

PHYTOPATHOLOGIE. — *Inhibition du Colletotrichum coccodes (Wallr.) Hughes, du Pyrenochaeta lycopersici Schneider et Gerlach et de leurs enzymes pectinolytiques par les substances élaborées chez quelques Lycopersicon Mill. en réaction à l'infection par le complexe parasitaire des racines.* Note (*) de MM. Pierre Davet et André Ravisé, présentée par M. Roger Heim.

Les substances extraites de racines de *Lycopersicon* résistants ou tolérants au *Pyrenochaeta lycopersici* et au *Colletotrichum coccodes* peuvent inhiber *in vitro* la croissance des deux micro-mycètes et l'activité de leurs enzymes extracellulaires participant aux dégradations parasitaires.

Chez divers *Lycopersicon*, la résistance des plantules à l'infection par le *Phytophthora nicotianae* et le *P. palmivora* correspond à l'accumulation de composés phénoliques et de phytoalexines dans les tissus atteints [(⁹), (¹⁰)]. Des réactions analogues ont été observées chez plusieurs variétés de Tomates cultivées dans des sols infestés par divers parasites telluriques (?). Nous nous proposons de vérifier si de tels composés peuvent être impliqués dans la résistance à deux parasites importants des racines : le *Colletotrichum coccodes* et le *Pyrenochaeta lycopersici*.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES. — Le matériel végétal, cultivé en pots, comprend les lignées et espèces suivantes fournies par l'I.N.R.A. : Moneymaker (*L. esculentum* sensible), Espalier (*L. esculentum* var. *cerasiforme* faiblement résistante), Mobohir 1-6 (recroisement de *L. hirsutum* par *L. esculentum*, moyennement résistant) et *L. hirsutum* var. *glabratum* (résistant). La terre des pots provient soit d'une parcelle naturellement très contaminée (Nahr et Kelb), soit d'une parcelle peu infestée (Amchit) par les champignons constituant le complexe parasitaire des racines (⁴).

Les racines sont récoltées et notées lors de la floraison. Les composés phénoliques et les phytoalexines sont extraits et séparés par des méthodes décrites précédemment [(⁹), (¹⁰)]. Chaque extrait total de tissus est séparé par chromatographie ascendante sur gel de silice, l'éluant étant un mélange *n* hexane : acétate d'éthyle (1 : 1, v/v), en trois groupes de substances correspondant aux zones de R_f 0-0,12; 0,65-0,75 et 0,85-0,98. Les extraits totaux et les fractions sont dosés par les méthodes de Folin Ciocalteu (⁹) et de Moore et Bauman (³) pour déterminer les teneurs en composés phénoliques et terpéniques.

Les enzymes pectinolytiques du *P. lycopersici* et du *C. coccodes* ont été étudiées précédemment [(⁵), (⁶)].

Nous comparons avec trois tests les aptitudes inhibitrices des extraits totaux à celles de leurs fractions. L'inhibition de l'activité d'enzymes pectinolytiques d'origine fongique (filtrats de culture) ou commerciale (pectinase) est mesurée par spectrophotométrie en ultraviolet entre 226 et 238 nm pour l'endopectine transéliminase (endo PTE) et l'endopectate transéliminase (endo PATE), par spectrophotométrie entre 490 et 530 nm après traitement à l'acide thiobarbiturique ou par viscosimétrie pour l'endopolygalacturonase (endo PG) [(⁵), (¹⁰), (¹¹)]. La « macération » de sections de tubercules de Pommes de terre ou de tiges de plantules de Tomates par des filtrats de culture contenant les enzymes ci-dessus (ainsi qu'une β -glucosidase et une cellulase) est suivie par spectrophotométrie [(⁵), (¹²)]. Les altérations de micro-cultures des deux champignons, incubées pendant

17 JUIN 1976

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

Collection de Référence

n° 18226 Phyto

96 h à 24° dans un milieu nutritif liquide additionné d'inhibiteurs à concentration connue, sont appréciées au microscope; la survie des microthalles est déterminée une semaine après transfert sur milieu nutritif gélosé (?).

RÉSULTATS. — Des substances phénoliques et terpéniques s'accumulent dans les tissus de racines infectées. Les différences observées entre extraits provenant des quatre hôtes sont plus d'ordre quantitatif que qualitatif. Dans les essais mentionnés ci-dessous, le dosage des produits élaborés par l'hôte est exprimé en équivalents d'acide chlorogénique.

Les extraits totaux inhibent vigoureusement les diverses activités pectinolytiques de la pectinase. L'inhibition est totale avec un rapport effecteur/enzyme de 1/20 pour l'endo PATE, de 1/10 pour l'endo PTE, légèrement supérieur pour l'endo PG. Des trois fractions séparées par chromatographie, employées aux mêmes concentrations, celle de R_f 0,85-0,98 contenant la phytoalexine « B » [(7), (10)] s'avère la plus active.

L'activité endo PTE dans les filtrats de culture du *C. coccodes* est inhibée à partir de concentrations en effecteur de 10 µg/ml, celle du *P. lycopersici* entre 20 et 30 µg/ml. Les racines provenant du sol très contaminé fournissent des extraits qui, à concentration égale, sont moins actifs que ceux des racines récoltées à Amchit (tableau).

TABLEAU

Taux d'inhibition relative par rapport au témoin de l'activité endo PTE de filtrats de culture de *P. lycopersici* par des extraits de racines de *Lycopersicon infectées*.
Les concentrations des effecteurs sont exprimées en équivalents d'acide chlorogénique.

Origine des extraits		Concentrations (µg/ml)		
		5	10	20
botanique	géographique			
<i>L. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>	Amchit	56	74	95
	« Espalier »	27	33	95
<i>L. hirsutum</i> var. <i>glabratum</i>	Amchit	36	84	100
	Nahr el Kelb	28	80	—

La macération de coupes de tubercules de Pomme de terre par l'endo PG et l'endo PTE à leurs pH optimaux est inhibée par les extraits totaux pour des rapports effecteur/enzyme inférieurs à 1/50. La macération de tiges de Tomate par l'endo PG, l'endo PATE et l'endo PTE est bloquée ou très réduite pour des rapports effecteur/enzyme de 1/20. Dans les mêmes conditions, les diverses fractions des extraits ont un effet comparable. Avec des filtrats de culture de *C. coccodes* ou de *P. lycopersici* la macération de tiges de Tomate par les endo PG est inhibée et l'effet des lyases réduit de 50 à 75 % avec des concentrations d'effecteur comprises entre 5 et 10 µg/ml.

Les extraits totaux ou fractionnés des Tomates résistantes ou tolérantes empêchent le développement du *P. lycopersici* à la concentration de 10 µg/ml et celui du *C. coccodes* à 20 µg/ml. Avec la moitié de ces doses quelques filaments grêles, très vacuolisés, se développent chez chacun de ces champignons. Les concentrations supérieures provoquent une forte lyse. La fraction contenant les substances de R_f compris entre 0,85 et 0,98 paraît

un peu plus inhibitrice que les autres. Les extraits de racines de Money-maker n'arrêtent le développement des deux parasites qu'à la concentration de 20 µg/ml; à 5 µg/ml le *C. coccodes* croît encore presque normalement.

DISCUSSION, CONCLUSION. — Au cours de nos essais réalisés sur des sols à mycoflore parasitaire abondante, s'accumulent dans les racines de différents *Lycopersicon* des substances non décelées ou existant à l'état de traces chez les plantes saines. Des réactions analogues ont été observées tant chez des plantules cultivées et inoculées aseptiquement (*) que pendant la végétation de Tomates possédant divers caractères de résistance (7).

In vitro les composés élaborés par les *Lycopersicon* résistants ou tolérants à l'agent de la maladie des racines liégeuses perturbent à faible concentration la physiologie et la croissance du *C. coccodes* comme du *P. lycopersici*. Elles inhibent aussi la dégradation de substrats pectiques différemment méthylés, liés aux membranes ou libres, par les enzymes excrétées par les deux agents pathogènes ou par celles d'une préparation commerciale.

Parmi les produits élaborés par l'hôte nous avons distingué des composés phénoliques, principalement dérivés d'acides cinnamiques, et deux groupes de substances ayant des propriétés de phytoalexines. Les fractions les plus inhibitrices, dans nos conditions expérimentales, correspondent à celles contenant la phytoalexine « B » (7).

La comparaison de l'activité biologique des extraits de racines provenant de sols peu infectés et fortement parasités indique que ces derniers, à concentration équivalente, sont moins inhibiteurs. Il se pourrait qu'un inoculum important de *P. lycopersici* provoque soit la dégradation partielle soit l'inhibition de la synthèse d'une ou de plusieurs substances. Des situations analogues sont décrites pour d'autres interactions hôte-parasite, notamment chez le Poivron (14) et le Haricot (8).

Les produits accumulés chez des Tomates ayant différents patrimoines héréditaires peuvent inhiber *in vivo* la progression des hyphes de *Phytophthora* et leurs transéliminases pectiques (12) comme ils le font *in vitro*; dans ce cas ils agissent aussi sur d'autres champignons pathogènes et différentes enzymes : α -amylase, β -glucosidase, endo PG [(10), (11)]. Nous constatons une situation identique avec le *C. coccodes* et le *P. lycopersici*. Ainsi les réactions des *Lycopersicon* à divers parasites paraissent se traduire par l'accumulation de plusieurs groupes de substances possédant certaines analogies d'une espèce à l'autre. Une situation similaire est décrite par Arditti et coll. pour les phytoalexines de *Cymbidium*, de *Cattleya* et d'*Arundina* (1). Dans les deux cas les différences de réponse à l'infection pourraient en partie résulter des concentrations relatives de plusieurs groupes de produits possédant des propriétés inhibitrices peu spécifiques. Ces résultats semblent corroborer les recherches effectuées par Stoessl et coll. sur le Poivron [(13), (14)] et sur l'Aubergine (15). La poursuite des investigations pourrait contribuer à déceler l'existence éventuelle de réactions de défense plus spécifiques.

(*) Séance du 9 février 1976.

(1) J. ARDITTI, B. H. FLICK, A. EHMANN et M. H. FISCH, *Amer. J. Bot.*, 62, 1975, p. 738-742.

(2) D. F. BATEMAN, *Phytopathology*, 54, 1964, p. 438-445.

(3) J. BRISOU, *Précis de techniques d'enzymologie bactérienne*, 1969, Masson, Paris.

(4) P. DAVET, *Ann. Phytopathol.*, 5, 1973, p. 53-63.

(5) P. DAVET, *Comptes rendus*, 281, série D, 1975, p. 143.

(6) P. DAVET, *Ann. Phytopathol.*, 1975 (sous presse).

(7) A. EL KHATIB, A. ARAMOUNI, A. HASSAN et A. RAVISÉ, *Comptes rendus*, 278, série D, 1974, p. 2795.

- (⁸) H. D. VAN ETEN et D. A. SMITH, *Physiol. Plant Path.*, 5, 1975, p. 225-237.
(⁹) A. RAVISÉ et J. TANGUY, *Comptes rendus*, 272, série D, 1971, p. 1252.
(¹⁰) A. RAVISÉ et B. TRIQUE, *Comptes rendus*, 274, série D, 1972, p. 1505.
(¹¹) A. RAVISÉ et B. TRIQUE, *Coton et Fib. Trop.*, 27, 1972, p. 295-310.
(¹²) A. RAVISÉ et B. TRIQUE, *Agron. Trop.*, 27, 1972, p. 751-762.
(¹³) A. STOESSL, C. H. UNWIN et W. B. WARD, *Phytopath. Z.*, 74, 1972, p. 141-152.
(¹⁴) W. B. WARD, C. H. UNWIN et A. STOESSL, *Can. J. Bot.*, 52, 1974, p. 2481-2488.
(¹⁵) W. B. WARD, C. H. UNWIN, J. HILL et A. STOESSL, *Phytopathology*, 65, 1975, p. 859-863.

*Laboratoire de Pathologie végétale,
École nationale supérieure agronomique,
34060 Montpellier Cedex.*

et

*Mission de l'Office de la Recherche scientifique
et technique d'Outre Mer,
B. P. n° 9344,
Beyrouth, Liban.*