

PHYTOPATHOLOGIE. — *Observations sur quelques enzymes du Pyrenochaeta lycopersici Gerlach et Schneider contribuant aux dégradations parasitaires chez certains Lycopersicum Mill., et sur les réactions de défense de l'hôte.* Note (*) de M. Pierre Davet, présentée par M. Roger Heim.

Le *Pyrenochaeta lycopersici* synthétise des hydrolases et des transéliminases pectiques, des α et β -amylases, une β -glucosidase. Les amylases sont inductibles. Les transéliminases pectiques sont constitutives mais leur activité est fortement stimulée en présence d'inducteur. Cette activité paraît prédominante dans les altérations de tissus de *Lycopersicum esculentum* sensibles. Par contre elle est très réprimée chez le *L. hirsutum*, résistant.

Le *Pyrenochaeta lycopersici* Gerlach et Schneider constitue actuellement un parasite majeur de la tomate dans toutes les zones de culture intensive. Sa progression dans les racines est lente mais ne paraît pas rencontrer d'obstacle chez le *Lycopersicum esculentum* Mill. L'étude ci-dessous tente d'apporter une contribution à la connaissance du mécanisme d'action de cet agent pathogène.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Les espèces et variétés éprouvées, fournies par l'INRA, sont les suivantes : *Lycopersicum esculentum* Mill., variétés Marmande, Marsol et Moneymaker ; *L. hirsutum*, var. *glabratum* Mill., hautement tolérante au *P. lycopersici* ; hybride Mobohir 1 entre le *L. esculentum* var. Monalbo (phénotype Moneymaker) et le *L. hirsutum* var. *glabratum*. Les plantes sont cultivées dans de la terre stérile à laquelle est incorporée une quantité mesurée d'inoculum. Les souches de *P. lycopersici* proviennent d'isolements récents, de pouvoir pathogène contrôlé. Les extraits enzymatiques sont préparés à basse température en présence d'acide ascorbique, centrifugés, puis concentrés sous vide et dialysés.

Les essais de macération sont réalisés selon les techniques de Bateman (1) pour la pomme de terre et de Ravisé et Trique (12) pour la tomate. Les hydrolases sont déterminées par spectrophotométrie après traitement à l'acide thiobarbiturique (ATB) [(2), (15)]. Les transéliminases sont étudiées par spectrophotométrie en ultraviolet et après réaction de l'ATB [(12), (13)]. Le mode d'action des enzymes pectinolytiques est précisé par l'étude chromatographique des produits de dégradation (15). La pectine méthyl estérase est recherchée par titrimétrie (15). La cellulase et la cellobiase (4), les amylases [(9), (10)] sont recherchées par la caractérisation des produits résultant de leur action. L'activité de la β -glucosidase est mesurée par colorimétrie (14).

RÉSULTATS. — L'étude enzymatique des filtrats de culture montre que les substances pectiques sont dégradées par deux groupes d'enzymes : hydrolases et transéliminases. Nous n'avons jamais décelé de pectine méthyl estérase. L'activité des hydrolases (EC 3.2.1.15), maximale à pH = 5,5, est peu importante dans nos essais. Elle correspond à celle d'une endopectate-hydrolase et d'une endopectine-hydrolase (5). L'activité des transéliminases pectiques (EC 4.2.99.3), prédominante, s'exerce d'une part sur les substrats très méthylés (type pectine-lyase), d'autre part

28 NOV. 1975

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

M n° 7901 Phyto

sur l'acide polygalacturonique et le polypectate de sodium (type pectate-lyase). Le pH optimal est de l'ordre de 9 dans ces deux cas, mais l'activité est encore notable à $\text{pH} = 7$. Les lyases sont élaborées en faible quantité dans un milieu contenant du glucose en l'absence de substrat pectique. Leur synthèse est fortement stimulée en présence de racines broyées et n'est pas réprimée par l'incorporation de 0,5 % de glucose (fig. 1). Elles sont décelables dans le filtrat de culture 24 h après l'ensemencement d'une pastille d'inoculum. Les produits de dégradation correspondent à l'action d'endo-enzymes.

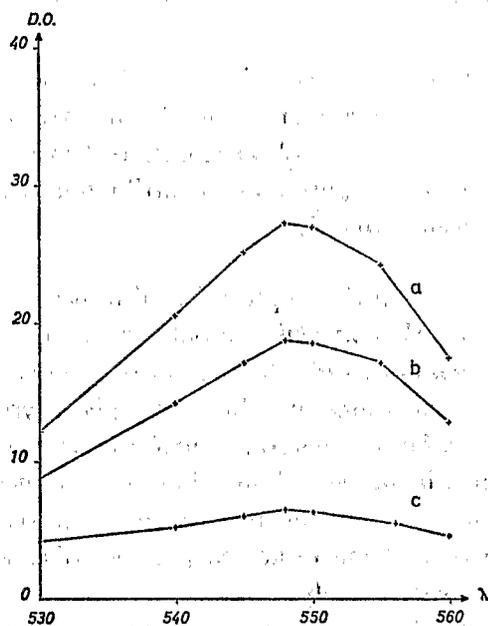


Fig. 1

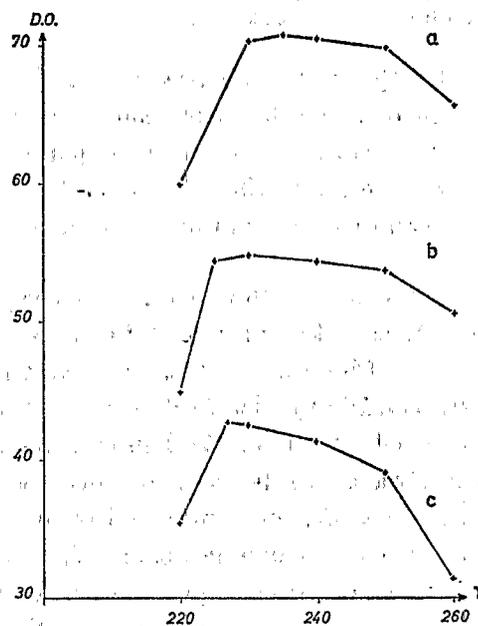


Fig. 2

Fig. 1. — Mesure de l'activité de l'endopectate lyase dans les filtrats de culture du *Pyrenochaeta lycopersici* selon la composition du milieu : a. Milieu minéral sans glucose et avec 15 g/litre de racines de tomate broyées ; b. Milieu minéral avec 5 g/litre de glucose et 8 g/litre de tomate broyées ; c. Milieu minéral avec 10 g/litre de glucose et sans racines de tomate.

Fig. 2. — Etude comparative, sur un substrat méthylé à $\text{pH} = 8$, de l'activité pectine lyasique d'extraits de racines infectées : a. provenant de *Lycopersicon esculentum*, var. Moneymaker, sensible ; b. provenant de l'hybride Mobohir 1, tolérant ; c. provenant de *L. hirsutum*, var. *glabratum*, plus résistant.

Les filtrats possèdent une forte activité amylolytique due à une α -amylase (EC 3.2.1.1) et à une β -amylase (EC 3.2.1.2), toutes deux inductibles. Nous n'avons pas décelé de cellulase ni de cellobiase par les méthodes utilisées. L'existence d'une β -glucosidase (EC 3.2.1.21) est confirmée (3).

Les extraits enzymatiques de racines infectées provoquent une dégradation des parois cellulaires de coupes de tiges de plantules de tomate et de tubercules de pomme de terre. Le phénomène est plus marqué à $\text{pH} = 7,5$ ou 8 qu'à $\text{pH} = 4,5$ ou 5,5.

Les filtrats de culture ne provoquent pas de macération à pH = 5,5 lorsque la source de carbone était constituée exclusivement par du glucose. Au même pH, lorsque le milieu de culture contenait un inducteur, une macération faible a lieu. A pH = 8, la macération est obtenue après culture sur glucose seul, mais l'augmentation de la densité optique entre 260 et 320 nm est deux fois plus importante si un inducteur était présent dans le milieu. Les mesures à l'ATB confirment la présence de lyases pectiques.

L'existence d'une forte activité lyasique dans les tissus de racines infectées a été vérifiée chez plusieurs variétés sensibles récoltées 6 semaines après leur inoculation par diverses souches du *P. lycopersici*. Le pH du jus brut des racines infectées est supérieur à celui des racines saines (par exemple 7,2 contre 5,8 pour la variété Marmande). Les extraits racinaires dégradent aussi bien les pectines fortement méthylées que l'acide polygalacturonique. Dans tous les cas il n'y a pas, ou très peu, d'activité lyasique dans les tissus des plantes saines. L'activité des polygalacturonases paraît négligeable dans toutes les préparations, dans nos conditions expérimentales.

Les filtrats de culture de souches non pathogènes ne provoquent pas de macération des tissus de tomate quel que soit le pH de l'essai. Cependant ces filtrats manifestent des activités pectine et pectate-lyasique du même ordre que les souches pathogènes. Ils possèdent aussi des hydrolases pectiques, une α -amylase, une β -amylase et une β -glucosidase.

L'espèce sauvage *L. hirsutum* possède des caractères de résistance au *P. lycopersici* : moins du tiers des racines de cet hôte présentent des lésions brunes, limitées, après 6 semaines de culture dans un sol contaminé. L'activité des lyases dans des extraits de ces racines est très basse, tant dans les parties d'apparence saine que dans les zones nécrosées (fig. 2). L'espèce cultivée *L. esculentum* var. MoneyMaker ne possède au contraire aucun caractère de résistance ; dans les mêmes conditions que ci-dessus environ 95 % des racines sont fortement nécrosées. Les extraits racinaires de ces plantes manifestent une activité lyasique importante. L'hybride Mobohir 1, phénotypiquement proche du type MoneyMaker, a un système racinaire rappelant celui du parent sauvage, et il est partiellement résistant : la moitié des racines porte des lésions brunes ; une légère activité lyasique est décelable dans les extraits de racines malades.

DISCUSSION. — Il a été indiqué récemment que l'endopolygalacturonase du *P. lycopersici* pourrait être responsable de la désagrégation des cellules (5). Cependant cette enzyme semble présente à faible concentration ou localisée en des foyers restreints dans les tissus nécrosés. D'autre part, les altérations de tissus par les polygalacturonases sont rapides et aboutissent à une désorganisation complète (2) tandis que les préparations enzymatiques obtenues à partir de cultures du *P. lycopersici* ou de racines infestées d'hôtes sensibles provoquent une dégradation lente des tissus de tomate et de pomme de terre. Enfin l'augmentation du pH dans les racines malades tend à créer un milieu défavorable pour l'activité et pour la synthèse des polygalacturonases (5).

Dans les tissus racinaires attaqués, nous avons observé à la fois une élévation du pH [également notée dans d'autres infections où des transéliminases sont impliquées (6)] et une forte activité lyasique. Les lyases sont inhibées dans les racines des plantes résistantes. La réduction de ces activités enzymatiques *in vivo* varie dans le même sens que la résistance de l'hôte. Les souches non pathogènes du *P. lycopersici* manifestent sur des substrats pectiques des activités lyasiques presque aussi importantes que les souches pathogènes ; cependant elles ne provoquent pas *in vitro* la macération de coupes de tissus. Il est possible que les enzymes élaborées par ces deux catégories d'isollements soient de nature différente. Chez la tomate, Ravisé et Trique ont vérifié *in vivo* et *in vitro* que l'intensité des altérations provoquées par la pectine-lyase du *Phytophthora palmivora* et du *P. nicotianae* dépend à la fois de la concentration et de la nature des pectate-lyases associées (12), qui se comportent ainsi comme la « cell wall modifying enzyme » de Karr et Albersheim (7). Ces auteurs ont établi un parallèle entre l'augmentation de la teneur des hôtes en produits phénoliques et en phyto-alexines et l'inactivation de ces lyases. Ces produits inhibent également l'activité des β -glucosidases et des amylases [(11), (13)].

Les réactions de l'hôte ne paraissent pas spécifiques. Des substances dont les spectres d'absorption dans l'ultraviolet sont très voisins ont été isolées de cultivars de tomates possédant des caractères de résistance à différents parasites, dont le *P. lycopersici* (8). Les réactions de la plante-hôte dépendraient ainsi davantage de son génome que de la nature du parasite. Nous nous proposons de vérifier cette hypothèse en poursuivant l'étude du mécanisme de la résistance au *P. lycopersici*.

(*) Séance du 21 mai 1975.

(1) D. F. BATEMAN, *Neth. J. Pl. Path.*, 74, 1968, p. 67-80.

(2) D. F. BATEMAN, *Phys. Plant Path.*, 2, 1972, p. 175-184.

(3) M. BESRI, *Thèse de Sciences*, Nancy, 1970.

(4) Y. H. CHAN et W. E. SACKSTON, *Can. J. Bot.*, 48, 1970, p. 1073-1077.

(5) P. W. GOODENOUGH et G. A. MAW, *Phys. Plant Path.*, 4, 1974, p. 51-62.

(6) J. G. HANCOCK et R. L. MILLAR, *Phytopathology*, 55, 1965, p. 346-355.

(7) A. L. KARR et P. ALBERSHEIM, *Plant Physiol.*, 46, 1970, p. 69-80.

(8) A. EL KHATIB, A. ARAMOUNI, A. HASSAN et A. RAVISÉ, *Comptes rendus*, 278, Série D, 1974, p. 2795-2798.

(9) C. MERCIER et A. COLAS, *Ann. Nutrit. Aliment.*, 21, 1967, p. 299-340.

(10) M. PERTEN, *Cereal Chem.*, 43, 1966, p. 336-342.

(11) A. RAVISÉ et B. TRIQUE, *Comptes rendus*, 274, Série D, 1972, p. 1505-1508.

(12) A. RAVISÉ et B. TRIQUE, *Agron. Trop.*, 27, 1972, p. 751-762.

(13) A. RAVISÉ et B. TRIQUE, *Coton et Fib. trop.*, 27, 1972, p. 295-310.

(14) E. T. REESE, A. M. MAGUIRE et F. W. PARRISH, *Can. J. Biochem.*, 46, 1968, p. 25-34.

(15) B. TRIQUE, *Oléagineux*, 26, 1971, p. 163-168.

Mission de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer,
Institut de Recherche Agronomique du Liban,
Fanar par Jdeïdeh el Metn, Liban.