

# Métabolisme des lipides dans le parenchyme externe et l'épiderme des pommes

## I. COMPARAISON AVEC LE PARENCHYME CENTRAL

par **P. MAZLIAK** et **A.-M. JUSTIN**

*Laboratoire de Physiologie végétale appliquée. Sorbonne, Paris (1).*

### MÉTABOLISME DES LIPIDES DANS LE PARENCHYME EXTERNE ET L'ÉPIDERME DES POMMES

#### I. COMPARAISON AVEC LE PARENCHYME CENTRAL

par P. MAZLIAK et A.-M. JUSTIN (Sorbonne)

*Fruits*, vol. 22, n° 8, oct. 1967, p. 413 à 431.

**RÉSUMÉ.** — Les principaux acides gras des lipides totaux des pelures de fruits mûrs sont les acides palmitique (30 %), linoléique (26,4 %) oléique (15,8 %), stéarique (10,4 %) et linoléique (6,1 %). Les cellules de la pulpe sont relativement beaucoup plus riches en acide linoléique.

On peut séparer chromatiquement les lipides des pelures en paraffines, cérides, triglycérides, diglycérides, monoglycérides, phospholipides, galactolipides, stérols et triterpènes. Les lipides polaires ne forment que 15 % du poids des lipides totaux (contre 75 % dans la pulpe).

Les phospholipides majeurs de la « pelure » sont la phosphatidylcholine, la phosphatidyl-éthanolamine, le phosphatidylinositol et l'acide phosphatidique.

L'incorporation, *in vitro*, d'acétate- $1-^{14}\text{C}$  dans les lipides montre la formation d'acides gras à très longues chaînes (C 20 à C 26) dans la pelure. Lorsque l'aération du milieu est normale, les acides formés sont en majorité saturés. Lorsque l'oxygénation du milieu est artificiellement augmentée, les acides gras produits sont en majorité mono-insaturés et saturés.

La quantité d'acétate- $1-^{14}\text{C}$  incorporée dans les lipides (par g de matière fraîche) est dix fois plus importante dans la « pelure » que dans la pulpe des fruits mûrs. Ce sont les acides gras des phospholipides qui sont le plus activement renouvelés dans les pelures. (Dans la pulpe phospholipides et glycérides sont également renouvelés).

Le marquage des phospholipides au  $^{14}\text{C}$  ou au  $^{32}\text{P}$  montre dans les deux tissus le rôle de précurseur de l'acide phosphatidique et le renouvellement très actif de la phosphatidylcholine.

Plusieurs faits suggèrent que les cellules des couches les plus externes du péricarpe des pommes présentent un métabolisme lipidique très actif.

Premièrement, ces cellules synthétisent des lipides très divers. Ainsi les *cires* et la *cutine*, de nombreux acides gras, des alcools à longues chaînes, des paraffines s'accumulent dans les cuticules épidermiques au cours du développement des fruits (1). MEIGH et HULME (2) ont montré que l'*acide linoléique* s'accumule dans les « pelures » des pommes au cours de la maturation ; ce fait a aussi été noté par NEUBELLER (3).

Deuxièmement, les mesures d'intensité respiratoire effectuées entre autres par JONES, HULME et WOOLTORTON (4) ont montré que la respiration des « pelures » est beaucoup plus intense que celle de la « pulpe » des mêmes fruits. Ce fait traduit un métabolisme général plus actif dans la « pelure » que dans le parenchyme profond. Comme des

(1) Laboratoire de Physiologie végétale appliquée, 1, rue Victor-Cousin, Paris 5<sup>e</sup>.

recherches précédentes (5) nous ont montré que les cellules de la pulpe sont le siège de biosynthèses importantes de lipides, il nous semble logique d'attendre des cellules superficielles du péricarpe qu'elles présentent un métabolisme lipidique encore plus actif que la pulpe.

Troisièmement enfin, les cellules périphériques des fruits contiennent des chloroplastes. Ces organites sont dans les feuilles le siège d'une lipogénèse importante (6). On peut espérer retrouver la même activité métabolique dans les chloroplastes des fruits. Il faut cependant tenir compte du fait que dans les fruits adultes, en voie de maturation, les chloroplastes ne sont plus photosynthétiquement actifs et qu'ils dégèrent. Cette dégénérescence est généralement marquée par l'accumulation de globules osmiophiles dans les organites (7). Ce fait suggère néanmoins que certaines synthèses lipidiques s'y poursuivent.

Partant de ces constatations, nous avons utilisé des précurseurs radio-actifs pour suivre, *in vitro*, le métabolisme des lipides dans les « pelures » de fruits mûrs, pour commencer. Ces recherches seront étendues par la suite aux fruits en cours de développement. Cette étude doit nous permettre de voir si les tissus superficiels du péricarpe des pommes peuvent fournir un bon matériel biologique pour nos recherches sur la lipogénèse dans les différents organites des cellules végétales (8). Par ailleurs, les résultats acquis sur les pelures seront systématiquement comparés avec ceux précédemment obtenus sur la pulpe pour voir si le métabolisme des lipides se déroule de la même façon dans toutes les parties du fruit.

## FRUITS UTILISÉS

Les fruits utilisés sont des pommes de la variété *Golden*, provenant d'un verger situé à Limeuil, en Dordogne. Ces fruits ont été cueillis encore verts, au début d'octobre, puis entreposés en chambre isotherme, à + 4° C environ. Dans ces conditions la

maturation, marquée par le jaunissement progressif des fruits, est ralentie et s'étend sur deux ou trois mois. Seuls des fruits en parfait état ont été retenus pour les expériences.

## COMPOSITION EN LIPIDES DES PELURES

L'analyse des lipides de la pelure doit permettre d'établir la composition en acides gras totaux, de séparer les différentes catégories de lipides bruts et d'établir la composition en acides de chacune de ces catégories.

### a) Étude des acides gras totaux.

A l'aide des techniques précédemment décrites (9) (chromatographie en phase gazeuse, chromatographie sur couche mince de silice-NO<sub>3</sub>Ag) nous avons analysé les esters méthyliques des acides totaux des tissus, obtenus par saponification directe du matériel biologique.

Le mélange brut des acides contient dans le cas des pelures les *hydroxyacides* provenant de la dégradation de la cutine (10). Les esters de ces hydroxyacides apparaissent en fin de chromatogramme lors des séparations par chromatographie en phase gazeuse (fig. 1 A et 1 B). Ces esters peuvent être éliminés par chromatographie de l'extrait brut sur couche mince de silice. Le développement des plaques par le mélange heptane-éther éthylique (80 : 20 en volumes) permet de

séparer les acides normaux méthylés des hydroxyacides méthylés (voir plus loin ; fig. 7). Le spot des esters d'acides normaux est gratté avec une spatule et les corps purifiés sont élués par le méthanol.

Les esters purifiés sont alors analysés par chromatographie en phase gazeuse principalement. Les identifications sont faites en comparant les volumes de rétention relatifs des corps séparés ( $V'_{R}$ ) avec ceux de

FIG. 1. — Analyse par chromatographie en phase gazeuse des acides gras totaux des pelures de pomme. a. *Analyse de l'extrait brut sur phase apolaire.* — Séparation selon les longueurs de chaîne. Conditions expérimentales : Phase stationnaire : Silicone 710, adsorbé à 10 % (en poids) sur du Chromosob W (60-80 mesh), hexaméthylsilanisé. Gaz vecteur : Azote. Débit : 3 l/h. Longueur de colonne : 3 m. Diamètre : 1/4 de pouce. Température : 230° C. Détection : ionisation de flamme. Appareil : Profit C. G. 1. Licence C.N.R.S. b. *Analyse de l'extrait brut sur phase polaire.* — Séparation selon les longueurs de chaîne et le degré d'insaturation. Conditions expérimentales comme en A, sauf pour la phase stationnaire : Butane-Diol-Succinate, adsorbé à 20 % (en poids) sur Chromosob W (60-80 mesh), hexaméthylsilanisé. c. *Analyse de l'extrait purifié, sur phase polaire.* — Mêmes conditions expérimentales qu'en B. L'extrait total a été purifié par chromatographie préparatoire sur couche mince de silice. Les hydroxyacides ont été ainsi éliminés. Les abréviations utilisées sont les mêmes qu'au tableau I. (S = solvant des acides, chloroforme ou éther de pétrole. Hyd = hydroxyacides).

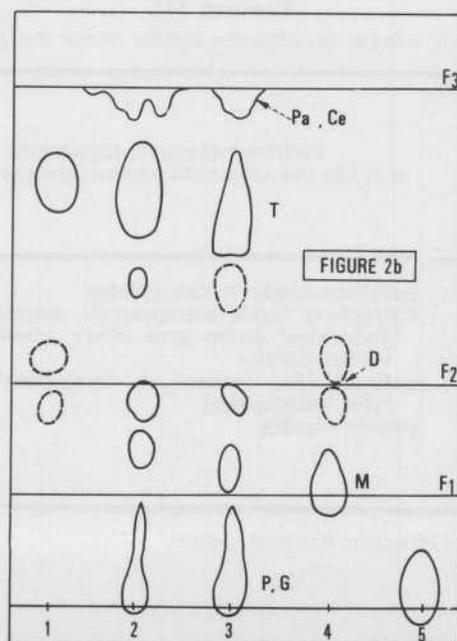
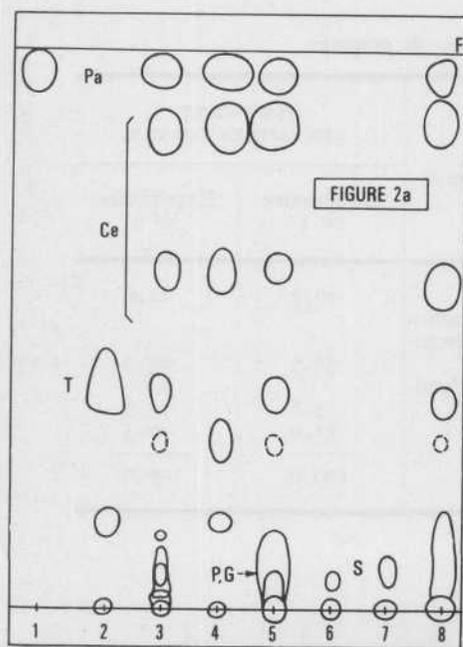
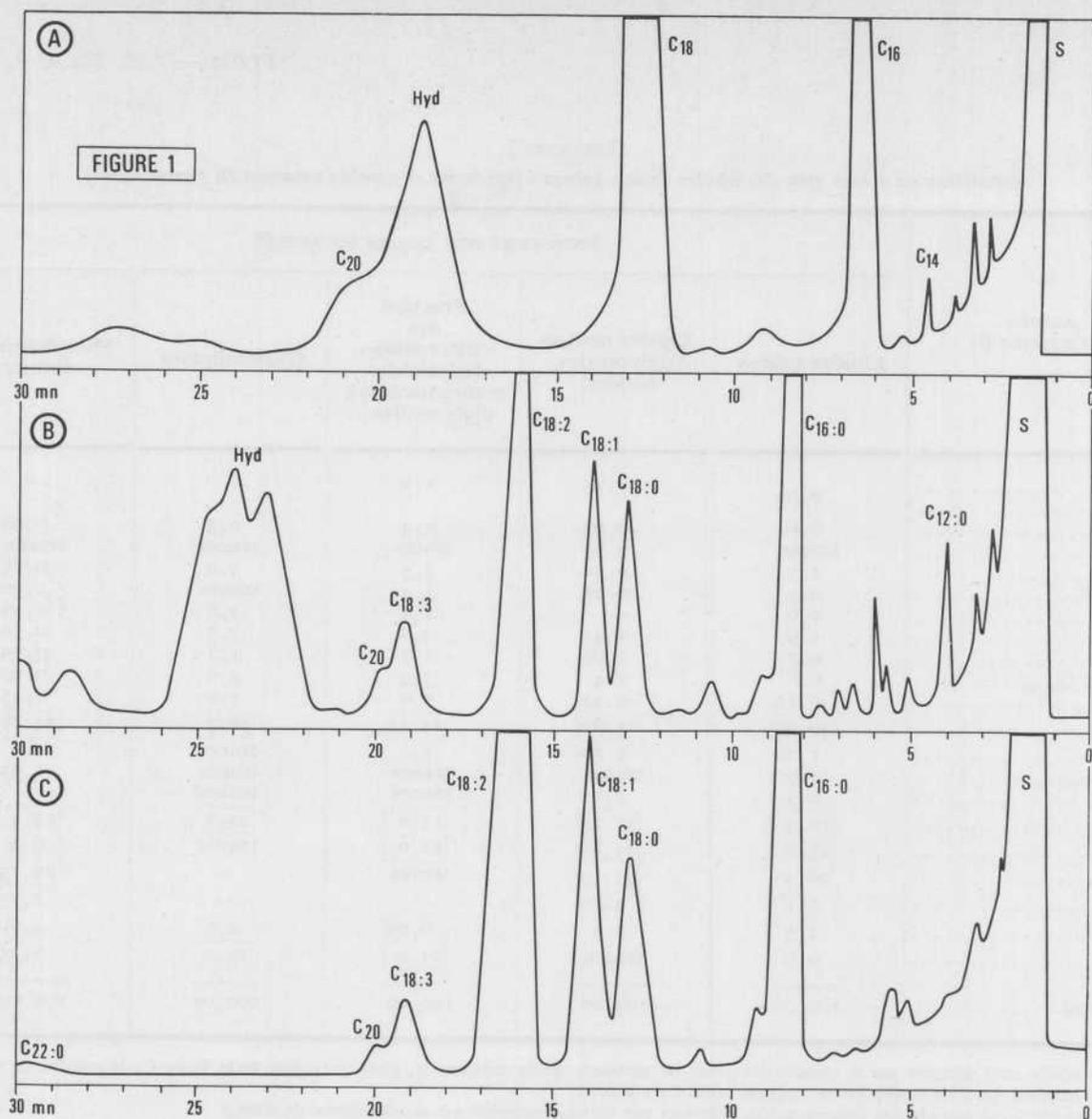


FIG. 2. — Séparation des diverses catégories de lipides de la pelure. *a.* Chromatographie sur couche mince de silice. (Solvant de développement éther de pétrole, éther éthylique, acide acétique: 90 : 10 : 1 en volumes. F : front du solvant. — 1 : tétradécane. — 2 : trioléine commerciale. — 3, 5, 8 : lipides de la pelure. — 4 : cires cuticulaires de pomme. — 6 : sitostérol. — 7 : acide ursolique de pomme. — Identifications : Pa : paraffines ; Ce : cérides ; T : triglycérides ; P, G : phospholipides et galactolipides ; S : sitostérol. *b.* Chromatographie sur papier silicé ; les lignes horizontales marquent le front des trois éluants : successivement F<sub>1</sub> = front du chloroforme-méthanol (1 : 1) ; F<sub>2</sub> = front de l'heptane-diisobutylcétone (1 : 1) ; F<sub>3</sub> = front de l'heptane-diisobutylcétone-acide acétique (96 : 6 : 0,5). Les spots déposés sont les suivants : 1 : trioléine (impure). — 2, 3 : 1 et 20 µl d'extrait lipidique total des pelures. — 4 : mono-oléine (impure). — 5 : phosphatidylcholine. Les identifications possibles sont les suivantes : Pa, Ce : paraffines, cérides ; T : triglycérides ; D : diglycérides ; M : monoglycérides, P, G : phospholipides et galactolipides (les triterpènes sont aussi présents dans cette fraction).

TABLEAU I.  
Composition en acides gras des lipides de la « pelure » (épiderme et couches externes du parenchyme).

ACIDES IDENTIFIÉS (1)	POUR-CENT DES ACIDES TOTAUX (2)				
	Lipides totaux	Lipides neutres (triglycérides, cérides)	Fraction des « triterpènes », diglycérides, monogalactosyl, diglycérides...	Galactolipides	Phospholipides totaux
C <sub>9:0</sub> .....	0,65	0,25	1,2	—	—
C <sub>9:1</sub> .....	0,6	0,65	0,4	0,3	0,90
C <sub>10:0</sub> .....	traces	0,65	traces	traces	traces
C <sub>11:0</sub> .....	1,9	0,50	3,5	5,0	0,75
C <sub>12:0</sub> .....	0,3	0,45	1,4	traces	1,30
C <sub>12:1</sub> .....	0,6	—	2,4	3,8	1,35
C <sub>13:0</sub> .....	1,9	1,4	5,0	7,5	2,50
C <sub>14:1</sub> .....	0,6	1,00	1,1	1,1	0,65
C <sub>15:0</sub> (et C <sub>14:2</sub> ).....	0,6	2,4	3,5	2,0	0,60
C <sub>15:1</sub> .....	0,15	0,25	0,9	1,0	0,45
C <sub>16:0</sub> .....	30,00	15,20	24,25	36,7	24,80
C <sub>16:1</sub> .....	1,00	2,10	1,6	traces	1,8
C <sub>16:2</sub> .....	0,6	traces	traces	traces	1,05
C <sub>17:0</sub> .....	0,3	1,00	traces	traces	—
C <sub>18:0</sub> .....	10,4	11,25	13,0	24,5	15,5
C <sub>18:1</sub> .....	15,8	24,80	11,0	traces	6,9
C <sub>18:2</sub> .....	26,4	33,75	traces	—	29,15
C <sub>18:3</sub> .....	6,1	3,80	—	—	1,15
C <sub>20:0</sub> .....	1,5	0,5	6,75	2,9	4,6
C <sub>22:0</sub> .....	0,6	traces	24,0	15,2	6,55
Total.....	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

1. Les acides sont désignés par le nombre d'atomes de carbones qu'ils renferment, placé en indice de la lettre C; le nombre de doubles liaisons présentes dans les molécules est indiqué après les 2 points.

2. On ne tient pas compte des hydroxyacides (éliminés par chromatographie sur couche mince de silice.)

TABLEAU III.  
Fractionnement sur colonne de silice des lipides totaux des pelures de pommes.

FRACTIONS	ÉLUANT	LIPIDES PRÉSENTS, IDENTIFIÉS D'APRÈS LES ANALYSES CHROMATOGRAPHIQUES	POUR-CENT DES LIPIDES TOTAUX	
			Expérience n° 1	Expérience n° 2
I	Chloroforme	paraffines-triglycérides, cérides	26,7	22,0
II	Chloroforme-acétone (1:1 en volumes)	triterpènes (acide ursolique) (1), stérols, monoglycérides, acides gras libres, monogalactosyldiglycérides	58,5	63,0
III	Acétone	galactolipides (mono- et digalactosyldiglycérides, sulfolipides)	3,8	5,5
IV	Méthanol	phospholipides	11,0	9,5
			100,0	100,0

1. Cette fraction présente une réaction de Liebermann-Burchard positive.

témoins purs synthétiques. On vérifie aussi que les  $\log V'_R$  des acides d'une série homologue varient linéairement avec le nombre d'atomes de carbone des molécules. Les analyses sont faites sur deux phases stationnaires : Butane-Diol-Succinate (phase polaire) (fig. 1 c) et silicone 710 (phase apolaire). Les quantités relatives des acides gras sont estimées à partir des surfaces des pics chromatographiques. (Un étalonnage quantitatif du chromatographe à l'aide de mélanges de composition connue fournis par *Applied Science Laboratories* indique que les pourcentages trouvés avec le détecteur à ionisation de flamme sont exacts à  $\pm 3\%$  près pour les pics majeurs).

Les résultats d'analyse sont portés dans le tableau I. Les principaux acides gras des lipides totaux de la pelure sont les suivants : *acide palmitique* (30 %), *acide linoléique* (26,4 %), *acide oléique* (15,8 %), *acide stéarique* (10,4 %) et *acide linoléique* (6,1 %). Les hydroxyacides de l'extrait brut ne sont pas comptés dans ces pourcentages (1) ; d'autre part les acides gras à très longue chaîne des cires cuticulaires (en  $C_{24}$ ,  $C_{26}$ ,  $C_{28}$  et  $C_{30}$ ), précédemment mis en évidence (10), sont ici présents en beaucoup trop faibles quantités pour apparaître sur les chromatogrammes, même à l'état de traces.

La comparaison entre la composition en acides gras totaux des couches externes du parenchyme de pomme (« pelure ») et celle des couches internes (« pulpe ») montre que les cellules profondes sont relativement beaucoup plus riches en *acide linoléique* que les cellules des zones périphériques (tableau II). Ces dernières sont plus riches en acides saturés à longue chaîne (*acide stéarique*) et en acides mono-insaturés. Ces faits ne signifient pas obligatoirement que les cellules de la pelure sont moins aptes à synthétiser l'*acide linoléique* que les cellules de la pulpe. Nous pensons que deux causes concourent à abaisser le pourcentage relatif de cet acide dans les zones externes du péricarpe : 1° une partie de l'*acide linoléique* formé sert de précurseur aux hydroxyacides constitutifs de la cutine ; ces derniers dérivent par oxydation des acides poly-insaturés, d'après les conceptions de HEINEN (11) ; 2° la quantité d'acides saturés nécessaires à la fabrication des cires est importante et cela diminue l'importance relative de l'*acide linoléique*.

1. Pour les analyses de routine et les recherches avec les molécules marquées, nous n'avons pas toujours purifié l'extrait brut des acides sur plaque de silice. La radioactivité incorporée dans les hydroxyacides s'est en effet toujours révélée très faible (voir fig. 7) et la présence de ces contaminants ne modifie pas sensiblement les résultats obtenus.

TABLEAU II.

Comparaison entre les compositions en acides gras principaux des lipides de la « pelure » et de la « pulpe » des pommes.

ACIDES GRAS PRINCIPAUX	POUR-CENT DES ACIDES TOTAUX	
	pulpe	pelure
Acide palmitique.....	31,0	30,0
Acide stéarique.....	4,5	10,4
Acide oléique.....	4,0	15,8
Acide linoléique.....	53,0	26,4
Acide linoléique.....	7,0	6,1

#### b) Étude des différentes catégories de lipides bruts.

Les lipides bruts totaux sont extraits par le mélange chloroforme-méthanol (2 : 1 en volumes) selon la méthode de BLIGH et DYER (12). Les pelures sont broyées avec un peu de sable. On a soin de fixer le matériel au moment de l'extraction par du méthanol bouillant. Les lipides bruts sont recueillis en solution chloroformique après lavage par l'eau distillée du mélange d'extraction. On recueille en moyenne 69,6 mg de lipides totaux pour 10 g de pelures fraîches.

L'extrait lipidique total est divisé en différentes classes par plusieurs systèmes chromatographiques. Les classes séparées sont identifiées par référence aux migrations de substances témoins, ou bien en comparant les  $R_f$  mesurés avec ceux publiés par les auteurs.

Deux systèmes chromatographiques sont employés pour la séparation qualitative des différentes classes : 1°) Le système sur couche mince de silice, mis au point par MANGOLD (13). Un chromatogramme typique est présenté à la fig. 2 a. On distingue au moins six spots que l'on fait correspondre, d'après leurs  $R_f$ , aux catégories suivantes : *paraffines*, *cérides* (au moins deux spots), *triglycérides*, *stérols ou terpènes*, *lipides polaires* (*phospholipides* et *galactolipides*). Les terpènes et les lipides polaires ne sont pas nettement séparés. 2°) On emploie le système sur papier silicé imaginé par MARNETTI (14). Trois solvants de développement sont successivement utilisés. Un chromatogramme typique est présenté à la fig. 2 b. Ce système permet la séparation des catégories suivantes : *paraffines* et *cérides*, *triglycérides*, *diglycérides*, *monoglycérides* et *lipides polaires* (*phospholipides*, *galactolipides*, *stérols* ou *triterpènes*).

La séparation quantitative des divers lipides bruts est réalisée par chromatographie sur colonne de silice,

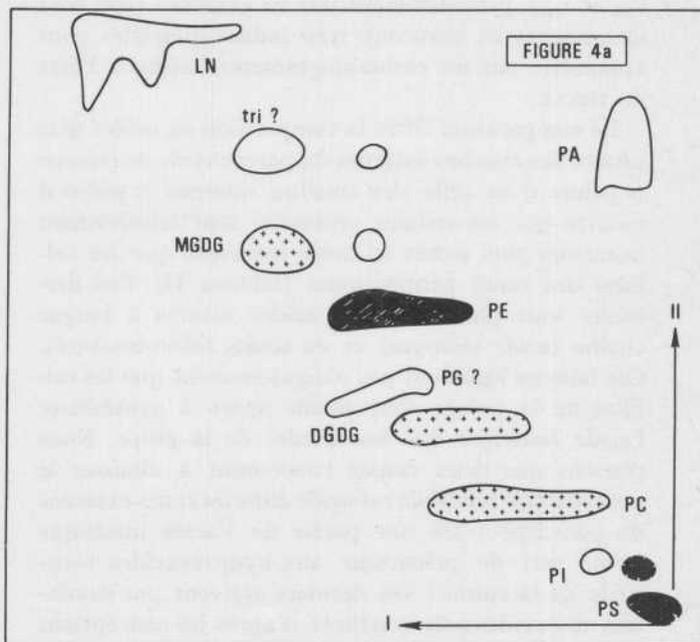
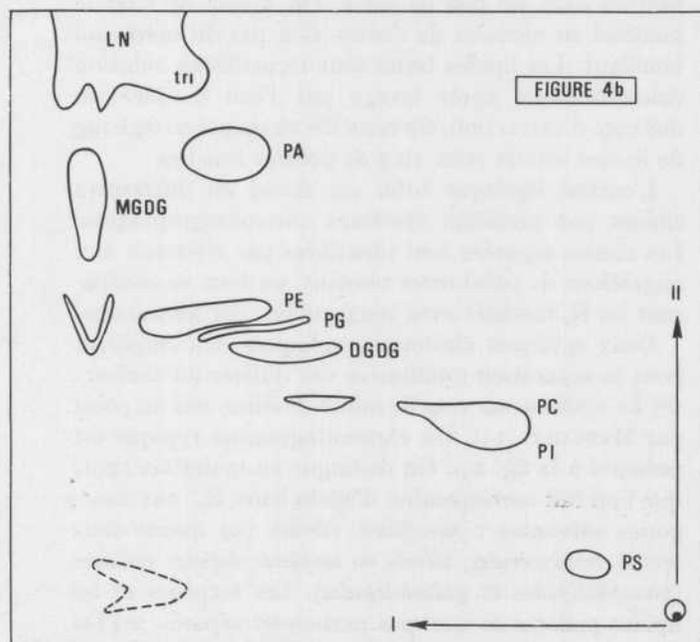
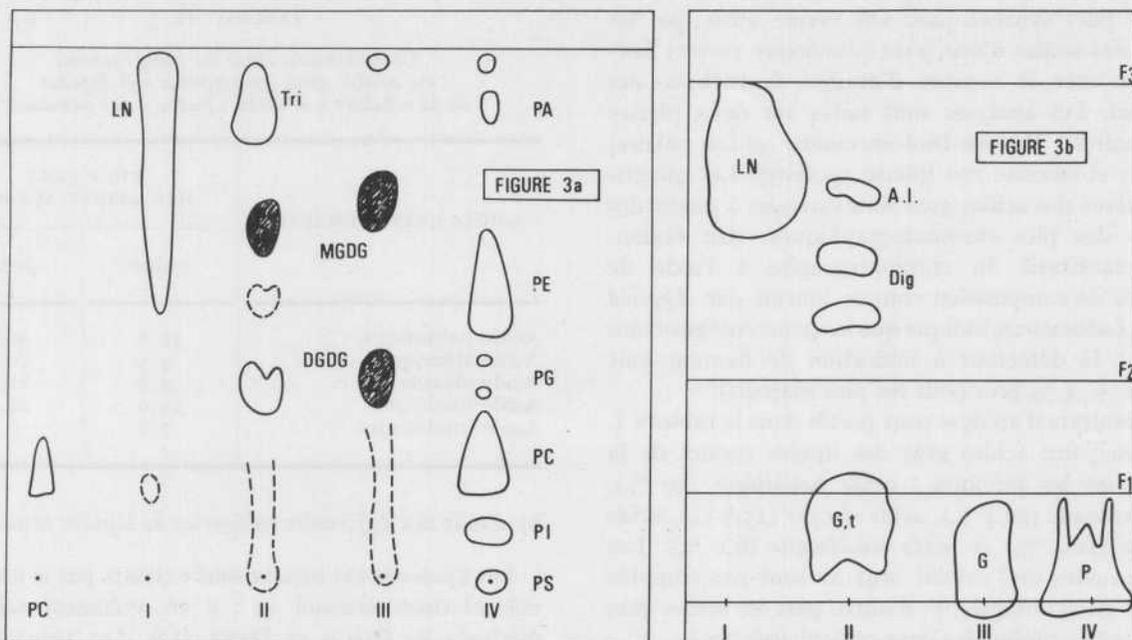


FIG. 3. — Analyse des fractions séparées sur colonnes d'acide silicique — Les fractions I, II, III et IV sont celles indiquées au tableau III. *a.* Chromatographie sur couche mince de silice (solvant de développement chloroforme-méthanol-acide acétique-eau, 170 : 25 : 25 : 4 en volumes). Les spots identifiés sont les suivants : LN. : lipides neutres. — Tri : triterpènes. — MGDG : monogalactosyldiglycérade. — DG DG : digalactosyldiglycérade. — PA : acide phosphatidique. — PE : phosphatidyléthanolamine. — PG : phosphatidylglycérol. — PC : phosphatidylcholine. — PI : phosphatidylinositol. — PS : phosphatidylsérine. Les spots hachurés prennent une coloration bleue après réaction à l'anthrone. *b.* Chromatographie sur papier silicé (même système qu'à la fig. 2 *b*). A.I. : acides gras libres. — Dig. : diglycérades. — G. : galactolipides. — t : terpènes. — p : phospholipides.

FIG. 4. — Analyse par chromatographie bidimensionnelle sur couche mince de silice, des lipides totaux des pelures de pomme. *a.* Système de Nichols (17). (Solvant I : chloroforme-méthanol-NH<sub>4</sub>OH (7N) : 65 : 25 : 4 en volumes. — Solvant II : chloroforme-méthanol-acide acétique-eau : 170 : 25 : 25 : 4 en volumes). Révélation générale à l'iode. Spots révélés à la ninhydrine en hachurés. Spots révélés au réactif de Dragendorff en croisés. Les abréviations utilisées sont les mêmes qu'à la fig. 3. *b.* Système de Lepage (22) (Solvant I : chloroforme-méthanol-eau : 65 : 25 : 4 en volumes. — Solvant II : diisobutylcétone-acide acétique-eau : 80 : 50 : 10 en volumes). Spots révélés par SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>, puis chauffage à 110° C. Mêmes abréviations qu'à la fig. 3.

TABLEAU IV.

Phospholipides du péricarpe des pommes.

PHOSPHOLIPIDES	PRODUITS DE DÉSACYLATION OBTENUS (1)	POUR-CENT DU PHOSPHORE LIPIDIQUE	
		dans les pelures	dans parenchyme central
Phosphatidylinositol.....	GPI	18,18	3,20
Phosphatidylcholine.....	GPC, GPC cyclique	33,83	35,20
Phosphatidylglycérol.....	GPG	9,51	traces
Phosphatidylsérine.....	—	traces	traces
Phosphatidyléthanolamine.....	GPE	18,18	41,60
Diphosphatidylglycérol.....	—	8,66	3,20
Acide phosphatidique.....	GP	11,62	16,80

1. Abréviations utilisées : GPI : glycérilphosphorylinositol ; GPC : glycérilphosphorylcholine ; GPG : glycérilphosphorylglycérol ; GPE : glycérilphosphoryléthanolamine ; GP : glycérophosphate.

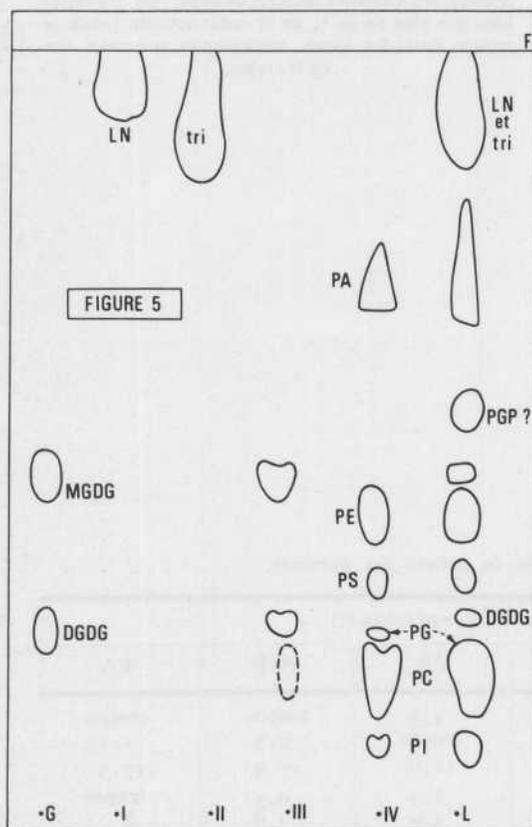


FIG. 5. — Chromatographie ascendante sur papier silicé des différentes fractions lipidiques des pelures de pomme (solvant : diisobutylcétone-acide acétique-eau : 160 : 100 : 20 en volumes). G : galactolipides témoins, préparés à partir de feuilles vertes de trèfle. I, II, III, IV, fractions éluées d'une colonne d'acide silicique, selon le tableau III : L : extrait lipidique total. Mêmes abréviations qu'à la fig. 3.

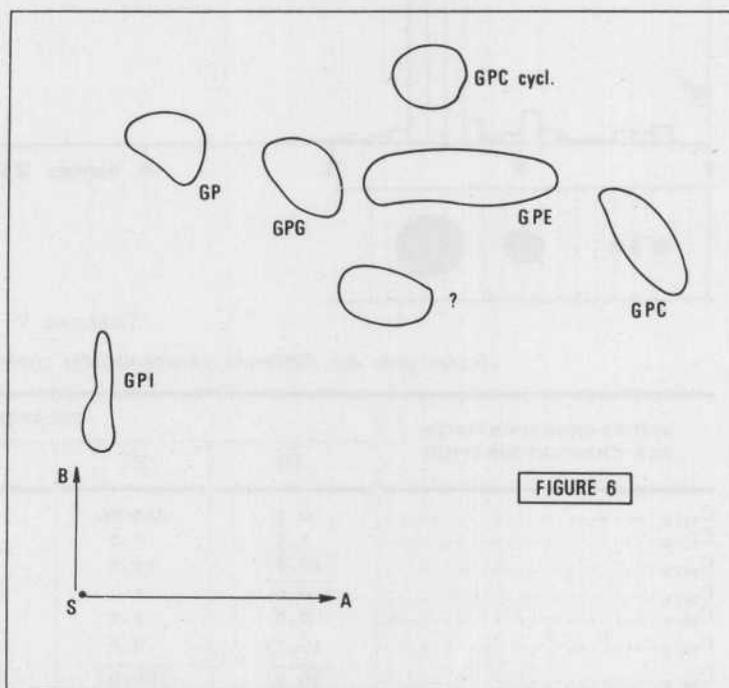


FIG. 6. — Calque d'un autoradiochromatogramme des produits de désacylation des phospholipides de la pelure marqués au <sup>32</sup>P. Les abréviations utilisées sont celles notées au tableau IV. Solvant A : phénol-eau (100 : 38). — Solvant B : Butanol-acide acétique-eau (142-71-100).

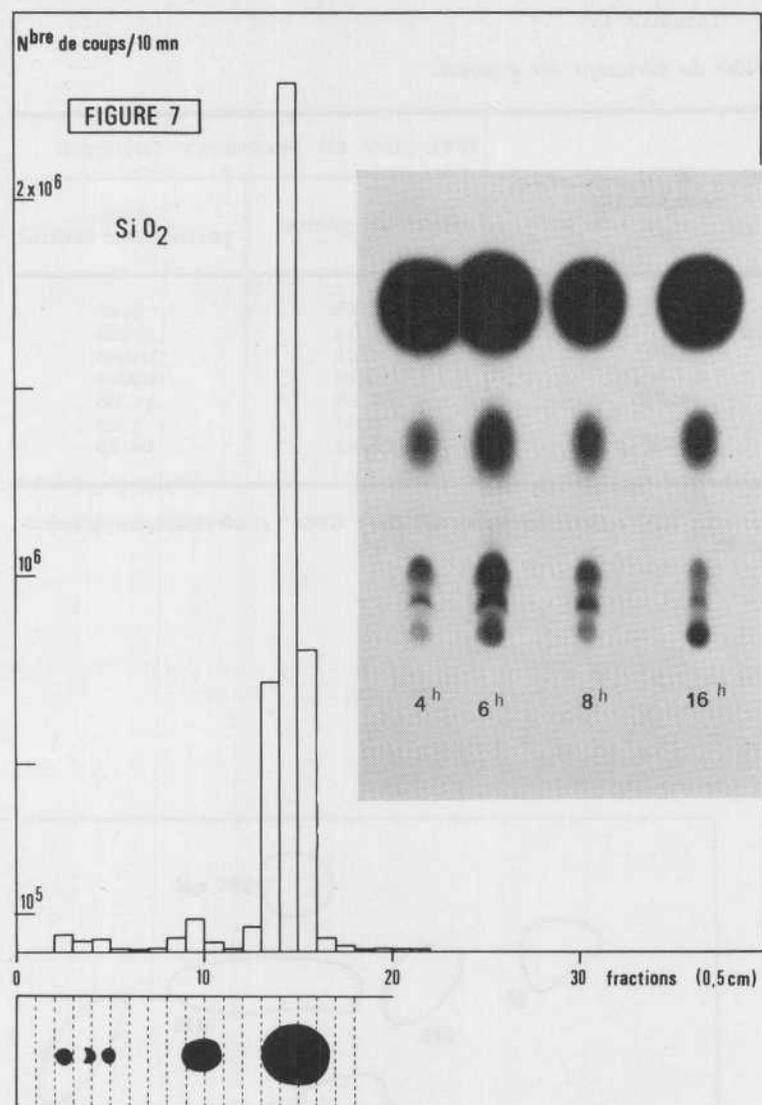


FIG. 7. — Autoradiogramme des esters méthyliques des acides gras totaux de pelures de pomme ayant séjourné de 4 à 16 h dans une solution d'acétate  $1-^{14}C$ . Séparation des acides normaux et des acides hydroxylés sur couche mince de silice. Le gros spot supérieur correspond aux esters méthyliques normaux, non hydroxylés. Les spots inférieurs sont des spots d'hydroxyacides contaminants. A côté de l'autoradiogramme on a présenté un graphique montrant la radio-activité trouvée (après comptage en scintillation liquide) dans les bandes de  $2 \times 0,5$  cm, grattées de la plaque et versées dans des flacons contenant un liquide scintillant. En abscisse figurent les distances au spot de départ (o). On vérifie bien que plus de 90 % de la radio-activité totale se trouve dans les esters méthyliques normaux non hydroxylés.

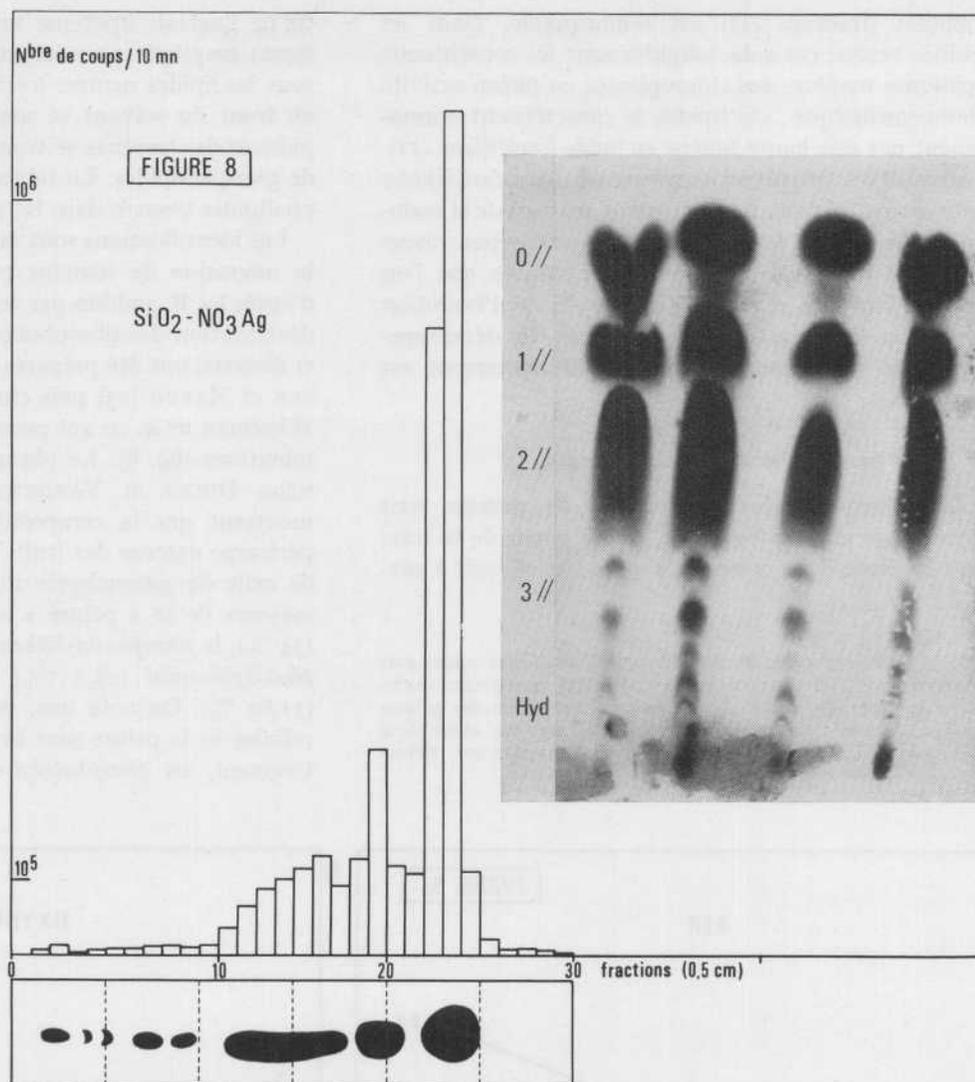
TABLEAU V.

Acides gras des différents phospholipides contenus dans la pelure des pommes.

ACIDES GRAS IDENTIFIÉS PAR CHROMATOGRAPHIE	PHOSPHOLIPIDES DES PELURES (1)					
	PI	PC	PG	PE	PGP	PA
$C_{12:0}$ .....	0,5	traces	—	4,5	traces	traces
$C_{14:0}$ .....	1,3	1,5	2,5	traces	6,5	1,25
$C_{16:0}$ .....	28,8	15,8	26,8	11,0	17,5	17,5
$C_{16:1}$ .....	0,6	1	traces	2,3	0,5	traces
$C_{18:0}$ .....	8,8	4,1	4,5	3,9	3,6	8
$C_{18:1}$ .....	16,75	6,8	20	9,7	20,4	40
$C_{18:2}$ .....	36,3	66,0	23,8	55,0	35	16
$C_{18:3}$ .....	5	3,7	—	3,8	—	traces
$C_{20:0}$ .....	—	—	12,8	traces	17	10,7
$C_{22:0}$ .....	—	—	4,8	9,7	—	6,75

1. Les abréviations utilisées sont les mêmes qu'à la figure 3.

FIG. 8. — Autoradiochromatogramme des esters méthyliques des acides gras de pelures de pomme ayant séjourné de 4 à 16 h dans une solution d'acétate  $-1-^{14}C$ . Les esters ont été séparés sur une couche mince de silice-nitrate d'argent. Abréviations : 0// : acides saturés. — 1// : acides monoéthyléniques. — 2// : acides diéthyléniques. — 3// : acides triéthyléniques. — Hyd. : hydroxyacides. A côté de l'autoradiogramme figurent les résultats d'un comptage de la radioactivité des bandes de  $0,5 \times 2$  cm grattées de la plaque et versées dans un scintillateur liquide. Les activités maximum s'observent dans la zone des acides saturés puis mono-insaturés



selon VORBECK et MARINETTI (15), ou ROUSER et al. (16). Les quatre fractions indiquées au tableau III sont séparées. Les composants de chaque fraction sont caractérisés par divers systèmes chromatographiques (sur couche mince (NICHOLS (17)) ou sur papier silicé (MARINETTI (14, 18) (fig. 3 a et 3 b ; voir aussi la fig. 5.)

On constate que dans les pelures des fruits mûrs, les lipides des membranes plasmiques ou plastidiales (phospholipides et galactolipides) ne forment que 15 % des lipides totaux ; ce sont les lipides neutres et les triterpènes (acide ursolique) qui se sont accumulés. L'acide ursolique précédemment identifié dans les cuticules des pommes (19) forme un pourcentage important des lipides totaux. Cette composition en lipides diffère beaucoup de celle du parenchyme central des fruits où les phospholipides représentent 75 % de

l'extrait lipidique brut (20). La part des lipides neutres ou cuticulaires devient prépondérante lorsqu'on s'approche de la surface des fruits.

Chacune des fractions éluées de la colonne d'acide silicique a été saponifiée et la composition en acides gras en a été analysée par chromatographie en phase gazeuse. Les résultats sont portés dans le tableau I. On note que les lipides neutres de la première fraction sont plus riches en acides insaturés (oléique, linoléique) que la moyenne des lipides totaux ; les fractions intermédiaires (II et III) sont relativement riches en acides saturés (palmitique, stéarique, arachidique, béhenique) ; les phospholipides (fraction IV) ont une composition en acides gras semblable à la composition moyenne des lipides du tissu.

L'absence d'acide gras poly-insaturés dans les galac-

tolipides (fraction III) est remarquable. Dans les feuilles vertes, ces galactolipides sont les constituants lipidiques majeurs des chloroplastes en pleine activité photosynthétique ; ces lipides se caractérisent normalement par une haute teneur en *acide linoléique* (21). Les résultats trouvés ici *suggèrent que les galactolipides initiaux ont été détruits ou remaniés au cours de la maturation des fruits* : les acides poly-insaturés pourraient avoir été remplacés par les acides saturés que l'on trouve dans les analyses. Une étude de l'évolution chimique des galactolipides au cours du développement des fruits nous renseignera ultérieurement sur ce point.

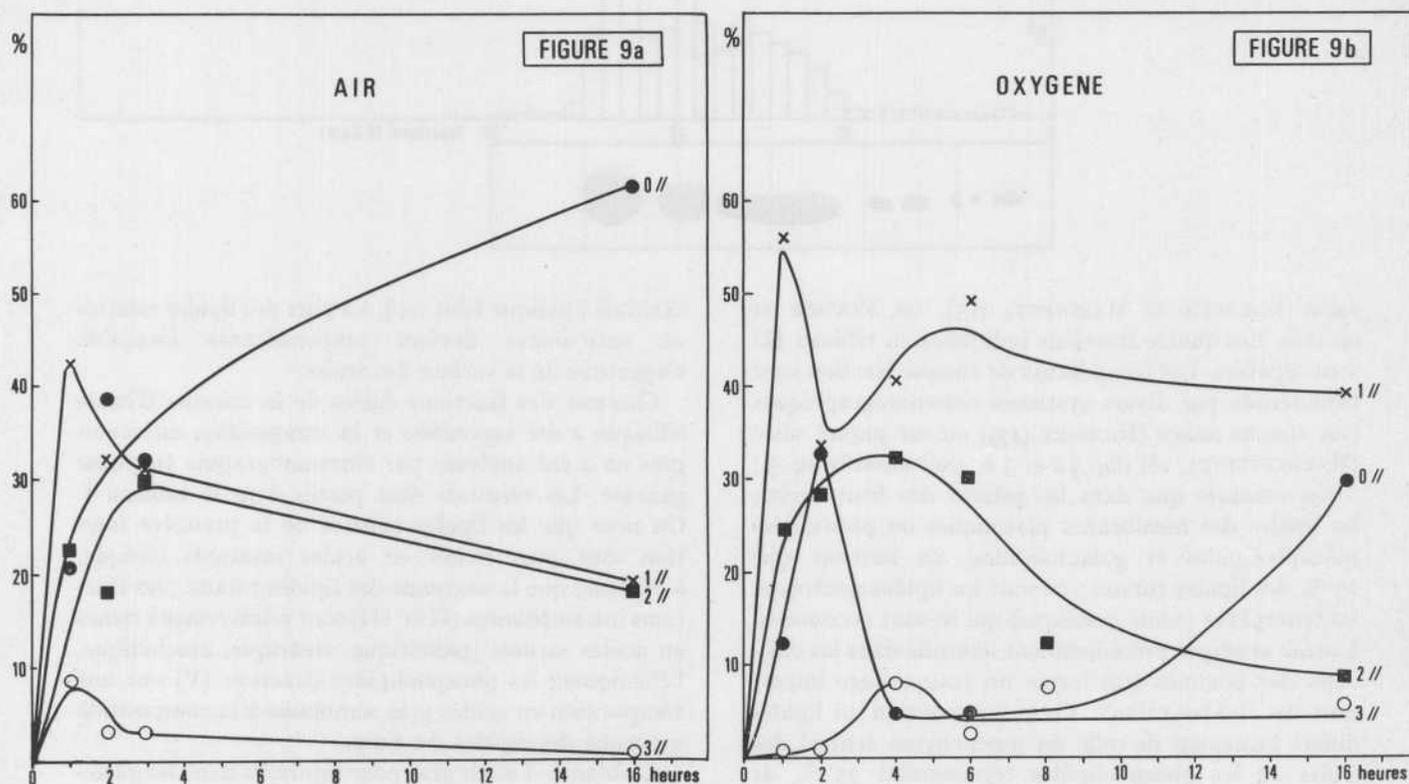
### c) Étude particulière des phospholipides.

Les phospholipides des pelures de pomme sont séparés par chromatographie, soit à partir de la fraction IV élue de la colonne de silice (fig. 3), soit à par-

tir de l'extrait lipidique total (fig. 4 et 5). Les systèmes employés permettent en effet la migration de tous les lipides neutres (cérides, glycérides, paraffines) au front du solvant et seuls les spots des galactolipides et des terpènes se trouvent ainsi mêlés aux spots de phospholipides. Le tableau IV rassemble les phospholipides trouvés dans les pelures.

Les identifications sont faites par comparaison avec la migration de témoins purs synthétiques ou bien d'après les  $R_f$  publiés par les auteurs. Les produits de désacylation des phospholipides marqués au  $^{32}\text{P}$  (voir ci dessous) ont été préparés selon la méthode de BENSON et MARUO (23) puis chromatographiés sur papier Whatman n° 4, ce qui permet de confirmer les déterminations (fig. 6). Le phosphore lipidique a été dosé selon DUCET et VANDEWALLE (24). Les résultats montrent que la composition en phospholipides du péricarpe externe des fruits est quelque peu différente de celle du parenchyme interne. Les phospholipides majeurs de la « pelure » sont la *phosphatidylcholine* (34 %), la *phosphatidyléthanolamine* (18,2 %), le *phosphatidylinositol* (18,2 %) et l'*acide phosphatidique* (11,62 %). On note que, par rapport à la pulpe, les cellules de la pelure sont beaucoup moins riches, relativement, en *phosphatidyl-éthanolamine* et beaucoup

FIG. 9. — Pourcentages de la radio-activité totale des acides gras retrouvés dans les différentes catégories d'acides séparées sur couche mince de silice  $\text{NO}_3\text{Ag}$ . En abscisse, temps d'incubation des pelures dans la solution d'acétate  $-1-^{14}\text{C}$ . a. Incubations sous atmosphère d'air, normale. b. Incubations sous courant d'oxygène pur. Mêmes abréviations qu'à la fig. 8.



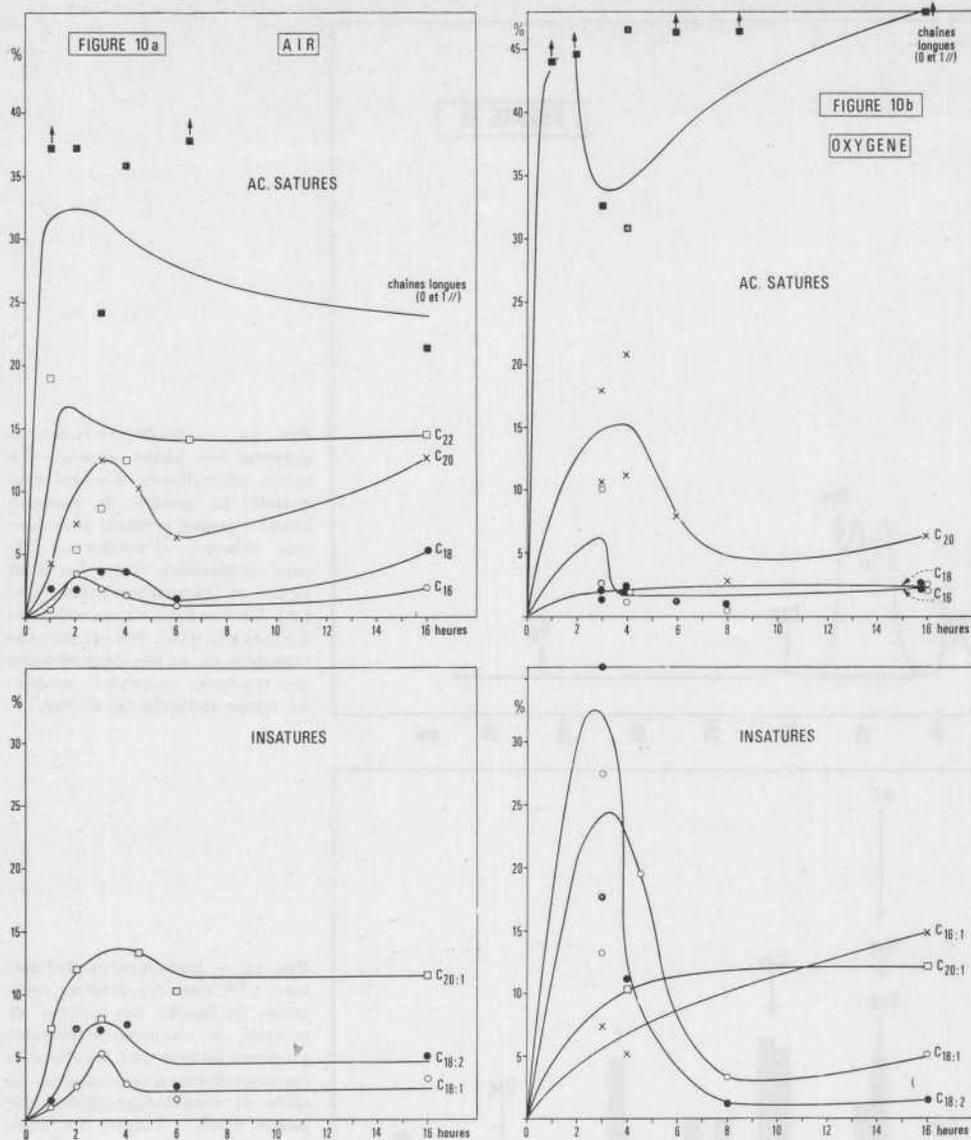


FIG. 10. — Pourcentages de la radio-activité totale des acides gras retrouvés dans les différents esters méthyliques séparés par chromatographie en phase gazeuse. En abscisse, temps d'incubation dans la solution d'acétate  $-1-^{14}\text{C}$ . a. Incubations sous atmosphère d'air, normale. b. Incubations sous courant d'oxygène pur. Mêmes abréviations qu'au tableau I.

plus riches en *phosphatidylinositol*. Les catégories mineures sont les mêmes dans les deux tissus : *mono-* et *diphosphatidylglycérol*, *phosphatidylsérine*.

Les phospholipides sont également séparés par chromatographie sur couche mince préparative, dans le système de NICHOLS (fig. 3 a). Les bandes correspondant à chaque catégorie sont grattées de la plaque de verre-support, puis les esters méthyliques des acides gras de chaque type sont préparés selon la micro-méthode de METCALFE, SCHMITZ et PELKA (24). Les esters sont analysés par chromatographie en phase

gazeuse. Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau V.

Ces résultats font ressortir une certaine homogénéité dans la distribution des acides gras entre les divers phospholipides. Les fractions majeures (phosphatidylcholine, Phosphatidyléthanolamine) sont celles qui renferment les plus hauts pourcentages en *acide linoléique*. Les fractions mineures apparaissent plus saturées. Nous avons obtenu des résultats semblables en analysant les phospholipides de la pulpe (20).

## MÉTABOLISME DES ACIDES GRAS DANS LES PELURES

Les biosynthèses d'acides gras dans les « pelures » des pommes mûres ont été étudiées en incubant 5 g de

tissu découpé en minces lanières, à la lame de rasoir, dans 5 ml d'un milieu ayant la composition suivante :

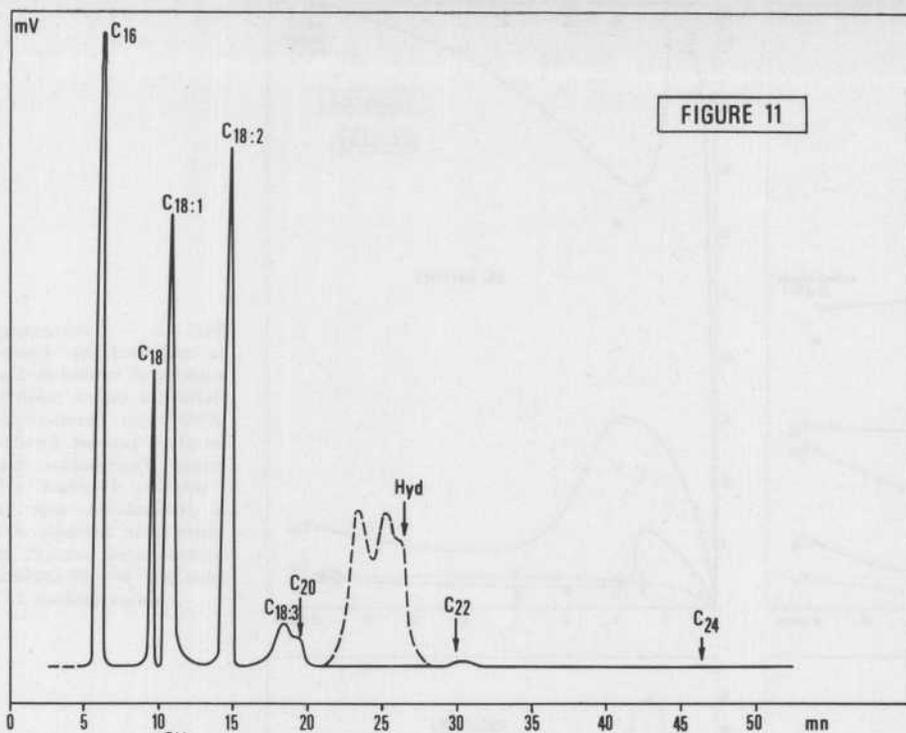


FIG. 11. — Radiochromatogramme (en phase vapeur) des esters méthyliques d'acides gras extraits de pelures de pommes ayant séjourné pendant 16 h dans une solution d'acétate  $-1-^{14}C$ , sous atmosphère d'air. En haut figure un chromatogramme normal. En bas figurent, en ordonnée du graphique, les activités comptées en 10 mn dans chacune des fractions collectées pendant les temps indiqués en abscisse.

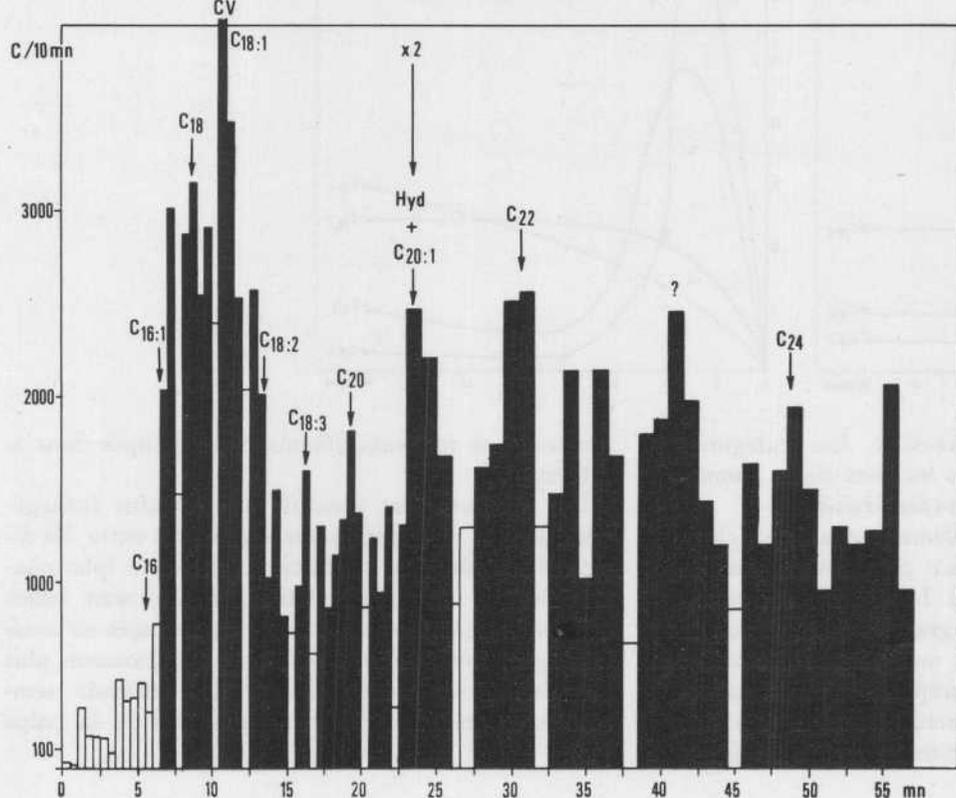


FIG. 12. — Incorporation de l'acétate  $-1-^{14}C$  dans les diverses catégories de lipides des pelures de pomme. a. Autoradiogrammes fournis par les diverses fractions éluées d'une colonne de silice et chromatographiées sur papier silicé : Nature des fractions : I : lipides neutres (cérides et glycérides). — II : acide ursolique et monogalactosyldiglycérides (MGDG). — III : mono et digalactosyldiglycérides (DGDG). — IV : phospholipides. Mêmes abréviations qu'à la fig. 3 b. Autoradiographies des phospholipides marqués séparés sur papier silicé, et obtenus après incubation des pelures dans l'acétate  $-1-^{14}C$ , pendant les temps indiqués en abscisse. Les extraits lipidiques bruts ont été chromatographiés directement, sans séparation préalable sur colonne. Mêmes abréviations qu'à la fig. 3.

eau distillée (5 ml), glucose (0,33 M) ATP ( $Na^+$ ) (0,1 mM), acétate de manganèse (0,1 mM), chlorure de magnésium (0,1 mM), et enfin acétate- $-1-^{14}C$  de sodium à l'état de traces (activité ; 10  $\mu$  Cie par ml).

Les incubations durent de 1 à 16 h sous atmosphère normale (air) ou sous courant d'oxygène pur. A la fin de la période d'incubation les tissus sont rincés abondamment à l'eau distillée puis directement saponifiés.

La radio-activité de chaque acide gras ou de chaque catégorie d'acide gras est déterminée :

— soit après séparation des esters méthyliques par chromatographie en phase gazeuse, puis collecte de chaque acide sur cristaux d'anthracène et comptage par scintillation dans un compteur Tri-carb PACKARD.

— soit après chromatographie, sur couche mince de silice-nitrate d'argent ou sur couche mince de silice, des esters méthyliques totaux. Une autoradiographie permet de localiser les spots radioactifs ; le support chromatographique est alors gratté, à l'aide d'une lame de rasoir, en fractions de  $0,5 \times 2$  cm : chaque fraction est versée dans un flacon, recouverte de liquide scintillant et comptée dans un compteur Tri-carb PACKARD. On fait ensuite la somme des activités correspondant à un même spot.

Une première série d'essais nous a permis de constater, que, dans nos expériences, *la part de la radio-activité fournie retrouvée au niveau des hydroxyacides est très faible : 7 % au maximum.* La fig. 7 représente une autoradiographie des esters méthyliques totaux du tissu, marqués après différents temps d'incubation dans la solution d'acétate- $^{14}\text{C}$ . Ces esters ont été sépa-

rés sur couche mince de silice de façon à isoler les hydroxyacides méthylés des acides normaux méthylés (saturés et insaturés). Ces derniers forment le spot supérieur où se retrouve 92,6 % de la radio-activité totale des acides. Ce résultat peut signifier que la biosynthèse des hydroxyacides de la cutine est un processus très long demandant plus de 16 h ou bien que la biosynthèse de ce type d'acide n'a plus lieu de façon intense dans le fruit mûr.

Une seconde série d'expériences nous a montré que les incubations sous atmosphère normale (air), permettent l'incorporation de l'acétate- $^{14}\text{C}$  du milieu *essentiellement dans les acides gras saturés à longue chaîne* (en  $\text{C}_{20}$ ,  $\text{C}_{22}$ ,  $\text{C}_{24}$ ,  $\text{C}_{26}$ ,  $\text{C}_{28}$ ). Nous avons trouvé ce résultat par deux méthodes différentes.

1°) Les esters méthyliques marqués sont séparés selon leur degré d'insaturation sur couche mince de silice-nitrate d'argent. La fig. 8 présente un autoradiochromatogramme et quelques résultats de comptage. La fig. 9 montre les pourcentages de la radio-activité totale des acides retrouvés dans chaque catégorie. On constate que l'activité des acides gras saturés augmente avec le temps d'incubation pour atteindre 60 % de la radio-activité totale des acides après 16 h. Pendant les premières heures la part la plus importante de la radio-activité se retrouve dans les acides mono- ou di-insaturés, mais après trois heures d'incubation, l'incorporation du carbone radio-actif dans ces acides se ralentit.

2°) Les esters méthyliques marqués sont chromatographiés, en phase gazeuse, sur phase de Butane-Diol-Succinate. Les fractions correspondant aux pics principaux sont collectées sur anthracène puis comptées. La fig. 10 a montre que les pourcentages les plus élevés de la radio-activité totale se retrouvent dans les acides gras saturés ou mono-insaturés à longue chaîne. Les acides les plus marqués se rangent dans l'ordre suivant :  $\text{C}_{21}$  ou plus  $> \text{C}_{22} > \text{C}_{20} > \text{C}_{18} > \text{C}_{16}$ . Ce résultat est bien confirmé par l'examen du radiochromatogramme présenté à la fig. 11. Dans cette expérience, les vapeurs sortant du chromatographe ont été collectées en un grand nombre de fractions (une par demi-minute) grâce au collecteur automatique PACKARD ; la radio-activité de chaque fraction a été comptée par scintillation. Les fractions les plus radio-actives correspondent aux acides saturés ou mono-insaturés à longue chaîne.

Les acides à plus de 20 atomes de carbone sont fortement marqués dans ces expériences mais ne s'accumulent pas normalement dans les cellules du parenchyme des pelures. Ces acides à longue chaîne vont normalement former les constituants des cires du

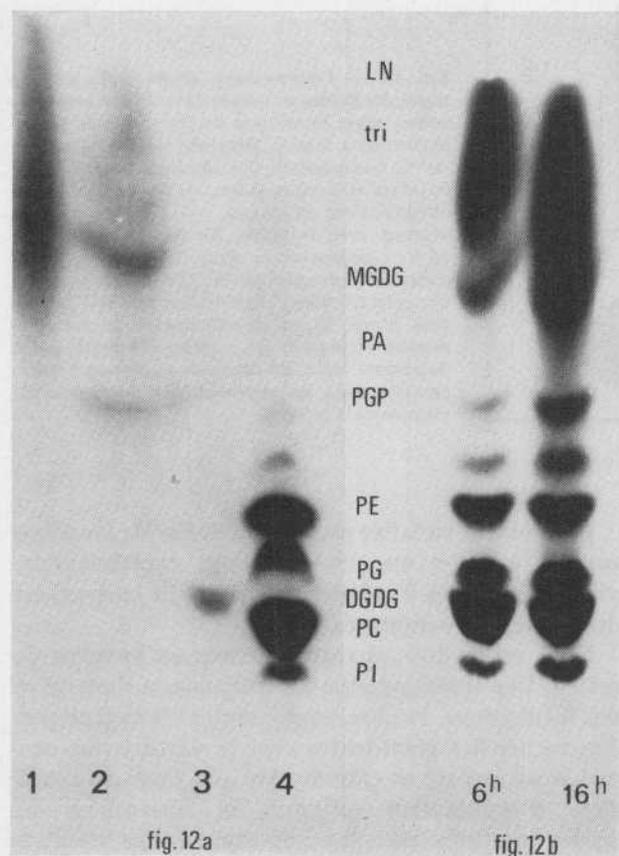


fig. 12a

fig. 12b

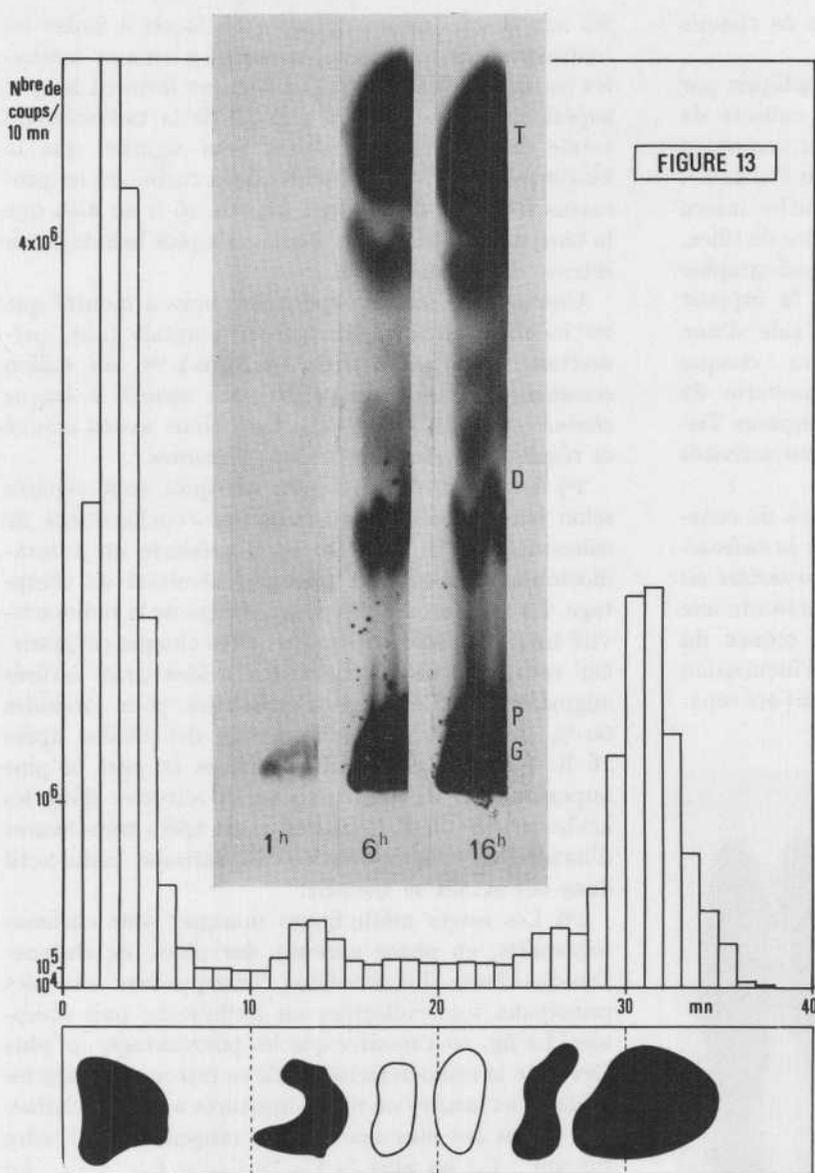


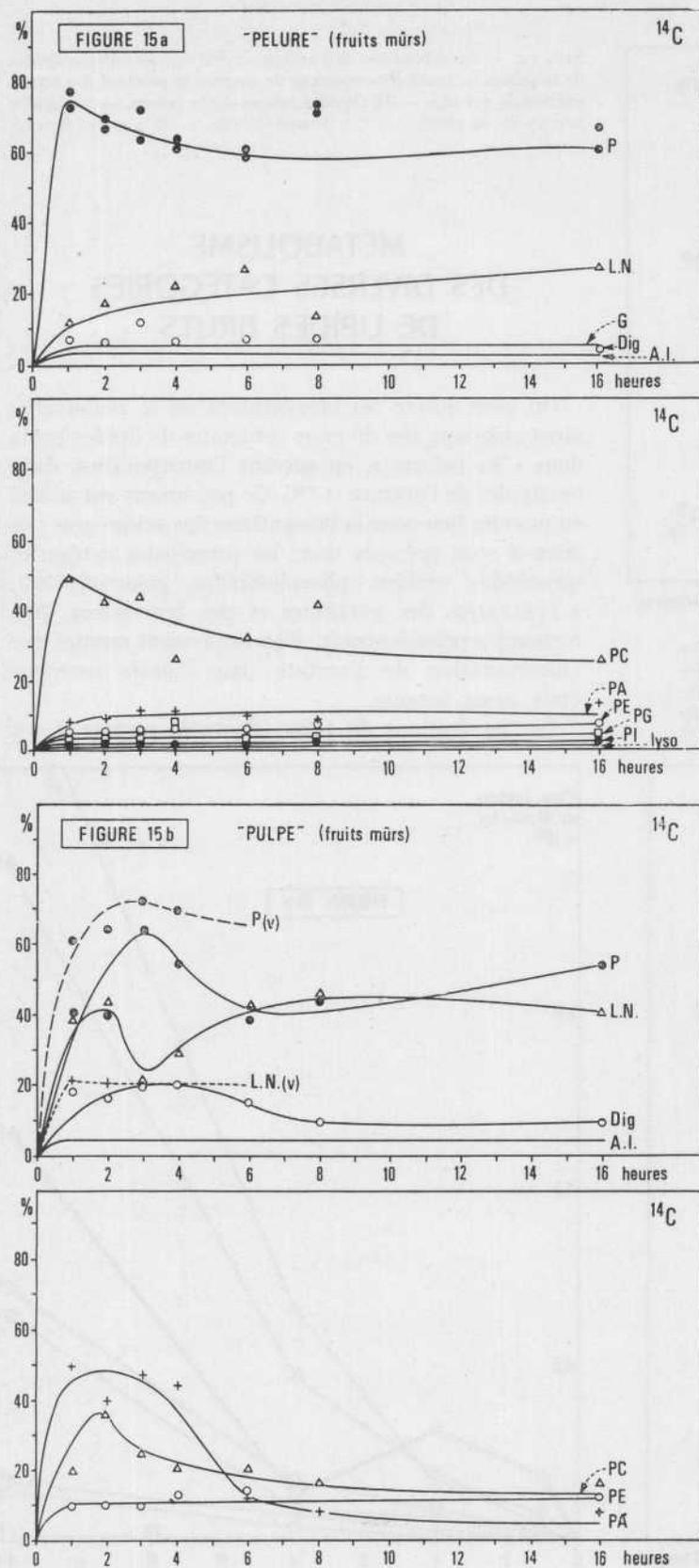
FIG. 13. — Incorporation de l'acétate  $-1-^{14}\text{C}$  dans les diverses catégories de lipides des pelures de pomme. Autoradiochromatographies des fractions séparées sur papier silicé, dans le système de MARINETTI à trois solvants. Les temps d'incubation sont portés sur la figure. Les résultats de comptage du lot correspondant à 16 h d'incubation sont indiqués sous la photographie. Le comptage est effectué par scintillation liquide après découpe du chromatogramme en bandes de  $0,5 \times 2$  cm. Mêmes abréviations qu'à la fig. 2 b.

FIG. 15. — Pourcentages de la radio-activité totale des lipides retrouvés dans les diverses catégories, après incubation de fragments de parenchyme, de 1 à 16 h, dans une solution d'acétate  $-1-^{14}\text{C}$ . Comparaison des résultats obtenus avec la pelure et avec la pulpe. — En haut résultats obtenus avec la pelure. — En bas résultats obtenus avec la pulpe. En haut, pour 15 a et 15 b : incorporation dans les diverses catégories : P : phospholipides ; LN : lipides neutres ; G : galactolipides ; Dig : diglycérides ; Al : acides gras libres.  $P(v)$  : phospholipides de pulpe de pomme verte ; LN (v) : lipides neutres de pulpe de pomme verte. En bas, pour 15 a et 15 b incorporation dans les phospholipides (mêmes abréviations qu'à la fig. 3).

fruit (1). La biosynthèse prépondérante, *in vitro*, à partir d'acétate radio-actif, d'acides gras saturés à très longues chaînes dans des fragments de feuilles, a été signalée récemment par deux auteurs : KOLATTUKUDY (26) travaillant sur les feuilles de chou et STUMPF *et al.* (27) sur des feuilles d'orge. Il est vraisemblable que dans ces feuilles, comme dans les pelures de pomme, les systèmes de biosynthèse ou d'élongation des acides saturés se conservent bien mieux que les systèmes de synthèse des acides insaturés.

La synthèse en faible proportion de l'acide linoléique suggère en effet que les conditions expérimentales réalisées pour les incubations limitent la biosynthèse des acides poly-insaturés.

Nous avons donc changé la teneur en oxygène du milieu. Une troisième série d'expériences a consisté en des incubations, *in vitro*, sous courant d'oxygène pur. Nos recherches précédentes avec le parenchyme central, nous avaient en effet montré que, dans ces conditions d'oxygénation optimum, la biosynthèse des acides insaturés est plus importante. Les résultats



obtenus sont rassemblés dans les fig. 9 b et 10 b. On note que les pourcentages les plus importants de la radio-activité totale des acides se retrouvent cette fois dans les acides mono-insaturés et non plus dans les acides saturés. La chromatographie en phase gazeuse indique que ce sont essentiellement des acides monoinsaturés à longue chaîne ( $C_{20:1}$ ,  $C_{22:1}$ ,  $C_{24:1}$ ) qui sont ainsi formés. L'incorporation de l'acétate dans les acides poly-insaturés se maintient aux alentours de 35 % de la quantité totale incorporée pendant les six premières heures. On note une diminution de ce pourcentage. Après 16 h d'incubation, une radio-activité importante se retrouve dans les acides saturés à très longue chaîne ( $C_{20}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{24}$ ).

Les résultats précédents peuvent être interprétés de la manière suivante : dans les expériences d'incorporation *in vitro* de l'acétate radio-actif, les systèmes actifs dans la biosynthèse des acides gras sont essentiellement des *systèmes d'élongation*, tels ceux localisés dans les mitochondries animales, par exemple (28). Ainsi se forment en grandes quantités des acides à très longues chaînes en  $C_{20}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{24}$ ,  $C_{26}$  ou  $C_{28}$ . Lorsque l'aération du milieu est normale, les acides formés sont en grande majorité saturés ; lorsque l'oxygénation du milieu est artificiellement augmentée, les acides gras produits sont en majorité saturés et mono-insaturés. L'oxygène du milieu favorise la biosynthèse des acides insaturés, soit en activant des désaturases exigeant de l'oxygène pour créer des doubles liaisons dans les chaînes saturées, soit en activant des systèmes enzymatiques particuliers à la biosynthèse des acides gras insaturés.

Lorsque l'on compare, à partir d'expériences conduites *in vitro* avec de l'acétate- $^{14}C$ , le métabolisme des acides gras dans la « pelure » avec celui se déroulant dans la « pulpe » du fruit (23), on constate de grandes similitudes : effet stimulant de l'oxygène sur la biosynthèse des acides insaturés, prédominance des synthèses d'acides monoéthyléniques en atmosphère d'oxygène pur, biosynthèses actives des acides gras à très longues chaînes à partir de l'acétate. Ce dernier trait nous paraît cependant plus net dans les cellules des tissus périphériques.

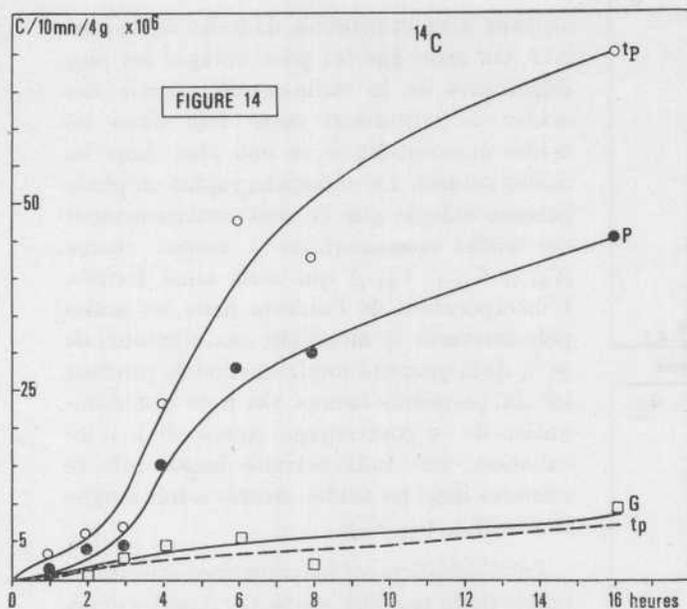


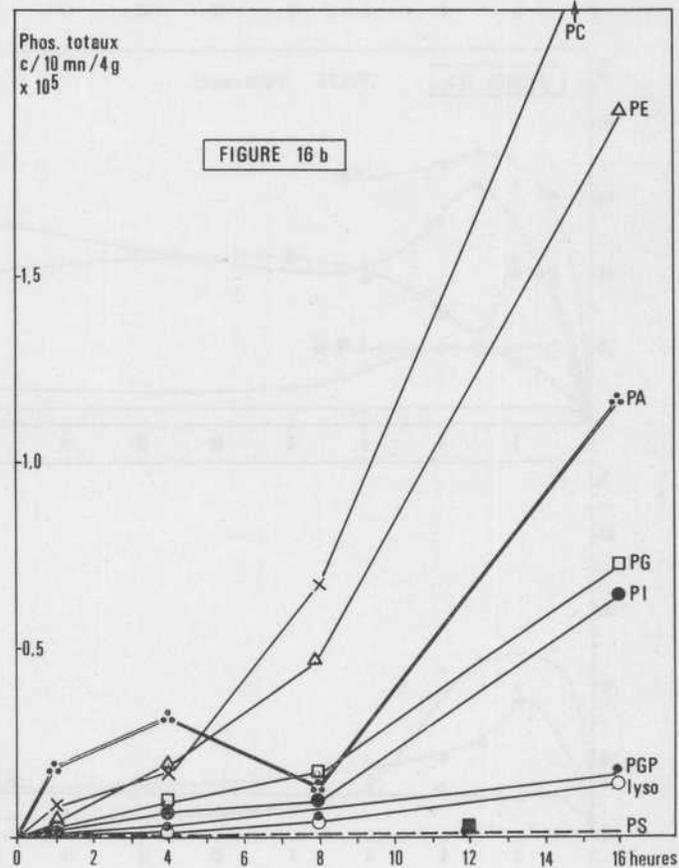
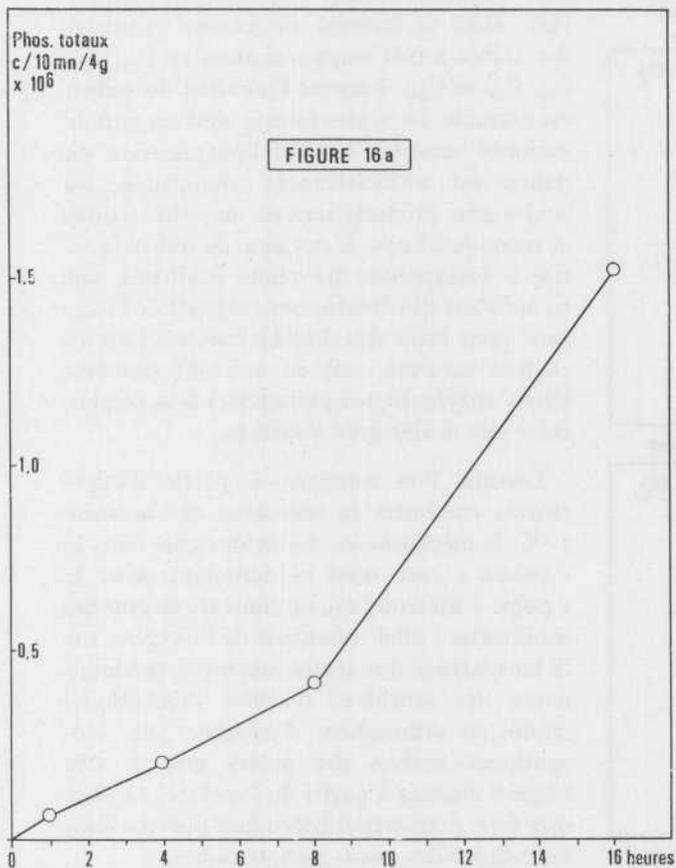
FIG. 14. — Incorporation de l'acétate  $-1-^{14}\text{C}$  dans les divers lipides de la pelure au cours d'incubations de fragments pendant des temps variant de 1 à 16 h. —  $^{14}\text{P}$ : lipides totaux de la pelure. —  $^{14}\text{tp}$ : lipides totaux de la pulpe. — P: phospholipides. — G: galactolipides.

## MÉTABOLISME DES DIVERSES CATÉGORIES DE LIPIDES BRUTS

On peut suivre les biosynthèses ou le renouvellement cellulaire des diverses catégories de lipides bruts dans « les pelures », en suivant l'incorporation dans ces lipides de l'acétate  $-1-^{14}\text{C}$ . Ce précurseur est utilisé en premier lieu pour la biosynthèse des acides gras; or ceux-ci sont présents dans les principales catégories (glycérides, cérides, phospholipides, galactolipides), à l'exception des paraffines et des triterpènes. Nos recherches précédentes (1, 30) nous avaient montré que l'incorporation de l'acétate dans l'acide ursolique était assez intense.

Les incubations de tissu effectuées comme il est

FIG. 16. — Incorporation du  $^{32}\text{PO}_4\text{HNa}_2$  dans les phospholipides des pelures de pomme, après incubation des fragments dans la solution radio-active, pendant des temps variant de 1 à 16 h. a. Incorporation dans les phospholipides totaux. b. Incorporation dans les différents types de phospholipides (mêmes abréviations qu'à la fig. 3).



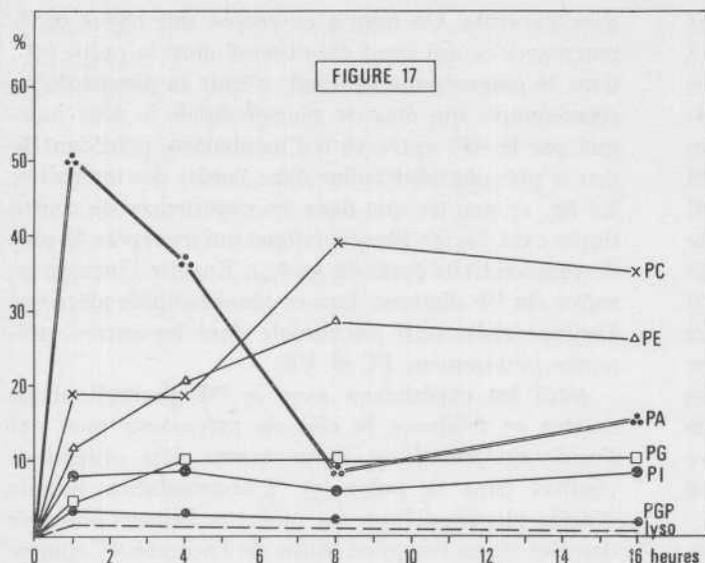


FIG. 17. — Pourcentages de la radio-activité totale des lipides retrouvés dans les divers phospholipides des pelures de pommes mûres, après incubation des fragments dans une solution de  $^{32}\text{PO}_4\text{HNa}_2$  pendant les temps figurés en abscisse. On note la chute d'activité relative de l'acide phosphatidique.

décrit plus haut, sous courant d'oxygène, montrent qu'en effet, après plusieurs heures, toutes les fractions lipidiques des pelures sont intensément marquées, à l'exception des paraffines (fig. 12 et 13).

La séparation des lipides marqués sur colonne de silice (fig. 12 a) montre que les catégories les plus radioactives sont dans l'ordre les *phospholipides* (fraction IV), les *lipides neutres* (fraction I), et les *triterpènes* (fraction II). Les *galactolipides* (fractions II et III) sont très peu marqués : moins de 3 % de la radio-activité totale se retrouve dans cette catégorie. Il importe de remarquer ici que ce résultat est obtenu avec des pelures de fruits mûrs, aux chloroplastes dégénérés. On peut s'attendre à un métabolisme différent dans les petits fruits verts, en pleine croissance.

Nous avons utilisé la chromatographie sur papier silicé pour déterminer la radio-activité des diverses catégories de lipides des pelures ayant séjourné de 1 à 16 h dans la solution radio-active. Les autoradiographies (fig. 12 b et fig. 13) permettent de localiser les spots radioactifs ; la radio-activité de chaque spot est mesurée par scintillation liquide (fig. 13) comme il est décrit plus haut.

La quantité d'acétate marqué incorporée dans les lipides des pelures augmente de 1 à 16 h selon une courbe en S (fig. 14). On note que la quantité d'acétate incorporée par unité de temps et par g de matière fraîche,

est plus de dix fois plus importante dans la « pelure » que dans la « pulpe » des fruits mûrs.

Ce sont les acides gras des phospholipides qui sont le plus activement renouvelés ou synthétisés dans le tissu étudié. 70 % de la radio-activité totale des lipides se retrouve dans cette catégorie (fig. 14 et fig. 15). Les lipides neutres n'incorporent que 20 % de l'acétate radioactif. Cette répartition de l'acétate incorporée est différente de celle que nous avons observé précédemment dans le parenchyme de la pulpe où le renouvellement des phospholipides et des lipides neutres s'effectuaient avec la même intensité (fig. 15). Curieusement, on constate que le métabolisme des lipides dans « les pelures » de pommes mûres se rapproche du métabolisme des lipides dans la pulpe de pommes vertes (fig. 15) : dans les pulpes des fruits verts nous avons noté (5) que 70 % de la radio-activité totale incorporée se retrouvait dans les phospholipides, comme dans le cas des pelures de fruits mûrs.

Le métabolisme des phospholipides dans les « pelures » est donc particulièrement intéressant ; rappelons que cette catégorie ne représente que 12 % environ du poids total des lipides, le renouvellement des acides gras y est environ 15 fois plus intense que dans les lipides neutres.

Au contraire dans la pulpe de fruit mûr, le renouvellement des acides gras est trois fois plus intense dans les triglycérides que dans les phospholipides (5).

## MÉTABOLISME DE PHOSPHOLIPIDES

Le renouvellement des acides gras des phospholipides est étudié, après incubation des « pelures »

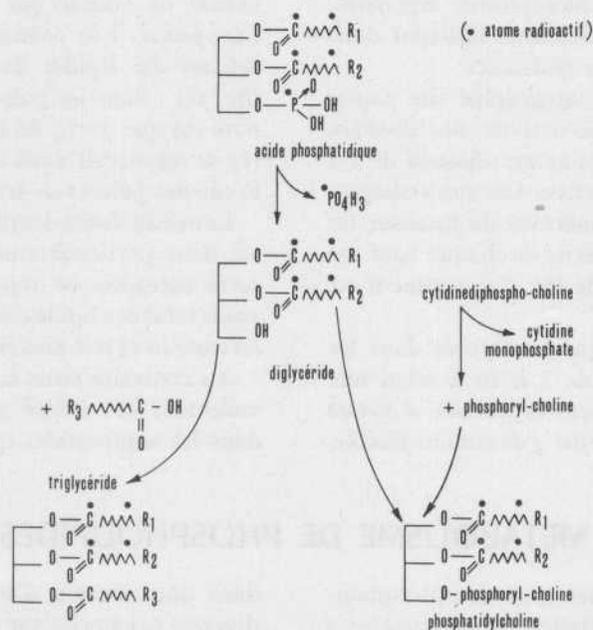
dans une solution d'acétate- $^{14}\text{C}$  puis séparation des diverses catégories sur papier silicé. La fig. 15 montre

que la catégorie métaboliquement la plus active est la *phosphatidylcholine* (en moyenne, on y retrouve 40 % de la radio-activité totale). Puis dans l'ordre ce sont l'*acide phosphatidique* (10 %), la *phosphatidyl-éthanolamine* (8 à 9 %), puis les catégories mineures (*phosphatidylglycérol*, *phosphatidylinositol*, etc.). Si l'on compare ces résultats avec le marquage au  $^{14}\text{C}$  des phospholipides dans la *pulpe* des fruits on constate deux différences : 1°) le métabolisme de la *phosphatidylcholine*, dans la pulpe, ne se révèle pas aussi actif que dans la pelure, les différences de marquage de ce lipide particulier avec les autres catégories ne sont pas aussi tranchées. 2°) l'*acide phosphatidique*, au cours des premières heures d'incubation, présente dans la pulpe une activité très élevée ; ce fait ne se retrouve pas dans la pulpe de fruit vert, comparable à cet égard encore, à la « pelure » de fruit mûr.

Cette étude spéciale du métabolisme des phospholipides peut être reprise à partir d'un autre précurseur radio-actif : le  $^{32}\text{P}$ -phosphate monoacide de sodium. Les résultats de cette étude sont traduits graphiquement dans les figures 16 et 17. Le phosphore radio-actif est incorporé de plus en plus activement dans les phospholipides lorsqu'on passe de 1 à 16 h d'incubation (fig. 16 a). Après de longs temps d'incubation la catégorie la plus marquée est à nouveau la *phosphatidylcholine* (fig. 16 b) mais les autres phospholipides sont relativement mieux marqués que dans les expériences

avec l'acétate. On note à ce propos une légère différence avec ce qui avait été observé dans la pulpe (5) : dans le parenchyme profond, c'était la *phosphatidyl-éthanolamine* qui était le phospholipide le plus marqué par le  $^{32}\text{P}$ , après 16 h d'incubation, précédant de peu la *phosphatidylcholine* dans l'ordre des intensités. La fig. 17 montre que dans les expériences de courte durée c'est l'*acide phosphatidique* qui incorpore le plus de radio-activité (près de 50 %). Ensuite l'incorporation du  $^{32}\text{P}$  diminue dans ce phospholipide alors que l'isotope radio-actif s'accumule dans les autres catégories (notamment PC et PE).

Ainsi les expériences avec le  $^{32}\text{P}$  permettent de mettre en évidence le rôle de précurseur joué par l'*acide phosphatidique*. Nous avons déjà obtenu ce résultat dans la pulpe (5). L'accumulation initiale d'*acide phosphatidique* est moins facilement observée dans les tissus lorsqu'on utilise de l'acétate- $^{14}\text{C}$  comme marqueur. En effet cet *acide phosphatidique* est à la fois précurseur des triglycérides et des phospholipides et la radio-activité qu'il transporte au niveau de ses acides gras sous forme de  $^{14}\text{C}$  passe après transformation, à la fois dans les triglycérides et les phospholipides. Au contraire avec le  $^{32}\text{P}$ , la radio-activité du précurseur ne se retrouve dans aucun des métabolites dérivés, donc la chute de radio-activité du précurseur peut bien mieux s'observer. Ceci est illustré dans le schéma ci-dessous :



## CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Ces recherches sur le métabolisme des lipides dans le parenchyme périphérique et l'épiderme des pommes permettent de dégager plusieurs faits intéressants.

1) Le métabolisme des lipides est très intense à la périphérie des fruits, beaucoup plus intense que dans la pulpe centrale. Les renouvellements de lipides, suivis à l'aide de précurseurs marqués au  $^{14}\text{C}$  ou au  $^{32}\text{P}$ , se traduisent par des intensités d'incorporation dix fois plus élevées en moyenne, dans la pelure. Les catégories synthétisées sont beaucoup plus variées que dans le parenchyme de la pulpe.

2) L'acétate marqué au  $^{14}\text{C}$  sert essentiellement à la biosynthèse des acides gras et des polyterpènes (acide ursolique). Les incubations *in vitro* permettent le fonctionnement actif des systèmes assurant les synthèses ou l'élongation des acides gras saturés ou mono-insaturés à longues chaînes. Les enzymes introduisant des doubles liaisons dans les chaînes moléculaires fonctionnent mieux en atmosphère d'oxygène pur : les incubations *in vitro* ne permettent jamais cependant l'accumulation des acides poly-insaturés dans les pelures des fruits.

3) Les acides gras synthétisés à partir de l'acétate servent essentiellement au renouvellement des phospholipides contenus dans les cellules des pelures. 70 % de la radio-activité totale incorporée dans les lipides se retrouve dans les phospholipides (alors que ces constituants ne représentent que 12 % du poids des lipides). Ce métabolisme intense des phospholipides dans la pelure s'oppose à la plus grande inertie des mêmes constituants dans la pulpe de fruit mûr. *Les résultats obtenus suggèrent que dans une cellule où l'activité métabolique est intense (cellule de la pelure de fruit mûr, cellule de parenchyme profond dans un fruit encore vert) les phospholipides sont rapidement renouvelés. Au contraire, l'intensité du renouvellement des phospholipides diminuerait avec le ralentissement de l'activité métabolique générale de la cellule.* Une cellule vieillissante semble former surtout des triglycérides. On note des différences quant à la nature des phospholipides renouvelés en priorité dans la pelure et dans la pulpe : à la périphérie du fruit c'est la *phosphatidylcholine* qui présente le taux de renouvellement le plus grand ; dans la parenchyme profond c'est la *phosphatidyléthanolamine*.

4) Les marquages de phospholipides au  $^{32}\text{P}$  permettent de faire apparaître le rôle de précurseur des autres lipides joué par l'acide *phosphatidique*. Ce fait s'observe dans la pelure aussi bien que dans la pulpe.

5) Le métabolisme lipidique très actif permet enfin de considérer que la pelure des fruits constitue un bon matériel biologique pour l'étude de la lipogénèse dans des organites sub-cellulaires préparés à partir des tissus de cette zone du péricarpe.

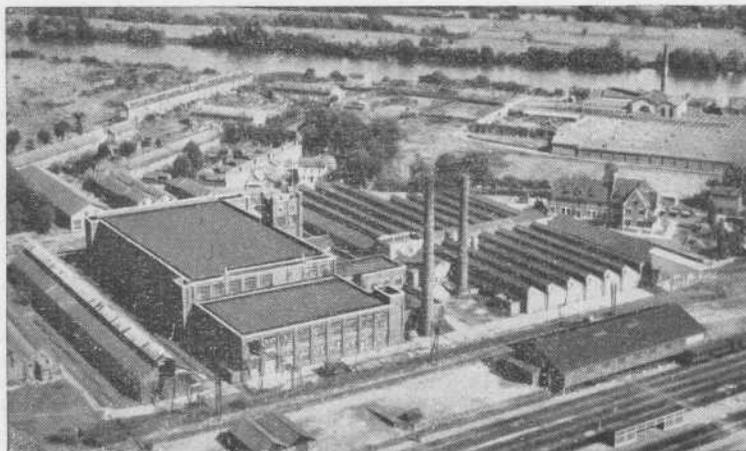
## BIBLIOGRAPHIE

1. THIBAUDIN (A.) et MAZLIAK (P.). — Évolution des lipides au cours du développement des organes reproducteurs du Pommier. *Fruits*, **22**, 1, p. 3-18 (1967).
2. MEIGH (D. F.) et HULME (A. C.). — Fatty acid metabolism in the apple fruits during the respiration climacteric. *Phytochemistry*, **4**, p. 863-871 (1965).
3. NEUBELLER (J.). — Über den Lipidgehalt von Apfelfrüchten während ihrer Entwicklung am Baum und ihrer Lagerung. *Die Gartenbauwissenschaft*, **28**, 10, 2, p. 199-244 (1963).
4. JONES (J. D.), HULME (A. C.) et WOOLVERTON (L. S. C.). — Mitochondrial preparation from the fruit of the apple. II — Oxidative phosphorylation. *Phytochemistry*, **3**, p. 201-212.
5. MAZLIAK (P.). — Recherches sur le métabolisme des glycérides et des phospholipides dans le parenchyme de pomme. II. — Incorporation dans les lipides de divers précurseurs radioactifs. *Phytochemistry*, **6**, p. 687-956, (1967).
6. STUMPF (P. K.), BROOKS (J.), GALLIARD (T.), HAWKE (J. C.) and SIMONI (R.). — Biosynthesis of fatty acids by photosynthetic tissues of higher plants p. 213-239 in *Biochemistry of chloroplasts*, edited by T. W. GOODWIN. Volume I. Academic Press editor, 776 p. (1967).
7. NICHOLS (B. W.), STUBBS (J. M.) and JAMES (A. T.). — The lipid composition and Ultrastructure of normal developing and degenerating chloroplasts, p. 677-690 in *Biochemistry of chloroplasts*, edited by T. W. GOODWIN. Vol. II. Academic Press editor, 776 p. (1967).
8. MAZLIAK (P.), BEN ABDELKADER (A.) et CATESSON (A. M.). — Biosynthèse comparée des lipides dans les cellules entières et les mitochondries isolées du parenchyme de pomme. *Physiologie végétale*, **5**, 3, p. 237-260 (1967).
9. MAZLIAK (P.). — Les acides gras du parenchyme de pomme. I — Analyse des acides gras (nouvelles techniques). *Fruits*, **20**, p. 559-564 (1965).
10. MAZLIAK (P.) et POMMIER-MIARD (J.). — Les lipides de la pomme. *Fruits*, **18**, 4, p. 177-183 (1963).
11. HEINEN (W.) et INGBORG (V. D.) BRAND. — Enzymatische Aspekte zur Biosynthese des Blatt-Cutins bei *Gasteria verrucosa* Blättern nach Verletzung. *Zeit. Naturforsch.*, **18**, b-(1), p. 67-69 (1963).
12. BUGH (E. G.) et DYER (W. S.). — A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad. J. Biochem. Biophys.* **37**, p. 911-917 (1959).
13. MANGOLD (H. K.). — Thin-layer chromatography of lipids. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **41**, p. 762-773 (1964).
14. MARINETTI (G. V.), ERBLAND (J. F.) and BROSSARD (M.). — Biosynthesis of Phospholipids and glycerides, p. 71-93 in

- Metabolism and Physiological Significance of lipids* edited by R. M. C. DAWSON and D. N. RHODES J. Wiley and Sons (1964), 657 p.
15. VORBECK (M. L.) et MARINETTI (G. V.). — Separations of glycosyldiglycérines from phosphatides using acid column chromatography. *J. Lip. Res.*, **6**, p. 3-6 (1965).
  16. ROUSER (G.), KRITCHEVSKY (G.), SIMON (G.) et NELSON (G. J.). — Quantitative analysis of brain and spinach leaf lipids employing Silicic Acid column chromatography and acetone for elution of glycolipids. *Lipids*, **2**, 1, p. 1-88 (1967).
  17. NICHOLS (B. W.). — Separation of plant phospholipids and glycolipids p. 321-337 in *New-Biochemical Separations*, edited by A. T. JAMES et L. J. MORRIS, 424 p. Van Nostrand éditeur (1964).
  18. MARINETTI (G. V.). — Chromatographic analysis of polar lipids on silicic acid impregnated paper. — p. 339-377 in *New Biochemical Separations*, edited by A. T. JAMES et L. J. MORRIS, Van Nostrand, Londres, 424 p. (1964).
  19. SANDO (C. E.). — Ursolic acid. *J. Biol. Chem.*, **90**, p. 477-495 (1931).
  20. MAZLIAK (P.). — Recherches sur le métabolisme des glycérides et des phospholipides dans le parenchyme de pomme. I — Analyse des lipides à l'aide de diverses techniques chromatographiques. *Phytochemistry*, **6**, p. 687-702, (1967).
  21. WEIER (T. E.) and BENSON (A. A.). — The molecular nature of chloroplast membranes p. 91-113 in *Biochemistry of chloroplasts* vol. I, édité by T.W. GOODWIN, Academic Press (1966), 476 p.
  22. LEPAGE (M.). — The separation and identification of plant phospholipids and glycolipids by two-dimensional thin-layer chromatography. *J. of chromatography*, **13**, p. 99-103 (1964).
  23. BENSON (A. A.) et MARUO (B.). — Plant Phospholipids. I. — Identification of the phosphatidylglycerols. *Bioch. Bioph. Acta*, **27**, p. 189-195 (1958).
  24. DUCET (G.) et VAN DE WALLE (G.). — Nouvelles techniques de dosage du phosphore. *Annales de Physiologie Végétales*, **11**, p. 199-206 (1959).
  25. METCALFE (L. D.), SCHMITZ (A. A.) et PELKA (J. R.). — Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, **38**, n° 3, p. 514-515 (1966).
  26. KOLATTUKUDY (P. E.). — Biosynthesis of paraffins in *Brassica oleracea* : fatty acid elongation-decarboxylation as a plausible pathway. *Phytochemistry*, **6**, p. 963-975 (1967).
  27. HAWKE (J. C.) and STUMPF (P. K.). — Fat metabolism in higher plants. XXVII. Synthesis of Long chain Fatty acids by preparations of *Herleum vulgare* L. and other Graminae. *Plant Physiology*, **40**, p. 1029-1032 (1965).
  28. WAKIL (S. J.). — Mechanism of fatty acid synthesis. *J. Lipid. Res.*, **2**, p. 1-24 (1961).
  29. MAZLIAK (P.). — Les acides gras du parenchyme de pomme. — II. Biosynthèses des acides gras. *Fruits*, **20**, p. 605-614 (1965).
  30. MAZLIAK (P.). — La cire cuticulaire des pommes (*Pirus malus* L.). *Rev. générale botanique*, **70**, p. 437-553 (1963).



# ANTIPARASITAIRES AGRICILES ET HORTICOLES



Nouvelle usine de Synthèse de OISSEL (Seine-Maritime)



**SYMBOLE DE QUALITÉ**

LA QUINOLÉINE - 43, RUE DE LIÈGE, PARIS (8<sup>e</sup>) - EUR. 50-80