

INFLUENCE DE SUBSTANCES MINÉRALES ET ORGANIQUES APPORTÉES PAR VOIE FOLIAIRE SUR LA COMPOSITION LIPIDIQUE DES FEUILLES DE VIGNE

M. BENTCHIKOU*, J. BOUARD** et J. DELAS***

* Institut des Sciences de la Nature, Université de Constantine,
Constantine (Algérie)

** Laboratoire des Sciences de la Vigne, Université de Bordeaux I,
avenue des Facultés, 33405 Talence Cedex (France)

*** I.N.R.A., Station d'Agronomie, Centre de Recherches de Bordeaux,
BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex (France)

Résumé : *Les biostimulants apportés par voie foliaire ont un effet sur la composition lipidique des feuilles qui les reçoivent et des feuilles qui apparaissent ensuite. Cet effet qui se manifeste notamment sur les acides linoléique, palmitique et linoléique dépend du produit pulvérisé et peut être différent sur les 2 catégories de feuilles et d'une année à l'autre. Il existe une relation positive entre l'augmentation des teneurs en glycolipides et en acide linoléique des feuilles étudiées et leur activité photosynthétique et cela pourrait expliquer les différences de croissance des rameaux qui ont été observées.*

INTRODUCTION

Il est bien connu que la teneur en lipides des feuilles dépend de différents facteurs, notamment de leur stade de développement et de l'intensité de l'éclairement qu'elles ont reçu. Elle dépend aussi de la nutrition minérale de la plante et l'on sait depuis longtemps qu'il est possible de traiter avec succès certaines carences en apportant par voie foliaire les éléments qui font défaut : un cas bien connu est celui de la chlorose que des pulvérisations de sulfate de fer font disparaître. On sait, par ailleurs, que les lamelles des chloroplastes sont riches en acides gras, notamment en acide linoléique et qu'il existe une relation entre l'activité photosynthétique et la biosynthèse de cet acide.

Il était donc intéressant, étant donné l'intérêt qu'on leur porte actuellement, de voir si les produits complexes, connus généralement sous le nom de "biostimulants", et apportés par voie foliaire, étaient susceptibles d'entraîner des modifications quantitatives et/ou qualitatives du contenu lipidique des feuilles.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I — PRODUITS UTILISÉS

Trois produits commerciaux ont été utilisés. Leurs caractéristiques principales, d'après les notices techniques, sont les suivantes :

a) B.M.86 (GOEMAR) : complexe organique liquide d'algues marines, présenté comme biostimulant et correcteur de carences.

N : 2 %; MgO : 6 %; SO₃ : 12 %; B : 2,5 %; Mo : 0,2 %; Fe : 0,005 %; Zn : 0,004 %; Cu : 0,002 %; Mn : 0,002 %; acides aminés (cystéine, lysine, méthionine); vitamines (B1, B2, C,A,D,E,K,PP); substances de croissance naturelles (auxines, gibberellines, cytokinines).

b) ERGOVIT (PEPRO) : produit liquide, présenté comme biostimulant.

Constitué de 5 % de dérivés de la L-cystéine et de 0,1 % d'acide folique (vitamine B).

c) MAIROL (SCHERING) : produit solide présenté comme engrais foliaire.

N : 14 %; P₂O₅ : 12 %; K₂O : 14 %; S₀₃ : 8%; MgO : 0,3%; Mn : 0,27%; B : 0,46%; Zn : 0,025 %; Cu : 0,05 %; Co : 0,003 %; Fe : 0,027 % substances de croissance, vitamines.

II — DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL

Les études ont porté sur *Vitis vinifera* L. cv. Merlot. La vigne, issue de boutures à un œil de type No, c'est-à-dire situé au niveau d'un nœud dépourvu de vrille (BOUARD, 1966), a été cultivée non greffée pendant 2 ans, dans des pots de 5 l (1 plante par pot) remplis d'un mélange de sable grossier et de tourbe (1/1 en volume). Les pots étaient disposés en serre pendant l'hiver, en plein air au printemps et en été ; ils ont été arrosés régulièrement avec une solution nutritive complète.

En 1987 et 1988, les plantes ont reçu, à partir du stade 10-12 feuilles, 5 pulvérisations de chacun des trois produits testés, traitements espacés de 10 à 15 jours aux concentrations préconisées par les fabricants. De l'eau distillée a été pulvérisée aux mêmes dates sur les pots "témoins". L'essai comportait 15 répétitions de chaque traitement.

III — DOSAGE DES ACIDES GRAS

Les feuilles utilisées pour le dosage des acides gras ont été immédiatement fixées dans de l'azote liquide, puis lyophilisées et conservées au congélateur à -20°C jusqu'au moment des analyses.

Ces feuilles ont été prélevées à 2 niveaux sur les rameaux, le niveau 1 correspondant à la partie du rameau où les feuilles, âgées d'environ 80 jours, ont reçu la totalité des pulvérisations, le niveau 2 à des feuilles âgées d'environ 20 jours, apparues après les traitements.

L'extraction des lipides solubles totaux a été réalisée selon la méthode de DARNÉ et MADERO-TAMARGO (1979), la saponification et la méthylation de leurs acides gras selon la méthode de METCALFE *et al.* (1966) et TRANCHANT (1982). L'analyse des esters méthyliques d'acides gras a été faite par chromatographie en phase gazeuse.

RÉSULTATS

I — INFLUENCE DU NIVEAU DE PRÉLÈVEMENT SUR LE CONTENU DES FEUILLES DU TÉMOIN

Dix acides gras, d'importance quantitative très inégale, ont été mis en évidence dans les feuilles. Il s'agit des acides caprique (C10:0), laurique (C12:0), myristique (C14:0), myristoléique (C14:1), palmitique (C16:0), palmitoléique (C16:1), stéarique (C18:0), oléique (C18:1), linoléique (C18:2) et linoléinique (C18:3). Les acides gras insaturés sont beaucoup plus abondants que les acides gras saturés : ils représentent un peu plus de 70 p. cent du total dans les feuilles du niveau 1 et un peu moins de 70 p. cent dans celles du niveau 2.

La prépondérance de l'acide linoléinique est toujours très nette et tout particulièrement dans les feuilles du niveau 1 (tableau I). L'acide linoléique, au contraire, est mieux représenté dans celles du niveau 2, et il en est de même pour l'acide palmitique. Ces trois acides constituent à eux seuls près de 90 p. cent de l'ensemble des acides gras.

Les trois fractions lipidiques, lipides neutres, glycolipides et phospholipides, ont été séparées et analysées. Dans les feuilles du niveau 1, ce sont les glycolipides qui sont les plus abondants, dans celles du niveau 2 les phospholipides. Les lipides neutres sont toujours les moins importants.

TABLEAU I

Les proportions des principaux acides gras dans les feuilles du témoin correspondant aux niveaux 1 et 2 des plantes traitées

Acides gras	Niveau 1		Niveau 2	
	1987	1988	1987	1988
C16:0	19,8 ± 1,17	22,3 ± 0,71	25,2 ± 0,91	24,2 ± 2,03
C18:2	6,8 ± 0,42	8,6 ± 0,37	18,9 ± 1,38	23,3 ± 0,58
C18:3	60,9 ± 2,04	59,4 ± 3,00	42,4 ± 1,38	42,1 ± 2,00
Total	87,5	90,3	86,5	89,6

L'acide linoléique est l'acide gras essentiel des glycolipides (tableau II): à lui seul il représente environ 85 p. cent des acides gras dans les feuilles du niveau 1 et 80 p. cent dans celles du niveau 2.

La teneur totale en acides gras des feuilles est donnée dans le tableau III. Elle est un peu plus faible en 1988 qu'en 1987, mais toujours bien plus forte dans les feuilles du niveau 1 que dans celles du niveau 2.

TABLEAU II

Les proportions des principaux acides gras des glycolipides dans les feuilles du témoin correspondant aux niveaux 1 et 2 des plantes traitées

Acides gras	Niveau 1		Niveau 2	
	1987	1988	1987	1988
C16:0	8,5 ± 0,5	8,4 ± 0,4	10,8 ± 0,7	8,5 ± 0,6
C18:2	2,4 ± 0,1	1,1 ± 0,1	4,0 ± 0,5	2,5 ± 0,1
C18:3	84,9 ± 2,0	86,9 ± 5,1	77,5 ± 1,5	83,1 ± 3,8
Total	95,8	96,4	92,3	94,1

TABLEAU III

Teneurs en acides palmitique, linoléique, linoléique et en acides gras totaux (AGT) des feuilles des niveaux 1 et 2 (en mg/g M.S.)

		Témoin		Mairol		B.M. 86		Ergovit	
		1987	1988	1987	1988	1987	1988	1987	1988
Niveau 1	C16:0	3,7	4,0	4,3	4,6	4,2	4,2	3,4	3,8
	C18:2	1,3	1,5	1,5	1,5	1,0	1,3	1,2	1,7
	C18:3	11,2	10,6	11,4	14,2	10,4	13,8	10,5	10,3
	AGT	18,4	17,9	19,8	22,1	17,8	21,1	17,0	17,4
Niveau 2	C16:0	3,9	3,5	5,0	6,2	4,4	5,0	3,7	4,4
	C18:2	2,9	3,3	3,8	4,5	3,5	3,1	3,2	3,1
	C18:3	6,6	6,0	9,8	10,3	9,0	10,8	8,3	8,0
	AGT	15,5	14,3	21,2	22,3	18,9	20,5	17,1	16,9

II — INFLUENCE DES TRAITEMENTS SUR LES ACIDES GRAS DES FEUILLES AYANT REÇU CES TRAITEMENTS

L'effet observé sur la teneur totale en acides gras des feuilles du niveau 1 s'est montré différent suivant le produit utilisé (tableau III). Le MAIROL a toujours une action positive, plus ou moins accentuée suivant l'année, puisque l'augmentation de la teneur en acides gras totaux qu'il a entraînée a été de 7 p. cent en 1987 et de 24 p. cent en 1988. L'ERGOVIT, au contraire, a eu un effet négatif la première année (- 8 p. cent) et nul la seconde. Quant au BM 86, son effet a été plutôt défavorable en 1987, mais très favorable (+ 18 p. cent) en 1988.

Sur les teneurs en acides palmitique, linoléique et linoléinique, l'effet des produits a été variable également (tableau III). Le MAIROL et le BM 86 ont toujours entraîné une augmentation de la teneur en acide palmitique, alors que l'ERGOVIT l'a toujours diminuée. Le BM 86 a toujours provoqué une diminution de la teneur en acide linoléique, tandis que le MAIROL l'a augmentée en 1987 et diminuée en 1988 et que le phénomène inverse s'est produit pour l'ERGOVIT. Pour l'acide linoléinique, l'effet du MAIROL a toujours été positif, celui de l'ERGOVIT toujours négatif et celui du BM 86 variable suivant l'année, défavorable en 1987, favorable en 1988.

Les proportions de l'acide linoléinique dans les acides gras totaux, peu différentes d'une année à l'autre chez le témoin, ne subissent pas de variations significatives en 1987 sous l'effet des traitements. En 1988, par contre, elles semblent augmenter légèrement à la suite des traitements MAIROL et BM 86 (tableau IV). Dans la fraction glycolipides, le pourcentage d'acide linoléinique, comparable les 2 années chez le témoin, n'est guère modifié par les traitements.

III — INFLUENCE DES TRAITEMENTS SUR LES ACIDES GRAS DES FEUILLES APPARUES APRES CES TRAITEMENTS

Les 3 produits ont agi de la même façon sur la teneur totale en acides gras des feuilles du niveau 2 (tableau III). Leur effet a toujours été nettement positif, aussi bien en 1987 qu'en 1988, les augmentations ayant été respectivement de 37 p. cent et 56 p. cent pour le MAIROL, de 25 p. cent et 43 p. cent pour le BM 86, de 11 p. cent et 18 p. cent seulement pour l'ERGOVIT. En 1988, l'effet du MAIROL et celui du BM 86 ont été fortement accentués, beaucoup plus que celui de l'ERGOVIT.

Les 3 produits ont entraîné une augmentation des teneurs en acides palmitique et linoléinique les 2 années. On remarque néanmoins que l'ERGOVIT n'a guère eu d'effet sur l'acide palmitique en 1987. La teneur en acide linoléique a toujours été augmentée par le MAIROL, alors que les 2 autres produits ont eu un effet positif la première année et négatif la deuxième.

Les proportions de l'acide linoléinique dans les acides gras totaux sont identiques chez le témoin en 1987 et en 1988 (tableau IV). Elles augmentent sous l'effet des 3 traitements, mais restent toujours inférieures à celles des feuilles du niveau 1. Dans les glycolipides, le pourcentage d'acide linoléinique semble augmenter sous l'effet des 3 traitements et les valeurs obtenues pour une même année sont comparables.

TABLEAU IV

Importance, en pourcentage, de l'acide linoléique dans les acides gras totaux (AGT) et dans les glycolipides (GL) des feuilles (niveau 1) ayant reçu les traitements et des feuilles (niveau 2) apparues après les traitements

		Pourcentage dans les AGT		Pourcentage dans les GL	
		1987	1988	1987	1988
Niveau 1	Témoin	61	59	85	87
	Mairol	58	64	85	86
	B.M. 86	59	66	85	85
	Ergovit	62	59	89	88
Niveau 2	Témoin	42	42	78	83
	Mairol	46	46	80	86
	B.M. 86	47	53	80	86
	Ergovit	49	47	81	85

IV — INFLUENCE DES TRAITEMENTS SUR L'ACTIVITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE DES FEUILLES

Des mesures de photosynthèse ont été faites en 1988 au moyen de la petite chambre d'assimilation de CO₂ d'un appareil portatif de mesure de photosynthèse (LICOR 6000). Les résultats obtenus (tableau V) montrent que l'activité photosynthétique des feuilles est plus élevée dans celles qui ont été traitées avec le MAIROL et le BM 86 que dans celles du témoin et qu'elle est bien plus faible dans les feuilles qui ont reçu de l'ERGOVIT.

TABLEAU V

Influence des traitements sur la photosynthèse (mg CO₂ m⁻² s⁻¹) des feuilles des niveaux 1 et 2 (moyenne de 6 répétitions par traitement)

	Niveau 1	Niveau 2
Témoin	0,45	0,65
Mairol	0,59	0,74
B.M. 86	0,50	0,68
Ergovit	0,33	0,36

La détermination des teneurs en chlorophylle totale des différentes catégories de feuilles (tableau VI) a été faite après extraction à l'acétone et passage au spectrophotomètre à 652 nm. Il existe des différences entre les feuilles des 2 niveaux, mais il n'y a pas de relation évidente avec l'activité photosynthétique.

TABLEAU VI
Influence des traitements sur la teneur en chlorophylle totale (% MF)
des feuilles des niveaux 1 et 2

	Niveau 1		Niveau 2	
	1987	1988	1987	1988
Témoin	3,55	3,05	2,06	1,76
Mairol	3,04	2,52	1,95	2,32
B.M. 86	3,35	3,79	2,52	2,57
Ergovit	3,25	3,24	2,35	2,24

DISCUSSION - CONCLUSION

Les résultats que nous avons obtenus confirment, dans le cas du Merlot, les résultats antérieurs concernant la composition lipidique des feuilles adultes de vigne, la prédominance des glycolipides et celle des acides gras en C16 et C18 (CHERRAD et BOUARD, 1974; MADERO-TAMARGO, 1979; MIELE, 1986). Ils sont également en accord avec ceux qui ont été donnés pour les feuilles d'une façon générale (MAZLIAK, 1968 ; STUMPF, 1980; HARWOOD et RUSSEL, 1984).

En ce qui concerne l'effet des biostimulants sur le métabolisme lipidique des feuilles, aucun travail n'existait. De notre étude il ressort clairement que les 3 produits étudiés ont eu un effet sur la composition lipidique de ces organes. Cet effet s'est manifesté non seulement sur les feuilles traitées, mais aussi sur les feuilles apparues après les traitements et il est variable suivant les produits. Le MAIROL a toujours eu une action positive sur la synthèse des acides gras, le BM 86 presque toujours et l'ERGOVIT seulement dans le cas des feuilles de niveau 2, alors que pour celles du niveau 1, il a eu un effet inverse en 1987 et aucun effet en 1988. Les modifications observées dans la composition des feuilles affectent les acides linoléique, palmitique et linoléique, c'est-à-dire les 3 acides gras les plus importants quantitativement.

L'effet des 3 produits, les 2 années, ne s'est pas manifesté avec la même intensité sur les 2 catégories de feuilles. Il a été plus accentué sur les feuilles apparues après le traitement que sur les feuilles traitées. Il en résulte que la teneur en acides gras totaux de toutes ces

feuilles, malgré leur différence d'âge, est pratiquement identique; dans le cas du témoin au contraire il existe toujours une importante différence, d'environ 20 p. cent, dans la teneur en acides gras totaux des 2 catégories de feuilles, celles du niveau 1 étant toujours plus riches que celles du niveau 2, plus jeunes. Il ne faut pas oublier cependant que cette absence de différence dans les teneurs en acides gras totaux, due à l'action des produits, masque en réalité des modifications parfois très importantes des 3 principaux acides gras.

Dans le cas des feuilles traitées, la composition différente des produits pourrait expliquer que leur action soit différente, positive ou négative, puisque l'on sait que les substances pulvérisées sont, au moins en partie, absorbées. Le cas est différent pour les feuilles apparues après le traitement. L'effet des produits qui s'exerce aussi sur ces feuilles est forcé indirect et ne peut s'expliquer que par une modification dans le métabolisme de la plante. La question se pose alors de savoir par quel mécanisme.

Etant donné les variations de teneur en acides gras des feuilles suivant les traitements et les relations connues entre la biosynthèse de ces acides, l'accumulation de l'acide linoléique dans les glycolipides et l'activité photosynthétique (BLOCH, 1963), on pense immédiatement à une action sur la photosynthèse. Les résultats des mesures faites à cet égard (tableau V) montrent effectivement qu'il existe une relation avec la teneur en acides gras totaux et en acide linoléique. Dans le cas des feuilles traitées, nous avons pu établir qu'il y a une corrélation hautement significative ($r = + 0,93$) entre les teneurs en acide linoléique des glycolipides et l'activité photosynthétique et également une relation significative entre cette activité et les teneurs en acides gras totaux des glycolipides ($r = + 0,92$) et en acides gras totaux ($r = + 0,90$).

La prépondérance des glycolipides et l'abondance de l'acide linoléique mises en évidence par nos analyses montrent que dans la feuille l'action des produits retentit sur les chloroplastes, à la fois sans doute sur leur enveloppe et sur les thylakoïdes, puisque c'est là que sont localisés ces constituants. La composition chimique de ces membranes est donc modifiée et l'activité des chloroplastes aussi, comme l'ont montré les mesures de photosynthèse réalisées et cela pourrait expliquer les différences précédemment signalées (BENTCHIKOU et *al.*, 1990 et 1992) concernant la croissance des rameaux et le poids du bois de taille.

Manuscrit reçu le 10 décembre 1992 ; accepté pour publication le 30 mars 1993

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BENTCHIKOU M., 1990. Influence sur quelques aspects de la physiologie de la vigne d'un apport par voie foliaire de substances minérales et organiques. *Thèse Doctorat*, Université Bordeaux II.
- BENTCHIKOU M., DELAS J. et BOUARD J., 1992. Influence sur la croissance et la production de la Vigne de substances minérales et organiques apportées par voie foliaire. *J. Inter. Sci. Vigne Vin*, **26**, n°1, 1-11.

- BLOCH K., 1963. *The biological synthesis of unsaturated fatty acids. in the control of lipid metabolism.* GRANT J.K. édit., Academic Press, New York, 193 pages.
- BOUARD J., 1966. Recherches physiologiques sur la vigne et, en particulier, sur l'aouïtement des sarments. *Thèse d'Etat*, Bordeaux, 398 pages.
- CHERRAD M. et BOUARD J., 1974. Les acides gras des feuilles adultes de *Vitis vinifera L.* var. Ugni blanc. *Connaissance Vigne Vin*, **8**, n°3, 233-237.
- DARNÉ G. et MADERO-TAMARGO J., 1979. Mise au point d'une méthode d'extraction des lipides solubles totaux, des glucides solubles totaux et des composés phénoliques solubles totaux des organes de la Vigne. *Vitis*, **18**, n°3, 221-228.
- HARWOOD J.L. et RUSSEL N.J., 1984. *Lipids in plants and microbes.* Allen G. et Unwin édit., Londres, 162 pages.
- MADERO-TAMARGO J., 1979. Recherches sur l'influence de l'irrigation sur la composition en glucides solubles, en composés phénoliques et en acides gras des organes aériens de la vigne. *Thèse 3^{ème} Cycle*, Université Bordeaux II, 250 pages.
- MAZLIAK P., 1968. *Le métabolisme des lipides dans les plantes supérieures.* Masson et Cie édit., Paris, 233 pages.
- METCALFE L.D., SCHIMITZ A.A. et PELKA J.R., 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, **38**, 514-515.
- MIELE A., 1986. Recherches sur la composition en acides aminés et en acides gras des feuilles de *Vitis vinifera L.* cv. Cabernet Sauvignon, pendant la période de maturation et en fonction du système de conduite. *Thèse d'Université*, Bordeaux, 153 pages.
- STUMPF P.K., 1980. *Biosynthesis of saturated and unsaturated fatty acid. in the biochemistry of plants.* Stumpf P.K. et Conn E.E. édit., Academic Press, New York, 177-204.
- TRANCHANT J., 1982. *Analyse qualitative. in manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse.* Masson édit., Paris, 3^o éd., 418-431.