RÉACTIONS DE PLANTULES DE *Gossypium* L. AU PARASITISME DE *Phytophthora* DE BY. TROPICAUX. PROPRIÉTÉS DE COMPOSÉS PHÉNOLIQUES ÉLABORÉS PAR DES PLANTULES DE *Gossypium* L. ET DE *Lycopersicum* Mill.

par

A. RAVISÉ [1] et **B. TRIQUE** [2]

RÉSUMÉ

Les résultats d'infections expérimentales réalisées sur douze **Gossypium** avec huit souches de **Phytophthora** ont confirmé l'existence de réactions différentielles de résistance. Celles-ci ne semblent pas spécifiques d'un parasite, leur intensité correspondrait à des caractères intrinsèques. Les teneurs en composés phénoliques augmentent dans les tissus des plantules après l'inoculation. Parmi ceux-ci, deux groupes de substances possèdent des caractères proches de celles élaborées par des **Lycopersicum** dans des conditions expérimentales identiques. Ils inhibent de façon non compétitive, in vitro, trois enzymes pectinolytiques et une β-glucosidase, tandis qu'ils stimulent l'activité polyphénol-oxydasique de l'hôte.

PLAN

INTRODUCTION

MATERIEL ET TECHNIQUES :

1) Plantes-hôtes.
2) Souches de *Phytophthora*.
3) Techniques expérimentales.
4) Etude des composés phénoliques.
5) Mesure des activités enzymatiques.

RESULTATS

A - *Relations hôte - parasite :*

1) Réactions variétales aux inoculations expérimentales.
2) Evolution des composés phénoliques dans les tissus.

B - *Comparaison de composés phénoliques :*

1) Caractères des substances A et B.
2) Action fongistatique en microculture.
3) Action sur les lyases pectiques des *Phytophthora*.
4) Inhibition de l'activité endopectate hydrolase.
5) Inhibition de l'activité pectine méthyl estérase.
6) Inhibition de l'activité β-glucosidase.
7) Modification d'activité polyphénoloxydasique.

DISCUSSION

1) Relations hôte - parasite.
2) Substances phénoliques et résistance.
3) Action fongistatique.
4) Propriété d'effecteur enzymatique.

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Des fontes de semis ou des nécroses de jeunes plantules de cotonnier, principalement en terrains compacts ou lors de périodes de forte pluviosité, peuvent être provoquées par des champignons parasites appartenant à la famille des Pythiacées. Les principaux agents pathogènes reconnus sont le *Phytophthora parasitica* et le *P. palmivora* (30), le *Pythium aphanidermatum* (8, 9). Ceux-ci sont aussi associés à d'autres micromycètes telluriques, notamment des *Rhizoctonia* (8, 9) et causent des pertes parfois importantes.

Nous avons décelé chez diverses variétés de cotonnier des différences de sensibilité à plusieurs espèces

1 et 2 : O.R.S.T.O.M., 24, rue Bayard, PARIS-8e et Laboratoire de Biologie Végétale Université de Bretagne Occidentale, BREST.

31 JAN. 1973

Collection de Référence

n° 5902

de *Pythium* (24) et de *Phytophthora* (23). Le plus souvent les plantules de *G. barbadense* sont plus vulnérables que celles de *G. hirsutum;* dans ce groupe existent des différences de sensibilité entre espèces et entre hybrides intra-spécifiques. Les résultats obtenus sont reproductibles, la fluctuation étant réduite, avec des populations de semences d'origines géographiques différentes. Il semble donc que les réactions au parasitisme, dès le stade plantule, puissent correspondre à des facteurs intrinsèques de résistance.

Par une série d'expériences *in vitro,* nous tentons, d'une part, de préciser les différences de sensibilté de plantules de *Gossypium* spontanés ou cultivés à des souches de *Phytophthora* et, d'autre part, de vérifier s'il existe une relation entre leur comportement et la résistance reconnue pour d'autres agents pathogènes. Dans une seconde partie est abordée l'étude de substances phénoliques synthétisées par les plantules après l'infection. Elles possèdent des caractères communs avec celles élaborées par divers *Lycopersicum* dans les mêmes conditions.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

1) Plantes-hôtes

Toutes les semences de cotonnier proviennent des collections de l'I.R.C.T. Le tableau 1 indique leurs caractéristiques.

L'étude comparative des substances phénoliques élaborées par les plantules de *Gossypium* et de *Lycopersicum* après l'infection a été réalisée avec des extraits de *Lycopersicum pimpinellifolium* et des variétés de tomates Pierbotans, Rossol, Piersol et Pieralbo dont les semences sont fournies par la Station d'Amélioration des Plantes Maraîchères de l'I.N.R.A. à Montfavet.

2) Souches de *Phytophthora*

Les essais sont réalisés avec 8 souches appartenant à 5 espèces tropicales dont les caractères sont rassemblés dans le tableau 2. Ces souches, utilisées au cours de précédentes études, ont manifesté des différences de virulence à l'égard du cotonnier (23). Nous

Tableau 1. — *Liste des* Gossypium *utilisés pour les inoculations expérimentales.*

Variétés	Nature	Origine	Caractères
Penca 67	*G. barbadense*	I.R.C.T.	Sensible
Bulk	*G. hirsutum*	I.R.C.T.	Sensible
B 50	*G. hirsutum*	I.R.C.T.	Sensible
Carolina Queen	*G. hirsutum*	I.R.C.T.	Tolérant à la Verticilliose
Acala 4-42	*G. hirsutum*	I.R.C.T.	Tolérant à la Verticilliose
Deltapine Smooth Leaf	*G. hirsutum*	I.R.C.T.	Tolérant à la Verticilliose
HAR L 229-29	hybride interspécifique	I.R.C.T.	Sélection expérimentale
HAR L 299-10	(*hirsutum* ×	I.R.C.T.	Sélection expérimentale
HAR L 231-24	*arboreum* ×	I.R.C.T.	Sélection expérimentale
HAR L 528-17	*raimondii*)	I.R.C.T.	Sélection expérimentale
G. budi	*G.* spontané	I.R.C.T.	Très sensible
G. herbaceum	*G.* spontané	I.R.C.T.	Très sensible

Tableau 2. — *Liste des souches de* Phytophthora *utilisées pour les infections expérimentales des* Gossypium.

N°	Espèce	Polarité sexuelle	Hôte	Origine géographique
I	*P. boehmeriae*	Homothallique	fruit de *Citrus*	fournie par le CMI
II	*P. palmivora*	+	aubergine	Côte d'Ivoire
III	*P. palmivora*	—	oranger	Congo
IV	*P. parasitica*	—	*Nigella damascina*	Ile Maurice
V	*P. parasitica*	—	oranger	Congo
VI	*P. capsici*	+	*Capsicum*	Mexique
VII	*P. cinnamomi*	+	avocatier	Côte d'Ivoire
VIII	*P. cinnamomi*	+	avocatier	Congo

les avons également choisies à cause de la diversité de leurs origines afin de vérifier s'il existe des différences d'aptitudes parasitaires en relation avec l'hôte ou la zone climatique dont elles proviennent. Pour chaque souche sont établis des clones présumés monocaryotiques issus de plusieurs lignées monozoospores successives ou dans le cas du *P. cinnamomi* de fractionnement d'hyphes.

3) Techniques expérimentales

Les semences sont désinfectées par trempage dans l'hypochlorite de calcium à 4 p. 100, puis subissent plusieurs rinçages à l'eau distillée stérile. Les semis sont effectués sur un milieu synthétique gélosé à 0,8 p. 100 (23), soit en fioles de Roux, soit en tubes de 300 × 25 mm.

L'inoculation est réalisée suivant une technique standardisée (26) à l'aide de broyats de thalles âgés de 10 jours. Un ml d'inoculum, correspondant à environ 1 mg de mycélium sec, est déposé à la base de chaque plantule sans léser les tissus. La croissance et l'incubation se déroulent à 28° C avec un éclairage de 12 h sur 24. Les observations sur le comportement des plantules sont effectuées 3, 7, 14 et 21 jours après l'inoculation. Certaines séries sont conservées 2 mois.

Après arrachage, les plantules sont sectionnées en plusieurs tronçons en fonction des symptômes. Chaque lot est broyé en bain de glace en présence d'un anti-oxydant-acide ascorbique ou thioglycolate de sodium - pendant 6 minutes. Une partie aliquote est alors prélevée pour les essais enzymatiques tandis que le reste de l'échantillon sert à la recherche des composés phénoliques.

4) Etude des composés phénoliques

Une partie des travaux fut réalisée par J. TANGUY au Laboratoire de Phytopathologie des S.S.C. de l'O.R.S.T.O.M.

Les substances sont extraites soit par ébullition à reflux, soit directement à l'aide d'un solvant polaire. Chaque série est divisée en 3 lots. L'un est destiné à un dosage des phénols totaux. Les 2 autres subissent une hydrolyse alcaline ou enzymatique avec la β glucosidase afin de libérer les aglycones des esters et des hétérosides synthétisés par la plante.

Les méthodes générales d'étude des phénols ont été décrites (32, 33, 34). Les substances sont séparées par chromatographie sur couche mince de silice, le plus souvent à 2 dimensions sur papier Whatman. Les mélanges suivants sont utilisés comme éluants :

— phase organique : n-butanol - acide acétique - eau (4 : 1 : 5) ;
— acide acétique 2 p. 100 ;
— phase organique : n-butanol - ammoniaque 2 N (1 : 1) ;
— n-butanol - éthanol - eau (4 : 1 : 2) ;
— benzène - méthanol (95 : 5) ;
— méthanol - eau (4 : 1) ;
— n-hexane.

L'identification des composés s'effectue par comparaison des R_f dans les différents éluants et des fluorescences avec ceux des marqueurs. Après avoir été isolées et purifiées par chromatographie, les substances sont identifiées par leur spectre d'absorption en U.V., en milieu neutre puis alcalin, ainsi que par des tests biochimiques.

Le dosage des composés phénoliques est réalisé par la méthode de FOLIN-CIOCALTEU basée sur leur grande oxydabilité.

5) Mesure des activités enzymatiques

Tous les mélanges réactionnels sont incubés à une température constante de 30° C.

a - *Lyases et hydrolases pectiques.*

Les activités pectinolytiques sont déterminées sur cinq substrats de degrés de méthylation croissants (28, 36) : acide polygalacturonique, polypectate de sodium, pectine « ruban rouge », pectine de Citrus et pectine « ruban brun ». Les essais sont effectués en milieu réactionnel tamponné pour le pH. Les concentrations finales correspondent pour la recherche des lyases à 250 ppM de substrat, $CaCl_2$ 1 mM, tampon tris-HCl 50 mM et pour celle des hydrolases à 750 ppM de substrat, Nacl 0,2 M, $CaCl_2$ 1 mM, tampons citrate ou phosphate 0,1 M. Les mesures viscosimétriques sont effectuées dans ce dernier cas avec 1 p. 100 de substrat, le $CaCl_2$ étant remplacé par de l'oxalate d'ammonium 10 mM (17). Exceptionnellement, pour les activités endo PG de faible intensité, la comparaison de l'essai par rapport au témoin s'effectue directement sur les valeurs de pourcentage de décroissance du flot de mélange réactionnel à 100 et 200 minutes (11). La dégradation du substrat par les lyases est suivie en spectrophotométrie de 227 à 240 nm par l'accroissement d'absorption dû à la formation de doubles liaisons.

b - *Pectine méthyl estérase.*

L'apparition de carboxyles consécutive à l'hydrolyse des esters méthyliques est mesurée par titrimétrie au pH maintenu constant de 7,00 ± 0,02 (35). L'unité de PME est la quantité d'enzyme qui, dans ces conditions, catalyse la libération d'un microéquivalent gramme d'acidité H^+.

c - *β glucosidase.*

Les essais sont réalisés selon les techniques de REESE et *al.* (29), le pH étant tamponné à 5,5 par un citrate à 50 mM, le p-nitro phényl β, D-glucopyranoside à la concentration de 4 p. 100 (p/V) étant mis en présence d'une préparation de β glucosidase (Fluka). Les cinétiques de cette activité avec ou sans effecteur sont suivies par spectrophotométrie à 410 nm.

d - *Polyphénol oxydases.*

Leur activité est déterminée en appliquant la méthode de FUCHS (9), MATTA et DIMOND (18). Le substrat consiste en une solution, préparée lors de l'essai, de pyrocatéchol-1.2 benzène di-ol (NBC) à 0,5 p. 100

dans un tampon Mac Ilvaine - 0,1 M - à pH 6,0. La modification d'absorption est mesurée par spectrophotométrie à 400 nm.

6) Réalisation des microcultures

Les microcultures sont effectuées en micromanipulation sous chambre à huile dans la solution nutritive standardisée (26). Afin d'assurer un bon contact entre les thalles et le substrat, le volume des microgouttes est de 4.10^{-3} ml, les fragments d'hyphes mesurent environ 200 microns.

Les extraits phénoliques sont incorporés à la solution nutritive après évaporation sous vide du solvant. Les concentrations sont exprimées en équivalents d'acide chlorogénique pour les extraits phénoliques complexes et d'acide férulique pour les 2 groupes de substances synthétisées après l'inoculation. L'incubation se déroule à 28°C. Les observations commencent 4 à 6 h après la mise en culture, elles s'échelonnent ensuite entre 60, 96 et 120 h. Plusieurs séries de microcultures ont été conservées pendant 90 jours avant d'être transférées sur un substrat nutritif gélosé afin de mettre en évidence la survie des thalles de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, *Verticillium albo-atrum*, *V. dahliae* et *P. parasitica*.

RÉSULTATS

A - RELATIONS HOTE-PARASITE

1) Réactions variétales aux inoculations expérimentales

Certaines variétés résistent à l'infection, la plupart sont vulnérables avec des taux variables de mortalité. Il apparaît également des différences de virulence entre les souches : celles de *P. boehmeriae* et de *P. cinnamomi* étant souvent les moins pathogènes. Comme nous l'avions observé précédemment (23), les souches inoculées provoquent toutes des symptômes identiques sur les plantules sensibles : altération des parenchymes, noircissement des tissus puis fanaison. Lorsque les plantules sont tolérantes ou résistantes, les nécroses évoluent peu et se limitent le plus souvent aux assises corticales, produisant, suivant leur importance, une striation ou des taches brunes sur le collet et la base de la tige. Les symptômes sur racines évoluent plus lentement. Le parasite, aux points de pénétration, provoque l'apparition de taches bistres, puis le brunissement des parties les plus jeunes. Fréquemment, un pigment brun diffuse des tissus des racines dans le substrat gélosé.

Le *G. budi* et le *G. herbaceum* sont très sensibles à toutes les souches ; les premiers symptômes de dépérissement apparaissent vers le 4e jour suivant l'inoculation. La variété de *G. barbadense*, comme celles éprouvées précédemment, est presqu'aussi vulnérable que les deux *Gossypium* spontanés. Des différences de sensibilité existent entre les variétés de *G. hirsutum* ; elles sont de même nature que celles décelées entre les 3 variétés tolérantes à la Verticilliose et mentionnées dans le tableau 3 pour 5 des souches inoculées. Parmi celles-ci, la variété la plus sensible est Carolina Queen. Acala 4-42 est moyennement parasitée par 2 souches de *P. palmivora* mais, par contre, très attaquée par l'une des souches du *P. parasitica* qui est par ailleurs peu pathogène pour divers hybrides interspécifiques de *Gossypium* ainsi que pour 6 hôtes appartenant à plusieurs familles botaniques. Enfin, la variété Deltapine Smooth Leaf est tolérante pour ces agents pathogènes. Des écarts de sensibilité aussi importants sont décelés chez les hybrides interspécifiques, le plus sensible *in vitro* étant le HAR L 299-10.

2) Evolution des composés phénoliques dans les tissus des plantules résistantes

Dans les plantules survivant à l'infection, les teneurs en phénols sont déterminées et comparées à celles des lots témoins. J. TANGUY a identifié les principaux composés phénoliques décelés dans les tissus et dosé une partie d'entre eux.

L'accumulation de substances phénoliques est importante. Les composés identifiables dérivent de l'acide benzoïque, de l'acide cinnamique et de flavones. Plusieurs substances synthétisées par les plantules après l'inoculation ne sont pas encore déterminées.

Les acides hydroxycinnamiques sont principalement sous forme d'esters de l'acide quinique : acides chlorogénique, férulyl, caféyl, p-coumaryl-quinique. Deux coumarines, la quercétine et la scopolétine, forment des hétérosides : l'isoquercitrine (quercétine-3-glucose) et la scopoline (scopolétine-3-glucose). Un dérivé de l'acide benzoïque, l'acide gentisique est sous forme de β glucoside. Enfin a été décelé l'hétéroside d'une flavone, le Kaempférol, qui est l'astragaline (Kaempférol-3-glucose). Les flavones complexes constituent la partie la plus importante des substances phénoliques existant dans les tissus. Ce sont des flavones-3-ol, catéchine et épicatéchine, des flavones-3-4-diols, leucoanthocyane et leucocyanidine, ainsi qu'une anthocyane.

Ces composés ne sont pas également répartis dans les échantillons étudiés. Pour les variétés mentionnées ci-dessus, la teneur va en décroissant d'Acala 4-42, Deltapine Smooth Leaf, Carolina Queen, les HAR, au *G. budi*. Il n'existe donc pas, d'après les résultats des inoculations expérimentales, de corrélation directe entre les teneurs en phénols totaux et la résistance aux souches de *Phytophthora* expérimentées. En particulier, les fortes concentrations de substances flavonoïdes dans les plantules d'Acala 4-42 ne sont pas associées à d'importantes réactions de défense.

C'est pourquoi, nous avons essayé de déterminer la contribution des substances dérivées de l'acide cinnamique à la résistance des plantules. Pour cela, des extraits des variétés HAR L 528-17 et Deltapine Smooth Leaf ont subi une hydrolyse alcaline poussée et une épuration partielle. Après ce traitement, leur composition est la suivante :

— Deltapine Smooth Leaf : acide p-coumarique, acide férulique, deux substances indéterminées à fluorescence bleue sous éclairage ultra-violet, de R_f

Tableau 3. — *Comportement des plantules de six* Gossypium *à l'égard du parasitisme de cinq souches de* Phytophthora (*résultats exprimés pour* 100 *plants*).

Variétés \ Souches		II *P. palmivora*			III *P. palmivora*			IV *P. parasitica*			V *P. parasitica*			VIII *P. cinnamomi*		
		M	N	S	M	N	S	M	N	S	M	N	S	M	N	S
Gossypium budi	α	90	10	0	100	0	0	0	80 ⇄	20	0	100	0	0	100	0
	β	100	0	0				70	30	0	100	0	0	80	20	0
Acala 4-42	α	0	⇄	100	10	50 ⇄	40	10	40 ⇄	50	0	60 ⇄	40	0	20 ⇄	80
	β	30	40 ⇄	30	40	60	0	60	30 ⇄	10	25	75	0	10	30 ⇄	60
Deltapine Smooth Leaf	α	30	70 ⇄		0	20	80	0	0 ⇄	100	0	50 ⇄	50	0	20 ⇄	80
	β	45	55 ⇄		10	40 ⇄	50	20	30 ⇄	50	40	10 ⇄	50	25	40 ⇄	35
HAR L 231-24	α	0	25	75	0	65 ⇄	35	0	40 ⇄	60	0	40 ⇄	60	0	30 ⇄	70
	β	20	45 ⇄	35	82	18 ⇄		20	60 ⇄	20	15	40 ⇄	45	0	40 ⇄	60
HAR L 229-29	α	0	19 ⇄	81				0	12 ⇄	88	0	18 ⇄	82	0	14 ⇄	86
	β	17	38	45				0	15	85	3	22	75	5	19	76
HAR L 528-17	α	0	40 ⇄	60	0	15 ⇄	85	0	20 ⇄	80	40	28 ⇄	32	0	20 ⇄	80
	β	55	45 ⇄		10	70 ⇄	20	0	sans évolution		50	30 ⇄	20	20	25 ⇄	65

M = mort ;
N = nécrose ;
S = sains ; ⇄ = à la limite de 2 catégories ;
Durées d'incubation : α = 7 jours ; β = 21 jours.

0,37 et 0,90 dans le mélange benzène/méthanol (95 : 5) ;

— HAR L 528-17 : acide p-coumarique, acide férulique, acide caféique, esculétine à l'état de traces, ainsi que les deux substances à fluorescence bleue, plus concentrées.

Les aptitudes fongistatiques de ces extraits sont déterminées en les incorporant à des doses croissantes dans une solution nutritive utilisée pour réaliser des microcultures avec une souche de *P. parasitica*. L'évolution des microthalles, incubés à 28° C, est suivie pendant une semaine.

Les résultats obtenus sont analogues pour les 2 variétés. Avec l'extrait de HAR L 528-17, pour une concentration correspondant à 7.10^{-5}, exprimée en acide chlorogénique, interviennent rapidement la dégénérescence lipidique et l'autolyse du cytoplasme. Cependant, quelques hyphes émettent des filaments germinatifs courts, fortement toruleux à cytoplasme granuleux puis rapidement vacuolisé dont la croissance cesse dès les premiers jours. Transférées sur un substrat nutritif gélosé, après une semaine d'incubation, ces microcultures ne produisent pas de thalle. Le seuil fongistatique se situe vers 5.10^{-6} pour les 2 extraits hydrolysés. En deça, celui de Deltapine Smooth Leaf semble le moins toxique ; pour une concentration de 3.10^{-6}, malgré une lyse cytoplasmique importante dans les hyphes âgés, les microthalles émettent des filaments grêles, souvent vésiculeux, pouvant atteindre 50 à 100 μ en une semaine. Dans le même temps, les hyphes des microcultures-témoin ont envahi la totalité du substrat liquide et progressent parfois au-delà dans les chambres à huile.

B - COMPARAISON DE COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

Parmi les substances phénoliques s'accumulant après l'invasion des tissus, deux groupes possédant des propriétés communes sont identifiés chez les *Gossypium* et les *Lycopersicum*. Nous désignerons provisoirement chaque catégorie de substances par les lettres A et B.

Ces produits sont séparés par chromatographie. Contrairement à de nombreux produits phénoliques, ils ne migrent pas dans les éluants à base d'acides carboxyliques. Dans la plupart des solvants, notamment le mélange butanol-éthanol-eau (4 : 1 : 2, V/V), ces produits migrent au front. En chromatographie ascendante sur couche mince de silice, dans le mélange benzène-méthanol (95 : 5, V/V) ou dans l'hexane, les substances du groupe A ont un R_f de l'ordre de 0,30 à 0,40 et celles du groupe B de 0,90 à 0,98.

1) Caractères des substances A et B

Elles possèdent des caractères de phénols. Elles réagissent avec la p-nitraniline et prennent une coloration rose pâle à brune virant au bistre ou au marron après pulvérisation de carbonate de sodium. Le réactif d'HOEPFNER les colore en jaune, parfois en bistre. Le nitrate d'argent ammoniacal donne une coloration noire. Ces réactions laissent présumer qu'il s'agit d'orthodiphénols.

La vanilline sulfurique donne un spot gris noir après quelques secondes à 100° C. Comme avec de nombreux phénols, des spots colorés sont obtenus par pulvérisation de chlorure ferrique.

Les deux groupes de produits, pour un seuil de l'ordre du microgramme, donnent une coloration rose avec la ninhydrine après chauffage à 105° C. L'intensité de la réaction varie suivant l'origine des extraits.

Par contre, aucune des réactions spécifiques des coumarines, des quinones, des catéchols, des acides aminés aromatiques, des alcaloïdes et des terpènes n'a donné de résultat positif.

Ces substances sont dosables par la méthode de FOLIN-CIOCALTEU. Les courbes obtenues semblent, en première approximation, voisines de celle de l'acide férulique. Provisoirement, les dosages sont exprimés en équivalents de cet acide-phénol. D'autres essais ont concerné leur dosage par la méthode de LOWRY et *al.* Cette technique est applicable seulement aux faibles concentrations sinon interviennent des interférences avec les fonctions phénol. LEGGET BAILEY (13) indique que la réaction colorimétrique de LOWRY peut résulter de la présence de peptides ou même de certains acides aminés qui ne contiennent pas obligatoirement de radicaux aromatiques.

Les substances A et B paraissent stables. Leurs principales caractéristiques (spectre en ultra-violet, ninhydrine +, réactions phénols) ne sont pas modifiées après des tentatives prolongées d'hydrolyse par la soude N et 2 N, l'acide chlorhydrique N et 6 N à 40° C et la β glucosidase.

Leur spectre d'absorption en ultra-violet comporte un maximum vers 224 nm avec parfois des épaulements à 228 nm ou 232 nm ainsi qu'entre 255 et 260 nm. Les figures 1 à 4 représentent les spectres des substances A et B extraites de 2 *Gossypium* et de 2 *Lycopersicum*.

2) Action fongistatique en microculture

Les 2 groupes de substances A et B possèdent des propriétés fongistatiques variant avec l'origine des extraits. Les faibles concentrations réduisent la vitesse de croissance. Avec des doses plus importantes, les altérations du cytoplasme et des filaments deviennent visibles après 6 à 12 heures d'incubation. Les hyphes prennent un aspect toruleux, se cloisonnent abondamment, puis apparaissent de nombreuses chlamydospores de formes irrégulières ainsi que des vésicules intercalaires ou terminales. Aux doses fongistatiques, toutes les microcultures émettent des filaments grêles à parois irrégulières ou bien des hyphes coralloïdes souvent groupés. Des sections d'hyphes sont régénérées, des chlamydospores émettent des tubes germinatifs, leur élongation cesse rapidement. Le cytoplasme des thalles devient granuleux, se vacuolise ; les concentrations létales provoquent son autolyse. Le processus semble plus lent à l'intérieur des chlamydospores et des sporocystes dont les parois s'épaississent.

Malgré les différences de toxicité entre les extraits, les seuils fongistatiques s'échelonnent entre 10^{-6} et 10^{-5}. Le tableau 4 indique les inhibitions provoquées

Figures 1 à 4. — Spectres d'absorption dans l'ultra-violet des substances A et B, en solution dans l'éthanol à 95°, extraites de plantules de *Gossypium* et de *Lycopersicum*.

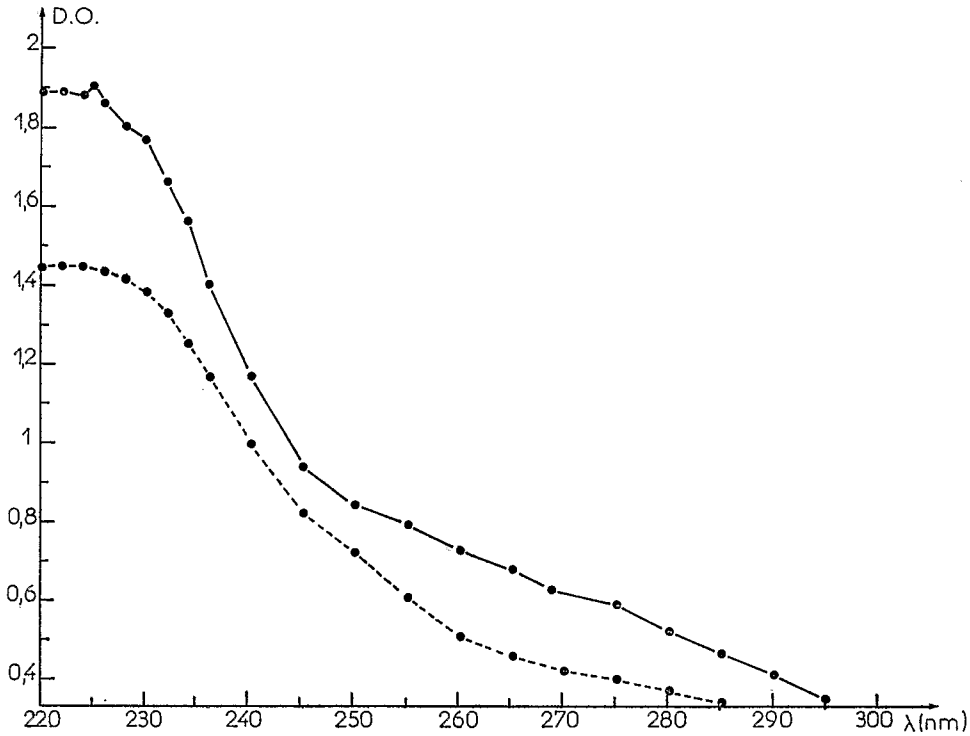

Fig. 1. — Extraits A de : HAR L 231-24 à 10 µg/ml
HAR L 229-29 à 12 µg/ml

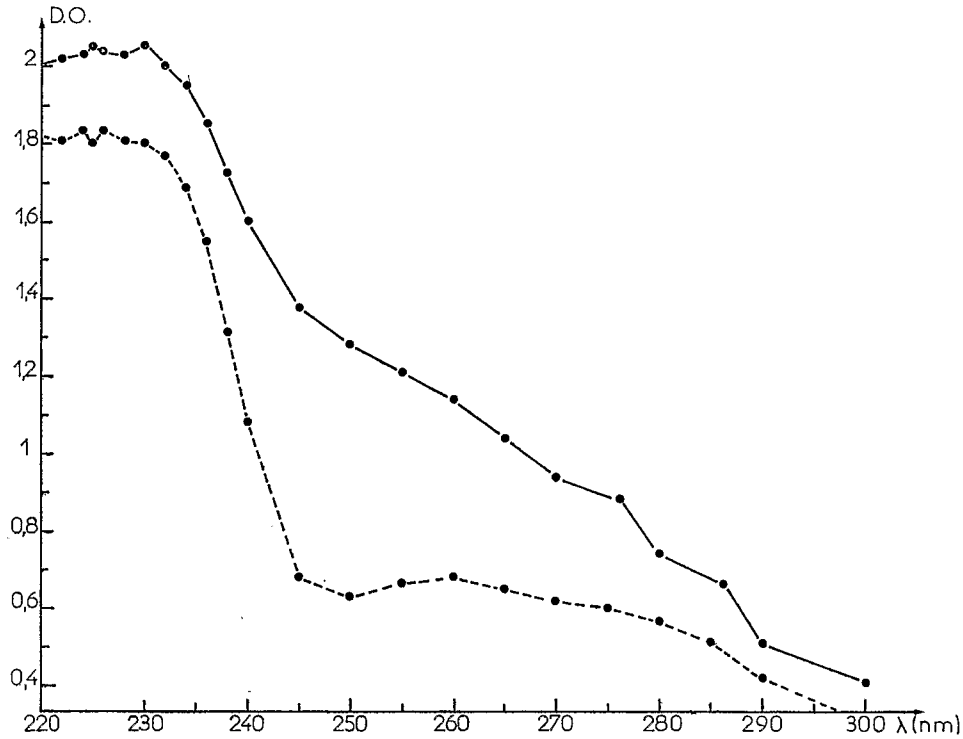

Fig. 2. — Extraits A de : *Lycopersicum pimpinellifolium* à 10 µg/ml
Piersol à 10 µg/ml

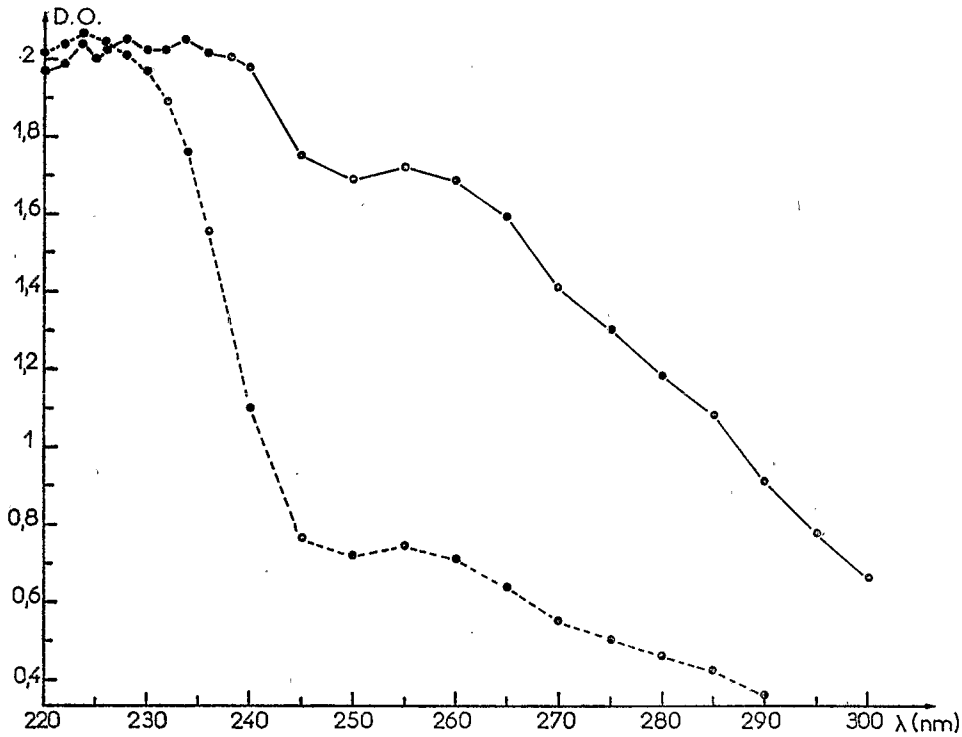

Fig. 3. — Extraits B de : HAR L 231-24 à 12 µg/ml
HAR L 220-29 à 6 µg/ml

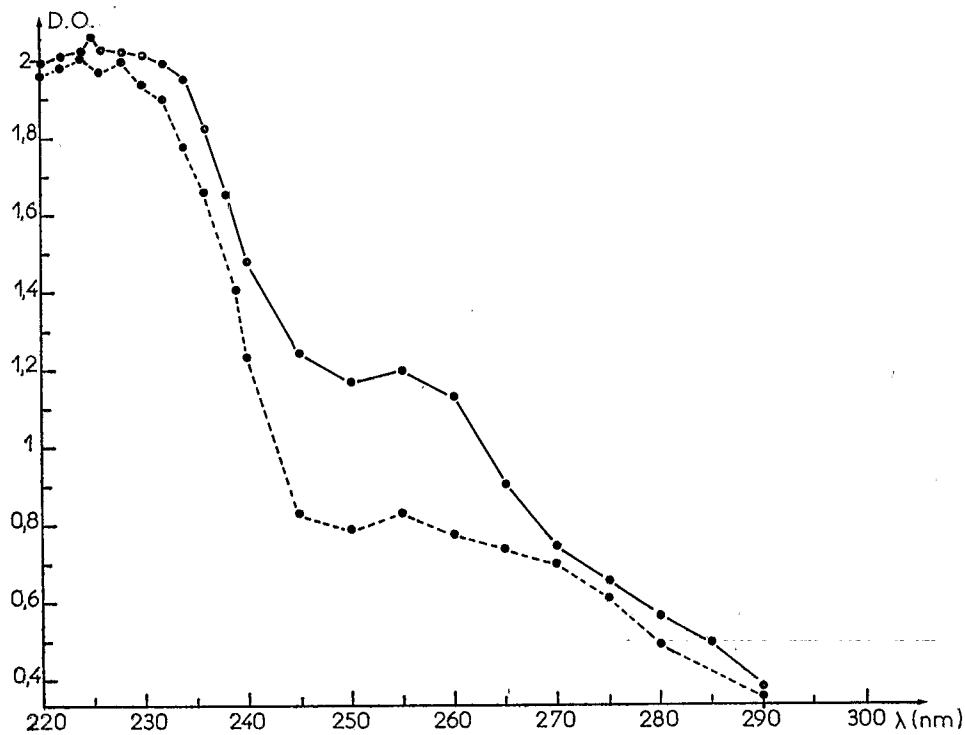

Fig. 4. — Extraits B de : *Lycopersicum pimpinellifolium* à 5 µg/ml
Piersol à 10 µg/ml

Tableau 4. — *Action fongistatique d'extraits de* Gossypium *et de* Lycopersicum *(Substances A et B) sur quatre micromycètes.*

	HAR L 231-24		HAR L 229-29		Rossol		Piersol
	A	B	A	B	A	B	B
P. parasitica thalles	seuil 6.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	seuil 3.10^{-6}	seuil 3.10^{-6}	seuil 3.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	seuil 3.10^{-9}
F. oxysporum thalles	faible inhibition 9.10^{-9}	inhibition partielle 9.10^{-6}	inhibition partielle 9.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	seuil $\geqslant 9.10^{-6}$	seuil 9.10^{-6}	seuil 9.10^{-6}
F. oxysporum conidies	seuil 9.10^{-6}	seuil 9.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	seuil 3.10^{-6}	seuil $< 3.10^{-9}$	seuil 3.10^{-6}	seuil $< 3.10^{-9}$
V. dahliae thalles	seuil 6.10^{-6}	inhibition partielle 9.10^{-6}	seuil 9.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	inhibition partielle 9.10^{-6}	seuil $\geqslant 9.10^{-6}$	seuil 9.10^{-6}
V. dahliae conidies	seuil 3.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	seuil 3.10^{-6}	seuil $< 3.10^{-6}$	seuil 3.10^{-6}	seuil $< 3.10^{-9}$
V. albo-atrum thalles	seuil 6.10^{-6}	seuil $> 6.10^{-6}$ (et $< 9.10^{-6}$)	seuil 6.10^{-6}	seuil 6.10^{-9}	inhibition partielle 9.10^{-6}	seuil 9.10^{-9}	seuil 9.10^{-6}
V. albo-atrum conidies	seuil 3.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	seuil 6.10^{-6}	seuil # 3.10^{-6}	seuil $< 3.10^{-9}$	seuil $< 3.10^{-9}$	seuil $< 3.10^{-9}$

par des extraits de 2 hybrides HAR et ceux de 2 variétés de tomate.

Nous avons vérifié que l'inhibition paraît indépendante de la présence d'une source nutritive. En déposant un fragment de culture gélosée d'environ 1/5e mm de côté en bordure des microgouttes contenant le produit à étudier, on observe une évolution des filaments identique à celle des microthalles déposés à l'intérieur des microcultures de référence. En outre, les filaments ayant survécu et dépassé les limites de la microculture ont leur croissance arrêtée dès qu'ils atteignent des microgouttes placées à la périphérie alors que les hyphes progressant sous huile ont une élongation lente mais régulière. Enfin, des microcultures réalisées avec des doses correspondant au seuil d'inhibition de la croissance du *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, du *Verticillium albo-atrum* et du *V. dahliae* ont été conservées 3 mois à 22° C. L'accroissement des microthalles en diamètre a été de quelques millimètres. Dans la même période, les colonies-témoin et celles placées dans des extraits à une concentration inférieure au seuil fongistatique, à raison de 5 thalles par chambre à huile, recouvraient entièrement la surface du support.

3) Action sur les lyases pectiques des *Phytophthora*

Les deux groupes de substances A et B extraites de plantules de tomate ou de cotonnier possèdent des propriétés inhibitrices de l'activité des endo-pectine et pectate lyases élaborées par des souches de *P. palmivora* et *P. parasitica*.

A concentrations égales, l'intensité d'inhibition varie selon l'origine de l'extrait, les substances du groupe B semblant les plus efficaces dans l'inhibition non compétitive et irréversible de ces lyases.

Le tableau 5 récapitule les résultats obtenus avec 2 *Lycopersicum* résistants au *Phytophthora infestans* et 2 variétés de cotonniers issus d'hybridation interspécifique HAR L 231-24 et 229-29.

L'irréversibilité apparente provient de la progression générale du taux d'inhibition au cours de l'incubation. C'est ainsi que des extraits de Rossol — gènes de résistance Ve, I, Mi — sans effet notable sur l'activité des lyases pendant les 3 premières heures, réduisent cependant celle-ci, après 18 h de contact, à 19 et 34 p. 100 pour les formes A et B à la concentration de 2.10^{-6}.

De même, avec les extraits de plantules de cotonnier HAR L 229-29, l'inhibition passe de 17 à 27 p. 100 avec la forme A et de 42 à 51 p. 100 avec B entre la 3e et la 18e heure d'incubation.

4) Inhibition de l'activité endopectate hydrolase

La réduction de cette activité endo PG a été étudiée avec des filtrats de culture de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, de *Verticillium dahliae* et de *V. albo-atrum* par une méthode moins précise que la précédente, la viscosimétrie. L'inhibition paraît être de moindre intensité alors que, toutefois, le seuil de détection est plus élevé du fait des conditions expérimentales. L'inhibiteur n'est pas compétitif et surtout n'agit plus de façon irréversible si nous considérons des durées d'incubation identiques à celles des lyases pectiques.

Tableau 5. — *Inhibition de l'activité d'une endo-P.T.E. (provenant d'une souche de* P. parasitica) *par des extraits de plantules de* Lycopersicum *et de* Gossypium.

Hôtes	Extraits	Concentration	Taux d'inhibition
Pierbotans	A	2.10^{-6}	20 p. 100 en 3 heures
		5.10^{-6}	40 p. 100 »
	B	2.10^{-6}	30 p. 100 »
		5.10^{-6}	60 p. 100 »
L. pimpinellifolium	A	2.10^{-6}	20 p. 100 »
		5.10^{-6}	41 p. 100 »
	B	2.10^{-6}	19 p. 100 »
		5.10^{-6}	100 p. 100 »
HAR L 231-24	A	2.10^{-6}	0
		5.10^{-6}	0
	B	2.10^{-6}	8 p. 100 »
		5.10^{-6}	12 p. 100 »
HAR L 229-29	A	2.10^{-6}	17 p. 100 »
		5.10^{-6}	36 p. 100 »
	B	2.10^{-6}	42 p. 100 »
		5.10^{-6}	53 p. 100 »

Tous les extraits ne possèdent pas les mêmes propriétés. C'est ainsi que pour des plantules de tomate Rossol et Piersol ayant les mêmes caractères de résistance (Ve, I, Mi) et utilisées sous forme d'extraits à la concentration de 3.10^{-6}, seuls ceux de Piersol réduisent l'activité endo PG d'environ 25 p. 100. Cette inhibition est proche de celle obtenue à partir d'extraits de tomate Pieralbo (33 p. 100 à $4,5.10^{-6}$) et supérieure à celle provenant de cotonnier HAR L 229-29 (20 p. 100 à 5.10^{-6}).

5) Inhibition de l'activité pectine méthyl estérase

L'incidence des 2 groupes de substances sur les activités de PME semble différente de celle observée pour les endopectines trans-éliminases et les endo polygalacturonases. Certes, comme dans les 2 autres cas, l'inhibition n'est pas compétitive. Elle paraît réversible, mais l'effecteur pour la majorité des extraits étudiés manifeste une forte affinité pour la PME à partir d'un seuil de concentration de 10^{-6} inférieur à celui décelé pour les lyases et hydrolases pectiques.

L'effecteur montrant une forte affinité pour l'enzyme, le taux d'inhibition n'est pas seulement proportionnel à la teneur en extrait phénolique de forme A ou B, mais dépend également de la concentration en PME dans le mélange réactionnel (figure 5).

Ainsi, pour des teneurs identiques de substrat et d'extrait B de plantules de cotonnier HAR L 229-29, le taux d'inhibition de la PME passe de 15 à 60 p. 100 si l'apport d'enzyme est doublé. Des résultats de même nature sont obtenus avec des extraits de plantules de cotonnier HAR L 231-24 ou de tomate Pieralbo.

6) Inhibition de l'activité β glucosidase

Tous les extraits à partir d'une concentration de 2.10^{-6} peuvent réduire sensiblement l'activité d'une β glucosidase commerciale (figure 6). L'inhibition n'est pas compétitive mais diffère dans son processus de celle intervenant avec la PME. Il semble exister une relation entre l'origine des extraits et la sensibilité de l'enzyme car les substances des groupes A et B provenant des *Gossypium* sont plus inhibitrices que celles issues des *Lycopersicum*.

Les abaissements d'activité sont semblables pour les formes A et B. Par contre, l'augmentation de la concentration en effecteur (2 à 5.10^{-6}), le niveau de β glucosidase étant constant, peut soit ne pas influer sur l'inhibition : cotonnier HAR L 231-24, *Lycopersicum pimpinellifolium*, soit lui être proportionnelle : formes A et B chez HAR L 229-29, forme A des variétés de tomate Rossol et Pierbotans.

7) Modification d'activité polyphénoloxydasique

Les cinétiques d'activités polyphénoloxydasiques, provenant des plantules de tomate et de cotonnier que nous avons étudiées, ne sont jamais ralenties mais au contraire stimulées par l'incorporation des 2 catégories de substances au milieu réactionnel.

Nous avons vérifié que ces modifications d'activité enzymatique n'étaient pas un artefact dû à un apport supplémentaire de substrat lors de l'incorporation de l'effecteur.

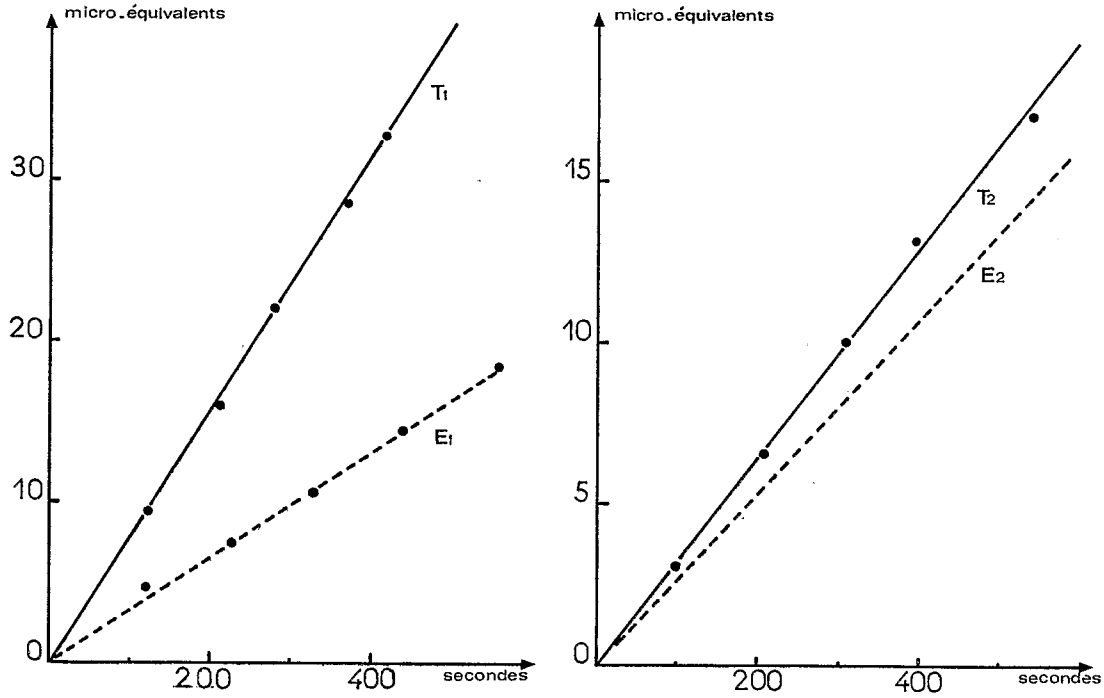

Fig. 5. — Variation du taux d'inhibition de la pectine méthyl estérase suivant son niveau d'activité (la série E_1T_1 correspond à un niveau double de celui de la série E_2T_2).

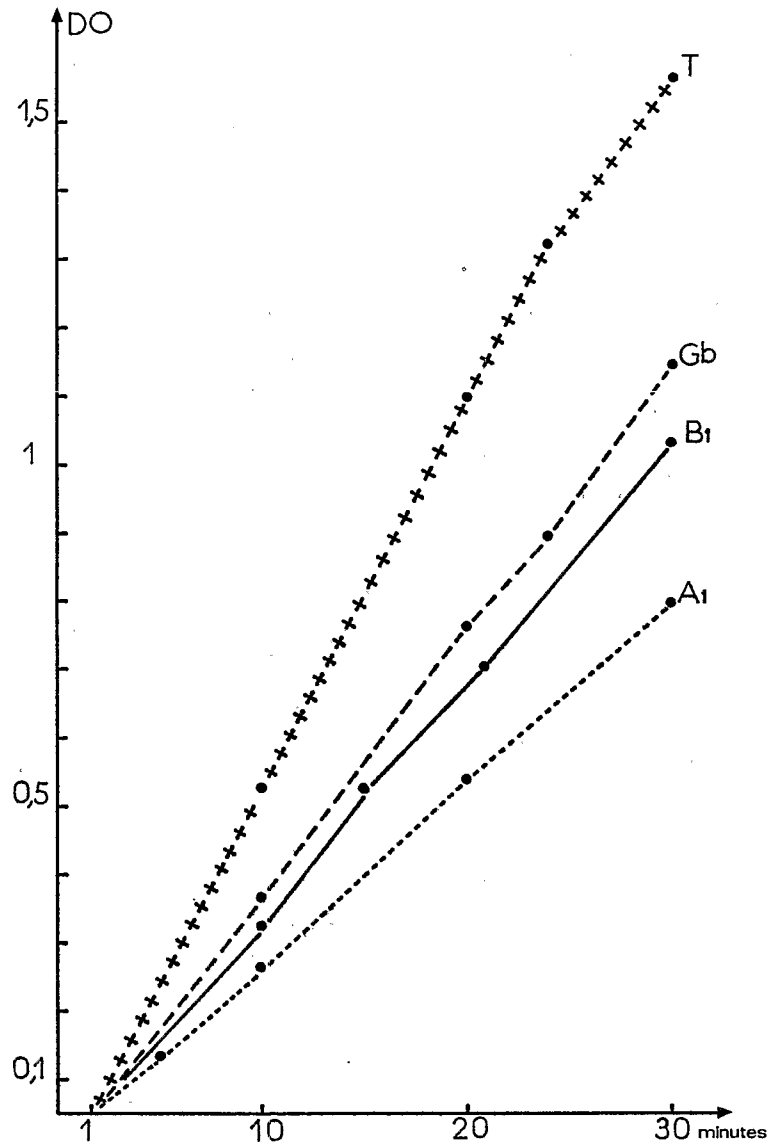

Fig. 6. — Inhibition de l'activité d'une β-glucosidase par des extraits à 2.10^{-6} de plantules de :
Rossol, substance B (Gb)
HAR L 231-24, substance A (A_1)
HAR L 229-29, substance A (B_1)
par rapport au témoin (T).

L'augmentation de ces activités diffère selon la provenance variétale des extraits, des préparations enzymatiques et du rapport des quantités de polyphénol-oxydases et d'effecteur.

C'est ainsi que la forme B issue de cotonnier HAR L 229-29 à la concentration de 5.10^{-9} augmente de 15 p. 100 l'activité PPO d'un extrait de tomate et de 82 p. 100 celle provenant d'un cotonnier alors que le témoin de ce dernier a un niveau d'activité 3 fois plus faible que le témoin de la tomate.

DISCUSSION

1) Les relations hôte-parasite

Les 8 souches de *Phytophthora* étudiées sont pathogènes en culture aseptique pour les plantules de plusieurs *Gossypium*. Ces résultats confirment nos observations antérieures (23, 24). Dans la plupart des cas, les souches de *P. cinnamomi* et celles de *P. boehmeriae* sont moins aggressives que celles de *P. capsici*, de *P. palmivora* et de *P. parasitica*. Encore apparaît-il des différences de virulence à l'intérieur de ces deux entités.

Dans nos essais, toutes ces souches provoquent des symptômes analogues sur plantules de cotonnier indépendamment de leur position taxonomique, de leur hôte initial et de leur origine géographique. D'autre part, les réactions de l'hôte sont différentielles. Alors que 2 *Gossypium* spontanés sont très sensibles, des cotonniers du groupe *hirsutum* ou des hybrides interspécifiques possèdent des aptitudes à résister au parasite. Parmi les *G. hirsutum,* entre 3 variétés reconnues pour leur tolérance à la Verticilliose, apparaît une nette différence de sensibilité aux souches de *P. palmivora* et de *P. parasitica.* Ces résultats ne coïncident pas tous avec les observations concernant d'autres parasites (38). Il semble donc que des variétés de cotonnier sélectionnées pour leur résistance à un autre agent pathogène soient capables de s'opposer aux infections provoquées par des *Phytophthora,* parasites polyphages. Cette résistance paraît varier à la fois suivant les souches inoculées et suivant les caractères particuliers de chaque variété de coton. Nous avons reconnu des situations identiques chez plusieurs *Lycopersicum* (26, 36) ou *Nicotiana* (27). L'étude plus approfondie des réactions de défense chez ces derniers nous incite à penser que celles-ci résultent de l'intervention de plusieurs caractères (25). Il se pourrait qu'une réaction analogue existe chez les *Gossypium.* Cette résistance horizontale s'exprimerait à différents niveaux, après inoculation dans des conditions standardisées, par exemple chez les 3 variétés tolérantes à la Verticilliose. Les réactions de défense semblent, pour une partie, chez des *Gossypium* et chez des *Lycopersicum,* correspondre à l'accumulation de substances possédant des propriétés fongistatiques et d'effecteurs enzymatiques.

2) Les substances phénoliques et la résistance

L'invasion des tissus de l'hôte par l'agent pathogène détermine dans de brefs délais des modifications quantitatives et qualitatives des composés phénoliques. Cette réaction décelée également chez plusieurs *Lycopersicum* et *Nicotiana* (19, 28) n'est pas spécifique. Elle correspond aussi à l'attaque par un virus, à des troubles de la nutrition ou à un déficit hydrique en particulier chez le cotonnier. Les augmentations des teneurs en phénols peuvent être considérables, comme dans les plantules d'Acala 4-42, sans correspondre à une résistance effective à l'aggression. Une évolution semblable a été observée dans des populations de plantules de *Nicotiana longiflora* et *N. samsum ;* après l'inoculation, les teneurs en phénols totaux étaient équivalentes dans les 2 séries : 162,5 et 166 µg par g de tissu frais. 85 p. 100 des plantules du *N. samsum* succombent à l'infection, tandis que 85 p. 100 de celles du *N. longiflora* y survivent (27).

Les essais réalisés avec les extraits de cotonnier tendent à indiquer qu'une partie des substances élaborées, dans les conditions des expériences, influerait peu sur la résistance aux souches de *Phytophthora* inoculées. Par contre, plusieurs dérivés de l'acide cinnamique ainsi que les deux catégories de substances nouvelles, semblent posséder en microculture des propriétés fongistatiques. Ces résultats coïncident avec ceux obtenus avec des extraits de *Nicotiana* et de *Lycopersicum.* Enfin, les extraits phénoliques incorporés à un milieu nutritif liquide influent non seulement sur la croissance des thalles, exprimée en poids de mycélium sec par rapport aux témoins, mais aussi inhibent la synthèse, à des concentrations de l'ordre de 10^{-6}, des endopectine lyases du *P. palmivora* et du *P. parasitica* (28).

Parmi les substances élaborées par l'hôte après l'infection, deux groupes A et B possèdent des caractères stables. Ils ont été reconnus chez des représentants de 2 ordres de Dicotylédones appartenant à deux phyllums différents. Chez la tomate comme chez le cotonnier, pour chaque variété résistante étudiée, semblent élaborées une substance A et une substance B distinguées de leurs homologues par un élément de leur spectre en ultra-violet, leurs propriétés fongistatiques ou d'inhibiteur enzymatique.

3) Action fongistatique

La prolongation des essais pendant plus de 2 mois après l'inoculation a permis de vérifier que dans les cas de résistance, indépendamment de l'importance des nécroses initiales, l'évolution des hyphes et celle des symptômes sont bloquées. De même, dans les tests réalisés en microculture, les substances des groupes A et B peuvent inhiber ou tuer les thalles des 4 agents pathogènes éprouvés. Aux différences décelées entre les spectres en ultra-violet de substances du même groupe, correspondent *in vitro* des écarts importants, et non prévisibles actuellement, entre les concentrations fongistatique et létale pour un même parasite, notamment les *Phytophthora* qui sont les plus sensibles.

Il apparaît de surcroît qu'un même extrait, en particulier de plantule de cotonnier HAR L 229-29, n'est pas toxique aux mêmes concentrations pour les 4 micromycètes. Enfin, avec ces composés, la résistance des hyphes, plus grande que celle des conidies, oblige à considérer le mode d'infection de la plante pour définir les concentrations susceptibles de la protéger.

La toxicité de composés phénoliques a été analysée à partir d'extraits de plusieurs hôtes réagissant à l'infection. PIERRE (22) indique que les substances phénoliques du haricot ne sont pas également toxiques pour les *Fusarium* et pour les *Thielaviopsis.* Il en est de même avec plusieurs acides-phénols (MAHADEVAN) (16) pour le *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum,* ou pour le *Poria weirii* (14) avec des dérivés de l'acide cinnamique.

Outre des différences de seuil de toxicité, ces résultats font ressortir l'absence de spécificité, *in vitro,* des composés phénoliques étudiés.

Depuis plusieurs années, maintes observations tendent à indiquer que le cotonnier synthétise des phytoalexines en réaction à divers parasites. Il fut fréquemment présumé que celles-ci correspondaient à des gossypols. BATSON et *al.* (4) considèrent qu'il n'existe pas de corrélation directe entre la concentration en gossypols dans des plants de variétés issues des séries Deltapine ou Acala et leur résistance à cinq agents pathogènes majeurs. BELL (5) a démontré

qu'en présence du *V. albo-atrum,* la production de phytoalexine, dont la nature n'est pas précisée, est directement proportionnelle à la résistance de l'hôte et à la virulence du parasite. Il s'agit donc d'une réaction active dont il a, avec PRESLEY (6), prouvé qu'elle est induite. Peu après, SCHNATHORST (31) a confirmé en utilisant deux espèces de *Verticillium* et le *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum* que l'élaboration de la phytoalexine correspondait à une réponse non spécifique mais que son intensité dépendait de la variété inoculée.

D'une façon plus générale, les résultats préliminaires obtenus avec les extraits de *Lycopersicum* et de *Gossypium* nous incitent à considérer comme SCHNATHORST et PIERRE que la réaction de l'hôte n'est pas spécifique d'un parasite mais que les substances décelées dans les tissus et leurs teneurs correspondent à un caractère variétal.

4) La propriété d'effecteur enzymatique

Outre les propriétés fongistatiques des substances A et B, nous constatons qu'en leur présence les exoenzymes pectinolytiques produites ou libérées par 4 micromycètes ont une efficacité réduite. Dans la mesure où ces résultats sont transposables *in vivo* (concentration de substrats et de co-facteurs, compétition enzymatique, pH d'environnement, ...) ces substances contribueraient donc à atténuer les manifestations parasitaires.

L'incidence de composés phénoliques sur l'activité des enzymes pectinolytiques a été étudiée sur substrats gélosés par plusieurs auteurs tels que AKINREFON (1), MAHADEVAN (16) et MOLOT (20).

Nous constatons, dans le cadre de cette expérience, que les inhibitions des diverses activités sont différentielles. Nous rejoignons en cela les observations de LYR (15). Celui-ci indique que les pectinases du *Fomes marginatus* sont plus vulnérables aux substances phénoliques oxydées que ses cellulases et péroxydases.

Les dépolymérases pectiques, qu'elles catalysent l'hydrolyse ou la transélimination, sont inhibées par les deux groupes de substances A et B. Il en est de même avec la PME qui présente pour elles une forte affinité entraînant une atténuation de son activité d'autant plus intense qu'elle était plus élevée à l'origine. Cette PME joue un rôle ambigu selon les situations puisque la solubilité des produits de son activité et leur accessibilité dépendent, entre autres facteurs, de la présence de cations divalents qui agissent eux-mêmes et de façon opposée sur l'activité des lyases et hydrolases pectiques (3). La PME peut donc participer à un mécanisme de défense comme le montre BATEMAN (2) pour des lésions à *Rhizoctonia* sur le haricot. Mais dans le cas présent, elle est au contraire synergique, par préférence de substrat, aux pectate trans éliminases des *P. palmivora* et *P. parasitica.* Nous en présumons que la progression de ces parasites sera d'autant plus ralentie que le niveau d'activité PME sera faible.

D'autre part, dans nos conditions expérimentales, l'activation des polyphénols oxydases de l'hôte pourrait être due à celle d'une forme latente dans les extraits de tissus ou à sa solubilisation accrue à partir d'organites (12). Elle est susceptible de renforcer l'inhibition des dépolymérases pectiques, les produits oxydés issus de polyphénols pouvant s'additionner à un groupe fonctionnel essentiel à l'activité catalytique ainsi que le suggèrent PATIL et DIMOND (21), pour une polygalacturonase de *V. albo-atrum.* A ce même titre, AKINREFON (1) souligne l'importance de la signification enzymatique de l'altération des structures par le rapprochement des entités catalytiques et de leurs substrats.

L'ensemble des modifications constatées pourrait fournir des éléments exploratoires pour approfondir la compréhension du phénomène d'abaissement temporaire des activités pectine trans éliminases observé (28) *in situ* dans les plantules de tomate infectées par les *P. palmivora* et *P. parasitica,* les réactions de défense de l'hôte n'étant surmontées que par l'apport d'un inoculum infectieux accru.

CONCLUSION

Il semble exister chez les *Gossypium* une relation entre les réactions différentielles de résistance au parasitisme de souches de *Phytophthora* et l'accumulation dans les tissus de plusieurs composés phénoliques. Parmi ceux-ci, deux groupes de substances possèdent des propriétés proches de celles synthétisées par des *Lycopersicum* après l'inoculation des mêmes souches de *Phytophthora.*

Dans les deux cas, pour toutes les variétés, les infections expérimentales sont réalisées avec des parasites non spécifiques. Ils paraissent néanmoins provoquer chez l'hôte, et dans de brefs délais, des réactions de défense. Celles-ci se traduisent par le ralentissement ou par l'arrêt de la progression des hyphes et de l'activité des pectine trans éliminases de l'agent pathogène dans les tissus des plantules. D'après les essais *in vitro,* les deux groupes de substances agissent différentiellement sur plusieurs enzymes intervenant dans les processus parasitaires et possédant des propriétés fongistatiques à faible concentration.

Il se pourrait, comme l'indiquent HADWIGER et SCHWOCHAU, que l'inoculation d'un parasite non inféodé puisse déterminer chez la plantule de cotonnier des réactions de défense qui ne soient pas réprimées comme en présence d'un gène spécifique de virulence notamment du *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum.* VARNS et KUC ont démontré chez la pomme de terre, l'exactitude de l'hypothèse de la répression des mécanismes de défense de l'hôte : l'inoculation de races physiologiques de *Phytophthora infestans* non compatibles provoque la synthèse de sesquiterpènes,

celle-ci est réprimée par une race physiologique pathogène. Dans le cas où ces schémas expérimentaux seraient transposables, il serait peut-être souhaitable de rechercher les mécanismes permettant la synthèse maximale des produits élaborés par les plantules de cotonnier cultivés *in vitro*. Ceux-ci peuvent atténuer ou inhiber plusieurs processus intervenant dans les nécroses provoquées par des agents de fonte de semis et les différences d'intensité de réaction semblent l'indice d'une réponse en relation avec le patrimoine héréditaire des plantules.

BIBLIOGRAPHIE

1 AKINREFON O.A., 1968. — Phenolic toxicity and possible role of phenolase of *Phytophthora palmivora* (Butl.). Butl. *Phytopath. Z.*, 63, 153-164.

2 BATEMAN D.F., 1964. — An induced mechanism of tissue resistance to polygalacturonase in *Rhizoctonia* infected hypocotyls of bean. *Phytopath.*, 54, 438-445.

3 BATEMAN D.F. et R.L. MILLAR, 1966. — Pectic enzymes in tissue degradation. *Ann. Rev. Phytopath.*, 4, 119-146.

4 BATSON W.E. Jr, L.S. BIRD, W.J. TOLMSOFF et C.M. CATER, 1970. — Accumulation of gossypol and gossypol-like pigments associated with defruited cotton plants. *Phytopath.*, 60, 913-914.

5 BELL A.A., 1969. — Phytoalexin production on *Verticillum* wilt resistance in cotton. *Phytopath.*, 59, 1119-1127.

6 BELL A.A. et J.T. PRESLEY, 1969. — Heat inhibited or heat killed conidia of *Verticillium albo-atrum* induce disease resistance and phytoalexin synthesis in cotton. *Phytopath.*, 59, 1147-1151.

7 FOLLIN J.C. et D. DIALLO, 1971. — Les fontes de semis du cotonnier en Côte d'Ivoire. I. Etude de produits fongicides au laboratoire. *Cot Fib. trop.*, 26, 303-308.

8 FOLLIN J.C. et D. DIALLO, 1971. — Les fontes de semis du cotonnier en Côte d'Ivoire. II. Prospection et observations sur le pouvoir pathogène des organismes isolés. *Cot. Fib. trop.*, 26, 309-312.

9 FUCHS A., 1965. — Polyphenol oxidases and phenolics in relation to resistance against Cucumber scab in *Cucumis sativus*. I. Fungal and host polyphenol oxidases. *Neth. J. Plant Path.*, 71, 157-166.

10 HADWIGER L.A. et M.E. SCHOWCHAU, 1969. — Host resistance responses, an induction hypothesis. *Phytopath.*, 59, 223-227.

11 KELMAN A. et E.B. COWLING, 1965. — Cellulase of *Pseudomonas solanacearum* in relation to pathogenesis. *Phytopath.*, 55, 148-155.

12 KOSUGE T., 1969. — The role of phenolics in host response to infection. *Ann. Rev. Phytopath.*, 7, 195-222.

13 LEGGET BAILEY J., 1967. — Techniques in protein chemistry. *Elsevier Edit., Amsterdam.*

14 LI C.Y., K.C. LU et *al.*, 1969. —Effect of phenolics and other compounds on growth of *Poria veirii in vitro*. *Microbios*, Cambridge, 3, 305-311.

15 LYR H., 1965. — On the toxicity of oxidized polyphenols. *Phytopath. Z.*, 52, 229-240.

16 MAHADEVAN A. et Koti REDDY, 1968. — The effects of phenolic compounds on growth, polygalacturonase production and activity of *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum*. *Neth. J. Plant Path.*, 74, 87-90.

17 MARAITE H., 1969. — Pathogénie du flétrissement du melon causé par *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. *Thèse Dr Sc. Agr. Univ. Cat. Louvain*, 77 p.

18 MATTA A. et A.E. DIMOND, 1963. — Symptoms of *Fusarium* wilt in relation to quantity of fungus and enzyme activity in tomato stems. *Phytopath.*, 53, 574-578.

19 MATTA A., I. GENTILE et I. GIAI, 1970. — Effect of mixed inoculations with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* on the phenols content of tomato plants. *Neth. J. Plant Path.*, 76, 3, 144-146.

20 MOLOT P.M., 1970. — Influence de l'acide p-coumarique sur l'activité des pectinases et des cellulases et sur leur sécrétion par le *Fusarium roseum* var. *graminearum*. *C.R. Acad. Sci.*, ser. D., 270, 2097-2100.

21 PATIL S.S. et A.E. DIMOND, 1967. — Inhibition of *Verticillium* polygalacturonase by oxidation products of polyphenols. *Phytopath.*, 57, 492-496.

22 PIERRE R.E., 1971. — Phytoalexin induction in beans resistant or susceptible to *Fusarium* and *Thielaviopsis*. *Phytopath.*, 61, 322-327.

23 RAVISE A., 1970. — Etude comparative des aptitudes parasitaires de souches de *Phytophthora* de Bary parasites de cultures tropicales. *Agron. trop.*, 25, 1015-1031.

24 RAVISE A. et B. BOCCAS, 1969. — Première liste annotée des Pythiacées parasites des plantes cultivées au Congo. *Cah. de la Maboké*, 7, 41-69.

25 RAVISE A., 1972. — Etude de la sensibilité de plantules de *Nicotiana* au parasitisme de souches tropicales de *Phytophthora* de Bary. *Revue de Mycologie*, suppl. trop. (sous presse).

26 RAVISE A. et Josette TANGUY, 1971. — Relations entre les constituants phénoliques de divers *Lycopersicum* Mill. et leur résistance à plusieurs espèces de *Phytophthora* de Bary. *C.R. Acad. Sci.*, 272, ser. D., 1252-1255.

27 RAVISE A. et Josette TANGUY, 1972. — Etude des réactions phénoliques de plantules de *Nicotiana* inoculées par des souches de *Phytophthora* de Bary. *Phytopath.*, 2 (sous presse).

28 RAVISE A. et B. TRIQUE, 1972. — Détermination des enzymes pectinolytiques de 2 souches de *Phytophthora* de Bary. Variations d'activité dans les tissus de plantules de tomate en relation avec les génomes de résistance. *Agron. trop.*, 27, 751-762.

29 REESE E.T., A.M. MAGUIRE et F.W. PARRISH, 1968. — Glucosidases and exoglucanases. *Can. J. Biochem.*, 46, 25-34.

30 ROGER L., 1951. — Phytopathologie des pays chauds. Tome I. *Le Chevalier Edit., Paris.*

31 SCHNATHORST W.C., 1970. — Cross protection in *Gossypium hirsutum* infected with vascular wilt fungi related to host-pathogen specificities. *Phytopath.*, 60, 1312.

32 TANGUY Josette et M. GALLET, 1969. — 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, ser. D, 589-592.

33 TANGUY Josette et M. GALLET, 1969. — Evolution quantitative en fonction du temps des composés phénoliques chez le *Nicotiana xanthi* n.c. infecté à 20 °C. *C.R. Acad. Sci.*, 269, ser. D, 773-776.

34 TANGUY Josette, 1971. — Quelques aspects du métabolisme des composés phénoliques chez les *Nicotiana* hypersensibles au virus de la mosaïque du tabac, souche commune (VMT). *Physiol. Veg.*, 2, 169-187.

35 TRIQUE B., 1971. — Pectinases et acide fusarique du *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, leurs rôles dans la fusariose du palmier à huile. *Oléagineux*, 3, 163-168.

36 TRIQUE B. et A. RAVISE, 1971. — Observations sur les enzymes pectinolytiques de souches de *Phytopththora* de Bary, parasites de cultures tropicales. *C.R. Acad. Sci.*, 273, ser. D, 1805-1808.

37 VARNS J.L. et J. KUC, 1971. — Suppression of rishitin and phytotuberin accumulation and hypersensitive response in potato by compatible races of *Phytophthora infestans*. *Phytopath.*, 61, 178-181.

38 WILDERMUTH G.B., 1971. — Varietal resistance to *Verticillium* wilt of cotton in Queensland. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 11, 365-368.

SUMMARY

The results of experimental infection made on twelve Gossypium *by means of* Phytophthora *strains confirm the existence of differential reactions as far as resistance is concerned. These reactions do not seem to be typical to that pathogen, but peculiar intrinsic characteristics would be at the origin of their intensity. The amounts in phenolic compounds increase inside the tissues of the seedlings after inoculation. Among these compounds, two groups of substances possess characteristics nearly similar to those created by* Lycopersicum *when the experimental conditions are rigorously the same. They are non-competitive inhibitors of three pectinolytic enzymes and inhibit a β-glucosidase whereas they stimulate the polyphenol oxidases of the host.*

RESUMEN

Los resultados de infecciones experimentales realizadas sobre doce Gossypium *con ocho cepas de* Phytophthora *han confirmado la existencia de reacciones diferenciales de resistencia. Estas no parecen específicas de un parásito, su intensidad correspondería a carácteres intrínsecos. Los contenidos de compuestos fenólicos aumentan en los tejidos de las plántulas después de la inoculación. Entre estos, dos grupos de substancias poseen caracteres próximos de las elaboradas por* Lycopersicum *en condiciones experimentales idénticas. Inhiben de modo no competitivo, in vitro, tres encimas pectinolíticos y una β-glucosidasa, mientras que estimulan la activadad polifenol-oxidásica del huésped.*

4

RÉACTIONS DE PLANTULES DE *Gossypium* L. AU PARASITISME DE *Phytophthora* DE BY. TROPICAUX. PROPRIÉTÉS DE COMPOSÉS PHÉNOLIQUES ÉLABORÉS PAR DES PLANTULES DE *Gossypium* L. ET DE *Lycopersicum* Mill.

par

A. RAVISÉ et **B. TRIQUE**

COTON ET FIBRES TROPICALES

Vol. XXVII, Fasc. 3, Septembre 1972

31 JAN. 1973
O. R. S. T. O. M.
Collection de Référence
n° 5902 PMB