

# Le brunissement interne de l'ananas.

## III - SymptomatoLOGIE

**C. TEISSON et J.C. COMBRES\***

## IV - Approche biochimique du phénomène

**C. TEISSON, MARTIN-PRÉVEL et J. MARCHAL \***

LE BRUNISSEMENT INTERNE DE L'ANANAS

III - SYMPTOMATOLOGIE

C. TEISSON et J.C. COMBRES

IV - APPROCHE BIOCHIMIQUE DU PHÉNOMÈNE

C. TEISSON, P. MARTIN-PRÉVEL et J. MARCHAL (IRFA)

*Fruits*, mai 1979, vol. 34, n°5, p. 315-339

### RESUME - III - SYMPTOMATOLOGIE

Description des symptômes et de leur évolution. Influence de la température et de la respiration du fruit pendant les deux phases de développement de la maladie. Influence des facteurs précédant la récolte et en particulier climatiques : importance de la température maximale subie avant coupe et de la teneur en acide ascorbique.

### IV - APPROCHE BIOCHIMIQUE DU PHÉNOMÈNE.

Etude des facteurs intervenant classiquement dans les brunissements des fruits en fonction de la sensibilité des ananas au BI, de l'intensité des symptômes et de la zone échantillonnée : brune ou saine. Le brunissement interne s'accompagne d'une disparition de l'acide ascorbique et de l'apparition d'une activité à caractère phénoloxidasique.

## SYMPTOMATOLOGIE

### DESCRIPTION DES SYMPTÔMES

Extérieurement, rien - ni l'état de fraîcheur de la couronne, ni la coloration ou l'aspect de l'épiderme - ne permet de discerner un fruit atteint de BI d'un fruit sain. Les fruits doivent être coupés longitudinalement pour permettre d'observer et d'apprécier de manière satisfaisante l'intensité et l'extension du phénomène.

#### Évolution.

Les symptômes débutent toujours sous la forme de petites lentilles grises, auréolées d'une zone translucide, au point

d'attache des yeux sur le cylindre central. En général, il s'agit des yeux du haut, mais ce point n'est pas strict, surtout pour les petits fruits. Peu après, les auréoles translucides brunissent légèrement (figure 7). Une coupe fine des tissus montre alors que la coloration brune débute dans les vaisseaux, particulièrement denses dans cette partie du fruit et qui, nous le verrons, semblent contenir le maximum d'activité enzymatique.

Par la suite, les taches s'étendent et se réunissent ; la couleur brune s'intensifie et progresse transversalement, mais surtout longitudinalement, en suivant le cœur du fruit. Les zones brunes peuvent finir par envahir tout le fruit en ne respectant qu'une mince couche sous-corticale (figure 8).

Dans certains cas, il n'y a pas d'extension des taches brunes primaires, mais multiplication de celles-ci à tous les

\* - Teisson et Combres - 01-BP 1740 - Abidjan (Côte d'Ivoire)  
Martin-Prével et Marchal - BP 5035 - 34032 Montpellier Cedex

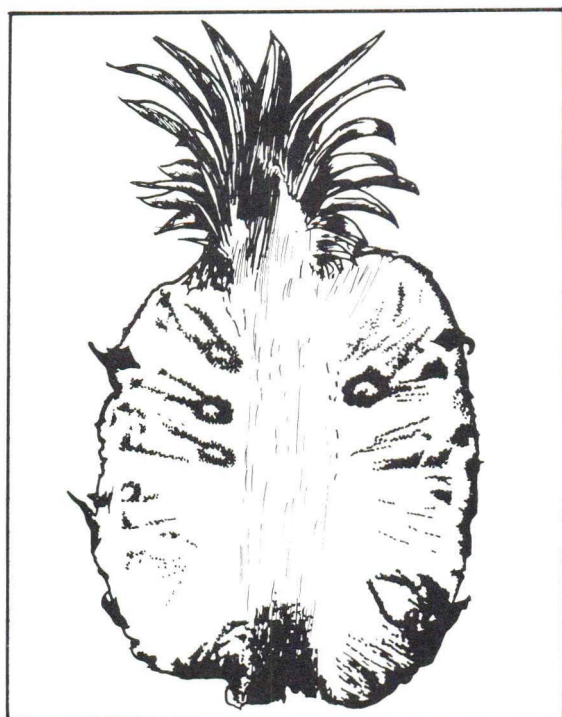


Figure 7 - Apparition des symptômes du B.I. limité à des taches brunes au point d'attache des yeux (d'après photo).

yeux du fruit. Ce cas semble mieux correspondre à l'«endogenous brown spot» des Hawaï, mais il n'est, à notre avis, qu'un faciès du BI classique. Nous verrons que, suivant les températures subies par le fruit, d'autres faciès peuvent se développer.

Le brunissement interne est souvent associé à l'apparition dans le cylindre central, d'une longue ellipse de tissus secs, en général blanchâtres, mais quelquefois bruns.

#### Aspect histocytologique.

Les zones brunes sont beaucoup plus translucides que les zones restant saines. Les poches d'air qui sont à l'origine de l'opacité du fruit ont donc disparu. Cette disparition peut être due à l'éclatement des cellules et à l'occupation, par le suc vacuolaire, des espaces intercellulaires. Cette dégradation des cellules en association avec le BI a été confirmée :

- indirectement par des mesures de résistance électrique des tissus en place, celle des zones saines étant deux fois plus importante que celle des zones atteintes (DEULLIN, 1974, communication personnelle).

- directement par observation de coupes microscopiques (figure 9) qui montrent que les parois cellulaires de l'ensemble des tissus bruns sont plus minces et parfois en voie de désorganisation, en particulier au niveau des tissus conducteurs (DUCREUX, 1975). Cependant, les techniques utilisées pour la préparation des coupes - inclusions dans la paraffine - sont

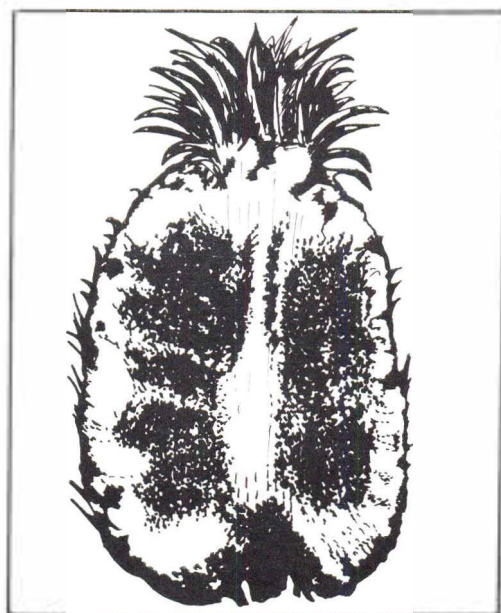


Figure 8 - Brunissement généralisé du fruit (d'après photo).

critiquables, de l'avis même de leur auteur, lorsqu'elles sont appliquées à des tissus dont les cellules sont distendues et fragiles.

Dans certains cas, un faciès particulier du BI peut être observé. Les zones atteintes, bien que d'une surface très développée, restent assez claires, tout en étant toujours très translucides. Il semble alors que l'éclatement des cellules ait lieu, mais que le brunissement chimique soit limité par un facteur quelconque. Comme dans tous les accidents dus au froid, un des phénomènes premiers serait donc une dégradation physique des structures cellulaires. Celle-ci entraîne une mise en contact de tous les constituants cellulaires entre eux et avec les gaz compris dans les espaces intercellulaires et les locales. Le processus biochimique ne serait possible qu'à la suite de ce mélange.

Dans les faisceaux vasculaires, DUCREUX (1975) observe des dépôts de composés phénoliques au niveau du phloème et, à un degré moindre, du xylème. Ces dépôts, faibles dans les fruits sains, sont très abondants dans ceux atteints par le BI (figure 10). Un tel phénomène a été observé au cours du brunissement d'autres fruits (MURATA, 1969).

Des mises en évidence d'activité enzymatique ont été réalisées sur des coupes longitudinales de fruits, par simple badigeonnage de la section avec les milieux réactionnels classiques. L'activité peroxydasique et l'activité phénoloxidasique, spécifique, nous le verrons, des fruits bruns, apparaissent pratiquement au seul niveau des tissus conducteurs.

C'est donc dans les faisceaux vasculaires qu'ont lieu les phénomènes essentiels liés au brunissement, l'extension des symptômes pouvant, à l'extrême, n'être due qu'à la diffusion d'un facteur, enzymatique par exemple, rendue possible par les dégradations cellulaires.

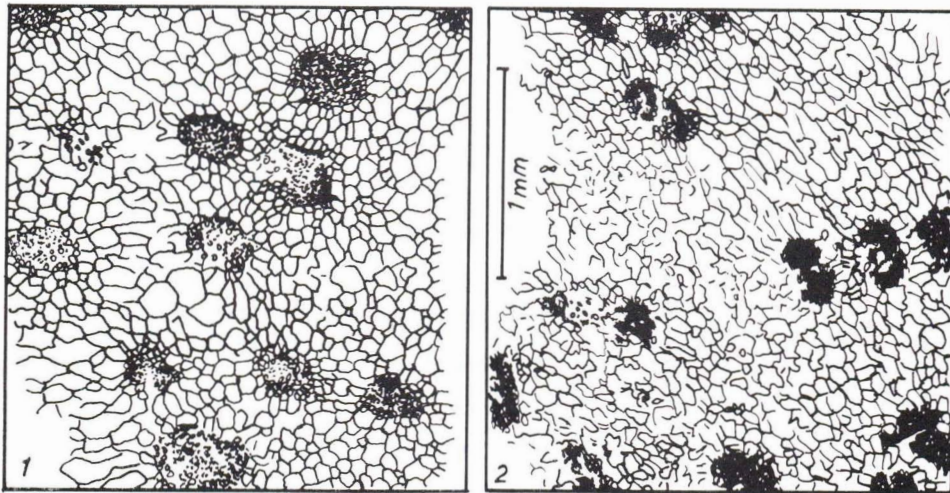


Figure 9 - Comparaison de la vascularisation de fruits sains et de fruits atteints de brunissement interne. Observation directe (d'après DUCREUX, 1975). 1 : fruit frais ; 2 : fruit brun.

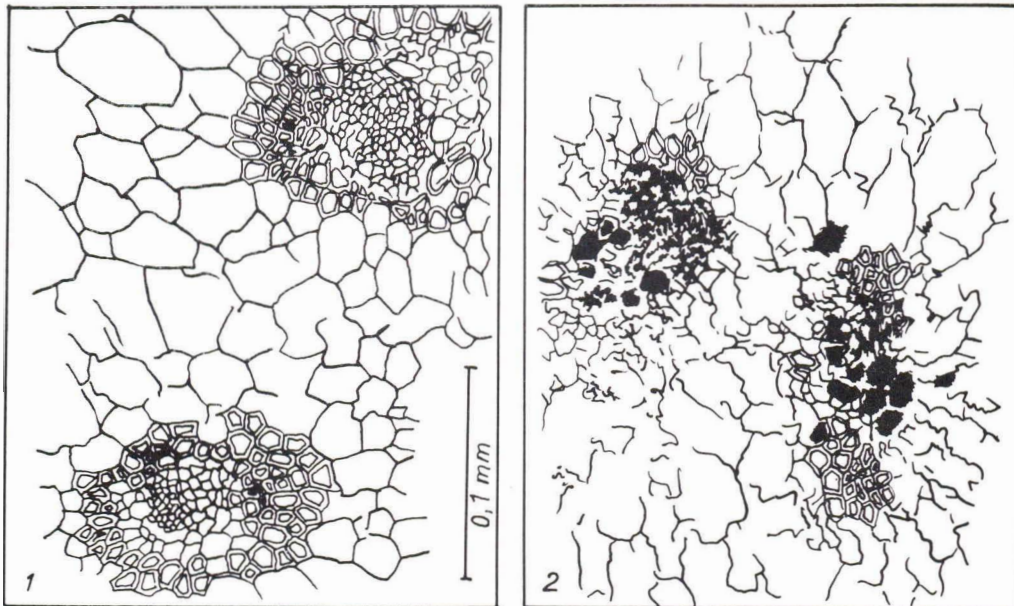


Figure 10 - Mise en évidence des composés phénoliques dans les vaisseaux d'ananas sains et bruns (d'après DUCREUX, 1975). 1 : fruit frais ; 2 : fruit brun (fixation : navachine - coloration : hématoxyline, safranine, bleu d'aniline).

**Brunissement interne et autres anomalies du fruit.**

Il est assez rare de trouver un fruit atteint à la fois d'un fort BI et d'un autre désordre physiologique appelé le «jaune». Celui-ci est une anomalie correspondant à une surmaturité avancée du fruit par rapport à sa coloration extérieure. Un fruit «jaune» se caractérise par une très faible acidité, une forte teneur en sucres (HUET, 1953) et surtout une très grande translucidité de la chair.

Le BI est souvent confondu par les professionnels avec les «taches noires» (figure 11). Celles-ci sont pourtant très différentes, puisqu'elles apparaissent sans mise au froid,

qu'elles débutent en général près du canal nectarifère, que leur développement est centré sur les yeux individuels et qu'elles sont plus fréquentes dans le cas du fruit. Elles auraient enfin une origine parasitaire, bien que des facteurs intrinsèques jouent vraisemblablement un rôle primordial (GUÉROUT, 1974).

Le BI est parfois confondu avec les dégâts dus à *Thielaviopsis paradoxa*, champignon qui pénètre dans le fruit par une blessure ou la section pédonculaire et envahit les zones voisines du coeur. Les symptômes se caractérisent surtout par une dissociation de la chair, qui rend le fruit déliques-

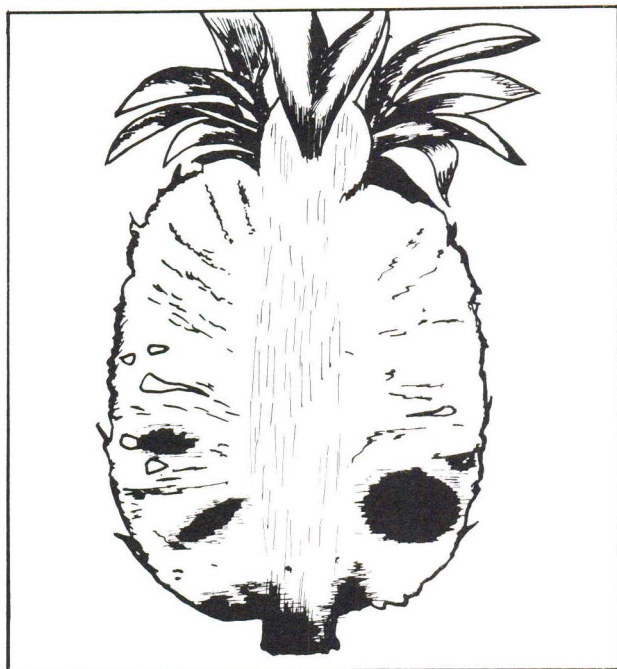


Figure 11 - Taches noires (d'après photo).

cent. Les zones nécrosées, bien que plus foncées que le reste du fruit, ne sont jamais aussi brunes que dans le cas du BI ; elles peuvent être bordées d'un liséré noir, correspondant aux spores du champignon.

#### Facteurs de déclenchement et de développement.

Nous considérerons ici surtout les conditions physiques du transport et de la commercialisation qui déterminent le BI, telles qu'elles ont été mises en évidence par les essais entrepris.

#### *Phase de transport, mise au froid.*

- Importance de la mise au froid.

La mise au froid des fruits, qui a lieu pendant le transport en bateau pour les ananas produits en Côte d'Ivoire, est pratiquement indispensable au développement ultérieur du BI. A température ambiante, entre 33 et 21°, les fruits peuvent être conservés environ dix jours, ils commencent alors à présenter des symptômes de sénescence, mais aucune trace de BI n'est encore visible. Les fruits pourrissant par la suite, il n'est pas possible de savoir si les symptômes apparaîtraient ou non.

- Valeur absolue de la température.

Le brunissement observé dépend de la température subie pendant la phase de transport précédant les sept jours de conservation à 20°. Pour une même durée de mise au froid - dix jours dans nos essais - il est d'autant plus intense que la température a été basse (tableau 7).

TABLEAU 7 - Brunissement interne en fonction de la température de la phase froide.

température phase transport (10 jours)	p. 100 fruits atteints	note moyenne
10°C	100	0,8
8	100	1,1
5	100	4,0

Les symptômes, après transport à 5°, sont particulièrement intenses, ils présentent cependant un faciès différent de ceux des autres traitements : leur extension est très grande, mais leur pigmentation est assez faible. Les dégradations physiques subies par les cellules sont donc particulièrement importantes, mais pas le brunissement chimique. Dans l'attribution de la note, nous avons tenu compte surtout de la surface des zones nécrosées.

La température de transport n'a pas besoin d'être aussi basse pour induire le BI. Les symptômes peuvent apparaître, même si les fruits n'ont été exposés qu'à une température de 20° (tableau 8). Cette température peut paraître assez élevée, mais elle reste bien inférieure à celles subies par le fruit aux champs. Nous avons observé, en effet, que la température du fruit sur pied variait de 22 à 34° en son centre et que celle des zones sous-corticales pouvait atteindre 50°, valeur atteinte également par la surface des feuilles (AUBERT et BARTHOLOMEW, 1973). A 20°, il faut cependant attendre quinze jours pour que les symptômes dépassent le stade de traces.

TABLEAU 8 - Brunissement interne par conservation à température unique de 20°C.

essai	nombre de jours	p. 100 fruits atteints	note moyenne
1	2	0	0
	5	0	0
	7	37,5	0,5
	10	66,0	0,6
2	10	41,7	0,5
	15	95,9	1,11
	20	100	1,91

Le phénomène est beaucoup plus rapide dans les conditions normales d'essai, lorsque la mise à 20° est précédée d'une conservation à 8°.

A 20°, on se situe à une température suffisamment basse pour que le phénomène soit initié et suffisamment élevée pour qu'il puisse s'exprimer. Lorsque le BI apparaît aux champs, comme aux Hawaï, à Formose ou en Australie, cette double exigence thermique doit également être satisfaisante.

Les fruits tropicaux sont très sensibles aux basses températures mais, dans ces conditions, l'ananas apparaît particu-

lièrement fragile.

Par contre, en période réputée de non-sensibilité au BI, des essais d'induction du phénomène, par conservation à 4°, ont échoué. Cette température, trop basse pour l'ananas, a entraîné de nombreux accidents et, en particulier, divers brunissements, mais tous différents du BI.

- Intensité du choc thermique.

Un refroidissement trop brutal est souvent à l'origine d'accidents physiologiques et la pré-réfrigération est une technique fréquemment employée pour en diminuer l'incidence.

Cependant, dans le cas du BI de l'ananas, il n'en est pas de même et la vitesse de refroidissement ne semble pas jouer de rôle prépondérant.

Aucune différence nette, quant à l'intensité du BI, n'est observée pour les fruits noyés ou non, à l'intérieur de leur carton, dans des boules de polystyrène, qui ont pourtant considérablement ralenti le refroidissement de la pulpe (figure 12 et tableau 9).

TABLEAU 9 - Brunissement interne pour différentes vitesses de refroidissement.

vitesse de refroidissement	p. 100 fruits atteints	note moyenne
normale	95,8	1,4
lente *	100	1,3

\* - fruits noyés dans polystyrène.

Par contre, l'amplitude thermique interviendrait et une température de 40°, subie pendant un jour avant simulation de transport, augmente légèrement le BI par rapport à une mise à 16° ou à une conservation à température ambiante (tableau 10).

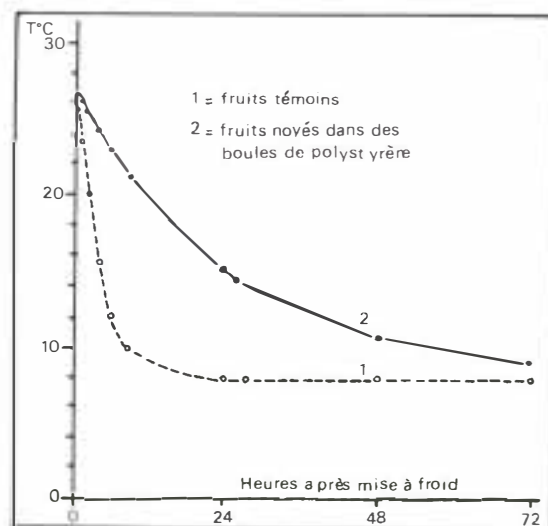


Figure 12 - Vitesse de refroidissement. Température de la pulpe 2 cm sous l'épiderme.

TABLEAU 10 - Brunissement interne et température précédant la mise au froid subie pendant un jour

Température avant la mise au froid	p. 100 fruits atteints	Note moyenne
ambiante	97,2	1,8
40°C	97,2	2,2
16	94,4	1,7

- Interruption de mise au froid.

La mise momentanée à température plus élevée permet souvent de diminuer les anomalies dues au froid, en particulier lorsqu'elles ont leur origine dans l'accumulation de produits toxiques. Dans le cas du BI de l'ananas, un tel traitement aboutit à un résultat opposé.

Une température de 20°, subie pendant huit heures et succédant à une première mise au froid à 8°, suffit pour permettre le développement des symptômes, même si les

TABLEAU 11 - Brunissement interne et interruption de la mise au froid.

Essai	Durée des traitements thermiques successifs			p. 100 fruits atteints	Note moyenne
	1ère mise à 8°C	20°C	2e mise à 8°C		
1	10 jours	0,3	6,7	33	0,25
	10	2	5	100	0,5
	10	4	3	100	1,5
	10	7	0	100	2,3
2	10	4	0	83	0,8
	10	4	4	100	1,6
	10	8	0	100	2,0

fruits sont remis à 8° par la suite. A la fin du traitement à 20°, la température de la pulpe, à deux centimètres sous l'épiderme, n'était pourtant que de 14°. Plus le traitement intermédiaire à 20° est long, plus le brunissement observé est développé à la fin de l'expérience, après remise à 8° (tableau 11). On rappelle que, dans les fruits maintenus strictement à 8°, le BI reste toujours beaucoup plus faible que dans cette expérience.

- Durée de mise au froid.

Le brunissement interne observé après une même durée de phase de commercialisation est d'autant plus intense que la phase de transport initiale a été longue (tableau 12). La corrélation tend cependant à se relâcher pour les temps de transport les plus longs.

TABLEAU 12 - Brunissement interne après diverses durées de mise au froid, puis 7 jours à 20°C.

Essai	Durée de mise à 8° en jours	p. 100 fruits atteints	Note moyenne
1	2	70,8	0,5
	5	100	1
	10	100	1,6
2	15	100	1,8
	20	100	1,6
	25	100	2,4

- Respiration du fruit.

Pendant la phase de transport, l'ensachage des fruits en sacs de polyéthylène étanches n'a aucune influence sur l'intensité ultérieure du BI. Cette technique entraîne habituellement, par suite de la respiration du fruit, un appauvrissement en O<sub>2</sub> et un enrichissement en CO<sub>2</sub> de l'atmosphère interne du sac. Dans le cas de l'ananas, la composition de l'atmosphère s'est trouvée très peu modifiée, preuve d'une respiration très faible à 8°.

On pouvait supposer que la couronne, organe feuillu, puisse jouer un rôle important dans les échanges gazeux et donc dans la physiologie du fruit, mais son ablation a plutôt tendance à augmenter le BI (tableau 13), par suite, sans dou-

TABLEAU 13 - Brunissement interne et ablation de la couronne.

couronne	p. 100 fruits atteints	note moyenne
conservée	75,0	0,9
supprimée	79,2	1,2

te, du meilleur appauvrissement en oxygène des tissus internes à travers la blessure provoquée.

Phase de commercialisation.

C'est pendant cette phase, où les fruits sont placés à une température plus élevée que précédemment, que se produit le développement des symptômes. Nous avons vu cependant qu'un réchauffement, même très bref, pouvait induire l'apparition des symptômes à basse température.

- Valeur absolue de la température.

Les symptômes sont d'autant plus intenses que la température est élevée (tableau 14), dans la limite de 37°. Le développement des symptômes peut évidemment se rattacher par là à une simple réaction enzymatique, s'accéléralant avec la température dans les limites de l'essai.

TABLEAU 14 - Brunissement interne après 7 jours à différentes températures de la phase de commercialisation.

Température	p. 100 fruits atteints	note moyenne
15°C	91,7	0,7
20	87,5	1,1
37	83,3	1,9

Le faciès des symptômes est, là encore, fonction de la température. Les zones atteintes présentent, à 37°, une coloration beaucoup plus brune qu'à 20°.

Conservés strictement à 8°, les fruits ne présentent absolument aucun signe de BI au bout de dix jours. Les premiers symptômes, toujours très faibles, ne sont discernables qu'après trente jours. A cette date, la couche sous-épidermique devient translucide, comme lorsque les fruits sont mis à température trop basse.

Cependant, nous l'avons vu, les symptômes peuvent évoluer plus rapidement à 8° s'ils ont été préalablement initiés par une mise à température plus élevée, même brève.

- Durée de la phase de commercialisation.

La figure 13 représente l'évolution des symptômes à 20°, après un transport de dix jours à 8°.

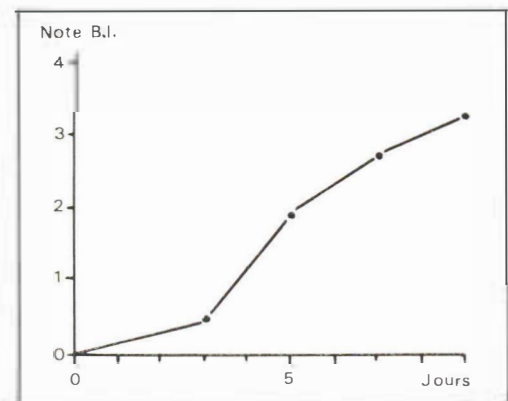


Figure 13 - Evolution du B.I. à 20°C, après dix jours à 8°C.

Les premiers symptômes sont visibles trois jours après sortie de chambre froide. Leur intensité en fonction du temps décrit une courbe sigmoïde, qui peut être caractéristique d'une cinétique enzymatique. Le temps de latence peut être dû à l'existence du deuxième phénomène d'induction, au début de la mise à 20°.

#### - Respiration du fruit.

L'ensachage des fruits en sacs de polyéthylène étanches pendant cette phase a un effet spectaculaire sur le BI (tableau 15). Les résultats sont variables suivant les répétitions. Ils sont très visiblement fonction de la teneur finale en O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>, qui dépend de l'étanchéité effective de chacun des sacs et du rapport poids du fruit/volume interne du sac, c'est-à-dire de la masse de gaz produits et consommés par la respiration. Une teneur en oxygène égale ou inférieure à 6 p. 100 paraît indispensable pour obtenir un brunissement nul.

La conservation en atmosphère confinée en présence de potasse pour absorber le CO<sub>2</sub> permet également de supprimer le BI. C'est donc l'appauvrissement en O<sub>2</sub> et non l'enrichissement en CO<sub>2</sub> qui est à l'origine de l'action favorable de l'ensachage.

L'effet de ces traitements est un simple blocage provisoire du développement des symptômes, ceux-ci pouvant apparaître dès que les fruits sont remis à l'air libre (tableau 16). Les symptômes présentent alors parfois un faciès légèrement différent : le cylindre central seul brunit à son sommet, la pulpe restant intacte.

L'utilisation de l'atmosphère confinée provoque aussi un ralentissement spectaculaire de l'évolution externe du fruit, qui conserve, à la fin de l'expérimentation, un aspect de fraîcheur absolument remarquable. Malheureusement, cette technique entraîne parfois un léger développement de moisissures superficielles et surtout une modification considérable du parfum de l'ananas.

L'ablation des couronnes pendant la phase de commercialisation n'a aucune action sur le BI. La respiration du fruit seul est donc suffisante pour entretenir le phénomène.

De même, l'ensachage du pédoncule seul n'a eu aucun effet favorable sur le BI, montrant par là que les échanges gazeux à travers ce seul organe ne jouent pas un rôle prédominant dans le phénomène.

## FACTEURS DE SENSIBILISATION

### Facteurs liés au développement, poids et maturité.

Les essais entrepris ont confirmé les résultats obtenus précédemment par d'autres auteurs. Les fruits sont d'autant moins sensibles qu'ils sont petits et récoltés très mûrs (tableau 17). Les variations de l'acidité titrable et de l'acide ascorbique à la coupe sont trop faibles pour expliquer à elles seules les différences de sensibilité. D'autre part, la relation déjà établie par M.A. et R. TISSEAU (1970), en fonction de l'époque de récolte, entre faible acidité et BI intense ne se vérifie pas en fonction de la maturité : lorsque celle-ci augmente, acidité et brunissement interne diminuent. Il est donc certain que d'autres facteurs que l'acidité interviennent dans ce cas.

TABLEAU 15 - Brunissement interne et ensachage des fruits en sacs polyéthylène, observations sur trois essais.

Essai	Observations après dix jours à 8° et sept jours à 20°			
	composition atmosphère p. 100		p. 100 fruits atteints	note moyenne
	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>		
1 témoin	20	0	61,1	1,2
1 ensaché	8	>8	36,7	0,8
2 témoin	20	0	100	1,9
2 ensaché	4	>8	0	0
3 témoin	20	0	95	3,3
3 ensaché	6	>20	0	0

TABLEAU 16 - Brunissement interne et différentes durées de la conservation en atmosphère confinée, suivie d'une remise à l'air libre.

Durée ensachage (jours)	Durée remise air libre (jours)	p. 100 fruits atteints	note moyenne
0	9	100	3,3
5	4	85,7	1,6
7	2	77,6	1,1
9	0	0	0

TABLEAU 17 - Brunissement interne en fonction du poids et de la maturité à la récolte.

Catégorie de fruits		Acidité titrable (meq p. 100)		Acide ascorbique ( $\mu\text{M}$ )	p. 100 fruits atteints	note moyenne
poids (kg)	maturité apparente *	libre	totale			
1,6-1,9	3	8,1	13,0	280	95,8	1,5
1,6-1,9	1	9,9	13,4	276	100	2,7
0,7-0,9	3	10,5	15,3	278	79,2	0,7
0,7-0,9	1	10,6	15,7	386	91,6	1,3
1,9-2,3	1			278	100	3,0
0,9-1,1	3			293	100	1,7

\* - maturité apparente exprimée en quarts jaunes de la hauteur du fruit.

TABLEAU 18 - Brunissement interne sur des fruits récoltés avant la date normale de récolte.

Jours de récolte avant la date normale	Acide ascorbique $\mu\text{M}$	p. 100 fruits atteints	note moyenne	aptitude à la consommation *
18	676	54	0,5	-
14	628	71	0,5	-
6	452	100	1,5	±
3	323	100	2,1	+

\* - indépendamment du BI

Dans ces essais, les fruits récoltés les plus verts étaient cependant d'une maturité suffisante pour l'exportation ; dans un autre essai, nous avons donc testé la sensibilité des fruits de 1,3 à 1,5 kg, coupés à différents stades, bien avant le moment normal de la récolte (tableau 18).

Les fruits récoltés très verts, 18 à 14 jours avant la date normale de coupe, sont très riches en acide ascorbique. Ils présentent assez peu de brunissement, mais ont été par ailleurs coupés trop jeunes pour être consommables à la fin de l'expérience. Au fur et à mesure que l'on s'approche de la date normale de récolte, la teneur en acide ascorbique diminue et le BI augmente.

Le stade le plus avancé observé dans cet essai correspond au plus précoce des essais précédents. L'ananas passe donc par un maximum de sensibilité, au moment où il commence à se colorer extérieurement, ce qui correspond curieusement à son maximum d'acidité.

#### Facteurs climatiques

L'observation du brunissement interne a permis de constater, dès le départ, que celui-ci était pratiquement nul en saison des pluies et qu'il apparaissait parfois en septembre-octobre, mais surtout en fin de saison sèche. Cette saison est caractérisée par :

- une insolation et un rayonnement solaire global élevés : 5 à 7 heures d'insolation/jour en moyenne.
- une température élevée (32 à 22°) avec une amplitude thermique journalière de 10°C, plus marquée qu'en saison des pluies,

- une pluviométrie faible, ou plutôt une fréquence faible de pluie. En Basse Côte d'Ivoire, on peut en effet avoir des orages espacés, mais accompagnés d'une forte pluviométrie pas plus efficace qu'une pluie de 40 mm. Le total pluviométrique mensuel n'est donc pas déterminant.

A l'inverse, la saison des pluies correspond à :

- une insolation et un rayonnement global faibles : 3 heures par jour maximum,
- une température et une amplitude journalière faibles,
- une pluviométrie abondante.

Les graphiques des figures 14, 15 et 16 montrent l'évolution simultanée des paramètres climatiques, du BI, de l'acidité et de l'acide ascorbique. Ces graphiques confirment bien ce qui était déjà connu, mais il apparaît que l'intensité du BI peut varier très brutalement, surtout en fin de saison sèche. L'examen plus détaillée de cette période (figure 17) montre que les diminutions brutales observées sont associées aux pluies et donc à celles du déficit hydrique. D'autres paramètres climatiques sont également modifiés, température et ensoleillement en particulier, mais leurs variations journalières sont très fréquentes et il n'a pas été possible de les relier directement avec un changement brusque du BI.

Le tableau 19 représente les valeurs des coefficients de corrélation, calculés sur 3 ans et 110 dates de récolte, entre le brunissement interne, les données analytiques sur fruits (acidité titrable libre et totale, acide ascorbique) et les données climatiques sommées sur différentes périodes avant la récolte du fruit.



Figure 14 - Evolution comparée des paramètres climatiques, du B.I. et des caractéristiques biochimiques, en 1972-1973.

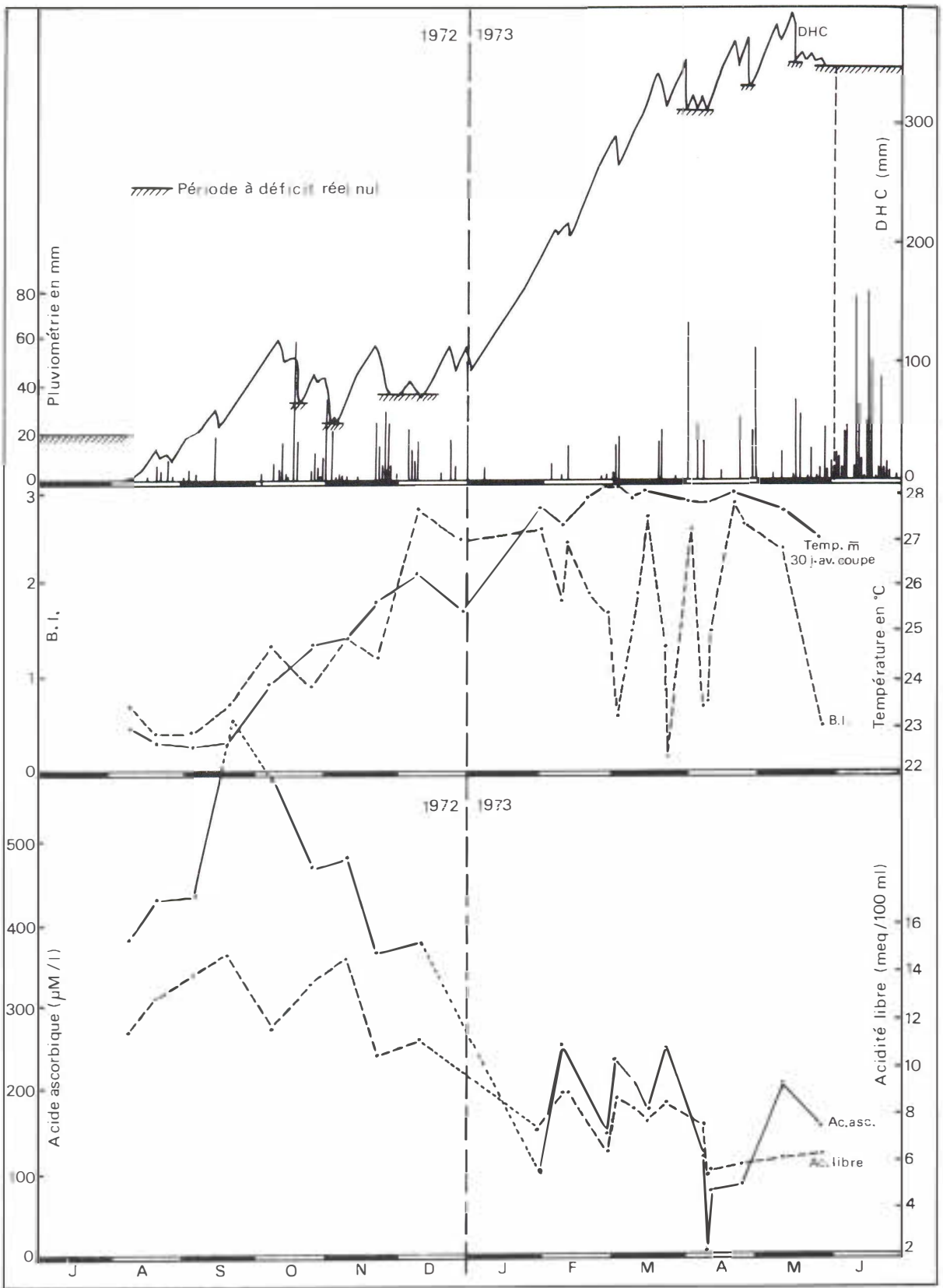


Figure 15 - Evolution comparée des paramètres climatiques, du B.I. et des caractéristiques biochimiques, en 1973-1974.

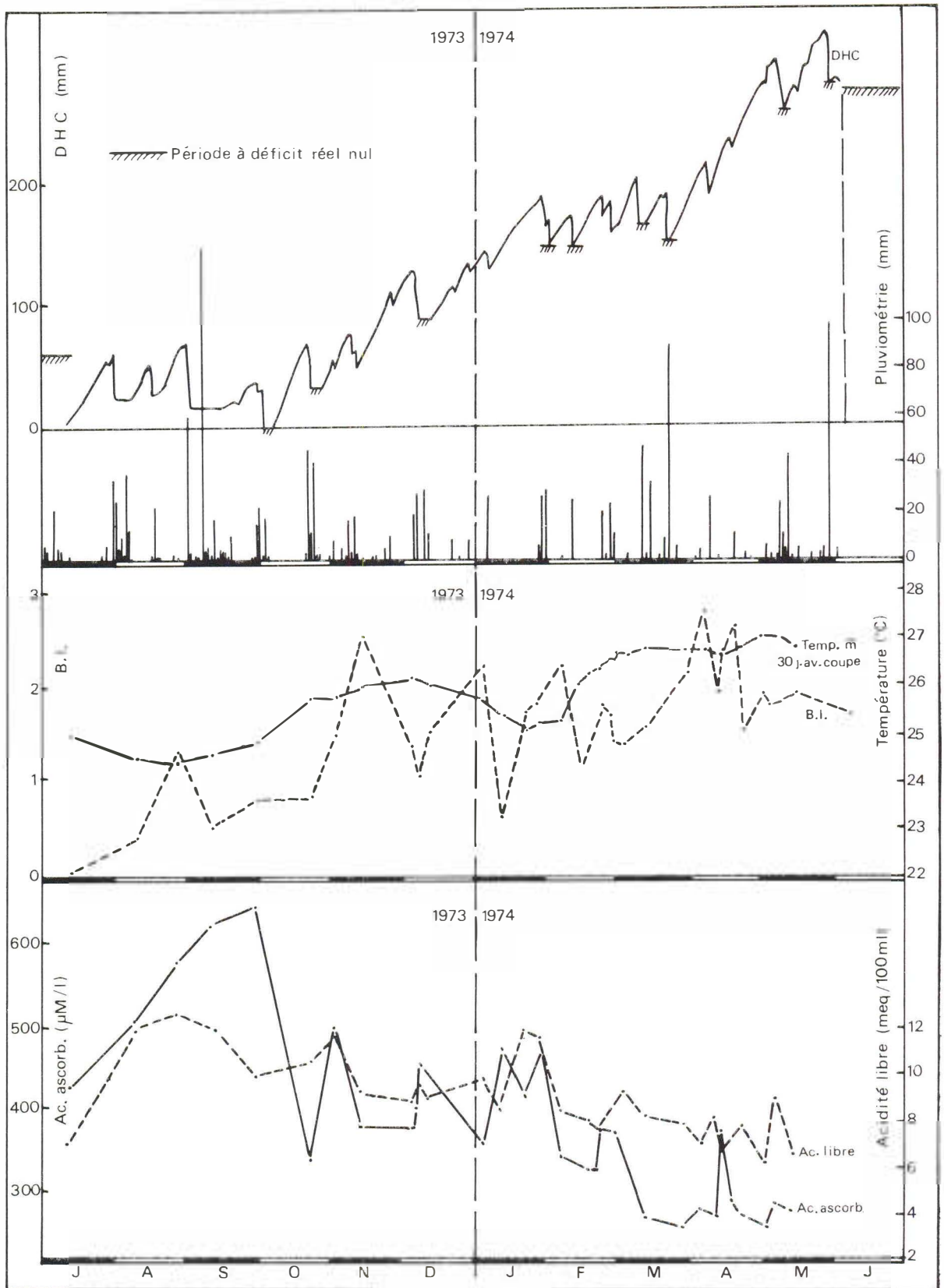
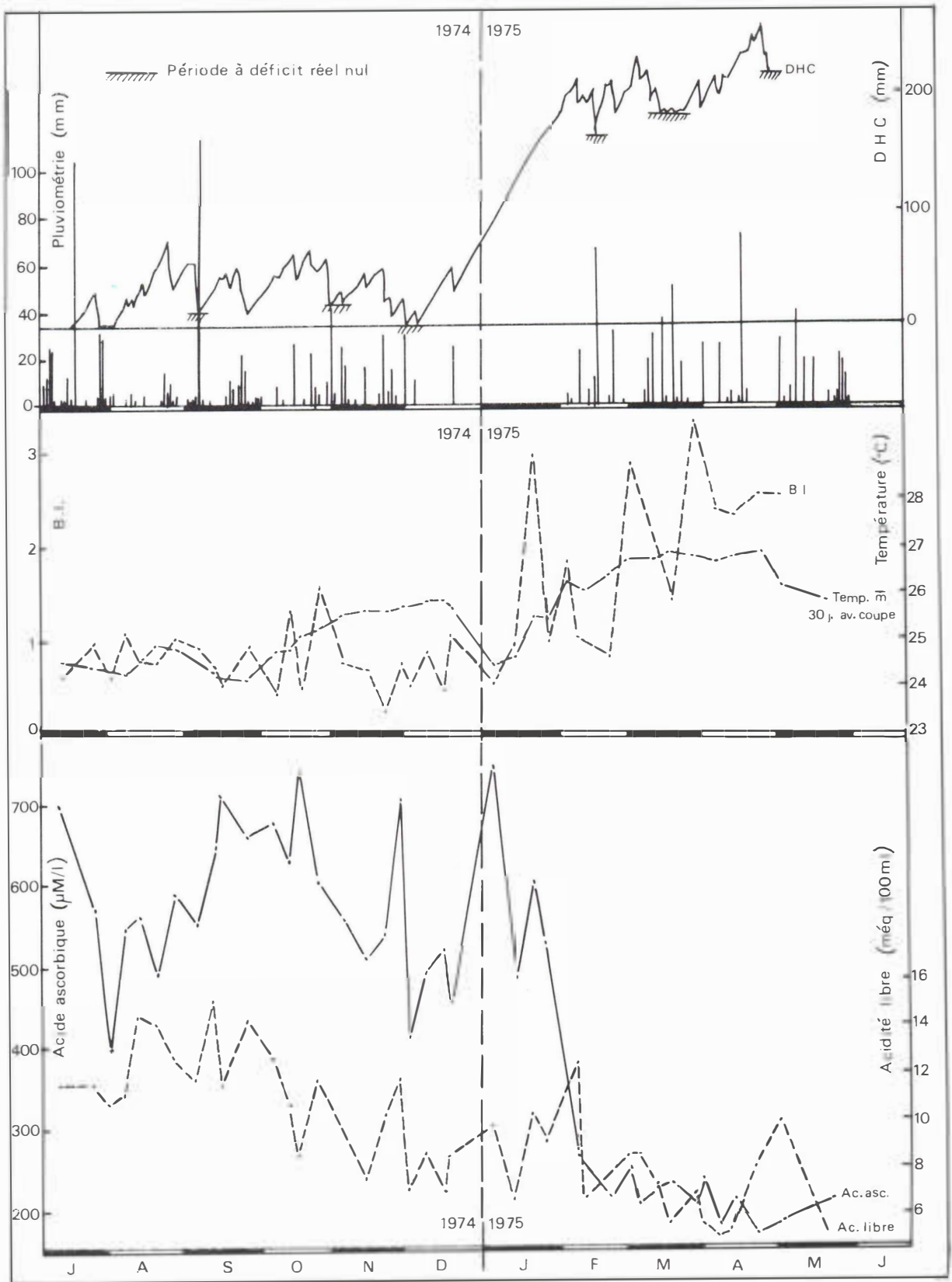


Figure 16 - Evolution comparée des paramètres climatiques, du B.I. et des caractéristiques biochimiques, en 1974-1975.



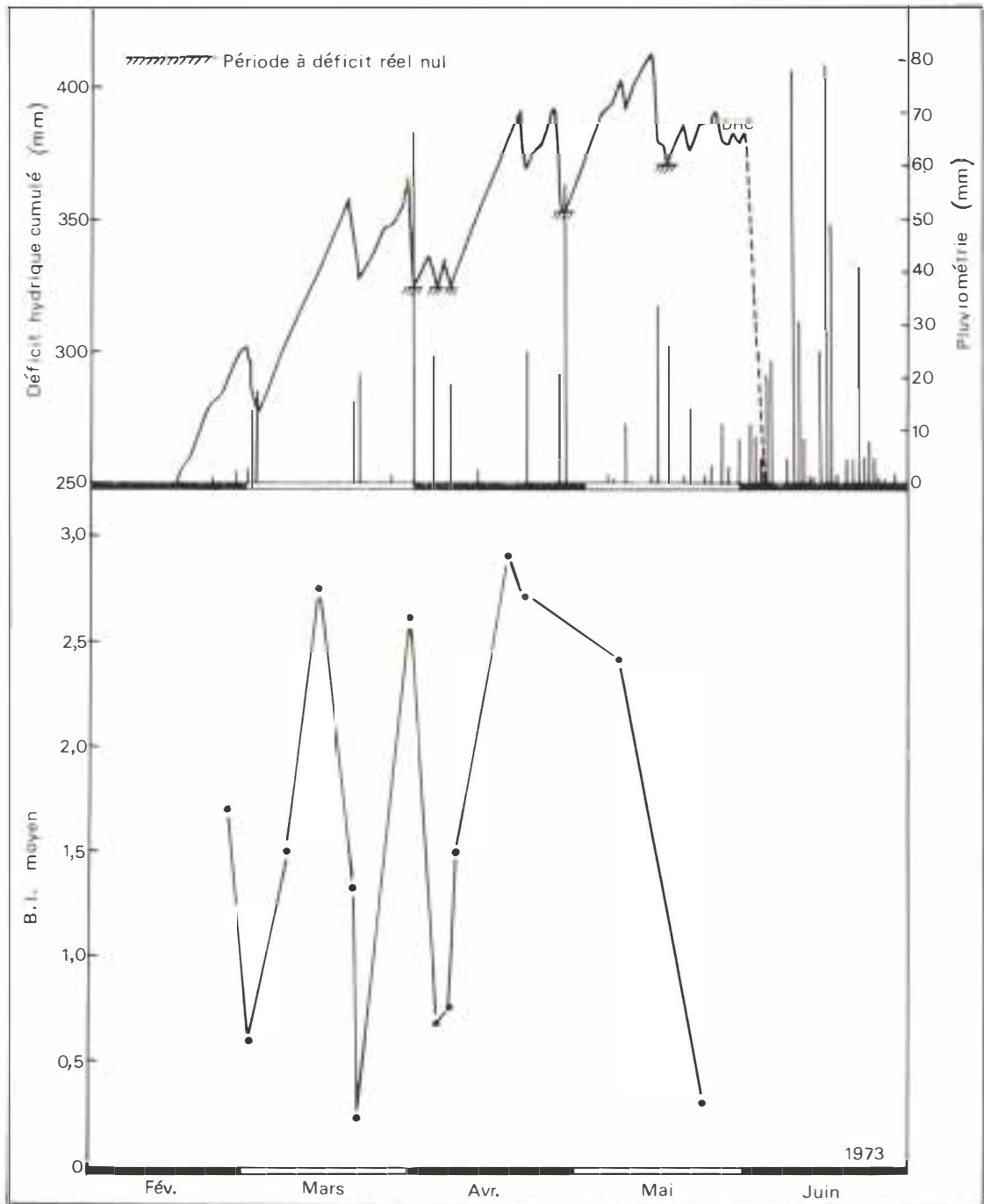


Figure 17 - Evolution comparée du B.I. et des paramètres climatiques en fin de saison sèche 1973.

TABLEAU 19 - Matrice de corrélation : r x 100 entre l'intensité du BI, les données analytiques sur fruits au jour de la récolte et les données climatiques sommées sur 7, 14, 21 et 42 jours avant récolte.

	intervalle de temps	BI	acide ascorbique	acidité totale	acidité libre
Pluviométrie (mm)	7	- 10	- 5	1	4
	14	2	3	- 1	6
	21	- 1	9	2	9
	42	- 11	10	9	16
Insolation Campbell (h)		48	- 42	- 49	- 61
	"	45	- 47	- 53	- 67
	"	47	- 53	- 55	- 68
	"	46	- 48	- 52	- 65
Rayonnement (joules/cm <sup>2</sup> )		58	- 39	- 48	- 65
	"	60	- 46	- 50	- 68
	"	60	- 49	- 51	- 68
	"	56	- 45	- 51	- 65
Ind. actinométrique maxi (°C)		53	- 58	- 59	- 70
	"	20	- 38	- 23	- 15
	"	19	- 48	- 30	- 30
	"	15	- 43	- 21	- 20
Ind. actinométrique mini (°C)		23	- 36	- 27	- 25
	"	34	- 46	- 36	- 32
	"	25	- 25	- 32	- 22
	"	17	- 25	- 24	- 20
Température maximale (°C)		57	- 61	- 60	- 74
	"	56	- 63	- 64	- 77
	"	57	- 65	- 64	- 77
	"	58	- 60	- 63	- 76
Température minimale (°C)		29	- 48	- 37	- 37
	"	35	- 59	- 47	- 46
	"	29	- 54	- 57	- 52
	"	36	- 58	- 60	- 56
Piche (mm)		37	- 47	- 20	- 36
	"	47	- 54	- 27	- 43
	"	49	- 59	- 31	- 46
	"	55	- 64	- 39	- 52
Evapotranspiration Bac Colorado (mm)		33	- 36	- 41	- 51
	"	44	- 52	- 47	- 59
	"	43	- 53	52	- 62
	"	33	- 51	- 47	- 56
Déficit hydrique cumulé brut (mm)		14	- 2	- 6	- 11
	"	7	- 14	- 9	- 17
	"	8	- 17	- 10	- 18
	"	16	- 25	- 15	- 24
Acidité libre (méq/100 ml)		- 49	59	93	
Acidité totale (méq/100 ml)		- 38	58		
Acide ascorbique (µM)		- 52			

Calcul sur trois années, soit 110 dates de récolte, analyses sur 676 fruits et observations sur 2.704 fruits.

Les corrélations qui apparaissent entre le BI et certains caractères climatiques sont bonnes, compte tenu de l'interaction de ces derniers entre eux, de l'intervention d'autres facteurs, nutritionnels en particulier, et du nombre des observations réalisées.

Les meilleures corrélations sont obtenues avec le rayonnement mesuré par thermopiles et la température maximale. Ces deux données, évidemment liées entre elles, interviennent avec autant d'intensité dans les 42 jours qui précèdent la récolte. A l'inverse, seul l'indice actinométrique maximum de la semaine précédant la récolte est corrélé avec l'intensité du BI. Ce caractère doit être particulièrement lié avec la température du fruit et, comme nous l'avons vu (tableau 10), un réchauffement du fruit avant la mise au froid ne peut qu'augmenter le BI.

La corrélation avec le déficit hydrique est nulle et, comme nous l'avons vu, seules ses brutales annulations interviennent peut-être.

Le brunissement interne est corrélé négativement à la teneur en acide ascorbique, mais d'une manière beaucoup moins étroite qu'on ne pouvait l'espérer. La figure 18 permet cependant de préciser ce résultat : l'intensité du BI est très nettement fonction du niveau en acide ascorbique pour des valeurs inférieures à 500  $\mu\text{M}$ . Pour des valeurs supérieures, le BI reste assez faible, mais à un niveau constant. D'autres facteurs doivent alors être prépondérants.

Par ailleurs, la teneur en acide ascorbique est corrélée essentiellement, comme le BI mais évidemment en sens inverse, avec la température maximale et l'indice actinométrique. Là encore, pour ce dernier, seuls les sept jours avant récolte interviennent. La liaison avec le rayonnement global est, par contre, moins étroite.

Les corrélations entre l'acide ascorbique et l'acidité titrable libre ou totale sont plus faibles que celles trouvées par d'autres auteurs (HAMNER et NIGHTINGALE, 1946) ou sur d'autres fruits (PEYNAUD et MAURIE, 1950). Ces deux types d'acidité sont évidemment corrélés très étroitement entre eux. Ce sont eux, et en particulier l'acidité libre, qui sont les mieux liés aux caractères climatiques tels que la température maximale. L'effet dépressif d'une augmenta-

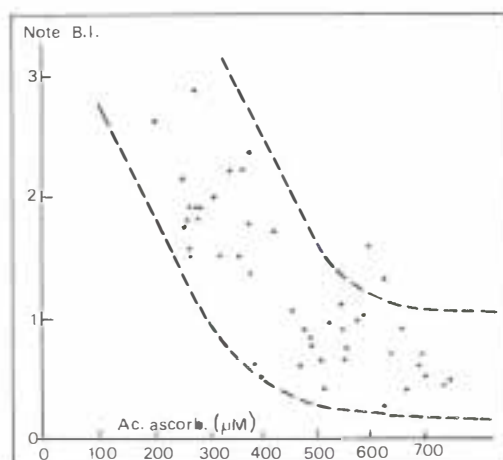


Figure 18 - Corrélation entre intensité du B.I. et teneur en acide ascorbique à la récolte (sur une année, soit 46 dates).

tion de la température sur l'acidité des fruits en général est connu depuis longtemps (NITSCH, 1953). Le rayonnement global et l'indice actinométrique interviennent dans les mêmes conditions que pour les caractères précédents. Pour l'acidité libre, il apparaît en outre une corrélation négative avec l'insolation mesurée par héliographe de Campbell et l'évapotranspiration du bac Colorado.

#### Facteurs géographiques.

Tous les essais entrepris ont montré que les ananas de Côte d'Ivoire pouvaient présenter du BI, quelle que soit leur origine géographique (tableau 20). Les variations de sensibilité qui, nous l'avons vu, sont très rapides en fonction des conditions climatiques, ne permettent pas, dans une étude aussi ponctuelle, une comparaison valable de la sensibilité suivant les régions.

#### Facteurs variétaux.

Des principales variétés testées, la variété 'Cayenne lisse', la seule cultivée commercialement en Côte d'Ivoire, est la plus sensible au BI. La variété 'Singapore Canning' est également très sensible, contrairement aux 'Perolera' et 'Red

TABLEAU 20 - Brunissement interne et différentes zones de production en Côte d'Ivoire.

Essai	Zone de culture	p. 100 fruits atteints	note moyenne
1	Côtière W-Abidjan	87,6	0,6
	Côtière N-Abidjan	54,2	0,6
	Intérieure Tiassalé	45,8	1,0
	Intérieure Tiassalé N	41,7	1,4
	Intérieure Tiassalé NW	83,4	1,8
2	Côtière Est-Comoé	100	2,0
	Côtière W-Abidjan	97,2	1,7
	Intérieure Tiassalé	100	1,6

Spanish'. Ces deux dernières se caractérisent par leur teneur en acide ascorbique : six fois plus en moyenne que la 'Cayenne lisse' pour la première et deux fois pour la seconde. C'est cependant la variété 'Red Spanish' qui est de loin la moins sensibles, d'autres facteurs que la seule teneur en acide ascorbique doivent donc intervenir.

On rappelle que, mise à part la sensibilité au BI, la variété 'Cayenne lisse' est très supérieure aux variétés citées, tant du point de vue de la productivité que de la résistance aux parasites et de la qualité des fruits.

### CONCLUSION

Le brunissement interne de l'ananas est un exemple typique d'anomalie induite par le froid, mais faisant intervenir deux facteurs thermosensibles, l'un sensibilisant le fruit, l'autre permettant l'expression des symptômes. Le premier s'intensifie lorsque la température diminue et le second lorsqu'elle augmente.

La mise au froid représente donc la première étape de l'acquisition d'une potentialité biochimique, qui s'exprime par la suite d'autant mieux que la température est élevée. Son action peut, mais pas obligatoirement, n'être que physique et s'exercer sur les structures cellulaires qui sont dégradées. Une remontée de température est cependant nécessaire dans la pratique pour l'acquisition complète de cette potentialité. Celle-ci peut d'ailleurs s'exprimer même si le réchauffement du fruit n'est que provisoire. Dans tous les cas, un approvisionnement suffisant en oxygène est nécessaire pour la deuxième partie du phénomène.

La sensibilité au brunissement interne est liée étroitement à la composition des fruits et, en particulier, à leur teneur en acide ascorbique, surtout pour les valeurs faibles. Ces composantes chimiques dépendent elles-mêmes de facteurs climatiques et principalement de la température maximale subie par le fruit avant la coupe. Il est évidemment tentant d'essayer de relier ces variations aux modifications du métabolisme de l'assimilation carbonée de l'ananas. En Côte d'Ivoire et dans d'autres pays producteurs, la période de plus grande sensibilité semble être celle où la part du métabolisme crassulacéen, dans l'assimilation totale du CO<sub>2</sub>, est la plus importante. En effet, celle-ci est favorisée (NEALES et al., 1968 ; CONNELLY, 1972 ; BARTHOLOMEW et KADZIMANN, 1975) par :

- une amplitude thermique élevée entre le jour et la nuit,
- un fort ensoleillement de jour,
- un déficit hydrique important,
- des températures nocturnes inférieures ou peu supérieures à 20°.

Les trois premières caractéristiques correspondent effectivement à la saison de forte sensibilité au brunissement, la quatrième beaucoup moins et c'est au contraire en saison des pluies qu'on observe la température nocturne moyenne la plus faible. Les variations de cette dernière sont cependant très faibles : de 20 à 22°.

## APPROCHE BIOCHIMIQUE DU PHÉNOMÈNE

Cette approche a été réalisée par l'analyse des facteurs intervenant classiquement dans les brunissements : acidité titrable libre et totale, acide ascorbique, phénols totaux et orthodiphénols, activité o. diphénoloxydase (P.O.) et peroxydasique (Per Ox) maximale et optimale in situ.

Trois aspects ont été envisagés.

- \* comparaison entre fruits d'un même lot au jour de la coupe et après simulation de transport, en distinguant les zones atteintes des zones saines,
- \* évolution en phase de transport et de commercialisation dans les cas d'une forte et d'une très faible sensibilité au BI,
- relation, au jour de l'observation, entre la composition du fruit et l'intensité du BI.

Dans cette première partie, toutes les analyses ont été effectuées sur jus brut, filtré sur étamine et obtenu par simple broyage, de fruits de même passé agronomique, de même poids et de même maturité.

Plusieurs séries d'essais ont été réalisées ; elles ont donné des résultats concordants et nous ne donnerons chaque fois qu'un exemple précis.

### COMPARAISON ENTRE FRUITS AVANT ET APRES SIMULATION DE TRANSPORT

Après simulation de transport, la comparaison entre fruits sains et fruits bruns est délicate. En effet, dans les conditions de Côte d'Ivoire, il est très difficile de trouver des fruits absolument sans aucune trace de BI à ce stade. D'autre part, on ne sait jamais si un fruit, qui apparaît sain le jour de l'observation, n'est pas susceptible de brunir quelque temps plus tard et n'a donc pas subi les premières modifications biochimiques conduisant au BI.

On ne peut donc considérer à coup sûr comme fruits sains que des fruits n'ayant pas été exposés au froid. Nous avons donc comparé (tableau 21) la composition de fruits d'un même lot avant ou après simulation de transport. Dans chacun des cas, nous avons distingué les régions brunes ou susceptibles de brunir (zone 1) et les régions où le brunissement n'apparaît que dans les cas extrêmes (zone 2).

Les différences entre fruits sains et fruits bruns sont considérables. Nous les aborderons l'une après l'autre.

Acidités titrables.

Les acidités titrables des différentes zones présentent des évolutions intéressantes, conformes aux résultats d'autres auteurs. La zone externe (zone 2) est plus acide que la zone interne et, surtout, il se produit une augmentation très nette de l'acidité titrable libre au cours de la simulation de trans-

TABLEAU 21 - Analyses comparées de fruits d'un même lot avant et après simulation de transport.

	Fruits à la coupe		Fruits bruns	
	Zone 1	Zone 2	Zone 1	Zone 2
acidité titrable libre méq/100 ml	4,5	5,6	9,1	9,9
acidité titrable totale méq/100 ml	7,6	9,1	12,6	13,6
acidité titrable liée méq/100 ml	3,1	3,5	3,5	3,7
acide ascorbique $\mu$ M	170	161	48	91
potentiel Red Ox mV	+ 13	+ 11	+ 300	+ 29
phénols totaux $\mu$ g/ml	218	228	235	273
orthodiphénols $\mu$ g/ml	23	80	124	201
protéines mg/ml	4,3	4,8	4,7	4,9
activité Per Ox $\Delta$ D.O./mn/mg prot.	5,02	3,80	5,27	3,95
activité P.O. $\Delta$ D.O./30 mn/mg prot.	0	0	0,356	0,150

port. L'acidité titrable liée - acidité totale moins acidité libre - varie très peu.

#### Acide ascorbique.

Les variations de l'acide ascorbique confirment bien les résultats de MILLER et al. (1951, 1952 et 1953) et montrent une disparition importante dans les fruits bruns dans leur ensemble et surtout au niveau des zones brunes.

#### Potentiel d'oxydoréduction.

Il augmente très nettement dans les parties brunes, qui sont donc à un niveau d'oxydation plus important que la normale.

#### Composés phénoliques.

Les variations des phénols totaux sont assez faibles. Par contre, les orthodiphénols sont beaucoup plus abondants dans les fruits bruns. En général, à l'intérieur de ceux-ci, ce sont les zones restées saines qui sont les plus riches et souvent de manière beaucoup plus nette que dans l'exemple cité.

#### Protéines.

Aucun changement net n'est mis en évidence ; les teneurs en protéines trouvées concordent bien avec les résultats de ELMER HANSEN (1970).

#### Activité Per Ox.

Bien que les teneurs en protéines soient comparables, la zone brune et celle qui lui correspond dans le fruit frais présentent une activité Per Ox plus importante que dans le reste du fruit. Cette différence s'explique par la localisation des peroxydases, plus abondantes au niveau des vaisseaux, particulièrement nombreux dans cette zone proche du cylindre central.

Aucune variation ne semble avoir lieu en fonction du brunissement.

#### Activité P.O.

L'apparition d'une activité de type P.O. dans les fruits bruns est, sans doute, la différence la plus importante à considérer entre ces fruits et les fruits sains. Cette activité se retrouve surtout dans les zones brunes. L'activité plus faible observée dans les parties saines des mêmes fruits peut n'être due qu'à l'impossibilité de séparer très exactement, à l'échantillonnage, les tissus des deux zones. Si nos résultats confirment donc, sur fruits frais, ceux de WATTS et GRISWOLD (1953) quant à l'inexistence d'activité P.O. dans l'ananas, il n'en est pas de même sur fruits bruns et cette différence est absolument remarquable.

Il faut souligner cependant que cette activité de type P.O. reste très faible. Nous l'avons trouvée environ 20 à 50 fois inférieure à celle d'un extrait de pomme préparé dans les mêmes conditions et, en moyenne 10 fois plus faible que l'activité Per Ox du même jus sur le même substrat (DL Dopa), dans la mesure où ces deux types de réaction sont comparables et produisent des composés à coefficients d'extinction moléculaire voisins (tableau 22).

TABLEAU 22 - Comparaison des activités P.O. et Per Ox

numéro jus	P.O. en p. 100 de Per Ox
1	25
2	9
3	10
4	8
5	3
6	2
moyenne	9,5

#### Cas des fruits conservés en atmosphère confinée.

La composition des fruits issus du même lot que précédemment, mais conservés pendant le stockage à 20° en atmosphère confinée et donc absolument indemnes de BI, est mentionnée dans le tableau 23.



TABLEAU 23 - Analyses, après simulation de transport, de fruits identiques à ceux du tableau 21, mais conservés en atmosphère confinée.

	zone 1	zone 2
acidité titrable libre méq/100 ml	6,9	8,2
acidité titrable totale méq/100 ml	10,5	12,7
acide ascorbique $\mu\text{M}$	163	150
phénols totaux $\mu\text{g/ml}$	261	285
orthodiphénols $\mu\text{g/ml}$	47,1	104
protéines mg/ml	4,5	5,5
activité Per Ox $\Delta\text{D.O./mn/mg prot.}$	5,20	4,05
activité P.O. $\Delta\text{D.O./30 mn/mg prot.}$	0	0

Par rapport aux fruits atteints de brunissement, on remarque :

- l'acidité titrable, libre ou totale, est beaucoup plus faible, la diminution qui a lieu à 20° après l'augmentation au froid a donc été plus importante. Ce résultat ne concorde pas avec ce qui a été trouvé par ailleurs sur la pomme (HANSEN, 1966).

- l'acide ascorbique reste pratiquement au même niveau qu'à la récolte,

- les phénols totaux semblent augmenter un peu plus que dans les fruits bruns, mais la synthèse d'ortho-diphénols, bien qu'elle ait lieu également, est plus faible,

- l'activité P.O. reste nulle, même *in vitro*.

L'inhibition du brunissement par une telle technique n'est donc pas due à l'inhibition de l'activité P.O. *in vivo* par suppression de l'appauvrissement en oxygène, mais à l'absence même des enzymes responsables de cette activité.

#### EVOLUTION DES COMPOSES DU FRUIT AU COURS DU TRANSPORT ET DE LA COMMERCIALISATION

Un ensemble de fruits, récoltés le même jour et les plus semblables possibles quant à leur poids et leur coloration extérieure, est divisé en plusieurs lots. Chacun d'eux, constitué de douze fruits, subit une simulation de transport classique, jusqu'à ce qu'il soit échantillonné en regroupant les fruits deux par deux aux jours suivants :

- J = juste avant la mise à 8°
- J plus 5 = après 5 jours de séjour à 8°
- J plus 10 = après 10 jours de séjour à 8°, date de sortie de chambre froide et de mise à 20°
- J plus 10 plus 4 = après 10 jours de séjour à 8° et 4 jours à 20°, date où les premiers symptômes sont visibles
- J plus 10 plus 8 = après 10 jours de séjour à 8° et 8 jours à 20°, date d'observation des fruits.

Les résultats des dosages portent sur le jus de l'ensemble d'un fruit, la distinction entre zones 1 et 2 n'ayant pas été faite dans ce cas.

Nous ne mentionnerons ici, parmi les sept essais de ce

type réalisés, que les deux plus caractéristiques, l'un avec des fruits de Martinique qui ne présentent qu'exceptionnellement du brunissement, l'autre avec des fruits de Côte d'Ivoire en période de très grande sensibilité au BI.

#### Acidité titrable.

Les fruits martiniquais, peu sensibles au BI, se distinguent nettement des fruits ivoiriens par leur grande acidité libre, l'acidité liée étant semblable dans les deux cas et voisine de 3 méq/100 ml (figure 19).

Acidités libre et totale suivent à peu près la même évolution ; il semble cependant que la seconde augmente plus que la première. En fin de transport, une part plus importante de cations se retrouve donc sous forme de sels organiques.

L'évolution est comparable dans les deux types de fruits. A 8° se produit une augmentation de l'acidité libre, puis, à la remise à 20°, une diminution plus ou moins sensible. Ces deux modifications sont plus nettes dans le cas des fruits les plus acides. L'augmentation de l'acidité au froid, dans l'ananas, avait déjà été observée par de nombreux auteurs (SINGLETON, 1957 et 1959, HUET et TISSEAU, 1959). Cette évolution, tout à fait remarquable dans un fruit coupé, ne se retrouve guère que dans la banane (ULRICH, 1970). Elle montre, de manière définitive, que, dans l'ananas, le fruit est capable de synthétiser lui-même les acides organiques, ce qui est assez inhabituel (ULRICH, 1970), sauf dans le cas des Citrus (TING et ATTAWAY, 1971).

Donc, dans un fruit d'ananas récolté et mis à basse température, alors que la maturation est complètement bloquée, la synthèse des acides organiques l'emporte sur leur consommation. Celle-ci doit être assez faible puisque, d'une part, la respiration des fruits est fortement ralentie à 8° et que, d'autre part, on sait depuis longtemps (GENEVOIS, 1938) que la part de respiration due aux acides organiques diminue avec la température, surtout dans le cas de l'acide citrique dont la consommation demande des températures supérieures à celles des acides malique et tartrique (ULRICH, 1952).

La diminution d'acidité titrable, après la mise à 20°, est un phénomène tout à fait classique au cours de la maturation des fruits. Malgré celle-ci, l'acidité totale, le jour de l'observation, est bien souvent supérieure à celle du jour de la récolte.

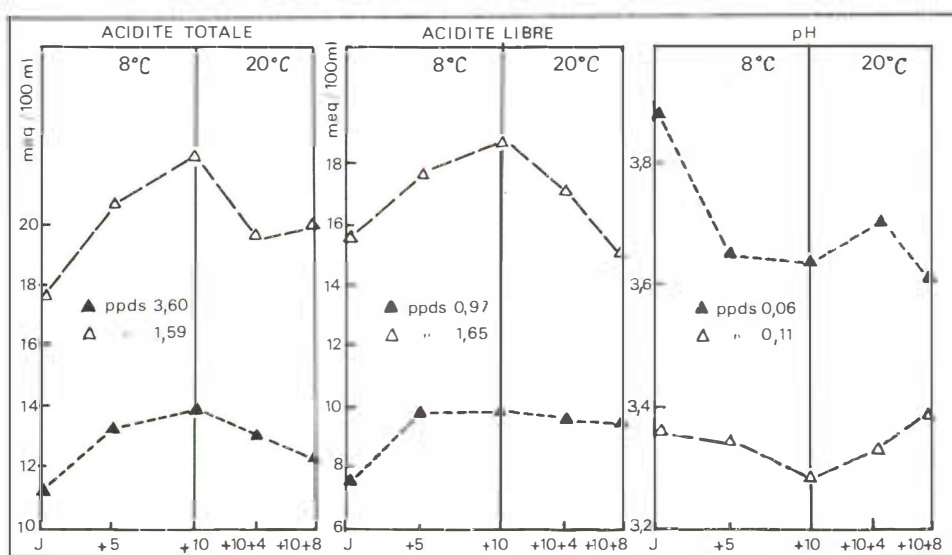


Figure 19 - Evolution de l'acidité et du pH. Différences entre les deux lots de fruits à la coupe significatives à 1 p. 100 pour les trois caractères (▲ fruits sensibles au B.I. - △ fruits peu sensibles au B.I.).

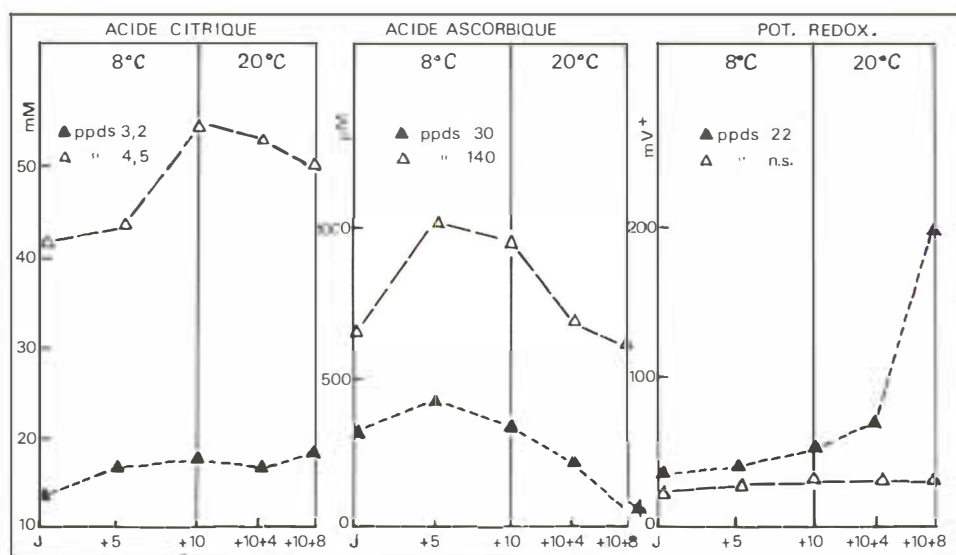


Figure 20 - Evolution des acides ascorbique et citrique et du potentiel redox. Différences entre les deux lots de fruits à la coupe significatives à 1 p. 100 pour l'acide ascorbique et citrique, non significatives pour le pot. redox. (▲ fruits sensibles au B.I. - △ fruits peu sensibles au B.I.).

Les variations du pH traduisent fidèlement celles de l'acidité titrable. Elles sont assez importantes pour un milieu ordinairement aussi bien tamponné qu'un jus de fruit. La diminution du pH observée, nettement plus intense dans les fruits sensibles au BI, ne devrait pas faciliter les activités Per Ox et P.O., qui ont un optimum de pH beaucoup plus élevé.

Pouvoir tampon.

Il n'a été étudié que dans le cas de fruits sensibles au BI. Le pouvoir tampon «relatif» diminue de manière significative - de 0,49 à 0,46, pendant la mise au froid, puis de 0,46 à 0,44 à 20°. L'acide citrique (pK = 3,14) prend donc une part de plus en plus importante par rapport à l'acide malique (pK = 3,40).

**Acide citrique.**

A basse température, son augmentation correspond très bien à celle de l'acidité titrable (figure 20). A 20°, les variations correspondent beaucoup moins bien. Il est donc confirmé que la synthèse à 8° concerne essentiellement l'acide citrique et la consommation à 20° l'acide malique, comme le laissent supposer les variations du pouvoir tampon relatif.

**Acide ascorbique.**

Entre les deux types de fruits, on retrouve la même différence et les mêmes sens de variation que pour l'acidité titrable (figure 20). Les fruits peu sensibles sont plus de deux fois plus riches que les autres au jour de la coupe et l'augmentation dont ils sont le siège, au cours des cinq premiers jours de mise au froid, est plus importante. Cette augmentation de l'acide ascorbique a déjà été observée dans l'ananas par SINGLETON (1957 et 1959) ainsi que dans la mangue par THOMAS (1975) et dans la banane. ULRICH et DELAPORTE (1970) l'ont également notée sur agrumes ou cassis, mais après des temps de conservation beaucoup plus longs.

Dans la deuxième partie de la mise au froid, s'amorce une diminution qui s'accélère par la suite à 20°. Dans les deux types de fruits, elle correspond à une même diminution quantitative - 300 à 400 µM -. Par suite de la différence à la coupe et de l'augmentation beaucoup plus faible au froid, les fruits sensibles au BI se retrouvent à un niveau pratiquement nul, alors que les autres sont assez proches de leur teneur initiale.

**Potentiel d'oxydoréduction.**

Les deux types de fruits se comportent assez différemment, bien qu'à des niveaux voisins à la coupe. Si, dans les fruits sans brunissement, le potentiel d'oxydoréduction reste remarquablement constant, dans les autres, il augmente très nettement après mise à 20° (figure 20).

**Protéines.**

Dans les fruits sensibles, les protéines dosées dans le jus augmentent sensiblement les quatre derniers jours avant l'observation (figure 21). Si la synthèse protéique, à l'approche de la maturité et de la sénescence, est un phénomène assez général (ELMER HANSEN, 1970 ; RHODES, 1970) dans les fruits sur pied, elle peut paraître surprenante dans un fruit coupé. Nos dosages étant effectués sur un jus simple, l'augmentation observée peut donc correspondre aussi à une solubilisation des protéines membranaires, consécutive ou non à des dégradations de structures cellulaires. Elle peut également être due à une interférence avec les phénols qui subissent, nous le verrons, des modifications.

**Phénols totaux.**

L'évolution des phénols totaux n'est pas très nette et la tendance à l'augmentation observée n'est significative que

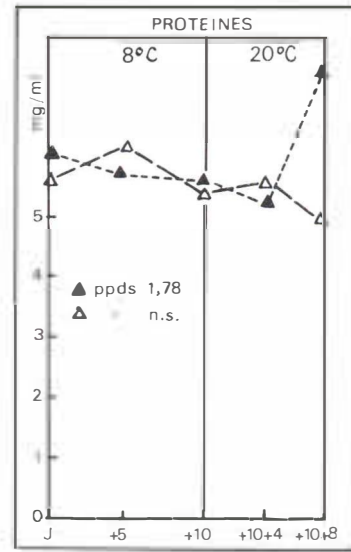


Figure 21 - Evolution des protéines. Différences non significatives entre les deux lots de fruits à la coupe (▲ fruits sensibles au B.I. - △ fruits peu sensibles au B.I.).

dans les fruits ivoiriens qui contiennent sensiblement plus de composés phénoliques (figure 22).

Dans ces fruits, les variations des spectres, dans l'UV, des extraits hydroalcooliques, sont très intéressantes à considérer (figure 23). Pendant toute la durée du transport, il n'y a aucune modification qualitative du spectre, qui présente un maximum vers 280 nm. Quatre jours après la remise à 20°,

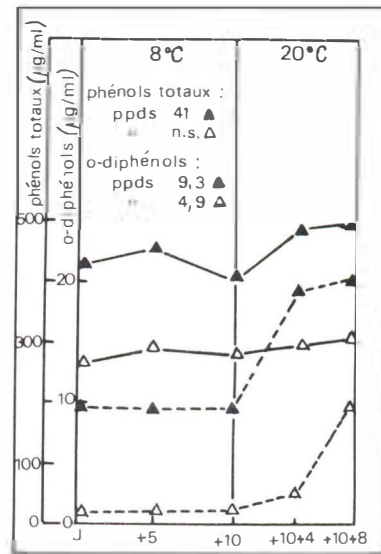


Figure 22 - Evolution des composés phénoliques Fruits sensibles (▲) ou peu sensibles (△) au B.I. Différences entre les deux lots de fruits à la coupe significatives à 1 p. 100 pour les o-diphénols (---), non significatives pour les phénols totaux (—).

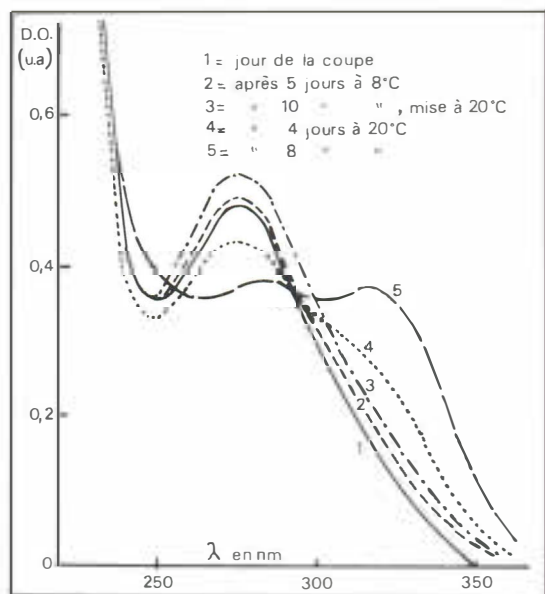


Figure 23 - Evolution en cours de transport. Spectre UV. (extrait hydroalcoolique 100 µl/ 3 ml alcool à 80 p. 100).

l'absorption à 280 nm diminue sensiblement et il apparaît un épaulement très net vers 310-320 nm qui, quelques jours plus tard, devient le maximum d'absorption, alors que celui à 280 nm a encore diminué et semble subir un léger déplacement vers les longueurs d'onde supérieures.

Il y a donc en fait une modification importante des phénols, indécidable par le dosage chimique global.

**Orthodiphénols.**

Dès le jour de la coupe, les deux types de fruits se différencient nettement : les fruits ivoiriens, avec 10 µg/ml, sont cinq fois plus riches que les fruits martiniquais (figure 22). Dans tous les cas, à 8°0, on observe une stabilité parfaite, alors qu'à 20°0 se produit une synthèse très importante. Celle-ci, cependant, est très différente dans les deux cas. Dans les ananas qui ne présentent pas de BI, elle est assez tardive et n'aboutit, en fin d'expérience, qu'à un niveau comparable à celui des fruits sensibles à la coupe. Dans ces derniers, la synthèse d'orthodiphénols est beaucoup plus rapide. Elle est suivie par un ralentissement net, qui pourrait correspondre à une forte consommation. En fin de simulation de transport, on observe de très grandes variations d'un fruit à l'autre ; nous reviendrons plus loin sur ce résultat.

**Activité Per Ox.**

Aucune variation nette de cette activité enzymatique ne peut être mise en évidence en employant le gaïacol comme substrat. Les fruits peu sensibles semblent avoir une activité spécifique légèrement plus faible, mais la différence entre les deux types de fruits n'est pas significative (figure 24).

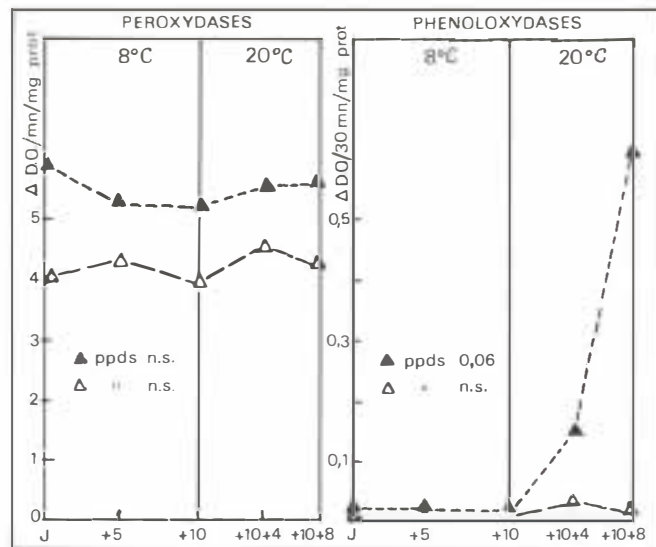


Figure 24 - Evolution des activités enzymatiques. Fruits sensibles (▲) ou peu sensibles (Δ) au B.I. Différences entre les deux lots de fruits à la coupe non significatives.

**Activité P.O.**

Elle est nulle ou pratiquement nulle au moment de la coupe et pendant toute la conservation à 8°0 (figure 24). Elle n'apparaît pratiquement que dans les fruits sensibles et après la remontée en température, pendant laquelle elle augmente avec le temps. Ce caractère s'expliquerait mal par la simple activation d'une enzyme latente, à la suite d'une baisse de pH, comme pour les extraits de vesce (6 à 3) et de raisin (7,2 à 5) (KENTEN, 1957 ; LERNER et al., 1972), puisque celui-ci est minimum à la fin du traitement à 8°0, moment où l'activité P.O. est encore indosable. Des traces très faibles d'activité peuvent être décelées en fin d'expérience sur des fruits indemnes de BI.

**Activité Per Ox optimale in situ.**

La figure 25 indique les variations des principales caractéristiques de cette activité.

Dans les fruits sensibles, la réaction, après la mise à 20°0, passe progressivement du type frais au type fruit à BI : le «temps 0» diminue rapidement pour devenir nul et l'augmentation de D.O. devient plus stable, tout en augmentant légèrement en valeur absolue.

Dans les fruits martiniquais, le «temps 0» s'accroît légèrement pendant la mise à 8°0. Nous verrons que cette évolution est due sans doute à l'enrichissement en acide ascorbique observé pendant cette phase. Après mise à 20°0, l'augmentation de D.O. s'accroît, mais reste toujours éphémère.

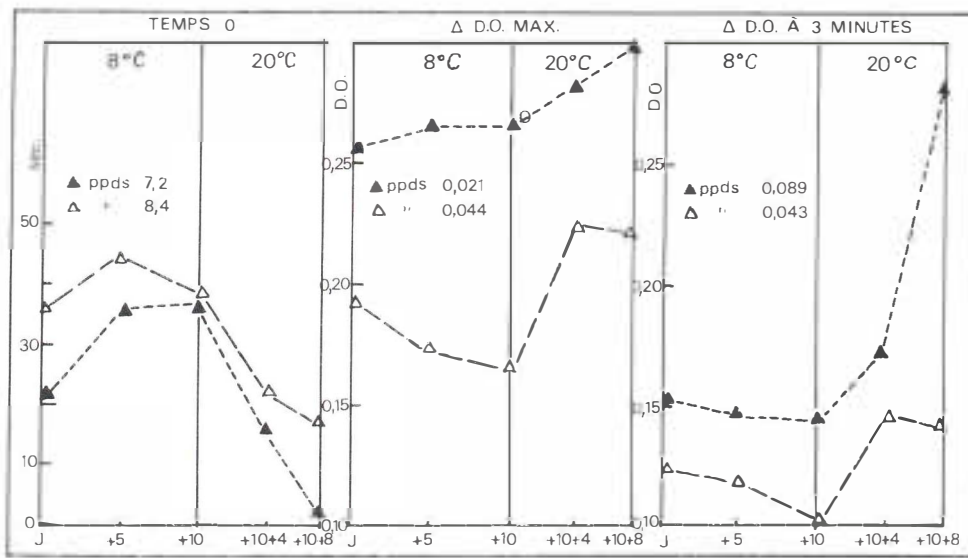


Figure 25 - Evolution des caractéristiques de l'acidité peroxydasique (*in vivo*). Fruits sensibles (▲) ou peu sensibles (△) a u B.I. Différences entre les deux lots de fruits à la coupe significatives à 1 p. 100 pour la D.O. max. et le temps 0, à 5 p. 100 pour la D.O. à 3 mn.

Eléments minéraux.

L'évolution des teneurs en éléments minéraux : N ammoniacal, aminé et total, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn et B ne révèle guère de tendance nette et reproductible. Il ne se dégage, en particulier, aucun changement de répartition entre éléments solubles et éléments liés.

L'azote total du jus, environ 400 mg/l, provient essentiellement des protéines (4 à 6 g/l). Son absence de variation laisse donc supposer que l'augmentation de protéines, observée par le dosage au réactif de Folin, est due à une interférence avec les composés phénoliques et non à une solubilisation des protéines membranaires.

RELATIONS ENTRE INTENSITE DU BI ET CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES DU FRUIT A L'OBSERVATION

Dans ce type d'analyse, les ananas sont regroupés, lors de l'observation, par lots de fruits présentant la même intensité de symptômes. Là encore, il n'est pas question de zones brunes et saines, l'échantillonnage porte sur les fruits entiers. Nous ne mentionnerons que les caractéristiques que nous avons trouvé liées à l'intensité du BI, en ne citant de l'ensemble des analyses effectuées que certains exemples précis.

Les caractéristiques pour lesquelles nous n'avons trouvé aucune corrélation avec l'intensité des symptômes ou qui nous ont amené à des résultats contradictoires : acidité titrable, activité Per Ox, phénols totaux, protéines et éléments minéraux autres que ceux cités, ont été volontairement omis.

Acide ascorbique.

L'acide ascorbique présente, dans les divers essais réalisés, le même type de variations en fonction de l'intensité du BI (figure 26).

Pour une augmentation des symptômes du BI, il y a une diminution brutale, puis une stabilisation à un niveau minimum, quelle que soit par la suite l'importance du BI.

Un tel type d'évolution correspond bien au mécanisme des brunissements enzymatiques.

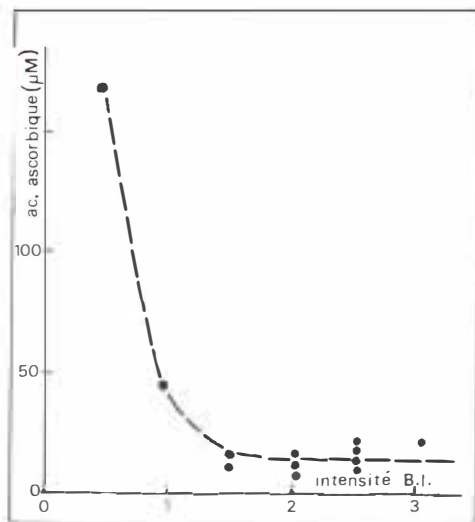


Figure 26 - Intensité du B.I. et teneur en acide ascorbique à l'observation.

La formation des quinones, et donc l'oxydation de l'acide ascorbique intervenant dans la réduction d'une partie d'entre elles, a lieu avant l'apparition des pigments bruns, au cours des premiers stades de développement du BI.

Lorsque tout l'acide ascorbique pouvant intervenir dans cette première phase du phénomène a été oxydé, il se stabilise à un niveau minimum. Les quinones formées ne sont alors plus réduites et peuvent évoluer en composés bruns, indépendamment de la teneur en acide ascorbique.

Le niveau d'acide ascorbique atteint dans l'ensemble du fruit étant parfois très bas, la première phase du mécanisme peut avoir lieu également dans les zones qui restent saines.

Dans une telle cinétique de la dégradation de l'acide ascorbique, il est donc possible, qu'avec un niveau initial légèrement plus élevé, seule la première partie du phénomène ait lieu dans les limites de l'essai. La teneur finale en acide ascorbique peut être alors très faible, bien que les symptômes du BI restent à l'état de traces. C'est ce qui a pu se passer au cours d'un essai dose de potasse où, malgré les teneurs en acide ascorbique à la coupe et une intensité du BI très différentes, les teneurs finales en acide ascorbique étaient identiques (tableau 24).

Potentiel d'oxydoréduction.

Bien que les valeurs absolues diffèrent sensiblement d'un lot à l'autre, il existe une relation entre potentiel d'oxydoréduction et niveau de BI, assez nette à l'intérieur des fruits issus d'un même lot (tableau 25).

A l'inverse de ce que l'on constate sur l'acide ascorbique, la relation avec l'intensité du BI est continue : une fois que tout l'acide ascorbique pouvant réagir a été consommé, les

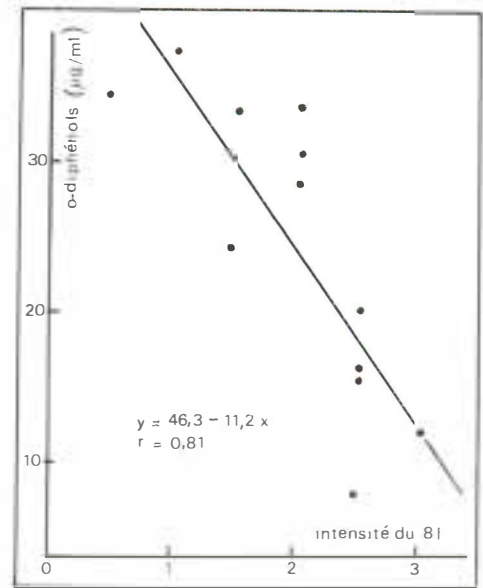


Figure 27 - Corrélation entre intensité du B.I. et o-diphénols à l'observation.

étapes ultérieures de la chaîne d'oxydation s'instaurent et les degrés de brunissement correspondent à une oxydation de plus en plus intense.

Orthodiphénols.

Dans certains essais, il se dessine très nettement une relation inverse entre l'intensité du BI et la teneur en orthodiphénols (figure 27). Celle-ci, dans les stades les plus avancés, est ramenée ainsi à un niveau proche de celui des fruits frais.

TABLEAU 24 - Teneurs en acide ascorbique à la récolte et à l'observation dans un essai dose de potasse.

Dose de potasse en g/plant	Intensité du BI	Acide ascorbique en µM	
		à la récolte	à l'observation
2	2,0	229	23
10	1,1	249	43
18	0,6	408	41

TABLEAU 25 - Intensité du BI et potentiel d'oxydoréduction au jour de l'observation

Intensité du BI	Potentiel d'oxydoréduction en mv <sup>+</sup> mesuré à 19°C				
	0	0,5	1	1,5-2	2,5-3
N° du lot 1	-	67	162	196	245
2	117	103	198	246	-
3	83	184	181	270	-
4	-	55	89	-	-
5	-	25	-	-	170
6	-	123	162	218	-

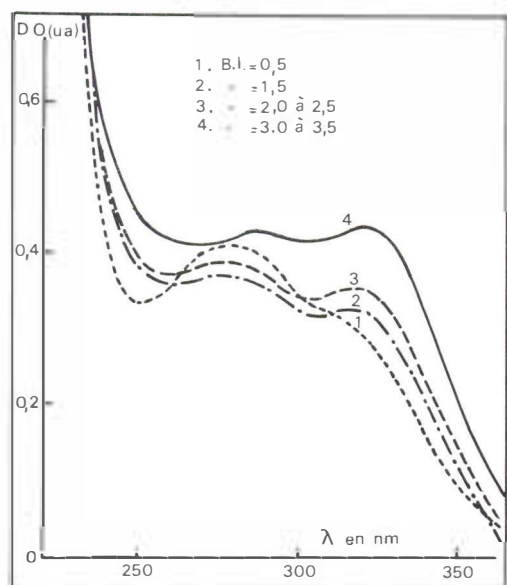


Figure 28 - Spectre UV suivant l'intensité du B.I. (extrait hydroalcoolique 100 µl/3 ml alcool à 80 p. 100).

Ce résultat, conjugué avec la plus grande richesse de zones restées saines et le plateau observé après l'augmentation brutale dès la remise à 20°, tend bien à confirmer que la synthèse ou la libération d'orthodiphénols est suivie d'une consommation lorsque le brunissement se développe.

Dans quelques essais, cependant, il existe une corrélation positive entre intensité des symptômes et teneur en orthodiphénols ; il est possible que, dans ce cas, ce soit le taux de synthèse qui soit limitant pour l'apparition des premiers symptômes.

D'autres synthèses d'orthodiphénols et, en particulier d'acide chlorogénique, induites par le froid, ont été mises en évidence dans la patate douce (LIEBERMAN et al., 1958), la poire (WANG et MELLENTHIN, 1973) et dans la carotte (SUBODH et al., 1973) où l'éthylène joue également un rôle.

Spectre U.V.

Les résultats sont assez variables, suivant les séries observées. Cependant, le pic d'absorption vers 280 nm est, en général, d'autant moins intense que le BI est fort, alors que c'est l'inverse pour celui vers 318 nm (figure 28). Ces deux caractéristiques ne sont pas toujours simultanées, mais une des deux au moins est toujours vérifiée.

Le BI s'accompagne donc de la disparition du ou des composés phénoliques absorbants vers 280 nm et de l'enrichissement en composés absorbants vers 318 nm.

Le rapport  $\frac{D.O. 318}{D.O. 280}$  pourrait ainsi être utilisé pour chiffrer l'intensité du BI.

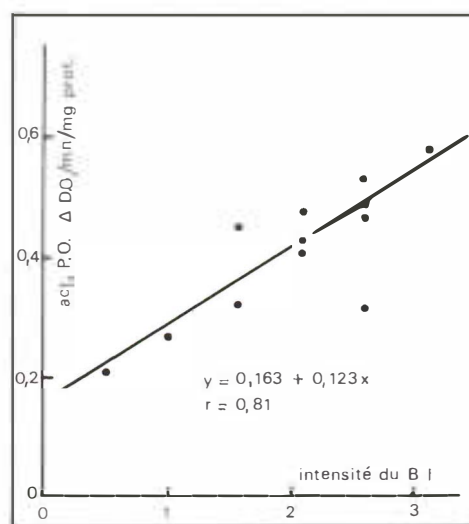


Figure 29 - Corrélation entre intensité du B.I. et activité P.O. à l'observation.

Activité P.O.

Il existe une corrélation positive très nette entre l'activité P.O. *in vitro* sur la DL Dopa et l'intensité du BI (figure 29).

Etant donné la faiblesse de cette activité, c'est vraisemblablement elle le facteur limitant essentiel du mécanisme *in vivo*.

Activité Per Ox optimale *in situ*.

Il existe aussi une très bonne corrélation entre le BI et cette activité mesurée par l'augmentation de D.O. maximale (figure 30), alors qu'il n'en existe aucune entre le BI et l'activité Per Ox avec gaiacol.

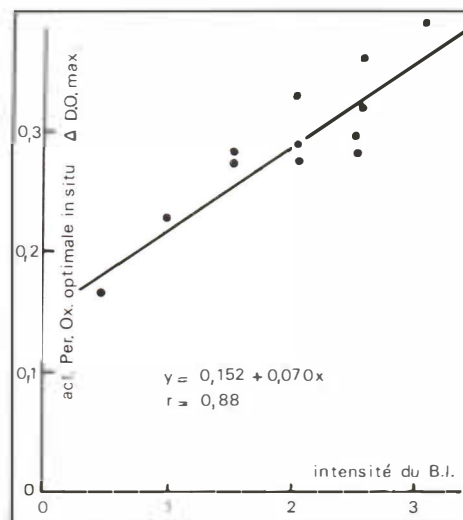


Figure 30 - Corrélation entre intensité du B.I. et activité Per. Ox. optimale «*in situ*».

Les peroxydases étant abondantes dans l'ananas, l'activité Per Ox *in situ* doit dépendre essentiellement de la teneur en substrats, effecteurs ou inhibiteurs. Au moins un de ces trois facteurs serait donc en liaison directe avec le BI.

#### Éléments minéraux du jus.

Une relation négative semble se dégager parfois entre BI et teneur en azote ammoniacal (tableau 26). La différence entre les niveaux absolus, selon les lots, montre qu'il ne s'agit pas d'une cause de BI, mais d'une conséquence de son mécanisme : c'est le degré de décroissance du taux d'azote ammoniacal, entre la récolte et la fin d'évolution, qui est accentué par le degré de BI.

L'azote total et l'azote aminé libre ne semblent pas affectés par le niveau de BI.

Le potassium a assez souvent tendance à décroître quand le BI augmente (tableau 27). Nous verrons que la nutrition potassique a généralement pour effet d'augmenter l'acidité, qui est globalement liée à une diminution de sensibilité.

En revanche, le calcium est plus régulièrement croissant avec l'intensité du BI (tableau 28).

Avec le fer et le manganèse, des relations assez lâches paraissent se manifester dans certains cas. En fait, c'est plutôt le rapport Fe/Mn qui pourrait alors jouer (tableau 29), comme c'est déjà le cas pour l'expression des symptô-

TABLEAU 26 - Intensité du BI et teneur en azote ammoniacal au jour de l'observation.

Intensité du BI	Azote en mg/l						
	fruits frais	0	0,5	1	1,5-2	2,5-3	4
lot 1	60	59	-	55	51	49	-
lot 2	72	-	-	62	61	56	49
lot 3	34	36	35	34	32	-	-

TABLEAU 27 - Intensité du BI et teneur en potassium au jour de l'observation.

Intensité du BI	Potassium en mg/l					
	0	0,5	1	1,5-2	2,5-3	4
Lot 1	1346	-	1322	1299	1282	-
Lot 2	-	-	1360	1560	1180	1200
Lot 3	-	1445	1520	1357	1323	-
Lot 4	1530	1560	1370	1310	-	-

TABLEAU 28 - Intensité du BI et teneur en calcium au jour de l'observation.

Intensité du BI	Calcium en mg/l					
	0	0,5	1	1,5-2	2,5-3	4
Lot 1	63	-	67	63	74	-
Lot 2	-	57	53	66	68	-
Lot 3	30	36	50	49	-	-
Lot 4	33	32	42	41	-	-

TABLEAU 29 - Intensité du BI et rapport Fe/Mn au jour de l'observation.

Intensité du BI	Fe/Mn					
	0	0,5	1	1,5-2	2,5-3	4
Lot 1	0,61	-	0,67	0,49	0,50	-
Lot 2	-	-	1,00	0,77	0,95	0,80
Lot 3	-	0,54	0,40	0,40	0,42	-
Lot 4	1,38	0,84	0,78	0,65	-	-



mes de carence en l'un ou l'autre élément dans la feuille D (MARCHAL, 1971). Le BI serait, dans l'ensemble, mieux lié à la diminution de ce rapport qu'aux variations de ses deux constituants.

### CONCLUSION

Cette approche biochimique a permis de cerner de manière assez précise le phénomène du BI de l'ananas, qui semble faire intervenir tous les facteurs classiques du brunissement des fruits. Les variations qui se produisent pendant les phases de transport et de commercialisation sont qualitativement les mêmes dans les fruits avec ou sans BI. Cette mise en évidence et l'observation possible du BI en tout lieu et à toute époque laissent supposer que ce phénomène est un phénomène inéluctable pour des ananas conservés au froid. Seules l'intensité et la rapidité des réactions impliquées varient d'un cas à l'autre. Dans les conditions actuelles de culture, il n'y a pas d'ananas sensibles et d'autres insensibles, mais seulement des fruits plus ou moins sensibles.

Bien que la mise au froid soit indispensable pour l'induction du BI, la seule modification observée pendant cette phase est une augmentation de l'acidité titrable, difficile, dans l'état actuel de nos connaissances, à relier directement au mécanisme du brunissement, et une augmentation de l'acide ascorbique d'intensité très différente suivant la sensibilité des fruits.

Pendant la conservation à 20°, les trois éléments qui varient le plus - acide ascorbique, o.diphénols et activité phénoloxydasique - rattachent directement le BI de l'ananas à celui des autres fruits.

L'acide ascorbique disparaît dans tout le fruit, mais surtout dans les zones brunes. La cinétique de sa disparition en fonction de l'évolution des symptômes correspond bien à son rôle théorique, tel qu'il est connu par ailleurs. On ne sait pas cependant s'il intervient aussi une activité ascorbate oxydase précédant toutes les autres étapes ou si l'oxydation de l'acide ascorbique ne se fait qu'à travers celle des phénols.

Les o. diphénols sont activement synthétisés dans tout le fruit et cette synthèse semble précéder l'apparition des symptômes. Ils peuvent donc représenter un substrat important pour le brunissement, comme le laisse supposer la plus grande richesse des zones épargnées par le brunissement et l'arrêt de l'augmentation de la teneur général du fruit en fin de phase de commercialisation. Une étude spéciale a été entreprise pour préciser les variations observées.

L'apparition de l'activité P.O. pendant la phase de commercialisation est sans doute le phénomène le plus original du BI. Des analyses répétées de fruits à la coupe ont montré que certains fruits pouvaient présenter, dès ce moment là, une très légère activité de ce type. Il en est de même, nous l'avons vu, pour les ananas de Martinique restant sains. Il ne

s'agirait donc pas d'une modification qualitative dans l'absolu, mais plutôt d'une considérable modification quantitative : l'activité P.O. passe d'un niveau pratiquement indosable à un niveau dosable mais, rappelons-le, faible par rapport à d'autres fruits. L'origine exacte de cette activité, jamais signalée dans l'ananas, pose donc un problème.

Cette activité oxydasique peut provenir :

- d'une véritable phénoloxydase qui serait, soit désinhibée au sens large par suppression d'un inhibiteur ou apparition d'un cofacteur indispensable, soit synthétisée après mise au froid. De tels phénomènes sont fréquents, par exemple dans les poires (LEBLOND, 1975), qui ne mûrissent qu'après avoir subi une certaine période de basse température.

- de la peroxydase déjà présente dans le fruit à la coupe et qui peut fonctionner soit de la manière classique, soit comme une oxydase du type AIA oxydase. Dans le premier cas, il faut admettre la formation, dans le fruit, de peroxyde qui serait le facteur déclenchant le BI. Le second type de réaction, beaucoup plus complexe, peut être dû à une modification structurale de l'enzyme, l'apparition de nouvelles isoenzymes ou celle d'un cofacteur phénolique favorable à ce type de réaction.

Les modifications quantitatives et qualitatives des Per Ox et des AIA oxydases par le froid sont très connues (MAC GOWN et al., 1969 b ; ROBERTS, 1967 ; BOLDUC et al., 1970 ; KACPERSKA et al., 1974 ; TAO et KHAN, 1976). Elles se traduisent en général par des augmentations d'activité. Un tel phénomène est donc tout à fait possible dans notre cas.

La détermination de l'origine exacte de cette activité a donc constitué la suite logique de nos travaux. Les résultats détaillés seront publiés ultérieurement, mais nous les résumons très succinctement.

Le brunissement interne de l'ananas présente une grande originalité par rapport à celui des autres fruits : il est bien provoqué par l'oxydation de composés phénoliques, mais celle-ci n'est pas due à l'activité des phénoloxydases classiques, mais à l'activité oxydasique de certaines peroxydases, qui augmentent dans les fruits bruns.

Cette étude enzymatique a également confirmé l'importance de la teneur initiale du fruit en acide ascorbique, qui est bien un inhibiteur des activités enzymatiques intervenant et donc un frein naturel à l'apparition des symptômes du brunissement interne.

Par ailleurs, dans le même cadre de travail, un autre chercheur a entrepris une étude détaillée des dérivés hydroxycinnamiques de l'ananas et de leur variation au cours du brunissement, éclairant ainsi toute une autre face de ce problème (DIEUDONNÉ, 1977).