

Biosynthèse des acides gras par le parenchyme de pomme^(*)

II

par P. MAZLIAK

Laboratoire de physiologie végétale appliquée, Sorbonne.

BIOSYNTÈSE DES ACIDES GRAS
PAR LE PARENCHYME DE POMME.

par P. MAZLIAK (Sorbonne)

Fruits, vol. 20, n° 11, déc. 1965, p. 605 à 614.

RÉSUMÉ. — 1) Des fragments de parenchyme de pomme immergés dans une solution glucosée de précurseur radioactif contenant de l'ATP, des ions Mn^{++} , et divers sels, synthétisent des acides gras marqués. L'acétate $-1-^{14}C$, le malonate $-1-^{14}C$ ou le glucose $-U-^{14}C$ sont incorporés dans les acides gras saturés et insaturés du tissu (il s'agit principalement des acides linoléique, palmitique, stéarique, oléique, et linoléique).

2) Le carbone marqué de l'acétate $-1-^{14}C$ est incorporé dans les acides gras environ cinq fois plus activement que celui du malonate $-1-^{14}C$ et dix fois plus activement que celui du glucose $-U-^{14}C$. Une température de 25°C, un pH voisin de la neutralité, une atmosphère riche en oxygène sont les conditions les plus favorables aux synthèses.

3) L'acide oléique est très rapidement formé. Cet acide incorpore, après des temps d'incubation courts (15 à 60 mn) plus de 50 % de la radioactivité totale des acides gras. Après 8 heures d'expérience l'activité de l'acide linoléique rattrape celle de l'acide oléique. Les acides palmitique et stéarique se forment plus lentement et n'incorporent jamais plus de 12 à 15 % de la radioactivité totale. L'acide linoléique reste constamment relativement peu marqué.

4) En l'absence d'oxygène toutes les synthèses d'acides gras sont diminuées. Le pourcentage d'incorporation de l'acétate dans les acides saturés se maintient aux alentours de 12 % tandis que le pourcentage de la radioactivité totale incorporé dans l'acide oléique tombe de 50 % (en présence d'oxygène) à 15 % en atmosphère d'azote.

La biosynthèse des acides gras, par les tissus animaux ou les micro-organismes, a été intensément étudiée durant ces dernières années (1, 2, 3). Ces études ont permis d'expliquer la formation, dans ces tissus ou organismes, des acides gras saturés ou monoéthyléniques.

Un nombre beaucoup plus restreint de travaux concerne la synthèse des acides gras dans les tissus des végétaux supérieurs : STUMPF et ses collaborateurs (4, 5) étudient la formation de ces acides dans le mésocarpe d'avocat principalement ; JAMES (6, 7) effectue des recherches parallèles sur les feuilles vertes de diverses plantes (ricin, laitue) ; CANVIN (8, 9), enfin, vient de publier une série de résultats obtenus sur diverses graines de plantes oléagineuses (ricin, carthame, lin). Nous avons de notre côté suivi la biosynthèse des acides gras dans les cires cuticulaires de pomme (10) ou dans les graines du même fruit (11). Dans le présent article nous étudions la formation des acides gras dans le parenchyme de pomme. Toutes ces recherches conduites sur des tissus végétaux permettent d'aborder le problème de la synthèse des acides gras polyinsaturés (linoléique et linoléique notamment), particulièrement importante chez les plantes supérieures.

I. TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

Les fruits utilisés sont des pommes de la variété 'Golden Delicious' cueillies vertes et placées en survie,

(*) Les acides gras du parenchyme des pommes. I. Analyse des acides gras. P. Mazliak, *Fruits*, vol. 20, n° 10, nov. 1965, p. 559 à 564.

au laboratoire, dans une chambre à 0° C. Les expériences sont conduites sur des fragments de parenchyme de fruits verts, en bon état physiologique. Les fragments sont découpés dans la partie médiane de la

pulpe ; on a pris soin de n'utiliser dans les expériences ni la zone verte périphérique, ni la zone carpellaire.

Six grammes de parenchyme, découpés en petits cubes de 5 mm d'arête environ sont plongés, aussitôt découpés, dans 2,4 ou 5 ml d'une solution contenue dans un becher de 100 ml. La composition de la solution de base est la suivante :

— solution minérale d'HELLER (12) employée pour la culture des tissus, glucose (à la concentration de 0,33 M)*, A. T. P. (0,1 mM), acétate de manganèse (0,1 mM). Le pH de la solution est ajusté au cours des essais avec un volume de tampon phosphate (0,1 M) pour un volume de solution. L'acide citrique, ajouté à la solution à des concentrations de 10 ou 20 mM, ne modifie pas les résultats de façon appréciable, bien qu'un effet stimulant de ce corps sur les synthèses d'acides gras ait été rapporté (13). Les précurseurs radiocatifs utilisés sont l'acétate -1-¹⁴C, le malonate -1-¹⁴C ou le glucose -U-¹⁴C ; quelques mg du précurseur sont ajoutés à 100 ml de la solution de base de façon à réaliser une concentration isotopique de 5 μ Ci par ml. L'atmosphère gazeuse au dessus des fragments de tissus peut être renouvelée par une circulation de gaz. Au cours des expériences de longue durée on

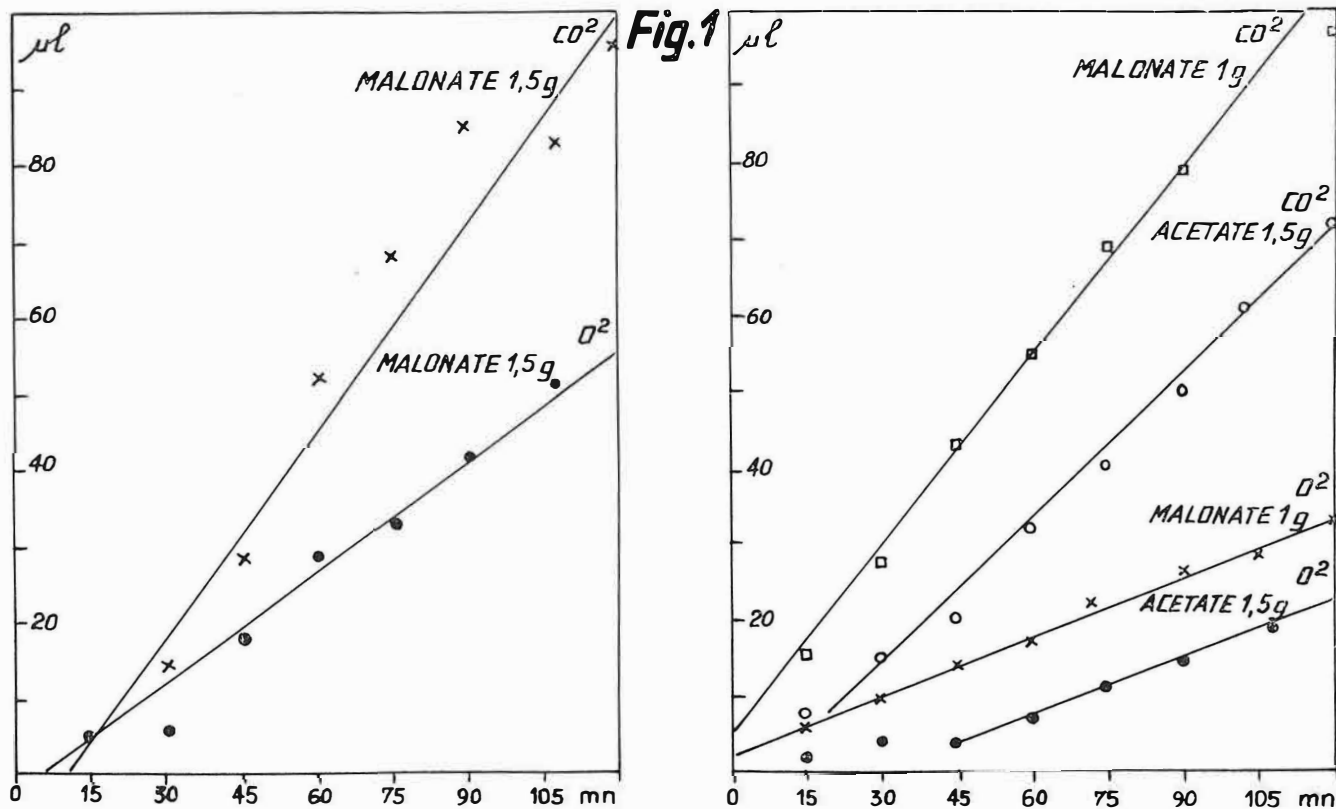
* : 1 M = 1 molécule-gramme par litre.

ajoute dans le becher un peu d'eau distillée pour maintenir le niveau du liquide constant. Les réactions se déroulent dans des enceintes à température constante.

Divers contrôles ont été faits à l'appareil de Warburg pour s'assurer que le parenchyme reste vivant dans nos conditions d'expérience. La figure 1 présente quelques courbes d'activité respiratoire de fragments de parenchyme plongés dans la solution de base contenant quelques μ g d'acétate ou de malonate. La respiration des fragments de tissu est active mais le Q. R. devient vite très élevé lorsque l'atmosphère de la fiole d'expérience n'est pas renouvelée. Les expériences d'incorporation ont donc été conduites soit à l'air libre, soit en atmosphère renouvelée.

Après un certain temps d'incubation dans la solution marquée, le tissu est rincé abondamment à l'eau distillée, puis broyé dans la potasse alcoolique bouillante et soumis à la saponification directe, pendant deux heures, en entretenant une ébullition douce du mélange. Après séparation préalable de l'insaponi-

Fig. 1. — Activité respiratoire de fragments de parenchyme de pomme immergés dans la solution glucosée utilisée pour les expériences de biosynthèse. Le poids de tissu frais introduit dans la fiole de Warburg est indiqué pour chaque courbe, à côté du précurseur d'acides gras essayé. Les volumes de CO₂ dégagés ou d'O₂ absorbés sont portés en ordonnées.



fiable, les acides gras sont libérés de leurs sels par l'acide chlorhydrique, recueillis dans l'éther de pétrole, puis méthylés en présence de trifluorure de Bore comme catalyseur. Les techniques d'extraction, de méthylation et d'analyse des acides gras ont été exposées en détail dans un article précédent (14).

Les acides gras principaux mis en évidence dans le parenchyme sont les suivants : *acide palmitique* (31 %), *acide stéarique* (4,5 %), *acide oléique* (4 % à 8 %), *acide linoléique* (53 %), *acide linoléique* (7 %).

II. INCORPORATION DU CARBONE DE DIVERS MÉTABOLITES RADIO-ACTIFS DANS LES ACIDES GRAS

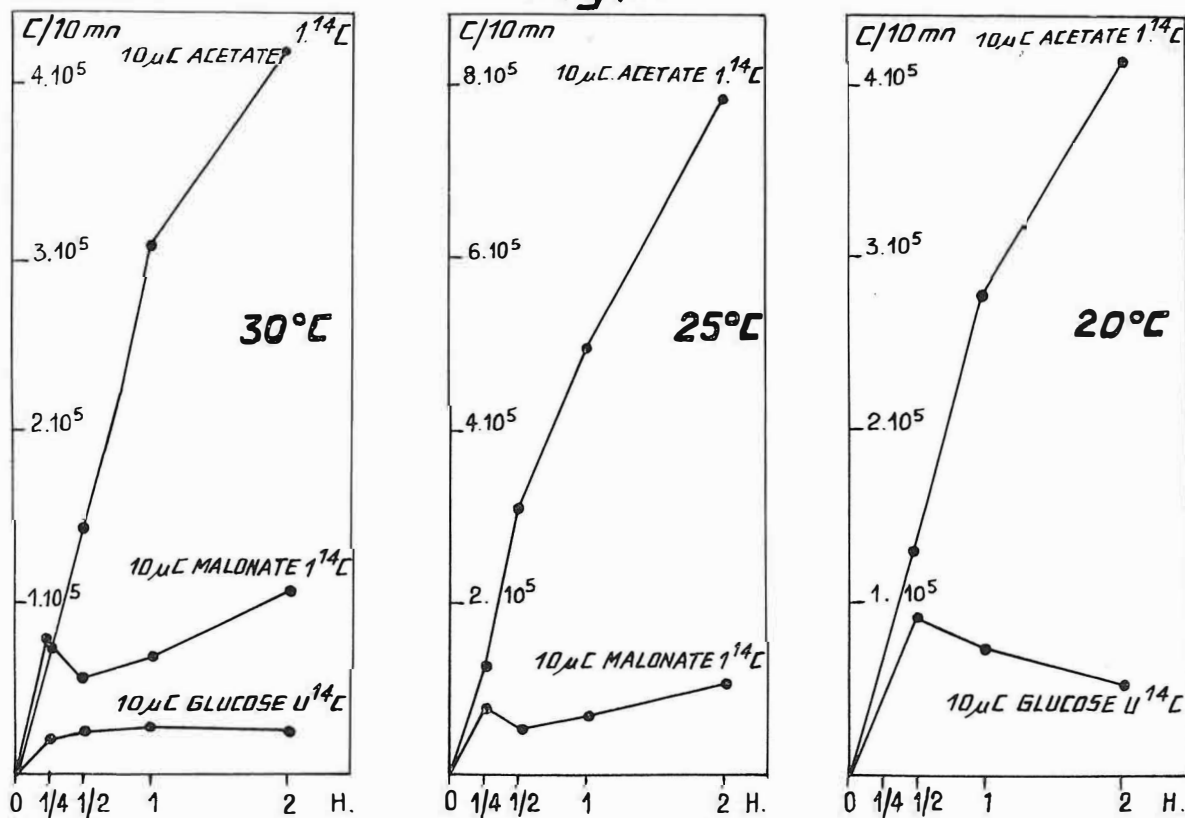
Les acides gras saturés sont synthétisés dans les cellules par condensation d'acétyl-CoA et de malonyl-CoA (1). Le mécanisme de synthèse des acides gras insaturés est encore ignoré et HILDITCH (16) a avancé l'hypothèse d'une biosynthèse directe de ces acides à partir de précurseurs en C_3 dérivés des glucides. Nous

Les expériences conduites avec des précurseurs radio-actifs permettent de suivre la biosynthèse des divers acides dans le parenchyme. Lorsque les acides gras analysés sont marqués par le ^{14}C , les vapeurs d'esters méthyliques sortant du chromatographe sont collectées directement sur des cristaux d'antracène et la radio-activité de chaque fraction recueillie est mesurée dans un compteur à scintillation TRI-CARB PACKARD. Cette méthode de mesure des activités a été décrite par PASCAUD (15).

avons donc fourni trois précurseurs radio-actifs aux fragments de parenchyme : acétate $-1-^{14}C$, malonate

Fig. 2. — Incorporation de divers précurseurs radio-actifs en solution glucosée dans les acides gras totaux de 6 g de parenchyme de pomme. La composition exacte de la solution est donnée dans le texte.

Fig. 2



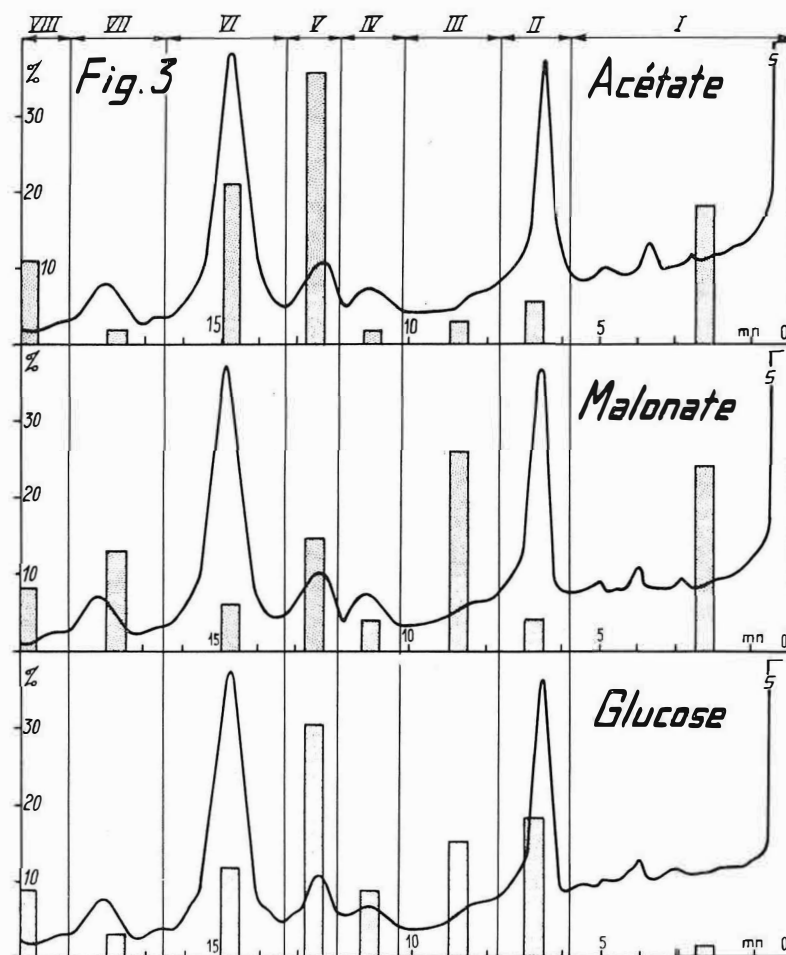


FIG. 3. — Radiochromatogrammes des esters méthylés des acides gras du parenchyme de pomme, après incubation de 6 g de tissu, à 25° C, pendant 1 heure, dans la solution de base glucosée contenant 10 μ c d'un de trois précurseurs indiqués sur la figure. Les barres grises portées sur le graphique indiquent les pourcentages de la radio-activité totale incorporée dans les acides gras que l'on retrouve dans chaque fraction collectée. Les temps de collecte sont indiqués en haut du graphique; les acides présents dans les différentes fractions sont les suivants : fraction I : acides gras à chaîne courte ($<C_{16}$); fraction II : acide palmitique; fraction III : ? (longueur de chaîne moléculaire équivalente : C_{17}); fraction IV : ac. stéarique; fraction V : ac. oléique; fraction VI : ac. linoléique; fraction VII : ac. linoléique; fraction VIII : ac. à plus longue chaîne moléculaire.

sion est en bon accord avec les travaux récents des autres auteurs (5, 6, 8) et incite à abandonner l'hypothèse d'HILDITCH. Une partie de l'acétyl-CoA peut être carboxylée en malonyl-CoA pour la biosynthèse des acides saturés. Lorsque le glucose est utilisé comme précurseur, c'est vraisemblablement l'acétate formé par glycolyse qui sert de matériau pour la biosynthèse des acides gras. Le malonate fourni au tissu peut être utilisé directement sous forme de malonyl-CoA; une partie cependant doit donner de l'acétate par décarboxylation préalable.

Effet de la température.

Une série d'expériences de différentes durées, à différentes températures, a montré que l'incorporation du précurseur radio-actif (acétate ou glucose) dans les acides gras du parenchyme est maximum aux alentours de 25° C (pourvu que les biosynthèses se prolongent plus de 15 mn) (Fig. 4). L'incorporation du précurseur est la plus importante vers cette température, aussi bien dans les *acides saturés* que dans les *acides insaturés*.

Effet du pH.

Une autre série d'expériences de différentes durées (30 mn et 60 mn) et à différents pH (réalisés avec des mélanges de tampon phosphate) nous a montré que l'incorporation d'acétate $-1-^{14}C$ dans les acides gras majeurs du tissu (saturés ou insaturés) est maximum aux alentours de la neutralité (pH : 7, 71) (fig. 5).

Il faut remarquer que ces expériences ne peuvent déterminer directement les pH optimum pour l'activité des enzymes intervenant dans les synthèses parce

$-1-^{14}C$ et glucose $-U-^{14}C$. L'A. T. P. ajouté au milieu fournit l'énergie nécessaire à la liaison des ions acétate ou malonate avec le coenzyme A.

Les résultats obtenus (fig. 2) montrent que l'acétate est le précurseur incorporé le plus activement dans les acides gras totaux du tissu; les activités spécifiques des acides gras *saturés* et *insaturés* sont, avec ce précurseur, environ dix fois plus élevées qu'avec le glucose et cinq fois plus élevées qu'avec le malonate. Les pourcentages de la radio-activité totale incorporée retrouvés dans les divers acides gras se sont révélés grossièrement semblables avec les trois précurseurs (fig. 3). (On note toutefois avec le glucose ou le malonate une incorporation importante du précurseur radio-actif dans un corps émergeant de la colonne à peu près en même temps que l'ester de l'acide en C^{17} . Nos expériences ne nous ont fourni aucune indication sur la nature de ce corps).

Ces résultats montrent que l'acétate est un précurseur commun des acides saturés et insaturés. Cette conclu-

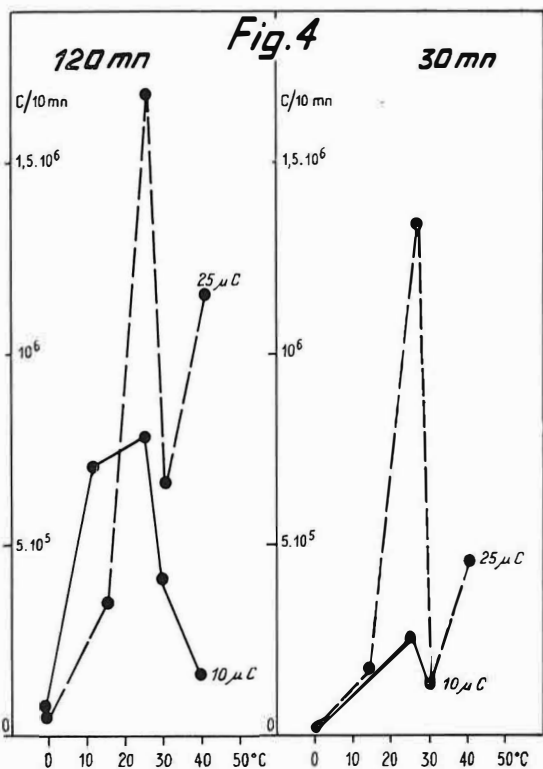


FIG. 4. — Incorporation d'acétate $-1-^{14}\text{C}$ dans les acides gras totaux de 6 g de parenchyme de pomme en fonction de la température. A gauche : les biosynthèses ont duré 120 mn ; à droite : 30 mn.

que les fragments de tissu entier réagissent de façon complexe en face des variations de $p\text{H}$. Il est donc explicable que nous ne retrouvons pas ici les résultats obtenus par STUMPF (4) avec des particules cytoplasmiques isolées du mésocarpe d'avocat : biosynthèse préférentielle des acides saturés en $p\text{H}$ alcalin. Nos expériences nous permettent cependant de choisir un $p\text{H}$ du milieu favorable pour les incorporations. (Les incubations de parenchyme en $p\text{H}$ très acide entraînent la formation dans le tissu d'acides gras nouveaux, non identifiés, sortant en fin de chromatogramme, après l'acide linoléique. On sait que les lipoxidases des végétaux (17) semblent plus actives aux $p\text{H}$ extrêmes (8 ou 5) et vraisemblablement les acides gras inhabituels représentent-ils des produits d'oxydation des acides gras naturels du parenchyme. Nous avons par ailleurs constaté une incorporation très importante du précurseur radioactif dans ces acides de fin de chromatogramme pour les $p\text{H}$ extrêmes (4,5 ou 9,2).)

Effet de la teneur en oxygène de l'atmosphère.

En utilisant des bechers permettant une circulation

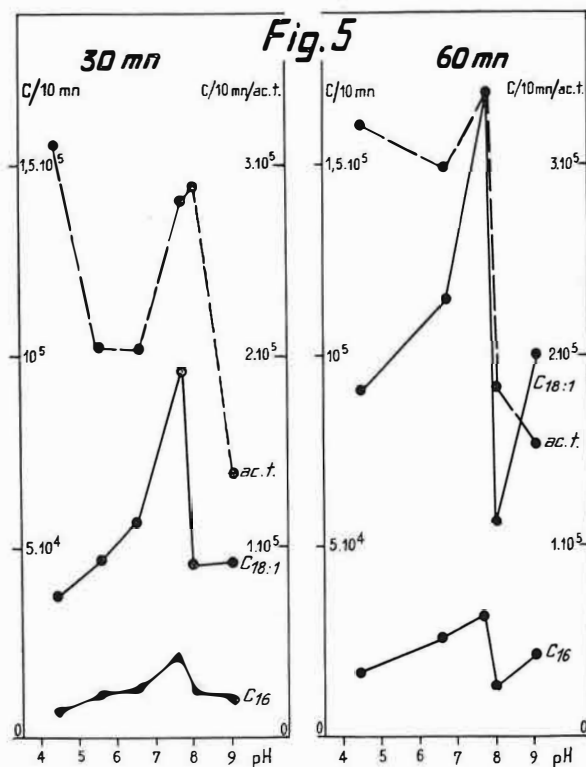


FIG. 5. — Incorporation d'acétate $-1-^{14}\text{C}$ dans les acides gras totaux (ac. t.) ou dans les acides palmitique (C_{16}) ou oléique ($\text{C}_{18:1}$) de 6 g de parenchyme de pomme en fonction du $p\text{H}$. A gauche les biosynthèses ont duré 30 mn ; à droite : 60 mn.

continue de gaz pendant les expériences de biosynthèse, nous avons constaté que l'incorporation d'acétate $-1-^{14}\text{C}$ dans les acides gras du parenchyme est beaucoup plus active en atmosphère d'air ou d'oxygène qu'en atmosphère d'azote, au moins pour les temps d'incubation supérieurs à une heure (fig. 6). (L'incorporation est aussi intense sous azote que sous oxygène pour de courtes durées de biosynthèses.) Compte tenu des très grandes variations observées dans la synthèse des acides insaturés en fonction de la teneur en oxygène de l'atmosphère, nous étudierons, dans un paragraphe spécial, l'effet de la composition de l'atmosphère sur les biosynthèses.

Nous pouvons conclure des expériences précédentes que les conditions optimales d'incorporation de l'acétate radio-actif dans les acides gras de parenchyme des pommes à partir d'une solution glucosée contenant de l'A. T. P., des ions Mn^{++} et divers autres sels, sont les suivantes : $p\text{H}$: 7,71, température : 25° C, atmosphère d'oxygène.

C'est dans ces conditions expérimentales que nous avons suivi les cinétiques d'incorporation du précurseur dans les acides gras principaux du parenchyme.

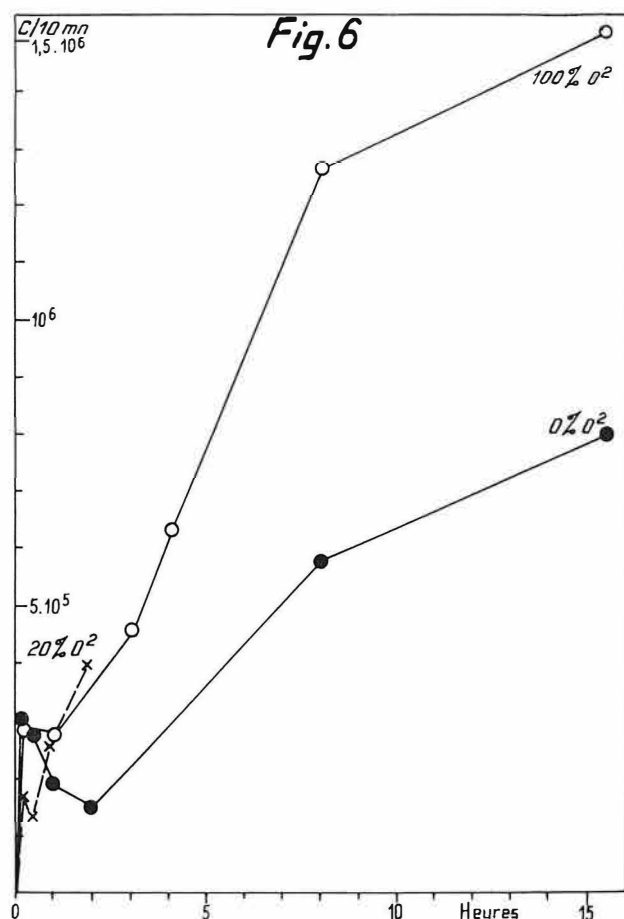


FIG. 6. — Incorporation d'acétate $-1-^{14}\text{C}$ dans les acides gras totaux de 6 g de parenchyme de pomme sous courant d'azote (0 % O_2), dans l'air (20 % O_2) et sous courant d'oxygène (100 % O_2).

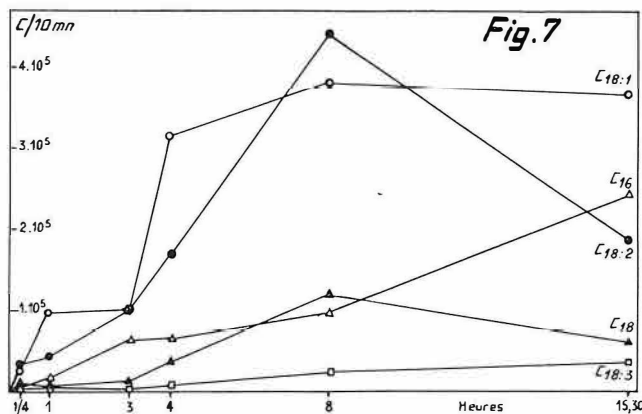


FIG. 7. — Incorporation d'acétate $-1-^{14}\text{C}$ dans les acides gras principaux de 6 g de parenchyme de pomme à 25° C, sous courant d'oxygène (les autres conditions expérimentales sont données dans le texte)

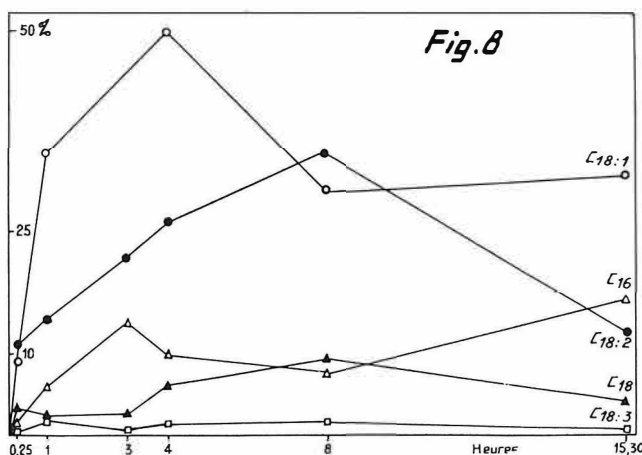


FIG. 8. — Pourcentages de la radio-activité totale incorporée trouvés dans chacun des acides principaux du parenchyme (mêmes conditions expérimentales qu'à la figure 7).

III. CINÉTIQUES DE L'INCORPORATION DU CARBONE 14 DE L'ACÉTATE DANS LES ACIDES GRAS

La figure 7 montre l'évolution au cours du temps des activités totales des principaux acides gras du parenchyme. Nous avons obtenu des courbes tout à fait similaires dans une autre série d'expériences où nous avons ajouté 20 mM d'acide citrique à la solution du précurseur.

Remarquons que dans un tissu comme ce parenchyme de fruit, en équilibre physiologique, il revient au même de raisonner sur les activités totales ou sur les activités spécifiques des acides (18).

La figure 8 montre les pourcentages de la radio-acti-

tivité totale incorporée présents dans les mêmes acides gras aux différents temps d'expérience. Les courbes obtenues en présence d'acide citrique sont identiques. Les résultats permettent de tirer les conclusions suivantes, concernant la biosynthèse des acides gras à partir de l'acétate précurseur.

1) Les incorporations les plus importantes et les plus rapides sont observées dans l'acide oléique (40 à 50 % de la radio-activité totale des acides gras se retrouve encore dans cet acide après 4 h d'expérience). Plusieurs expériences conduites pendant des temps

plus courts (15, 30, 60 ou 120 mn) nous ont également montré que cet acide est le premier et le plus intensément synthétisé dans le parenchyme (fig. 9).

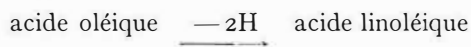
Les expériences de marquage conduites par James sur les feuilles vertes ou CANVIN sur les graines oléagineuses ont également montré que l'*acide oléique* est, dans ces organes, l'acide gras le plus intensément et le plus rapidement formé à partir d'acétate.

HILDITCH (19) signale dans son traité sur les lipides que l'*acide oléique* forme plus de 30 % de la masse des acides totaux de nombreuses graisses végétales ; jusqu'à présent aucune graisse ou phospholipide végétaux ne contenant pas d'*acide oléique* n'a été découvert.

Dans les tissus animaux ou les micro-organismes, la formation d'*acide oléique* par désaturation de l'*acide stéarique* a été prouvée plusieurs fois (3). Nos résultats, comme ceux des autres auteurs travaillant sur des tissus végétaux, ne mettent en évidence aucune relation précurseur-produit entre ces deux acides gras.

On peut dès lors envisager, dans les tissus des plantes supérieures, une voie de synthèse spécifique pour l'*acide oléique*.

2) L'évolution au cours du temps des activités totales de l'*acide oléique* et de l'*acide linoléique* contenus dans 6 g de parenchyme suggèrent une relation de précurseur à produit entre ces deux acides. L'*acide linoléique* pourrait se former dans le parenchyme par déshydrogénation, à la suite de la réaction globale :



A l'appui de cette hypothèse, nos résultats fournissent les faits suivants :

1 — Après des incubations brèves, l'*acide oléique* est toujours plus intensément marqué que l'*acide linoléique*.

2 — L'activité totale de l'*acide linoléique* rattrape (et souvent dépasse) celle de l'*acide oléique* après huit heures d'expériences environ.

Généralement l'activité totale de l'*acide oléique* est passée par un maximum avant ce temps de biosynthèse.

Les expériences de JAMES ou CANVIN sur d'autres tissus végétaux suggèrent la même relation entre les deux acides. Récemment McMAHON et STUMPF ont mis en évidence la synthèse d'*acide linoléique* marqué, à partir d'*acide oléique* marqué, par une préparation enzymatique extraite de la graine de carthame (20) et HARRIS et JAMES, par des chloroplastes isolés de chlorelle (21).

3) L'*acide linoléique* est toujours très faiblement marqué dans nos expériences. Ces résultats suggèrent pour cet acide polyinsaturé un métabolisme indépendant. Le fait qu'on trouve toujours cet acide en très

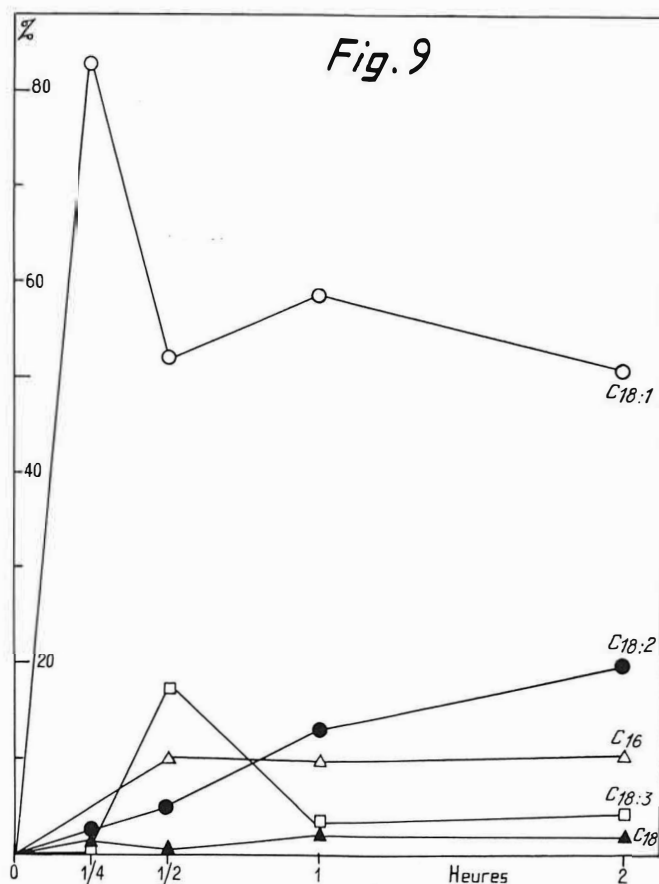


FIG. 9. — Pourcentages de la radio-activité totale incorporée, trouvés dans les acides gras principaux du parenchyme après des temps d'incubation brefs (mêmes conditions expérimentales qu'à la figure 7).

grande proportion dans les glycolipides des chloroplastes (22) évoque une relation possible avec la photosynthèse (23).

4) L'incorporation du précurseur marqué dans les acides saturés *palmitique* et *stéarique* est moyenne, environ trois fois moins intense que l'incorporation dans le couple *oléique-linéoléique*. L'évolution des activités totales au cours du temps s'accorde avec l'hypothèse d'une formation d'*acide stéarique* par élongation de l'*acide palmitique*.

En bon accord avec les résultats d'autres auteurs (24), nos courbes donnent à penser qu'à partir de l'acétate, précurseur commun, des voies distinctes conduisent à la synthèse des acides insaturés d'une part, et des acides saturés d'autre part, dans le parenchyme des pommes. Nous avons déjà suggéré un tel schéma de biosynthèse pour les acides gras des cires cuticulaires (10).

Ces différentes conclusions se trouvent confirmées par l'étude de la biosynthèse des acides gras du parenchyme en présence de diverses atmosphères gazeuses.

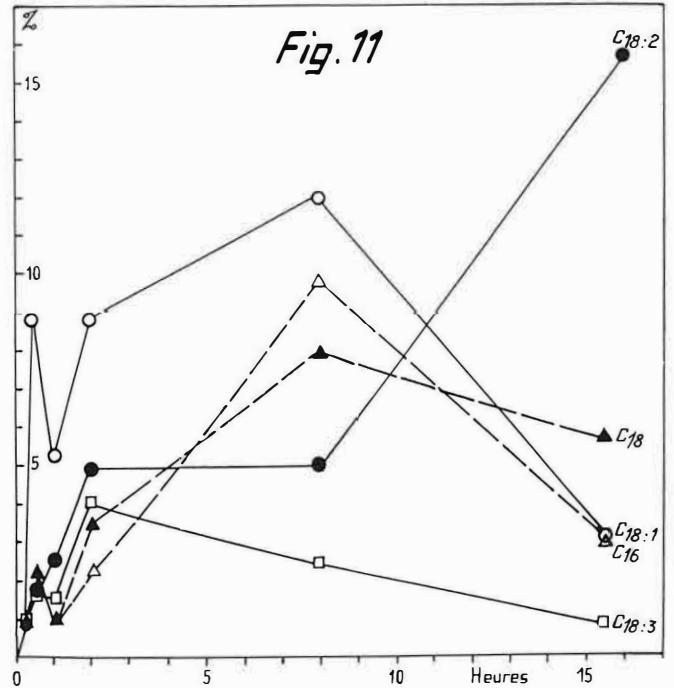
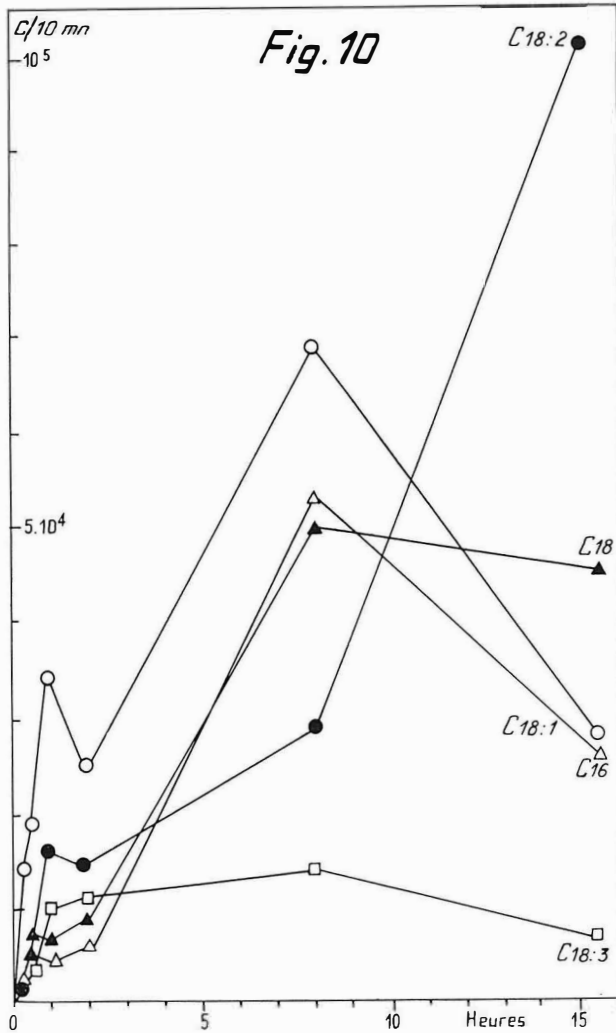


FIG. 10. — Incorporation d'acétate $-1-^{14}C$ dans les acides gras principaux de 6 g de parenchyme de pomme, à $25^{\circ}C$, sous courant d'azote (les conditions expérimentales sont données dans le texte).
 FIG. 11. — Pourcentages de la radio-activité totale incorporée sous azote trouvés dans chacun des acides principaux du parenchyme (mêmes conditions expérimentales qu'à la fig. 10).

FIG. 12. — Incorporation d'acétate $-1-^{14}C$ dans les acides oléique ou palmitique de 6 g de parenchyme, sous oxygène ou sous azote.
 FIG. 13. — Pourcentages de la radio-activité totale des acides gras, trouvés dans différents acides du parenchyme, après incubations sous diverses atmosphères.

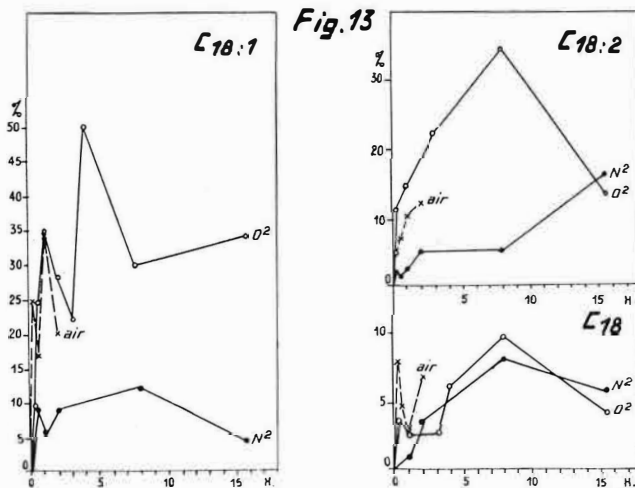
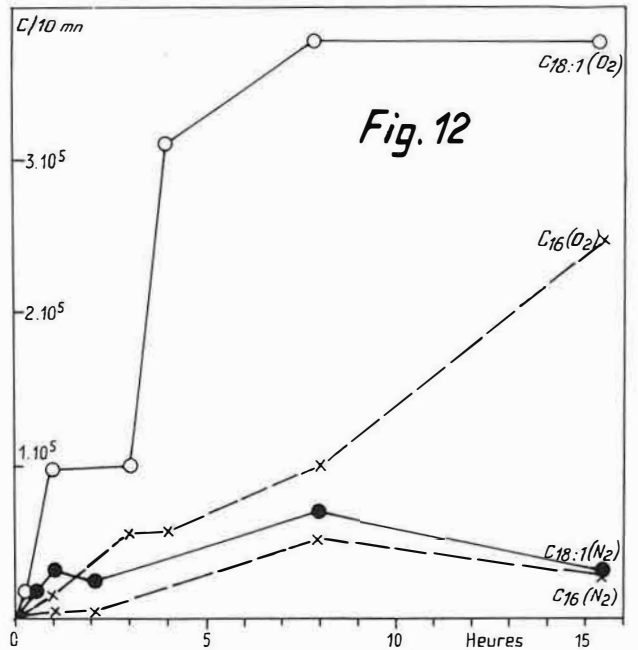


Fig. 13

IV. BIOSYNTHÈSE DES ACIDES GRAS EN PRÉSENCE DE DIVERSES ATMOSPHÈRES GAZEUSES

En atmosphère d'azote, l'incorporation d'acétate -1-¹⁴C dans les acides gras du parenchyme est beaucoup plus faible que dans l'air ou en atmosphère d'oxygène (fig. 6) pour les expériences durant plus d'une heure. Néanmoins les courbes d'évolution, en fonction du temps, de l'activité totale de chaque acide (fig. 10), ou bien l'évolution du pourcentage de la radio-activité totale incorporé dans chaque acide (fig. 11) permettent de retrouver les principaux résultats déjà mis en évidence : incorporation rapide et importante dans l'*acide oléique*, précurseur possible de l'*acide linoléique* ; incorporation moins importante dans les acides *palmitique* et *stéarique*.

La figure 12 montre qu'en atmosphère d'oxygène, les synthèses d'*acide oléique* sont 4 fois plus actives environ qu'en atmosphère d'azote. La figure 13 montre que les pourcentages de la radio-activité totale retrouvés dans les acides *oléique* et *linoléique* sont également

beaucoup plus élevés pour les synthèses dans l'air ou en atmosphère d'oxygène (fig. 14) que pour les synthèses en atmosphère d'azote.

Notons enfin que lorsque les incubations de parenchyme ont lieu en atmosphère d'azote, la plus grande partie de la radio-activité (45 % environ) se retrouve dans les *acides gras à chaîne courte* (ayant moins de 16 atomes de carbone) ; on ne trouve que 3 à 5 % de la radioactivité seulement dans ces acides en atmosphère d'oxygène.

On peut donc conclure que l'absence d'oxygène ralentit les synthèses de tous les acides gras, mais de façon toute particulière la synthèse des acides insaturés. Les auteurs déjà cités ont également montré, dans les tissus qu'ils étudiaient, une action favorable de l'oxygène sur la synthèse des acides gras insaturés (25).

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

En bon accord avec les résultats obtenus récemment par divers auteurs (STUMPF (5), JAMES (7) ou CANVIN (9)), sur d'autres organes végétaux, nous avons mis en évidence une biosynthèse active des acides gras saturés et insaturés, dans le parenchyme de pomme, à partir d'acétate précurseur. La synthèse de ces deux types d'acides est moins intense à partir de malonate ou de glucose.

Un pH voisin de la neutralité, une température de 25° C sont des conditions expérimentales favorables à la formation des acides gras. L'absence d'oxygène dans le milieu ralentit considérablement les synthèses, particulièrement celles des acides insaturés.

L'acétate sert d'abord dans le parenchyme à la synthèse de l'*acide oléique*, précurseur possible, d'après nos expériences de marquage, de l'*acide linoléique*. Les acides saturés, *palmitique* et *stéarique*, se forment plus lentement dans le tissu. L'*acide stéarique* pourrait se former par élongation de l'*acide palmitique*. L'*acide linoléique* pourrait se former par une voie indépendante des précédentes.

La possibilité, pour le tissu végétal étudié, de synthétiser intensément les acides *oléique* et *linoléique*, par un mécanisme encore inconnu, constitue une particularité remarquable de ce matériel biologique et donnera lieu à d'autres recherches.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) WAKIL S. J. — Mechanism of fatty acid synthesis. *J. Lip. Res.*, **2**, 1-24 (1961).
- (2) VAGELOS P. R. — Lipid metabolism. *Ann. Rev. of Biochem.*, **33**, 239-172 (1964).
- (3) ERWIN J. and BLOCH K. — Biosynthesis of unsaturated fatty acids in microorganisms. *Science*, **143**, 1006-1012 (1964).
- (4) MUDD J. B. and STUMPF P. K. — Fatty metabolism in higher plants — XIV — Factors affecting the synthesis of oleic acid by particulate preparations from avocado mesocarp. *J. Biol. Chem.*, **236**, 10, 2602-2609 (1961).
- (5) YANG S. F. and STUMPF P. K. — Fat metabolism in higher plants. XXI Biosynthesis of fatty acids by avocado mesocarp enzyme systems. *Bioch. Bioph. Acta*, **98**, 19-26 (1965).
- (6) JAMES A. T. — Études sur la biosynthèse des acides gras octa-

- déca, mono et triénoïques par chromatographie en phase gazeuse, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **44**, 951-963 (1962).
- (7) JAMES A. T. — Biosynthesis of long chain saturated and unsaturated fatty acids in isolated plant leaves. *Bioch. Biophys. Acta*, **70**, 9-19 (1963).
- (8) CANVIN D. T. — The biosynthesis of long chain fatty acids in the developing Castor bean, *Can. J. Bot.*, **43**, 49-62 (1965).
- (9) CANVIN D. T. — Incorporation of acetate- $1-^{14}C$ into the long chain fatty acids of some oil seed crops. *Can. J. Bot.*, **43**, 71-74 (1965).
- (10) MAZLIAK P. — La cire cuticulaire des pommes. *Rev. Gén. Bot.*, **70**, 831-832, p. 437-553 (1963).
- (11) MAZLIAK P. — Biosynthèse des acides gras par divers tissus de pomme. Variations avec l'âge et la température. *L'1^e Congrès de Biochimie*, Abstract, VII, 99, p. 585 (1964).
- (12) HELLER R. — *Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés in vitro*. Masson & C., Paris, 223 p. (1953).
- (13) MARTIN D. B. et VAGELOS P. R. — The mechanism of tricarboxylic acid cycle regulation of fatty acid synthesis. *J. Biol. Chem.*, **237**, 1787-1792 (1962).
- (14) MAZLIAK P. — Les acides gras du parenchyme des pommes. *Fruits*. Vol. 20, n° 10, p. 559 à 564, nov. 1965.
- (15) PASCAUD M. — Contaminations en chromatographie gazeuse d'esters d'acides gras radioactifs sur phase stationnaire polyester. *J. Chromat.*, **10**, 125-130 (1963).
- (16) HILDITCH T. P. — La formation des acides gras dans les graines oléagineuses. *Oléagineux*, **10**, 83-88 (1955).
- (17) KOCH R. B. — Dehydrated food and model systems. P. 230-251 in : *Lipids and their oxydation*, Schultz ed., Avi. Publ. Corp. Westport (1962), 442 p.
- (18) ZILVERSMIT D. B., ENTEMAN C. and FISHLER M. C. — On the calculation of « turn-over time » and « turn-over rate » from experiments involving the use of labeling agents. *J. of Gen. Phys.*, **26**, 325-331 (1943).
- (19) HILDITCH T. P. — *Chemical constitution of natural fats*. Chapman et Hall, London (1956) 664 p.
- (20) McMAHON V. and STUMPF P. K. — Synthesis of linoleic acid by particulate system from safflower seeds. *Biochim. Biophys. Acta*, **84**, 359-361 (1964).
- (21) HARRIS R. V. and JAMES A. T. — Conversion of oleic acid into linoleic acid by a subcellular system of *Chlorella vulgaris*. *Biochem. J.*, **94**, 15 c-16 c (1965).
- (22) NEUFELD E. F., HALL C. W. — Formation of galactolipids by chloroplasts. *Bioch. Biophys. Res. Commun.*, **14**, 6, 503-508 (1964).
- (23) VARESCHAGIN A. G., NOVITSKAYA G. V. — Anomalous ionization of methyl linolenate by instable argon atoms ; possible linolenic acid participation in photosynthetic reactions. *Nature*, **203**, 1384-1385 (1964).
- (24) BARRON E. J. and STUMPF P. K. — Evidence for separate pathways for the biosynthesis of saturated and unsaturated fatty acids by an avocado enzyme system. *J. Biol. Chem.*, **237**, 2, 613-614 (1962).
- (25) JAMES A. T. — The biosynthesis of unsaturated fatty acids in higher plants p. 17-28 in *The Control of Lipid Metabolism* ; Grant ed., Acad. Press., New-York, 191 p. (1963).



employez seul
ou en mélange

phospal

**ENGRAIS PHOSPHATÉ
CONCENTRÉ ÉCONOMIQUE**

Agents pour l'Afrique :

SSEPC 22-24, Avenue Courbet, Dakar (Sénégal)
 STEPC Boulevard Antonetti, Abidjan (Côte d'Ivoire)
 SGEPC B. P. 284 Conakry (Guinée)
 SEPCEA rue Joffre, Douala (Cameroun)
 SEPCM 3, rue Estèbe, Tananarive (République Malgache)