

Augmentation de l'activité peroxydasique dans les hypocotyles d'*Hibiscus sabdariffa* au cours de l'infection par le *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl.

B. BOHER,
Centre ORSTOM de Brazzaville,
Laboratoire de Phytopathologie.

Le rôle des peroxydases dans la résistance au parasitisme a été invoqué par de nombreux auteurs. FEHRMAN et DIMMOND en particulier, ont mis en évidence chez la pomme de terre une corrélation nette entre la présence de peroxydase dans certains organes et leur résistance au *Phytophthora*; RUBIN et IVANOVA ont souligné chez le couple *Botrytis cinerea*-Chou, l'importance des peroxydases dans l'oxydation du phloroglucinol en produits toxiques pour l'hôte et le parasite.

RÉSULTATS

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons employé comme matériel végétal, des plantules d'*Hibiscus sabdariffa* de la variété R.C.A., Malvacée tropicale communément appelée Roselle. Les plantules ont été cultivées en pots sur vermiculite imbibée de milieu minéral de SHIVE et ROBBINS dans un local à température et humidité régulées (25 °C \pm 1 °C et 80-90% d'humidité atmosphérique. Eclairage 8 000 lux au niveau des feuilles cotylédonnaires). Nous les avons inoculées à l'âge de 10 jours par une suspension de zoospores dans l'eau (100 à 200 zoospores par mm³) apportée au collet des plantules à raison de 1/2 ml par plant. Trois souches de *Phytophthora* ont été employées; deux virulentes (L très agressive et K peu agressive) et une avirulente (souche 36). Pour cette dernière nous avons utilisé l'inoculation par broyat mycélien, les zoospores se montrant inaptes à la pénétration. Les plantules récoltées ont été lavées à l'eau permutée et immédiatement coupées au microtome à congélation. Des coupes de 120 μ d'épaisseur furent ainsi réalisées à différentes hauteurs sur l'hypocotyle et placées dans un milieu de réaction contenant :

Solution aqueuse de chlorure d'ammonium saturée	1 ml
E.D.T.A. 5% dans l'eau	1 ml
H ₂ O ₂ 3% dans l'eau	2 ml
Dichlorhydrate de benzidine, solution aqueuse saturée	9 ml

Une à deux minutes après immersion, une coloration se manifestait au niveau des sites d'action des peroxydases. Des sections témoins ont été obtenues par passage avant coloration dans une solution de cyanure de potassium 0,1 M.

Chez les plantules saines une coloration bleue est observable au niveau de l'assise épidermique et dans la région péricyclique, ceci dans les parties basses de l'hypocotyle (région a); dans certains cas une faible coloration apparaît dans les cellules libériennes. Aux niveaux supérieurs (b et c) on n'observe plus qu'une faible coloration dans les cellules épidermiques et plus rarement dans celles du péricycle.

Trente heures après inoculation par la souche L, une coloration bleue est obtenue dans les cellules des liber primaire et secondaire au niveau a, rien n'est à signaler aux niveaux b et c. Quarante-huit heures après inoculation, cette activité est devenue très importante dans les cellules libériennes, elle s'est intensifiée dans celles du péricycle, une faible activité est présente dans le parenchyme cortical et dans la moelle; ces phénomènes se manifestent jusqu'au niveau b seulement. A ce moment le parasite a colonisé le parenchyme cortical de l'hypocotyle jusqu'au niveau a. L'activité peroxydasique libérienne se maintient jusqu'à la mort des plants qui intervient pour les trois-quarts d'entre eux une semaine après inoculation, elle disparaît progressivement des cellules du parenchyme cortical et du péricycle au cours de la progression du parasite; à son contact, le contenu des cellules prend un aspect granuleux et brunâtre. Il est à noter que les réactions de brunissement les plus marquées apparaissent dans les cellules de l'épiderme et de l'assise péricyclique, cellules où l'activité peroxydasique est importante chez le plant sain. Une semaine après inoculation, dans les hypocotyles de plants ayant résisté à l'attaque, on note que l'activité peroxydasique dans le péricycle et dans le liber est très élevée et intéresse tout l'hypocotyle jusqu'à l'insertion des feuilles cotylédonnaires.

Lorsque les inoculations sont réalisées avec la souche K, les mêmes phénomènes se produisent mais avec un certain retard; l'apparition de l'activité peroxydasique dans le liber n'est décelable que 48 heures après inoculation. Quatre-vingt pour cent des plants sont vivants une semaine après inoculation; on note alors la présence d'une forte activité peroxydasique jusqu'au niveau b ou c. Le mycélium du champignon survit en îlots isolés dans le parenchyme cortical, des groupes de cellules à contenu brun et dans

lesquelles on peut observer le parasite sont entourées par un halo de cellules montrant une forte activité peroxydasique. Le brunissement est particulièrement important au pourtour du péricycle ; à ce niveau on obtient par la réaction à l'acide nitreux ou par addition de vanilline en solution dans l'acide chlorhydrique, une intense coloration rouge indiquant la présence de catéchines et de leucoanthocyanidines.

Lorsque l'on inocule les plants par la souche 36, le contenu des cellules épidermiques entourant le point de pénétration précipite et prend une couleur brunâtre 20 à 30 heures après inoculation. Dans la région épidermique, le mycélium intercellulaire est en voie de dégénérescence, son développement ne s'étend pas plus avant.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La présence d'une forte activité peroxydasique dans certains tissus du plant sain d'*Hibiscus* semble être effectivement un facteur favorable à l'établissement de réactions de défense ; un exemple en est donné par la réaction d'hypersensibilité qui se manifeste dans les cellules épidermiques vis-à-vis de la souche 36. Les souches virulentes comme K et L sont cependant capables de franchir cette première barrière ; elles se heurtent alors à la seconde représentée par la zone péricycle-phloème dont l'activité a considérablement augmenté pendant la colonisation du parenchyme cortical. Cette augmentation de l'activité peroxydasique se manifeste en dehors de tout contact avec le mycélium, elle est constamment en avance sur la progression de celui-ci. Dans la région péricyclique, l'accumulation de composés phénoliques et la précipitation du contenu cellulaire bloquent la progression de la souche K mais pas celle de la souche L qui colonise le cylindre central et provoque la mort du plant par la perturbation du transport de la sève.

La réaction de la plantule à la présence du parasite se développe en deux temps ; dans un premier temps a lieu une augmentation du métabolisme de certains tissus et en particulier de la synthèse des peroxydases, dans un second temps, on assiste à l'accumulation de composés phénoliques susceptibles de fournir, après oxydation, des substances toxiques pour le parasite.

L'augmentation de l'activité peroxydasique semble donc entrer dans un processus de défense contre le parasite aboutissant à la formation de barrières protectrices, celles-ci confèrent aux plantules d'*Hibiscus sabdariffa* une résistance vis-à-vis de certaines souches peu agressives du *Phytophthora palmivora*.

		Phloème		Péricycle		Parenchyme cortical	
		sain	inoc.	sain	inoc.	sain	inoc.
A	a	+ —	+ +	+	+ +	—	—
	b	—	—	+	+	—	—
B	a	—	+ + +	+	+ +	—	+
	b	—	+ + +	+	+ +	—	+
C	a	+ —	+ + +	+	+ + +	—	+ +
	b	—	+ + +	+	+ +	—	+ +
	c	—	+ +	—	+ +	—	+

