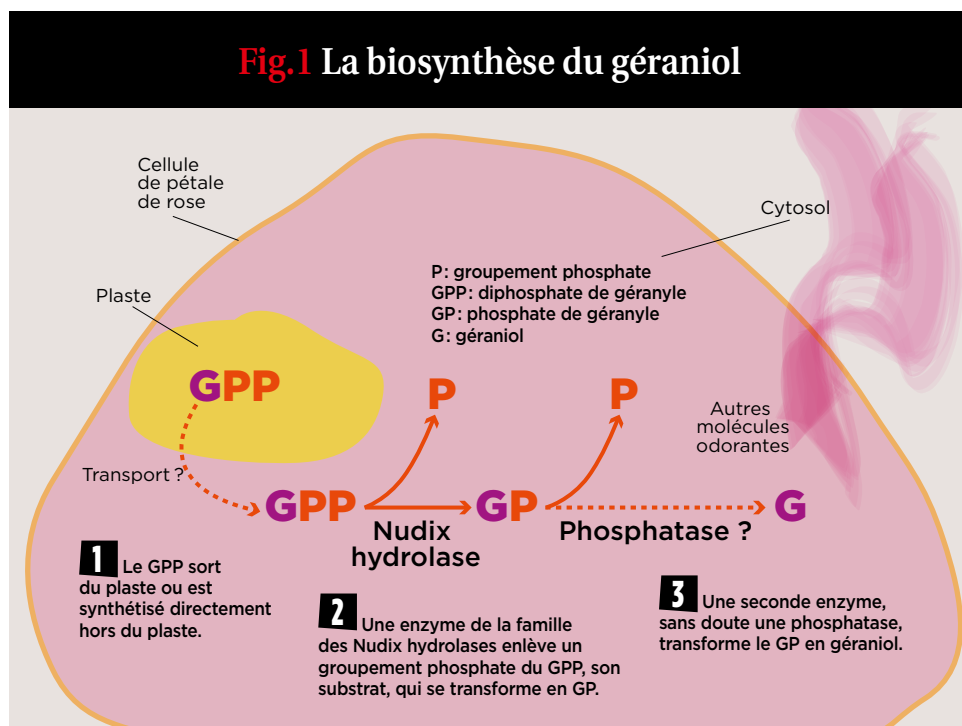
▲ Contrairement à la Rouge Meiland (en bas), la rose Papa Meiland (en haut) est parfumée. Son gène *NUDX1* lui permet de synthétiser le géraniol, une molécule odorante.

●●● Le parent Old Blush, qui possède un allèle (\*) fonctionnel *NUDX1* codant la Nudix hydrolase, produit une grande quantité de géraniol. L'autre parent, qui ne produit pas de géraniol, ne possède pas d'allèle fonctionnel, c'est-à-dire qu'il ne produit pas d'ARNm. Nous avons mis en évidence une forte corrélation entre ces caractères dans la descendance: tous les individus ayant hérité de l'allèle fonctionnel produisent du géraniol, les autres n'en produisent pas. Conclusion: le gène *NUDX1* permet de fabriquer une enzyme, la Nudix hydrolase, qui intervient dans la synthèse d'une molécule odorante, le géraniol. Il restait à caractériser la façon dont cette enzyme fonctionne et, surtout, de trouver la molécule sur laquelle elle agit, son «substrat». Cette étape nous a causé des problèmes car la Nudix hydrolase n'a pas la même fonction chez d'autres êtres vivants (lire p. 75). Dans la plupart des plantes, la synthèse du géraniol fait intervenir une autre enzyme: la géraniol synthétase. Comme nous l'expliquons plus haut, les terpènes sont produits à partir de deux molécules à cinq carbones. Dans le cas du géraniol, la réaction de polymérisation entre ces deux molécules engendre un produit intermédiaire doté de deux groupements phosphate, le diphosphate de géranyle (GPP). C'est là

que la géraniol synthétase intervient: elle coupe les deux groupements phosphate du GPP pour produire du géraniol. Malgré plusieurs tentatives, nous n'avons trouvé aucune trace de géraniol synthétase dans les roses. Comment dès lors fabriquer du géraniol? Grâce à l'enzyme Nudix hydrolase! Avec l'aide de Michel Rohmer, de l'université de Strasbourg, et de Philippe Hugueney, de l'Inra de Colmar, nous avons démontré que l'enzyme Nudix hydrolase de la rose utilise le GPP comme substrat mais avec un fonctionnement différent de la géraniol synthétase. Alors que cette dernière enlève les deux phosphates du GPP en une seule étape, la Nudix hydrolase n'en retire qu'un seul pour donner du phosphate de géranyle (GP), une molécule non volatile. Nous n'avons pas encore caractérisé la suite de la voie de biosynthèse mais il est très probable qu'une nouvelle enzyme, du type phosphatase, transforme le GP en géraniol (Fig. 1).

### UN VÉRITABLE LANGAGE

Cette découverte surprenante nous pose de nombreuses questions. La première concerne la localisation intracellulaire de la réaction. En effet, chez toutes les plantes, le GPP est synthétisé dans



(\*) Un allèle est une des différentes versions d'un gène.

## L'ÉTRANGE ADAPTATION DE LA ROSE

Pour se prémunir de certaines mutations délétères, les bactéries, les hommes et certaines plantes sont dotés d'une famille particulière d'enzymes : les Nudix hydrolases de type 1. Ces enzymes sont capables de couper une liaison phosphate entre un nucléotide (\*) et un groupe chimique quelconque pour neutraliser une molécule, le 8-oxo-dGTP, responsable de certaines

mutations génétiques. Si elle est intégrée au génome, cette molécule peut s'apparier à deux nucléotides, l'adénine et la cytosine, et créer une mutation. L'accumulation de ce type d'erreurs peut s'avérer létale pour les cellules. L'action des Nudix hydrolases est donc plutôt bénéfique puisqu'elle empêche les mutations. Toutefois, dans certaines tumeurs humaines,

leur action est néfaste : l'accumulation de 8-oxo-dGTP dans les cellules tumorales conduirait à leur autodestruction si la Nudix hydrolase fonctionnait normalement. Mais on constate qu'elle est anormalement surexprimée et donc que le mécanisme d'autodestruction est enrayé (3). Cette enzyme n'a pas la même fonction chez la rose. Elle est impliquée dans la

production de molécules odorantes telles que le géraniol. Les chercheurs n'ont pas encore élucidé la cause évolutive du détournement de cette fonction antimutagène par les roses. Une hypothèse est que les odeurs produites grâce à la Nudix hydrolase auraient apporté un avantage sélectif aux roses, notamment vis-à-vis de leurs interactions avec les insectes.

les plastes, les organites situés à l'intérieur des cellules végétales eucaryotes. Mais chez la rose, la Nudix hydrolase est localisée hors des plastes, dans le cytosol. Dès lors, y a-t-il un transport du GPP des plastes vers le cytosol ou une production directe dans le cytosol par une voie inconnue ?

La deuxième question concerne l'origine évolutive de la nouvelle fonction de cette Nudix hydrolase. Est-elle apparue au moment de la domestication des roses, ou bien était-elle déjà présente

dans les roses sauvages ? On sait par exemple que la couleur rouge vermillon de certaines roses n'est pas une couleur présente chez les roses sauvages. Elle s'explique par une mutation apparue dans un jardin et sélectionnée par l'homme, donc sans rôle écologique. Si l'on parvient à démontrer que la Nudix hydrolase a le même rôle dans les roses sauvages que celui que nous venons de découvrir dans les variétés horticoles, c'est que la molécule de géraniol a peut-être un rôle écologique. Les molécules odorantes forment en effet un véritable langage pour les insectes. Quelle serait la signification du géraniol dans ce langage ?

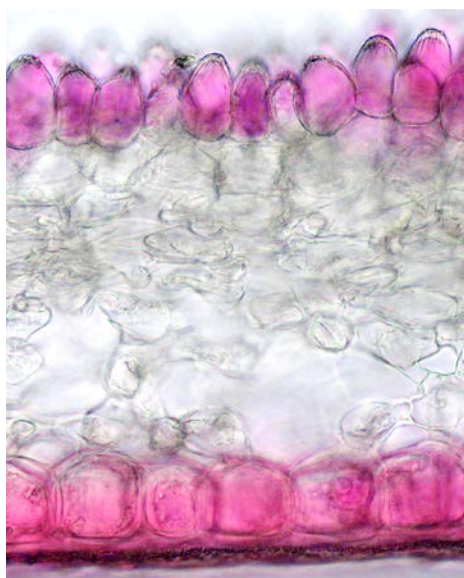
La dernière question est de savoir s'il est possible d'utiliser le gène NUDX1 pour sélectionner les variétés contenant les molécules odorantes de la famille du géraniol. Si oui, pourrait-on utiliser ce test génétique comme on le fait pour sélectionner les grains de blé ? Pour dénicher des roses parfumées, les sélectionneurs pourraient ainsi trier les graines issues du croisement de différentes variétés de roses dès le stade de la germination, sans attendre la floraison. Grâce aux outils génomiques et génétiques qui se mettent en place sur la rose (carte génétique, séquence du génome), le potentiel est énorme, à la fois pour obtenir de nouvelles variétés odorantes de roses coupées mais aussi pour augmenter les rendements des roses à parfum les plus utilisées, comme *R. x damascena* et *R. x centifolia*, deux hybrides cultivés quasi à l'identique depuis le Moyen Âge. ■

(1) J.-L. Magnard *et al.*, *Science*, 349, 81, 2015.

(2) A. Dubois *et al.*, *BMC Genomics*, 13, 638, 2012.

(3) H. Gad *et al.*, *Nature*, 508, 215, 2014.

(\*) Un nucléotide est une molécule organique, élément de base de l'ADN et de l'ARN.



▲ Cette coupe transversale d'un pétale de rose montre les cellules de l'épiderme supérieur (coniques) et les cellules de l'épiderme inférieur (plates). C'est dans ces cellules que sont synthétisés le géraniol et de nombreuses autres molécules odorantes.

### Pour en savoir plus

- X. Fernandez et F. Chemat (dir.), *La Chimie des huiles essentielles, tradition et innovation*, Vuibert, 2012.
- M. Hossaert-McKey et A.-G. Bagnères-Urbany (dir.), *Écologie chimique, le langage de la nature*, Le Cherche Midi, 2012.
- C. Kole (dir.), *Rosa, in Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Plantation and Ornamental Crops*, p. 243, Springer-Verlag, 2012.
- G. Krüssmann, *The Complete Book of Roses*, Timber Press, 1981.