

Évolution des lipides au cours du développement des organes reproducteurs du pommier (*Pirus malus* L.)

par A. THIBAUDIN et P. MAZLIAK.

Laboratoire de Physiologie végétale,
Faculté des Sciences, Reims, Marne.

ÉVOLUTION DES LIPIDES AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DES ORGANES REPRODUCTEURS DU POMMIER (PIRUS MALUS L.)

par A. THIBAUDIN et P. MAZLIAK (Reims).

Fruits, vol. 22, n° 1, janvier 1967, p. 3 à 18.

RÉSUMÉ. — Les lipides bruts (cérides, glycérides, phospholipides) et les acides gras constitutifs des différents organes reproducteurs (fleurs, graines, fruits) sont analysés par diverses techniques chromatographiques.

Le développement de la fleur est marqué par l'enrichissement progressif en lipides du gynécée pendant que pétales et étamines s'appauvrissent rapidement en corps gras.

Après la fécondation, les lipides sont synthétisés en grandes quantités dans les graines (jusqu'à former 15 p. cent du poids de matière fraîche dans ces organes). Cires, phospholipides et glycérides s'accumulent plus tardivement dans le fruit, alors que les graines sont déjà en période de post-maturation.

Pour tous les organes il est possible de distinguer deux phases dans l'accumulation des lipides : la phase de croissance de l'organe coïncide avec une phase de synthèse préférentielle des acides saturés (stéarique, palmitique) ; la phase de maturation est marquée par une synthèse préférentielle des acides insaturés (oléique, linoléique, linoléinique). Ces résultats se retrouvent si l'on étudie la biosynthèse des différents lipides, à partir de précurseurs radioactifs, pendant les différentes phases du développement du fruit.

INTRODUCTION

Le développement des organes reproducteurs du Pommier est d'abord marqué par l'apparition des fleurs sur l'arbre, au début du printemps, avant même que les feuilles ne se soient développées. Après la *fécondation*, les pièces florales des verticilles externes (pétales, étamines) tombent tandis que se développent très vite les graines, et plus lentement les fruits formés des parois des ovaires soudées aux réceptacles floraux. Les graines sont *mûres* au début de l'été : ayant acquis leur taille définitive, elles entrent en dormance. A cette époque les téguments de la graine sont brun foncé alors qu'ils étaient verts au début du développement. Pendant la *post-maturation* des graines, les fruits qui les entourent continuent à croître puis mûrissent à leur tour à la fin de l'été. Ainsi les divers organes reproducteurs croissent et mûrissent l'un après l'autre. On observe les trois phases suivantes échelonnées au cours de la saison chaude :

1. Croissance puis épanouissement des fleurs.

2. Croissance puis maturation des graines.

3. Croissance puis maturation des fruits.

Les périodes de croissance sont des périodes d'augmentation rapide du poids des organes (fig. 1) ; les périodes de maturation sont marquées par des modifications *qualitatives importantes* et bien étudiées surtout dans le fruit (changements de couleur, hydrolyse de certains glucides, régression de l'acidité) transformations exposées par ULRICH (1). En période de maturation, le poids des organes reste à peu près stable.

Dans cet article nous regroupons les données actuellement acquises sur le métabolisme des lipides dans les divers organes reproducteurs du pommier. Nous nous proposons de rechercher si l'on peut distinguer pour ce métabolisme particulier différentes phases au cours du développement des organes et si l'on peut faire coïncider ces phases avec les étapes principales du développement.

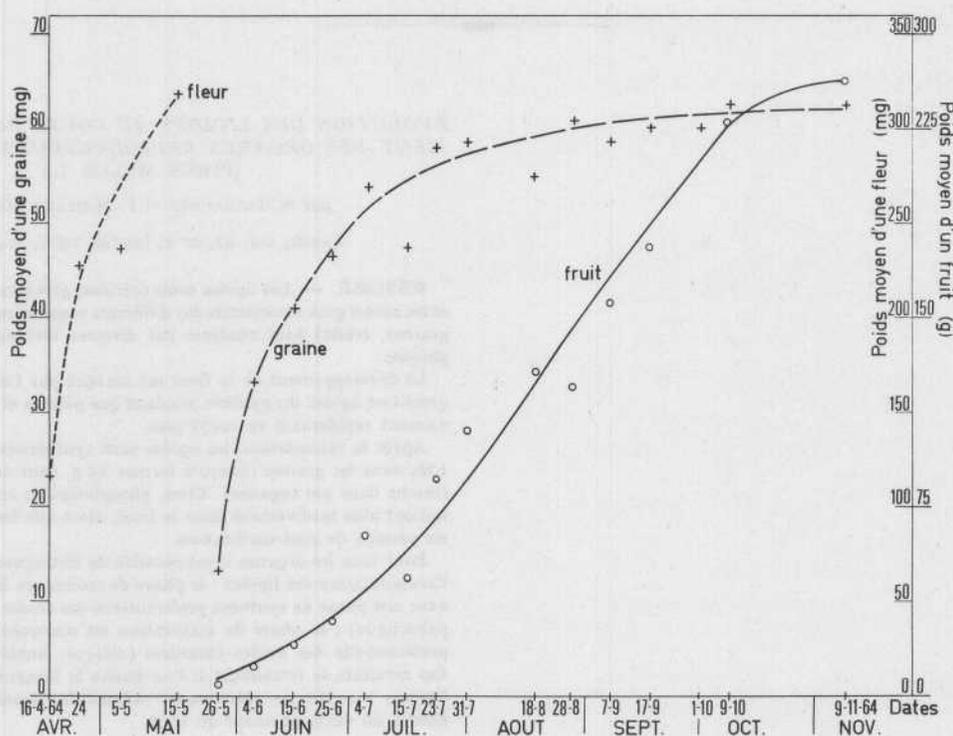


FIG. 1. — Évolution, au cours du développement, du poids moyen d'une fleur, d'un fruit et d'une graine de Pommier (variété Calville Blanc).

I. LE DÉVELOPPEMENT DES FLEURS

1. Analyse des lipides floraux.

Peu de travaux ont été consacrés à l'étude de la composition lipidique des fleurs. Des recherches effectuées par CHABERT (2) portèrent essentiellement sur le périanthe et les feuilles de *Lilium croceum*. Cet auteur a pu noter une augmentation de la masse des acides gras dans les sépales et les pétales jusqu'à un

maximum, puis une décroissance, décroissance non observée au cours du développement de la feuille. MAZLIAK (3) signale que la cire recouvrant les pièces florales de plantes de climat chaud est généralement formée de constituants plus lourds et plus saturés que ceux des pièces florales des plantes de climat tempéré. Signalons également quelques données fournies par HILDITCH (4) qui explicita les travaux de

TABLEAU I

Principaux acides gras présents dans les pièces des différents verticilles de la fleur de pommier en fin de floraison (d'après Thibaudin, 1965).

Acides identifiés par chromatographie	Notation abrégée	Pourcentage des acides gras totaux		
		Pétales	Étamines	Calices + ovaires
ac. - caprylique	C8	} 1,75	} 3,43	} 24,5
ac. - caprique	C10			
ac. - laurique	C12			
ac. - myristique	C14			
ac. - palmitique	C16	41,75	36,7	18,9
ac. - stéarique	C18	4,20	8,6	2,75
ac. - oléique	C18 : 1	3,20	5,6	2,64
ac. - linoléique	C18 : 2	21,5	22,5	25,9
ac. - linoléinique	C18 : 3	19,6	20,05	25,1
ac. - arachidique	C20	} 1,50	} 2,50	} ~0
ac. - béhénique	C22			
ac. - tétracosanoïque	C24			

REWALD sur la composition en acides gras des lipides du pavot.

Les fleurs que nous avons étudiées appartiennent à la variété de pommier 'Calville blanc'. Après saponification directe du matériel biologique, extraction puis méthylation des acides gras (5), nous avons analysé les esters méthyliques par chromatographie en phase gazeuse et nous avons trouvé, dans les diverses pièces florales, les acides gras présents habituellement dans le règne végétal ; les plus importants sont l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide linoléinique. Le tableau n° 1 résume les données fournies par l'examen des chromatogrammes en phase gazeuse reproduits sur la figure 2.

On remarque la prédominance de l'acide palmitique dans les pétales et les étamines ainsi que la présence d'acides gras à chaînes courtes (à moins de 14 atomes de carbone) caractéristique des lots de calices + ovaires.

2. Évolution au cours du développement.

Le tableau n° 2 regroupe les résultats obtenus concernant les variations des pourcentages des acides gras principaux au cours de la floraison. Nous n'avons

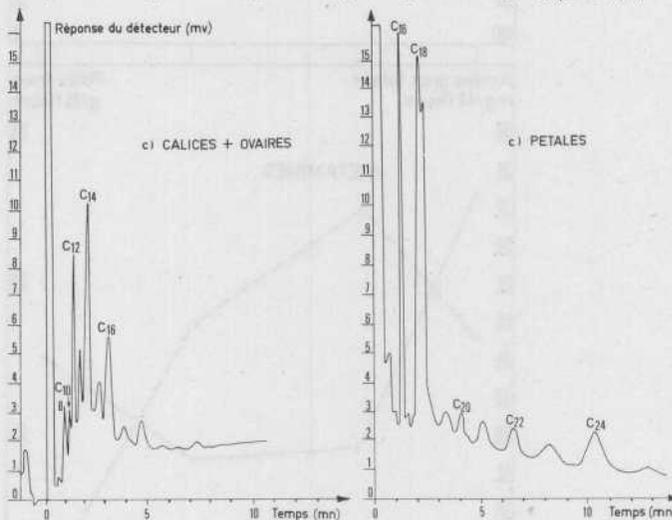
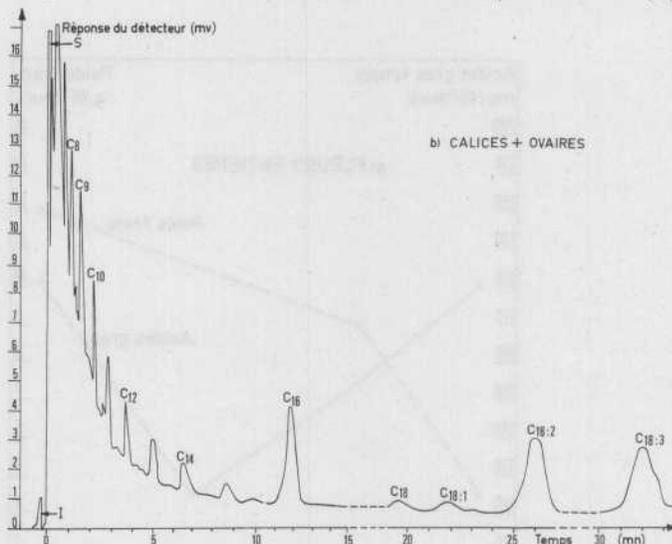
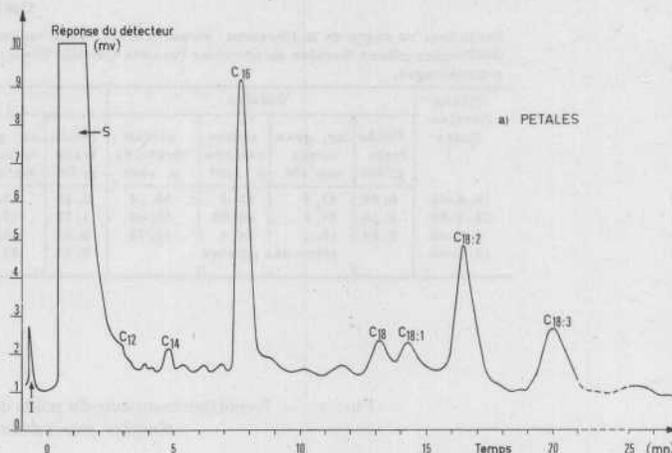


FIG. 2. — Chromatographie des acides gras :

a) D'un lot de pétales de fleurs de Pommier (lot du 5-5-64): Conditions expérimentales: Phase stationnaire: Butane-diol-succinate, 20 % en poids sur Chromosorb W silanisé (60-80 mesh). Gaz vecteur: azote. Débit: 3 l/h. Température: 210° C. Longueur de colonne: 3 m. Détecteur: ionisation de flamme.

b) D'un lot de calices + ovaires de fleurs de pommier (Lot du 15-5-1964). Mêmes conditions expérimentales que pour (a).

c) Des acides gras à chaîne courte (C < 16) du lot de calices + ovaires du 15-5-64. Phase stationnaire: silicone 710,10 % sur chromosorb W silanisé (60-80 mesh). Gaz vecteur: hélium; Température: 165° C; Détecteur: catharomètre. Autres conditions expérimentales identiques à celles utilisées en (a).

d) Des acides gras à chaîne longue (C > 16) du lot de pétales du 16-4-64). Conditions expérimentales. Phase stationnaire: silicone

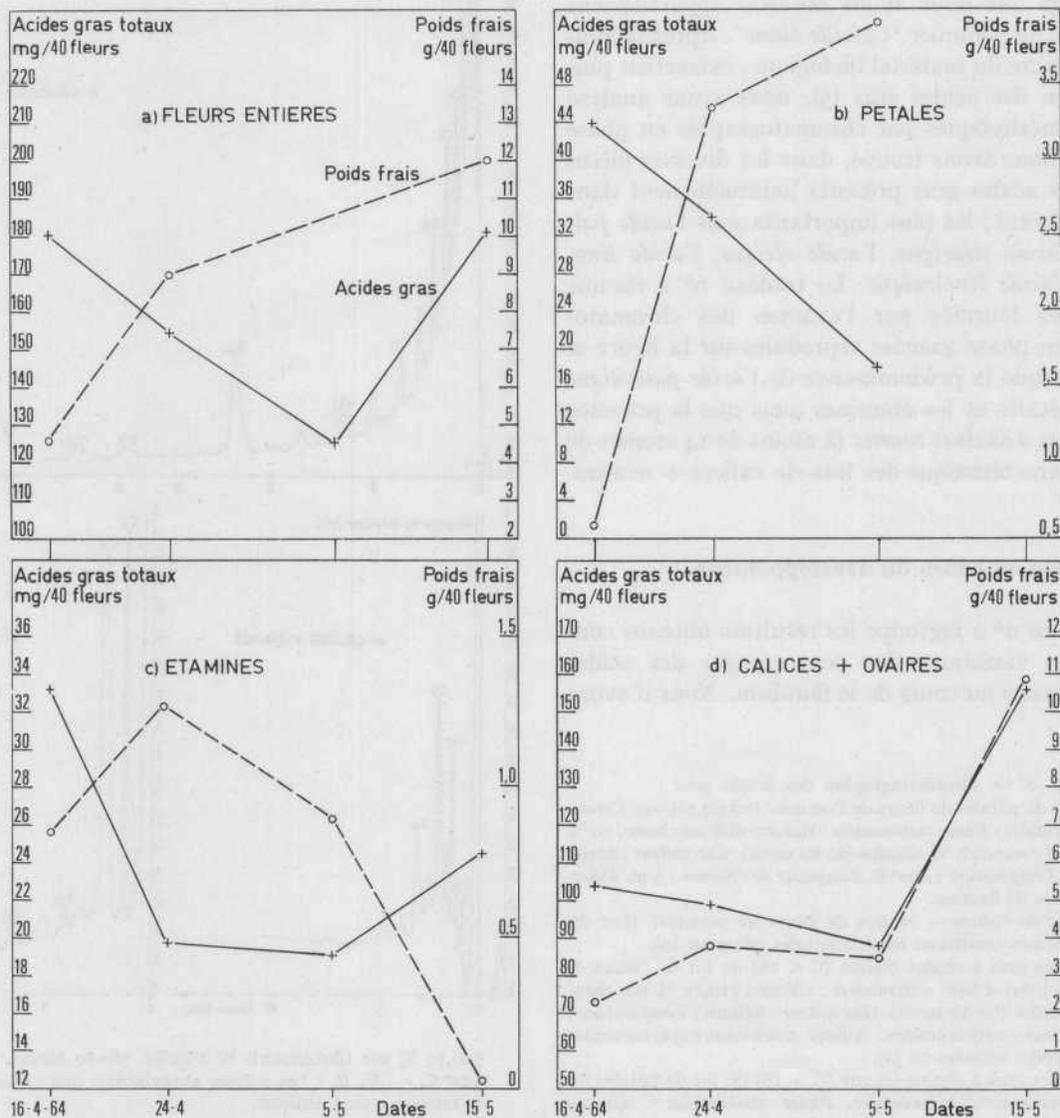
710,10 % sur Chromosorb W silanisé (60-80 Mesh). Température: 275° C. — N. B.: Les mêmes abréviations que celles portées dans le tableau 1 sont utilisées.

TABLEAU II

Evolution, au cours de la floraison, du poids frais, de la teneur en acides totaux, en acides saturés et insaturés dans les différentes pièces florales du pommier (variété Calville Blanc). Résultats exprimés en g/40 fleurs, en mg/40 fleurs ou en pourcentages.

Pièces florales Dates	Pétales				Etamines				calices + ovaires			
	Poids frais g/40f	ac. gras totaux mg/40f	acides saturés p. cent	acides insaturés p. cent	Poids frais g/40f	ac. gras totaux mg/40f	acides saturés p. cent	acides insaturés p. cent	Poids frais g/40f	ac. gras totaux mg/40f	acides saturés p. cent	acides insaturés p. cent
16-4-64	0,56	43,8	43,3	56,14	0,90	33,4	25,76	70,42	2,39	103,4	58,75	40,74
24-4-64	3,34	34,5	40,65	58,80	1,22	19,8	21,07	76,32	3,90	99,8	56,13	43,7
5-5-64	3,84	18,1	54,4	45,72	0,92	19,2	34,35	61,81	3,60	88,5	68,06	31,82
15-5-64		chute des pétales			0,24	24,6	47,57	50,92	12,16	156,5	46,10	53,64

Fig. 3. — Évolution comparée du poids des différentes pièces florales et de la quantité d'acides gras totaux qu'elles renferment.



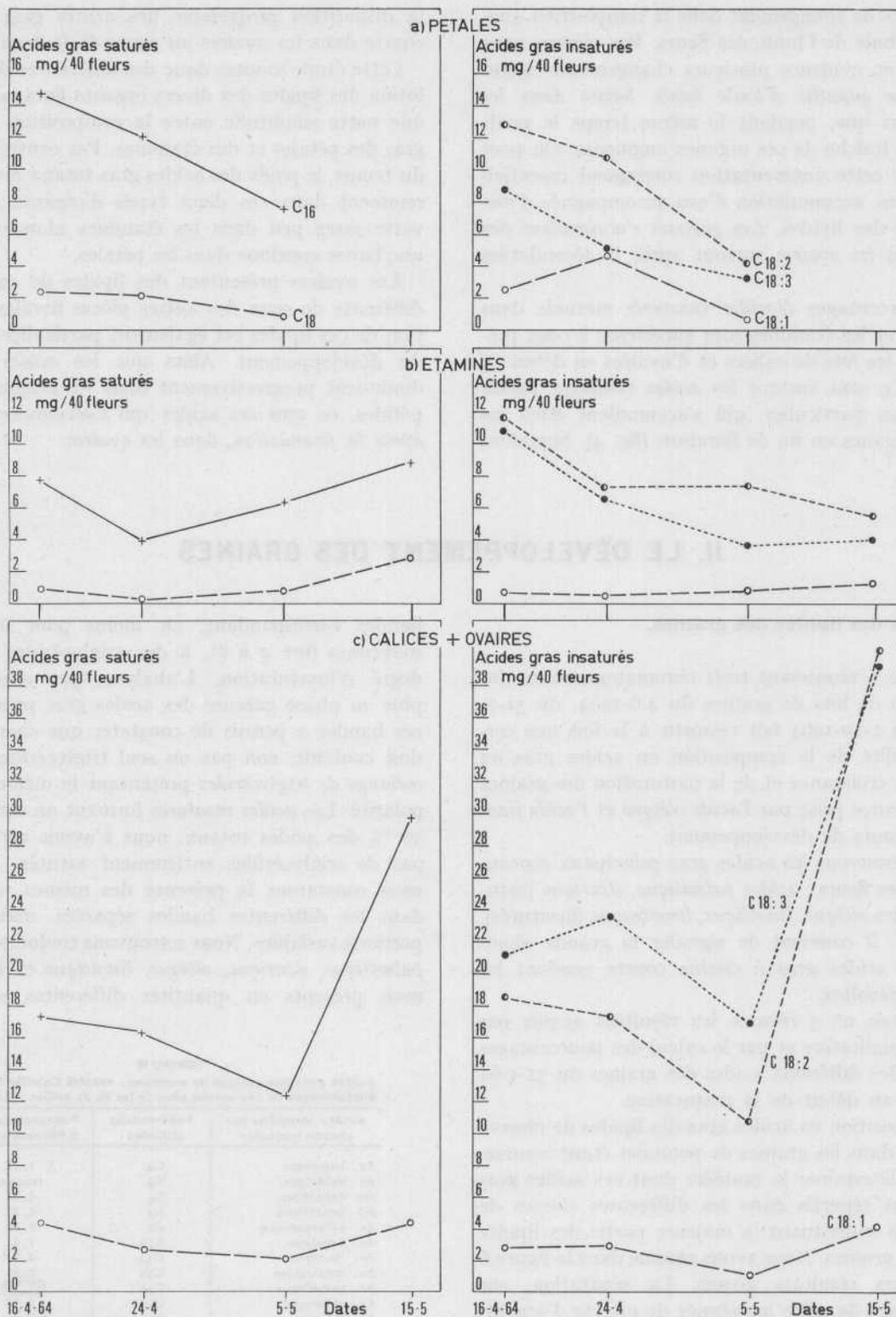


FIG. 4. — Évolution individuelle du poids des acides saturés (C₁₆, C₁₈) et des acides insaturés (C_{18:1}; C_{18:2}; C_{18:3}) dans les différentes pièces florales. N. B : Les mêmes abréviations que celles portées dans le tableau 1 sont utilisées.

pas constaté de changement dans la composition qualitative globale de l'huile des fleurs. Par contre, nous avons mis en évidence plusieurs changements quantitatifs. *La quantité d'huile totale baisse dans les pétales* alors que, pendant le même temps le poids de matière fraîche de ces organes augmente. On peut penser que cette augmentation correspond essentiellement à une accumulation d'eau accompagnée d'une diminution des lipides. *Les graisses s'accumulent par contre, dans les ovaires* surtout après la fécondation (fig. 3).

Les pourcentages d'*acides insaturés* mesurés dans les pétales et les étamines sont supérieurs à ceux présents dans les lots de calices et d'ovaires en début de floraison. Ce sont surtout les *acides insaturés*, l'*acide linoléique* en particulier, qui s'accumulent dans ces derniers organes en fin de floraison (fig. 4). Signalons

la disparition progressive des acides gras à chaîne courte dans les ovaires au cours de la floraison.

Cette étude montre donc des différences dans l'évolution des lipides des divers organes floraux. Il existe une nette similitude entre la composition en acides gras des pétales et des étamines. Par contre, au cours du temps, le poids des acides gras totaux évolue différemment dans ces deux types d'organes ; ce poids varie assez peu dans les étamines alors qu'il subit une baisse continue dans les pétales.

Les ovaires présentent des lipides de composition différente de ceux des autres pièces florales ; l'évolution de ces lipides est également particulière au cours du développement. Alors que les *acides insaturés* diminuent progressivement dans les étamines et les pétales, ce sont ces acides qui s'accumulent, surtout après la fécondation, dans les ovaires.

II. LE DÉVELOPPEMENT DES GRAINES

1. Analyse des lipides des graines.

La figure 5 réunissant trois chromatogrammes des acides gras de lots de graines du 4-6-1964, du 31-7-1964 et du 1-10-1964 fait ressortir à la fois une certaine stabilité de la composition en acides gras au cours de la croissance et de la maturation des graines et l'importance prise par l'*acide oléique* et l'*acide linoléique* en cours de développement.

Nous retrouvons les acides gras principaux rencontrés dans les fleurs ; *acides palmitique, stéarique* (saturés) et *acides oléique, linoléique, linoléique* (insaturés). Cependant, il convient de signaler la grande abondance des acides gras à chaîne courte pendant les premières récoltes.

Le tableau n° 3 résume les résultats acquis par l'analyse qualitative et par le calcul des pourcentages respectifs des différents acides des graines du 31-7-64 se situant au début de la maturation.

La composition en acides gras des lipides de réserve accumulés dans les graines de pommier étant connue, il reste à déterminer la manière dont ces acides gras se trouvent répartis dans les différentes classes de *triglycérides* constituant la majeure partie des lipides totaux des graines. Nous avons résumé dans la figure 6 les premiers résultats acquis. La séparation, sur couche mince de silice imprégnée de nitrate d'argent, des lipides totaux des graines extraits suivant la méthode de FOLCH (6) permet de distinguer sept

bandes correspondant, au moins pour les bandes moyennes (nos 2 à 6), à des triglycérides de même degré d'insaturation. L'analyse, par chromatographie en phase gazeuse des acides gras présents dans ces bandes a permis de constater que chaque bande doit contenir, non pas un seul triglycéride, mais un *mélange de triglycérides* présentant le même degré de polarité. Les *acides insaturés* formant un minimum de 50 % des acides totaux, nous n'avons certainement pas de triglycérides entièrement saturés. En outre, nous constatons la présence des mêmes acides gras dans les différentes bandes séparées, mais en proportions variables. Nous retrouvons toujours les acides *palmitique, stéarique, oléique, linoléique* et *linoléique* mais présents en quantités différentes suivant la

TABLEAU III
Acides gras des graines de pommier, variété Calville Blanc et pourcentages de ces acides pour le lot du 31 juillet 1964.

Acides identifiés par chromatographie	Abréviations utilisées	Pourcentages des différents acides
Ac. butyrique	C4	1,62
Ac. valérique	C5	traces
Ac. caproïque	C6	0,81
Ac. caprylique	C8	0,33
Ac. pélargonique	C9	0,40
Ac. caprique	C10	1,62
Ac. laurique	C12	0,33
Ac. myristique	C14	3,52
Ac. palmitique	C16	19,76
Ac. stéarique	C18	2,57
Ac. oléique	C18 : 1	19,3
Ac. linoléique	C18 : 2	41,2
Ac. linoléique	C18 : 3	0,41
Ac. arachidique	C20	traces

bande étudiée. Après examen de nos résultats et en comparant ceux-ci avec les données fournies par divers auteurs, en particulier BLANCK (7), HILDITCH (4) et MORRIS (8), nous proposons provisoirement, dans le tableau ci-dessous, à titre d'hypothèse de travail, quelques formules de triglycérides pour les bandes : n° 2, n° 3, n° 4 et n° 6 de la figure 6.

BANDE	FORMULES POSSIBLES DE QUELQUES TRIGLYCÉRIDES CONSTITUTIFS
n° 2	P ₂ O; PSO;...
n° 3	P ₂ L;...
n° 4	PL ₂ ;...
n° 6	L ₃ ; L _n OL

Abréviations utilisées : L : acide linoléique
L_n : acide linoléique
O : acide oléique
P : acide palmitique
S : acide stéarique

Exemple : P₂O = dipalmitoyl monooléine, etc.

2. Évolution au cours du développement.

Lors du développement de la graine, la quantité totale d'acides gras augmente de façon assez régulière et continue à croître alors que le poids frais de l'organe s'est à peu près stabilisé (fig. 7) (tableau n° 4). La courbe d'augmentation du poids des acides totaux marque cependant un palier au milieu du développement de la graine. On peut donc conclure à une synthèse continue et progressive des lipides de la graine avec cependant, deux périodes d'activité biosynthétique plus importante situées l'une au début de la maturation de la graine et l'autre au début de la maturation du fruit.

Le tableau n° 5 et la figure 7 réunissent les données fournies par l'étude détaillée de l'évolution des acides gras saturés et insaturés au cours du développement de la graine. Le poids absolu de chaque acide à longue chaîne augmente au cours du développement exception faite des acides stéarique et linoléique qui restent à peu près stables. L'augmentation est modérée pour l'acide palmitique (de 0,1 à 0,5 mg par graine). Elle est au contraire fort importante pour l'acide lino-

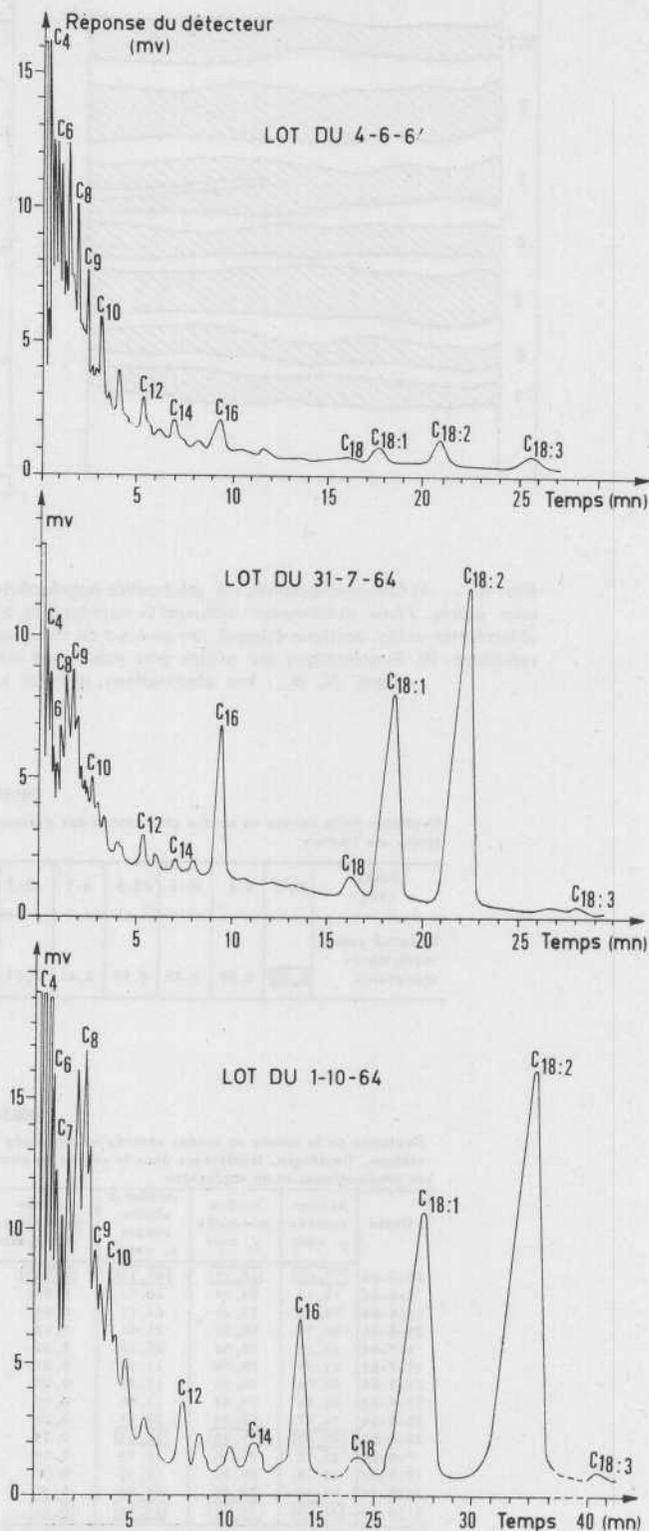


FIG. 5. — Évolution de la composition en acides gras de graines de pommier au cours de la croissance du fruit sur l'arbre. Lots du : a) 4-6-64; b) 31-7-64; c) 1-10-64. Conditions expérimentales identiques à celles développées dans la figure n° 2 a.

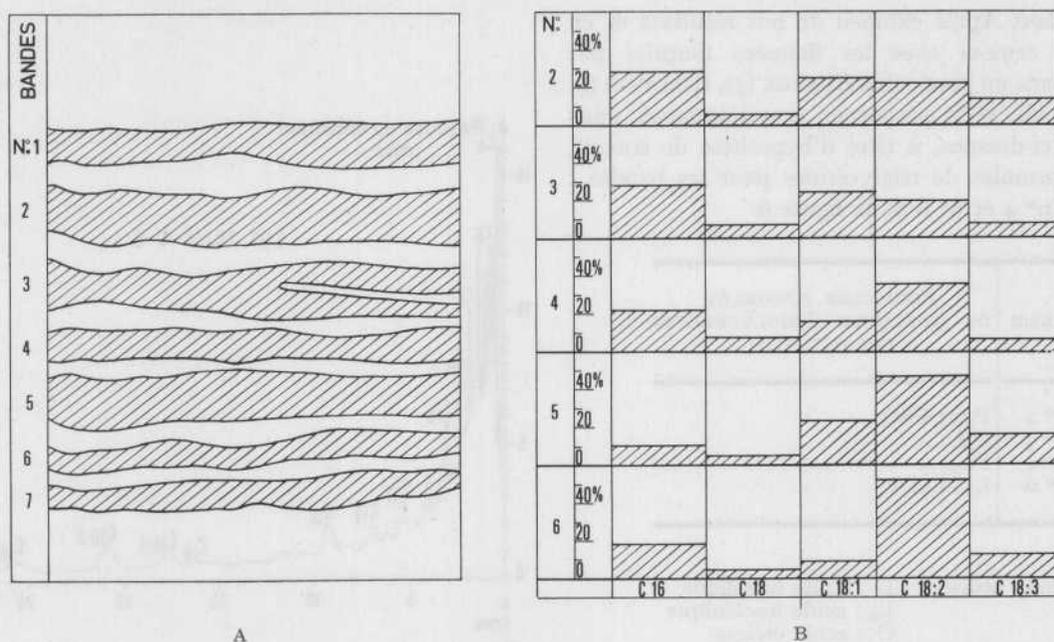


FIG. 6. — A) Chromatographie, sur gel de silice imprégné de nitrate d'argent des lipides totaux de graines de pommier mûres. Phase stationnaire : Silicagel G imprégné de nitrate d'argent. Phase mobile : Tétrachlorure de carbone-chloroforme-acide acétique-éthanol (60-40-0,5-2 en volumes). Révélation : Dichloro 2'-7' fluorescéine. Acide sulfurique concentré. B) Pourcentages des acides gras principaux constitutifs des bandes de triglycérides séparés sur couche mince. N. B. : Les abréviations utilisées sont les mêmes que dans le tableau n° 1.

TABLEAU IV

Evolution de la teneur en acides gras totaux des graines de pommier prélevées au cours de la naissance des fruits sur l'arbre.

Dates 1964	26-5	4-6	15-6	25-6	4-7	15-7	23-7	31-7	18-8	28-8	7-9	17-9	1-10	9-10
Quantité esters méthyliques mg/graine	0,54	0,88	0,53	0,87	2,41	2,57	3,31	2,87	4,12	5,06	5	3,70	7,05	6,48

TABLEAU V

Evolution de la teneur en acides saturés et insaturés totaux et des quantités d'acides palmitique, stéarique, oléique, linoléique, linoléique dans la graine de pommier au cours du développement. Résultats exprimés en pourcentages et en mg/graine.

Dates	Acides saturés p. cent	Acides insaturés p. cent	Acides à chaîne courte p. cent	Acide palmitique mg/graine	Acide stéarique mg/graine	Acide oléique mg/graine	Acide linoléique mg/graine	Acide linoléique mg/graine
26-5-64	77,09	16,73	66,77	0,046	0,009	0,021	0,037	0,014
4-6-64	73,12	24,94	60,01	0,086	0,012	0,066	0,110	0,07
15-6-64	74,25	25,19	63,41	0,053	0,009	0,031	0,078	0,02
25-6-64	40,77	60,39	26,62	0,13	0,015	0,09	0,39	0,042
4-7-64	43,13	55,54	25,13	0,38	0,043	0,34	0,93	0,046
15-7-64	21,29	78,59	11,50	0,21	0,038	0,45	1,52	0,041
23-7-64	22,94	75,38	12,84	0,28	0,053	0,63	1,82	0,039
31-7-64	24,73	78,84	11,90	0,30	0,059	0,74	1,38	0,014
18-8-64	34,97	60,35	10,47	0,20	0,10	0,78	2,06	0,013
28-8-64	29,30	69,90	22,61	0,28	0,053	0,92	2,57	0,035
7-9-64	18,78	21,16	10,79	0,39	0,076	1,11	2,86	0,10
17-9-64	18,14	80,59	12,30	0,17	0,038	0,82	2,12	0,018
1-10-64	23,18	75,28	14,86	0,48	0,014	1,83	3,79	0,027
9-10-64	21,99	78,01	14,98	0,37	0,074	1,47	3,54	0,036

oléique (qui passe de 0,1 mg à 4 mg par graine) et pour l'acide oléique (qui passe de 0,1 à 2 mg par graine).

L'examen des pourcentages des différents acides aux différentes dates amène les remarques suivantes : le taux des *acides saturés* diminue assez rapidement en raison surtout de la baisse importante des acides à chaîne courte, ce taux se stabilise aux environs de 20 % des acides totaux. Les *acides insaturés*, représentant seulement 17 % des acides totaux au début de la vie de la graine commencent à augmenter quand les graines mûrissent, ils représentent 80 % du total fin septembre, date à laquelle les fruits commencent seulement à mûrir. Entre le 4 et le 25 juin, les *acides gras à chaîne courte* passent de 60,01 à 26,6 % ; pendant le même temps les *acides insaturés* augmentent de 25,19 % à 60,30 %. L'*acide palmitique* passe par un pourcentage maximum qui vaut environ 16 fois le minimum, puis il y a une chute brutale de ce pourcentage, quand les graines entrent en post-maturation.

La courbe en poids de l'*acide linoléique* suit celle des acides totaux ; c'est l'acide le plus important en fin de développement de la graine.

Des expériences conduites en incubant des tranches de graines de pommier dans des solutions contenant de l'acétate radio-actif (acétate- $I-^{14}C$) ont montré (9) que les acides principaux des graines, *saturés* et *insaturés*, se formaient à partir de ce même précurseur. Les activités spécifiques observées décroissaient dans l'ordre suivant : *acide palmitique*, *acide oléique*, *acide linoléique*, pour les graines étudiées en période de post-maturation. Les données manquent concernant les activités de biosynthèse des lipides dans les graines pendant leur croissance et leur maturation.

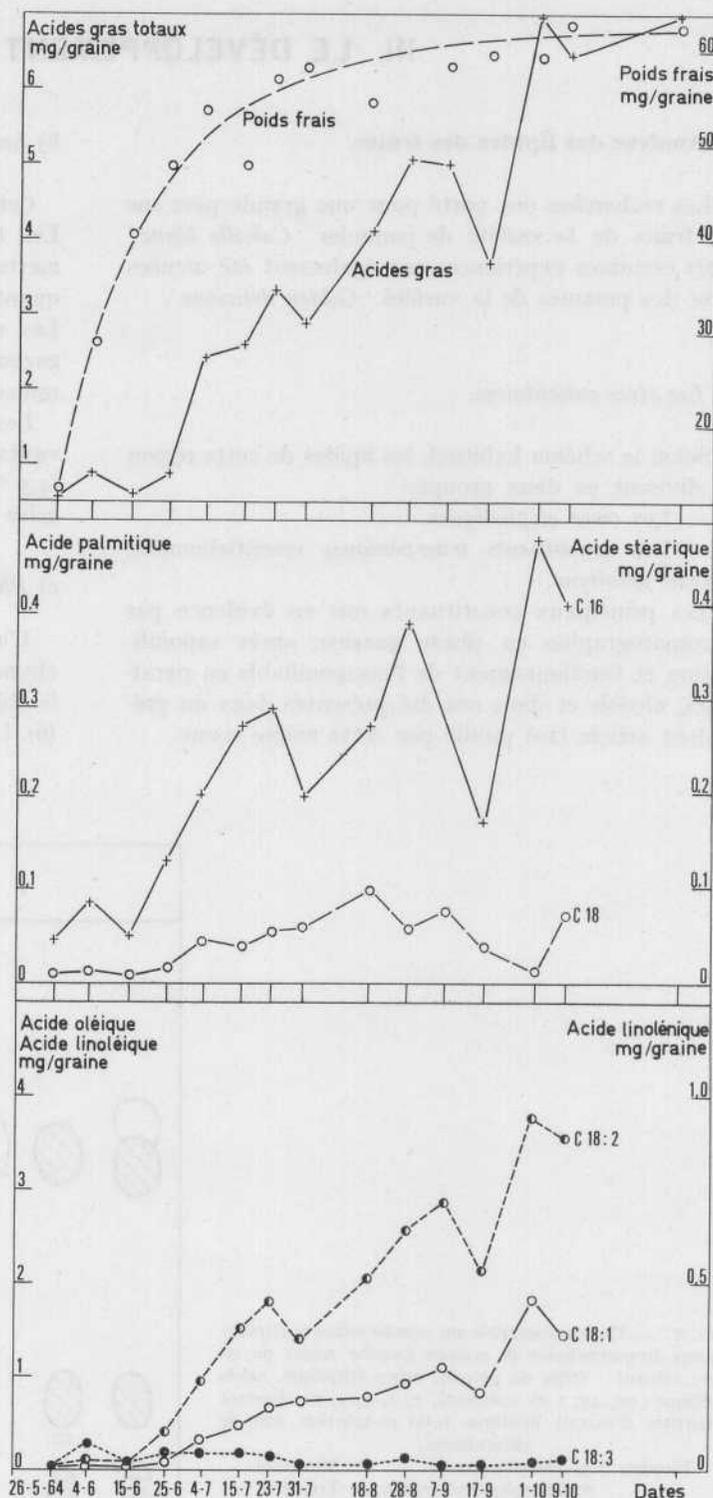


FIG. 7. — Évolution des acides gras totaux, des acides saturés et insaturés dans les graines de pommier au cours de la croissance du fruit sur l'arbre.

III. LE DÉVELOPPEMENT DES FRUITS

1. Analyse des lipides des fruits.

Les recherches ont porté pour une grande part sur les fruits de la variété de pommier 'Calville blanc' mais certaines expériences ont également été menées avec des pommes de la variété 'Golden delicious'.

a) Les cires cuticulaires.

Selon le schéma habituel, les lipides de cette région se divisent en deux groupes :

- Les cires aliphatiques.
- Les constituants triterpéniques essentiellement, l'acide ursolique.

Les principaux constituants mis en évidence par chromatographie en phase gazeuse après saponification et fractionnement de l'insaponifiable en paraffines, alcools et diols ont été présentés dans un précédent article (10) publié par cette même revue.

b) Les acides gras de pulpe.

Cette région est pauvre en lipides et riche en eau (11). Les techniques d'étude utilisées actuellement, permettent cependant de faire porter l'analyse sur des quantités relativement faibles du matériel biologique. Les résultats acquis en chromatographie en phase gazeuse sont contrôlés par chromatographie sur couche mince de silice imprégnée de nitrate d'argent (12).

Les acides gras principaux identifiés sont les suivants : acide palmitique (31 %), acide stéarique (4,5 %), acide oléique (4 %), acide linoléique (53 %), acide linoléique (7 %).

c) Phospholipides et glycérides de la pulpe.

L'analyse des fractions lipidiques brutes du parenchyme peut être faite après extraction des lipides par le chloroforme-méthanol selon la technique de FOLCH (6). La chromatographie sur couche mince de l'extrait

FIG. 8. — Chromatographie sur couche mince des lipides totaux du parenchyme de pomme (couche mince de silice, solvant : éther de pétrole, éther éthylique, acide acétique : 90, 10, 1 en volumes), 1, 2, 4, 5, 7 : diverses quantités d'extrait lipidique total en solution dans le chloroforme.

Témoins : 3. Tétradécane 8. Sitostérol
6. Phosphatidylcholine 9. Trioléine
F. S. : front du solvant ; Pa : paraffines ; T : triglycérides ; D : diglycérides ; S : stérols ; P : phospholipides.
Révélation : dichloro-fluorescéine et rayons ultraviolets.
La densité du hachuré traduit la densité des spots.

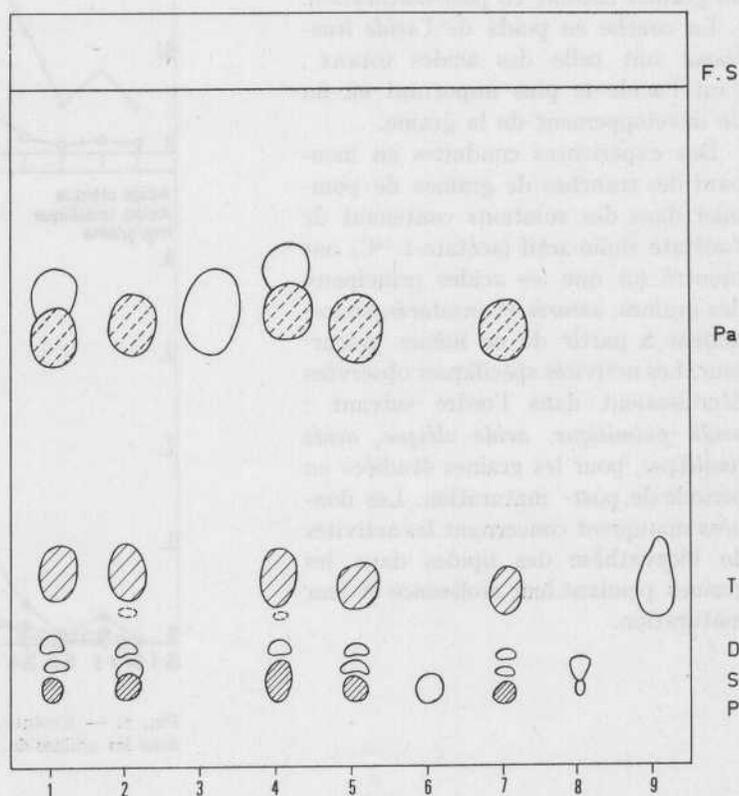
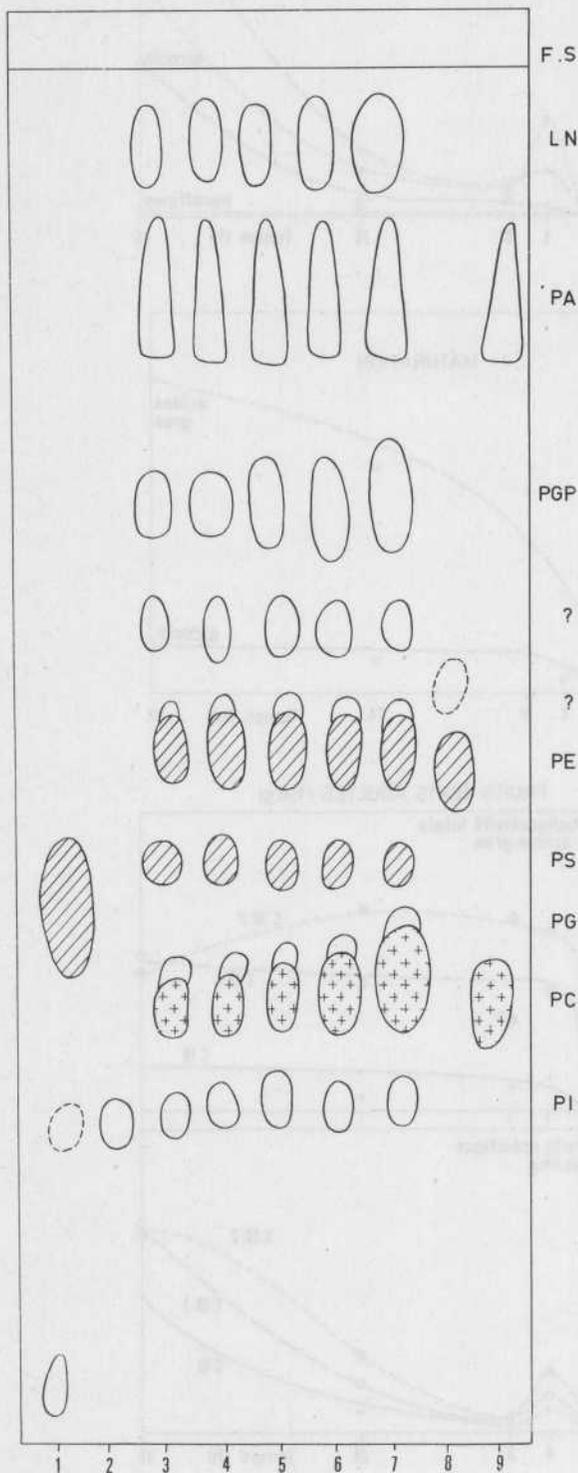


FIG. 9. — Séparation des phospholipides du parenchyme de pomme sur papier silicé (méthode de MARINETTI).

1 : témoin commercial de phosphatidylsérine ; 2 : témoin commercial de phosphatidylinositol ; 3-7 : lipides totaux du parenchyme en solution dans le chloroforme en quantités croissantes de 3 (30 µl



d'extrait) à 7 (60 µl d'extrait) ; 8 : témoin commercial de phosphatidylethanolamine (« céphaline » impure) ; 9 : témoin commercial de phosphatidylcholine. Abréviations : PS : phosphatidylsérine ; PI : phosphatidylinositol ; PC : phosphatidylcholine ; PG : phosphatidylglycérol ; PGP : diphosphatidylglycérol ; PE : phosphatidylethanolamine ; PA : acide phosphatidique ; LN : lipides neutres ; FS : front du solvant. Les spots révélés à la ninhydrine sont hachurés. Les spots immédiatement révélés par les réactifs de Dragendorff sont marqués de croix. Révélation générale à la Rhodamine et aux rayons ultraviolets.

lipidique total (fig. 8) permet de séparer deux fractions majeures : phospholipides et triglycérides. Diglycérides, paraffines et stéroïdes sont présents à l'état de traces. La chromatographie quantitative sur colonne d'acide silicique activé montre que l'extrait lipidique total est constitué pour 75 % de phospholipides et 25 % de lipides neutres. Les phospholipides peuvent être analysés par chromatographie sur couche mince ou sur papier silicé selon la technique de Marinetti (13) (fig. 9). On peut identifier les composés majeurs suivants : phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine, phosphatidylinositol, phosphatidylsérine, acide phosphatidique, phosphatidylglycérol et vraisemblablement diphosphatidylglycérol. L'analyse détaillée de ces lipides bruts du parenchyme sera présentée dans un autre article (14). Les teneurs en acides gras de ces différentes catégories sont examinées par chromatographie en phase gazeuse. L'analyse révèle une grande homogénéité de composition, semblable, pour chaque phospholipide, à celle du tissu entier (à quelques exceptions près).

2. Biosynthèse des lipides du fruit au cours du développement.

a) Biosynthèse des cires.

Lorsqu'on fournit de l'acétate marqué par l'isotope radioactif ¹⁴C à des pelures de pommes mûres, on peut recueillir, après 48 heures par exemple, des cires et de la cutine marquées (15). On doit noter que les paraffines ne sont pas marquées.

Les acides gras incorporent l'acétate radioactif aux deux grandes périodes de la vie du fruit (c'est-à-dire la croissance sur l'arbre, puis la maturation) mais à des vitesses différentes. Quand les fruits sont petits, les acides gras n'atteignent après 48 h d'expériences qu'une activité spécifique relativement faible (200 C/mn/mg) bien inférieure à celle des alcools. Quand les fruits mûrissent, au contraire, l'activité spécifique des acides gras (3 000 C/mn/mg) atteinte au bout du même

FIG. 10.

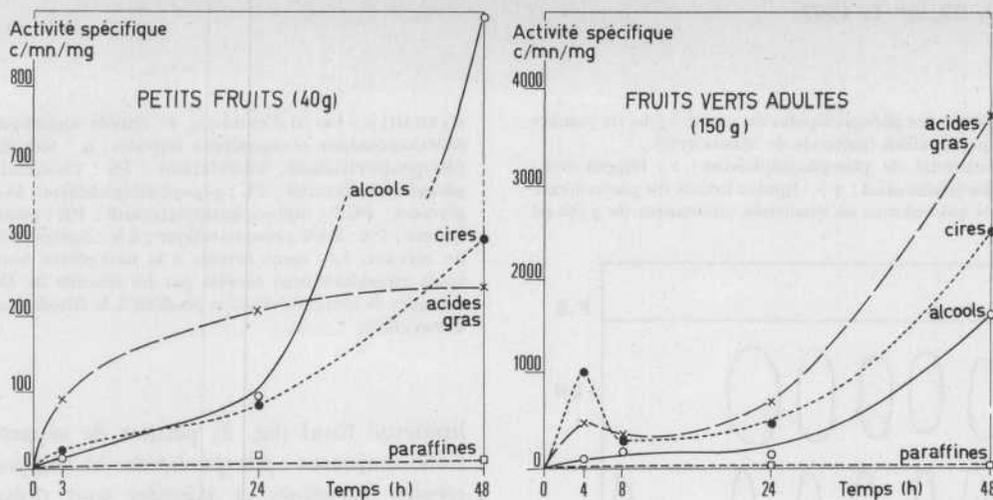


FIG. 11.

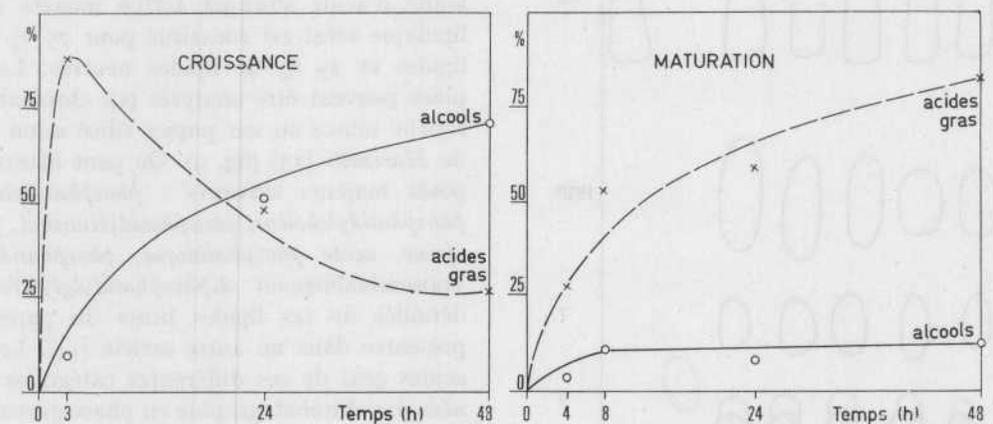


FIG. 12.

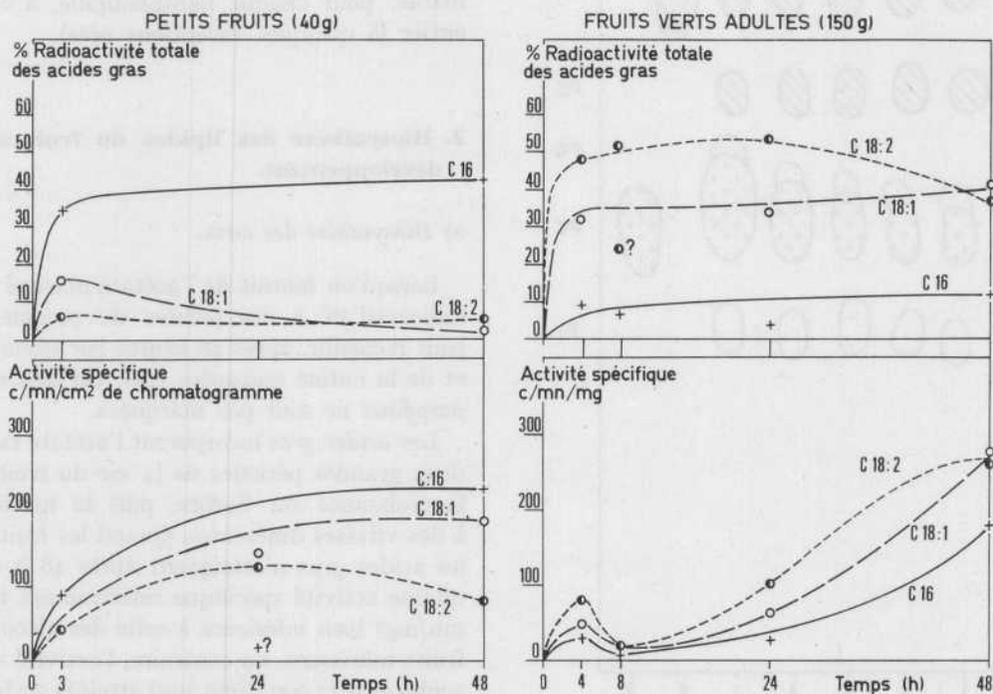


FIG. 10. — Marquage par le carbone radioactif ^{14}C de différentes fractions des cires, après contact de fragments de pelures, pendant différents temps, avec une solution d'acétate $-1-^{14}\text{C}$. Comparaison des résultats obtenus avec des petits fruits, pesant 40 g, cueillis sur l'arbre pendant la période de croissance et des résultats obtenus avec des fruits verts adultes.

FIG. 11. — Comparaison entre les pourcentages de la radioactivité totale incorporée retrouvés dans les alcools et les acides gras des cires aux deux stades suivants du développement : 1° pendant la croissance (fruits cueillis sur l'arbre, pesant 40 g), à gauche ; 2° pendant la maturation (fruits verts adultes, pesant 150 g). Le précurseur radioactif est l'acétate $-1-^{14}\text{C}$, fourni en solution à des fragments de pelures, pendant les temps indiqués en abscisse.

FIG. 12. — Biosynthèse des acides gras des cires par les pelures de pomme, à partir d'acétate marqué au ^{14}C .

Abréviations utilisées : C_{16} : acide palmitique ; $\text{C}_{18:1}$: acide oléique ; $\text{C}_{18:2}$: acide linoléique. On remarque que pendant la croissance, dans les petits fruits, l'acide palmitique, saturé, est bien plus activement synthétisé que les acides insaturés. Pendant la maturation, au stade adulte c'est la situation inverse que l'on observe : les acides oléique et linoléique sont activement biosynthétisés.

temps est quinze fois plus élevée et deux fois plus importante que celle des alcools (fig. 10 et 11). En outre, une analyse plus poussée révèle que la croissance est une période de synthèse préférentielle des acides saturés ; les acides insaturés (acides oléique et linoléique) sont très activement synthétisés pendant la maturation du fruit (fig. 12) (9).

b) Biosynthèse des acides gras de la pulpe.

Des fragments de parenchyme de pomme adulte immergés dans une solution glucosée de précurseur radioactif contenant de l'ATP des ions Mn^{++} et divers sels, synthétisent des acides marqués. Le carbone marqué de l'acétate $1-^{14}\text{C}$ est incorporé dans les acides gras environ cinq fois plus activement que celui du malonate $-1-^{14}\text{C}$ et dix fois plus activement que celui du glucose $-U-^{14}\text{C}$. L'acétate est de plus un précurseur commun des acides saturés et insaturés ; il

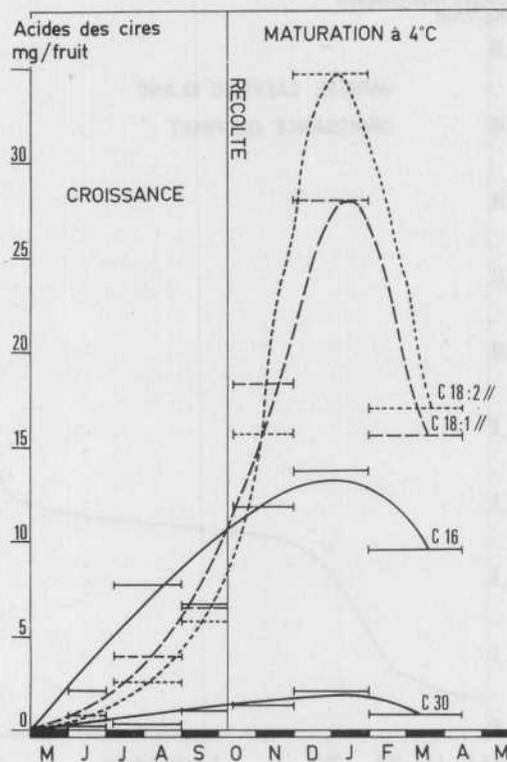
FIG. 13. — Évolution, au cours du développement des fruits, de quelques acides gras des cires.

Acides saturés :	Acides insaturés :
C_{16} : acide palmitique	$\text{C}_{18:1}$: acide oléique
C_{30} : acide mélistique	$\text{C}_{18:2}$: acide linoléique.

sert d'abord dans le parenchyme à la synthèse de l'acide oléique, précurseur possible 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 (16). On ne dispose actuellement d'aucun fait expérimental qui permette de dire si ces activités biosynthétiques, observées dans la pomme adulte, se retrouvent inchangées dans le petit fruit en croissance.

c) Biosynthèse des phospholipides et des glycérides.

Des expériences avec les molécules marquées suivantes : acétate $-1-^{14}\text{C}$, glycérol $1-3-^{14}\text{C}$ ou $^{32}\text{PO}_4\text{HNa}_2$ ont montré que les phospholipides et les glycérides du parenchyme sont soumis à un constant renouvellement dans le parenchyme de fruit mûr. Les synthèses de triglycérides sont plus actives dans le fruit mûr que dans le fruit vert. La partie diacylglycérol des molécules de phospholipides est synthétisée en bloc, vraisemblablement par l'intermédiaire de l'acide phosphatidique (molécule rapidement et intensément mar-



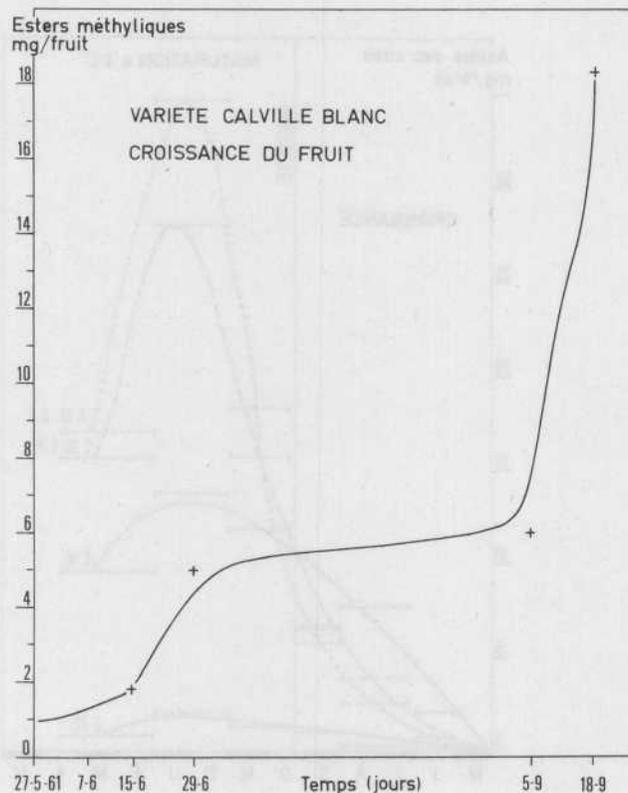
quée). La partie phosphorylée des phospholipides présente un métabolisme quelque peu indépendant du reste de la molécule. Ces résultats seront exposés en détail dans un autre article (14).

3. Évolution des lipides du fruit au cours du développement.

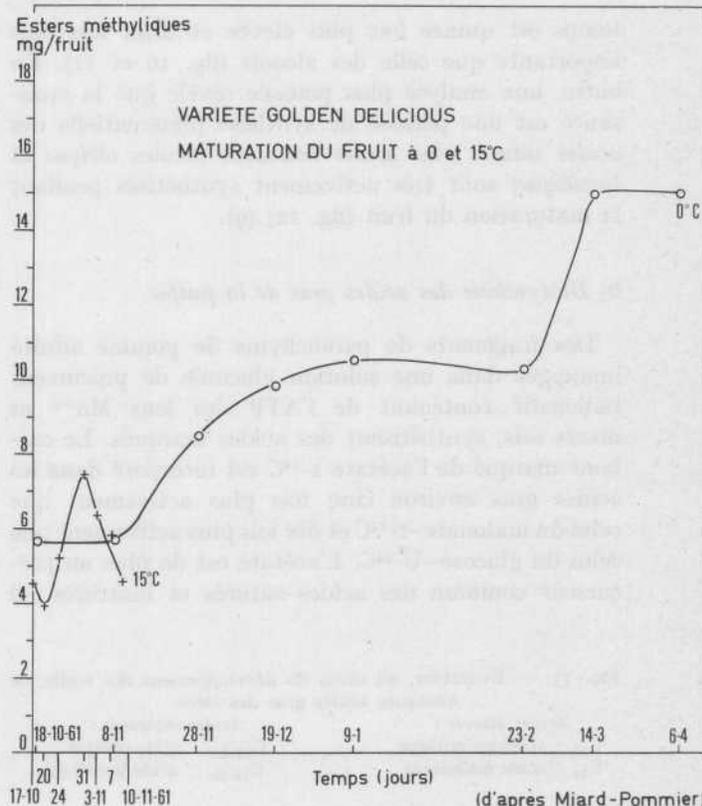
1) Évolution des cires.

Les cires sont synthétisées dès les plus jeunes stades de la formation du fruit. La quantité totale de cires par fruit augmente au cours de la croissance selon une courbe en S (15). L'évolution quantitative de quelques acides gras caractéristiques est représentée sur la figure 13; on suit l'évolution de deux acides saturés : l'acide palmitique et l'acide mélistique et de deux acides insaturés : l'acide oléique et l'acide linoléique. Les périodes d'accumulation sont

FIG. 14. — a) Évolution de la quantité d'esters méthyliques contenus dans la pulpe de pomme 'Calville blanc' au cours de la croissance du fruit sur l'arbre (d'après MIARD-POMMIER). b) Évolution des quantités totales d'acides gras contenues dans la pulpe de la pomme 'Golden Delicious' au cours de la maturation à 15° C et à 0° C (D'après MIARD-POMMIER).



a



b

TABLEAU VI

a) Evolution au cours de la croissance des quantités d'acides palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linoléique contenus dans la pulpe de la pomme Calville Blanc. Résultats exprimés en mg/fruit. (d'après Miard - Pommier - (11).

Dates	Ac. palmitique	Ac. stéarique	Ac. oléique	Ac. linoléique	Ac. linoléique
27-5-61	-	-	-	-	-
+ 7-6-61	-	-	-	-	-
15-6-61	0,91	1,23	3,41	4,45	0,14
29-6-61	2,32	4,06	8,10	9,25	0,59
5-9-61	1,86	3,78	5,87	1,80	0,87
18-9-61	3,35	1,04	2,25	8,15	2,91

b) Evolution de la teneur en acides laurique, myristique, palmitique, stéarique, oléique et linoléique de la pulpe de la pomme Golden Delicious lors de la maturation à 15° C et à 0° C. Résultats exprimés en mg/fruit.

15° C						
Dates	Acide laurique	Acide myristique	Acide palmitique	Acide stéarique	Acide oléique	Acide linoléique
17-10-61	0,06	0,10	1,35	0,35	0,77	1,90
20-10-61	0,04	0,07	0,87	0,20	0,53	2,21
24-10-61	0,02	0,05	1,60	0,39	1,02	2,23
27-10-61	-	-	-	-	-	-
31-10-61	0,02	0,05	3,43	0,16	1,22	2,52
3-11-61	0,006	0,03	2,03	0,12	1,28	2,85
7-11-61	0,09	0,05	3,22	0,23	1,15	1,07
10-11-61	0,06	0,005	1,66	0,08	0,62	2,01
15-11-61	-	-	-	-	-	-
0° C						
8-10-61	0,01	0,03	1,02	0,26	1,60	2,65
8-11-61	0,03	0,11	2,05	0,50	1,29	1,68
28-11-65	0,08	0,25	4,33	1,48	1,27	1,05
19-12-61	0,12	0,19	5,47	0,90	1,58	1,51
9-2-62	0,04	0,13	5,79	1,72	1,14	1,66
1-2-62	-	-	-	-	-	-
23-2-62	0,02	0,09	3,79	1,27	1,33	3,79
4-3-62	0,04	0,18	4,89	1,99	1,89	5,52
6-4-62	0,04	0,16	4,84	1,54	1	7,38

différentes pour les deux types d'acides ; *les acides saturés sont synthétisés surtout pendant la croissance, les acides insaturés surtout pendant la maturation.*

2) Évolution des lipides de la pulpe.

La quantité totale d'esters méthyliques augmente continuellement au cours du développement du fruit (fig. 14). Elle passe de pratiquement 0 à 18,30 mg par fruit ; au cours des dernières semaines de développement l'augmentation est particulièrement importante ; les acides saturés passent de 0 à 6 mg par fruit et les acides insaturés de 0 à 17 mg. Le tableau n° 6 réunit les résultats qualitatifs obtenus grâce à l'étude

des acides gras constitutifs à divers stades du développement du fruit. Il y a un changement progressif, au cours de la vie du fruit, dans le métabolisme des acides gras qui se traduit par une accumulation d'*acides insaturés* notamment d'*acide linoléique* dans la pulpe en fin de développement. Ce fait a été observé également par MEIGH et HULME (17) et NEUBEL-
LER (18) dans la pulpe des régions superficielles du péricarpe. L'évolution est encore plus nette lors de la survie des fruits à 0° C. Les acides insaturés représentent 24 % des acides gras totaux au début de la survie ; ils passent par un maximum (73 %) en mars, puis redescendent à 44 % à la période de sénescence. On constate également l'apparition d'acides gras à *chaîne courte* en fin de maturation.

CONCLUSION

Nous allons essayer, en conclusion, de comparer les résultats acquis sur l'évolution des lipides dans les différents organes reproducteurs du pommier. Existe-t-il une évolution similaire des lipides dans ces organes ?

Quelques faits se dégagent. Les acides gras séparés sont globalement les mêmes dans les divers éléments analysés. Les *acides saturés*, abondants dans les pétales (40 %) et les étamines, représentent toujours un pourcentage nettement inférieur à celui des acides insaturés, dans tous les organes, sauf au début de leur croissance. La période de croissance coïncide toujours avec une période d'accumulation des *acides saturés* préférentiellement.

Sauf dans les pétales et les étamines, la quantité totale des acides gras augmente au cours de la vie des organes reproducteurs. Cette augmentation pourrait correspondre en fin de maturation à une accumulation passive, liée à une non-consommation des lipides. Dans tous les cas, la période de maturation s'accompagne d'un métabolisme différent de celui observé en période de croissance. On assiste à une synthèse préférentielle des *acides insaturés*, un maximum étant atteint pour la pulpe et l'épiderme au moment de la crise respiratoire du fruit ; le maximum est atteint au début de la maturation des fruits en ce qui concerne les *acides insaturés* des graines. La sénescence des fruits s'accompagne d'une disparition préférentielle des *acides insaturés* due, peut-être, à leur scission en fragments volatils (19).

Il est certain en outre que les périodes de synthèse active des lipides sont différemment situées dans le temps pour chaque organe. On assiste, au cours du développement général de l'appareil reproducteur du pommier à une accumulation de lipides *successivement* dans les verticilles externes de la fleur, puis dans les ovaires, puis dans les graines, puis dans les fruits. Cette accumulation présente dans chaque organe les deux mêmes phases : durant la croissance de l'organe, biosynthèse préférentielle d'*acides saturés*, durant la maturation, biosynthèse préférentielle des *acides insaturés*.

BIBLIOGRAPHIE

1. ULRICH (R.). — *La vie des fruits* (Origine, développement, structure, physiologie, composition chimique, maturation, sénescence, chute, champignons nuisibles). Masson éditeur, Paris (1962), 369 p.
2. CHABERT (A.). — *Contribution à l'étude du métabolisme lipidique de la fleur*. D. E. S. Sc. nat. Paris (1940), 13 p.
3. MAZLIAK (P.). — Les cires des végétaux supérieurs. *Année biologique*, 11, p. 35-78 (1963).
4. HILDITCH (T.-P.). — *The chemical constitution of natural fats*. Chapman and Hall, London, 3^e édition (1956), 664 p.
5. THIBAUDIN (A.). — *La lipogénèse dans la fleur et dans la graine de pommier* (*Pirus malus* L.). D. E. S. Sciences naturelles, Paris, 65 p. (1965).
6. FOLCH (J.), MEES (M.), SLOANE (Gh.), STANLEY. — A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. chem.*, 226, p. 497-509 (1957).
7. BLANCK (M. L.), VERDINO (B.), PRIVETT (A. S.). — Determination of triglyceride structure via Silver nitrate T. L. C. *J. Am. Oil. Chem. soc.*, 42, p. 82 (1965).
8. MORRIS (L. J.). — Specific separations by chromatography on impregnated adsorbents, p. 294-319 in *New Biochemical separations*.

- ditions édité par A. T. JAMES et L. J. MORRIS, D. Van Nostrand Company, London (1964), 424 p.
9. MAZLIAK (P.). — Biosynthèse des acides gras par divers tissus de pomme. Variations avec l'âge et la température. *VI^e Congrès de Biochimie. Abstracts*, 99, p. 585 (1964).
 10. MAZLIAK (P.) et MIARD-POMMIER (J.). — Les lipides de la pomme. *Fruits*, 18, p. 177-183 (1963).
 11. MIARD-POMMIER (J.). — *Évolution des lipides de la pommes (cuticule exclue) au cours de la croissance et de la maturation à 15° C et à 0° C*. D. E. S., Paris, 69 p. (1962).
 12. MAZLIAK (P.). — Les acides gras du parenchyme des pommes (Nouvelles techniques). *Fruits*, vol. 20, n° 10, p. 559-564 (1965).
 13. MARINETTI (G. V.). — Chromatographic analysis of polar lipids on silicic impregnated paper, p. 339-377 in *New Biochemical Separations*, édité par A. T. JAMES et J. L. MORRIS Van Nostrand ed. Londres, 424 p.
 14. MAZLIAK (P.). — Recherches sur le métabolisme des Glycérides et des phospholipides dans le parenchyme de pomme *Phytochemistry* (sous presse).
 15. MAZLIAK (P.). — *La cire cuticulaire des pommes*. Thèse Fac. Sci. Univ., Paris. Librairie Générale de l'enseignement, 168 p. (1963) et *Rev. Gen. Bot.*, 7°, p. 437-553 (1963).
 16. MAZLIAK (P.). — Biosynthèse des acides gras par le parenchyme de pomme. *Fruits*, vol. 20, n° 11, p. 605-613 (1965).
 17. MEIGH (D. F.) and HULME (A. C.). — Fatty acid metabolism in the apple fruit during the respiration climacteric. *Phytochemistry*, 4, p. 863-871 (1965).
 18. NEUBELLER (J.). — Über den lipidgehalt von apfel Früchten während ihrer Entwicklung am Baum und ihrer Lagerung. *Die Gartenbauwissenschaft*, 10, 2, p. 199-244 (1963).
 19. MAZLIAK (P.). — Évolution de l'enduit lipidique de revêtement des pommes (variété *Calville blanc*) au cours de la maturation *C. R. Ac. Sc.*, 246, p. 3368-3370 (1958).



PUBLICATION DE L'INSTITUT FRANÇAIS
DE RECHERCHES FRUITIÈRES OUTRE-MER (IFAC)

MALADIES A VIRUS DES AGRUMES

Bibliographie établie par

l'Institut français de Recherches fruitières Outre-Mer (IFAC)

Sous les auspices de

l'Organisation internationale des Virologistes des Agrumes (IOCV)

I. Analyses des publications de 1926 à 1962 **Prix 50 F**

II. Analyses des publications de 1963 à 1966 **Prix 25 F**

I.F.A.C., 6, rue du Général-Clergerie, Paris, 16^e