

PHYTOPATHOLOGIE. — Rôle du tris-O-éthyl phosphonate d'aluminium dans la stimulation des réactions de défense des tissus de Tomate contre le *Phytophthora capsici*. Note (*) de Vo-Thi-Hai, Gilbert Bompeix et André Ravisé, présentée par Roger Heim.

La croissance mycélienne du *P. capsici* sur des folioles de Tomate, isolées et flottant sur une solution de tris-O-éthyl phosphonate d'aluminium (TEPA), est bloquée en quelques heures. Ce phénomène s'observe aussi dans des plantules entières inoculées et traitées par le TEPA. Dans les folioles, la concentration en composés phénoliques et en phytoalexines augmente considérablement et semble responsable du phénomène d'inhibition observé *in vivo* en présence de TEPA.

The mycelial growth rate of P. capsici on Tomato leaves which are isolated and floating on an aluminium tris-O-ethyl phosphonate solution (TEPA), is arrested in a few hours. This phenomenon also takes place in inoculated seedlings treated with TEPA. Inside the leaflets phenolic compounds and phytoalexins increase considerably. They are responsible for the inhibition of the mycelial growth rate in vivo when TEPA is used.

La synthèse de substances anti-fongiques lors de l'infection est l'un des mécanismes les plus efficaces de la défense des plantes contre les maladies. Cependant, si le mécanisme n'est pas induit comme dans le cas du mildiou de la Vigne [8], ou faiblement comme dans celui du *Phytophthora capsici* des Tomates, l'infection peut s'établir. Des travaux récents indiquent que le tris-O-éthyl phosphonate d'aluminium (TEPA) inhibe *in vitro* la reproduction asexuée des *Phytophthora* mais faiblement la croissance, même à des concentrations atteignant 500 µg/ml ([1], [3], [9], [18]). Pourtant, *in vivo*, les doses moindres de TEPA semblent pouvoir inhiber des formes mycéliennes dans le feuillage particulièrement.

Nous pouvons envisager, notamment, deux hypothèses. Dans la première, le TEPA se transformerait en une substance d'avantage inhibitrice *in vivo*, mais cela paraît peu probable puisqu'il se forme de l'acide phosphoreux, non fongitoxique. Dans la deuxième hypothèse, il s'agirait d'une stimulation des réactions de défense de la plante-hôte avec, comme dans les interactions entre *Lycopersicum* sp. et plusieurs autres parasites ([4], [5], [11] à [13]), une accumulation de substances inhibitrices. Les expériences relatées ci-dessous tendent à confirmer cette interprétation.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES. — Une partie des expériences est réalisée avec des plantules de *Lycopersicum esculentum* cv. « supermarmande » cultivées sur solution nutritive [18]. Les autres essais concernent des folioles prélevées sur plants de 40 jours au niveau du troisième verticille et maintenues en survie en boîtes de Petri sur eau distillée ou sur solution de TEPA à 22°C. L'infection expérimentale est réalisée sur des folioles, préalablement perforées avec un emporte-pièce de 5 mm de diamètre, par un inoculum standardisé [11] de *P. capsici* isolé de Tomate. Le transfert sur TEPA est réalisé juste après l'inoculation (cf. fig.), soit après des délais de 2, 4, 6, 8, 10, 12 et 17 h.

L'évolution des symptômes est observée durant 3 jours puis les folioles sont découpées, à 4°C, suivant les zones saines ou nécrosées. Les tissus sont conservés à -20°C. L'extraction et la séparation des composés phénoliques ainsi que des phytoalexines sont réalisées selon des techniques décrites précédemment ([5], [12], [13]), les dosages effectués par la méthode de Folin-Ciocalteu [11] et de Moore-Bauman [4]. La toxicité de ces substances pour le *P. capsici* est appréciée à l'aide de cultures en milieu liquide ([4], [11], [18]).

RÉSULTATS. — L'inoculation du *P. capsici* sur folioles de Tomate, tant sur plantules qu'en survie, se traduit par une infection générale des tissus. Sur folioles isolées, la pénétration s'effectue en 2 à 8 h ([10], [13]) puis le parasite, précédé d'une zone nécrotique de 1 à 2 mm de large, progresse régulièrement dans le limbe qui est envahi en 72 h (a). Lorsque les folioles sont placées au contact de la solution de TEPA lors de l'inoculation ou moins de 8 h après, les nécroses ne sont pas décelables (c). 12 h au minimum après le transfert sur TEPA, on

26 NOV. 1983

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

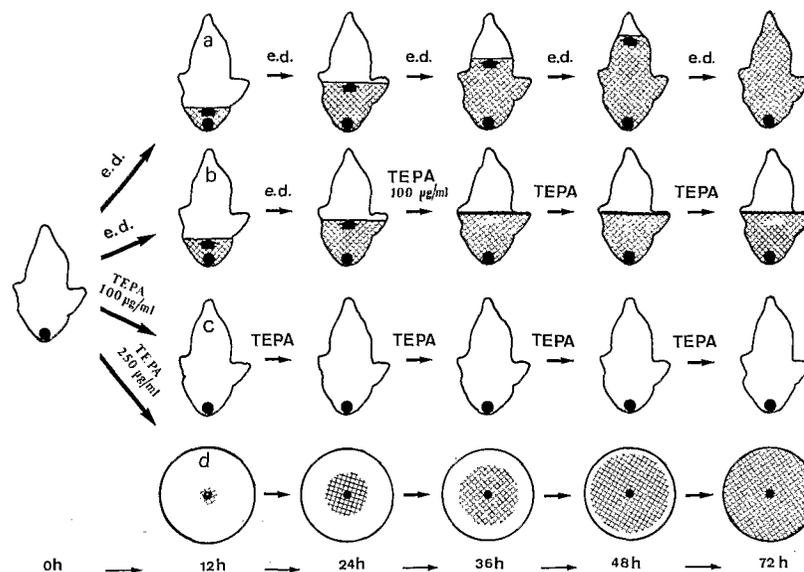
N° : 3910 ex 4 M

Cpte : B...

observe que la zone nécrotique entre tissus sains et tissus parasités reste fixe (b). En effet, après le transfert sur TEPA, le déplacement de la zone nécrotique se ralentit progressivement jusqu'à l'arrêt total. Ce phénomène demande 12 à 17 h avec des concentrations de 100 $\mu\text{g/ml}$, et plus, et de 55 à 60 h avec une concentration aussi faible que 10 $\mu\text{g/ml}$. Il s'agit alors dans tous les cas, d'une zone nécrotique bloquante.

En revanche, *in vitro*, la croissance du *P. capsici* n'est pas inhibée par une concentration en TEPA de 250 et même 500 $\mu\text{g/ml}$ (d).

Nous avons comparé les teneurs en composés phénoliques et en phytoalexines dans les tissus des folioles infectées et dans ceux des folioles traitées par le TEPA avec ou sans



(a) Sur e.d., l'infection progresse jusqu'à son terme; (b) sur e.d., puis TEPA, après n heures, l'infection s'établit puis est bloquée; (c) sur TEPA après inoculation, l'infection n'apparaît pas; (d) *in vitro*, le *P. capsici* n'est pas inhibé par 250 $\mu\text{g/ml}$ de TEPA introduits dans les milieux de culture. (Boîtes de Petri de 55 mm de diamètre).

inoculation. Le contact avec le TEPA n'influe pas sur les teneurs en composés phénoliques totaux des folioles saines. Par contre, cette substance amplifie la réaction phénolique des folioles malades.

L'inoculation du *P. capsici* provoque une accumulation quatre fois plus importante que chez le témoin. Lorsque celle-ci est associée au traitement, elle entraîne une accumulation six fois plus forte dans la zone de nécrose bloquante et quatre fois plus forte dans les tissus adjacents (zone de 2 mm de large). Le tableau récapitule ces résultats. La stimulation de synthèse est de même nature dans les folioles inoculées placées sur eau distillée et sur solution de TEPA. Elle concerne principalement les esters des acides *p*-coumarique et férulique avec l'acide quinique, le glucose ou le gentiobiose. En plus des substances phénoliques précitées, il s'accumule dans les folioles blessées ou inoculées des substances décrites précédemment comme des phytoalexines ([4], [5], [12], [15], [16]). D'après nos dosages, leur synthèse est doublée dans les folioles infectées sur TEPA par rapport aux folioles inoculées avec le *P. capsici* sur eau distillée dans les mêmes conditions. En outre, la stimulation de synthèse est sélective et concerne essentiellement deux substances dont les R_F sont de 0,15 et 0,90 en CCM sur silicagel avec le *n* hexane pour éluant.

Une partie des extraits renfermant soit des composés phénoliques, soit des phytoalexines, est utilisée pour des tests de toxicité *in vitro* à l'égard du *P. capsici*. Les résultats obtenus confirment la similitude des réactions aux blessures et à l'inoculation de l'agent pathogène avec ou sans TEPA. Dans les expérimentations 3, 4, 5 (tableau), les concentrations fongis-

TABLEAU

Concentrations en phénols totaux, exprimées en microgrammes d'acide chlorogénique par gramme de tissus frais, dans les folioles de Tomate suivant les traitements. Le prélèvement des tissus à analyser s'effectue 2 mm en avant et 2 mm en arrière de la progression des zones nécrotiques (en 3, 4, 5).

1. Folioles en survie sur eau distillée.....	125 µg
2. Folioles en survie sur solution de TEPA à 100 µg/ml.....	130 µg
3. Folioles blessées en survie sur eau distillée.....	265 µg
4. Folioles inoculées par le <i>P. capsici</i> sur eau distillée.....	510 µg
5. Folioles inoculées par le <i>P. capsici</i> sur solution de TEPA.....	750 µg

tatiques sont de l'ordre de 10 µg/ml exprimées en équivalents d'acide chlorogénique. Le contact permanent entre l'extrait en milieu liquide et le mycélium rend l'inhibition plus efficace. *In vivo*, nous trouvons des concentrations largement supérieures mais qui ne semblent pas arrêter le développement parasitaire. Il est possible que les substances inhibitrices qui sont principalement localisées dans les vacuoles, ne pourraient agir que partiellement sur le *P. capsici*.

Enfin, les plantules immergées dans des solutions de TEPA (10 à 500 µg/ml) durant 12 h puis inoculées et transférées sur vermiculite, sont examinées 15 jours plus tard. Malgré une application très transitoire, l'effet protecteur du TEPA est nettement observé à partir de 10 µg/ml. Il est excellent à partir de 100 µg/ml.

DISCUSSION-CONCLUSION. — Nos observations sur le comportement des folioles de Tomate en survie confirment les résultats acquis précédemment avec cette plante :

— une blessure provoque la stimulation de la synthèse de composés phénoliques, principalement dans les 72 h suivant le traumatisme [6];

— l'inoculation par un *Phytophthora* sp. détermine un accroissement des teneurs et une modification qualitative des phénols totaux ainsi que la synthèse de substances considérées comme des phytoalexines ([12], [15], [16]).

L'absorption de TEPA par des folioles saines ne modifie pas le bilan apparent des substances ci-dessus. Le TEPA n'est donc pas lui-même un inducteur. En revanche, son apport à des folioles inoculées stimule les réactions de défense contre le *P. capsici*. Jusqu'alors la stimulation de la résistance a été provoquée soit par l'addition de chloramphénicol, mais qui est par ailleurs toxique pour le *P. infestans* dans le cas de la Pomme de Terre [7], soit pour le couple *Lycopersicum-Fusarium oxysporum*, par l'apport de métabolites particuliers comme le catéchol ou le quinate de sodium ([2], [14]). Ces deux dernières techniques ont provoqué seulement une augmentation temporaire de la résistance.

Dans nos essais, la progression du parasite est bloquée *in situ* peu après l'apport de TEPA. Or les *P. parasitica* et *P. palmivora*, espèces dont la pathogénie est très proche de celle du *P. capsici*, pénètrent en moins de 2 h dans les tissus des plantules de Tomates. L'activité de leur endo-PATE y est décelable 6 h après l'inoculation [13]. D'autre part, la synthèse de phytoalexines marquées par le ¹⁴C est dosable dans les tissus des plantules environ 6 h après l'infection [15]. La réaction de défense des tissus de Tomates est cependant insuffisante pour arrêter la progression des *P. parasitica* et *P. palmivora* aussi bien que celle du

P. capsici. Le TEPA pourrait donc contribuer à stimuler chez l'hôte les synthèses des substances fongitoxiques peu après son application. Il en résulterait une accumulation, dans les tissus infectés, de composés phénoliques et de phytoalexines inhibant la croissance et les enzymes pectinolytiques du parasite comme nous l'avons observé chez divers *Lycopersicum* ([4], [12]). Cette hypothèse est confortée par les travaux de Yoshikawa et coll. [19] : chez le Soja, la résistance au *P. megasperma* v. *sojae* est en relation avec l'accumulation de phytoalexines atteignant une concentration létale en 8 à 10 h au foyer d'infection. Le mode d'action du TEPA au niveau moléculaire n'est pas connu. Cependant, nous savons que le *Phytophthora infestans* [17] produit simultanément un inducteur (ou « éliciteur ») et un suppresseur (de l'activité de l'inducteur) en ce qui concerne la biosynthèse des phytoalexines de l'hôte. Bien que ces substances ne soient pas encore démontrées pour le *P. capsici*, le TEPA pourrait favoriser directement l'activité de l'inducteur, ou des réactions métaboliques subséquentes, ou agir indirectement en bloquant le fonctionnement du suppresseur. Des recherches dans ce sens devront être entreprises.

La Société Rhône Poulenc nous a fourni du TEPA dès 1976. Madame Éliane Constant (O.R.S.T.O.M.) a contribué à la réalisation technique de ces travaux.

(*) Remise le 12 février 1979 et acceptée, après révision, le 9 avril 1979.

- [1] A. BERTRAND et coll., *Phytiatrie-Phytopharm.*, 26, 1977, p. 3-13.
- [2] A. CARRASCO, *Thèse doctorat 3^e cycle*, n° 1959, Univ. Toulouse, 1977.
- [3] M. CLERJEAU et A. BEYRIES, *Phytiatrie-Phytopharm.*, 26, 1977, p. 73-83.
- [4] P. DAVET et A. RAVISE, *Comptes rendus*, 282, série D, 1976, p. 1351.
- [5] A. EL KHATIB et coll., *Comptes rendus*, 278, série D, 1974, p. 2795.
- [6] A. FLEURIET et J. J. MACHEIX, *Comptes rendus*, 285, série D, 1977, p. 1103.
- [7] Z. KIRALY et coll., *Nature*, 239, 1972, p. 456-458.
- [8] P. LANGCAKE, *C. R. 3^e Congr. Int. Path. vég.*, Munich, 1978, p. 248.
- [9] M. MORGAT, X. MOURICHON, P. SAINDRENAN et G. BOMPEIX, *Arboricult. Fruit*, 283, 1977, p. 27-34.
- [10] J. PONCHET et coll., *Ann. Phytopathol.*, 7, 1975, p. 105-114.
- [11] A. RAVISE et J. TANGUY, *Comptes rendus*, 272, série D, 1971, p. 1252.
- [12] A. RAVISE et B. TRIQUE, *Comptes rendus*, 274, série D, 1972, p. 1505.
- [13] A. RAVISE et B. TRIQUE, *Agron. Trop.*, 27, 1972, p. 751-762.
- [14] N. RETIG et I. CHET, *Physiol. Plant Pathol.*, 4, 1974, p. 469-475.
- [15] B. TRIQUE, *Phytopathol. Z.*, 83, 1975, p. 1-9.
- [16] B. TRIQUE, *Comptes rendus*, 284, série D, 1977, p. 1533.
- [17] J. L. VARNIS et J. KUC, *Phytopathology*, 61, 1971, p. 174-181.
- [18] VO THI HAI, *Thèse doctorat 3^e cycle*, Univ. Paris-VI, 1979.
- [19] M. YOSHIKAWA et coll., *Physiol. Plant Pathol.*, 12, 1978, p. 73-82.

V. T. H. et G. B. : *Laboratoire de Pathologie végétale,*
Université Pierre-et-Marie-Curie, 75230 Paris Cedex 05;

A. R. : *S.S.C. de l'O.R.S.T.O.M., 74, route d'Aulnay, 93140 Bondy.*