

L'ACTIVITE ALDOLASIQUE DES TISSUS DE POMME ET DE POIRE PENDANT LA MATURATION ET LA SENESCENCE DES FRUITS

C. HARTMANN

Laboratoire de Biologie végétale, Bellevue, France

(Received 9 March 1963)

Résumé — L'activité aldolasique des tissus de pomme et de poire a été étudiée, ainsi que les conditions de cette activité. Ses variations ont été suivies au cours de la vie du fruit.

Abstract—Aldolase activity of apple and pear (peel and pulp) have been studied and its variations were followed during the post-harvest life of the fruit.

INTRODUCTION

LE MÉTABOLISME respiratoire des fruits cueillis, placés à température constante, a été étudié par de nombreux auteurs. Tager et Biale¹ ont étudié chez la banane l'activité d'un enzyme de la voie de Embden-Meyerhof, l'aldolase (ketose-1-phosphate aldehyde-lyase), pour évaluer l'importance relative de cette voie dans le métabolisme respiratoire. Ils ont trouvé une forte augmentation de l'activité aldolasique de la pulpe au moment du maximum respiratoire. Nous avons cherché s'il en était de même chez la pomme et la poire, tant pour la peau du fruit que pour la pulpe.

RESULTATS

Les Conditions de la Réaction

Le pH optimum trouvé est égal à 7,5 (Fig. 1). Selon Rutter² le pH optimum de l'aldolase se trouve entre 7,2 et 10,0 dépendant de la méthode d'essai employée. L'activité est, aux erreurs d'expérience près, proportionnelle à la quantité de matériel végétal mise dans le milieu, si la concentration en fructose di-phosphate est suffisante.

La vitesse de la réaction est constante pendant au moins 20 min si la concentration en fructose di-phosphate n'est pas limitante. D'une manière générale, dans toutes les expériences, des mesures ont été faites pour des temps de 10 et de 20 min. L'influence de la concentration du substrat a été étudiée. Si l'on porte en ordonnées l'inverse de la vitesse de réaction et en abscisses l'inverse de la concentration en fructose di-phosphate on obtient une droite. Des mesures ont été réalisées avec le même échantillon à diverses températures. Le Q₁₀ calculé à partir des résultats obtenus à +30° et +35° est d'environ 2,1.

Activité au cours de la Maturation du Fruit

Son évolution chez la pulpe est très semblable à l'évolution de l'intensité respiratoire. En particulier on constate la présence d'un maximum d'activité au moment de la crise respiratoire, fait déjà signalé pour la banane.¹ Mais on peut noter que l'activité aldolasique de la

¹ J. M. TAGER et J. B. BIALE, *Physiol. Plantarum* 10, 79 (1957).

² W. J. RUTTER, *The Enzymes*, 2nd Edn., Vol. 5, p. 345. Academic Press, New York (1961).

pomme décroît lors de la mise en expérience (Fig. 2). Des mesures faites sur des fruits gardés à $+4^{\circ}$, sans passage à $+15^{\circ}$, ont montré une activité importante. Le changement brusque de la température est peut-être à l'origine de la chute initiale de l'activité. Au contraire les variations d'activité constatées chez la poire (Fig. 3) ne présentent pas cette chute initiale et, par suite, ressemblent davantage à ce qu'elles sont chez la banane. On constate également que l'activité aldolasique est plus importante chez la pomme que chez la poire. Les Figures 2 et 3 rassemblent des résultats obtenus en deux années avec du matériel lyophilisé. Échantillons frais et échantillons lyophilisés réagissent de la même manière et les

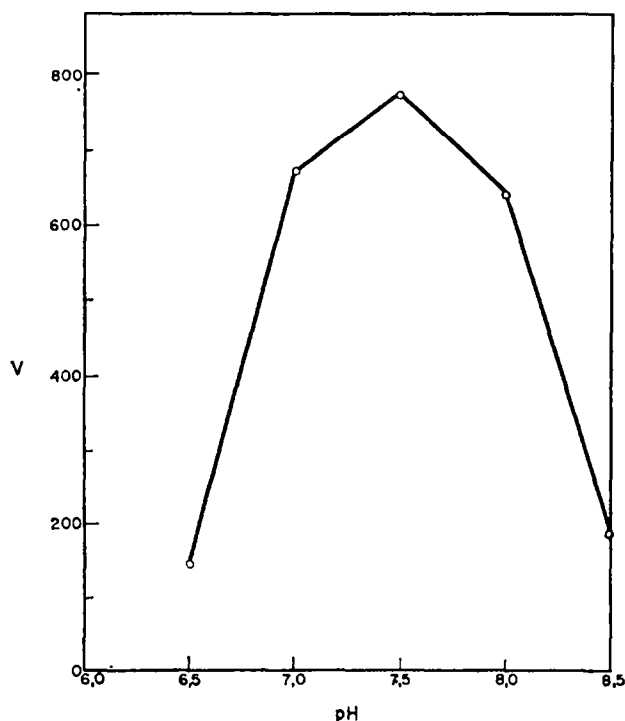


FIG. 1. INFLUENCE DU pH. EXTRAIT LYOPHILISÉ DE POMMES CALVILLE — 36 JOURS À $+15^{\circ}$ (APRÈS SÉJOUR À $+4^{\circ}$: 17 SEMAINES).

V = vitesse de la réaction exprimée en μg de phosphore pour 1 mg d'azote protéique et 20 min.

courbes obtenues sont semblables. De plus, des mesures faites sur le même échantillon lyophilisé donnent des résultats concordants, même si un intervalle d'un mois sépare les deux mesures, l'échantillon étant simplement gardé dans un exsiccateur à la température du laboratoire.

On retrouve la même évolution pour la peau bien que l'activité soit moindre que celle de la pulpe, du moins dans le cas de la pomme (Figs. 2 et 3).

CONCLUSIONS

On peut donc noter la présence d'un maximum de l'activité aldolasique au moment du maximum climactérique, mais aussi des différences par rapport aux résultats de Tager et

Biale.¹ L'activité des fruits verts n'est pas faible (Elle peut même diminuer au moment de la mise en expérience). De plus, chez la pomme et la poire, le maximum d'activité se place au moment de la crise respiratoire, alors qu'il est un peu postérieur à celui-ci chez la banane. D'autre part, l'activité décroît assez rapidement après le maximum au lieu de demeurer à un niveau élevé.

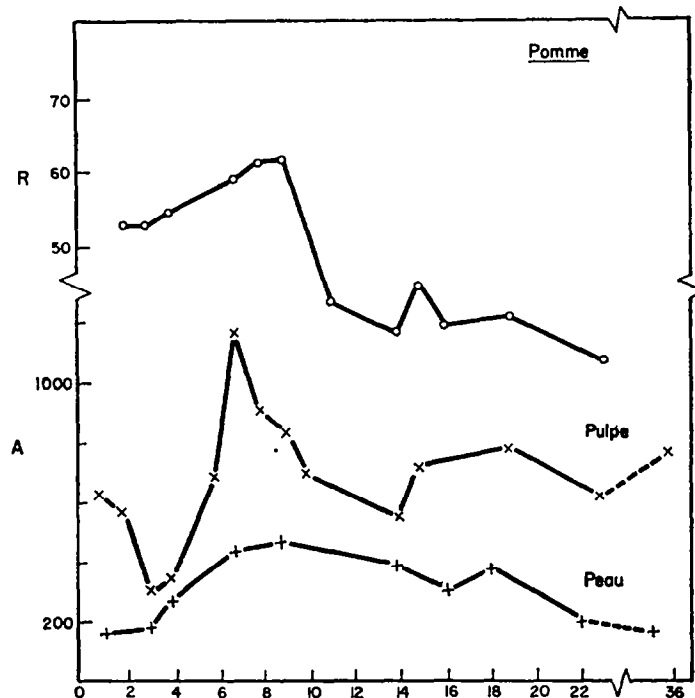


FIG. 2. POMME CALVILLE — VARIATIONS DE L'ACTIVITÉ ALDOLASIQUE.

En abscisses: Jours à +15°.

En ordonnées: Echelle R: respiration exprimée en mg de CO₂ pour 100 g de matière fraîche et 24 hr.

Echelle A: activité aldolasique exprimée en microgrammes de phosphore pour 20 min et un mg d'azote protéique.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les poires (variété Passe Crassane) sont placées à 15° après un séjour au froid (0°) de 22 à 28 semaines. Les pommes (variété Calville Blanc), conservées à +4° pendant 5 à 18 semaines, sont mises ensuite à maturation à +15° également. Dans les deux cas, la respiration de deux fruits témoins est suivie par la mesure du gaz carbonique rejeté.

La Préparation de l'Enzyme

L'activité aldolasique est estimée soit à partir de matériel frais, soit à partir de matériel lyophilisé. (a) Matériel frais: deux quartiers découpés dans deux fruits différents sont broyés au Turmix en présence d'eau pendant 15 sec, l'adjonction de carbonate de sodium 0,2 M permettant de maintenir le pH voisin de la neutralité. Le broyat obtenu est utilisé immédiatement. (b) Matériel lyophilisé: 10 g de pulpe ou de peau sont broyés dans de l'azote liquide

et immédiatement lyophilisés (sans décongélation). La poudre obtenue est conservée sous vide dans des ampoules scellées maintenues à -20° .

La Mesure de l'Activité Aldolasique

La méthode de mesure de l'activité utilisée diffère peu de celle de Stumpf,³ méthode reprise par Tager et Biale. Des poids connus de matériel sont placés dans des tubes de cellulose en présence de 2 ml de tampon borate 0,1 M pH 7,5, et de 2 ml de sulfite acide de sodium 0,25 M (solution préparée au moment de l'emploi). La présence de sulfite acide est nécessaire pour fixer les trioses phosphates formés à partir du fructose-1,6-diphosphate, et déplacer

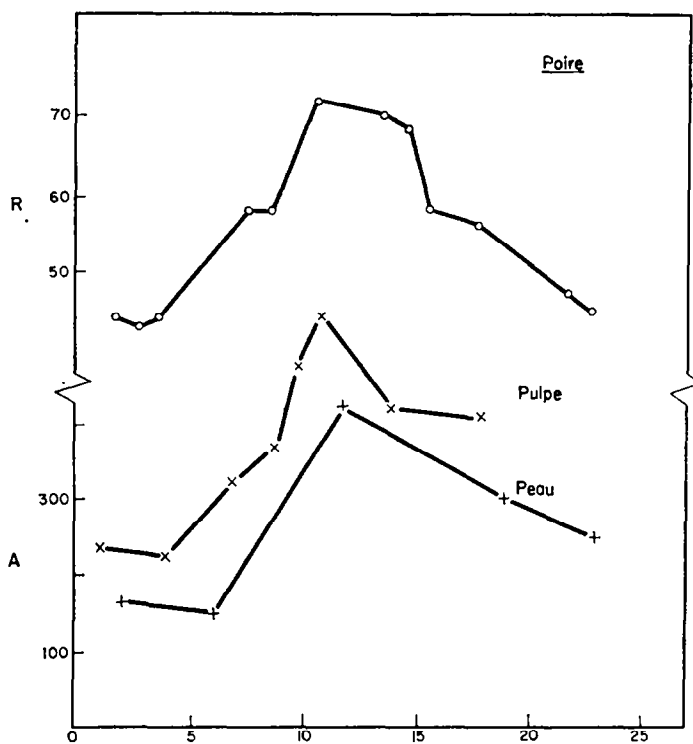


FIG. 3. POIRE PASSE CRASSANE.
Mêmes légendes que pour la Figure 2.

l'équilibre de la réaction dans le sens de l'attaque du fructose diphosphate. Il a été vérifié que le cyanure de potassium et l'hydrazine ont la même efficacité comme l'indique Stumpf.³

Le volume est amené à 10 ml avec de l'eau distillée. Les tubes sont placés dans un bain à température constante (30°) et leur contenu est agité constamment. Après équilibration, la solution de fructose-1,6-diphosphate (0,5 ml d'une solution 0,1 M) est ajoutée. La réaction est stoppée après un temps t par 5 ml d'acide trichloroacétique à 10 %; le contenu des tubes est filtré, neutralisé et amené à 50 ml. La mesure du phosphore minéral⁴ suit immédiatement, tandis que l'hydrolyse des trioses phosphates est conduite sur une partie aliquote

³ P. K. STUMPF, *J. Biol. Chem.* 176, 233 (1948).

⁴ G. DUCET et I. MENCL, *Ann. agron.* 2 bis, 17 (1957).

(milieu N NaOH, température du laboratoire). Il a été vérifié que le fructose-1,6-diphosphate n'est pas hydrolysé par le milieu sodique. La solution est alors neutralisée après 10 min (ce temps est suffisant pour une hydrolyse complète) et le phosphore est mesuré comme précédemment. La différence entre les deux mesures donne la quantité du phosphore des trioses phosphates; rapportée à 1 mg d'azote protéique⁵ pour 20 min, elle fournit la valeur de l'activité aldolasique. Un témoin dénaturé au temps 0 par 5 ml d'acide trichloracétique à 10% est ménagé à chaque expérience. L'activité trouvée a toujours été nulle. Enfin la présence de fluorure de sodium (0,02 M) ne modifie pas l'activité.

⁵ J. F. THOMPSON et G. R. MORRISSON, *Anal. Chem.* **23**, 1153 (1951).