



HAL
open science

Polyphénols et Système de culture : étude en verger de pommiers à partir de l'expérimentation BioREco

Carine Le Bourvellec-Samour, Sylvie Bureau, Catherine M.G.C. Renard,
Daniel Plénet, Thierry Girard, Sylvaine S. Simon

► To cite this version:

Carine Le Bourvellec-Samour, Sylvie Bureau, Catherine M.G.C. Renard, Daniel Plénet, Thierry Girard, et al.. Polyphénols et Système de culture : étude en verger de pommiers à partir de l'expérimentation BioREco. Innovations Agronomiques, 2014, 42, pp.91-104. hal-02631562

HAL Id: hal-02631562

<https://hal.inrae.fr/hal-02631562>

Submitted on 27 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

Polyphénols et Système de culture : étude en verger de pommiers à partir de l'expérimentation BioREco

Le Bourvellec C.^{1,2}, Bureau S.^{1,2}, Renard C.^{1,2}, Plénet D.³, Girard T.⁴, Simon S.⁴

¹ INRA, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, F-84000 Avignon

² Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, F-84000 Avignon

³ INRA, UR1115 Plantes et Systèmes de culture Horticoles, F-84000 Avignon

⁴ INRA, UE695 Recherches Intégrées, Domaine de Gotheron, F-26320 Saint-Marcel-lès-Valence

Correspondance : carine.lebourvellec@avignon.inra.fr

Résumé

La teneur totale en polyphénols et le profil phénolique de pommes issues d'une expérimentation système qui permet d'individualiser l'effet du système de culture (conventionnel, bas-intrants, agriculture biologique (AB)) et de la variété (Ariane, Melrose, Smoothee) ont été analysés pendant trois ans par analyse HPLC en phase inverse avec ou sans thiolysse. L'analyse multivariée pointe la variété et l'année comme principaux facteurs affectant le profil phénolique des pommes. Un focus sur Ariane en 2011 pour approfondir l'effet du système de culture montre que la teneur totale en polyphénols de l'épiderme ou du parenchyme ne diffère pas entre systèmes. Les procyanidines, composés majoritaires, présentent également des teneurs similaires entre systèmes. La teneur en composés de l'épiderme tels que la (-)-épicatéchine et l'acide 5'-cafféoylquinique est significativement plus élevée dans les pommes en AB, mais c'est l'inverse pour la (+)-catéchine du parenchyme. La teneur en phloridzine dans l'épiderme est significativement différente entre systèmes (AB>bas-intrants>conventionnel). La teneur en cyanidine-3-O-galactoside est plus faible dans la peau de pommes bas-intrants. Les mêmes voies métaboliques étant en jeu dans l'élaboration des composés phénoliques, ces résultats soulignent la complexité des mécanismes à l'origine de la synthèse des polyphénols dans la plante. Enfin, considérer une gamme d'intensité des pratiques, déclinée pour trois variétés, plutôt que deux systèmes contrastés (e.g. AB vs. conventionnel), identifie principalement la variété puis l'année de récolte comme facteurs affectant la teneur en polyphénols des pommes.

Mots-clés : *Malus x domestica*, variété, mode de production, qualité du fruit, métabolites secondaires

Abstract: Polyphenols and orchard management: the case study of apple in BioREco experiment

The total polyphenol content and their profile of apples from orchards differing in their management and cultivar were analyzed across three years using a reverse phase HPLC analysis with or without thiolysis. Studied management systems were conventional, low-input and organic. Each of them was planted with three apple cultivars: Ariane, Melrose and Smoothee. Multivariate analyses highlighted cultivar and year as main factors individualizing polyphenol profiles of fruit samples. When considering the Ariane cultivar and year 2011 to investigate the effect of the management system *per se*, the total polyphenol content of either the flesh or the peel of apples was not different between systems. Procyanidins, the prevailing compound, were also similar among systems. Some compounds of the peel ((-)-epicatechin and 5'-caffeoylquinic acid) showed the highest concentrations in organic apples, but the opposite was observed for (+)-catechin in the flesh. Phloridzin content of peel significantly decreased in apples from organic to low-input then conventional systems. Cyanidin-3-O-galactoside in the peel was the lowest in low-input apples. As far as the same metabolic processes are involved in the elaboration of phenolic compounds in the fruit, this highlights that mechanisms underlying polyphenol content in the plant are complex. Finally, when considering a range of management systems combined with three

cultivars instead of the usual organic vs. conventional comparison, polyphenol content of apple appeared more determined by the cultivar and the year of cropping than the orchard practices.

Keywords: *Malus x domestica*, cultivar, orchard practices, fruit quality, secondary metabolites

Introduction

La pomme est le fruit frais le plus consommé en France (environ 20 kg par personne et par an ; MAAF, 2014) et en Europe (Martinez-Palou et Rhoner-Thielen, 2008) et représente une source importante de polyphénols dans l'alimentation. Si l'aspect visuel et la qualité organoleptique de ce fruit sont des critères importants pour le consommateur, sa valeur santé est également un atout non négligeable : pour un faible apport calorique, elle est riche en fibres (dont pectines) et antioxydants (Le Bourvellec et al., 2011). La pomme constitue donc une source majeure d'apports en micronutriments dans l'alimentation. Une association inverse entre les niveaux de consommation de pommes et de flavonoïdes de pommes et la mortalité coronarienne a été observée dans plusieurs études épidémiologiques (Hertog et al., 1993 ; Knekt et al., 1996).

La teneur de la pomme en antioxydants, et en particulier en polyphénols, est documentée depuis plusieurs années : les études montrent également une concentration plus élevée dans la peau que dans le parenchyme (e.g. Guyot et al., 1998).

Plusieurs facteurs biotiques et abiotiques sont susceptibles d'influencer cette teneur en polyphénols. Une variabilité des teneurs est relevée en fonction de la variété (Guyot et al., 2002 ; Vrhovsek et al., 2004 ; Wojdylo et al., 2008 ; Volz et McGhie, 2011), voire du porte-greffe (Kviklys et al., 2014). L'effet du mode de production est plus débattu. Les études s'intéressent principalement à la comparaison de fruits issus de modes de production en Agriculture Biologique (AB) vs. conventionnelle. Selon les auteurs, la teneur en polyphénols peut être significativement plus élevée en AB qu'en agriculture conventionnelle (Mikulic-Petkovsek et al. 2010), parfois avec un effet saison (Stracke et al., 2009) ou variété (Lamperi et al., 2008) plus élevé que l'effet mode de production, ou encore ne pas se différencier entre modes de production (Valavanidis et al., 2009 ; Yuri et al., 2012).

Un verger conduit en AB, donc sans intrants de synthèse, est plus soumis à des attaques parasitaires ou à des stress physiologiques qu'un verger utilisant des intrants de synthèse et, en réaction, il est attendu une teneur en métabolites secondaires (tels les polyphénols) supérieure dans les fruits issus de ce mode de production. Toutefois, un des écueils des études sur le sujet réside dans la caractérisation des modes de production considérés : au sein de chaque mode de production, il existe une grande variabilité de pratiques dont ne rend pas compte la seule appellation 'AB' ou 'conventionnelle'. Fauriel et al. (2007) identifient ainsi la charge de l'arbre et l'apport en azote comme des facteurs influençant la teneur en polyphénols de pêches au-delà du mode de production *sensu stricto*. Pour le pommier, l'effet de la charge de l'arbre sur la teneur en polyphénols des fruits est démontré dans une partie des études sur le sujet (Stopar et al., 2002), mais pas dans toutes (Awad et al., 2001 ; Unuk et al. 2006). Par ailleurs, il est parfois difficile de disposer de fruits issus de modes de production différents dans des conditions d'environnement identiques : ce sont souvent des dispositifs de fermes appariées (e.g., Stracke et al., 2009 ; Valavanidis et al., 2009) qui sont utilisés, avec des limites en termes de variabilité de facteurs externes (sol, climat...) ou encore liés au verger (âge, porte-greffe, conduite et charge des arbres...).

Le développement récent de nouvelles approches expérimentales permet de s'affranchir de certains de ces biais. En effet, dans le cadre d'une approche 'système de culture' (Debaeke et al., 2009), les systèmes expérimentés, qui répondent à un objectif, dans un contexte et avec des contraintes données, sont finement décrits pour leur 'design' (configuration) et les pratiques dont ils font l'objet. En

arboriculture, un 'système verger' peut être vu comme une unité de culture agencée et conduite de manière identique pour répondre à un (ou des) objectif(s), avec mise en œuvre dans le temps et/ou dans l'espace d'un ensemble cohérent de méthodes pour atteindre ces objectifs. Ces systèmes de vergers expérimentaux visent par ailleurs à rendre compte de manière réaliste des processus (en particulier liés aux pressions parasites) se produisant en culture, et ils font l'objet d'évaluation multicritère et pluriannuelle.

L'objectif de notre étude a été de mesurer au cours de la période 2011-2013 la qualité interne de fruits issus du dispositif BioREco dans lequel sont expérimentés plusieurs systèmes de vergers de pomme de table de même configuration et âge, situés dans un même environnement et largement documentés pour leurs pratiques culturales et leurs caractéristiques agronomiques. Cet article fait plus particulièrement un focus sur les polyphénols, incluant les tanins condensés ou procyanidines. Les variations de teneur en polyphénols totaux ou de certaines catégories de polyphénols de fruits issus des vergers d'étude ont ainsi été analysées en fonction du système de culture, de la variété implantée, et de leurs interactions sous l'effet de l'environnement.

1. Matériels et méthodes

1.1 Conception et conduite de l'expérimentation système BioREco

Le dispositif expérimental est implanté sur l'unité INRA de Gothenon (Saint-Marcel-lès-Valence, Drôme) en Moyenne Vallée du Rhône. Le climat est semi-continentale avec des influences méditerranéennes marquées en été. Le sol s'est constitué sur des terrasses anciennes du Rhône ; il est superficiel, caillouteux, lessivé et pauvre en matière organique. Sa faible réserve utile nécessite de fractionner les apports d'eau et de fertilisants.

Le dispositif BioREco, qui représente 3,5 ha de verger de pommiers, a été implanté en janvier 2005. Il a pour but d'expérimenter et d'évaluer différents systèmes de culture en verger de pommiers, via une évaluation multicritère de l'impact des pratiques (agronomique, environnementale, technico-économique). Les systèmes expérimentés sont (Tableau 1), (Simon et al., 2011) :

- Conventuel Raisonné (RAI) : Les pratiques sont raisonnées en fonction des besoins de l'arbre et des risques de dégâts. Les méthodes et intrants utilisés privilégient l'efficacité et l'absence de prise de risques, ce qui se traduit principalement par une protection et une fertilisation à base d'intrants chimiques. Ce système est basé sur des pratiques de production courantes et il est utilisé comme référence pour évaluer les autres systèmes ;
- Econome en intrants (ECO) : Toutes les méthodes de substitution aux méthodes chimiques, outils de prédiction du risque de dégâts, etc. sont mis en œuvre ; la protection chimique n'est utilisée qu'en dernier recours, et certains pesticides sont interdits. Ce système s'inscrit dans le cadre de la Production Fruitière Intégrée telle que définie par l'Oilb (Cross, 2002) ;
- Agriculture Biologique (BIO) : Le cahier des charges européen (Règlement CEE n° 834/2007 et ses règlements d'application) et la réglementation française sont respectés, l'objectif étant de limiter le recours à la lutte directe pour gérer les ravageurs et maladies.

Dans chacun des systèmes, trois variétés de sensibilité différente aux maladies ont été implantées sur porte-greffe PI80 (INFEL 6275®) à une densité de 1000 arbres par hectare :

- Smoothee (INFEL® 2832), mutant de Golden Delicious, sensible aux maladies ;
- Ariane (INFEL® 6407), résistante aux races communes de tavelure ;
- Melrose (Melrose INFEL® 2643), peu sensible aux maladies.

Les pollinisateurs représentent 10% des arbres. La bande sur le rang d'arbres est sans enherbement et a la même largeur (1,6 m) quel que soit le système. Chaque parcelle a une surface de 0.4 ha.

Tableau 1 : Pratiques culturales en fonction des systèmes en 2011

Systèmes	BIO	ECO	RAI
Protection			
.Prophylaxie (cibles)	.Tavelure, carpocapse	.Tavelure, carpocapse	.Tavelure
.Méthodes physiques, mécaniques	.Désherbage mécanique, kaolinite	.Désherbage mécanique, kaolinite	
.Méthodes biotechniques, (micro)biologiques	.Confusion sexuelle, virus granuleuse, nématodes...	.Confusion sexuelle, virus granuleuse, nématodes...	.Virus granuleuse (respect délai avant récolte)
.Outils d'Aide à la Décision	.Météo, observations verger, pièges, modèles...	.Météo, observations verger, pièges, modèles...	.Météo, quelques observations verger, pièges
Fertilisation			
.Type d'apport	.Organique (compost, fertilisant organique)	.Mixte : organique (compost) et minérale (engrais complet)	.Minérale (engrais complet)
.Apport annuel azote	80* unités azote/ha	70* u N/ha	75 u N/ha
Irrigation	Irrigation localisée, apport selon bilan hydrique	Irrigation localisée, apport selon bilan hydrique	Irrigation localisée, apport selon bilan hydrique
Conduite/forme de l'arbre	Solaxe, conduite centrifuge	Solaxe, conduite centrifuge	Solaxe, conduite centrifuge
Charge de l'arbre (Nb fruits/cm ² section tronc)	4 fruits/cm ² section branche	6 fruits/cm ² section branche	6 fruits/cm ² section branche
Entretien du sol sur le rang	Désherbage mécanique	Désherbage mécanique	Désherbage chimique
Entretien du sol sur l'inter-rang	Enherbement semé gyrobroyé 3 à 4 fois par an	Enherbement semé gyrobroyé 3 à 4 fois par an	Enherbement semé gyrobroyé 3 à 4 fois par an

BIO : AB ; ECO : Economie en intrants ; RAI : raisonné

* L'azote apporté par le compost n'est pas disponible en totalité l'année d'apport : cette disponibilité a été estimée à 0.45 l'année d'apport, puis 0.25 et 0.15 les années suivantes.

Les pratiques d'irrigation, de conduite de l'arbre et d'entretien du sol sur l'inter-rang ainsi que l'environnement des vergers (haies nord et sud, jachères) ne distinguent pas les systèmes qui se différencient par leurs pratiques de protection (y compris la gestion des adventices sur le rang d'arbres), de fertilisation (Tableau 1) et leur gestion de la charge en fruits. L'apport d'azote est réalisé en fonction des besoins de l'arbre sans viser un même niveau d'apport entre systèmes, même si les quantités effectivement apportées sont de fait très proches. La charge en fruits visée est plus faible en AB pour limiter le phénomène d'alternance de production dans un contexte parfois limitant (sols froids au printemps et minéralisation lente, pouvant pénaliser la nutrition de l'arbre).

Les performances agronomiques de l'année 2011 pour la variété Ariane (Tableau 2) attestent d'un niveau de rendement similaire dans les systèmes ECO et RAI, alors que le système BIO, qui a une charge en fruits moindre et des fruits plus petits, présente un rendement moindre, mais conforme aux objectifs de ce verger. Les arbres ont une vigueur (estimée par la circonférence des troncs) équivalente.

Les principaux bio-agresseurs du pommier ont été contrôlés et n'occasionnent que peu de dégâts sur fruits à la récolte ; l'incidence du puceron cendré est un peu plus élevée en BIO.

Tableau 2 : Pratiques culturales en fonction des systèmes pour la variété Ariane – BioREco 2011

Systèmes	BIO	ECO	RAI
Rendement (t/ha)	22.4	38.4	39.5
Calibres dominants (>25% poids total récolte 1 ^{er} choix)	70/75	70/75 et 75/80	70/75 et 75/80
Poids moyen calibre(s) dominant(s) (g)	142	159	165
Circonférence troncs (mm)	219	235	219
Utilisation des pesticides* : IFT total (IFT sans biocontrôle)	23.4 (14.7)	25.5 (16.8)	32.0 (26.0)
Dégâts récolte (% nb fruits)			
Puceron cendré	3.0	0.5	0.1
Carpocapse total	2.1	1.2	0.9
Tavelure	0.0	0.0	0.0

* IFT (produit commercial) : somme sur la saison des ratios 'dose appliquée'/dose homologuée la plus faible pour la culture' x %surface traitée. Dans le cas général, une application à la dose homologuée correspond à un IFT de 1, sauf pour les herbicides qui sont appliqués sur 1/3 de la surface du verger : une application d'herbicide à la dose homologuée correspond à 0.33 IFT. Les produits de biocontrôle correspondent ici à la kaolinite, aux nématodes et au virus de la granulose.

1.2 Analyses des fruits

1.2.1 Méthode d'échantillonnage au verger

Pour chacune des parcelles d'étude, 30 fruits ont été prélevés juste avant la récolte principale sur des arbres ayant une charge 'normale' (pas d'arbre alternant, pas d'arbre surchargé) et situés dans les 4 lignes centrales de chaque parcelle. Les fruits ont été choisis au hasard à hauteur d'homme, parmi les plus colorés et jugés aptes à être cueillis, avec 15 fruits exposés Est et 15 fruits exposés Ouest. Ils ont été identifiés et acheminés immédiatement au laboratoire d'analyse.

1.2.2 Méthodes d'analyse des fruits

A partir des 30 fruits, trois lots de 10 pommes ont été constitués. Chaque pomme a été pesée, pelée et érognonnée, puis coupée verticalement en 12 portions égales (Figure 1a et 1b) (Le Bourvellec et al., 2011). Les douzièmes 2, 5, 8 et 11 ont été rejetés (Figure 1c). Deux lots ont été formés à partir des douzièmes 1, 4, 7, et 10 (lot A), et des douzièmes 3, 6, 9, et 12 (lot B). Dans chaque lot, les quatre fractions ont été coupées en deux horizontalement par rapport à la structure initiale du fruit (Figure 1d). Ainsi chacun des lots a été constitué de deux moitiés 'hautes' et de deux moitiés 'basses'. Chaque lot est donc constitué de 4 morceaux uniformément répartis dans le fruit (Figure 1e). La peau quant à elle a été simplement divisée en deux lots, le lot A et le lot B. Les quatre lots ont été lyophilisés mais seuls les deux lots A ont été utilisés.

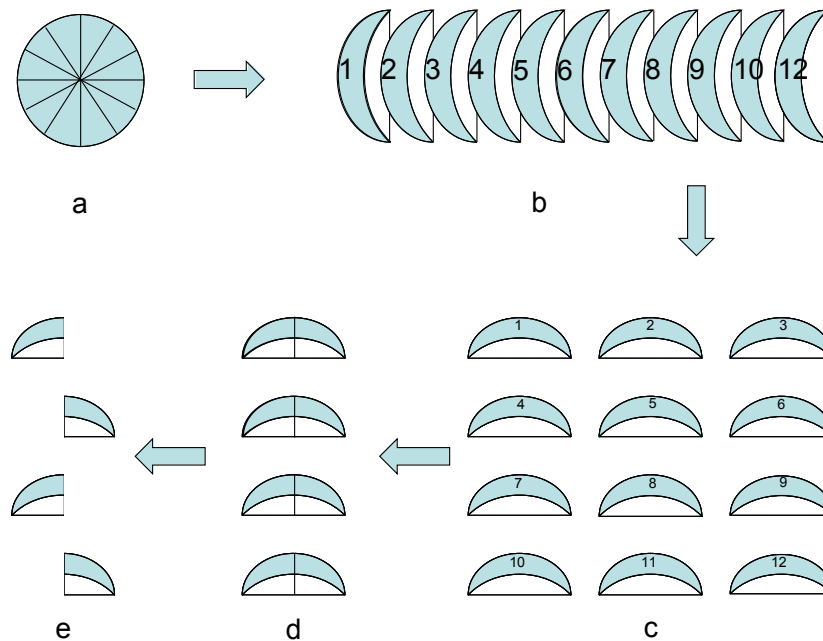


Figure 1 : Schéma de fractionnement des fruits

Les poudres de parenchyme et de peau de pommes lyophilisées et broyées ont été analysées par HPLC-DAD en phase inverse avant et/ou après thiolysé, selon la méthode décrite par Le Bourvellec et al. (2011) et adaptée de la méthode de Guyot et al. (2002). Les résultats ont été exprimés en mg/kg de matière fraîche (MF) pour rendre compte des quantités de polyphénols ingérées lors de la consommation d'une portion de pomme. La quantification des oligomères et des polymères de procyanidines est souvent sous-estimée dans la mesure où seuls les dimères et les trimères qui donnent des pics bien résolus sont quantifiés. L'HPLC en phase inverse suivie d'une réaction de thiolysé permet de déterminer la nature et les proportions des unités constitutives des procyanidines, de faire la distinction entre les unités terminales et les unités d'extension, ce qui permet à la fois le calcul du degré moyen de polymérisation (DPn) (Rigaud et al., 1991) et de quantifier les procyanidines.

1.2.3 Analyse des données

Les résultats ont été présentés sous forme de valeurs moyennes, et leur reproductibilité a été exprimée en écart-type.

Pour explorer les effets du système de culture, de la variété et de l'année d'étude, et leurs poids respectifs, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur l'ensemble du jeu de données des teneurs en polyphénols (trois années, trois variétés, trois systèmes de culture, 8 variables pour le parenchyme et 10 variables pour l'épiderme).

Afin d'analyser l'effet du système de culture dans la gamme de variabilité liée à une variété donnée et dans les mêmes conditions environnementales, un focus a été fait sur une variété et une année : Ariane, qui est régulière en production, et 2011, pour laquelle à la fois l'ACP montre le plus de différences entre systèmes et où les conditions climatiques ont permis un contrôle satisfaisant des principaux bioagresseurs dans les trois systèmes (Tableau 2). Une analyse de variance (Anova) a été conduite après avoir vérifié ses conditions d'application. Lorsque des différences significatives ont été mises en évidence, le test de Fisher (F) a été réalisé afin de comparer les moyennes.

Les différences ont été considérées comme étant significatives lorsque $P < 0,05$. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel Excelstat (Microsoft Excel).

2. Résultats-discussion

Cinq classes phénoliques majoritaires, avec un total de 16 composés individuels identifiés, ont été quantifiées dans le parenchyme et l'épiderme des variétés de pomme étudiées (Tableau 3).

Tableau 3 : Gamme de variation des teneurs (mg/kg MF) en polyphénols totaux et principales catégories de polyphénols analysées dans les pommes issues du dispositif BioREco.

Polyphénols	Teneur en polyphénols en mg/kg de Matière fraîche			
	Parcelle correspondante		Parcelle correspondante	
	Epiderme		Parenchyme	
	Min	max	Min	Max
Totaux	2254	3887	400	727
	Sm Bio 12	Ar Eco 13	Me Bio 11	Ar Bio 13
Procyanidines	1315	2580	257	500
	Me Bio 11	Ar Eco 13	Sm Eco 13	Me Rai 12
DPn	5.2	8.2	4.2	9.2
	Sm Bio 12	Me Bio 13	Sm Rai 12	Sm Rai 12
Flavan-3-ols				
(-)-épicatéchine	110	260	34	64
	Sm Rai 11	Ar Eco 13	Ar Bio 12	Me Eco 13
(+)-catéchine	10	39	8	23
	Sm Rai 11	Ar Eco 13	Ar Bio 11	Ar Rai 11
Dihydrochalcones				
PL	32	110	7	20
	Ar Rai 11	Me Bio 13	Me Rai 11	Ar Bio 13
XPL	15	51	3	7
	Sm Bio 11	Me Rai 12	Sm Rai 11	Me Bio 13
Acides hydroxycinnamiques				
5CQA	12	174	47	215
	Me Rai 11	Ar Eco 13	Me Rai 11	Ar Bio 13
PCQ	1	6	3	9
	Me Rai 11	Ar Bio 12	Sm Rai 11	Me Rai 12
Flavonols	294	792	nd	nd
	Ar Rai 13	Sm Bio 12		
Anthocyanes				
Cya-3-O-gal.	45	376	nd	nd
	Me Rai 12	Ar Bio 11		
Cya-3-O-pent.	16	25	nd	nd
	Ar Bio 13	Ar Rai 11		

Ar : variété Ariane ; Me : variété Melrose, Sm : variété Smoothee, Rai : système de culture conventionnel raisonné ; Eco : économe en intrants ; Bio : Agriculture Biologique ; PCA : procyanidines, DPn : degré de polymérisation des procyanidines, PL : phloridzine, XPL : xyloglucoside de phlorétine, 5CQA : acide 5'-caféoylquinique, PCQ : acide *para*-coumaroylquinique, Cya-3-O-gal. : cyanidine-3-O-galactoside, Cya-3-O-pent. : cyanidine-3-O-pentoside, nd : non détecté.

Pour toutes les variétés, la teneur totale en composés phénoliques du parenchyme est significativement plus faible que dans l'épiderme. Dans notre étude, les teneurs en composés phénoliques du parenchyme sont dans la gamme des travaux antérieurs réalisés sur pomme de table (de 177 mg/kg MF à 1596 mg/kg MF ; Guyot et al., 2002 ; Tsao et al., 2003 ; Khanizadeh et al., 2008 ; Le Bourvellec et al., 2011) de même que dans l'épiderme (de 1016 mg/kg MF à 7658 mg/kg MF ; Guyot et al., 2002 ; Tsao et al., 2003 ; Khanizadeh et al., 2008 ; Lamperi et al., 2008 ; Le Bourvellec et al., 2011).

Parmi les cinq classes, les procyanidines (PCA), flavan-3-ols polymères ou tanins condensés, sont prédominants à la fois dans le parenchyme et dans la peau et représentent plus de 65% des composés

phénoliques totaux. Les monomères de flavan-3-ols détectés dans le parenchyme et dans l'épiderme sont la (-)-épicatéchine et la (+)-catéchine, la première étant prépondérante.

La classe des acides hydroxycinnamiques représente la deuxième classe phénolique dans le parenchyme avec plus de 20% des polyphénols totaux alors que dans l'épiderme cette classe est minoritaire (moins de 3% des polyphénols totaux). Les acides hydroxycinnamiques sont représentés par l'acide 5'-caféoylquinique (5CQA, majoritaire) et l'acide *para*-coumaroylquinique (PCQ).

Pour toutes les variétés, la classe des dihydrochalcones est un groupe mineur de polyphénols représentant respectivement en moyenne de 3 à 3.5% des polyphénols totaux dans le parenchyme et dans l'épiderme : la phloridzine (PL, majoritaire) et le xyloglucoside de phlorétine (XPL) sont les deux principales dihydrochalcones retrouvées dans la pomme.

Dans chacune des variétés, les flavonols et les anthocyanes n'ont été détectés que dans l'épiderme des fruits. La classe des flavonols est la deuxième classe de polyphénols dans l'épiderme, avec des teneurs qui représentent plus de 16% en moyenne des polyphénols totaux. Six glycosides de quercétine ont été identifiés et quantifiés : quercétine-3-galactoside > quercétine-3-arabinopyranoside > quercétine-3-rhamnoside > quercétine-3-glucoside > quercétine-3-xyloside > quercétine-3-rutinoside.

Dans l'épiderme des variétés de pommes rouges, Ariane et Melrose, les anthocyanes sont des glycosides de cyanidine pouvant représenter de 1 à 12% des polyphénols totaux. Les anthocyanes sont représentés par la cyanidine-3-O-galactoside et la cyanidine-3-O-pentoside dans la variété de pomme Ariane alors que, dans le cas de la variété Melrose, seule la cyanidine-3-O-galactoside est présente.

Toutes ces concentrations et la composition relative de chaque classe de composés phénoliques sont en accord avec les travaux précédents. Des études antérieures ont également montré une grande variation de la teneur en composés phénoliques en fonction de la variété (Guyot et al., 2002 ; Tsao et al., 2003 ; Vrhovsek et al., 2004 ; Khanizadeh et al., 2008 ; Wojdylo et al., 2008 ; Lamperi et al., 2008 ; Le Bourvellec et al., 2011). Ces différents travaux portaient sur la caractérisation de profils phénoliques de pommes de table (Guyot et al., 2002 ; Tsao et al., 2003 ; Vrhovsek et al., 2004 ; Le Bourvellec et al., 2011), de génotypes de pomme sélectionnés pour leurs teneurs élevées en polyphénols (Khanizadeh et al., 2008) tout en ayant des concentrations cependant moins extrêmes que celles des pommes à cidre (Guyot et al., 1998 ; Sanoner et al., 1999).

2.1 Facteurs affectant la composition phénolique des fruits

Deux analyses en composantes principales ont été réalisées séparément sur le parenchyme et l'épiderme (Figure 2) du fait des compositions et des teneurs différentes entre ces deux tissus.

L'ACP concernant la composition phénolique du parenchyme est représentée dans le plan 1-2 (Figure 2A, 2B). L'axe 1 représente 35% et l'axe 2 26% de la variabilité totale. L'axe 1 est expliqué positivement par les teneurs en PCQ, 5CQA et PL et négativement par le DP PCA. L'axe 2 est expliqué positivement par les teneurs en (+)-catéchine et (-)-épicatéchine. Sur la carte représentant les individus, une discrimination est observée selon les variétés et les années, notamment pour Ariane et Smoothie (excepté ARbio11 situé parmi AR12). Les échantillons Melrose apparaissent quant à eux rassemblés au centre du plan, excepté bio11 et bio13, situés dans la partie négative de l'axe 2, avec des teneurs plus faibles en (-)-épicatéchine. Les échantillons Ariane sont représentés dans la partie positive de l'axe 1 avec des teneurs en PCQ, 5CQA et PL plus élevées que dans les deux autres variétés. Les différences interannuelles d'Ariane sont dues à des différences de teneurs en (+)-catéchine et/ou (-)-épicatéchine.

L'ACP concernant la composition de l'épiderme est représentée dans le plan 1-2 (Figure 2C, 2D). L'axe 1 représente 47% et l'axe 2 23% de la variabilité totale. L'axe 1 est expliqué positivement par les teneurs en procyanidines, (+)-catéchine et (-)-épicatéchine (corrélation forte qui n'existe pas dans le parenchyme entre les procyanidines et le couple (+)-catéchine et (-)-épicatéchine) et négativement par la teneur totale en flavonols. L'axe 2 est expliqué positivement par les teneurs en PL et XPL et

négativement par les teneurs en anthocyanes totaux, 5CQA et PCG (ces deux derniers composés sont fortement corrélés dans le parenchyme et l'épiderme des pommes). Sur la carte des individus, une discrimination nette est observée entre Ariane et les deux autres variétés Melrose et Smoothee. Cette discrimination est liée à la présence d'anthocyanes dans Ariane et non dans les autres variétés. Ariane est également plus riche en 5CQA et PCQ et moins riche en flavonols totaux. Concernant le groupe des Melrose et Smoothee, une discrimination existe d'une part entre Melrose 2011 et Melrose 2012 et 2013 de même qu'entre Smoothee 2011 et 2012 et Smoothee 2013. Cette discrimination est apportée par une différence interannuelle des teneurs en PL et XPL. Cette différence se retrouve dans Ariane avec 2011 qui contraste avec 2012 et 2013, pour la même différence de composition en PL et XPL.

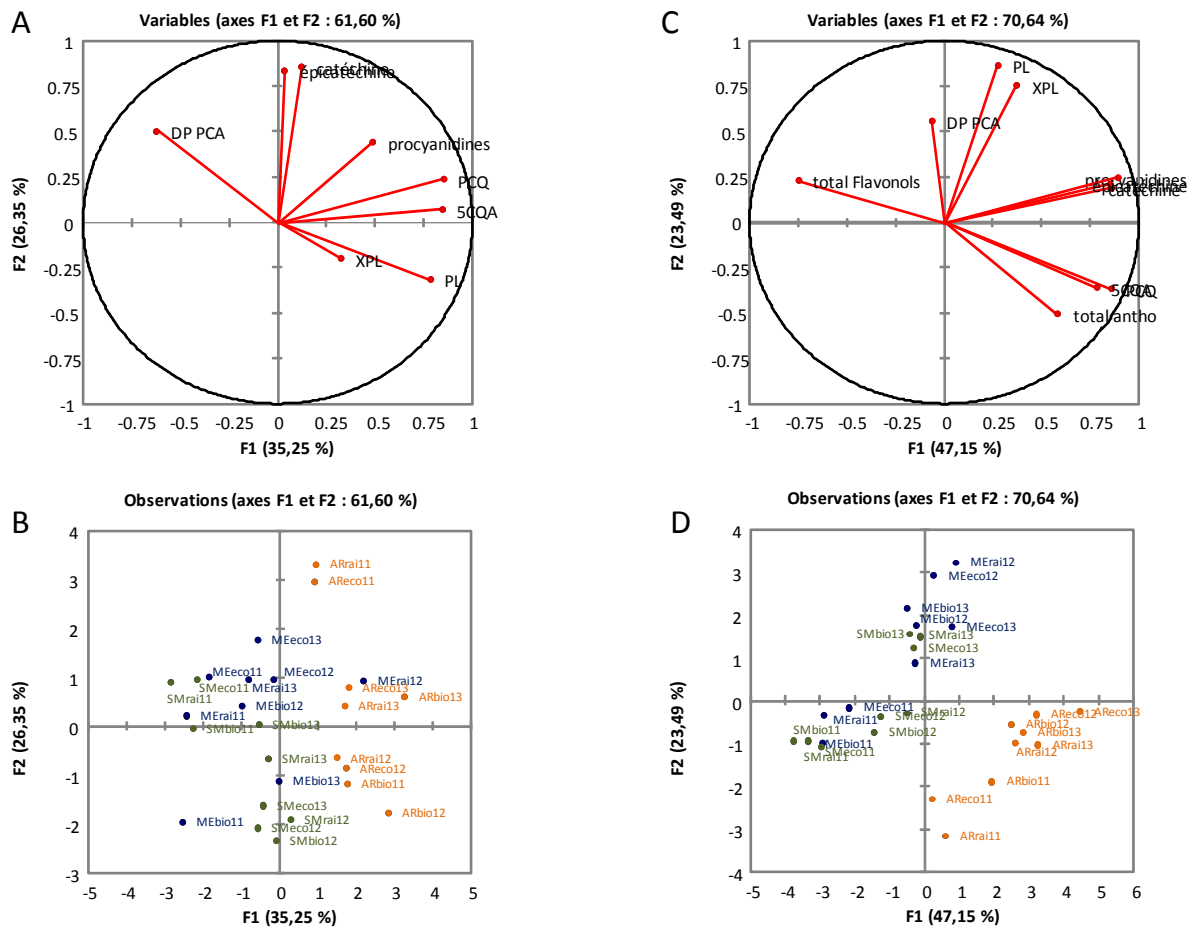


Figure 2 : Analyses en composantes principales (ACP) effectuées sur la composition polyphénolique (exprimée en mg/kg de matière fraîche) des poudres de parenchyme et d'épiderme de trois variétés de pommes cultivées selon trois systèmes de culture pendant trois années. A Représentation des variables dans le plan 1-2 dans le cas du parenchyme. B Représentation des individus dans le plan 1-2 dans le cas du parenchyme. C Représentation des variables dans le plan 1-2 dans le cas de l'épiderme. D Représentation des individus dans le plan 1-2 dans le cas de l'épiderme. AR : variété Ariane ; ME : variété Melrose ; SM : variété Smoothee ; rai : système de culture conventionnel raisonné ; éco : économe en intrants ; bio : Agriculture Biologique. Les chiffres désignent l'année de récolte. PCA : procyanidines, DPn : degré de polymérisation des procyanidines, PL : phloridzine, XPL : xyloglucoside de phlorétine, 5CQA : acide 5'-caféoylquinique, PCQ : acide *para*-coumaroylquinique, total antho : concentration totale en anthocyanes, total flavonols : concentration totale en flavonols.

2.2 Effet du système de culture: ex. variété Ariane en 2011

La variété Ariane, régulière en production, et l'année 2011, ayant permis un contrôle satisfaisant des principaux bioagresseurs dans les trois systèmes, ont été retenues pour cette analyse intra-variété de l'effet du système de culture. L'ACP (Figure 2) a par ailleurs montré qu'en 2011, la variété Ariane présentait des profils phénoliques différents entre systèmes sur la base de la description permise par les plans 1-2 de l'ACP.

Aucune différence significative entre les systèmes de culture n'est observée dans le parenchyme en ce qui concerne la concentration totale en polyphénols ($F = 0.038$, $P=0.963$), ou dans l'épiderme ($F = 3.865$, $P=0.083$).

La composition et les concentrations en composés phénoliques retrouvées dans le parenchyme et l'épiderme de la variété Ariane pour l'année 2011 sont représentées respectivement sur les Figures 3A et 3B.

Aucune différence significative entre les systèmes de culture n'est observée dans le parenchyme pour les procyanidines, les dihydrochalcones (phloridzine et xyloglucoside de phlorétine) et les acides hydroxycinnamiques (acide 5'-cafféoylquinique et acide *para*-coumaroylquinique). Seuls les flavan-3-ols monomères montrent des différences significatives entre systèmes. Pour la (-)-épicatéchine, une concentration significativement plus faible est observée dans le parenchyme des pommes cultivées selon le système BIO par rapport au système RAI, la concentration en (-)-épicatéchine des pommes cultivées selon le système ECO étant intermédiaire sans se différencier des deux autres systèmes. Pour la (+)-catéchine, une concentration significativement plus faible est observée dans le parenchyme des pommes cultivées selon le système BIO par rapport aux concentrations des pommes cultivées dans les deux autres systèmes, qui ne se différencient pas entre eux.

Pour l'épiderme, aucune différence significative n'est observée entre les systèmes de culture pour les procyanidines, la (+)-catéchine, le xyloglucoside de phlorétine, l'acide *para*-coumaroylquinique, les flavonols et la cyanidine-3-O-pentoside. En revanche, une concentration en (-)-épicatéchine et en acide 5'-cafféoylquinique significativement plus élevée est observée dans les pommes cultivées en BIO par rapport aux deux autres systèmes qui présentent des concentrations similaires. La phloridzine présente une concentration significativement plus élevée dans l'épiderme des pommes cultivées selon le système BIO par rapport au système RAI, le système ECO étant intermédiaire sans se différencier des deux autres systèmes. Une concentration significativement plus faible en cyanidine-3-O-pentoside est observée dans l'épiderme de pommes cultivées selon le système ECO par rapport aux deux autres systèmes, eux-mêmes similaires.

Il apparaît ainsi que les différences liées au système de culture sont très limitées, puisqu'elles affectent peu de composés phénoliques, qui sont d'ailleurs des composés minoritaires, et avec des différences limitées. De plus, au sein d'une même classe de composés phénoliques (exemple (-)-épicatéchine vs (+)-catéchine et phloridzine vs xyloglucoside de phlorétine dans l'épiderme), les différences observées pour l'un des composés ne se retrouvent pas pour l'autre, alors que ces produits ont la même voie de biosynthèse, rendant difficile la généralisation de l'effet système de culture. Dans la peau, les teneurs en polyphénols du système cultivé en BIO sont toujours supérieures ou égales à celles des autres systèmes. En revanche, dans le parenchyme, les teneurs sont similaires entre systèmes sauf dans le cas des flavan-3-ols monomères ((-)-épicatéchine et (+)-catéchine) où les teneurs sont inférieures dans le BIO.

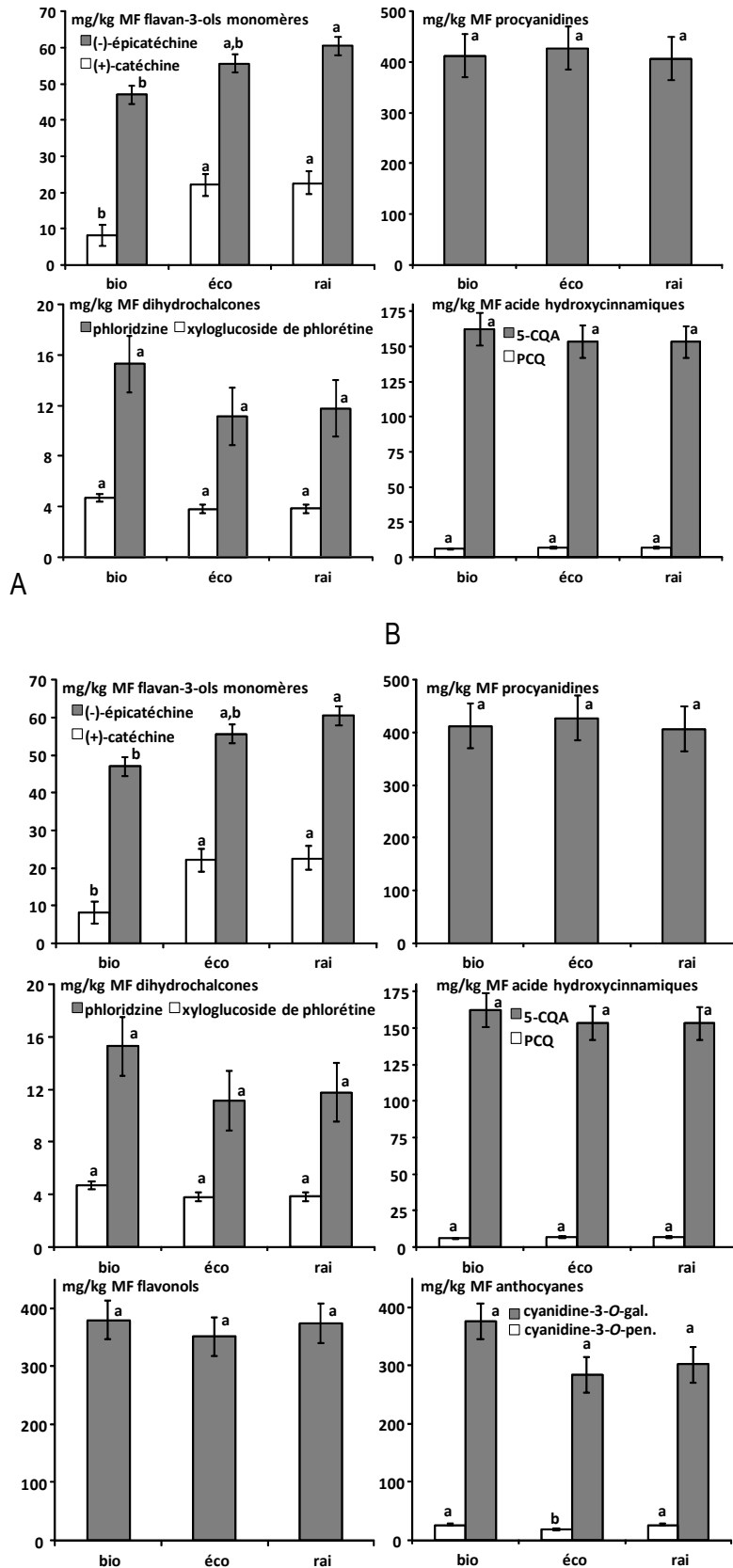


Figure 3 : Composition phénolique de la variété Ariane pour l'année 2011. A : parenchyme B : épiderme. Bio : système de culture en Agriculture Biologique ; Eco : économe en intrants ; Rai : conventionnel raisonné. 5CQA : acide 5'-caféoylquinique ; PCQ : acide *para*-coumaroylquinique. Les valeurs représentent les moyennes +/- écart-type (n=3) déterminés par ANOVA. Les lettres illustrent les différences significatives entre les modes de culture (P<0.05) : deux lettres différentes indiquent une différence significative.

Conclusion

Ce travail a permis d'étudier en verger l'effet du système de culture sur la teneur en polyphénols des pommes à partir d'une expérimentation système présentant neuf situations (3 systèmes de culture x 3 variétés).

Selon les composés, l'effet des systèmes expérimentés peut être significatif, mais reste nettement moindre que les effets de la variété et de l'année. Par ailleurs, lorsqu'un effet est mis en évidence, les systèmes expérimentés se classent différemment selon les composés et/ou la partie du fruit considérée (épiderme ou parenchyme) ; il n'y a donc pas de tendance générale entre systèmes, et la teneur en polyphénols totaux ne diffère pas entre systèmes. Par ailleurs, au sein d'une même classe phénolique, un effet peut être observé sur un composé mais pas sur un autre rendant difficile la généralisation de l'effet système.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Lamperi et al. (2008). Les différences observées par certains auteurs (i.e., plus de polyphénols en AB par rapport au conventionnel) peuvent s'expliquer par des conditions d'environnement différentes entre modes de production, par des réponses différentes selon les variétés, les sites, l'année d'étude. Dans notre cas, les trois systèmes constituent une gamme de pratiques différenciées pour certains facteurs de production : protection et fertilisation. En revanche, certaines pratiques sont peu différenciées entre nos systèmes expérimentés : le régime hydrique 'de confort' est général à nos trois systèmes alors que des périodes de restriction / stress hydrique induisent des différences de composés phénoliques (Chaves et Escudero, 1999). Par ailleurs, les niveaux d'apport d'azote sont modérés et proches dans les trois systèmes de culture au-delà de formes d'apport différentes. Ceci renvoie à la question de documenter précisément les pratiques réalisées dans les vergers d'étude.

Plus largement, l'ensemble des composés de la pomme contribue à sa valeur santé et à sa qualité gustative, de même que d'autres critères (ex., résidus sur fruits, équilibre sucres/acides) peuvent orienter les choix des consommateurs (Plénet et al., 2010). Notre étude, ici limitée aux composés phénoliques, a considéré un ensemble de composés du fruit (sucres, vitamine C...) qui compléteront ces premiers résultats pour évaluer la qualité interne des pommes.

Références bibliographiques

- Awad M.A., De Jager A., Dekker M., Jongen W.M.F., 2001. Formation of flavonoids and chlorogenic acid in apples as affected by crop load. *Scientia Horticulturae* 91(3-4), 227-237.
- Chaves N., Escudero J. C., 1999. Variation of flavonoid synthesis induced by ecological factors. In: Inderjit S., Dakshini K.M.M., Foy C.L. (Eds), *Principles and Practices in Plant Ecology*. Boca Raton, CRC Press, pp. 267-285.
- Cross J., 2002. Guidelines for integrated production of pome fruits in Europe-technical guideline III. *IOBC WPRS Bulletin* 25(8), 1-45.
- Debaeke P., Munier-Jolain N., Bertrand M., Guichard L., Nolot J.M., Faloya V., Saulas P., 2009. Iterative design and evaluation of rule-based cropping systems: methodology and case studies. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 29, 73-86.
- Fauriel J., Bellon S., Plénet D., Amiot M.J., 2007. On-farm influence of production patterns on total polyphenol content in peach. In: Niggli U., Leifert C., Alfoldi T., Luck L., Willer H. (Eds) *Improving sustainability in organic and low input food production systems. Proceedings of the 3rd International Congress of the European Integrated Project Quality Low Input Food (QLIF)*, University of Hohenheim, Germany, 20-23 March 2007, pp. 122-125.
- Guyot S., Marnet N., Laraba D., Sanoner P., Drilleau J.F., 1998. Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic

- compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 1698-1705.
- Guyot S., Le Bourvellec C., Marnet N., Drilleau J.F., 2002. Procyanidins are the most abundant polyphenols in dessert apples at maturity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie-Food Science and Technology* 35, 289-291.
- Hertog M.G., Feskens E.J., Hollman P.C., Katan M.B., Kromhout D., 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342(8878), 1007-1011.
- Khanizadeh S., Tsao R., Rekika D., Yang R., Charles M.T., Rupasinghe H.P.V., 2008. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected genotypes for processing. *Journal of Food Composition and Analysis* 21, 396-401.
- Knekt P., Jarvinen R., Reunanen A., Maatela J., 1996. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *British Medical Journal* 312(7029), 478-481.
- Kviklys D., Liaudanskas M., Janulis V., Viskelis P., Rubinskiene M., Lanauskas J., Uselis N., 2014. Rootstock genotype determines phenol content in apple fruits. *Plant Soil Environment* 60, 234-240.
- Lamperi L., Chiuminatto U., Cincinelli A., Galvan P., Giordani E., Lepri L., Del Bubba M., 2008. Polyphenol levels and free radical scavenging activities of four apple cultivars from integrated and organic farming in different Italian areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 6536-6546.
- Le Bourvellec C., Bouzerzour K., Ginies C., Regis S., Plé Y., Renard C.M.G.C., 2011. Phenolic and polysaccharide composition of applesauce is close to that of apple flesh. *Journal of Food Composition and Analysis* 24, 537-547.
- Martinez-Palou A., Rhoner-Thielen E., 2008. Fruit and vegetables: fresh and healthy on European tables. *Eurostat Statistics in focus* 60/2008.
- Mikulic-Petkovsek M., Slatnar A., Stampar F., Veberic R., 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 2366-2378.
- Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (2014) Le portail de l'Agroalimentaire, Fiche Technique Pomme. <http://www.franceagroalimentaire.com/agroalimentaire-francais/bon-appetit/fiche-technique-sur-la-pomme-francaise> (consulté 19 novembre 2014)
- Plénet D., Simon S., Vercambre G., Lescourret F., 2010. Systèmes de culture en arboriculture fruitière et qualité des fruits. *Innovations Agronomiques* 9, 85-105.
- Rigaud J., Perez-Illarbe J., Ricardo Da Silva J. M., Cheynier V., 1991. Micro method for the identification of proanthocyanidin using thiolysis monitored by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 540, 401-405.
- Sanoner P., Guyot S., Marnet N., Molle D., Drilleau J.-F., 1999. Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 4847-4853.
- Simon S., Brun L., Guinaudeau J., Sauphanor B., 2011. Pesticide use in current and innovative apple orchard systems. *Agronomy for Sustainable Development* 31, 541-555.
- Stopar M., Bolcina U., Vanzo A., Vrhovsek U., 2002. Lower crop load for Cv. Jonagold apples (*Malus x domestica* Borkh.) increases polyphenol content and fruit quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 1643-1646.
- Stracke B.A., Rüfer C.E., Weibel F.P., Bub A., Watzl B., 2009. Three-year comparison of the polyphenol contents and antioxidant capacities in organically and conventionally produced apples (*Malus domestica* Bork. Cultivar 'Golden Delicious'). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 4598-4605.
- Tsao R., Yang R., Young C., Zhu H., 2003. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 6347-6353.
- Unuk T., Tojnko S., Cmelik, Z. Stopar M., 2006. Polyphenol content in apple fruits as affected by crop load and rate of applied nitrogen. *Acta Horticulturae*, 721, 173-176.

Valavanidis A., Vlachogianni T., Psomas A., Zovoili A., Siatis V., 2009. Polyphenolic profile and antioxidant activity of five apple cultivars grown under organic and conventional agricultural practices. *International Journal of Food Science & Technology* 44, 1167–1175.

Volz R.K., McGhie T.K., 2011. Genetic variability in apple fruit polyphenol composition in *Malus x domestica* and *Malus sieversii* germplasm grown in New Zealand. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 11509-21.

Vrhovsek U., Rigo A., Tonon D., Mattivi F., 2004. Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 6532-6538.

Wojdyło A., Oszmiański J., Laskowski P., 2008. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 6520-6530.

Yuri A.J., Maldonado F.J., Razmilic I. Neira A., Quilodran A., Palomo I., 2012. Concentrations of total phenols and antioxidant activity in apple do not differ between conventional and organic orchard management. *Journal of Food Agriculture and Environment* 10, 207-216.