

Phytopath. Z., 112, 298—314 (1985)  
© 1985 Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg  
ISSN 0031-9481 / InterCode: PHYZA3

Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer,  
Institut de Recherche sur les Huiles et Oleagineux,  
Laboratoire des Mediateurs Chimiques

**Modulation des Réactions de Défense du Palmier a Huile  
Contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (Schlecht) Toovey  
Applications: Prémunition et Stimulation Chimique**

Par

B. TAQUET, A. RAVISÉ, J. L. RENARD et G. KUNESCH

Avec 7 figures

Reçu Octobre 9, 1984

**Résumé**

Chez le Palmier à huile, les caractères de tolérance à la fusariose vasculaire sont associés à l'accumulation dans les tissus de substances inhibitrices pour le *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*. Leur synthèse dépend du génome des lignées, dans une moindre mesure est décelée une variabilité individuelle. La réaction de défense est stimulée par l'inoculation préalable de souches avirulentes de *Fusarium oxysporum*. L'application d'éliciteurs, en particulier d'acide arachidonique provoque une stimulation des réactions de défense identique à la prémunition. Le traitement des plants par un inhibiteur compétitif de la PAL atténue la synthèse des substances fongitoxiques tant dans le cas des réactions naturelles que lors de la prémunition et de l'application d'acide arachidonique. Les tests réalisés *in vitro* mettent en évidence sept substances inhibitrices de nature phénolique, principalement des dérivés de l'acide benzoïque. Grâce à la plasticité de la réaction de défense, sa stimulation par l'application de médiateurs chimiques tel l'acide arachidonique est envisagée comme moyen de lutte contre la fusariose.

**Abstract**

**Defence reactions of palm trees  
to *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (Schlecht) Toovey  
Cross protection and stimulation of inhibitory substances**

In palm tree genetic characters of tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* are correlated with synthesis of fungal inhibitors in infected tissues. Individual variation of synthesis level is also observed among plants of a same line. Defence reactions are triggered by pre-inoculation of an

U.S. Copyright Clearance Center Code Statement: 0031-9481/85/1204-0298\$02.50/0

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

N° : 23648 ex. 1-32 11

Cote : B Date: 870512

avirulent strain of *Fusarium oxysporum*. Similar results are obtained by application of analogs of fungal elicitors like arachidonic acid. Quite the contrary, treatment of plants with a competitive inhibitor of PAL downs natural barriers and in a same way the effects of cross protection and arachidonic treatment. Seven phenolic compounds, mainly benzoic acid derivatives, inhibit *in vitro* the growth of pathogen like spores germination. The variability of the host reaction and its stimulation by elicitors could be used to improve the resistance.

### Zusammenfassung

#### Abwehrreaktionen der Ölpalme gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* Prämunität und Stimulierung der Hemmstoffbildung

In Ölpalmen sind Toleranz gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* und Synthese von Hemmstoffen in infizierten Geweben korreliert. In Einzelpflanzen einer Sorte wurden Unterschiede im Synthesegrad gefunden. Abwehrreaktionen werden durch eine Vorinfektion mit einem avirulenten Pilzstamm ausgelöst. Analoge von Elicitoren des Pilzes (z. B. Arachidonsäure) wirken ähnlich. Behandlung der Pflanzen mit Hemmern der PAL vermindert natürliche Abwehrmechanismen und die Wirkung von Prämunitisierung und Arachidonsäure. Sieben phenolische Verbindungen hemmten *in vitro* Wachstum und Sporenkeimung. Variabilität und Stimulierung der Wirtsreaktionen können zur Erhöhung der Resistenz eingesetzt werden.

La fusariose du palmier à huile, due à *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (FOE) est la maladie la plus grave de cette culture en Afrique. Des progrès importants ont été réalisés au cours des dix dernières années en matière de sélection de matériel végétal tolérant. Ces résultats sont basés sur les tests d'inoculation du FOE en préépinière et sur le bon comportement au champ des croisements retenus. Les caractéristiques des différentes origines de palmier à huile utilisées dans le programme de sélection de l'I.R.H.O. ont ainsi pu être définies (RENARD *et al.* 1980) en même temps qu'a pu être établi, à partir d'un test diallèle, le caractère polygénique de la résistance (MEUNIER *et al.* 1979). De ce fait, l'influence des conditions de milieu sur le comportement des croisements est importante et dans le mesure du possible, il en est tenu compte (technique culturale, fumure . . .) pour que s'exprime au mieux le potentiel de résistance (RENARD et QUILLEC 1983). Il serait vain, en effet, d'intervenir sur de grandes surfaces par le biais de fongicides pour tenter soit d'éliminer le FOE du sol, soit de l'inhiber dans les tissus de l'hôte bien qu'au niveau de la préépinière, avec inoculation artificielle, le benomyl protège la plantule contre le parasite. En outre, les jeunes palmiers à huile, à ce stade, tolèrent mieux une infection artificielle de FOE, s'ils ont été infectés au préalable par des souches de *Fusarium oxysporum* saprophytes isolées du sol. En moyenne, d'après plusieurs expériences réalisées en préépinières le pourcentage de plants malades après double inoculation (saprophyte puis souche pathogène) est environ deux fois plus faible qu'avec une seule inoculation avec la souche de FOE. Ces résultats sont comparables à ceux de la prémunitisation d'autres plantes contre des parasites majeurs (CARUSO et KUĆ 1977, TOUZE et ROSSIGNOL 1980). C'est pourquoi, nous avons entrepris des recherches sur la modulation des réactions de défense du palmier à huile à la fusariose en fonction des géniteurs et aussi des traitements — prémunitisation par des souches avirulentes, stimulation ou inhibition par des médiateurs chimiques.

## Matériel et Méthodes

### 1. Matériel végétal

Les essais concernent 17 lignées et 3 clones issus de multiplication végétative. Ils correspondent à différents croisements de géniteurs d'origine diverses — *Dura*, *Tenera*, *Pisifera* — obtenus et sélectionnés dans différentes plantations expérimentales de l'I.R.H.O.

Chaque plant issu de graines germées est repiqué en pot individuel en conditions naturelles à Dabou ou en conditions contrôlées de température et d'hygrométrie à Bondy. La nutrition des plants est assurée par des apports tous les 15 jours d'environ 50 ml d'une solution minérale. La composition par litre d'eau correspond à 2 g d'urée, 2 g de sulfate de magnésium, 4 g de potassium.

Les vitroplants — obtenus à partir de cals — sont, à un stade végétatif précis, semés et transplantés en pots dans les conditions de milieu et de nutrition identiques à celles issues de graines germées.

### 2. Techniques d'inoculation du FOE et des souches avirulentes

Les essais de prémunition sont réalisés à Dabou sur des plants issus de graines germées âgés de 4 mois. Ils correspondent à l'inoculation d'un broyat mycélien de souches avirulentes — isolées soit du sol R 92 (FOS), soit des tissus de palmier R 168 (FOT) — suivie 10 jours après de l'inoculation d'une souche pathogène de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* M 80 A<sub>1</sub> (FOE) (RENARD *et al.* 1972).

Les essais de modulation mis en place à Bondy et à Dabou utilisent la même souche M 80 A<sub>1</sub> (FOE).

Les différentes souches de *Fusarium oxysporum* sont cultivées sur milieu synthétique de composition et concentration suivantes par litre: glucose: 30 g — NO<sub>3</sub>Na: 2 g — PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>K: 1,4 g — SO<sub>4</sub>Mg: 0,75 g — (SO<sub>4</sub>) Fe<sub>2</sub>: 1 mg. Dans les 2 cas de prémunition et de stimulation, l'inoculum apporté au niveau des racines correspond à environ  $4 \times 10^6$  propagules pour une durée d'incubation moyenne de 2 mois.

### 3. Modulation des réactions de défense

Les essais de stimulation sont réalisés à partir de plants issus de graines ou de multiplication végétative âgés respectivement de 4 mois et de 14 mois. Ils correspondent à des applications hebdomadaires à la base des racines de 1,20 mg d'acide arachidonique — le 1er apport ayant lieu une semaine avant l'inoculation et se poursuivant 5 semaines après celle-ci.

Les essais d'inhibition concernent des plants identiques de ceux utilisés pour la stimulation. Ils correspondent à des applications bi-hebdomadaires d'acide  $\alpha$  amino-oxyacétique (AOA) à la dose de 5 mg par plant suivant les mêmes modalités d'apport et de durée que celles décrites pour la stimulation.

### 4. Préparation des extraits bruts de racines

Les tissus racinaires de chaque motif lavé sont broyés à froid dans l'éthanol 80. Après une double extraction des tissus, une partie aliquote des extraits bruts correspondant à 100 g de poids frais est destinée aux différentes analyses.

### 5. Caractérisation de la modulation de la réaction de défense

#### a) Dosage des composés phénoliques totaux

Il est réalisé par la méthode de Folin Ciocalteu.

Au minimum 3 répétitions permettent d'apprécier pour chaque lignée et clone, l'importance de l'accumulation de composés phénoliques après l'inoculation.

#### b) Chromatographie des extraits en ccm et plaques préparatives

Les tissus racinaires des plants de différents motifs sont chromatographiés — à équivalence de 250 mg de poids frais — sur des plaques de silice, dans différents systèmes d'élution. Ils correspondent

à des mélanges soit d'hexane — acétate d'éthyle — méthanol dans les proportions volumiques 50 : 50 : 5, soit de chloroforme — acétate d'éthyle — méthanol dans les proportions volumiques 50 : 50 : 10, soit d'acétate d'éthyle — méthanol — eau dans les proportions volumiques 100 : 10 : 3 ou 100 : 25 : 15. La révélation des différents constituants s'effectue à l'aide de plusieurs réactifs. Les composés phénoliques sont mis en évidence par le chlorure ferrique, la benzidine diazotée ou la paranitraniline, les glucides par le phtalate d'aniline, les substances terpéniques et lipidiques par le trichlorure d'antimoine à saturation dans le chloroforme.

### c) Chromatographie des extraits bruts en hplc

Des échantillons correspondant à 0,1 g de poids frais de racines sont chromatographiés sur une colonne de silice  $5 \mu - 1/4'' \times 25 \text{ cm}$  —.

Les systèmes d'éluants de la phase mobile correspondent à des mélanges de polarité croissante d'hexane — acétate d'éthyle et méthanol 90. Cette technique a été mise au point par référence à THOMAS *et al.* (1979). La détection des substances est réalisée avec un détecteur en ultra-violet à la  $\lambda$  de 280 nm.

### d) Tests biologiques de toxicité *in vitro*

À équivalence de 500 mg de poids de tissus racinaires frais, les différents motifs sont chromatographiés sur ccm. Les plaques, après pulvérisation d'une sporée de *Cladosporium cladosporioides* suivie de celle d'une solution nutritive gélosée, sont incubées de 48 à 96 heures, à 28 °C. L'absence de germination des spores sur ccm positionnent les différents produits toxiques à différents Rf. Le nombre et le diamètre des spots inhibiteurs indiquent la diversité et l'accumulation des composés fongitoxiques.

Les propriétés toxiques d'extraits racinaires bruts de plants — à des concentrations croissantes équivalent de 30 mg à 200 mg de tissus frais — sont appréciées, en milieu liquide, sur des germinations de spores de FOE. La durée d'incubation est de quinze heures à la température de 27 °C. L'inhibition de la germination de chaque extrait est caractérisée sur un total moyen, par série expérimentale, de 150 à 200 spores; chaque série étant répétée 5 à 10 fois. L'inhibition de la germination, exprimée en pourcentage, correspond au rapport:

$$\frac{\text{germination témoin} - \text{germination motif}}{\text{germination témoin}}$$

## Résultats

### A. Comportement du matériel végétal

Il existe des différences importantes de tolérance à la fusariose selon l'origine génétique des lignées. Celle-ci sont appréciées en préépinière deux mois et demi après l'inoculation. Dans les mêmes conditions, la prémunition par une souche avirulente atténue la sensibilité à l'agent pathogène. Le Tableau 1 indique la variabilité de la prémunition selon l'origine de la souche prémunisante et le génome des lignées de Palmier à huile.

Présumant que la prémunition peut dépendre de phénomènes d'élicitation, nous avons étudié en serre l'incidence d'éliciteurs d'origine fongique, ou de leurs analogues structuraux, sur la réaction de l'hôte. L'application des hexose amines, proches des chitosanes identifiées chez les *Fusarium* spp., mieux encore d'acide arachidonique reconnu chez le *Phytophthora infestans*, stimule les mécanismes de défense de la même façon que la préinoculation par une souche avirulente. C'est pourquoi nous étudions simultanément ces différents aspects de la modulation des barrières posées au parasite.

Tableau 1

Prémunition de 3 lignées de Palmier à huile contre le FOE par des souches avirulentes de *F. oxysporum* isolées du sol ou de tissus — résultats exprimés en pourcentage de plants indemnes ou fusariés. FOE: *Fusarium oxysporum* f. s. *clacidis*, pathogène. FOS: *Fusarium oxysporum* isolée du sol, avirulente. FOT: *Fusarium oxysporum* isolée de tissu de Palmier à huile avirulente

Motifs	série expérimentale A				série expérimentale B	
	lignée 1		lignée 2		lignée 3	
	indemnes	fusarium	indemnes	fusarium	indemnes	fusarium
FOE	60	40	85	15	75	25
FOS + FOE	90	10	95	5	30	10
FOT + FOE	90	10	98	2	95	5

## B. Étude comparative des teneurs en composés phénoliques totaux des tissus racinaires

### Reaction au FOE

Comme l'indique la Figure 1, il existe une corrélation positive entre la tolérance à la fusariose et l'accroissement des teneurs en composés phénoliques dans les tissus. Nous avons observé, pour une même lignée, au même stade végétatif, que la réaction est plus importante en préépinière de Côte d'Ivoire qu'en serre en France. Cependant, dans tous les cas étudiés les teneurs en phénols totaux des plants indemnes sont supérieures à celles des plants fusariés. Certains plants témoins possèdent des teneurs en composés phénoliques similaires à celles de plants inoculés par des souches avirulentes, conséquence présumée de l'incidence de la mycoflore du sol de culture riche en *Fusarium solani* et en *F. oxysporum*.

### Prémunition-Application d'éliciteurs

Dans toutes les expériences de prémunition, nous observons une accumulation différentielle de substances phénoliques dans les tissus. Les souches avirulentes de *F. oxysporum* provenant de tissus de Palmier à huile induisent une réaction plus importante que celles isolées du sol (Fig. 2). En outre, des différences de plasticité des lignées à la prémunition se traduisent par des variations de concentration de composés phénoliques dans les tissus des racines.

Nous obtenons des résultats similaires lors de l'application d'éliciteurs à 14 lignées et à 3 clones issus de multiplication végétative. La modulation de la réaction de défense apparaît indépendante du mode d'obtention des plants et de leur âge entre 4 et 14 mois. Dans nos essais, les mécanismes de stimulation des synthèses phénoliques semblent communs aux différents types d'*Elaeis* que nous avons testés.

### Application d'inhibiteur de synthèse des phénols

L'AOA, inhibiteur compétitif de la PAL, incorporé à une solution de culture hydroponique ou appliqué par arrosage, pénètre bien au niveau des racines. Il provoque dans les tissus une réduction de 10 à 25 % des teneurs en composés phénoliques, principalement de dérivés de l'acide benzoïque.

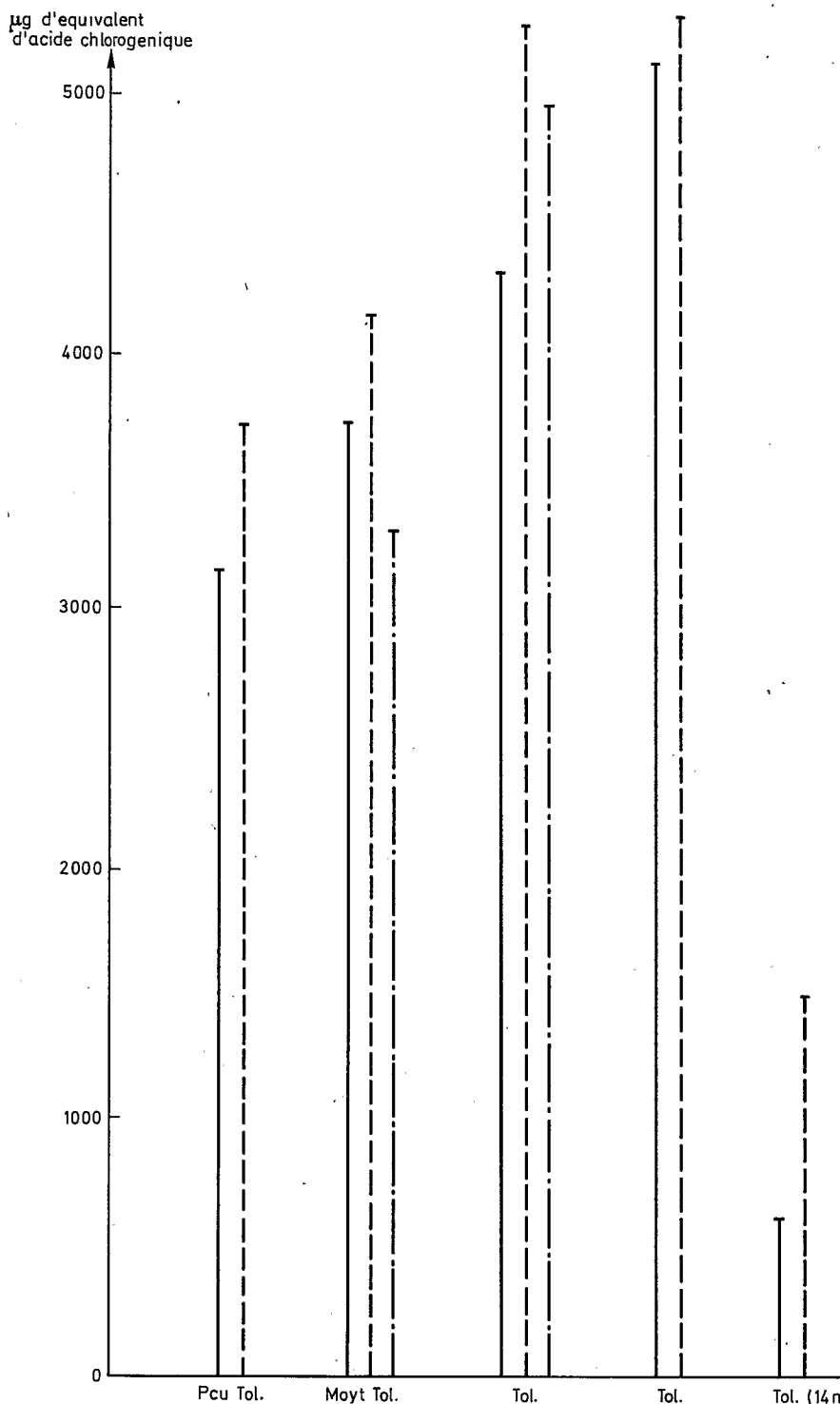


Fig. 1. Représentation schématique de l'accumulation de composés phénoliques dans les tissus de racines, 2 mois après l'inoculation par le FOE avec ou sans application de médiateur chimique. Les dosages sont exprimés en équivalents de  $\mu\text{g}$  acide chlorogénique par g de tissus frais. — inoculation par le FOE. --- FOE avec application d'acide arachidonique. - - - FOE avec application d'AOA

En Côte d'Ivoire, l'accumulation d'AOA dans le sol de culture, aux températures locales, se traduit parfois par des réactions de stress avec accumulation de phénols polymérisés.

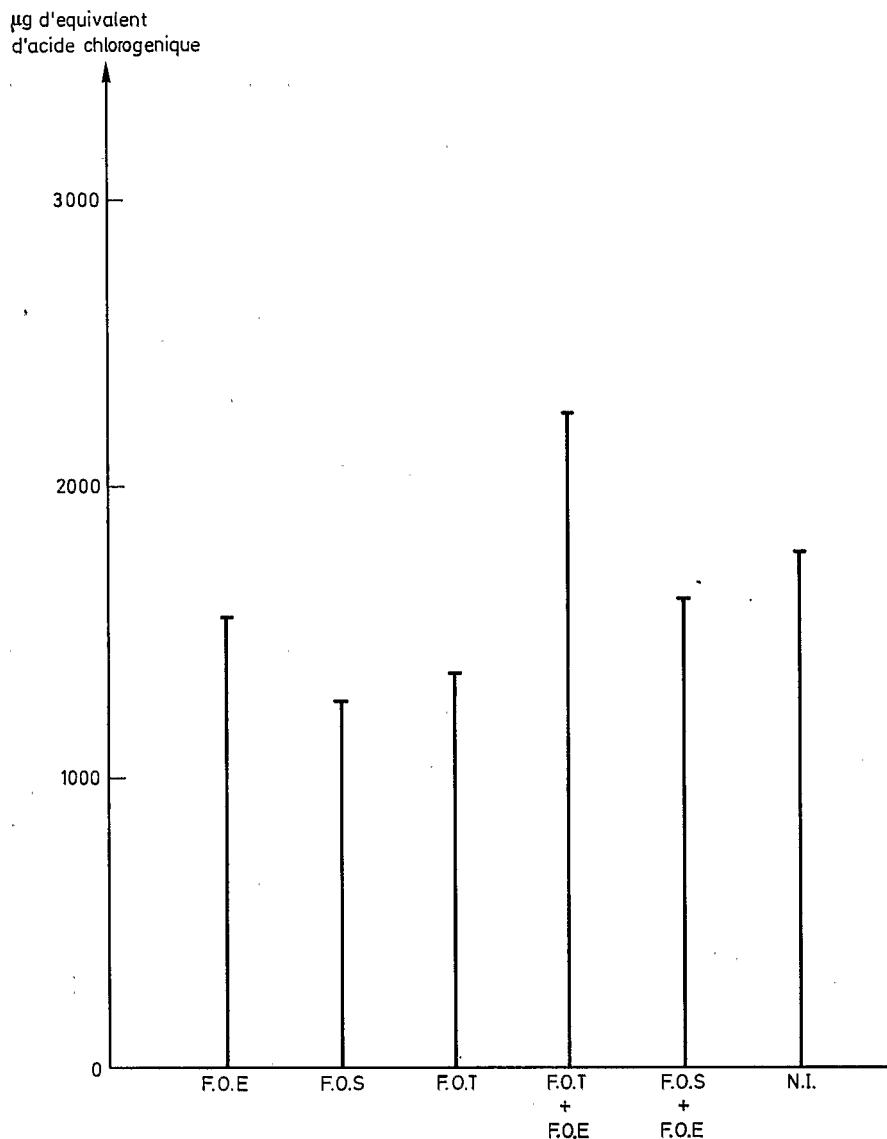


Fig. 2. Représentation schématique de l'influence de la prémunition sur l'accumulation de composés phénoliques dans les tissus des racines de la lignée No. 3. Les dosages sont exprimés en équivalents de µg acide chlorogénique par g de tissus frais. Les traitements sont: NI: témoin non inoculé cultivé sur sol de plantation. FOE: plants inoculés par la souche virulente. FOS: plants inoculés par la souche de *F. oxysporum* avirulente isolée du sol. FOT: plants inoculés par la souche avirulente de *F. oxysporum* isolée de tissus. FOT + FOE: inoculation de FOT suivie 10 jours après celle de FOE. FOS + FOE: inoculation de FOS suivie 10 jours après celle de FOE

### C. Caractérisation de la modulation de la réaction de défense par hplc

Les teneurs en facteurs de résistance dans les extraits bruts de tissus de racines sont comparées par une technique simple de chromatographie analytique en hplc sur colonne de silice avec détection dans l'ultra violet.

Dans nos essais, l'importance de quatre groupes de pics et leurs surfaces relatives rendent fidèlement compte de la variabilité de la réaction de défense en fonction des caractères génétiques et de la modulation (Figs. 3 et 4).

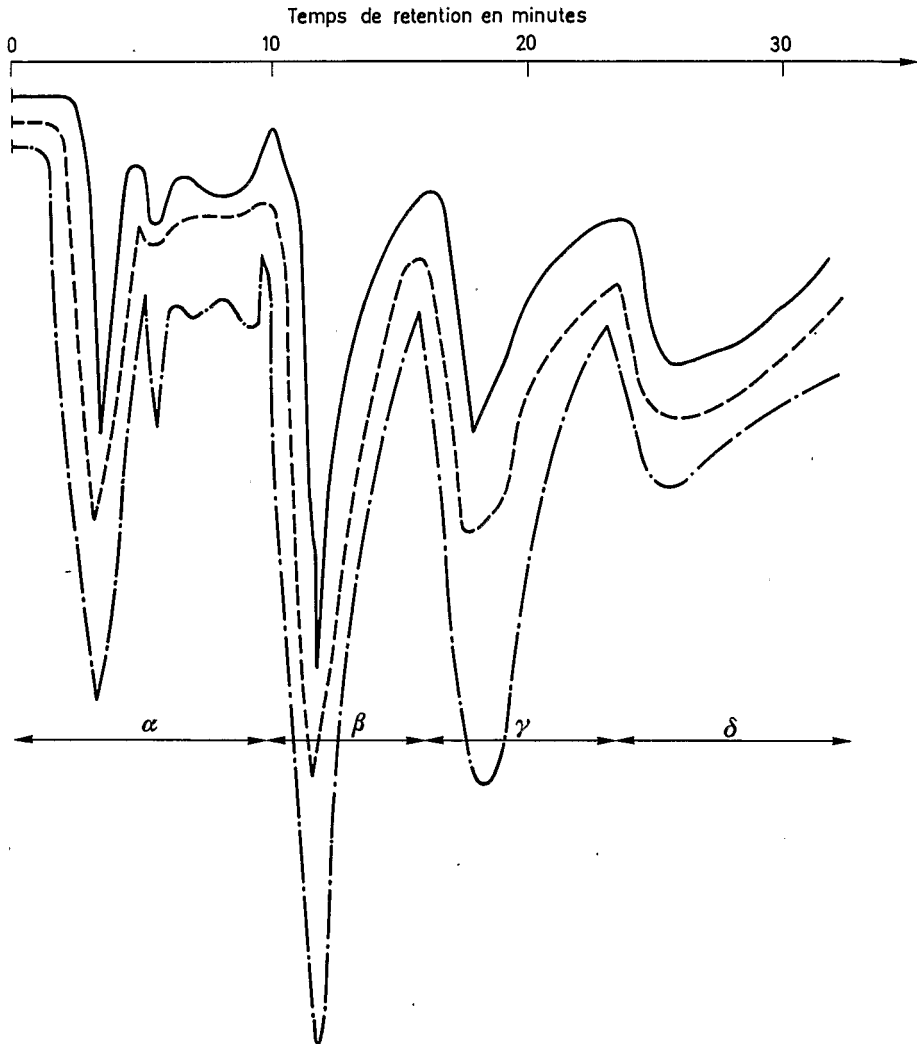


Fig. 3. Chromatographie comparative en hplc d'extraits de tissus de racines de plants infectés par le FOE ou prémunis par une souche de *F. oxysporum* avirulente isolée de tissus. Colonne de 25 cm  $\times$  1/4' inch, chargée de silice 5  $\mu$  détection en ultraviolet à 280 nm. L'éluant est un mélange d'Hexane-acétate d'éthyle méthanol 90 dans les proportions:  $\alpha = 50 : 50 : 5$ ,  $\beta = 20 : 100 : 15$ ,  $\gamma = 20 : 100 : 60$ ,  $\delta = 20 : 100 : 30$ . --- plants inoculés par le FOE. — plants inoculés par la souche avirulente de FOT. -.- prémunition par le FOT



Pour une même lignée, l'application d'AOA provoque une diminution de la tolérance à la fusariose tandis que l'effet contraire est obtenu par la prémunition ou par l'élicitation. Nous notons seulement des différences quantitatives entre plants inoculés en serre et en préépinière.

Nous avons vérifié expérimentalement la localisation de chaque facteur de résistance dans les trois principaux pics caractéristiques en hplc (Cf infra).

#### D. Évolution de la synthèse en substances fongistatiques

##### Caractérisation

La synthèse de facteurs de résistance intervient chez des Palmiers à huile correspondant aux groupes Dura, Tenera, Pisifera, en relation directe avec le degré de tolérance des lignées éprouvées en préépinière. Plusieurs facteurs, en particulier la nature du cytoplasme femelle, influent sur l'intensité de la réaction.

Les composés phénoliques semblent prédominer. L'accumulation concerne principalement des dérivés de l'acide benzoïque: para hydroxy benzoate d'éthyle, para hydroxy benzaldéhyde et dans une moindre mesure acide dihydroxy 3,4 benzoïque. Le premier, bien qu'identifié dans des extraits de tissus préparés sans éthanol, pourrait correspondre à un artéfact (notamment rupture d'un ester

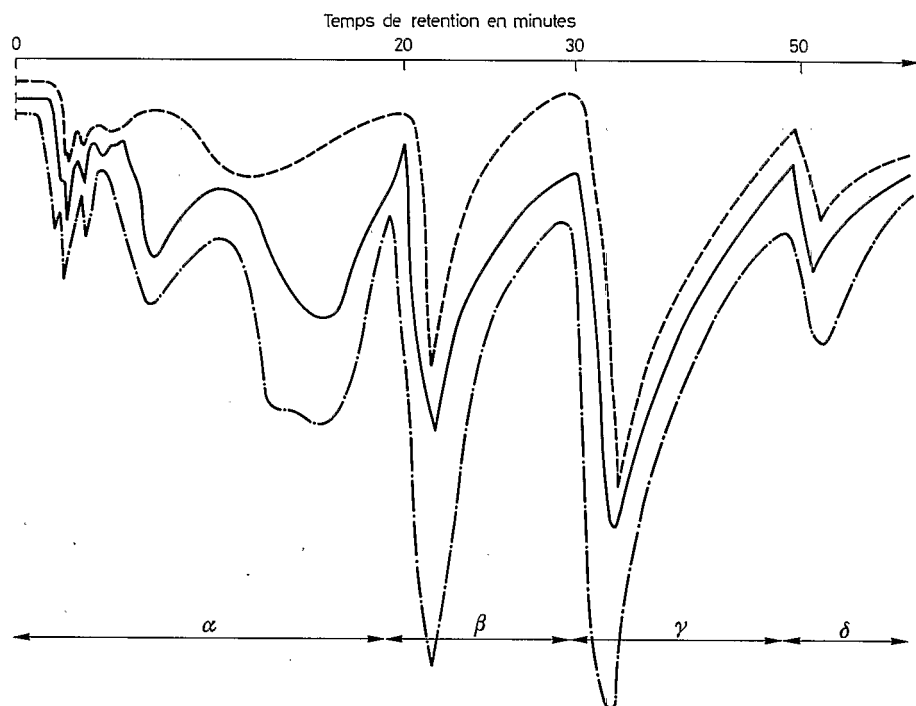


Fig. 4. Chromatographie comparative en hplc d'extraits de tissus de plants infectés par le FOE et de plants infectés puis traités par des médiateurs chimiques. Conditions expérimentales analogues à celles de la Figure 3. — plants inoculés par le FOE. --- plants inoculés et traités par l'AOA. -·- plants inoculés et traités par l'acide arachidonique

glucosidique). Nous observons aussi une importante augmentation des teneurs en acides cinnamiques: para coumarique, caféique, férulique. La substance toxique No. 3 (Fig. 5) semble correspondre à un dérivé d'acide cinnamique. D'autres produits, en particulier des flavonoïdes, sont en cours de détermination.

### Modulation

Les substances sont séparées en ccm et leur concentration est évaluée par l'intensité relative de plusieurs réactions colorées (para nitraniline,  $SbCl_3$ ,  $FeCl_3$ ). Des différences d'accumulation — à équivalence de poids de tissus frais — sont observées entre les lignées selon leur origine génétique. Par ailleurs, nous démontrons que les teneurs de ces mêmes substances peuvent être modulées par la prémunition ou l'application d'éliciteurs ainsi que par l'emploi d'un inhibiteur, l'AOA (Fig. 5).

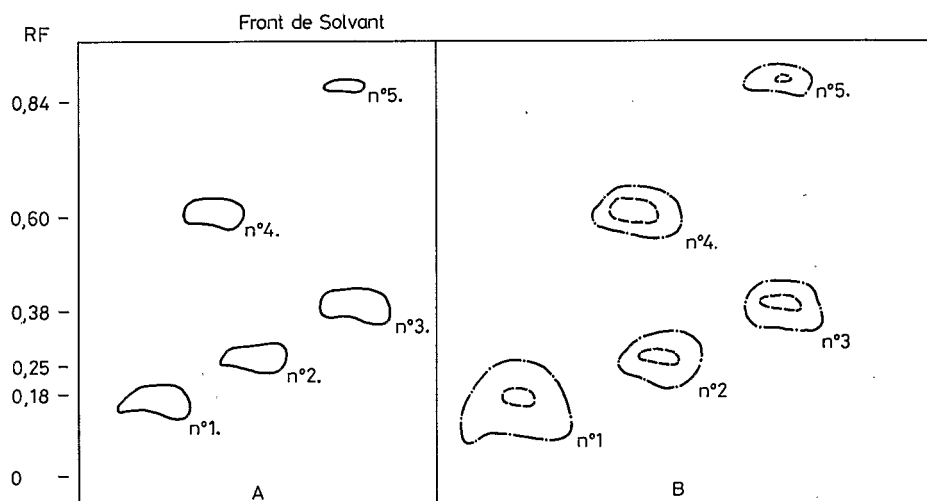


Fig. 5. Représentation des caractères chromatographiques sur plaques de silice, avec pour éluant le mélange chloroforme-acétate d'éthyle-méthanol (50 : 50 : 10), de 5 substances inhibitrices pour le FOE et de la modulation de leur synthèse. A: importance relative des spots correspondant à 250 mg de tissus frais de racines. B: influence de l'application d'acide arachidonique [1 mg] ou d'AOA [5 mg], aux mêmes poids frais, sur la synthèse des inhibiteurs. La révélation est effectuée par le réactif à la paranitraniline. — FOE. --- FOE + AOA. - - - FOE + Acide arachidonique

### E. Détermination des propriétés inhibitrices des facteurs de résistance

Les tests de toxicité *in vitro* sont réalisés à partir d'extraits bruts de plants tolérants et sensibles. Ils concernent l'inhibition de la germination de spores de *Cladosporium cladosporioides* et de FOE soit sur plaque chromatographique soit en milieu liquide.

Les différences de fongitoxicité des extraits — à équivalence poids de frais — varient dans le même sens que le classement des lignées correspondantes pour leur tolérance à la fusariose. De même, plus l'effet de la prémunition est important,

plus la toxicité, s'accroît (Fig. 6). L'élaboration des substances inhibitrices est nettement modulée par l'application d'AOA, inhibiteur de synthèse des phénols, et par celle d'éliciteurs (Fig. 7).

Ces résultats sont acquis avec des plants issus de graines ou provenant de multiplication végétative. De même l'âge des sujets ne modifie pas les mécanismes de défense. Cependant, la modulation de synthèse des substances inhibitrices dépend nettement des caractères génétiques des lignées étudiées (Fig. 7).

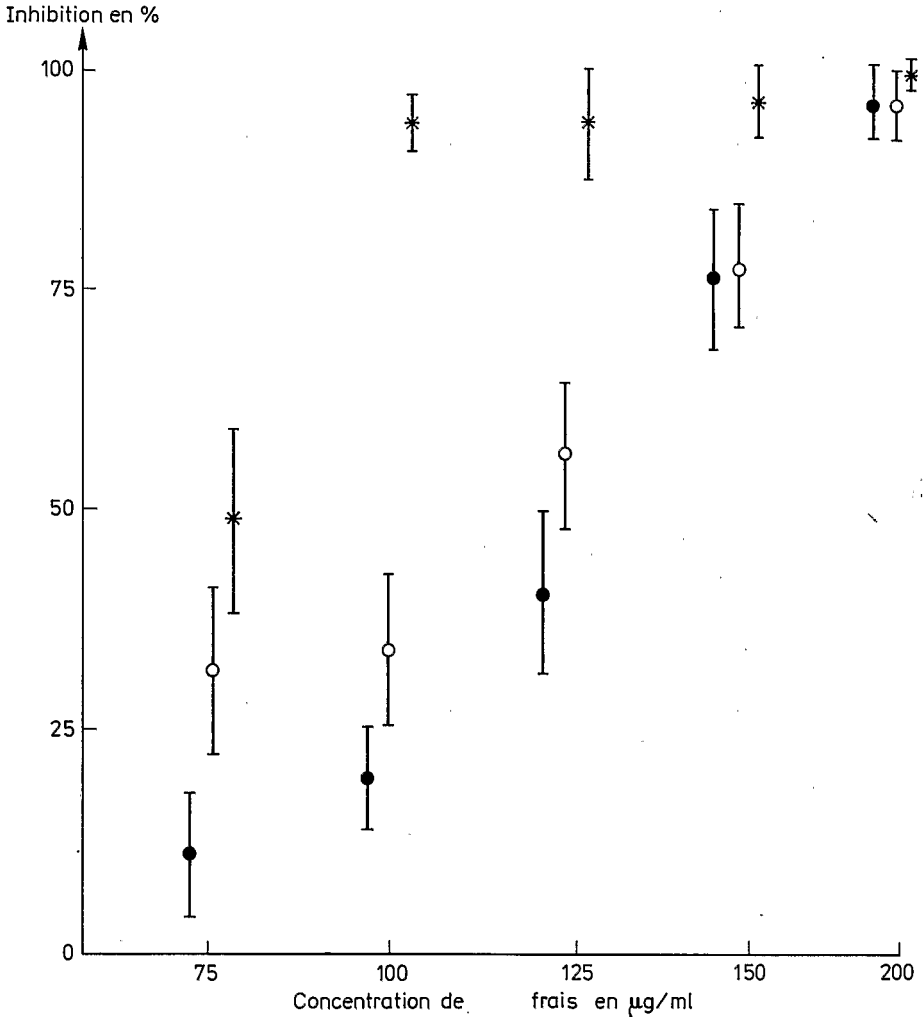


Fig. 6. Influence de la prémunition sur l'inhibition *in vitro* de la germination de spores de FOE. Les concentrations d'extraits correspondent à une gamme de 75 à 200 mg de tissus frais. L'incubation est de 15 heures à 28 °C avec agitation initiale de 2 heures. —●— plants inoculés par le FOE. —○— plants prémunis par une souche avirulente de *F. oxysporum* du sol. —\*— plants prémunis par une souche avirulente de *F. oxysporum* isolée de tissus

En milieu liquide, pour des plants provenant de Dabou, les concentrations inhibitrices moyennes de 50 % (C.I. 50) et de 100 % (C.I. 100) de germination de spores de FOE correspondent respectivement à 60  $\mu\text{g}$  et à 110  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de composés

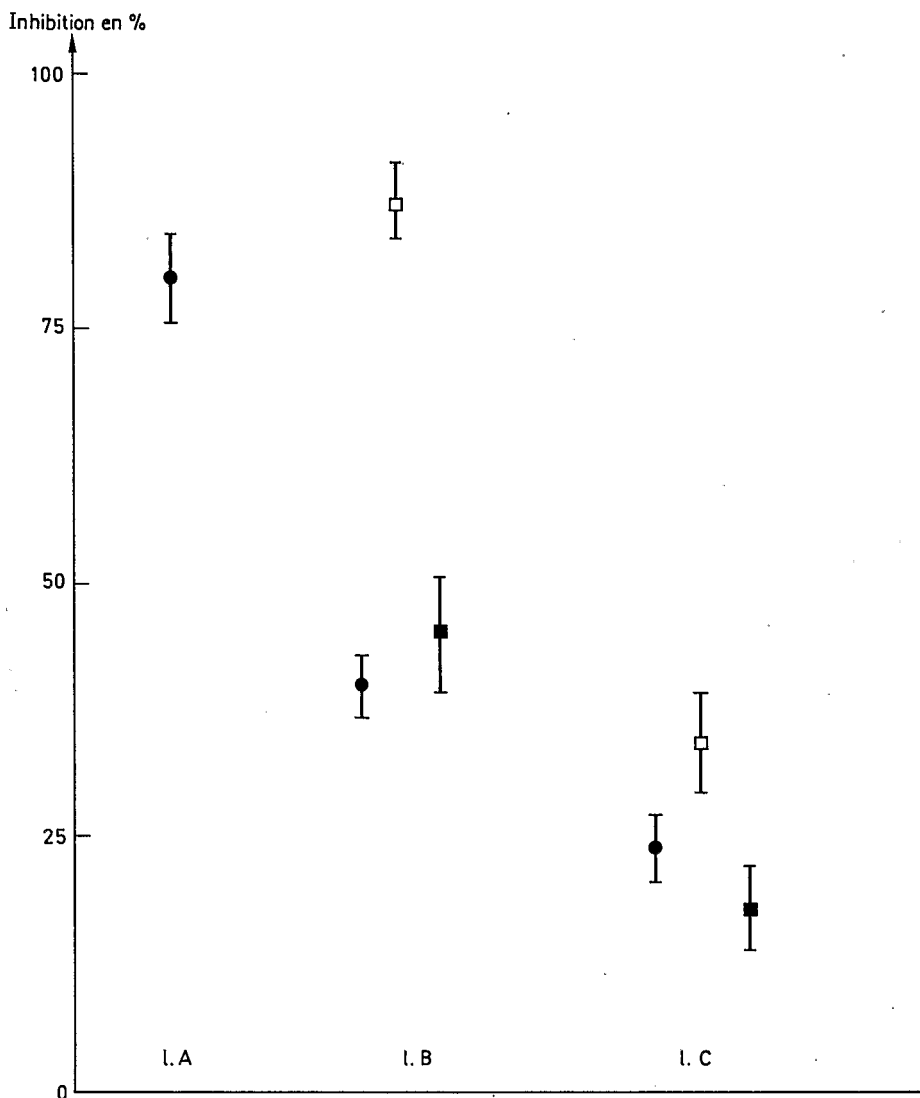


Fig. 7. Influence de l'application d'acide arachidonique ou d'AOA sur la toxicité *in vitro* pour des spores de FOE, de tissus de racines provenant de 3 lignées de tolérance différente<sup>1)</sup>. Les extraits correspondent à 30 mg de tissus frais. Les conditions d'incubation sont analogues à celles de la Figure 6. —●— FOE: lignées A, B, C. —□— FOE + acide arachidonique, lignées B, C. —■— FOE + AOA, lignées B, C

<sup>1)</sup> Le traitement par l'acide arachidonique de plants de la lignée B, confère aux extraits de tissus correspondants, une toxicité équivalente à celle des tissus de la lignée A.

phénoliques totaux (concentrations exprimées en équivalents d'acide chlorogénique).

Rapportée au poids de tissus frais, la modulation de la C.I. 50 s'avère importante, de l'ordre de 25 %. Ainsi, dans le cas d'une lignée tolérante, la C.I. 50, après inoculation par le FOE correspond à 45 mg/ml de tissus frais. Cette valeur atteint 60 mg/ml pour les plants inoculés et traités par l'AOA, tandis qu'elle chute à 35 mg/ml pour les plants inoculés et traités à l'acide arachidonique.

Nous avons établi par l'analyse comparative de la toxicité d'extraits bruts de tissus et de leurs composantes qu'il existe une synergie entre substances inhibitrices. Ainsi, pour un même extrait provenant de racines de lignée tolérante cultivée en serre, la toxicité en ccm pour le *Cladosporium cladosporioides* passe de 200  $\mu$ g pour un dépôt sans élution à 1800  $\mu$ g après séparation chromatographique des produits toxiques. D'après les résultats actuels, la synergie semble surtout concerner l'association de substances apolaires avec des composés phénoliques des groupes benzoïque et cinnamique.

### Discussion

Parmi les réactions de défense du Palmier à huile contre la fusariose intervient une importante stimulation des synthèses phénoliques. Celle-ci apparaît qualitative et quantitative. Elle est associée à l'élaboration de gommés dans le xylème qui peuvent en outre constituer des barrières à la progression du parasite (RENARD *et al.* 1972). Nous observons dans les tissus indemnes l'accumulation de substances phénoliques oxydées et polymérisées possédant les caractéristiques des mélanines. Ces processus semblent s'intégrer aux mécanismes de défense des plantes aux infections vasculaires décrits par BECKMAN (1971 et 1980).

Une réaction physiologique analogue à celle du Palmier à huile a été décrite chez le Cocotier (JOSEPH 1984) en Inde dans le cas d'une maladie racinaire (unknown root disease). Parmi plusieurs types de Cocotiers, les arbres d'apparence saine poussant sur des sols infectés contiennent des teneurs plus élevées en composés phénoliques, notamment en orthodiphénols, que ceux plantés dans les régions indemnes de maladie.

Au cours de nos essais, les réactions physiologiques à la fusariose de lignées issues de différents croisements ont été étudiées en préépinières et en serres. Hormis des différences quantitatives dues vraisemblablement à l'environnement en Côte d'Ivoire et en France, les réactions de défense varient dans le même sens. Ainsi, les dosages de substances phénoliques et les analyses chromatographiques par hplc ont permis de classer plusieurs lignées en fonction de l'intensité des synthèses phénoliques provoquées par l'infection expérimentale. Pour l'essentiel, ce classement recoupe les différents comportements observés en préépinières en Côte d'Ivoire. Cette plasticité se retrouve lors de l'étude de la variabilité individuelle entre plants issus d'un même croisement ou entre lignées reproduisant, à différents intervalles de temps, un croisement entre deux géniteurs.

D'autres facteurs peuvent influencer sur la réaction de défense, notamment la nature du cytoplasme femelle. Il existe dans ce cas une forte présomption pour que la rapidité et l'intensité des synthèses de substances inhibitrices pour le

parasite dépendent de l'activation du MRNA puis du codage des enzymes impliqués dans leur synthèse *de novo* (DIXON *et al.* 1981, WHITEHEAD *et al.* 1982, LAWTON *et al.* 1983). D'où l'intérêt de tester l'ensemble du matériel végétal pour mesurer l'aptitude des géniteurs aux réactions de défense et à utiliser les origines les plus tolérantes dans les programmes de sélection.

Cette plasticité s'exprime également dans les essais de prémunition. D'après les expériences réalisées à Dabou l'intensité de la prémunition — exprimée par l'indice de tolérance à la fusariose — dépend à la fois de l'origine génétique des lignées, de la nature de l'inoculum et des modalités de son application. Ce dernier aspect laisse présumer une élicitation active des réactions de défense par la souche avirulente de *F. oxysporum* et a orienté nos investigations vers la recherche d'éliciteurs des mécanismes de protection de l'hôte selon les schémas de HADWIGER et LOSCHKE (1982) pour les *Fusarium* spp. ou d'élicitation non spécifique (STOESSL 1980, GARAS et KUĆ 1981, BOSTOCK *et al.* 1982).

D'après nos analyses, les stimulations de réactions de défense dans les essais de prémunition et d'élicitation se traduisent par un accroissement de synthèse de plusieurs groupes de substances, la plupart de celles-ci étant de nature phénolique. Au stade actuel des investigations, nous avons noté une importante accumulation d'acides ou d'aldéhydes benzoïques différemment substitués. Des esters éthyliques de l'acide p-hydroxy-benzoïque sont décelés dans des tissus de fruits et de légumes sains ou parasités (HERRMANN 1978).

Les résultats obtenus par la prémunition chez le Palmier à huile paraissent semblables à ceux de la protection de jeunes plants de Melon contre la fusariose provoquée par un prétrempage avec une souche avirulente de *F. oxysporum* f. *melonis* (MAS et MOLOT 1974). Des situations analogues sont décrites pour la prémunition active de la Patate douce contre le *F. oxysporum* f. *bataticola* (McCLURE 1951), les plantules de Tomate contre le *F. oxysporum* f. *lycopersicum* (PHILLIPS *et al.* 1967, WYMORE et BAKER 1982). La prémunition contre la verticilliose du Cotonnier (SCHNATHORST et MATHRE 1966) et de la Menthe (MELOUK et HORNER 1975) est également concomitante de l'accumulation de substances fongitoxiques dans les tissus vasculaires.

Dans l'étude de la prémunition du Concombre contre le *Cladosporium cucumerinum* CARUSO et KUĆ (1977 et 1979) considèrent que trois étapes interviennent dans la prémunition: la diffusion d'une information à partir du point d'inoculation, l'élicitation des réactions de défense de l'hôte et la synthèse de facteurs de résistance. Nous vérifions, dans le cas de la fusariose du Palmier à huile, l'importance de l'élicitation. Celle-ci ne semble pas spécifique puisque l'acide arachidonique est l'un des éliciteurs élaborés par le *Phytophthora infestans* (BOSTOCK *et al. loc. cit.*). En l'absence de l'agent pathogène, l'application des hexoses amines pendant une longue période provoque une perturbation quasi indécélable du métabolisme des phénols chez l'hôte, celle de l'acide arachidonique aucune réaction. Il semble que l'acide arachidonique agisse comme un médiateur stimulant la réponse de l'hôte lorsque son métabolisme est confronté à celui du parasite. KEEN et BRUEGGER avaient suggéré l'emploi du terme de "sensitizers" pour ce type de produit chimique que nous considérons plus volontiers comme un fongicide au mode d'action particulier.

Des situations analogues ont été décrites pour d'autres stimulations de réactions de défense. Ainsi, chez le Riz le dichlorocyclopropane accroît la résistance au *Pyricularia oryzae* par stimulation de synthèse de momilactones (CARTWRIGHT and LANGCAKE 1979, LANGCAKE 1981). De même chez le Soja inoculé par le *Phytophthora megasperma* f. *glycinea* le métalaxyl provoque une synthèse accrue de glycéolline (STÖSSEL *et al.* 1982, LAZAROVITS et WARD 1982). L'éthyl phosphite d'aluminium a les mêmes propriétés chez la Tomate pour la résistance aux *Phytophthora* sp. (VO THI HAI *et al.* 1979, BOMPEIX *et al.* 1980, RAVISÉ *et al.* 1981) chez la Vigne contre le mildiou (RAYNAL *et al.* 1980) chez le Haricot contre l'antracnose (ABU JAWDAH 1981) ou une virose (ABU JAWDAH 1983).

### Conclusion

L'accroissement des synthèses phénoliques dans la plante face à l'agression par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* d'une part et face à des souches du *Fusarium oxysporum* non pathogène, d'autre part, modulable par l'acide arachidonique traduit une réaction d'autodéfense du palmier à huile, phénomène connu par ailleurs chez beaucoup d'autres végétaux. De tels mécanismes sont séduisants dans l'optique d'une lutte contre la fusariose, puisqu'ils font intervenir d'une manière active la plante et qu'ils peuvent renforcer les méthodes de contrôle déjà éprouvées: sélection de croisements tolérants, action des facteurs du milieu.

Dans le cadre d'une plante pérenne, la participation active de l'individu ne revêt un intérêt particulier que si la réaction est permanente, ce qui implique que le stimulus (qu'il soit sous forme de facteur biologique ou chimique) soit entretenu ou que son effet soit de longue durée. La pérennité de la plante, par contre est un avantage (surtout s'il s'agit d'un matériel végétal de grande valeur) puisqu'il est possible d'injecter à période régulière une substance élicitrice. Enfin, le développement dans la plante d'un *Fusarium oxysporum* (dont les caractéristiques restent à déterminer) et son maintien dans le xylème à un niveau qui n'entrave pas le développement du palmier pourrait constituer une méthode originale de prémunition permanente. Il s'agit là d'un équilibre entre l'agent "infectieux" et le palmier qui peut être précaire, mais on sait que certains jeunes palmiers sont atteints de la fusariose d'une manière passagère et que d'autres renferment le *Fusarium oxysporum* sans manifester le moindre symptôme de maladie. Actuellement, on ignore encore si ces phénomènes relèvent ou non de mécanismes de défense active du palmier. A l'opposé, on sait que les sols en replantation renferment une quantité importante de *Fusarium oxysporum* saprophytes (3000 propagules par g de sol) mais que l'effet de prémunition n'a pas l'intensité à laquelle on pourrait s'attendre.

Une méthode de lutte associant la participation active de la plante a l'avantage de ne pas exercer de pression de sélection sur le pathogène, ce qui dans le cas du palmier à huile n'est peut être pas essentiel en égard du caractère polygénique de la résistance, mais qui n'est sans doute pas à négliger dans l'avenir avec la création soit de nouveaux hybrides soit de clones.

Bien que cette étude révèle d'une part l'aptitude du palmier à huile à mettre en oeuvre ses propres mécanismes de défense et d'autre part la grande plasticité de cette réaction, de nombreuses questions restent encore à résoudre avant d'entrevoir une application pratique: tous les géotypes ont-ils les mêmes caractéristiques? Les souches ont-elles la même activité prémunisante? L'activité sur le terrain en préépinière et au champ est-elle conforme à celle obtenue dans nos essais? Les modalités de fonctionnement des mécanismes de défense sur les plantes adultes restent à définir; existe-il d'autres molécules élictrices?

Il n'est pas cependant utopique d'envisager que de telles études pourraient aboutir à une méthode de criblage de géotypes qui répondraient le mieux aux phénomènes de prémunition ou d'élicitation, criblage peut-être d'ailleurs indépendant de celui qui serait basé sur la seule inoculation du pathogène, les deux méthodes pouvant induire éventuellement des substances différentes. Ce criblage, en outre, paraît important sur les clones qui deviendront dans un avenir proche un matériel végétal largement vulgarisé.

Les auteurs remercient M. ROBERT PELLETIER, ORSTOM, de sa contribution technique et de la culture en serres de palmier à huile.

### Bibliographie

- ABUJAWDAH, Y., 1981: Étude du phosétyl d'aluminium (aliette) vis-à-vis de l'antracnose du Haricot. *Parasitica* 37, 3—13.
- —, and J. KUMMERT, 1983: Effects of aliette on AMV infection of bean leaves and on the resultant alterations in the patterns of proteins and peroxidases. *Phytopath. Z.* 108, 294—303.
- BECKMANN, C. H., 1971: The plasticizing of plant cell walls and tylose formation, a model. *Physiol. Plant Pathol.* 1, 1—10.
- —, 1980: Defenses triggered by the invaders, physical defenses. In: HORSFALL, J. G., et E. B. COWLING (eds.), *Plant disease, V, How plants defend themselves*, 225—245, Academic Press, Londres.
- BOMPEIX, G., A. RAVISE, G. RAYNAL, F. FETTOUCHE, et M. C. DURAND, 1980: Modalités de l'obtention des nécroses bloquantes sur feuilles détachées de Tomate par l'action du tris-0-éthyl phosphonate d'aluminium hypothèses sur son mode d'action *in vivo*. *Ann. Phytopathol.* 12 (4), 337—351.
- BOSTOCK, R. M., R. A. LAINE, and J. KUĆ, 1982: Factors affecting the elicitation of sesquiterpenoid phytoalexins accumulation by eicosapentanoic acid and arachidonic acid in potato. *Plant Physiol.* 70 (5), 1417—1424.
- CARTWRIGHT, D. W., P. LANGCAKE, R. J. PRYCE, D. P. LEWORTHY, and J. P. RIDE, 1981: Isolation and characterization of 2 phytoalexins from rice as momilactones A and B. *Phytochemistry* 20, 535—537.
- CARUSO, F. L., and J. KUĆ, 1977: Field protection of cucumber water melon and musk melon against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathology* 67, 1290—1292.
- —, and — —, 1979: Induced resistance of cucumber to anthracnose and angular leaf spot by *Pseudomonas lachrymans* and *Colletotrichum lagenarium*. *Physiol. Plant Pathol.* 14, 191—201.
- DIXON, R. A., P. M. DEY, D. L. MURPHY, and I. M. WHITEHEAD, 1981: Dose responses for *Colletotrichum lindemuthianum* elicitor mediated enzyme induction in french bean cell suspension cultures. *Planta* 151, 272—280.
- GARAS, N. A., and J. KUĆ, 1981: Potato lectin lyses zoospores of *Phytophthora infestans* and precipitates elicitors of terpenoid accumulation produced by the fungus. *Physiol. Plant Pathol.* 18, 227—238.
- HADWIGER, L. A., and D. C. LOSCHKE, 1981: Molecular communication in host parasite interaction: Hexosamines polymers (chitosan) as regulators compounds in race-specific and other interaction. *Phytopathology* 71, 756—762.



- HERRMANN, K., 1978: Hydroxy Zimtsäuren und hydroxy Benzoessäuren enthaltende Naturstoffe in Pflanzen dans Progress in the chemistry of organic natural products. Vol. 35. L. ZECHMEISTER, W. HERZ, H. GRISEBACH, and G. W. KIRBY (eds.). Springer Vienne.
- JOSEPH, K. V., 1984: Phenol metabolism in Coconut Palms (*Cocos nucifera* Linn.) in relation to root (wilt) disease. Ph. D. thesis, University of Kerala, India.
- LANGCAKE, P., and S. G. S. WICKINS, 1975: Studies on the action of the dichlorocyclopropanes on the host-parasite relationships in the rice blast disease. *Physiol. Plant Pathol.* 7, 113—116.
- LAWTON, M. A., R. A. DIXON, K. HAHNBROCK, and C. J. LAMB, 1982: Rapid induction of PAL and chalconesynthetase synthesis in elicitor treated plant cells. *Eur. J. Biochem.* 129, 593—596.
- LAZAROVITS, G., and E. W. B. WAED, 1982: Relationship between localized glyceollin accumulation and metalaxyl treatment in the control of *Phytophthora* rot in soybean hypocotyls. *Phytopathology* 72, 1217—1221.
- MEUNIER, J., J. L. RENARD, et G. QUILLEC, 1979: Hérité de la résistance à la fusariose chez le Palmier à huile *Elaeis guineensis*. *Oléagineux* 34, 555—561.
- MAS, P., et P. M. MOLOT, 1974: Altération de la sensibilité du Melon (*Cucumis melo*) au *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *melonis* Sn. et Hans. I Role des filtrats de milieux de germination de spores. *Ann. Phytopathol.* 6, 237—244.
- MCCLURE, T. T., 1951: *Fusarium* foot rot of sweet potato sprouts. *Phytopathology* 41, 72—77.
- MELOUK, M. A., and C. E. HORNER, 1975: Cross protection in mints by *Verticillium nigrescens* against *V. dahliae*. *Phytopathology* 65, 767—769.
- PHILLIPS, D. V., C. LEBEN, and C. C. ALLISON, 1967: A mechanism for the reduction of *Fusarium* wilt by a *Cephalosporium* species. *Phytopathology* 57, 916—919.
- RENARD, J. L., 1970: La fusariose du Palmier à huile, rôle des blessures dans les processus d'infection. *Oléagineux* 25, 581—586.
- —, J. P. GASCON, et A. BACHY, 1972: Recherches sur la fusariose du Palmier à huile. *Oléagineux* 27, 581—591.
- RAVISE, A., B. S. KIRKACHARIAN, J. CHOPIN, et G. KUNESCH, 1980: Composés phénoliques et analogues structuraux de phytoalexines: influence des structures et des substituants sur l'inhibition *in vitro* de micromycètes et d'enzymes lytiques. *Ann. Phytopathol.* 12, 335—336.
- —, G. BOMPEIX, F. FETTOUCHE, et M. C. DURAND, 1981: Stimulation des réactions de défense de la Tomate aux *Phytophthora* sp. par le tris-0-éthyl phosphonate d'Aluminium. Communication au Congrès international de protection des cultures tropicales, Lyon.
- RAYNAL, G., A. RAVISE, et G. BOMPEIX, 1980: Action du tris-0-éthyl phosphonate d'aluminium sur la pathogénie de *Plasmopara viticola* et sur la stimulation des réactions de défense de la Vigne. *Ann. Phytopathol.* 12, 163—174.
- SCHNATHORST, W. C., and D. E. MATHRE, 1966: Cross protection in cotton with strains of *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* 56, 1204—1209.
- STOESSL, A., 1980: Phytoalexins, a biogenetic perspective. *Phytopath. Z.* 99, 251—272.
- STÖSSEL, P., G. LAZAROVITS, and E. W. B. WARD, 1982: Light and electron microscopy of *Phytophthora* rot in soybean treated with metalaxyl. *Phytopathology* 72, 106—111.
- THOMAS, J. P., A. BRUN, et J. P. BOUNINE, 1979: L'utilisation des solvants isohydriques en chromatographie d'adsorption. *Analisis* 7 (5), 221—231.
- TOUZE, A., et M. ROSSIGNOL, 1980: La protection biologique des plantes contre des infections bactériennes et fongiques. *Ann. Phytopathol.* 12, 457—465.
- VO THI HAI, G. BOMPEIX, et A. RAVISE, 1979: Rôle du tris-0-éthyl phosphonate d'aluminium dans la stimulation des réactions de défense des tissus de Tomate contre le *Phytophthora capsici*. *C. R. Acad. Sci.* 288, 1171—1174.
- WHITEHEAD, I. M., P. M. DEYAUD, and R. A. DIXON, 1982: Differential patterns of phytoalexin accumulation and enzyme induction in wounded and elicitor treated tissues of *Phaseolus vulgaris*. *Planta* 154, 156—164.
- WYMORE, L. A., and R. BAKER, 1982: Factors affecting cross-protection in control of *Fusarium* wilt in Tomato. *Plant Dis.* 66, 908—911.

Adresses des auteurs: A. RAVISE et B. TAQUET, S. S. C. de l'O.R.S.T.O.M., 70—72 Route d'Aulnay 93140, Bondy (France). J. L. RENARD, Plantation expérimentale Robert Michaux — I.R.H.O. BP 8 Dabou (Côte d'Ivoire). G. KUNESCH, Laboratoire des médiateurs chimiques, Brouessy, 78470 Saint-Remy-Les Chevreuse (France).