

## Quelques aspects du métabolisme des composés phénoliques chez les *Nicotiana* hypersensibles au virus de la mosaïque du Tabac souche commune (V.M.T.).

JOSETTE TANGUY

O.R.S.T.O.M., 70-74, Route d'Aulnay, 93-Bondy;  
Station de Physiopathologie, I.N.R.A., B.V. n° 1540, 21-Dijon

(Manuscrit reçu le 21 octobre 1970)

### RÉSUMÉ

L'hypersensibilité du *Nicotiana tabacum* variété Xanthi n.c. à l'égard du virus de la mosaïque du Tabac souche commune, s'accompagne de la production et de l'accumulation d'un grand nombre de composés phénoliques (flavonosités, acides caféyl, férulyl et *para*-coumaroylquiniques, esters du glucose et glucosides des acides cinnamique et benzoïque). L'inhibition par la température de la réaction d'hypersensibilité se traduit par la disparition de ces substances.

Les dosages de ces phénols effectués en fonction du temps, sur des feuilles saines et virosées à 20 °C de *Nicotiana tabacum* Xanthi n.c., ont permis de résoudre le rôle de ces composés dans la formation des lésions locales nécrotiques. Les différences entre plantes saines et malades deviennent importantes lorsque la synthèse du virus est pratiquement achevée et que l'hypersensibilité est acquise. Ces variations maximales entre 60 et 156 heures après inoculation, pour un *Nicotiana* Xanthi n.c. infecté à 20 °C, tendent ensuite à s'estomper pour la plupart des substances.

Les substances phénoliques n'apparaissent pas comme responsables de la formation des nécroses d'hypersensibilité. La synthèse phénolique ne serait stimulée que par suite d'effets secondaires de l'infection virale.

### SUMMARY

The hypersensitivity of *Nicotiana tabacum* variety Xanthi n.c. with respect to the Tobacco mosaic virus is accompanied by the production and accumulation of a great number of phenolic compounds (flavonol glycosides, caffeoylquinic, feruloylquinic and *p*-coumaroylquinic acids, glucose esters and glucosides of cinnamic and benzoic acids). The increase in temperature inhibits the hypersensitive reaction resulting in the disappearance of these substances.

The analyses of these phenols made in relation to time on healthy and infected leaves of *Nicotiana tabacum* Xanthi n.c. at 20 °C make it possible to understand the part played by these compounds in the formation of necrotic local lesions. The differences between the healthy and infected leaves become important when the synthesis of the virus is practically brought to completion and the hypersensitivity taken hold. These variations between 60 and 156 hours

after inoculation for *Nicotiana Xanthi n.c.* infected at 20 °C have a tendency to disappear gradually for most of these substances.

The phenolic compounds do not appear to be responsible of the necrotic hypersensitivity. The production of these phenolic compounds would only be stimulated by secondary effects of the virus infection.

## INTRODUCTION

On sait que chez les végétaux et tout particulièrement chez le genre *Nicotiana* l'infection par un virus (virus de la mosaïque du Tabac : V.M.T.), peut provoquer une infection généralisée (cas du *Nicotiana tabacum* variété Samsun) ou une réaction dite « d'hypersensibilité » (cas du *Nicotiana tabacum* variété Xanthi n.c.), se traduisant par des lésions locales nécrotiques au voisinage direct des points de pénétration du virus.

Les travaux entrepris dans le laboratoire (MARTIN et GALLET, 1966 b), montrent que l'arrêt de la multiplication virale (V.M.T.) chez un hôte hypersensible comme le *Nicotiana Xanthi n. c.*, n'est pas dû à une barrière de cellules mortes isolant l'A.R.N. infectieux dans une zone restreinte de l'hôte mais à un autre processus. Il existe dans les cellules vivantes situées autour de la nécrose d'hypersensibilité des éléments dotés de pouvoir infectieux, mais incapables dans certaines conditions (20 °C), d'imposer leur information génétique aux cellules qui les hébergent. Une simple élévation de température (30 °C-35 °C) permet au virus de diriger sa propre replication, et donc de provoquer la synthèse de ses protéines (replicases, protéine du manteau) en utilisant les systèmes métaboliques de l'hôte (nucléotides, acides aminés, A.T.P. formé par le métabolisme intermédiaire). Il devient alors capable d'envahir les tissus de l'hôte (infection systémique) comme il le fait chez un individu sensible quelle que soit la température. Les propriétés biologiques des particules virales synthétisées à 30 °C chez un Tabac hypersensible, ne se différencient pas de celles produites à 20 °C chez une plante sensible comme le *Nicotiana tabacum* variété Samsun.

Les examens faits au microscope électronique, sur des cellules vivantes avoisinant les lésions nécrotiques à 20 °C (MARTIN et al., 1969), ne permettent pas de mettre en évidence des particules virales complètes. Par contre, il est observé très fréquemment un matériel de structure irrégulière. Lors du retour à 30 °C, ce matériel a tendance à disparaître, et on observe de nombreux bâtonnets (V.M.T.), ainsi que des structures qui seraient des formes incomplètes de virus.

Il peut exister dans les cellules infectées à 20 °C, un mécanisme bloquant l'une ou l'autre des différentes étapes conduisant au virion complet. La perturbation pourrait se situer au niveau de l'A.R.N. replicase. La mise hors-circuit de l'enzyme proviendrait soit de la répression de sa synthèse soit de l'inhibition de son activité. Ce processus pourrait être réalisé grâce à un métabolite produit par le *Nicotiana Xanthi n. c.* virosé à 20 °C. Cette substance pourrait être thermolabile ou sans être sensible à la température, l'enzyme nécessaire à sa synthèse serait inhibée ou détruite aux températures supérieures à 29 °C.

Les composés phénoliques étant selon certains auteurs (FARKAS et KIRALY, 1962) impliqués dans les processus biochimiques conduisant à l'expression du

phénomène d'hypersensibilité au virus, il nous a semblé digne d'intérêt d'analyser de façon précise 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.

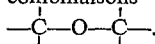
## MATÉRIEL ET TECHNIQUES ANALYTIQUES

### A. — MATÉRIEL VÉGÉTAL.

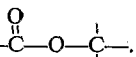
Nous utilisons, soit de jeunes *Nicotiana tabacum* Xanthi n.c., soit des *Nicotiana tabacum* Samsun cultivés en serre au stade où ils possèdent 3-4 feuilles entièrement développées. Trois jours avant l'inoculation, les plantes sont placées dans des salles où la température est de 20 ou 30 °C. Dans ces chambres climatisées, la température est constante à  $\pm 1$  °C, l'humidité relative est de 70 %, et les tabacs sont soumis à un éclairage de 8000 lux pendant les 16 heures de photopériode. Le virus de la mosaïque du Tabac (préparation purifiée en suspension dans l'eau) est inoculé mécaniquement sur la face supérieure de feuilles ayant terminé leur croissance. Le nombre de lésions par feuille est approximativement situé entre 100 et 150.

### B. — MÉTHODES GÉNÉRALES D'ÉTUDE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES.

Les phénols se rencontrent la plupart du temps dans les végétaux sous forme de combinaisons avec les glucides, O-hétérosides, faisant intervenir des liaisons acétals



Dans le cas des acides-phénols les combinaisons sont le plus souvent des esters avec des liaisons



Il est préférable de commencer l'étude des composés phénoliques d'un matériel végétal inconnu, par l'identification des aglycones libérés par hydrolyse acide alcaline ou parfois même enzymatique (le mot aglycone désigne la fraction non glucidique des hétérosides et la fraction phénolique des esters).

Les problèmes à résoudre pour conduire à l'identification des composés phénoliques sont :

- 1) L'extraction à partir du matériel végétal
- 2) L'hydrolyse des extraits initiaux
- 3) La séparation des aglycones
- 4) L'identification de ces aglycones
- 5) La séparation des différents types de combinaisons
- 6) L'identification de ces combinaisons.

#### 1) Préparation des extraits.

Les feuilles de tabacs à analyser sont pesées puis broyées dans du méthanol absolu en présence de sable de Fontainebleau relavé. Le broyat est centrifugé à froid, et le culot lavé plusieurs fois avec du méthanol. Les surnageants sont ensuite réunis. Le méthanol entraînant les chlorophylles, il est nécessaire de les éliminer par de l'éther de pétrole. Pour cela, l'extrait est concentré sous vide au moyen d'un évaporateur rotatif à 30 °C. Le jus étant rendu aqueux, les chlorophylles sont extraites à l'aide de l'éther de pétrole. Les solutions ainsi débarrassées des chlorophylles sont mises à sec, et amenées à un volume connu avec du méthanol contenant 50 % d'eau.

## 2) Hydrolyses des extraits initiaux.

L'hydrolyse acide effectuée pour rompre les liaisons  $\begin{array}{c} | \\ \text{---C} \\ | \end{array} \text{---O---} \begin{array}{c} | \\ \text{---C} \\ | \end{array}$  est réalisée en milieu HCl N, sous réfrigérant à reflux, au bain-marie bouillant pendant un temps qui peut varier de quelques minutes à une heure.

L'hydrolyse alcaline des esters des acides phénols est faite en milieu NaOH N, à la température ambiante pendant 4 heures sous atmosphère d'azote. Pour étudier les produits résultant de cette hydrolyse, il est nécessaire de repasser en milieu acide.

L'hydrolyse enzymatique est réalisée à l'aide d'une préparation commerciale de  $\beta$ -glucosidase (FLUKA A.G., BUCHS S.G. Suisse). Le traitement est effectué dans un tampon acétate (pH = 4,5), à la température du laboratoire, pendant un temps qui peut varier de quelques minutes à plusieurs heures. Les aglycones sont extraits des hydrolysats acides et alcalins à l'aide de solvants non miscibles comme l'acétate d'éthyle ou l'éther éthylique.

## 3) Séparation des aglycones.

Elle est faite par chromatographie sur papier Whatman n° 1 en descendant. Les solvants employés diffèrent selon le groupe de l'aglycone.

*Acides-phénols, coumarines.* Les acides cinnamique, benzoïque et les coumarines sont séparés dans les mêmes conditions. Un certain nombre de solvants sont utilisés en particulier le mélange toluène, acide acétique (BATE-SMITH, 1954a). Les séparations sont également faites par chromatographie à deux dimensions en utilisant en première direction le mélange butanol acide acétique (PARTRIDGE et WESTALL, 1948) et en deuxième dimension de l'acide acétique à 2 % (WILLIAMS, 1955). Cependant, la méthode qui nous a permis une meilleure résolution des acides-phénols et des coumarines, est celle adoptée par IBRAHIM et TOWERS (1960). Elle consiste à effectuer une chromatographie à deux dimensions en utilisant pour la première dimension le mélange benzène, acide acétique et eau (6 : 7 : 3) et pour la seconde direction le mélange formiate de sodium, acide formique, eau (10 : 1 : 200).

*Flavonols.* Le mélange butanol acide acétique est également employé pour la séparation de ces aglycones, mais le solvant le plus spécifique est le « Forestal ». Ce solvant proposé par BATE-SMITH (1954b) est préparé en mélangeant de l'acide acétique, de l'eau, et de l'acide chlorhydrique concentré (30 : 10 : 3).

## 4) Identification des aglycones.

L'identification des différents aglycones se fait par comparaison des Rf et des réactions colorées avec ceux des produits de référence. La plupart de ces marqueurs sont disponibles commercialement, à l'exception toutefois de l'acide mélilotique. Cet acide a été isolé et purifié d'hydrolysats acides et enzymatiques d'extraits de feuilles de deux Légumineuses (*Dipteryx odorata* et *Gliricidia sepium*) (GRIFFITHS, 1962).

Le caractère acide que possède un grand nombre de phénols est largement utilisé. Le procédé de détection le plus simple consiste à exposer le chromatogramme aux vapeurs d'une solution concentrée d'ammoniaque, et à l'examiner sous la lumière de Wood (3660 Å).

Les *acides-phénols* et les *coumarines* sont mis en évidence en utilisant diverses réactions comme celles de copulation avec des sels de diazonium. La *p*-nitraniline nous a donné les meilleurs résultats. Ce réactif est préparé selon le mode opératoire donné par SWAIN (1953). D'autres réactions sont également utilisées comme celle d'HOEPLNER (1932).

Les *flavonols* réagissent avec le chlorure d'Aluminium par formation d'un complexe jaune en lumière visible, et prenant une fluorescence jaune sous la lumière de Wood.

## 5) Séparation des combinaisons (hétérosides et esters).

Le couple de solvants de base utilisé pour séparer les nombreux composés phénoliques présents dans l'extrait initial non hydrolysé, est le mélange butanol acide acétique et l'acide acétique à 2 %. Ces solvants se révèlent insuffisants pour les différentes combinaisons d'un

même acide cinnamique (dérivés du glucose, esters de l'acide quinique). Il a donc été nécessaire de trouver un ou plusieurs solvants capables de bien les séparer. Les solvants utilisés, en particulier le mélange butanol éthanol et le mélange butanol ammoniacque sont ceux proposés par HARBORNE et CORNER (1961). *Les dérivés des acides cinnamiques et du glucose ont des Rf plus élevés que ceux des esters de l'acide quinique dans le butanol éthanol et dans le butanol ammoniacque, tandis que c'est le contraire dans le butanol acétique.* Ces solvants sont employés dans la première direction, l'acide acétique étant utilisé dans le second développement.

## 6) Identification des combinaisons.

Elle s'effectue par comparaison des Rf dans les différents solvants et des fluorescences avec ceux des marqueurs. Lorsque ces derniers ne sont pas disponibles commercialement, il est nécessaire de les isoler de plantes où ils ont été signalés. Ainsi le férulyl-1 glucose et le caféyl-1 glucose sont obtenus de pétales de *Petunia hybrida* (HARBORNE et CORNER, 1961), tandis que l'acide *p*-coumaryl-3 quinique est extrait de pommes à cidre vertes (WILLIAMS, 1958). C'est à partir de grains verts de café de la variété Robusta que les acides férulyl-3 quinique (LENTNER et DEATHERAGE, 1959; PICTET et BRANDENBERGER, 1960; CORSE et al., 1962), caféyl-5 et caféyl-4 quiniques (SONDHEIMER, 1958) sont isolés et purifiés.

Après avoir été isolées et purifiées par chromatographie sur papier, les substances sont identifiées grâce à leurs spectres d'absorption en milieu neutre et alcalin, et par l'étude des produits résultant de leurs hydrolyses. Les sucres sont chromatographiés sur papier Whatman n° 1 en utilisant le mélange butanol acide acétique, et la phase supérieure du mélange acétate d'éthyle, pyridine et eau. La séparation de l'acide quinique est réalisée par chromatographie sur papier dans le mélange butanol acide acétique et dans celui contenant de l'éthanol, de l'ammoniacque et de l'eau (20 : 1 : 4). La révélation de l'acide quinique est réalisée par le nitroprussiate-pipérazine (CARTWRIGHT et ROBERTS, 1955). Les glucides sont mis en évidence par le réactif au phthalate d'aniline (PARTRIDGE, 1949).

## C. — ESTIMATION QUANTITATIVE DES PHÉNOLS.

L'estimation quantitative des phénols est faite à l'aide du réactif de FOLIN et CIICALTEU (1927). Elle repose sur la grande oxydabilité des composés phénoliques. Le réactif utilisé est un mélange de phosphomolybdate et de tungstate de sodium, qui est réduit lors de l'oxydation des phénols en milieu alcalin en un mélange de bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite (absorption maximale comprise entre 725 et 750 nm) est proportionnelle aux taux des composés phénoliques. Cette méthode est appliquée aux phénols totaux (BRAY et THORPE, 1954) et aux substances séparées et purifiées par chromatographie sur papier (KEITH et al., 1958). Dans tous les cas, on compare à une gamme étalon préparée dans les mêmes conditions que le dosage proprement dit. Pour le dosage global des substances phénoliques, la courbe étalon est établie avec de l'acide chlorogénique. Dans ce cas, les résultats sont donnés en milligrammes d'acide chlorogénique. Tous nos résultats sont exprimés en fonction du poids frais, car nous avons remarqué que les variations de teneurs en matière sèche n'étaient pas significatives dans nos conditions expérimentales.

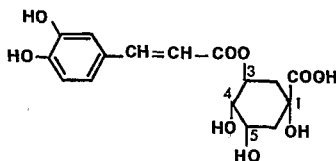
La scopoline ne possédant aucun hydroxyle libre, ne réagit pas avec le réactif de FOLIN et CIICALTEU. Il est alors nécessaire de rompre la liaison hétérosidique par une hydrolyse acide, afin de libérer la scopolétine et de la doser.

*Mode opératoire.* Une prise d'essai convenable de la solution à doser étant faite, on complète à 10 ml avec de l'eau. Après addition d'1 ml du réactif de FOLIN-CIICALTEU, il est ajouté 3 minutes plus tard 2 ml de la solution aqueuse de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 20 %. Les tubes sont mis au bain-marie bouillant pendant une minute, puis on laisse refroidir. Après avoir dilué avec de l'eau à 25 ml, les densités optiques sont mesurées à 725 nm une heure après la fin des opérations avec un spectrophotomètre Unicam 500. Les lectures sont faites par rapport à un blanc ou témoin ne contenant que de l'eau additionnée de réactifs. Dans le cas des substances purifiées par chromatographie sur papier, ce blanc est une solution contenant les impuretés du papier.

## RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

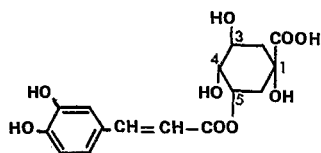
A. — POLYPHÉNOLS PRÉSENTS DANS LES FEUILLES SAINES DE *Nicotiana Xanthi* n. c.

Les principaux polyphénols présents dans les feuilles saines de *Nicotiana tabacum* Xanthi n. c., sont les acides chlorogéniques (I, II, III) et la rutine ou rhamnoglucoside-3 quercétine (IV). Les acides chlorogéniques sont au nombre de trois : l'acide caféyl-3 quinique ou chlorogénique (I), l'acide caféyl-4 quinique ou bande « 510 » de SONDHEIMER (II), et, l'acide caféyl-5 quinique ou néochlorogénique (III). Les feuilles de ces tabacs renferment également d'autres flavonosides comme la nicotiflorine ou rhamnoglucoside-3 kaempférol (V) et l'isoquercitrine ou monoglucoside-3 quercétine (VI). Ces composés se retrouvent dans les feuilles saines de *Nicotiana tabacum* variété Samsun. Il y a cependant une différence concernant un dérivé de l'acide cinnamique : la scopoline (mono-glucoside-7 scopolétine). Cette coumarine est toujours décelée dans les extraits de feuilles de *N. Samsun*, mais est absente ou en quantité extrêmement faible dans ceux des tabacs de la variété Xanthi n. c.



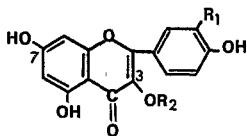
I

acide chlorogénique  
ou acide caféyl-3 quinique



III

acide néochlorogénique  
ou acide caféyl-5 quinique



II

acide caféyl-4 quinique  
ou bande « 510 » de SONDHEIMER

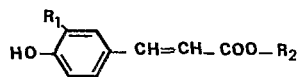
R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = rutinose; IV = rutine ou rhamnoglucoside-3 quercétine  
R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = rutinose; V = nicotiflorine ou rhamnoglucoside-3 kaempférol  
R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = glucose; VI = isoquercitrine ou monoglucoside-3 quercétine

B. — ACCUMULATION ET PRODUCTION DE SUBSTANCES PHÉNOLIQUES DANS LES FEUILLES DE *Nicotiana Xanthi* N. C. VIROSÉES A 20 °C PAR LE VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC.

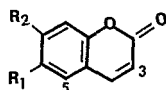
EVOLUTION QUANTITATIVE EN FONCTION DU TEMPS DE CES COMPOSÉS AU COURS DE LA RÉACTION D'HYPERSENSIBILITÉ.

La formation de lésions locales nécrotiques s'accompagne d'une *accumulation* de flavonosides (rutine, nicotiflorine et isoquercitrine), d'acides chlorogéniques (acides caféyl-3 quinique, caféyl-4 quinique, caféyl-5 quinique), d'acide *p*-coumaryl-3 quinique (VII), d'acides férulylquiniques (VIII) tout particulièrement d'acide férulyl-3 quinique (VIII) (TANGUY et GALLET, 1969 a). Ces derniers composés ne sont qu'à l'état de traces dans des tabacs sains de la variété *Xanthi* n. c.

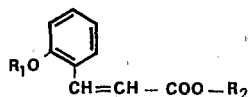
L'hypersensibilité se traduit par la *production* de caféyl-1 glucose (IX), mais surtout de férulyl-1 glucose (X) et de scopoline (XI). L'acide ortho-coumarique *semble être présent* sous la forme de l'*o*-coumaryl-1 glucose (XII), de l'*o*-coumaryl-1 gentiobiose (XIII) et du mélilotoside ou  $\beta$ -glucoside de l'acide *o*-coumarique (XIV). La formation des nécroses d'hypersensibilité fait également *apparaître*



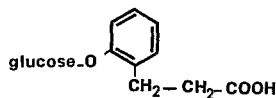
$R_1 = H, R_2 =$  acide quinique; VII = acide *p*-coumarylquinique  
 $R_1 = OCH_3, R_2 =$  acide quinique; VIII = acide férulyl-1 quinique  
 $R_1 = OH, R_2 =$  glucose; IX = caféylglucose  
 $R_1 = OCH_3, R_2 =$  glucose; X = férulylglucose  
 $R_1 = OCH_3, R_2 =$  gentiobiose; XVI = férulylgentiobiose



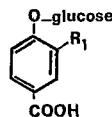
$R_1 = OCH_3, R_2 =$  O-glucose; XI = scopoline  
 $R_1 = OH, R_2 =$  O-glucose; XV = cichoriine  
 $R_1 = OCH_3, R_2 =$  O-gentiobiose; XVII = gentiobioside-7 scopolétine



$R_1 = H, R_2 =$  glucose; XII = *o*-coumarylglucose  
 $R_1 = H, R_2 =$  gentiobiose; XIII = *o*-coumarylgentiobiose  
 $R_1 =$  glucose,  $R_2 = H$ ; XIV = mélilotoside



XVIII  
 $\beta$ -glucoside de l'acide mélilotique



$R_1 = OCH_3$ ; XIX =  $\beta$ -glucoside de l'acide vanillique  
 $R_1 = H$ ,  $\beta$ -glucoside de l'acide *p*-hydroxy-benzoïque.

des phénols comme la cichoriine ou glucoside-7 esculéline (XV), le férulyl-1 gentiobiose (XVI) et le gentiobioside-7 scopolétine (XVII). L'hypersensibilité conduit également à la formation de substances renfermant du glucose et dont la partie phénolique est soit un acide cinnamique comme l'acide méliotique (XVIII) ou l'acide sinapique, soit un acide benzoïque comme les acides vanillique (XIX), gentisique, *p*-hydroxybenzoïque.

Les résultats obtenus à partir de dosages effectués en fonction du temps sur des feuilles saines et virosées à 20 °C du *Nicotiana Xanthi* n. c. sont traduits par la figure 1.

L'analyse des feuilles virosées porte sur l'organe entier avec nécessairement mélange des parties apparemment saines de la feuille atteinte et des parties à nécrose visible.

On note :

### 1) Phénols totaux.

L'infection à 20 °C du *Nicotiana Xanthi* n. c. par le virus de la mosaïque du Tabac conduit à une *augmentation des composés phénoliques totaux*. L'accroissement est considérable lors de séjours compris entre 60 et 156 heures à 20 °C. Ce phénomène diminue progressivement, et à partir d'un temps de séjour de 204 heures à 20 °C, les plantes saines témoins renferment plus de phénols totaux que les tabacs infectés correspondants.

### 2) Principaux phénols.

Les tabacs virosés qui séjournent à 20 °C entre 60 et 144 heures après inoculation, ont des *teneurs en acides chlorogéniques* et en *flavonosides beaucoup plus élevées* que les tabacs sains correspondants (elles peuvent être plus du double 108 heures après inoculation).

A partir d'un temps de 168 heures à 20 °C, l'augmentation est moins importante et les mesures établies sur des tabacs récoltés en février 1968, ont montré que ces substances subissaient une certaine diminution par rapport aux mêmes composés contenus dans les plantes saines témoins. Les teneurs en acides férulylquiniques paraissent être *maximales 108 heures à 20 °C après l'inoculation* (120 µg par gramme de poids frais), elles décroissent ensuite tout en restant relativement élevée (70 µg par gramme de poids frais). L'acide *p*-coumarylquinique *semble surtout s'accumuler* dans les feuilles nécrosées de *Nicotiana Xanthi* n. c. ayant séjourné à 20 °C entre 60 et 108 heures après inoculation par le virus puisqu'il atteint une valeur voisine de 100 µg par gramme de poids frais.

Le férulylglucose commence à *apparaître dans des tabacs virosés ayant passé 72 heures à 20 °C après inoculation*. La teneur en cette substance est maximale pour des séjours à 20 °C compris entre 120 et 156 heures (75 µg par gramme de poids frais). La scopoline est synthétisée un peu avant car elle est *identifiée dès 48 heures après inoculation*. Son maximum semble être atteint dans une plante malade 108 heures à 20 °C après l'inoculation (50 µg par gramme de poids frais).

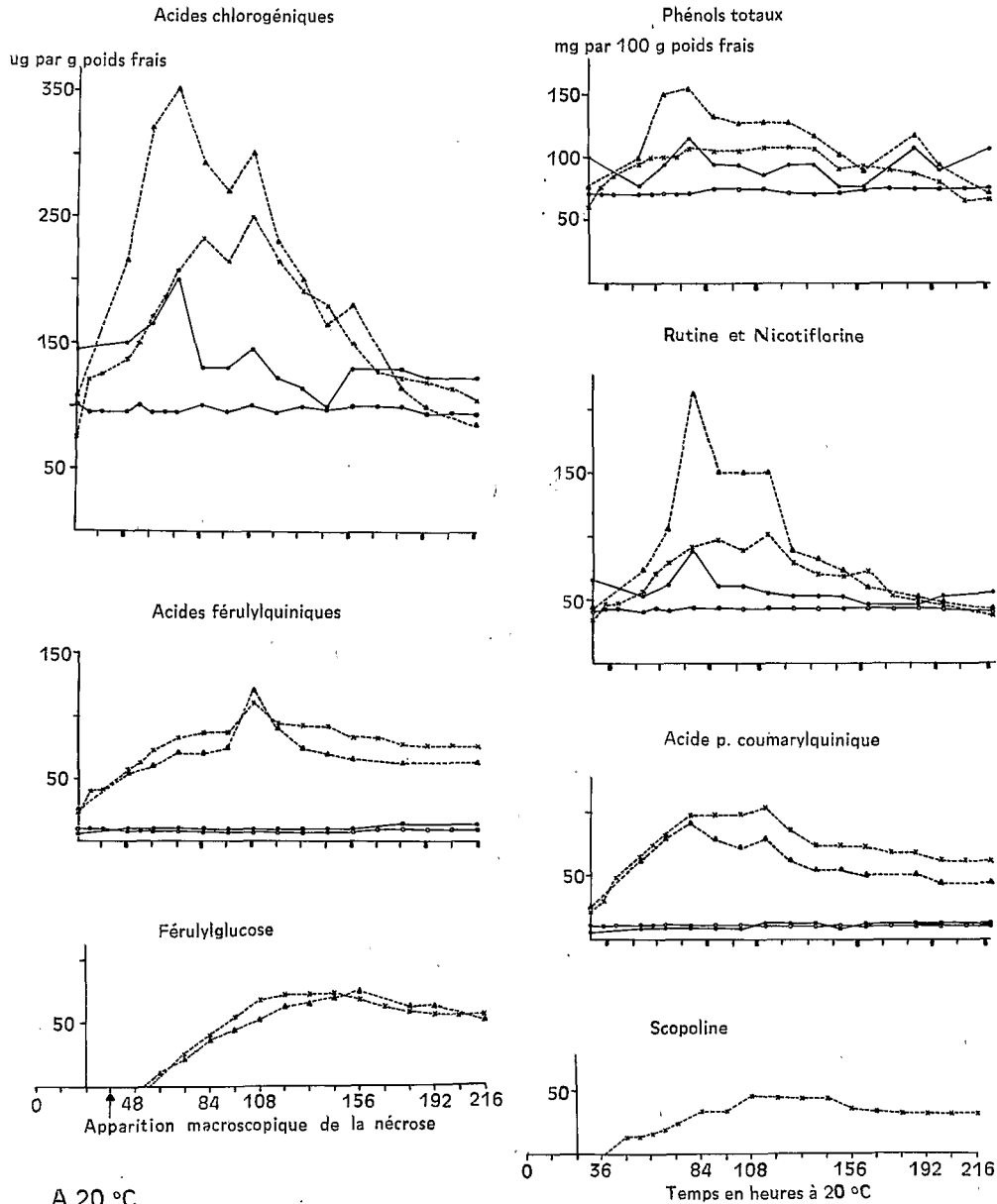


Fig. 1. — En trait plein : plantes saines ●—● janvier 1968  
○—○ avril 1968  
En pointillé : plantes virosées ▲—▲ janvier 1968  
×—× avril 1968

Evolution des teneurs en phénols totaux et en principaux phénols au cours de l'infection virale à 20 °C du *Nicotiana Xanthi* n.c. par le virus de la mosaïque du Tabac. Pour l'ensemble des figures, les résultats sont exprimés en mg par 100 grammes de poids frais pour les phénols totaux et en µg par gramme de poids frais pour les diverses substances séparées et purifiées par chromatographie.

### 3) Conclusions.

*L'accumulation et la production de composés phénoliques dans les feuilles des tabacs de la variété Xanthi n. c. virosées à 20 °C par le virus de la mosaïque du tabac souche commune semblent être postérieures à l'apparition de la nécrose (TANGUY et GALLET, 1969 b). Celle-ci commence à apparaître dès 36 heures après inoculation dans nos conditions expérimentales. Les différences à 20 °C entre plantes saines et malades deviennent importantes quand les symptômes sont nettement apparents, c'est-à-dire quand la synthèse du virus est pratiquement achevée et que l'hypersensibilité est acquise. Ces variations maximales entre 60 et 156 heures tendent ensuite à s'estomper pour la plupart des composés phénoliques.*

C. — EVOLUTION DES TENEURS EN PHÉNOLS TOTAUX ET EN PRINCIPAUX PHÉNOLS AU COURS DE L'INFECTION VIRALE A 30 °C DU *Nicotiana Xanthi* n. c. (Fig. 2).

#### 1) Phénols totaux.

L'infection virale à 30 °C du *Nicotiana Xanthi* n. c. conduit à une *diminution des teneurs en phénols totaux*. Cette réduction (de 10 à 20 %) est surtout observée dans des tabacs malades ayant séjourné à 30 °C entre 36 et 156 heures après inoculation. Ce phénomène diminue progressivement, et à partir d'un temps de 180 heures à 30 °C, la plupart des tabacs virosés ont des teneurs en phénols totaux supérieures à celles des plantes témoins (TANGUY, 1970).

#### 2) Principaux phénols.

L'infection ne fait apparaître ni le férulylglucose ni la scopoline, et ne s'accompagne pas de l'accumulation des acides *p*-coumaryl et férulylquiniques.

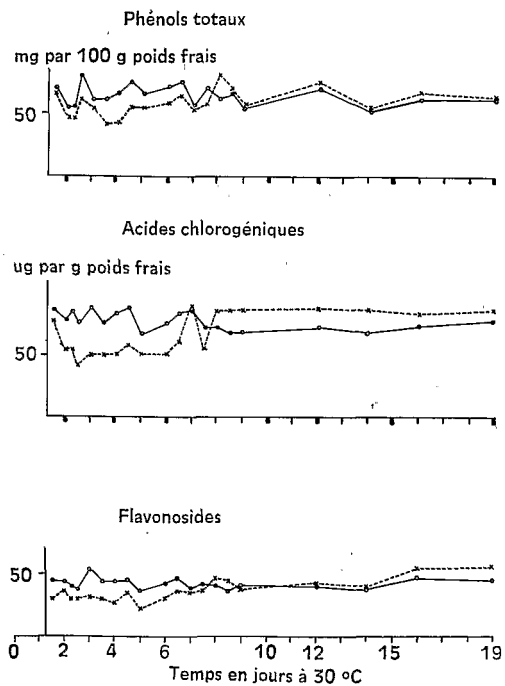
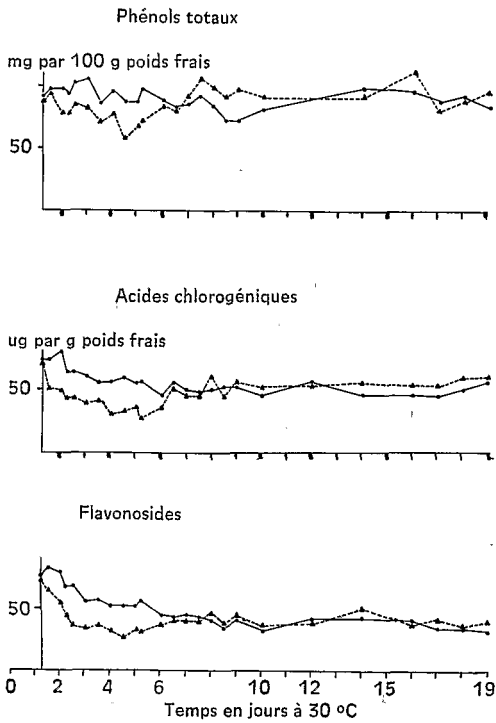
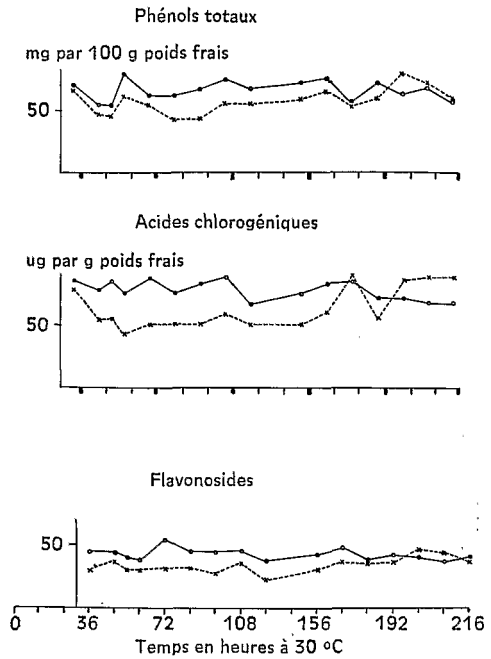
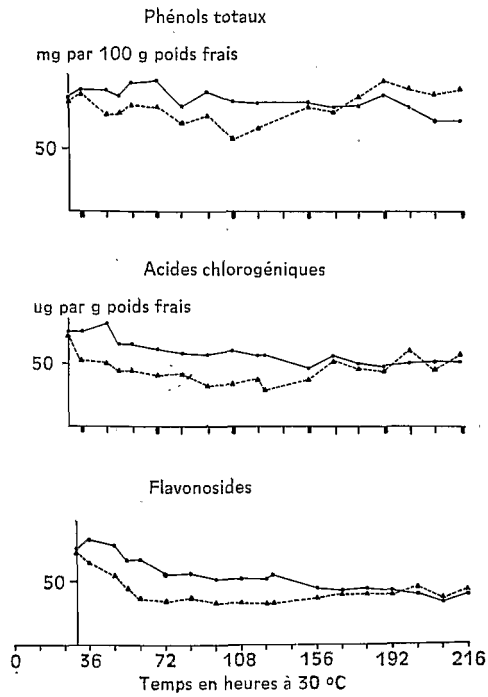
Les courbes obtenues avec les acides chlorogéniques et les flavonosides sont semblables, et mettent en évidence une *diminution considérable des teneurs* en ces polyphénols dans des plantes malades lors de séjours à 30 °C compris entre 36 et 156 heures. La baisse des teneurs en acides caféylquiniques et en flavonosides dans un *Nicotiana Xanthi* n. c., infecté à 30 °C et ayant passé 72 heures à cette température, atteint par rapport à la plante saine témoin une valeur proche de 40 %.

Fig. 2. — En trait plein : plantes saines

En pointillé : plantes virosées

●—● mai 1969  
○—○ février 1970  
▲-----▲ mai 1969  
x-----x février 1970

Evolution des teneurs en phénols totaux et en principaux phénols au cours de l'infection virale à 30 °C du *Nicotiana Xanthi* n.c. par le virus de la mosaïque du Tabac.



A 30 °C. Mai 1969

Février 1970

A partir d'un temps de séjour de 204 heures à 30 °C après inoculation, les tabacs malades renferment des quantités d'acides chlorogéniques et de flavonosides plus élevées que les plantes saines correspondantes (taux d'augmentation pouvant atteindre 20 %).

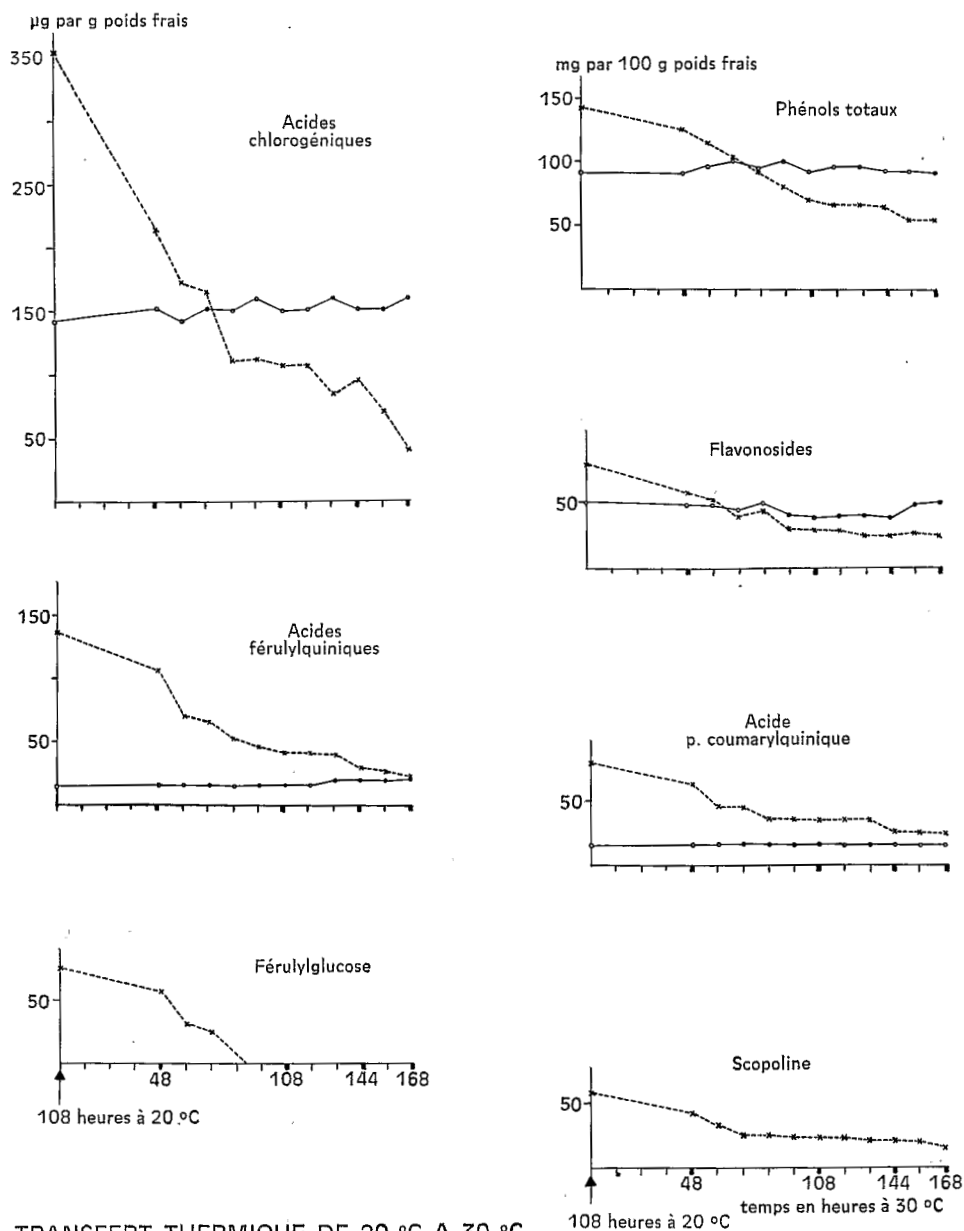
Les dosages établis en mai 1969, ont également mis en évidence une certaine diminution des acides chlorogéniques mais surtout des flavonosides dans les plantes saines témoins au cours d'un séjour à 30 °C.

### 3) Conclusions.

L'inhibition de la synthèse des polyphénols (acides chlorogéniques, flavonosides) dans les feuilles virosées à 30 °C d'un *Nicotiana Xanthi* n. c., au cours d'une période de temps comprise entre 36 et 156 heures après inoculation, *semble liée à une production importante de particules virales*. L'évolution de la quantité de virus dans un hôte hypersensible à 30 °C a été étudiée, en particulier par MARTIN et GALLET (1966 a). Ces derniers ont montré que les 96 premières heures correspondent à une synthèse abondante de virus dans la feuille inoculée. Nos expériences semblent montrer que lorsque cette dernière est terminée, la formation des polyphénols reprend, et est même stimulée, puisque les teneurs en ces substances dans les feuilles malades sont supérieures à celles des feuilles saines témoins. Il n'y a cependant jamais production ou accumulation des nombreuses substances apparaissant lors de la formation des lésions locales nécrotiques. Au cours de sa multiplication le virus doit détourner à son profit certains métabolites qui interviennent directement ou indirectement dans la biosynthèse des phénols; lorsque le taux de virus atteint son maximum dans les feuilles infectées, les métabolites de l'hôte peuvent être de nouveau utilisés dans la chaîne de réaction menant aux composés phénoliques.

Le *Nicotiana tabacum* variété Samsun bien qu'accumulant au cours d'une infection par le virus de la mosaïque du tabac les acides chlorogéniques (MARTIN, 1958), les flavonosides (rutine, nicotiflorine, isoquercitrine) et l'acide *p*-coumarylquinique ne produit, ni les acides férulylquiniques, ni les très nombreux composés apparaissant dans un tabac de la variété *Xanthi* n. c. virosé à 20 °C (dérivés du glucose des acides cinnamique et benzoïque).

Le métabolisme des composés phénoliques dans le *Nicotiana Xanthi* n. c. virosé à 30 °C est différent de celui existant dans le *Nicotiana Samsun*. Ces deux tabacs pourraient réagir différemment à l'égard du virus de la mosaïque du Tabac dans le cas d'une infection systémique. La multiplication virale pourrait être plus importante dans le cas du *Nicotiana tabacum* variété *Xanthi* n. c. virosé à 30 °C; l'utilisation des systèmes métaboliques de l'hôte serait donc elle-même plus importante cela pouvant conduire à une accumulation moindre en phénols.



TRANSFERT THERMIQUE DE 20 °C A 30 °C

FIG. 3. — En trait plein : ○—○ tabacs témoins laissés 108 heures à 20 °C puis transférés à 30 °C (février 1969).  
 En pointillé : x-----x tabacs inoculés et laissés 108 heures à 20 °C puis transférés à 30 °C (février 1969).

Evolution des teneurs en phénols totaux et en principaux phénols dans des tabacs de la variété Xanthi n.c. inoculés à 20 °C et laissés 108 heures à cette température, puis transférés à 30 °C.

D. — EVOLUTION QUANTITATIVE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES DANS DES TABACS VIROSÉS DE LA VARIÉTÉ Xanthi n. c. SOUMIS A DES TRANSFERTS THERMIQUES.

1) **Transfert thermique de 20 à 30 °C** (fig. 3).

Les feuilles de tabacs de la variété Xanthi n. c. inoculées à 20 °C et présentant après 108 heures à cette température, 100 à 150 lésions locales sont transportées à 30 °C. Le transfert à cette température amène l'extension du virus dans la feuille inoculée à partir des particules virales situées dans les cellules périphériques aux cellules nécrosées.

Les résultats obtenus nous montrent que le transfert à 30 °C entraîne très rapidement (dès 48 heures) une *diminution* du contenu des phénols totaux, une *baisse* considérable des teneurs en acides chlorogéniques, en rutine et en nicotiflorine, une *chute* spectaculaire des acides *p*-coumaryl et férulylquiniques et une *disparition* rapide de la scopoline et du férulyl-1 glucose. Les deux dernières substances ne sont plus qu'à l'état de traces dans des tabacs nécrosés ayant subi un transfert de 84 heures à 30 °C (TANGUY, 1970).

Les plantes infectées à 20 °C et conservées 108 heures à cette température voient leurs teneurs en acides caféylquiniques et en flavonosides décroître de 40 % par rapport aux plantes saines témoins au cours d'un transfert de 144 heures à 30 °C. De tels tabacs renferment des quantités d'acides *p*-coumaryl et férulylquiniques voisines de 30 µg par gramme de poids frais, alors qu'elles s'élèvent respectivement à 81 et 138 µg par gramme de poids frais dans un *Nicotiana Xanthi* n. c. inoculé à 20 °C et laissé 108 heures à cette température. La baisse observée est d'autant plus importante que le séjour à 30 °C est plus long. Elle doit correspondre à une synthèse accélérée de particules virales (cette dernière étant déclenchée par le transfert à 30 °C). Ces résultats ne font que confirmer ceux obtenus lors de l'infection virale à 30 °C.

2) **Transfert thermique de 30 à 20 °C** (fig. 4).

Après avoir été inoculés à 30 °C, laissés 36 ou 48 heures à cette température, ce qui permet l'extension de l'infection à partir du point d'inoculation, les tabacs de la variété Xanthi n. c. sont transférés à 20 °C. Dans ces conditions, la réaction d'hypersensibilité est déclenchée par un retour à 20 °C, elle intéresse d'un seul coup la majorité des cellules infectées et se situe à un moment facilement repérable. Quelques heures (de 8 à 12 heures) suffisent pour qu'apparaissent nettement les premiers symptômes de la nécrose. Pour ce type d'expérience, il est nécessaire que le nombre de points d'entrée du virus n'excède pas la centaine, afin que lors du transfert à 20 °C, les feuilles présentent encore des plages de tissus vivants entre les nécroses qui apparaissent à cette température.

Nous constatons que le transfert à cette température entraîne une *rapide augmentation* des phénols totaux des acides chlorogéniques et des flavonosides. Il s'accompagne aussi d'une *accumulation* des acides *p*-coumaryl et férulylquiniques (teneurs situées entre 70 et 80 µg par gramme de poids frais) et enfin d'une production de férulylglucose (35 à 40 µg par gramme de poids frais) et de scopo-

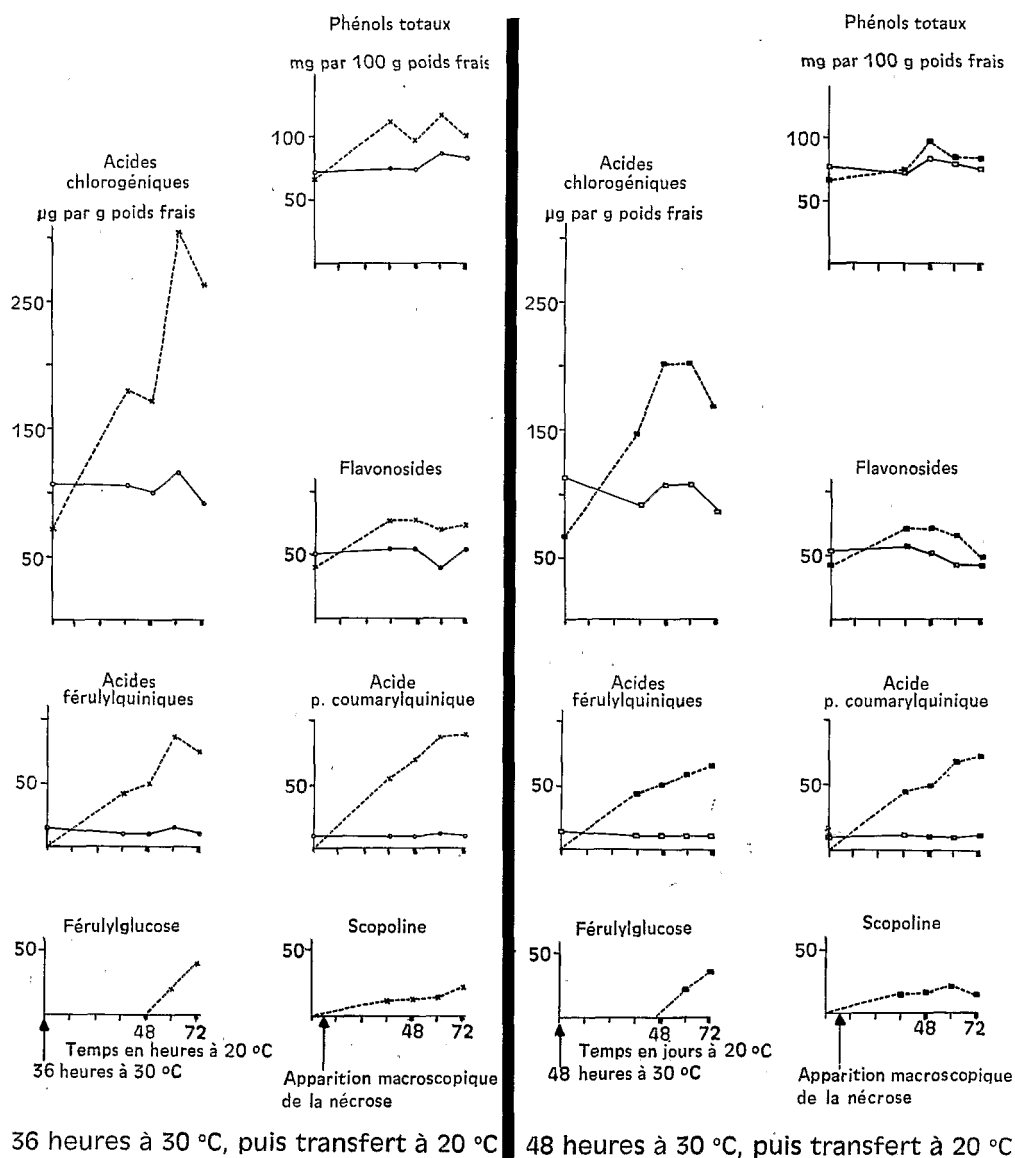


FIG. 4. — En trait plein : plantes saines

○—○ tabacs laissés 36 heures à 30 °C puis transférés à 20 °C.  
(janvier 1970)

□—□ tabacs laissés 48 heures à 30 °C puis transférés à 20 °C.

En pointillé : plantes virées

×—× tabacs inoculés et laissés 36 heures à 30 °C puis transférés à 20 °C.  
(janvier 1970)

■—■ tabacs inoculés et laissés 48 heures à 30 °C puis transférés à 20 °C.

Evolution des teneurs en phénols totaux et en principaux phénols dans des tabacs de la variété Xanthi n.c. inoculés à 30 °C et laissés 36 ou 48 heures à cette température, puis transférés à 20 °C.

line (20 µg par gramme de poids frais). Ces valeurs concernent un tabac malade transféré 72 heures à 20 °C. Ces réactions se manifestent dès un *transfert de 36 heures à 20 °C* (TANGUY et MARTIN, 1970). En effet, les tabacs de la variété Xanthi n. c. inoculés et laissés 36 heures à 30 °C, puis transférés à 20 °C durant une même période de temps, voient leurs teneurs en acides chlorogéniques subir une augmentation de 40 % et celles des flavonosides s'élever de 30 % par rapport aux plantes saines témoins.

La synthèse des acides chlorogéniques et des flavonosides paraît être plus importante dans un tabac infecté ayant passé 36 heures à 30 °C, puis transféré à 20 °C, que dans celui inoculé et laissé 48 heures à 30 °C avant le passage à 20 °C. Ce phénomène est logique puisque dans le dernier tabac, les feuilles virosées comportent une plus grande proportion de tissus nécrosés donc de cellules mortes. Ces feuilles présentant moins de tissus intacts ont donc un métabolisme amoindri par rapport à celui existant dans les feuilles d'un *Nicotiana Xanthi n. c.* laissé seulement 36 heures à 30 °C. Ces résultats viennent confirmer ceux que nous avons abtenus lors de dosages effectués en fonction du temps sur des feuilles saines et nécrosées à 20 °C de *N. Xanthi n. c.* Ils indiquent que l'accumulation et la production des nombreuses substances phénoliques dans les tabacs de la variété Xanthi n. c. inoculés à 30 °C puis transférés à 20 °C, sont déclenchées après l'apparition des lésions locales nécrotiques, c'est-à-dire une fois l'hypersensibilité acquise. En effet, dans ces conditions, la nécrose est nettement apparente après 12 heures de séjour à 20 °C, or les différences que nous observons lors du transfert à cette température deviennent importantes entre 36 et 72 heures.

## DISCUSSION, CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Il apparaît à la suite de ces expériences, que d'une part la multiplication du virus, d'autre part la température, affectent le métabolisme des phénols dans les feuilles de *Nicotiana Xanthi n. c.*

La stimulation de synthèse des composés phénoliques, dans les feuilles nécrosées de *N. Xanthi n. c.* se présente surtout comme l'activation des réactions de *glucosidification*, de *méthylation* et d'*ortho-hydroxylation*.

### Glucosidification.

Une des caractéristiques de l'infection virale à 20 °C d'un tabac hypersensible de la variété Xanthi n. c., est l'accumulation de phénols sous forme de glucosides et d'esters du glucose. Cet apport de glucose pourrait être réalisé grâce à des enzymes utilisant comme donneur glucose de l'uridine diphosphate glucose (YAMABA et CARDINI, 1960; CORNER et SWAIN, 1965).

### Méthylation.

La formation de lésions locales nécrotiques s'accompagne également d'une stimulation des réactions de méthylation (production de dérivés de la scopolétine

des acides férulique sinapique et vanillique). Ce phénomène doit être la conséquence de l'activation de la méthyltransférase (FINKLE et NELSON, 1963 *a*; FINKLE et NELSON, 1963 *b*; HESS, 1964; HESS, 1965). Cette enzyme assurerait le transfert du groupement méthyle probablement sous la forme de la S-adénosylméthionine.

### Ortho-hydroxylation.

La présence de composés *o*-hydroxylés (acides *o*-coumarique méliolotique) dans les feuilles nécrosées de *Nicotiana Xanthi* n. c., montre que l'hydroxylation de l'acide cinnamique peut se faire également et exclusivement en position ortho de la chaîne carbonée.

Cette augmentation d'activité dans la synthèse des phénols doit être une conséquence de l'activation du cycle des phosphopentoses (SOLYMOSEY et FARKAS, 1963), c'est-à-dire de la stimulation des enzymes appartenant à ce cycle, en particulier des deux déshydrogénases spécifiques (glucose-6 phosphate, 6-phosphogluconate déshydrogénases). Cette voie oxydative fournirait l'érythrose-4 phosphate et le NADPH<sub>2</sub> (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) nécessaires à l'élaboration des noyaux benzénique et indolique. Le coenzyme est nécessaire à la réduction de l'acide déhydro-5 shikimique en acide shikimique, et à la transformation de la coumarine en dihydrocoumarine.

Les dosages des composés phénoliques effectués en fonction du temps sur des feuilles saines et virosées à 20 °C de *Nicotiana Xanthi* n. c., ont permis de résoudre le rôle de ces substances dans la formation des lésions locales nécrotiques. Les différences entre plantes saines et malades deviennent importantes, lorsque la synthèse du virus est pratiquement achevée, et que l'hypermensibilité est acquise. Ces variations maximales entre 60 et 156 heures tendent ensuite à s'estomper pour la plupart des composés phénoliques. *Les substances phénoliques ne semblent donc pas responsables de la formation des nécroses donc de la réaction d'hypermensibilité.* La synthèse phénolique n'apparaît stimulée que par suite d'effets secondaires de l'infection virale. Les résultats sont en accord avec ceux obtenus par CABANNE et al. (1969), concernant l'activité de la polyphénoloxydase chez le *N. Xanthi* n. c. infecté à 20 °C par le virus de la mosaïque du tabac. Ces auteurs ont en effet montré une augmentation de l'activité enzymatique après l'apparition des nécroses. Ils en concluent que l'augmentation de la polyphénoloxydase n'est pas responsable de la mort des cellules, mais doit être considérée comme une réaction secondaire.

L'augmentation de l'activité polyphénoloxydasique, et l'accumulation, et la production de substances phénoliques sont plutôt les *conséquences* que les causes de ce processus. La synthèse de l'oxydase pourrait être déréprimée par un inducteur, ce dernier pouvant être l'un des substrats de l'enzyme. L'hypothèse suivant laquelle des quinones toxiques, résultant de l'oxydation des phénols par la polyphénoloxydase, seraient capables de tuer les cellules malades et ainsi d'arrêter l'infection virale, ne semble pas vérifiée.

Si les composés phénoliques ne peuvent être considérés comme intervenant directement dans le blocage de la replication de l'A.R.N. viral, il est toutefois possible que l'inhibition pouvant intervenir dans la synthèse ou l'activité de l'A.R.N. replicase, soit cependant liée au cycle oxydatif des phospho-pentoses. L'accumulation des phénols n'est qu'une conséquence de la stimulation de cette voie.

## BIBLIOGRAPHIE

- BATE-SMITH E.C., 1954b. — Leucoanthocyanins. I. Detection and identification of anthocyanins formed from leucoanthocyanins in plant tissues. *Biochem. J.*, **58**, 122-125.
- BRAY H.G. et THORPE W.V., 1954. — Analysis of phenolic compounds of interest in metabolism. In *Methods biochem. Anal.*, D. GLICK, **1**, 27-57.
- CABANNE F., SCALLA R. et MARTIN C., 1969. — Rôle de la polyphénoloxydase dans le déclenchement du processus de nécrose chez le *Nicotiana Xanthi* n.c. infecté par le virus de la mosaïque du Tabac. *C. R. Acad. Sci.*, **268**, 59-61.
- CARTWRIGHT R.A. et ROBERTS E.A.H., 1955. — Theogallin as a galloylester of quinic acid. *Chem. and Industry.*, 230-231.
- CORNER J.J. et SWAIN T., 1965. — Enzymatic synthesis of the sugar esters of hydroxy-aromatic acids. *Nature.*, **207**, 634-635.
- CORSE J., SONDHEIMER E. et LUNDIN R., 1962. — 3-feruloyl quinic acid a methyl ether of chlorogenic acid. *Tetrahedron.*, **18**, 1207-1210.
- FARKAS G.L. et KIRALY Z., 1962. — Role of phenolic compounds in the physiology of plant disease resistance. *Phytopathol. Z.*, **44**, 105-110.
- FINKLE B.J. et NELSON R.F., 1963a. — Enzyme reactions with phenolic compounds a meta-o-methyltransferase in plants. *Biochem. biophys. Acta.*, **78**, 747-749.
- FINKLE B.J. et NELSON R.F., 1963b. — Enzyme reactions with phenolic compounds effect of o-methyltransferase on a naturel substrate of fruit polyphenoloxydase. *Nature*, **197**, 902-903.
- FOLIN O. et CIOCALTEU V., 1927. — On tyrosine and tryptophane determination in proteins. *J. biol. Chem.*, **73**, 627-650.
- GRIFFITHS L.A., 1962. — On the co-occurrence of coumarin, o-coumaric and melilotic acid in *Gliricidia sepium* and *Dipteryx odorata*. *J. exper. Bot.*, **13**, 169-175.
- HARBORNE J.B. et CORNER J.J., 1961. — Plant polyphenols. 4-hydroxycinnamic sugar derivatives. *Biochem. J.*, **81**, 242-250.
- HESS D., 1964. — Die Methylierung von Kaffeesäure zu Farulasäure durch Enzym-systeme aus höheren Pflanzen. *Z. Naturforsch.*, **19 b**, 447-449.
- HESS D., 1965. — Die Methylierung von 5-Hydroxy-ferulasäure zu Sinapinsäure in zellfrei Systemen. *Z. Pflanz. Physiol.*, **53**, 460-463.
- HOEFFNER W., 1932. — Zwei neue Reaktionen für Kaffeesäure und Chlorogensäure. *Chemiker. Ztg.*, **56**, 991.
- IBRAHIM R.K. et TOWERS G.H.N., 1960. — The identification by chromatography of plant phenolic acids. *Arch. Biochem. Biophys.*, **87**, 125-128.
- KEITH R.W., LE TOURNEAU D. et MAHLUM D., 1958. — Quantitative paper chromatographic determination of phenols. *J. Chromatogr.*, **1**, 534-536.
- LENTNER C. et DEATHERAGE F.E., 1959. — Organic acids in coffee in relation to the degree of roast. *Food. Res.*, **24**, 483-492.
- MARTIN C., 1958. — Etude de quelques déviations du métabolisme chez les plantes atteintes de maladies à virus. *Thèse de Doct. (Etat) Sci. nat.*, Paris, 1-73.
- MARTIN C. et GALLET M., 1966a. — Contribution à l'étude de la température sur la réaction d'hypersensibilité de certains hôtes à l'égard du virus de la mosaïque du Tabac. *C. R. Acad. Sci.*, **262**, 646-649.
- MARTIN C. et GALLET M., 1966b. — Hypersensibilité aux virus, température et induction florale chez les végétaux. *C.R. Acad. Sci.*, **262**, 997-1000.
- MARTIN C., SCALLA R., MEIGNOZ R. et GALLET M., 1969. — Etude au microscope électronique chez le *Nicotiana Xanthi* n.c. des cellules vivantes situées au voisinage d'une lésion nécrotique d'hypersensibilité au virus de la mosaïque du Tabac. *C. R. Acad. Sci.*, **268**, 2183-2185.

- PARTRIDGE S.M., 1949. — Aniline hydrogen phthalate as a spraying reagent for chromatography of sugars. *Nature.*, **164**, 443.
- PARTRIDGE S.M. et WESTALL R.G., 1948. — Filter-paper partition chromatography of sugars. I. General description and application to the qualitative analysis of sugars in apple juice, egg white and foetal blood of sheep. *Biochem. J.*, **42**, 238-250.
- PICTET G. et BRANDENBERGER H., 1960. — Substances polyphénoliques des plantes, séparation des acides phénols du café vert et du café rôti. *J. Chromatogr.*, **4**, 396-409.
- SCALLA R. et MEIGNOZ R., 1967. — Quelques effets d'une infection par le virus de la mosaïque du Tabac sur le métabolisme du phosphore chez le *Nicotiana Xanthi* n.c. *Ann. Physiol.*, **9**, 383-396.
- SOLYMOSEY F. et FARKAS G.L., 1963. — Metabolic characteristics at the enzymatic level of tobacco tissue exhibiting localized acquired resistance to viral infection. *Virology.*, **21**, 210-221.
- SONDHEIMER E., 1958. — On the distribution of caffeic and the chlorogenic acid isomers in plants. *Arch. Biochim. Biophys.*, **74**, 131-138.
- SWAIN T., 1953. — The identification of coumarins and related compounds by filter-paper chromatography. *Biochem. J.*, **53**, 200-209.
- TANGUY J., 1970. — Evolution quantitative en fonction du temps et de la température, des composés phénoliques chez le *Nicotiana Xanthi* n.c., infecté par le virus de la mosaïque du Tabac. *C. R. Acad. Sci.*, (sous presse).
- TANGUY J. et GALLET M., 1969a. — Evolution qualitative de certains composés phénoliques lors du déclenchement du phénomène d'hypersensibilité au virus de la mosaïque du Tabac. *C. R. Acad. Sci.*, **269**, 589-592.
- TANGUY J. et GALLET M., 1969b. — Evolution quantitative en fonction du temps des composés phénoliques chez le *Nicotiana Xanthi* n.c. infecté à 20 °C par le virus de la mosaïque du Tabac. *C. R. Acad. Sci.*, **269**, 773-776.
- TANGUY J. et MARTIN C., 1970. — Evolution quantitative en fonction du temps, des composés phénoliques chez le *Nicotiana Xanthi* n.c. au cours d'un transfert thermique de 30 °C à 20 °C après une inoculation à 30 °C par le virus de la mosaïque du Tabac souche commune (V.M.T.). *C. R. Acad. Sci.*, (sous presse).
- WILLIAMS A.M., 1955. — Paper chromatography of cinnamic acid derivatives. *Chem. and Industry.*, 120-121.
- WILLIAMS A.M., 1958. — A p-coumaryl-quinic from apple fruit. *Chem. and Industry*, 1200.
- YAMABA T. et CARDINI C.E., 1960. — The biosynthesis of plant glycosides. *Arch. Biochem. Biophys.*, **86**, 127-132.

N° d'enregistrement  
au CNRS : A.O. 4842

**Quelques aspects du métabolisme  
des composés phénoliques chez les *Nicotiana*  
hypersensibles au virus  
de la mosaïque du Tabac souche commune (V.M.T.).**

**ARTICLE PRINCIPAL**

de la THÈSE de DOCTORAT D'ETAT ÈS SCIENCES NATURELLES  
présentée à la FACULTÉ des SCIENCES de PARIS

par

**Josette TANGUY**

Soutenue le 24 septembre 1970 devant la Commission d'Examen

MM. CAMUS

Président

HIRTH  
MARTIN

Examineurs

Mme POLONSKY

- 2 JUIN 1972

O. R. S. I. O. M.

Collection de Référence

n° 5483 *ed Hgt*