

ANNALES
DE LA
SOCIÉTÉ LINNÉENNE
DE LYON

FONDÉE EN 1822

ET DES

SOCIÉTÉ BOTANIQUE DE LYON
SOCIÉTÉ D'ANTHROPOLOGIE ET DE BIOLOGIE DE LYON

RÉUNIES

ANNÉE 1923

NOUVELLE SÉRIE. — TOME SOIXANTE-DIXIÈME



α βοτάται σιγηλώς τὸ ὄφελον
προΐσονται.

LYON

JOANNÈS DESVIGNE & C^{IE}, LIBRAIRES-ÉDITEURS

36 A 42, PASSAGE DE L'HOTEL-DIEU

1924

LA

COAGULATION SPONTANÉE DU SUC DE TOMATE

CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DES PHÉNOMÈNES DE COAGULATION DANS LES LIQUIDES ORGANIQUES

PAR
PIERRE NOBÉCOURT

Préparateur de Physiologie générale et comparée à la Faculté des Sciences.

Présenté à la Société Linnéenne de Lyon, en la Séance du 26 Février 1923.

Ayant été amené, au cours de recherches sur l'Immunité chez les Végétaux, qui seront publiées ultérieurement, à préparer du suc de Tomate, nous avons pu constater que ce suc présente, quelques instants après sa préparation, un phénomène de coagulation spontanée très net. Pour obtenir ce suc, il suffit de presser des morceaux de Tomate mûre (1) dans un linge : il s'écoule un liquide rougeâtre, formé de suc cellulaire tenant en suspension, ainsi que le montre l'examen microscopique, des débris de membrane cellulosique, des fragments protoplasmiques et des grains de lycopine, qui lui donnent sa teinte. Ce suc, d'abord bien fluide, se coagule assez rapidement, généralement en une dizaine de minutes, tantôt en une seule masse gélatineuse, parfois assez cohérente pour que l'on puisse renverser le vase où elle s'est formée, tantôt en caillots isolés, séparés par un liquide limpide jaune pâle, qui, par analogie avec la terminologie adoptée dans l'étude de la coagulation d'autres liquides organiques (sang, lait, suc musculaire), peut être appelé « sérum ».

(1) Le suc de Tomate verte ne coagule pas. Le suc de Tomate, dans un état de maturation trop avancé, coagule mal.

Nous avons eu l'idée d'essayer sur ce suc de Tomate l'action de quelques-unes des substances qui sont anticoagulantes pour le sang : oxalates d'ammonium et de potassium, fluorure, citrate, sulfate et chlorure de sodium, sulfate de magnésium.

Recueilli dans un verre contenant du citrate, du sulfate ou du chlorure de sodium, ou du sulfate de magnésium, le suc de Tomate coagule aussi rapidement que s'il était pur, même si ces produits sont en quantité suffisante pour que le suc en soit saturé.

Par contre, les oxalates d'ammonium et de potassium, et le fluorure de sodium montrèrent un très grand pouvoir anticoagulant. Une dose d'oxalate d'ammonium ou de potassium, n'atteignant que $1/1000^e$ du poids du suc de Tomate recueilli, est suffisante pour en empêcher toute coagulation. Une dose de $1/2000^e$ retarde fortement la coagulation. Avec le fluorure de sodium, il faut employer une dose de $3/1000^e$ pour rendre le suc incoagulable ; à la dose de $2/1000^e$, la coagulation n'est qu'un peu ralentie et, à celle de $1/1000^e$, on ne constate pas d'effet appréciable.

En laissant reposer ou en centrifugeant ces sucs oxalatés ou fluorurés non coagulables, il se produit au fond du verre un sédiment composé des substances insolubles qui étaient en suspension dans ces sucs. Ce sédiment est surmonté d'un liquide limpide jaune clair que l'on peut séparer par décantation ou mieux par filtration, et qui pourrait être appelé « plasma » (oxalaté ou fluoruré).

Les oxalates et fluorures alcalins étant des décalcifiants, il était à supposer que l'action anticoagulante qu'ils exercent est due à ce qu'ils privent le suc de Tomate de ses ions Ca en les précipitant sous forme de sels insolubles (oxalate et fluorure de calcium). Cette hypothèse se vérifie : en effet, si on recalcifie ce suc en y ajoutant quelques gouttes d'une solution de chlorure ou d'azotate de calcium, la coagulation se produit en quelques secondes. Les chlorures des métaux alcalino-terreux, strontium et baryum font également coaguler en quelques secondes les sucs de Tomates oxalatés ou fluorurés. Le chlorure de magnésium n'a point d'effet. Toutefois ces expériences ne sont pas absolument décisives, car on peut admettre que c'était la présence d'un excès d'oxalate ou de fluorure non combiné au calcium

qui empêchait la coagulation ; cet excès étant détruit par l'addition de sels solubles de calcium, strontium ou baryum, la coagulation pourrait ainsi se produire. Mais, si par le dialyse on prive le suc oxalaté de ses sels solubles, donc de l'oxalate alcalin en excès, la coagulation ne se produit pas davantage. On peut donc conclure que la présence de sels solubles de métaux alcalino-terreux est un des facteurs de la coagulation.

La coagulation par addition de sels alcalino-terreux solubles se produit non seulement avec le suc oxalaté ou fluoruré total contenant les impuretés en suspension, mais aussi avec le plasma oxalaté ou fluoruré (1).

Si on ajoute à du suc de Tomate normal quelques gouttes d'une solution de chlorure ou d'azotate de calcium, de chlorure de baryum ou de strontium, la coagulation se produit presque instantanément, au lieu de nécessiter une dizaine de minutes. On voit par là le grand rôle que les ions alcalino-terreux jouent dans ces phénomènes de coagulation.

D'autre part, les phénomènes de coagulation étudiés jusqu'à ce jour nécessitent l'intervention d'une enzyme. Il semble bien qu'il en soit de même dans le cas présent. En effet, recueilli dans un vase placé au bain-marie à une température d'environ 80°, le suc de Tomate ne se coagule pas, et, après refroidissement, il demeure incoagulable. De même, le suc ou le plasma oxalates, après avoir été chauffés deviennent incoagulables par l'action des sels solubles de calcium. Ceux-ci ne sont donc pas suffisants pour provoquer la coagulation : il faut en outre l'intervention d'une substance thermolabile qui est vraisemblablement une enzyme.

Nous avons d'abord pensé que cette substance pourrait se retrouver dans le sérum et qu'en ajoutant de ce sérum à du suc chauffé nous pourrions obtenir la coagulation. Il n'en a rien été, le mélange est toujours resté parfaitement liquide. Nous ne pouvons expliquer ce résultat négatif qu'en admettant, soit que la

(1) L'oxalate d'ammonium et le fluorure de sodium exercent à la longue une action importante sur le suc de Tomate. Si, en effet, on ne rajoute les sels alcalino-terreux que vingt-quatre heures après la préparation des sucs oxalates ou fluorurés, on n'obtient plus de coagulation. On peut admettre que la substance coagulable a été détruite par suite d'un phénomène analogue aux « digestions salines » de Dastre.

substance coagulable a été détruite par la chaleur, soit que l'enzyme coagulante a été adsorbée par le coagulum. Cette dernière hypothèse nous semble la plus probable. Des expériences ultérieures nous permettront sans doute de fixer notre choix.

Nous avons eu très souvent l'occasion de constater que le suc extrait de Tomates inoculées avec des champignons parasites (*Mucor stolonifer*, *Botrytis cinerea*, *B. cana*, etc.) ne coagule jamais. Le *B. cinerea* et le *B. cana* sécrétant des oxalates solubles dans les plantes qu'ils parasitent, l'incoagulabilité semblait s'expliquer par le fait de cette sécrétion. Mais le *Mucor stolonifer* ne sécrète point d'oxalates. Il fallait donc, dans ce cas, chercher une autre cause. D'ailleurs, l'addition d'azotate de calcium aux sucs provenant de Tomates parasitées par les *Botrytis* n'amenait que la production d'un fin précipité d'oxalate de calcium, mais pas de coagulum gélatineux. Donc, même dans le cas des *Botrytis*, l'action anticoagulante des oxalates solubles n'est pas la seule cause de l'incoagulabilité des sucs de Tomates parasitées. On pouvait alors penser qu'il existe dans les sucs une substance anticoagulante autre que les oxalates, substance qui aurait été sécrétée par les champignons dans les tissus du fruit.

Désireux de vérifier cette hypothèse, nous avons effectué à plusieurs reprises l'expérience suivante : du suc de Tomate mûre saine fut recueilli dans deux verres à essais, contenant, en volumes égaux aux volumes de suc recueilli, l'un, du suc de Tomate attaquée par le *Mucor stolonifer*, l'autre, de l'eau. Dans les deux verres, il se forma des caillots gélatineux. Donc, on ne peut pas mettre en évidence de substance anticoagulante dans le suc de Tomate parasitée par le *Mucor stolonifer*. Comment expliquer alors l'incoagulabilité de ce suc ? On peut admettre que la substance ou l'enzyme coagulante ont été détruites par le champignon. Mais, dans ces deux cas, il semble que le suc de la Tomate parasitée, suc qui contient les sécrétions du champignon, produirait les mêmes effets destructeurs que le champignon lui-même et par suite empêcherait la coagulation. L'action du chloroforme sur la coagulation nous fournira une autre hypothèse.

Un point intéressant à élucider est celui de savoir pourquoi la coagulation ne se produit pas à l'intérieur des tissus de la Tomate saine, mais seulement après broyage de ces tissus. On

peut supposer que la substance coagulable et la substance coagulante sont contenues dans les cellules distinctes et n'entrent en conflit que lors de la destruction des parois cellulaires. On connaît plusieurs exemples de faits analogues chez les végétaux (action de la myrosine sur la sinigrine, chez la moutarde, donnant l'essence de moutarde, action de l'émulsine sur l'amygdaline, dans les amandes amères, donnant de l'acide cyanhydrique et de l'aldéhyde benzoïque ou essence d'amandes amères, etc.). Or, on sait que l'action des vapeurs de chloroforme ou d'éther (atmolyse de Raphaël Dubois) produit, dans ces cas, le même résultat que le broyage, en faisant sortir les sucres cellulaires dans les espaces intercellulaires où ils peuvent réagir les uns sur les autres. Nous avons donc voulu voir ce que produirait l'action des vapeurs de chloroforme sur des Tomates mûres donnant normalement un suc très coagulable. Ces Tomates furent laissées vingt-quatre heures dans un bocal bouché contenant à sa partie supérieure un tampon de coton imbibé de chloroforme. Retirées du bocal, elles se montrèrent très ramollies ; en les pressant dans un linge, il s'écoula un suc qui ne se coagula ni spontanément, ni par addition d'azotate de calcium.

Deux hypothèses se présentent pour expliquer cette incoagulabilité : ou bien la présence de chloroforme empêche la coagulation, ou bien au contraire la coagulation a eu lieu dans l'intimité des tissus avant l'expression à travers le linge et ce n'est que le sérum qui s'est écoulé. La première hypothèse est à rejeter, car, si on recueille du suc de Tomate normale dans un verre contenant du chloroforme, la coagulation se produit normalement. Donc, il faut admettre la deuxième hypothèse, c'est-à-dire que la coagulation a eu lieu dans les espaces intercellulaires par suite de la sortie des sucres hors des cellules sous l'influence de l'atmolyse.

Cette expérience permet de proposer une explication de l'incoagulabilité des sucres de Tomates parasitées par les divers champignons cités ci-dessus. Nous avons, en effet, pu constater antérieurement (1) que les sécrétions de ces parasites amènent la

(1) P. Nobécourt : Sur le mécanisme de l'action parasitaire du *Penicillium glaucum* Link et du *Mucor stolonifer* Ehrenb. (*C. R. Ac. Sc.*, 26 juin 1922). Nous avons depuis constaté les mêmes faits avec un certain nombre d'autres champignons phytopathogènes et notamment les *B. cinerea* et *cana*.

plasmolyse des cellules et par suite la sortie des sucs cellulaires : le résultat, à ce point de vue, est donc le même que celui des vapeurs anesthésiques et le suc qui s'écoule par pression ne contient plus de substance coagulable, celle-ci ayant déjà subi la coagulation.

Ajoutons quelques détails sur les propriétés du coagulum obtenu en abandonnant du suc de Tomate mûre normale à lui-même :

Ce coagulum ne se liquéfie pas par la chaleur du bain-marie et est insoluble dans l'eau chaude, contrairement aux « gelées de fruits » utilisées dans l'alimentation. Toutefois, du suc de Tomate coagulé, soumis à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes, se liquéfie et demeure incoagulable par refroidissement.

Ce coagulum se dissout lentement dans des solutions à 1/1000^e d'oxalate d'ammonium et à 3/1000^e de fluorure de sodium. Par contre, dans les sucs extraits de Tomates attaquées par le *Mucor stolonifer*, et en présence de chloroforme pour éviter le développement des microorganismes, des fragments de coagulum se conservent indéfiniment sans se dissoudre. Si on abandonne à l'air le verre où le suc de Tomate s'est coagulé, celui-ci se recouvre généralement au bout de peu de jours d'une riche végétation de *Mucor stolonifer*, mais la croissance de cette moisissure n'amène pas la décoagulation. Il résulte de ces faits que le suc de Tomate attaquée par le *Mucor* n'a ni pouvoir anticoagulant, ni pouvoir décoagulant.

La coagulation du suc de Tomate, qui est, croyons-nous, le premier exemple signalé de coagulation spontanée d'un suc végétal, demande à être comparée aux divers phénomènes de coagulation déjà connus : coagulation spontanée du sang et du myoplasma, coagulation du lait provoquée par l'addition de présure, coagulation des solutions de pectine provoquée par l'addition de pectase. Eu égard au mode d'obtention de notre suc de Tomate, c'est de la coagulation du suc musculaire ou myoplasma, qu'il conviendrait de la rapprocher. Mais cette coagulation est encore très mal connue. On assimile cependant son mécanisme à celui de la coagulation du sang. On sait que celui-ci se coagule sous l'influence d'une enzyme, la plasmase, thrombine ou fibrin-ferment, qui se forme dans le plasma. Si on précipite les sels de calcium par les oxalates ou les fluorures alcalins, le sang devient

incoagulable. En rajoutant des sels solubles de calcium (ou de strontium) au sang oxalaté, il redevient coagulable, mais le sang fluoruré reste incoagulable. Contrairement à ce qui a lieu pour le suc de Tomate, les sels solubles de baryum ne provoquent pas la coagulation du sang décalcifié. Outre les décalcifiants, un très grand nombre de substances rendent le sang incoagulable : par exemple, le citrate de soude à faible dose et le sulfate et le chlorure de sodium, le sulfate de magnésium, à doses beaucoup plus fortes. Nous avons vu que tous ces corps sont sans influence sur la coagulation du suc de Tomate.

Le lait se comporte d'une manière analogue : sous l'influence d'un ferment (présure ou labferment), il coagule. Si on le décalcifie par un oxalate ou un fluorure alcalin, il ne coagule plus, mais si on le recalcifie, il redevient coagulable, même dans le cas de l'addition de fluorure. Il y aurait là une différence avec le sang, mais une analogie avec le suc de Tomate. Le citrate de soude empêche aussi la coagulation, mais son action cesse par l'addition de sels solubles de calcium.

Mais c'est de la coagulation pectique qu'il semble le plus naturel de rapprocher la coagulation du suc de Tomate, la pectine ayant une origine végétale. On sait que Braconnot, puis Frémy, ont donné le nom de pectine à une substance soluble dans l'eau qu'ils extrayaient des fruits mûrs et que Bertrand et Mallèvre, Bourquelot et Hérissé, Javillier ont extrait, par la suite, de tissus végétaux très divers, en les soumettant à des traitements hydrolytiques. La constitution chimique de la pectine (ou plutôt des pectines) et des composés voisins est encore très mal connue. Les travaux les plus récents (Tollens) tendent toutefois à les rapprocher des hydrates de carbone. Bertrand et Mallèvre ont montré que, sous l'influence d'une enzyme (pectase), très répandue dans le règne végétal, les solutions de pectine coagulent. Le coagulum ainsi obtenu serait du pectate de calcium. Si on opère avec des solutions de pectine et de pectase décalcifiées par l'oxalate d'ammonium, il ne se produit pas de coagulation. En rajoutant du chlorure de calcium, on obtient la coagulation. La nature enzymatique de la pectase est démontrée par ce fait que, chauffée à 100°, elle perd son pouvoir coagulant.

Il eut été intéressant de rechercher si la coagulation spontanée du suc de Tomate est une coagulation pectique ; dans ce cas,

ce suc se révélerait ainsi comme exceptionnellement riche en pectine, car on n'a pas encore signalé pareille coagulation spontanée dans les sucS végétaux d'où l'on a jusqu'ici extrait la pectine. Malheureusement, il ne nous a pas été possible d'effectuer des recherches dans ce sens avant la fin de la saison des Tomates et nous sommes forcé de les remettre à plus tard.

(Travail du *Laboratoire de Physiologie générale et comparée de la Faculté des Sciences de Lyon*)