

PHYTOPATHOLOGIE. — *Evolution qualitative de certains composés phénoliques lors du déclenchement du phénomène d'hypersensibilité au virus de la Mosaïque du Tabac chez le Nicotiana Xanthi n. c.* Note (*) de M^{lle} Josette Tanguy et [M. Michel Gallet] présentée par M. Lucien Plantefol.

L'hypersensibilité du *Nicotiana tabacum* variété *Xanthi* n. c. à l'égard du virus de la Mosaïque du Tabac souche commune, s'accompagne d'une production de scopoline (glucoside-7 scopolétine), de férulyl-1 glucose et d'une importante accumulation d'acide férulyl-3 quinine. L'inhibition par la température de la réaction d'hypersensibilité se traduit par la disparition de ces substances.

Le *Nicotiana tabacum Xanthi* n. c. inoculé avec le virus de la Mosaïque du Tabac souche commune, réagit à partir de 13-14 °C par des lésions locales nécrotiques [(¹), (²)]. Rapidement après l'inoculation, les cellules dans lesquelles sont produits les nouveaux virions sont détruites, la multiplication s'arrête et l'infection reste localisée. C'est le phénomène de l'hypersensibilité. Entre 29 et 30 °C le virus envahit l'ensemble de la plante sauf le méristème apical, et la nécrose est remplacée par un simple jaunissement. Dans ce cas le déroulement de l'infection virale est le même chez un hôte sensible, le *Nicotiana tabacum* variété *Samsun* par exemple, que chez un hôte hypersensible. Il y a généralisation du virus dans la plante. Les propriétés biologiques des particules virales synthétisées à 30 °C chez un hôte hypersensible ne se différencient pas de celles produites à 20 °C chez un hôte sensible comme le *Nicotiana Samsun* (¹).

Les composés phénoliques étant selon certains auteurs (³) impliqués dans les processus biochimiques conduisant à l'expression du phénomène d'hypersensibilité au virus, il nous a paru intéressant d'étudier les variations subies par ces substances au cours de l'hypersensibilité et de voir s'il existe un lien entre métabolisme des phénols, hypersensibilité et température.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Les Tabacs sont élevés en salles climatisées à 20 °C ou 30 °C \pm 1 °C, sous une intensité lumineuse de 8 000 lx, une photopériode de 16 h et une hygrométrie de 70 %.

Les substances sont séparées par chromatographie à deux dimensions sur papier Whatman n° 1.

Les mélanges suivants sont utilisés :

1. Phase organique : *n*-butanol, acide acétique, eau, 4.1.5 ;
2. Acide acétique à 10 % ;
3. Phase organique : *n*-butanol, ammoniacque 2 N, 1.1 ;
4. *n*-butanol, éthanol, eau, 4.1.2 ;
5. Acide acétique à 2 %.

On opère sur chaque chromatogramme par comparaison avec des produits de référence. Quand ceux-ci ne sont pas disponibles commercialement, il est nécessaire de les isoler de plantes où ils ont été signalés. Ainsi l'acide caféyl-4 quinique est extrait de grains verts de Café de la variété *Robusta*. Le férulyl-1 glucose est

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

Collection de Références

n° 13841

6.3.1970

extrait de pétales de *Petunia* hybride, tandis que l'acide *p*-coumaryl-3 quinique est isolé de pommes vertes à cidre. C'est à partir de grains verts de Café de la variété *Robusta* que l'acide férulyl-3 quinique est isolé et purifié. La nicotiflorine, l'isoquercitrine et l'acide néochlorogénique ont été fournis par le Dr J. B. Harborne. Après chromatographie, les substances sont éluées et purifiées, afin d'étudier leurs spectres, leurs résistances aux hydrolyses acide et alcaline, et identifier les résidus phénoliques et non phénoliques apparaissant dans les hydrolysats.

L'hydrolyse acide des flavonosides et de la scopoline est réalisée au bain-marie à 100 °C pendant 30 mn et en milieu HCl N. L'hydrolyse des esters de l'acide cinnamique est effectuée par de la soude en rendant la solution 2 N. Elle est faite à la température du laboratoire pendant 45 mn. Les composés apparaissant dans les hydrolysats sont identifiés par chromatographie sur papier. Les flavonols sont séparés par le solvant « Forestal » (acide acétique : 30, eau : 10, acide chlorhydrique concentré : 3), tandis que la couche supérieure du mélange toluène : 4, acide acétique : 1, eau : 5, est employée pour les acides *p*-coumarique, férulique et la scopolétine.

Les caractéristiques physiques des composés que nous avons pu isoler, sont résumées dans le tableau ci-joint.

COMPOSITION EN PHÉNOLS DES FEUILLES DE TABAC. — Les principaux polyphénols présents dans les feuilles de *Nicotiana tabacum* var. *Xanthi* n. c. sont les acides chlorogéniques et la rutine ou rhamnoglucoside-3 quercétine. Les acides chlorogéniques sont au nombre de trois : l'acide caféyl-3 quinique ou chlorogénique, l'acide caféyl-5 quinique ou néochlorogénique et l'acide caféyl-4 quinique. Les feuilles de Tabacs renferment également d'autres flavonosides comme la nicotiflorine (rhamnoglucoside-3 kaempférol) et l'isoquercitrine (monoglucoside-3 quercétine).

Ces différents composés se retrouvent dans les feuilles de Tabac de la variété *Samsun*.

Il y a cependant une différence concernant la scopoline : ce glucoside de la scopolétine est toujours décelé dans des extraits de feuilles de *Nicotiana Samsun*, mais est absent ou en quantité extrêmement faible dans ceux des Tabacs de la variété *Xanthi* n. c.

MISE EN ÉVIDENCE DANS LE NICOTIANA XANTHI N. C. VIROSÉ A 20 °C, D'UN ESTER DE L'ACIDE FÉRULIQUE ET DU GLUCOSE, ET DE DÉRIVÉS DE L'ACIDE QUINIQUE. — L'infection à 20 °C d'un *Nicotiana Xanthi* n. c. par le virus de la Mosaïque du Tabac fait apparaître pour l'acide férulique deux types d'esters : un ester du glucose (férulyl 1 glucose) et un ester de l'acide quinique (acide férulyl-quinique). L'acide férulyl-quinique est en réalité un mélange de trois isomères dont le plus important est l'acide férulyl-3 quinique.

La formation de lésions locales nécrotiques se traduit par une production importante de férulyl-1 glucose et de scopoline. Ces composés ne sont jamais détectés dans des Tabacs sains ou virosés à 30 °C. Le *Nicotiana Xanthi* n. c., inoculé avec le virus de la Mosaïque du Tabac et séjournant à 20 °C, accumule également l'acide *p*-coumaryl-3 quinique, mais surtout les acides férulylquiniques, en particulier

TABLEAU

Caractéristiques chromatographiques et spectroscopiques des polyphénols des feuilles de *Nicotiana Tabacum* var. *Xanthi* n. c. inoculé à 20 °C, avec le virus de la Mosaïque du Tabac

Appellation	R _f dans les solvants					Spectres éthanol 95° (mμ)			Fluorescences en ultraviolet + NH ₃	Produits apparaissant après hydrolyse
	1	2	3	4	5	max	min	max (alcali)		
<i>Hydrolyse alcaline</i>										
A	45	72,80		36	62,77	245, (302), 328	265	52	vert-jaune	acide caféique, acide quinique
B	50	62,75	1	40	57,71,5	245, (302), 328	265	50	vert-jaune	acide caféique, acide quinique
C	57	67,77			57,71,5	245, (302), 328	265	49	vert-jaune	acide caféique, acide quinique
				D 49	63,72	235, (295), 325	263	46	vert	acide férulique, acide quinique
D (*) ...	65	71,81	3	D' 46	68,79	235, (295), 325	263	46	vert	acide férulique, acide quinique
				D" 41	70,81				vert	acide férulique, acide quinique
E	72	75,85	9	54	68,80	230, (292), 312	250	50	violet	acide <i>p</i> -coumarique, acide quinique
G (*) ...	55	79	19	69	65,75	240, (300), 330	263	50	vert	acide férulique, glucose
<i>Hydrolyse acide</i>										
H (*) ...	47	82	35	56	77	250, 287, 338	306	4	bleu	scopolétine, glucose
<i>Hydrolyse acide</i>										
F ₁	42	53	—	55	35	362, 260			jaune	quercétine, glucose, rhamnose
F ₂	52	57	—	64	41	353, 267			vert	keampferol, glucose, rhamnose
F ₃	59	30	—	70	22	362, 258			jaune	quercétine, glucose

Identification : A : acide caféyl-5 quinique ; B : acide caféyl-3 quinique ; C : acide caféyl-4 quinique ; D : acides férulylquiniques ; D : acide férulyl-3 quinique ; E : acide *p*-coumaryl-3 quinique ; G : férulyl-1 glucose ; H : scopoline ; F₁ : rutine ; F₂ : nicotiflorine ; F₃ : isoquercitrine.

(*) Composés phénoliques caractéristiques de l'hypersensibilité à 20 °C du *Nicotiana Xanthi* n. c.

l'acide férulyl-2 quinique. Ces substances ne sont qu'à l'état de traces dans les Tabacs sains de la variété *Nicotiana Xanthi* n. c., et disparaissent au moment de la généralisation du virus dans la plante, c'est-à-dire à 30 °C. Le *Nicotiana tabacum* var. *Samsun* totalement sensible au virus, bien qu'accumulant l'acide *p*-coumaryl-3 quinique, ne produit ni les acides férulylquiniques ni le férulyl-1 glucose. Quant à la scopoline, son accumulation est moindre que dans la variété *Nicotiana Xanthi* n. c. L'infection dans les deux variétés de Tabacs (*N. Xanthi* n. c. virosé à 20 °C et *N. tabacum Samsun*) s'accompagne d'une augmentation des acides chlorogéniques et des flavonosides, tout particulièrement de la rutine. Par ailleurs, l'infection à 30 °C du *Nicotiana tabacum Xanthi* n. c. se traduit par une baisse énorme de ces deux groupes de substances.

Des perturbations importantes doivent intervenir dans la chaîne de biosynthèse des phénols au cours de l'infection virale. La température de 30 °C en même temps qu'elle lève l'hypersensibilité du *Nicotiana Xanthi* n. c. à l'égard du virus de la Mosaïque du Tabac, semble jouer un rôle prépondérant dans le métabolisme des composés phénoliques, tout particulièrement dans celui de l'acide cinnamique et de ses dérivés.

(*) Séance du 7 juillet 1969.

(1) C. MARTIN et M. GALLET, *Comptes rendus*, 262, Série D, 1966, p. 646.

(2) C. MARTIN et M. GALLET, *Comptes rendus*, 262, Série D, 1966, p. 997.

(3) G. L. FARKAS et Z. KIRALY, *Phytopath. Z.*, 44, 1962, p. 105.

(O. R. S. T. O. M., 70-74, route d'Aulnay, 93-Bondy, Seine-Saint-Denis;
Station de Physiopathologie, I. N. R. A.,
B. V. n° 1540, 21-Dijon, Côte-d'Or.)