

## COMPOSITION LIPIDIQUE DES RACINES DE DIVERSES ESPECES CULTIVEES

MICHEL ROSSIGNOL\*

Centre de Recherches Agronomiques du Midi C.E.P.E. L.Emberger et R.C.P. n°246 du C.N.R.S.

(Revised received 7 June 1976)

**Key Word Index**—Angiospermae; Gymnospermae; roots; phospholipids; fatty acids.

**Abstract**—fatty acids containing 10 to 22 carbons have been found in the whole root of 20 plant species;  $C_{16}$  and  $C_{18}$  acids are the more abundant ones. All common phospholipids are present; the most frequent are phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine. A relationship is suggested between the complexity of the lipid composition and phylogeny. Species which exhibit very poor tolerance to high-lime soils seem to contain more saturated fatty acids than species which do not become chlorotic under the same conditions.

### INTRODUCTION

Alors que de très nombreuses données ont été publiées sur les lipides des tissus photosynthétiques, les lipides racinaires n'ont fait l'objet que de peu d'études; leur nature, en particulier en ce qui concerne les phospholipides et les acides gras, est peu connue. A côté de quelques données générales [1,2], on peut rappeler que Lepage [3], sur les racines de *Brassica napus*, et Roughan et Batt [4], sur celles de *Pastinaca sativa*, indiquent que les phospholipides majeurs de ces racines sont la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine. Bartholomew et Mace [5] notent une présence importante de phosphatidylinositol dans les racines de *Phaseolus limensis*. Par contre Keenan *et al.* [6] observent des teneurs importantes en acide phosphatidique dans les racines d'*Avena sativa*. Keenan *et al.* et Holman et Nichols [7], sur les racines de diverses Orchidées, ont trouvé que l'acide linoléique est quantitativement le plus important. Par contre Lepage indique que l'acide linoléique est majoritaire dans les racines de *Brassica napus*.

De nombreux travaux ont postulé une intervention des lipides dans l'adaptation des racines au milieu. Ferguson [8], puis Kuiper *et al.* [9] ont montré que la teneur en phosphatidylcholine des racines de diverses Graminées dépend de la composition de la solution nutritive. Oursel *et al.* [10], puis Lamant et Heller [11] ont observé une relation entre la capacité de fixation passive du calcium par les racines de deux Légumineuses et leur teneur en phospholipides acides. On a également souvent noté des différences de composition en phospholipides et en acides gras entre les racines de variétés d'une même espèce différemment sensibles au froid [12,13].

Dans le cadre d'un programme de recherches sur les mécanismes d'adaptation aux sols calcaires, nous nous sommes attachés à l'étude de la composition en phospholipides et en acides gras des racines de diverses espèces

cultivées, annuelles ou pérennes, choisies en fonction de leur caractère calcicole ou calcifuge.

### RESULTATS ET DISCUSSION

Ces résultats ont été obtenus sur des racines entières et correspondent aux valeurs moyennes de 5 à 10 répétitions.

**Acides gras.** Les acides gras racinaires des espèces étudiées sont en général à chaînes longues (16 et 18 atomes de carbone), sauf chez les Abiétacées qui contiennent des proportions importantes d'acides gras à chaînes courtes (10 à 14 atomes de carbone) ou à chaînes très longues (20 ou 22 atomes de carbone) (tableau 1). Dans toutes les familles il y a davantage d'acides gras insaturés que d'acides gras saturés (1,5 à 3 fois plus). Les acides gras saturés sont constitués essentiellement d'acides palmitique et, dans une moindre mesure, stéarique; les acides gras insaturés, d'acides linoléique et linoléique; les monoinsaturés étant peu représentés.

L'acide linoléique est le plus souvent majoritaire, sauf chez les Légumineuses où l'acide linoléique est en général le plus important. Mais il ne s'agit probablement pas d'une caractéristique de cette famille; en effet *Vicia faba* manifeste des tendances inverses, tout comme *Medicago sativa* [13].

Les Abiétacées présentent des compositions plus variées que les autres familles; nous avons trouvé des résultats similaires chez une Mimosacée (*Acacia mollissima*). Kaimal et Lakshminarayana [14] ont également noté des tendances analogues chez une Malvacée (*Ceiba pentandra*) et une Sterculiacée (*Sterculia foetida*). On peut remarquer que ces familles, apparues à l'ère secondaire, sont peu évoluées d'un point de vue phylogénique; les autres familles que nous avons étudiées sont apparues plus récemment, à l'ère tertiaire. On constate que la composition en acides gras de leurs racines est qualitativement très homogène, puisqu'elles ne comportent presque exclusivement que des acides gras à 16 et 18 carbones. Nous n'avons pas étudié un nombre suffisamment important de familles pour qu'il soit possible de tirer des con-

\* Adresse actuelle: Laboratoire d'Ecologie de la Nutrition Minérale du Centre L. Emberger, BP 5051, 34033 Montpellier-Cedex, France.

Tableau 1. Acides gras des lipides totaux des racines entières

Espèces	Chaînes courtes	C <sub>16:0</sub>	C <sub>16:1</sub>	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>20:0</sub>	C <sub>22:0</sub>	Insaturés % Saturés %
<b>Légumineuses</b>										
<i>Lupinus luteus</i>	t	23,5 ± 5,0	t	6,8 ± 1,1	6,1 ± 0,9	14,0 ± 2,6	49,5 ± 3,9	t		2,3
<i>Lupinus albus</i>	t	24,8 ± 2,7	t	3,9 ± 0,5	5,4 ± 1,1	30,8 ± 3,6	35,1 ± 3,7	t		2,5
<i>Vicia faba minor</i>	t	18,2 ± 2,8	t	5,9 ± 2,3	3,5 ± 2,0	66,3 ± 1,9	6,1 ± 1,1	t		3,1
<i>Glycine max</i> var. anoka	t	28,4 ± 4,4	t	5,6 ± 1,3	4,0 ± 1,2	25,7 ± 3,5	36,3 ± 4,5			1,9
var. wayne	t	27,9 ± 2,9	t	6,5 ± 1,0	4,5 ± 1,5	27,3 ± 0,9	33,9 ± 2,1			1,9
var. ansoy	t	26,8 ± 2,0	t	6,4 ± 1,0	3,8 ± 0,7	26,5 ± 1,4	36,6 ± 1,8			2,0
var. swift	t	25,4 ± 5,2	t	5,1 ± 0,9	5,5 ± 1,1	27,0 ± 2,5	37,0 ± 5,9			2,3
<b>Graminées</b>										
<i>Zea mays</i>	t	19,8 ± 5,6	t	3,3 ± 0,7	3,5 ± 0,5	62,3 ± 6,3	11,0 ± 7,5			3,3
<i>Sorghum vulgare</i>	t	27,2 ± 2,7	t	2,3 ± 1,4	6,2 ± 1,3	43,9 ± 4,3	20,1 ± 1,2			2,4
<i>Hordeum sativum</i>	t	26,9 ± 2,5	t	1,6 ± 0,4	4,4 ± 1,0	50,9 ± 3,4	16,5 ± 0,7			2,5
<i>Triticum sativum</i>	t	23,4 ± 4,8	t	1,9 ± 1,0	4,4 ± 1,2	46,7 ± 4,6	22,6 ± 4,5			2,9
<i>Avena sativa</i>	3,5 ± 2,7	24,3 ± 1,2	t	1,6 ± 0,7	4,8 ± 2,2	45,1 ± 2,7	20,7 ± 2,3			2,5
<b>Vitacées</b>										
<i>Vitis riparia</i>	7,1	30,4 ± 3,9	1,1 ± 0,9	5,3 ± 1,6	6,7 ± 1,6	48,4 ± 3,2	8,6 ± 0,8			1,8
<i>Vitis 3309</i>	t	28,3		4,1	8,9	49,8	8,9			2,1
<i>Vitis 41 B</i>	t	26,7		4,6	6,6	44,6	17,5			2,2
<i>Vitis vinifera</i>	7,5	25,9 ± 3,6	2,5 ± 0,9	4,9 ± 1,0	6,7 ± 1,1	46,4 ± 4,7	13,6 ± 3,0			2,2
<b>Rosacées</b>										
<i>Prunus persica</i>	t	21,7 ± 1,9	t	3,5 ± 0,6	5,8 ± 1,4	39,2 ± 1,6	29,9 ± 2,9			3,0
<i>Prunus armeniaca</i>	t	19,6 ± 2,7	t	6,3 ± 1,5	13,7 ± 4,9	40,8 ± 3,8	19,4 ± 3,9			2,8
<i>Prunus amygdalus</i>	t	20,4 ± 1,7	t	6,3 ± 0,6	11,8 ± 3,5	39,6 ± 2,9	21,7 ± 4,0			2,7
<b>Abiétacées</b>										
<i>Pinus insignis</i>	25,6	22,0 ± 2,7		0,6*	7,9 ± 2,7	50,6 ± 4,4	2,1 ± 0,5	2,3*	14,4 ± 5,4	1,5
<i>Pinus pinaster</i>	17,1 ± 12,2	22,2 ± 3,8		1,7 ± 1,6	10,4 ± 2,3	47,1 ± 3,9	7,1 ± 1,4	1,3*	9,9 ± 2,0	1,8
<i>Pinus pinea</i>	22,2	24,9		1,1	8,1	48,9	5,5	1,8	9,8	1,7
<i>Pinus halepensis</i>	15,4 ± 6,6	25,7 ± 3,2		2,4 ± 1,9	11,7 ± 1,7	47,1 ± 3,6	8,1 ± 2,6	5,0 ± 0,9		2,0
<b>Labiées</b>										
<i>Lavandula stoechas</i>	t	26,7 ± 1,0	2,7 ± 0,3	8,0 ± 0,3	18,2 ± 0,7	32,1 ± 1,2	12,2 ± 0,6	t		1,9
<i>Lavandula latifolia</i>	t	25,0 ± 1,1	3,1 ± 0,5	4,3 ± 0,6	8,0 ± 1,0	36,4 ± 1,5	23,1 ± 1,5			2,4

Les résultats qui concernent les chaînes courtes sont exprimés en % du poids total des acides gras; ceux qui concernent les chaînes longues en % du poids total des chaînes longues. Les rapports Insaturés %/Saturés % ont été calculés sur les chaînes longues. Les intervalles de confiance ont été calculés au seuil de 5%. Les résultats indiqués sans intervalle de confiance correspondent, soit à un trop faible nombre de répétitions (inférieur à 5), soit à une distribution non gaussienne des valeurs\*. Dans une famille donnée, la première espèce indiquée est la plus calcifuge, la dernière la plus calcicole; sauf pour les Graminées, où les exigences édaphiques sont peu marquées. Abréviations: C<sub>16:0</sub> = acide palmitique; C<sub>16:1</sub> = acide palmitoléique; C<sub>18:0</sub> = acide stéarique; C<sub>18:1</sub> = Acide oléique; C<sub>18:2</sub> = acide linoléique; C<sub>18:3</sub> = acide linolénique; C<sub>20:0</sub> = acide arachidique; C<sub>22:0</sub> = acide béténique.

Tableau 2. Phospholipides des racines entières

Espèces	PI	PC	PG	PE + PS	DPG	PA
<b>Légumineuses</b>						
<i>Lupinus luteus</i>	8,5 ± 2,8	35,3 ± 6,3	6,8 ± 2,1	31,3 ± 8,4	7,7 ± 5,4	10,4 ± 4,1
<i>Lupinus albus</i>	8,1 ± 3,3	35,2 ± 3,2	6,7 ± 2,3	36,2 ± 7,4	5,1 ± 1,8	8,0 ± 4,2
<i>Vicia faba minor</i>	7,7 ± 1,7	43,4 ± 4,2	6,5 ± 2,0	33,7 ± 3,5	4,9 ± 1,4	3,6 ± 1,2
<i>Glycine max</i> var. anoka	7,8 ± 3,6	43,1 ± 4,2	7,0 ± 2,4	33,1 ± 2,4	5,1 ± 1,7	3,9 ± 1,7
var. swift	5,8 ± 2,6	46,4 ± 1,6	4,9 ± 1,8	33,9 ± 2,6	3,2 ± 1,0	3,0 ± 1,2
<b>Graminées</b>						
<i>Zea mays</i>	t	51,2 ± 3,1	5,7 ± 3,1	36,1 ± 3,0	3,5 ± 0,8	3,3 ± 1,6
<i>Sorghum vulgare</i>	2,1*	46,8 ± 5,1	10,0 ± 0,9	30,2 ± 2,0	5,2 ± 2,9	5,0 ± 2,0
<i>Hordeum sativum</i>	t	50,6 ± 2,6	5,2 ± 1,1	36,5 ± 1,3	4,7 ± 1,3	2,4 ± 1,6
<i>Triticum sativum</i>	2,1 ± 1,9	46,9 ± 4,0	6,4 ± 2,2	33,2 ± 5,3	5,6 ± 2,4	5,3 ± 1,5
<b>Vitacées</b>						
<i>Vitis riparia</i>	2,8*	42,1 ± 4,4	9,0 ± 3,6	35,8 ± 7,0	4,5 ± 1,6	5,9 ± 4,1
<i>Vitis vinifera</i>	1,4*	47,6 ± 4,2	4,9*	34,7 ± 8,7	5,2 ± 1,2	5,0 ± 2,7
<b>Rosacées</b>						
<i>Prunus persica</i>	1,3*	46,6 ± 1,7	8,7 ± 2,9	36,3 ± 3,1	2,9 ± 0,8	4,2 ± 0,7
<i>Prunus armeniaca</i>	1,1 ± 1,0	41,6 ± 1,9	8,8 ± 3,9	36,0 ± 2,6	5,5 ± 1,7	7,0 ± 1,5
<i>Prunus amygdalus</i>	3,1*	38,2 ± 1,6	9,0 ± 3,6	33,5 ± 2,7	6,0 ± 2,6	10,1 ± 2,6
<b>Abiétacées</b>						
<i>Pinus insignis</i>	13,8	29,5	13,8	24,0	7,7	11,1
<i>Pinus pinaster</i>	14,0	39,9	6,0	24,2	8,5	7,3
<i>Pinus pinea</i>	8,2	33,2	10,3	34,6	9,1	4,6
<i>Pinus halepensis</i>	11,0	34,7	10,2	22,2	9,1	12,6
<b>Labiées</b>						
<i>Lavandula latifolia</i>	t	52,1 ± 4,9	5,0 ± 2,1	35,5 ± 2,3	3,5 ± 3,5	3,3 ± 2,9

Les résultats sont exprimés en % du phosphore lipidique total. Les intervalles de confiance ont été calculés au seuil de 5%. Les résultats indiqués sans intervalle de confiance correspondent soit à un trop faible nombre de répétitions (inférieur à 5), soit à une distribution non gaussienne des valeurs\*. Dans une famille donnée, la première espèce indiquée est la plus calcifuge, la dernière la plus calcicole; sauf pour les Graminées où les exigences édaphiques sont peu marquées. Abréviations: PI = phosphatidylinositol; PC = phosphatidylcholine; PG = phosphatidylglycérol; PE = phosphatidyléthanolamine; PS = phosphatidylsérine; DPG = diphosphatidylglycérol; PA = acide phosphatidique.

clusions définitives de ces remarques. On peut cependant avancer l'hypothèse que l'évolution se serait traduite au niveau des acides gras racinaires par une plus grande homogénéité.

Enfin on observe que le pourcentage d'acides gras saturés semble être plus élevé chez les espèces calcifuges que chez les espèces calcicoles (tableau 1 rapport Insaturés (%)/Saturés (%)).

**Phospholipides.** Le tableau 2 montre que les phospholipides courants sont tous représentés dans toutes les familles. En général, la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine dominant, ce qui va dans le sens des observations de Lepage et de Roughan et Batt. Les teneurs des différents phospholipides varient, dans une même famille, d'une espèce à l'autre, ceci est particulièrement vrai pour l'acide phosphatidique qui peut représenter jusqu'à 10% du phosphore lipidique total. Les autres phospholipides acides ne sont généralement présents qu'en faibles proportions.

Chez les Graminées les compositions en phospholipides racinaires sont voisines d'une espèce à l'autre. Les teneurs observées en acide phosphatidique sont très faibles, contrairement à ce qu'avaient noté Keenan *et al.* [6] sur *Avena sativa*. La contradiction entre nos résultats et ceux de Keenan *et al.* provient peut être d'une différence de technique de fixation des tissus au moment de l'extraction des lipides; pour notre part les racines, après excision, étaient immédiatement ébouillantées à l'eau afin d'éviter toute dégradation enzymatique, par la phospholipase D en particulier.

Chez les Abiétacées la composition en phospholipides est nettement différente de celle des autres familles; la

phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine y sont en effet moins représentées, au bénéfice de phospholipides habituellement mineurs (phosphatidylinositol, phosphatidylglycérol, diphosphatidylglycérol et acide phosphatidique). Cette hétérogénéité est à rapprocher de celle observée au niveau des acides gras.

#### PARTIE EXPERIMENTALE

**Matériel.** Pour la plupart des espèces, les plantules sont obtenues par germination de graines désinfectées à l'hypochlorite de calcium (30 g/l. pendant 30 min). La croissance a eu lieu sur solution nutritive aérée et quotidiennement renouvelée. Les racines des plantules ainsi produites sont morphologiquement saines et ne présentent pas, dans les contrôles que nous avons effectués, de contamination bactérienne décelable en microscopie électronique. Par ailleurs, pour certaines espèces, nous avons analysé les lipides de différentes fractions subcellulaires purifiées; les résultats obtenus reflètent parfaitement ceux des racines entières, ce qui est en accord avec les observations de Oursel *et al.* Enfin on peut noter que nous avons trouvé de fortes teneurs en acides linoléique et linoléni- que et que les bactéries ne contiennent pas d'acides gras polyinsaturés [15]. Ceci nous fait considérer la contamination bactérienne de nos racines comme négligeable.

**Extraction et analyse des lipides.** Les racines, une fois excisées, sont ébouillantées à l'eau pendant 10 min. Les lipides sont extraits selon la méthode de Bligh et Dyer [16]. Les phospholipides sont séparés par la technique de Marinetti [17] transposée à la chromatographie sur couche mince de silice; l'analyse quantitative est effectuée par colorimétrie du phosphore lipidique [18]. Les esters méthyliques d'acides gras sont préparés à partir des lipides totaux [19] et analysés par chromatographie en phase gazeuse.

## REFERENCES

1. Hitchcock, C. et Nichols, B. W. (1971) *Plant Lipid Biochemistry*, p. 387. Academic Press, New York.
2. Galliard, T. (1973) in *Form and Function of Phospholipids*, (Ansell, G. B., Danson, R. M. C. et Hawthorne, J. N. eds), pp. 253-288. B B A Library, Amsterdam.
3. Lepage, M. (1967) *Lipids* **2**, 244.
4. Roughan, P. G. et Batt, R. D. (1969) *Phytochemistry* **8**, 363.
5. Bartholomew, L. et Mace, K. D. (1972) *Cytobios* **5**, 241.
6. Keenan, T. W., Leonard, R. T. et Hodges, T. K. (1973) *Cytobios* **7**, 103.
7. Holman, R. T. et Nichols, P. C. (1972) *Phytochemistry* **11**, 333.
8. Ferguson, W. S. (1966) *Can. J. Plant. Sci.* **46**, 639.
9. Kuiper, P. J. C., Kahr, M., Stuiver, C. E. E. et Kylin, A. (1974) *Physiol. Plantarum* **7**, 59.
10. Oursel, A., Lamant, A., Salsac, L. et Mazliak, P. (1973) *Phytochemistry* **12**, 1865.
11. Lamant, A. et Heller, R. (1975) *Physiol. Vég.* **13**, 685.
12. Gerloff, E. D., Richardson, T. et Stahmann, M. A. (1966) *Plant Physiol.* **41**, 1280.
13. Grenier, G., Mazliak, P., Tremolières, A. et Willemot, C. (1973) *Physiol. Vég.* **11**, 253.
14. Kaimal, T. N. B. et Lakshminarayana, G. (1970) *Phytochemistry* **9**, 2225.
15. Erwin, J. A. (1973) in *Lipids and Biomembranes of Eukaryotic Microorganisms*, (Erwin, J. A. ed.), pp. 42-143. Academic Press, New York.
16. Bligh, E. G. et Dyer, W. J. (1959) *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911.
17. Marinetti, G. V. (1965) *J. Lipid Res.* **6**, 315.
18. Shibuya, I., Honda, H. et Maruo, B. (1967) *Agr. Biol. Chem.* **31**, 111.
19. Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A. et Pelka, J. R. (1966) *Anal. Chem.* **38**, 514.