

Extraction et dosage de l'acide-1-amino-cyclopropane-1-carboxylique, précurseur de l'éthylène, dans la pomme Golden delicious.

Mise en évidence de gradients.

R. MANSOUR, A. LATCHÉ et J.C. PECH*

EXTRACTION ET DOSAGE
DE L'ACIDE-1-AMINO-CYCLOPROPANE-1-CARBOXYLIQUE,
PRECURSEUR DE L'ETHYLENE, DANS LA POMME
GOLDEN DELICIOUS.
MISE EN EVIDENCE DE GRADIENTS.

R. MANSOUR, A. LATCHÉ et J.C. PECH

Fruits, dec. 1982, vol. 37, n° 12, p. 785-791.

RESUME - Les conditions de détermination de la teneur en acide-1-amino-cyclopropane-1-carboxylique (ACC) libre et lié, ont été définies chez la pomme Golden delicious en comparant l'efficacité de méthodes d'extraction à l'acide sulfosalicylique et à l'éthanol. L'utilisation de l'éthanol à 70° permet les meilleurs rendements de conversion chimique de l'ACC en éthylène (72 à 88 p. 100 contre 40 p. 100 environ pour l'extrait obtenu par l'acide sulfosalicylique). L'extraction à l'éthanol à chaud sans purification de l'extrait donne les valeurs les plus élevées et n'entraîne pas d'hydrolyse des formes liées de l'ACC.

Les teneurs en ACC libre dans des fruits mis à mûrir à 25°C sont élevées avant le maximum climactérique puis diminuent rapidement. Une légère augmentation est observée en fin de maturation.

L'existence de gradients d'ACC libre est démontrée dans cinq zones tout au long de la période climactérique. La zone médiane interne de la pulpe est toujours la plus riche alors que la zone calicinale de la pulpe est toujours la plus pauvre.

Les teneurs en ACC conjugué s'accroissent sensiblement au cours de la maturation. La pelure devient la zone la plus riche en ACC lié avec des teneurs voisines de 600 nmoles/g de matière sèche.

INTRODUCTION

L'éthylène (C₂H₄), le plus simple composé carboné insaturé, est un composé gazeux reconnu depuis longtemps comme une hormone végétale, jouant un rôle important dans la maturation des fruits (PRATT, 1974 ; LIEBERMANN, 1979, ...). Depuis peu, la voie de biosynthèse de

cette substance a été entièrement élucidée grâce à la découverte simultanée par ADAMS et YANG (1979) et par LÜRSEN et al. (1979) du précurseur immédiat de l'éthylène, l'acide 1-amino-cyclopropane-1-carboxylique (ACC).

Ce composé est par ailleurs présent dans les tissus végétaux sous forme de malonyl-ACC (AMRHEIN et al., 1981 ; HOFFMANN et YANG, 1982). Ces travaux ont ouvert de nouvelles voies de recherche sur la régulation de la chaîne de biosynthèse incluant les effets d'inhibiteurs et d'activateurs et la recherche des enzymes impliquées (YANG, 1980).

* - Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse.
145, avenue de Muret - 31076 TOULOUSE Cedex.

Au cours de ces études, deux méthodes de dosage de l'ACC ont été proposées faisant appel à une conversion chimique de cette substance en éthylène et à un dosage de ce dernier par chromatographie en phase gazeuse. Celle proposée par LIZADA et YANG (1979) s'est avérée nettement plus efficace et plus fiable que celle mise au point par BOLLER et al. (1979). En ce qui concerne l'extraction, les solvants utilisés sont soit l'acide sulfosalicylique (LIZADA et YANG, 1979), soit l'éthanol (APELBAUM et YANG, 1981) avec ou sans purification de l'extrait sur résines échangeuses d'ions. Les rendements de conversion de l'ACC en éthylène mentionnés dans ces diverses conditions d'extraction étant très variables, nous avons entrepris de rechercher le mode opératoire le plus efficace pour l'extraction et le dosage de l'ACC dans la pomme Golden Delicious.

La méthode retenue a été ensuite appliquée à la détermination des niveaux d'ACC libre et conjugué à l'acide malonique dans différentes zones du fruit afin de rechercher si la prédisposition de certaines de ces zones à mûrir plus ou moins rapidement ou à manifester préférentiellement des troubles physiologiques pouvait s'expliquer par des gradients d'ACC.

MATERIEL ET METHODES

Matériel.

Les pommes Golden delicious ont été récoltées le 30 septembre et ont été conservées 30 jours à 0°C dans l'air. Par la suite, les fruits destinés à l'expérimentation sont placés dans une enceinte de maturation à 25°C dans l'air.

Pour les analyses, des lots homogènes de 5 pommes sont prélevés à 4 différents stades de la crise éthylénique (figure 1). Chaque fruit est découpé en 5 parties comme le montre la figure 3.

Méthodes.

- Dosage de l'éthylène interne : l'éthylène interne est prélevé selon la technique décrite par SFAKIOTAKIS et DILLEY (1973) et est mesuré par chromatographie en phase gazeuse. Cette méthode permet d'estimer avec une grande précision des teneurs en éthylène de l'ordre de 0,01 nmoles contenues dans 1 ml de gaz.

- Extraction de l'ACC : l'ACC est extrait des tissus de fruits lyophilisés selon les deux protocoles suivants :

1. Extraction selon la méthode de LIZADA et YANG (1979). Cinq cents milligrammes de pulpe (ou de pelure) sont broyés dans de l'azote liquide puis homogénéisés dans 15 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique à 5 p. 100. Après centrifugation (12 000 g - 15 mn) et filtration sur laine de verre, 10 ml de surnageant sont passés sur une colonne (1,2 x 10 cm) de résines échangeuses d'ions (DOWEX 50, H⁺). Les acides aminés sont élués par 10 ml de NH₄OH 2 N et 10 ml d'eau. L'éluat ainsi récolté est

concentré environ trois fois sous vide à 38°C et constitue l'extrait destiné au dosage de l'ACC.

2. Extraction d'après la technique de APELBAUM et YANG (1981) modifiée. Cinq cents milligrammes de fruit sont broyés dans de l'azote liquide, additionnés de 15 ml d'éthanol à 70° portés à ébullition à reflux pendant 15 minutes ou agités pendant 16 h à 4°C. Après centrifugation et filtration sur laine de verre, l'alcool est évaporé sous vide à 38°C. Le dosage de l'ACC est effectué directement dans l'extrait non purifié comme dans le cas des travaux de APELBAUM et YANG (1981) ou bien après purification par passage de l'extrait acidifié (pH 3,0) sur une colonne de résines échangeuses d'ions. Les opérations suivantes sont identiques à celles décrites antérieurement.

- Dosage de l'ACC libre : la technique utilisée pour le dosage de l'ACC est celle mise au point par LIZADA et YANG (1979). Le rendement de l'extraction et du dosage de l'ACC est effectué en ajoutant des quantités d'ACC pur (Sigma) à l'extrait végétal.

- Dosage de l'ACC conjugué : après hydrolyse acide (HCl 6N à 120°C pendant 25 minutes) l'ACC libéré est estimé comme précédemment. Les quantités d'ACC conjugué sont obtenues par différence entre ACC total et ACC libre.

RESULTATS

Etude du rendement de conversion de l'ACC en éthylène dans différentes conditions d'extraction.

Les quantités d'éthylène libérées à partir de l'ACC présent dans un échantillon homogène de pomme ont été évaluées dans différentes conditions d'extraction ou de purification (passage ou non sur résines échangeuses d'ions). Les résultats présentés dans le tableau 1 montrent que ces teneurs sont très variables puisqu'elles sont respectivement de 0,4, 0,8, 1,2 et 1,0 nmoles selon que l'extrait est réalisé par l'acide sulfosalicylique puis purifié sur résines ou par l'éthanol à chaud ou à froid avec ou sans purification. L'adjonction de 1,25 et 2,5 nmoles d'ACC pur comme standard interne juste avant le dosage fait apparaître des rendements de conversion d'ACC en éthylène très différents variant de 40 à 88 p. 100 selon les cas. Les teneurs réelles en ACC contenu dans l'extrait ont été calculées en tenant compte de ces rendements et en admettant que le taux de conversion de l'ACC pur est identique à celui de l'ACC du fruit. Dans ces conditions, les valeurs obtenues sont relativement voisines dans les extraits purifiés ou non sur résines. Cependant, les teneurs sont plus élevées (1,4 nmoles) par extraction à l'éthanol à chaud sans purification sur résines.

Il a été vérifié par ailleurs que le pourcentage de conversion de l'ACC en éthylène est identique, pour un type d'extraction donné, lorsqu'on ajoute le standard interne dans la pulpe broyée ou dans l'extrait.

L'ensemble de ces résultats nous a conduit à retenir pour

TABLEAU 1 - Détermination de la teneur en ACC dans les extraits de pomme Golden delicious obtenue par des méthodes différentes. Chaque valeur correspond à la moyenne de trois extractions et dosages indépendants effectués à partir de 500 mg de matière sèche.

Conditions d'obtention de l'extrait	ACC ajouté à l'extrait (nmole)	C ₂ H ₄ (nmole)	Pourcentage de conversion C ₂ H ₄	ACC (nmole) dans l'extrait
Extraction avec l'acide sulfosalicylique suivie de passage sur résine	0	0,4	-	1,0
	1,25	0,9	40	
	2,50	1,4	40	
Extraction éthanol à chaud, suivie de passage sur résine	0	0,8	-	1,1
	1,25	1,7	72	
	2,50	2,7	76	
Extraction éthanol à chaud, sans passage sur résine	0	1,2	-	1,4
	1,25	2,3	88	
	2,50	3,3	84	
Extraction éthanol à froid sans passage sur résine	0	1,0	-	1,1
	1,25	2,1	88	
	2,50	3,2	88	

TABLEAU 2 - Variations du dosage d'éthylène libéré par voie chimique, du rendement de conversion de l'ACC en éthylène et de la teneur en ACC dans 15 extraits issus d'un même échantillon de pomme Golden delicious.

numéro de l'extrait	C ₂ H ₄ libéré dans l'extrait (nmoles)	Rendement de la conversion de l'ACC en C ₂ H ₄ (p. 100) *	ACC dans l'extrait (nmoles)
1	1,33	86,0	1,55
2	1,33	86,0	1,55
3	1,45	81,2	1,79
4	1,54	80,0	1,93
5	1,52	82,0	1,85
6	1,39	87,2	1,60
7	1,43	80,8	1,77
8	1,30	84,4	1,54
9	1,41	89,6	1,57
10	1,56	80,4	1,94
11	1,52	80,4	1,89
12	1,48	82,0	1,80
13	1,48	83,6	1,77
14	1,52	90,0	1,69
15	1,52	85,2	1,78
moyenne	1,45	83,9	1,73
écart type de la moyenne	± 0,02	± 0,89	± 0,04
degré de précision de la moyenne en p. 100	1,38	1,06	2,31

* - calculé par addition à l'extrait de 2,5 nmoles d'ACC pur.

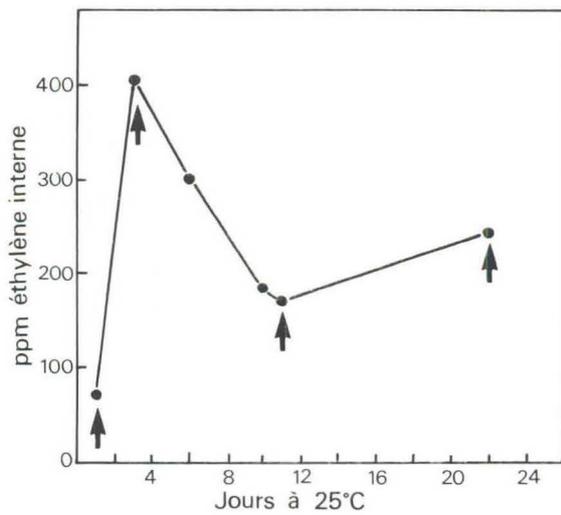


Figure 1 - Variation du niveau d'éthylène interne dans les pommes Golden delicious pendant la maturation à 25°C dans l'air. Les flèches verticales indiquent les différentes périodes de prélèvement pour les analyses de l'ACC.

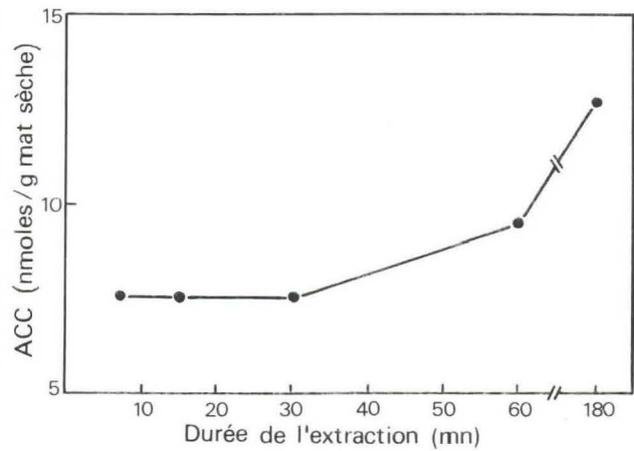
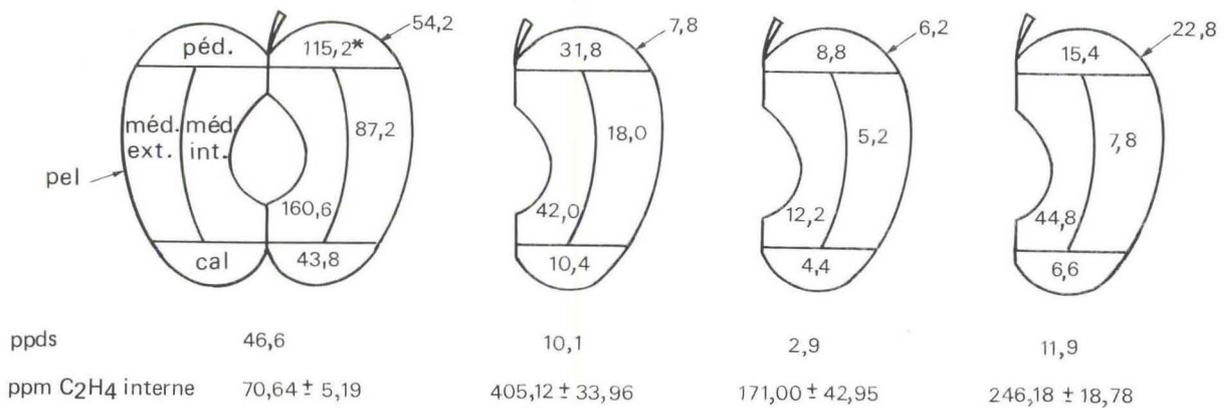


Figure 2 - Variation de la teneur en ACC dans un broyat de pommes Golden delicious en fonction de la durée de l'extraction par l'éthanol à chaud.

Nombre de jours à 25°C	1	3	11	22
Nombre de jours par rapport au maxi. climact.	-3	0	+8	+19



(*) nmoles/g mat. sèche

Figure 3 - Teneur en ACC libre de différentes zones de la pomme Golden delicious à plusieurs stades de la maturation à 25°C. Chaque valeur correspond à trois analyses indépendantes effectuées sur cinq fruits différents pour chaque stade.
péd. zone pédonculaire de la pulpe ; méd.int. : zone médiane interne de la pulpe ; méd. ext. : zone médiane externe de la pulpe ; cal. : zone calicinal de la pulpe ; pel. : pelure.

la suite de ce travail la méthode qui met en jeu une extraction à l'éthanol à chaud non suivie de purification sur résines échangeuses d'ions.

Une série de quinze analyses indépendantes effectuées sur un même échantillon montre que le degré de précision que l'on peut attribuer aux valeurs obtenues pour la teneur en ACC, calculée en tenant compte du rendement de conversion, est de l'ordre de 2,3 p. 100 (tableau 2).

Stabilité des dérivés conjugués de l'ACC lors de l'extraction à l'éthanol à chaud.

Il convenait de vérifier que l'extraction à l'éthanol bouillant n'entraîne pas d'hydrolyse de l'ACC conjugué. La figure 2 montre que les quantités d'ACC libre extraites à chaud restent identiques pendant 30 minutes. Au-delà, se produit une hydrolyse. Nous avons limité la durée d'extraction à 15 minutes dans la suite des expériences.

Teneur en ACC libre dans les différentes parties du fruit.

Les teneurs en ACC libre ont été déterminées dans cinq zones du fruit à quatre stades de maturité. A chaque stade, la ppps a été calculée (figure 3).

La figure 3 montre qu'au début de la période climactéri-

que (trois jours avant le maximum climactérique) les teneurs en ACC sont globalement très élevées. La zone médiane interne de la pulpe est beaucoup plus riche. La zone calicinale est la plus pauvre. Le classement par teneur décroissante en ACC libre est donc le suivant : zone médiane interne, zone pédonculaire, zone médiane externe, peau et zone calicinale.

Lors du maximum climactérique, le classement est analogue mais les teneurs sont beaucoup plus faibles.

Au onzième jour (huit jours après le maximum climactérique) les teneurs en ACC libre sont encore plus faibles et les différences entre zones ne sont significatives qu'entre la zone médiane interne et les quatre autres.

Enfin, après 22 jours à 25°C les teneurs augmentent sensiblement sans grande modification du classement obtenu en début de maturation.

Teneur en ACC conjugué dans les différentes parties du fruit.

Il est remarquable de constater que la pelure de pomme, dont la teneur en ACC libre est faible, contient des quantités importantes d'ACC conjugué surtout en fin de maturation (tableau 3). A l'inverse, la zone médiane interne de la pulpe, riche en ACC libre, contient peu d'ACC conjugué

TABLEAU 3 - Teneurs en ACC libre, total et conjugué dans différentes zones de pommes Golden delicious au cours de la maturation à 25°C. Chaque valeur correspond à la moyenne de trois dosages indépendants.

Zones	jours à 25°C	ACC libre nmole/g matière sèche	ACC total nmole/g matière sèche	ACC conjugué nmole/g matière sèche	pourcentage d'ACC conjugué
Pelure	1	48,8	94,8	46,0	48,5
	3	10,0	124,5	114,5	92,0
	11	7,5	302,0	294,5	97,5
	22	23,0	609,5	586,5	96,2
Pédonculaire	1	146,6	157,9	11,3	7,2
	3	24,4	26,0	1,6	6,1
	11	6,6	35,5	28,9	81,4
	22	16,0	78,5	62,5	79,6
Calicinale	1	62,9	69,7	6,8	9,7
	3	6,6	16,8	10,2	60,7
	11	4,3	16,9	12,6	74,5
	22	6,9	38,0	31,1	81,8
Médiane externe	1	99,0	100,0	1,0	1,0
	3	12,8	15,9	3,1	19,5
	11	4,6	22,4	17,8	79,4
	22	7,0	31,0	24,0	77,4
Médiane interne	1	217,8	230,8	13,0	5,6
	3	41,8	43,8	2,0	4,6
	11	9,0	21,3	12,3	57,7
	22	48,3	53,6	5,3	9,9

à tous les stades.

Les zones pédonculaires, calicinales et médiane externe de la pulpe s'enrichissent en ACC conjugué au cours de la maturation.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Parmi les méthodes dont l'efficacité a été évaluée, l'extraction à l'éthanol sans purification de l'extrait s'avère être la meilleure. Elle a été utilisée par APELBAUM et YANG (1981) sur des feuilles de blé avec un rendement de conversion de l'ACC en éthylène de 66 à 70 p. 100. Dans notre cas, ce rendement est plus élevé puisqu'il varie de 80 à 90 p. 100. La méthode initialement utilisée pour l'avocat par LIZADA et YANG (1979) met en oeuvre une extraction à l'acide sulfosalicylique et une purification de l'extrait par passage sur résines. Les rendements de conversion obtenus sont de 73 à 75 p. 100 ; dans notre étude, la même méthode donne des rendements de l'ordre de 40 p. 100 seulement. Pour certains travaux portant sur des exsudats de tiges de plantes, le dosage direct a été réalisé sans extraction préalable (BRADFORD et YANG, 1980), mais des variations de rendement importantes ont été notées (25 à 65 p. 100), démontrant la nécessité d'incorporer un standard interne d'ACC pur dans chaque échantillon à analyser. L'interférence possible d'autres substances qui libéreraient de l'éthylène lors de l'attaque chimique de l'ACC a été exclue (LIZADA et YANG, 1979 ; BRADFORD et YANG, 1981).

Disposant d'une méthode fiable et précise de dosage, nous avons pu montrer que toutes les zones de la pomme n'ont pas les mêmes teneurs en ACC libre. Le classement par ordre décroissant est le suivant : zone médiane interne, zone pédonculaire, zone médiane externe, pelure et zone calicinale. Ce classement est particulièrement net dans le cas de fruits prélevés avant ou pendant le «maximum climactérique». Cependant, cette étude ne concernant pas la période préclimactérique, on ignore si l'ACC ne serait pas présent avant l'augmentation brutale qu'il subit au début de la phase climactérique, seulement dans une zone à partir de laquelle pourrait se «propager» la maturation. Des expériences devront donc être réalisées dans l'avenir avec des fruits préclimactériques. De même, il sera utile d'effectuer des analyses de la zone ovarienne qui est souvent considérée comme mûrissant en premier lieu.

Nous avons démontré l'existence chez la pomme d'ACC lié. Il est probable, comme l'ont montré AMRHEIN et al. (1981) et HOFFMAN et al. (1982), qu'il s'agit d'ACC conjugué à l'acide malonique. On ignore si cette forme d'ACC peut être reconvertie en ACC libre et constituer

ainsi une forme de stockage de l'ACC ou bien s'il s'agit d'un produit terminal non métabolisé. La grande richesse de la pelure en ACC conjugué comparée aux autres zones du fruit est sans doute en relation avec des disharmonies de la maturation (MARCELLIN et al., 1982).

Chez certains fruits tels que l'avocat, la synthèse d'éthylène (et donc probablement celle de l'ACC) commence dans certaines zones du fruit en relation avec la structure du système vasculaire (ADATO et GAZIT, 1977). Cette observation met en évidence le rôle possible des vaisseaux dans les gradients de maturation. D'ailleurs certains phénomènes biochimiques de la maturation tels que la disparition de l'amidon chez la pomme Golden delicious commencent dans le voisinage des vaisseaux criblo-vasculaires (PECH et FALLOT, 1968). L'ACC peut d'ailleurs être véhiculé par la sève (BRADFORD et YANG, 1980) ; mais dans un fruit détaché de l'arbre, il est probable que ce phénomène ne joue pas un rôle déterminant d'autant plus qu'il a été démontré que les fruits en période préclimactérique renferment de très faibles doses d'ACC (HOFFMAN et YANG, 1980). On peut plutôt penser à la présence dans les vaisseaux de substances hormonales qui pourraient stimuler la synthèse d'ACC en induisant une activité ACC synthétase (YANG, 1980). Le fait que les zones les plus riches en ACC libre soient les mieux irriguées ou les plus proches des pépins (sources de substances hormonales) apporte des arguments à cette hypothèse.

L'existence d'autres gradients a été signalée à de nombreuses reprises. Une mise au point d'ULRICH en fait le recensement en 1956. Depuis d'autres travaux apportent des données supplémentaires dans ce domaine (HULME, 1958 ; WILKINSON et PERRING, 1964 ; FAUST et al., 1967 ; PECH, 1973). On ne peut cependant pas attribuer à ces gradients un rôle direct dans l'accumulation préférentielle d'ACC ou d'éthylène. Certains d'entre eux pourraient plutôt en être la conséquence.

En conclusion, l'existence de gradients d'ACC à l'intérieur de la pomme telle qu'elle est démontrée dans ce travail apporte des éléments nouveaux permettant d'expliquer les gradients de maturité dans les fruits et la sensibilité différente de certaines zones à des maladies physiologiques. Ce travail peut également servir de base à une meilleure compréhension des mécanismes de régulation de la biosynthèse de l'éthylène dans les fruits : rôle du système vasculaire, des pépins, phénomène de stimulation de la synthèse d'éthylène par «propagation» à partir d'une zone initiatrice.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Professeur HARTMANN (Université d'Orléans) pour les fructueuses discussions qu'ils ont eues au cours d'un séjour dans son laboratoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAMS (D.O.) et YANG (S.F.). 1979.
Ethylene biosynthesis : identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene.
Proc. Natl. Acad. Sci., 76, 170-174.
- ADATO (I.) et GAZIT (S.). 1977.
Changes in the initiation of climacteric ethylene in harvested avocado fruits during their development.
J. Sci. Fd Agric., 28, 240-242.
- AMRHEIN (N.), SCHNEEBECK (D.), SKORUPKA (H.), TOPHOF (S.) et STÖCKIGT (J.). 1981.
Identification of a major metabolite of the ethylene precursor 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in higher plants.
Naturwissenschaften, 67, 619.
- APELBAUM (A.) et YANG (S.F.). 1981.
Biosynthesis of stress ethylene induced by water deficit.
Plant Physiol., 68, 594-596.
- BOLLER (T.), HERNER (R.C.) et KENDE (H.). 1979.
Assay for and enzymatic formation of an ethylene precursor, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid.
Planta, 145, 293-303.
- BRADFORD (K.S.) et YANG (S.F.). 1980.
Xylem transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor, in waterlogged tomato plants.
Plant Physiol., 65, 322-326.
- FAUST (M.), SHEAR (C.B.) et SMITH (C.B.). 1967.
Investigations of corking disorders of apples.
I.- Mineral element gradients in «York Imperial» apples.
Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 81, 69-72.
- HOFFMANN (N.E.) et YANG (S.F.). 1980.
Changes of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in ripening fruits in relation to their ethylene production rates.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 105, 492-495.
- HOFFMAN (N.E.), YANG (S.F.) et McKEON (T.). 1982.
Identification of 1-(malonylamino) cyclopropane-1-carboxylic acid as a major conjugate of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor.
Biochem. Biophys. Res. Comm., 104, 765-770.
- HULME (A.C.). 1958.
Some aspects of the biochemistry of apple and pear fruits.
Adv. Food Res., 8, 297-413.
- LIEBERMANN (M.). 1979.
Biosynthesis and action of ethylene.
Ann. Rev. Plant Physiol., 30, 533-591.
- LIZADA (M.C.C.) et YANG (S.F.). 1979.
A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane 1-carboxylic acid.
Anal. Biochem., 100, 140-145.
- LÜRSSEN (K.), NAUMMANN (K.) et SCHRÖDER (R.). 1979.
1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid. An intermediate of ethylene biosynthesis in higher plants.
Z. Pflanzenphysiol., 92, 285-294.
- MARCELLIN (P.), DESSAUX (C.) et POULIQUEN (J.). 1982.
Troubles de la maturation des pommes à 30°C (variété Granny Smith).
2ème Colloque sur les Recherches fruitières, INRA-CTIFL, 17-18 mars 1982, Bordeaux. p. 175-183.
- PECH (J.C.). 1973.
Les constituants azotés de la poire Passe-Crassane au cours de la conservation.
Qual. Plant. Mater. Veg., 22, 205-221.
- PECH (J.C.) et FALLOT (J.). 1968.
Répartition des pépins et maturation de la pomme «Golden delicious».
Fruits, 23, 573-579.
- PRATT (H.C.). 1974.
The role of ethylene in fruit ripening.
in : Facteurs et régulations de la maturation des fruits.
Coll. Int. CNRS n° 238, R. ULRICH ed., 153-160.
- SFAKIOTAKIS (C.M.) et DILLEY (D.R.). 1973.
Internal ethylene concentrations in apple fruits attached to or detached from the tree.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 98, 501-503.
- ULRICH (R.). 1956.
Gradients physiques, chimiques et physiologiques des fruits.
Fruits, 11, 239-244.
- WILKINSON (B.G.) et PERRING (M.A.). 1964.
Further investigations of chemical concentration gradients in apples.
J. Sci. Fd Agric., 15, 378-384.
- YANG (S.F.). 1980.
Regulation of ethylene biosynthesis.
HortScience, 15, 238-243.



E.E. AZOULAY & C°

tous les fruits
exotiques

2, rue des Tropiques
F 108-94538 RUNGIS Cedex
tél. 687.25.40 · télex : 270079