# SUR LES COMPOSES PHENOLIQUES DES VEGETAUX ET LEUR RAPPORT AVEC UN DEFICIT HYDRIQUE CHEZ DES COTONNIERS

par

# J. BRZOZOWSKA et P. HANOWER

### RÉSUMÉ

Après une mise au point bibliographique sur les composés phénoliques chez les végétaux, les auteurs présentent leurs propres résultats concernant les composés phénoliques de feuilles des cotonniers des espèces sensibles et résistantes à la sécheresse, soumises à un choc osmotique.

Ayant constaté une baisse des composés phénoliques totaux sous l'effet d'un déficit hydrique, une discussion est engagée autour des causes possibles des phénomènes observés.

Une hypothèse est avancée suivant laquelle les composés phénoliques pourraient jouer un rôle dans la résistance des végétaux à la sécheresse.

# INTRODUCTION

Les substances appartenant au groupe des composés phénoliques, très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure. ont été pendant longtemps très mal connues. Considérées comme des substances secondaires, métaboliquement inactives, elles ne suscitaient que peu d'intérêt.

A l'heure actuelle, cette opinion est en train de changer. Les recherches des 10-15 dernières années ont démontré que les composés phénoliques ne sont nullement des produits inertes du métabolisme. Ils sont soumis, dans les tissus végétaux, à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, témoignant ainsi d'une dynamique biochimique incontestable. (23) (191) (151) (90) (179) (55) (64).

Annales de l'Université d'Abidjan, série C (Sciences), tome XII, 1976.

14 MARS 1978 O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence 9071 B. B. V.

Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers. Le mode de leur action et sa signification physiologique ne sont pas encore toujours suffisamment clairs (191) (179) (91) (137). D'où la place de plus en plus large qui revient aux études de ces corps et de leurs fonctions.

Les expériences avec des précurseurs marqués au <sup>14</sup> C ont permis de préciser les principales étapes de la biosynthèse des polyphénols.

Deux voies différentes de leur formation sont actuellement connues (104) (21) (190) (191) (89) (23) (113).

Selon l'une, liée au métabolisme des acides gras, les noyaux aromatiques sont formés aux dépens de 3 unités acétate ou malonate activées par le coenzymes A. C'est le cas par exemple du thymol.

L'autre est liée au métabolisme des glucides et des acides aminés aromatiques. Les substances initiales sont ici les produits de la glycolyse (voie EMP) et du cycle du pentose phosphate: le phosphoénolpuryvate et l'érythrose-4-phosphate. Leur condensation et cyclisation conduisent à la formation d'un intermédiaire important - l'acide shikimique. Celui-ci peut, soit se transformer en acide oxybenzoïques (par exemple acide gallique), soit, après l'adjonction d'une molécule supplémentaire de phosphoénolpurivate et une série de stades intermédiaires suivie d'une amination, donner naissance aux acides aminés aromatiques - la phénylalanine et la tyrosine. Leur désamination conduit à la formation des acides cinnamiques et leurs aldéhydes et de coumarines.

La formation des flavonoïdes comporte la participation de ces deux modes de biosynthèse: la condensation d'une unité C6-C3, un acide cinnamique, et de 3 unités malonate (ou acétate), activés par le coenzyme A, suivie de décarboxylation donne naissance aux chalcones. Ceux-ci sont des intermédiaires conduisant à tous les autres groupes de flavonoïdes (189) (113).

Quel est le lieu de biosynthèse des composés phénoliques? A cette question on ne peut pas encore répondre avec certitude. Les composés phénoliques sont contenus dans les organes végétaux les plus divers : feuilles, tiges, écorce, bois, racines, fleurs, fruits, embryons. On ne sait pas s'îls se forment « in situ » dans tous ces organes où bien seulement dans les feuilles d'où ils seraient transportés vers d'autres parties de la plante. Des expériences ont démontré que divers organes et tissus isolés sont capables de synthétiser certains composés phénoliques : les racines synthétisent des coumarines (181) (102) et des flavonones (126), les entrenœuds (176) et les boutons floraux (59) forment des anthocyanes, dans une culture de tissus de tubercules il y a formation des acides-phénols (122), la formation des divers composés est observée dans les feuilles ou leurs fragments (22) (187) (177) (61).

Cependant, c'est dans les feuilles et à la lumière que le processus de la biosynthèse est de loin le plus rapide et intense (5) (188) (68) (191) (71).

On sait, d'autre part, que dans les chloroplastes fonctionne non seulement le cycle de Calvin de réduction de carbone, mais aussi le cycle du pentose phosphate, ainsi que le système enzymatique de synthèse des acides gras. Par conséquent, les chloroplastes sont régulièrement alimentés en composés initiaux pour la formation des polyphénols, en énergie (ATP) et en facteur réducteur (NADPH<sub>2</sub>), ce qui incite à les envisager comme site privilégié de cette biosynthèse.

Les recherches de ces dernières années signalant la présence, jusqu'ici ignorée, des divers composés phénoliques (catechine, épicatechine, leucocyanidine, acide coumaryl-quinine, quercétine) dans les chloroplastes d'un certain nombre d'espèces (76) (56) (69) (17) (194) (101) (180) apportent des arguments en faveur de cette hypothèse.

Tout récemment on a réussi à mettre en évidence la participation des chloroplastes dans la formation des flavones (lutéoline-7-glucoside) chez les jeunes germinations (155). D'autre part, les expériences avec des isotopes radioactifs ont permis d'établir qu'une synthèse primaire des composés phénoliques se réalise dans les chloroplastes des jeunes pousses de théier et de saule, à la lumière (191).

Les composés phénoliques nouvellement formés quittent les chloroplastes et c'est déjà en dehors d'eux qu'ils subissent les processus secondaires (glucosidation, hydroxylation, oxydation ou condensation) (190).

En effet, il est bien connu que, dans la cellule végétale, les polyphénols se trouvent principalement dans les vacuoles et les parois cellulaires (45) (52) (136) (191) (180).

La structure biochimique des polyphénols est à l'origine d'une grande diversité de leurs propriétés (propriétés red-ox, aptitude remarquable à chelater les métaux, pouvoir absorbant dans l'ultra-violet et le visible, etc.) et par là-même, de leurs multiples fonctions.

L'une des principales fonctions, liée au potentiel d'oxydo-reduction élevé, est leur intervention dans les processus d'oxydation biologique.

Déjà PALLADIN (116) (117) a émis l'idée suivant laquelle les composés phénoliques, en association avec la polyphénoloxydase (PPOX), participeraient à la respiration des plantes en tant que transporteurs des substrats respiratoires. L'idée a été reprise par d'autres chercheurs (110) (111) (162).

Divers systèmes plus ou moins complexes comprenant une préparation de polyphénoloxydase d'origine végétale, un polyphénol et un substrat à oxyder ont été conçus et leurs fonctionnements in vitro démontrés (77) (57) (80) (105) (73) (70) (26).

Les formes quinoniques d'o-diphénols constituées à la suite de l'action de PPOX étaient capables d'enlever, par voie non enzymatique, des atomes d'hydrogène de donneurs les plus variés (acide ascorbique, NADH<sub>2</sub>, NADPH<sub>2</sub>, acides aminés, cytochrome C réduit, acide glycolique, caroténoïdes) (73) (70) (26) (109) (66). Il a été suggéré que de telles réactions peuvent se réaliser in vivo.

STSENT-DERDI (162) classait les plantes en deux groupes : l'un à respiration peroxydasique, où un flavonoïde jouerait le rôle d'intermédiaire entre la peroxydase et l'acide ascorbique et l'autre à respiration polyphénoloxydasique.

Jusqu'à présent on n'a pas réussi à mettre en évidence une liaison entre l'oxydation des substrats respiratoires par l'intermédiaire du système polyphénol-PPOX et la phosphorylation oxydative. Il y a cependant des auteurs (191) qui persistent à penser qu'une telle coordination peut, dans certaines conditions, exister. SCHNEIDER (150) signale une inhibition de la photophosphorylation par un kampférol.

A l'heure actuelle on admet généralement que chez les végétaux fonctionne un système respiratoire analogue à celui découvert chez les animaux où la fonction de l'oxydase terminale est remplie par la cytochrome-oxydase (23).

Dans la chaîne respiratoire animale, les composés phénoliques spécifiques, les ubiquinones (coenzymes Q) s'insèrent dans le secteur compris entre la flavoprotéine et les cytochromes. Une participation analogue est postulée pour les ubiquinones des végétaux.

Les plastoquinones, contenues dans les chloroplastes, qui par leur structure se rapprochent des ubiquinones, sont, elles, impliquées dans le transport de l'hydrogène lors de la phosphorylation photosynthétique (135) (23) (84).

Ainsi les composés phénoliques participent à deux principaux processus de l'activité des plantes : la photosynthèse et la respiration.

Le rôle des polyphénols en tant qu'inhibiteurs des enzymes (43) (153) (161) (53) est en rapport avec leur capacité de former des complexes avec les protéines. Des ponts d'hydrogène stable se constituent entre l'oxy-groupement phénolique lié à l'oxygène carbonyle et la liaison peptidique. Une telle inactivation est partiellement réversible et présente souvent un caractère non spécifique (161) (153). Les formes quinoniques réagissent avec une intensité particulière avec les protéines. Dans ce cas, il peut y avoir un blocage des groupements sulfhydryles ou, si les quinones sont en excès, une interaction avec les groupements aminés ou iminés de la protéine (120).

Selon certains auteurs (178), la liaison des composés phénoliques avec les protéines s'accompagne de modifications dans la configuration des protéines enzymatiques. S'il était ainsi les polyphénols naturels pourraient jouer un rôle de régulateurs allostériques des processus enzymatiques se déroulant dans la cellule végétale.

La présence dans les tissus végétaux des composés phénoliques liés est rapportée par divers auteurs (30) (3) (152) (87).

Les composés phénoliques de tels complexes peuvent être isolés par hydrolyse alcaline, acide ou enzymatique.

Une étude récente fait apparaître un nouvel aspect de l'interaction polyphénols-protéines : une régulation possible de la protéosynthèse par des composés phénoliques endogènes. Il a été, en effet, montré (118) que certains flavonoïdes freinent l'incorporation de la leucine dans les protéines.

L'intervention des substances phénoliques dans les phénomènes de croissance a été mise en évidence par de nombreux chercheurs (46) (154) (39), mais l'interprétation des phénomènes observés est toujours encore sujet aux controverses.

Le problème est complexe et il est loin d'être résolu.

On sait que les polyphénols agissent sur les auxines et les enzymes responsables de leur destruction catabolique, en particulier sur l'AIA (acide  $\beta$  - indolyl acétique) et l'AIA-oxydase.

Deux effets oposés sont signalés: stimulation (72) (103) (174) (157) (8) (128) (129) et inhibition de la croissance (31) (173) (171) (134).

L'effet stimulateur, observé pour les o- et p-diphénols, s'expliquerait par l'inhibition qu'exercent leurs formes quinoniques sur l'AlA-oxydase, alors que

l'effet inhibiteur serait dû aux monophénols et m-diphénols qui ne s'oxydent pas facilement et qui, eux, stimulent l'activité de l'AlA-oxydase (132) (148) (154).

Dans certains cas, la stimulation de la croissance par des polyphénols n'a lieu qu'en présence d'un apport de l'AlA exogène (108) (168) (58) (95), leur effet pouvant être synergique (8) (171) (108).

Un autre mécanisme d'intervention des composés phénoliques, impliquant la participation des polyphénols oxydases (PPOX), a. été, ces derniers temps, également proposé: l'inactivation auxinique se produirait par condensation de quinones, issues de l'oxydation des polyphénols par PPOX, avec le noyau indole de l'AIA (15) (169) (82). Les PPOX agiraient en neutralisant, par oxydation, des inhibiteurs phénoliques des AIA-Ox, tels que les o- et p-diphénols (129). Il y aurait ensuite formation de complexes inactifs entre ces composés et l'AIA (130) (40).

A l'opposé de cet effet serait la participation possible du système o-diphénols + PPOX à la production de l'AIA. Un tel système a été capable de donner naissance à l'AIA, à partir du tryptophane, in vitro (183) et semble fonctionner également in vivo (182) impliquant comme composés phénoliques des dérivés d'acides cinnamiques.

Le rôle des polyphénols dans le processus de la germination n'est pas non plus très clair.

L'action inhibitrice de certains d'entre eux, en particulier des coumarines, a été démontré par de nombreux auteurs (31) (32) (98) (99) (75) (127) (163) (20) (35). Par élimination ou destruction partielle des composés phénoliques tégumentaires on a pu obtenir une meilleure germination (20). Parfois seule la vitesse du processus est affectée (90).

On signale aussi le cas où le même composé (l'acide p-oxyphénylacétique) peut, suivant la concentration, soit stimuler, soit inhiber la germination (36).

D'autre part, il a été établi (97) que des extraits aqueux de graines sèches et gonflées inactivent rapidement les inhibiteurs tels que les coumarines, et certains auteurs (141) (74) (47) (48) (106) pensent que pendant les processus de gonflement et de germination, les inhibiteurs peuvent se transformer en composés qui stimulent la germination.

Récemment, il a été rapporté (51) que les graines du cotonnier n'acquièrent le pouvoir germinatif qu'après que les composés phénoliques contenus dans leur tégument (principalement des catéchines et des leucoanthocyanines) aient subit une condensation.

Enfin, les polyphénols jouent aussi un rôle dans la morphogénèse des tiges (24), et dans les processus de lignification (8) (9).

Pour ce qui est de l'influence des polyphénols sur la floraison, des faits contradictoires sont signalés: un ralentissement (19) et une induction de la floraison (100).

Une participation de ces corps aux processus de reproduction a également été envisagée (158), en rapport avec la division cellulaire (stimulation) et la pollinisation croisée (79), ainsi que dans la tubérisation (123) (156).

Un autre aspect du rôle des composés phénoliques, en tant que matériel énergétique, est lié à leur catabolisme. Jusqu'à une époque récente on jugeait les végétaux incapables de dissocier des noyaux aromatiques, cette fonction incombant aux micro-organismes. A l'heure actuelle, on sait que chez toute une

série de plantes une telle dissociation peut s'accomplir. Elle a été démontrée pour divers composés phénoliques simples, comme phénol (29) ou tyrosine (62) et complexes : catéchines (186) (192) (193), flavonones (121), flavonols (28), acide chlorogénique (167), isoflavones (11).

Ainsi, les végétaux supérieurs sont capables de dissocier entièrement les molécules de composés phénoliques et d'utiliser l'énergie emmagasinée (191).

A la lumière des travaux très récents certains composés phénoliques jouent un rôle important dans les phénomènes de la perméabilité des membranes. On sait que des changements de volume des thylakoïdes des chloroplastes induits par la lumière, sont provoqués par le mouvement dans les deux sens à travers la membrane, des substances osmotiquement actives. Les tanins, qui réagissent non spécifiquement avec les protéines, affectent ce mouvement de façon à inverser les changements de volume. Ce processus est attribué aux changements de la perméabilité de la membrane provoqués par les tanins (149).

Il a été également observé qu'une stimulation mécanique des sarments de pois entraîne une chute rapide d'un flavonoïde (acyl-dérivé d'un glycoside de quercétine) en même temps qu'un accroissement de l'activité de l'ATP-ase et, en rapport avec ceci, un changement brusque de la perméabilité de biomembranes (38).

Les acides phénoliques influent également sur l'absorption des ions (41) (42) et sur le transport du succinate et malate à travers la membrane mitochondriale (86).

Enfin, un rôle important est attribué aux composés phénoliques dans la résistance des plantes aux maladies (139) (172) (54) (138) (12). Elle semble être due, soit à la pré-existence d'un composé toxique pour un agent pathogène donné (tel l'acide protocatéchique d'une variété d'oignon contre Collectotrichum et Diplodia), soit à la formation de telles substances en réaction à l'infection (p. ex. l'orchinol chez l'orchidée contre Rhizoctonia repens) (191).

Les tentatives de lier la résistance aux matadies à la teneur globale des composés phénoliques dans tels ou tels organes n'ont pas été, en général, concluant, comme c'est le cas de la résistance du cotonnier à la maladie de flétrissement, la verticilliose (140) (160) (67) (50).

L'accumulation des substances phénoliques dans les tissus végétaux infectés ou dans les zones proximales représente un autre aspect de cette intervention (4) (93) (78).

Certains auteurs pensent que sur la voie de la propagation de l'infection il se forme une barrière physique constituée par des produits de condensation entre les formes oxydées de polyphénols, les acides aminés et les protéines (172) ou par des cellules mortes, tuées par excès de quinones toxiques (33).

Dans une étude récente, il a été démontré que l'hyper-sensibilité du Nicotiana tabacum Xanthi n.c. à l'égard du virus de la mosaïque du tabac s'accompagne de la production et de l'accumulation d'un grand nombre de composés phénoliques. Ces substances n'apparaissent toutefois pas comme responsables de la formation des nécroses d'hypersensibilité. Leur accumulation serait la conséquence et non pas la cause de ce processus (164).

Le phénomène d'accumulation des phénols est également observé à la suite de blessures causées par des facteurs mécaniques (65) (63) (2) et dans le cas de carence en certains éléments minéraux comme l'azote et le soufre (85), ainsi que sous l'effet d'un choc hydrique (13) (14).

Cette accumulation pourrait donc être envisagée comme une réponse non spécifique à différents types d'agression.

Cette hypothèse nous a incité à entreprendre une étude des composés phénoliques chez les cotonniers, plantes particulièrement riches en ces substances, en rapport avec un choc hydrique, la sécheresse (16).

# MATÉRIEL ET TECHNIQUES

# MATÉRIEL VÉGÉTAL

Deux espèces sauvages de cotonnier: G. anomalum et G. thurberi et une espèce cultivée, variété HAR 444-2 issue des croisements entre G. hirsitum, G. arboreum et G. raimondii, présentant chacune un degré différent de résistance à la sécheresse, ont été choisies pour cette étude. G. anomalum est considérée comme résistante; G. thurberi, comme assez sensible et HAR, comme très sensible à la sécheresse.

Les plantes ont été cultivées en serre, soit en pots de terre soit en aquiculture, sur une solution nutritive d'HOAGLAND modifiée (175). La composition en oligo-éléments était celle indiquée par HEVITT (60).

Le choc hydrique a été induit au stade de la floraison, stade critique pour le cotonnier. Il a été provoqué de deux manières différentes :

- par dessèchement du sol à la suite de l'arrêt de l'arrosage jusqu'au flétrissement des feuilles (sécheresse naturelle);
- par abaissement du potentiel hydrique de la solution nutritive à l'aide de polyéthylène glycol 600, jusqu'à une valeur de 20 J, soit 180/I PEG 600 (choc osmotique).

Les analyses des composés phénoliques ont été effectuées sur les feuilles des étages supérieurs.

# MÉTHODES ANALYTIQUES

# Extraction:

Les composés phénoliques des feuilles ont été extraits à l'aide de méthanol absolu jusqu'à épuisement. Toutes les opérations ont été réalisées à froid. Les pigments ont été éliminés par de l'éther de pétrole. L'extrait final a été évaporé à sec sous vide et repris par du méthanol aqueux à  $50\,$ %.

# Identification:

Les substances phénoliques ont été séparées, purifiées et identifiées suivant les méthodes décrites par TANGUY (166) (164) (165).

# Dosage:

L'estimation quantitative globale des phénols totaux a été réalisée à l'aide du réactif de FOLIN et CIOCOLTEU (34), le mode opératoire étant celui décrit par POTTY (133). La courbe étalon a été établie avec du phénol purifié selon la technique de DRAPER et POLLARD (27).

# RÉSULTATS ET DISCUSSION

# Composition en phénols des feuilles de cotonnier :

Les feuilles de cotonnier sont très riches en composés phénoliques. Les phénols détectés appartiennent à plusieurs groupes : flavane-3 ols et flavane-3,4 diols, flavonosides, dérivés de l'acide cinnamique, anthocyanes et dérivés de l'acide benzoïque (fig. 1 a, b, c et tableaux I et II).

Fig. 1. — Chromatogrammes bidimensionnels (Whatman N° 1) des composés phénoliques.

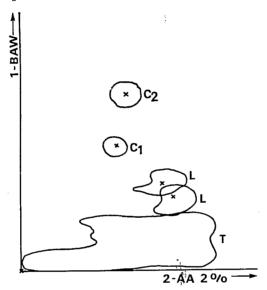


Fig. 1 a. - Flavanes.

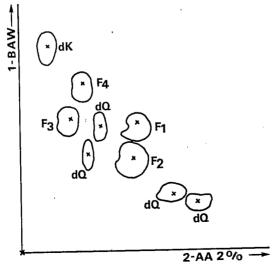


Fig. 1 b. - Flavonosides.

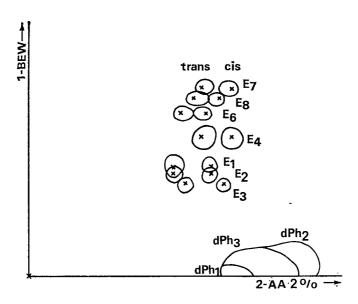


Fig. 1 c. — Esters des acides hydroxycinnamiques et du glucose ou de l'acide quinique.

Les symboles sont les mêmes que ceux des tableaux I et II.

Le groupe des flavanes renferme de l'épicatéchine, de la catéchine, puis de la leucocyanidine, présente sous des formes peu et très polymerisées, appelées tanins condensés, constituées par la réunion d'un grand nombre de molécules de leucocyanidols.

Les flavonols, le kaempférol, la quercétine et la gossypétine se trouvent sous forme d'hétérosides. Les flavonosides sont très abondants dans les extraits foliaires. Les principaux sont : la nicotiflorine ou kaempférol-3 rhamnoglucoside, la rutine ou quercétine-3 rhamnoglucoside, l'isoquercitrine ou quercétine-3 glucoside, l'astragaline ou kæmférol-3 glucoside et de nombreux hétérosides de gossypétine.

Les dérivés de l'acide cinnamique comprennent les esters des acides hydroxycinnamiques et de l'acide quinique, les acides chlorogéniques (acide caféyl-3 quinique, acide caféyl-4 quinique et l'acide caféyl-5 quinique), l'acide p-coumaryl-3 quinique (présent en quantité importante), l'acide férulyl-3 quinique (présent en quantité trace), des esters du glucose comme le caféyl-1 glucose, le férulyl-1 glucose, le p-coumaryl-1 glucose et des dérivés estérifiés avec plusieurs molécules d'oses (glucose, rhamnose) et des coumarines. Ces dernières se trouvent sous formes de leur  $\beta$ -glucosides, la scopoline ou glucoside-7 scopolétine, la skimmine ou glucoside-7 umbelliférone, et probablement la cichorine ou glucoside-7 esculétine puisque dans les hydrolysats on a identifié de l'esculétine.

Le groupe de l'acide benzoïque contient un glucoside dont la partie phénolique est l'acide gentisique.

Dans les extraits foliaires on a noté également la présence d'une anthocyane qui serait le monoglucide-3 cyanidine. Abondante chez HAR, elle sé itrouve en quantité trace chez **G. anomalum**, faisant ainsi apparaître une différence entre espèces.

Les caractéristiques physiques des composés que nous avons pu Tsoler sont résumées dans les tableaux I et II.

# Incidences de la sécheresse sur les composés phénoliques :

Le choc hydrique s'accompagne d'une baisse des teneurs en phénols totaux (tableau III). Cette baisse est très importante pour HAR, surtout en cas d'un choc osmotique au PEG, et beaucoup moins sensible chez **G. anomalum,** laquelle, par ailleurs, apparaît comme étant la plus riche en polyphénols parmi les trois espèces étudiées. La baisse semble surtout concerner l'anthocyane, les flavanes et tous les esters faisant intervenir une molécule de glucose et une molécule d'un acide hydroxycinnamique (caféyl-l glucose, férulyl-l glucose, p-coumaryl-l glucose).

# Identification

- C catéchines :  $C_{\scriptscriptstyle 1}$  : épicatéchine ;  $C_{\scriptscriptstyle 2}$  : catéchine.
- L leucocyanidines peu polymérisées.
- T leucocyanidines très polymérisées = tanins condensés.
- F flavonosides : F1 : nicotiflorine ; F2 : rutine ; F3 : isoquercitrine ; F4 : astragaline ; F5 : hétérosides de la gossypétine.
- E esters des acides hydroxycinnamiques et de l'acide quinique ou du glucose :
  - E1: acide caféyl 3 quinique; E2: acide caféyl 2 quinique; E3: acide caféyl 5 quinique; E4: acide p coumaryl 3 quinique; E5: acide férulyl 3 quinique;
  - E6: caféyl 1 glucose; E7: p coumaryl 1 glucose; E8: férulyl 1 glucose.
- Cm G coumarines sous formes des  $\beta$  glucosides : Cm 1 G : scopoline ; Cm 2 G : skimmine.
- AG anthocyane sous forme de glucoside en position 3 : monoglucoside 3 cyanidine.
- d B dérivé de l'acide benzoïque : un glucoside dont la partie phénolique est l'acide gentisique.

# Solvants

- BEW butanol, éthanol, eau 4, 1, 2.
- BAW butanol, acide acétique, eau 4, 1, 5 (phase org.).
- BAM butanol, ammoniaque 2N 1, 1 (phase org.).
- BPW butanol, pyridine, eau 14, 3, 3.
- KFW isobutyl méthylcétone, acide formique, eau 14, 3, 2.
- AA 2 acide acétique à 2 %.

# Réactifs

- I vaniline + HCl à froid.
- II HCI concentré à 100° C.
- III acide p-toluène sulfonique à chaud.
- IV Cl<sub>3</sub> Al.

Tableau I.

Caractéristiques chromatographiques et spectroscopiques des principaux phénols des feuilles de GOSSYPIUM.

APPELLATION		Rfx	100 daı	ns les	solva	nts	REACTIONS COLOREES		FLUORESCENCE		Spectres dans éthanol à 95°en mµ		PRODUITS APPARAISSANT
	BEW	BAW	вам	BPW	KFW	A / 2	REACTIF	COLORATION	υv	UV+NH3	λmaxi	λmini	APRES HYDROLYSE
C <sub>1</sub>		60				40	I	rose					
$C_2$		68		l		46	1	rose				ļ	
L						1	I	rose	ĺ			}	
L							11	rouge		ļ		,	
L							111	rouge					,
Т							ı	rose	[				
Т			4				II.	rouge : prēcipitē marron			h		
Т							III	rouge					
													Hydrolyse acide
F <sub>1</sub>		51				48	ΙV	jaune	brun	vert			kaempférol, glucose, rhamnose
F <sub>2</sub>		37			!	46	IA	jaune	brun	jaune			quercétine, glucose, rhamnose
F <sub>3</sub>		53				21	IA	jaune	brun	jaune			quercétine, glucose
F <sub>t</sub>		67				27	IV -	jaune	brun	vert			kaempfērol, glucose
F <sub>5</sub>				ĺ	·						-		gossypétine, sucres
E <sub>1</sub>	42	57	1	30	40	57-72				jaune-vert	245, 302, 328	265	Hydrolyse alcaline acide caféique, acide quinique
E <sub>2</sub>	40	50	1	30	40	57~72				jaune-vert		265	acide caféique, acide quinique
E <sub>3</sub>	36	- 45	1	26	35	62-77				jaune-vert	245, 302, 328	265	acide caféique, acide quinique
E <sub>4</sub>	54	72	9	39	56	68-80				violet	230, 292, 312	250	acide p-coumarique, acide quinique
E <sub>5</sub>	49	65	. 3	-		63-72				vert	235, 295, 325	263	acide férulique, acide quinique
-5 E <sub>6</sub>	63	50	8	54	20	60-70				jaune-vert	250, 305, 335	265	acide caféique, glucose
Ε <sub>7</sub>	73	60	25	69	40	68-80				violet	235, 295, 313	260	
E <sub>8</sub>	69	55	19	62	30	65-75							acide p-coumarique, glucose
-8	0,5	55	13	04	30	00-70				vert	240, 300, 330	263	acide férulique, glucose Hydrolyse acide ou ensymatique
Cm <sub>1</sub> G	56	47	35			77				bleu	250, 287, 338	306	scopolétine, glucose
Cm_ G	,												umbelliférone, glucose
AG	30	25				18	IV	bleu	,				cyanidine, glucose
dВ													acide gentisique, glucose

Tableau II Caractéristiques chromatographiques et spectroscopiques des aglycones identifiés dans les hydrolysats acides ou enzymatiques.

NOIT	R f x 100 dans les solvants					COLORATION					FLUORESCENCE			Spectres dans éthanol ã 95° en mμ				
APPELLATION	BEW	BAW	TAW	B <sub>3</sub> AW	Naf	A A 2	Forestal	Alcool isoamylique	milieu acide	Réactif Hoepfner	p-nitro aniline	p-nitro aniline + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	υV	U V + NH <sub>3</sub>	U V + Cl <sub>3</sub> Al	U V + Cl <sub>3</sub> Al + NH <sub>3</sub>	$\lambda$ max.	λmin.
K		86					42						jaune	vert	jaune	vert		
Q	ļ	71					58						jaune	jaune	jaune	jaune		
Ph <sub>1</sub>	66	78	3	11	32-66	30-63				rouge	jaune- brun	brun		jaune- vert		- 1		
Ph <sub>2</sub>	75	88	10	32	42-70	42-70				vert	jaune	bleu		violet			228, (292), 310	247
Ph <sub>3</sub>	72	84	40	64	28-70	38-65				jaune	rose	bleu- vert		bleu- violet	,		235, (294), 322	258
Cm <sub>1</sub>	75	83		35	31	45				orange	jaune	bleu- gris	violet	violet			229, 253, 300, 346	307
Cm <sub>2</sub>	85	90		45	40	55							bleu					
Cm <sub>3</sub>	70	75		8	33	41				rouge	jaune- brun	brun		vert- jaune				
A							50	rouge- violet	rouge									
Gn	66	80	2	15	69	65				brun	gris	gris- blanc	bleu- vert					

# · Identification

K - kaempférol. Q - quercétine.

Ph - acides-phénols : Ph $_1$  acide caféique ; Ph $_2$  acide p - coumarique ; Ph $_3$  acide férulique. Cm - coumarines : Cm $_1$  : scopolétine ; Cm $_2$  : umbelliférone ; Cm $_3$  : esculétine.

A - anthocyane : cyanidine.

Gn - acide gentisique.

# Solvants

TAW - toluène, acide acétique, eau 4, 1, 5 (phase org.). B3 AW - benzène, acide acétique, eau 6, 7, 3 (phase org.). Na f - formiate de Na, acide formique, eau 10, 1, 200. Forestal - acide acétique, eau, HCl conc., 300, 100, 30.

Tableau III.

Influence de la sécheresse sur la teneur en phénols totaux des feuilles de cotonniers.

ESPECE ou VARIETE	PHENOLS TOTAUX EN % DE LA MATIERE SECHE						
ESPECE OU VARIETE	Témoin	Sécheresse naturelle	Choc osmotique				
NAD 444 0	3,52	1,62	_				
HAR 444-2	3,47	-	0,74				
G. thurberi	3,01	1,96	-				
G. anomalum	4,58	3,76	-				

Dans les travaux sur les polyphénols du genre Gossypium qu'on trouve dans la littérature une place prépondérante est consacrée aux deux problèmes particuliers: l'étude d'un pigment toxique, spécifique du cotonnier, le gossypol, et le rôle des composés phénoliques dans la résistance de différentes espèces ou variétés aux maladies, plus spécialement à la verticilliose.

Le gossypol localisé principalement dans la graine, d'où il a été isolé, a été identifié comme étant un I,I', 6,6', 7,7'-hexahydroxy-5,5'-diisopropyl-3,3'-diméthyl-(2,2'-binaphtalène)-8,8'-dicarboxy-aldéhyde (184) (1) (6). A côté de la graine, la partie la plus riche en gossypol est l'écorce des racines, mais on le trouve aussi dans tous les autres organes de la plante (63) (152) quoique parfois seulement à l'état de traces. Les différences variétales peuvent être très importantes. Il apparaît dès le début de la croissance (142). Dans la graine le gossypol se trouve sous forme libre et lié aux protéines (18), la liaison se faisant vraisemblablement par les groupes aminés libres de la lysine (7) et les groupes carbonyle du gossypol (87). La toxicité est attribuée à la forme libre (88).

Dans les travaux sur le rôle des polyphénols dans la résistance aux maladies, l'accent est mis sur la teneur globale en tanins. Les résultats obtenus par différents auteurs sont contradictoires. Les uns considèrent que ces composés exercent une influence négative sur la résistance (49) (50); d'autres soutiennent une opinion contraire (140), d'autres encore nient purement et simplement toute influence sur la résistance (160). Le problème reste ouvert.

La composition en polyphénols de divers organes du cotonnier a été peu étudiée et les données ne sont que fragmentaires, surtout en ce qui concerne les feuilles, les organes de reproduction ayant retenu le plus d'intérêt.

C'est pourquoi il nous a paru utile de procéder à un inventaire des composés phénoliques présents dans les feuilles.

Les résultats montrent la présence d'une très grande diversité de ces composés. Les flavonoïdes appartenant aux différents groupes y occupent une place importante. Très nombreux et abondants sont en particulier les glucosides des flavonois.

A ce propos, il convient de noter que les flavonosides, les dérivés de la quercétine, ont déjà été mis en évidence, au nombre de six, dans les fleurs, et au nombre de trois, dans les feuilles de cotonnier (145) (146) (25) (115) (114) et

que la présence de flavonols libres - quercétine et isoquercétine, a été signalée dans les jeunes pousses vertes (68). Parmi d'autres constituants flavonoïdes des feuilles, les catéchines, dont deux, comme nous l'avons démontré, sont des constituants des feuilles, ont été étudiées précédemment dans les organes reproducteurs. L'épigallocatéchine, la gallocatéchine, la catéchine et l'épicatéchine entrent dans la composition des capsules et des graines immatures (143) (144). Les catéchines, avec les leucoanthocyanes représentent les principaux composés phénoliques du tégument des graines de cotonnier (51).

Les feuilles de cotonnier contiennent une gamme très vaste des dérivés de l'acide cinnamique dont les coumarines. L'identification des coumarines nous semble un fait important car, à notre connaissance, ces composés n'ont jamais été signalés chez le genre Gossypyum.

Des différences nettes apparaissent entre les espèces étudiées en ce qui concerne l'anthocyane. Présente dans les feuilles de HAR et de G. thurberi, elle est absente ou à l'état de trace de celles de G. anomalum.

Pour l'ensemble des polyphénols de feuilles une remarque générale s'impose. La grande majorité de ces corps se trouve sous forme de complexes, engagés dans des combinaisons avec des substances non phénoliques tel que l'acide quinique et, surtout, les glucides.

Les composés phénoliques sous forme de glucosides sont des constituants des végétaux supérieurs très largement répandus, mais leur rôle physiologique est continuellement discuté depuis la fin du siècle dernier.

Le choc hydrique se répercute d'une manière sensible sur le contenu phénolique foliaire. Mais contrairement à ce qu'on pouvait s'attendre en partant des données de la littérature citée dans l'introduction, à savoir qu'en réponse à diverses agressions (virose, traumatisme, carence, etc.), il y aurait une accumulation des polyphénols, c'est le phénomène inverse qui se produit. On observe une baisse des composés phénoliques.

Comment expliquer une telle réponse?

Il est bien certain que la sécheresse entraîne une perturbation profonde du métabolisme général de la plante.

On sait depuis très longtemps qu'elle affecte deux principaux processus de l'activité vitale : la photosynthèse et la respiration (159).

Dans les conditions d'un déficit hydrique, la capacité photosynthétique des plantes et toujours diminuée (96) (37) (147) (131).

Le flétrissement est accompagné non seulement d'une réduction de la réaction de HILL, mais aussi d'une diminution de la phosphorylation cyclique (107).

Lors d'un stress très sévère chez Bermuda Grass, la photosynthèse, l'accumulation de l'amidon et la synthèse des protéines se trouvent, toutes les trois, inhibées (10).

De ce fait, les produits initiaux de la biosynthèse des polyphénols pourraient faire défaut.

La baisse de la transpiration et la fermeture des stomates, expression de défense du végétal contre les pertes d'eau, sont suivis d'une augmentation de la température au niveau des feuilles (195), fait constaté également dans le cas particulier du cotonnier (170) (175) (125). Cette élévation de température

pourrait être une des causes de la diminution des polyphénols. Il a été en effet démontré que les températures élevées exercent une action négative sur la synthèse de ces composés (164). A 30° C on note chez le tabac un arrêt de la synthèse des anthocyanes dans les fleurs et des polyphénols dans les feuilles (94) (124). Un phénomène analogue est observé pour les fleurs et les feuilles de **Begonia gracilis.** La vitesse de la synthèse des anthocyanes est d'autant plus faible que les plantes se développent à température plus élevées (124).

D'autre part, il a été démontré qu'à un certain degré de déshydradation, il se produit dans les cellules une dissociation de la respiration et de la phosphorylation oxydative et que cette dissociation se maintient quelques jours encore après un nouvel apport d'eau aux plantes (80). Ainsi, même à la suite d'un flétrissement de courte durée - c'est le cas d'un choc osmotique - le principal système énergétique des plantes cesse de fonctionner pendant une période prolongée. Ce qui, à son tour, entraîne inévitablement un ralentissement des processus synthétisants, et parmi eux, très vraisemblablement, ceux impliqués dans la formation des noyaux aromatiques.

Quant aux répercussions du choc hydrique sur l'activité respiratoire, le problème semble assez complexe. D'après certains auteurs (195), il y aurait une intensification de la respiration chez certaines plantes à la lumière. Selon d'autres (159), la respiration augmenterait d'abord pendant la première phase de réaction et reviendrait ensuite à une valeur proche de la valeur initiale ou même tomberait en-dessous.

Dans un travail récent (44), il a été démontré que chez le blé, l'intensité de respiration diminue progressivement avec l'aggravation du stress hydrique en tombant, dans le cas d'une sécheresse extrême, à 50 % de la valeur témoin. De plus, dans certaines conditions de stress (stress modéré), la contribution de la glycolyse dans le processus de la dégradation du glucose augmente au dépens de la voie des phosphopentoses.

S'il en était ainsi, cette diminution de l'activité du cycle des phosphopentoses se répercuterait sur la biogénèse des composés phénoliques et pourrait être envisagée comme une des causes de la chute de ces substances, observée sous l'action de la sécheresse.

Le dessèchement des feuilles sous l'effet du choc peut être assimilé au vieillissement des tissus, à la sénescence accélérée, et on sait que la synthèse des composés phénoliques est plus active dans les feuilles jeunes (124) (185) (188).

La dégradation accélérée des composés phénoliques pourrait être une autre cause de leur chute.

Le choc hydrique entraîne des modifications physiques des membranes chloroplastiques ou leur destruction et par là même la libération dans le cytoplasme de certaines enzymes telles que les hydrolases et les oxydases contenues initialement dans les organites cellulaires (159) (175) (112) (53).

La disparition de la compartimentation faciliterait, soit la dégradation des molécules phénoliques, par la mise en contact avec des enzymes, soit leur migration vers d'autres organes.

L'oxydation irréversible de certains polyphénols pourrait conduire à la formation des mélanines insolubles, ce qui diminuerait le « pool » des composés phénoliques. Il a été en effet démontré que sous l'action des peroxydases sur la dihydroxyphénylalanine et sur d'autres polyphénols, il y a une rapide oxydation

de ces substances en quinones, suivie de cyclisation et des transformations en mélanines (92) (119).

En conclusion, la baisse des composés phénoliques sous l'effet d'un choc hydrique apparaîtrait comme une résultante d'un grand nombre de processus influencés eux-mêmes par de nombreux facteurs.

A l'heure actuelle, nous ne disposons pas d'éléments suffisants pour choisir, parmi les interprétations possibles, la ou les causes des phénomènes observés dont chacune peut avoir un déterminisme complexe: synthèse plus lente, destruction plus rapide ou migration vers d'autres organes.

Le fait que les teneurs en composés phénoliques sont les plus élevées chez G. anomalum, espèce résistante à la sécheresse, et qu'après l'application du choc hydrique, ces teneurs n'ont baissé que relativement peu, au contraire des espèces plus sensibles, plaide, nous semble-t-il, en faveur de l'hypothèse que les polyphénols pourraient jouer un rôle dans la résistance à la sécheresse.

Cette étude préliminaire nous paraît être de nature à susciter des travaux de recherches plus approfondis sur la nature intime des mécanismes de la résistance des végétaux aux différentes agressions et, plus particulièrement, à la sécheresse.

\*

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à MIle J. TANGUY qui a réalisé la chromatographie et l'identification des composés phénoliques.

# **BIBLIOGRAPHIE**

- 1 ADAMS R., MORRIS R.-C., GEISSMAN T.-A., BUTTERBAUGH D.-J., KIRKPATRICK E.-C. 1938 J. Amer. Chem. Soc., 60, 2193.
- 2 AKAZAWA T., URITANI I., KUBATA H. 1960 Arch. Bichem. Biophys., 88, 150.
- 3 ALIBERT G., MARIGO G., BOUDET A. 1968 C.R. Acad. Sc., D, 267, 2144.
- 4 ANDREÆ W.-A. 1948 Canad. J. Res., 26, 31.
- 5 ARNOLD A.-W., LUKE S. 1964 Plant Physiol., 39, 307.
- 6 BAILEY A.-E. 1948 « Cotton seed cotton seed products. » éd. Interscience Publishers, Inc., New-York, p. 213.
- 7 BALIGA B.-P. 1956 Thèse Doct. Texas.
- 8 BARDINSKAYA M.-S., PRUSAKOVA L.-D., SHUBERT T.-A. 1962 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 142, 222.
- 9 BARDINSKAYA M.-S., SHUBERT T.-A. 1962 Biokhimiya, 27, 58.
- 10 BARNETT N.-M., NAYLOR A.-W. 1966 Plant Physiol., 41, 1222.

- 11 BARZ W. 1968 Z. Naturforsch. 24 b, 306.
- 12 BIEHN W.-L., KUC J., WILLIAMS E.-B. 1968 Phytopathol., 5, 77.
- 13 BRACHET J., BICHAUT N. 1972 C.R. Acad. Sci., Paris, 275, 2137.
- 14 BRACHET J., MOUSSEAU M. 1974 Physiol. Vég., 12 (2), 123.
- 15 BRIGGS W.-R., RAY P.-M. 1956 Plant Physiol., 31, 165.
- 16 BRZOZOWSKA J., HANOWER P., TANGUY J. 1973 Phytochem., 12, 2353.
- 17 BUCKE C., LEECH R.-M., HALLAWAY M. 1966 Biochim. Biophys. Acta, 112, 19.
- 18 CLARK E.-P. 1928 J. Biol. Chem., 76, 229.
- 19 COLLINS W.-T., SALISBURY F.-B., ROSS C.-W. 1963 Planta, 60, 131.
- 20 COME C. 1970 Physiol. Vég., 8, 603.
- 21 CONN E.-E. 1964 in: « Biochemistry of phénolic compounds », éd. Academic Press, London - New-York.
- 22 CREASY L.-L. 1968 Phytochem., 7, 1743.
- 23 DAVIES D.-D., GIOVANELLI J., APREES T. 1964 « Plant Biochemistry » éd. W.O. James F.R.S., vol. 3, Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 397.
- 24 DELAVEAU P., PARIS R. 1969 Bull. Soc. Fr. Physiol. Végét., 15, 99.
- 25 DENLIEV P.-K., PAKUDINA Z.-P., ŚADIKOV A.-S. 1962 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 8, 34.
- 26 DICKS J.-W., FRIEND J. 1966 J. Biochem., 99, 38 P.
- 27 DRAPER O.-J., POLLARD A.-L. 1949 Science, 109, 448.
- 28 DURMISHIDZE S.-V., SHALASHVILI A.-G. 1968 Doki. Akad. Nauk SSSR, 181, 1110.
- 29 DURMISHIDZE S.-V., UGREKHELIDZE D.-Sh., DJIKIYA A.-N., TSEVELIDZE D.-Sh. 1969 Dokl. Akad Nauk SSSR, 184, 466.
- 30 EL-BASYOUNDI S.-Z., NEIDH A.-C. 1966 Phytochem., 5, 683.
- 31 EVENARY M. 1949 Bot. Rev., 15, 153.
- 32 EVENARY M. 1957 Symp. Soc. Exp. Biol., London, II, 21.
- 33 FERKAS G.-L., SOLOMOSY F. 1965 Phytopatol. Z., 53, 85.
- 34 FOLIN O., CIOCOLTEU V. 1927 J. Biol. Chem., 73, 627.
- 35 FOLLMAN G., NAKAGAWA M. 1963 Naturwissenschaften, 22, 696.
- 36 FUJII S., AOKI H., KOMOTO M., MUNAKETA K., TAMURA T. 1968 Agric. Biol. Chem., 32, 810.
- 37 GAASTRA P. 1963 « Climatic control of photosynthesis and respiration » in: Environmental control of plant growth, Red. L.T. Evans, éd. Academic Press.
- 38 GALSTON A.-W. 1969 « Flavonoids and photomorphogenesis in peas » in : Perspectives in Phytochemistry, éd. J.-B. Harborne, T. Swain, Academic Press, London New-York, p. 193.
- 39 GAMBORG O.-L., WETTER L.-R., NEISH A.-C. 1961 Canad. J. Biochem. Physiol., 39, 1113.

- 40 GASPAR T., BASTIN M., LEYTH C. 1964 Acad. Roy. Belg. Cl. Sci., 50, 799.
- 41 GLASS A.-D.-M. 1973 Plant Physiol., 51, 1037.
- 42 GLASS A.-D.-M. 1974 Plant Physiol., 54, 855.
- 43 GOLDSTEIN J.-L., SWAIN T. 1965 Phytochem., 4, 185.
- 44 GORDON L.-K., BICHURINA A.-A. 1970 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 192, 1384.
- 45 GORIS A. 1914 Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux, éd. Lechevalier, 2° éd.
- 46 GORTNER W.-A., KENT M.-J. 1958 J. Biol. Chem., 233, 731.
- 47 GRIMM H. 1952 Z. Bot., 41, 405.
- 48 GROHNE V. 1952 Biol. Zbl., 71, 10.
- 49 GUBANOV G.-Ya. 1949 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 4.
- 50 GUBANOV G.-Ya. 1969 Thèse Doct. Leningrad.
- 51 GUBANOVA L.-G. 1965 Thèse Doct. Leningrad.
- 52 GUILLIERMOND A., GAUTHERET R. 1933 C.R. Acad. Sc., 196, 369.
- 53 HANOWER P., BRZOZOWSKA J. 1973 Physiol. Vég., II (2), 385.
- 54 HARE R.-C. 1966 Bot. Rev., 32, 95.
- 55 HATTORI S., ORIYAMA S. 1956 Scient. Proceed. Roy. Dublin. Soc., 27 (6), 139.
- 56 HATTORI S., SATO M. 1963 Phytochem., 2, 385.
- 57 HEIMAN W., HEINRICH B. 1960 Arch. Pharm., 293/65, 598.
- 58 HENDERSON J.-H.-M., NITSCH J.-P. 1962 Nature, 195, 780.
- 59 HESS D. 1963 Z. Bot., 51, 142.
- 60 HEVITT E.-J. 1952 « Sand and water culture methods used in study of plant nutrition », éd. Comm. agr. bureau, p. 189.
- 61 HUTCHINSON A., TAPER C.-D., TOWERS G.-H.-N. 1959 Canad. J. Biochem. Physiol., 37, 229.
- 62 IBRAHIM B.-K., LAWSON S.-G., TOWERS C.-H.-N. 1961 Canad. J. Biochem. Physiol., 39, 873.
- 63 ISMAILOV A.-I., SADYKOV A.-C. 1968 «Izutchenie gosypola i ego sputnikov» in: «Fenolnyie soedineniya i ikh biologitcheskiye funktsii» Red. Kursanov A.L., Zapromietov M.-N., Izd. Nauka, Moscou, p. 100.
- 64 JACQUEMIN H. 1969 Thèse Doct. d'Etat, Paris.
- 65 JOHNSON G., SCHALL L.-A. 1952 Science, 115, 627.
- 66 JONG (de) D.-W. 1973 Physiol. Plant., 29, 150.
- 67 KANASH S.S. 1947 Agrobiologiya, 6, 84.
- 68 KARIMDZHANOV A.-K., ISMAILOV A.-I., SADYKOV A.-S. 1965 Khimiya Prirod. Soed., 5, 350.
- 69 KEFELI V.-I., TURETSKAYA R.-K. 1966 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 170, 472.
- 70 KERTESZ D., ZITO R. 1962 Biochim. Biophys. Acta, 59, 752.

- 71 KOF E.-M. 1970 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 192, 676.
- 72 KOGL F., ELEMA J. 1960 Naturwissenschaften, 47, 90.
- 73 KOLESNIKOV P.-A., PIETROTCHENKO E.-I., ZORIE S.-V. 1958 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 123, 729.
- 74 KONIS E. 1940 Pal. J. Bot. Jerus., Sér. 2, 6, 27.
- 75 KOVES E., VARGA M. 1959 Phyton, 12, 93.
- 76 KROGMAN D.-W., STILLER M.-L. 1962 Biochem. Biophys. Res. Comm., 7, 46.
- 77 KUBOVITZ F. -- 1937 Biochem. Z., 293, 308.
- 78 KUC J., HENZE R.-E., ULLSTRUP A.-M. 1956 J. Amer. Chem. Soc., 78, 3121.
- 79 KUHN R., LOW J. 1949 Ber. Chem. Ges., 82, 474.
- 80 KURSANOV A.-L. 1952 «Sintez i prevrashtcheniya dubilnykh veshtchestv v tchaynom rastenii » VII Bakhovskoe tchtenie, Izd. Nauka, Moscou.
- 81 KURSANOV A.-L. 1967 Molek. Biol., 1, 17.
- 82 LEOPOLD A.-C., PLUMER T.-H. 1961 Plant. Physiol., 36, 589.
- 83 LIBERMAN M., CRAFT C.-C., WILLCOX M.-S. 1959 Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci., 74, 642.
- 84 LICHTENTHALER H.-K. 1968 Planta, 81, 140.
- 85 LOCHE J. 1966 SEITA Ann. Direction Etudes Equipement, 3, 15.
- 86 LUCIANI S. 1973 Biochem. Pharmac., 22 (15), 1821.
- 87 LYMAN C.-M., BALIGA B.-P., SLAY M.-W. 1959 Arch. Biochem. Biophys., 84, 486.
- 88 LYMAN C.-M., HOLLAND B.-R., HALE F. 1944 Ind. Eng. Chem., 36, 188.
- 89 LYNEN F. 1967 Pure Appl. Chem., 14, 137.
- 90 MAASCH H.-J., RUGE U. 1970 Z. Pflanzenphysiol., 63, 337.
- 91 MACHEIX J.-J. 1968 Fruits, 23, 13.
- 92 MAEHLY A., CHANCE B. 1954 in : « Methods in biochemical analysis » vol. I, Red. Glik D., éd. Interscience Publishers, New-York, Sydney, London, Toronto, p. 357.
- 93 MARTIN C. 1958 Thèse Doct. d'Etat, Paris.
- 94 MARTIN C., GALLET N. 1966 C.R. Acad. Sc., 262, 646 et 997.
- 95 -- MASQUELIER J., GRENIER D. -- 1968 Bull. Soc. Chim. Biol., 49, 1807.
- 96 MAXIMOV N.-A. 1931 J. Ecol., 19, 273.
- 97 MAYER A.-M. 1953 Physiol. Plantarum, 6, 413.
- 98 MAYER A.-M., EVENARY M. 1952 J. Exp. Bot., 3, 246.
- 99 MAYER A.-M., POLIAKOFF-MAYBER A. 1963 «The germination of seeds », éd. Pergamon Press, Oxford, London, New-York, Paris.
- 100 MILLER J.-E., ROSS C. 1965 Plant Physiol., 40, suppl. XLIV.
- 101 MONTIERS B. 1969 Bull. Soc. Fr. Physiol. Végét., 15, 29.

- 102 MOTHES K., KALA H. 1955 Naturwissenschaften, 42, 159.
- 103 MUMFORD F.-E., SMITH D.-H., CASTLE J.-R. 1961 Plant Physiol., 36, 752.
- 104 NEISH A.-C. 1964 in: «Biochemistry of phenolic compounds» éd. Academic Press, London, New-York, p. 295.
- 105 NEUMANN J., LEGRAND G., LAVOLLAY J., LEHONGRE G. 1960 C.R. Acad. Sc., 251, 3091.
- 106 NIEMAN E. 1952 Flora, 139, 185.
- 107 NIR I., POLIAKOFF-MAYBER A. 1967 Nature, 213, 418.
- 108 NITSCH J.-P., NITSCH C. 1961 Bull. Soc. Bot. Fr., 108, 349.
- 109 OHARA A., BECHARA E.-J.-H., SANITO C.-L., CILENTO G. 1973 Arch. Biochem. Biophys., 158 (I), 359.
- 110 OPARIN A.-I. 1922 Izv. Ros. Akad. Nauk., 26, 535.
- 111 OPARIN A.-I. 1927 Biochem. Z., 182, 155.
- 112 OPARIN A.-I. 1953 Bull. Soc. Chim. Biol., 35, 67.
- 113 PACHECO H. 1969 Bull. Soc. Fr. Physiol. Végét., 15, 3.
- 114 PAKUDINA Z.-P., SADYKOV A.-S. 1968 «Khirzutinnovyi glikozid it tzvietov khloptchatnika sorta 108-F (G. ssypium hirsutum) » in: FenoInyie Soedineniya i ihk biologitcheskiye funktsii » Red. Kursanov A.-L., Zapromietov M.-N., Izd. Nauka, Moscou, p. 50.
- 115 PAKUDINA Z.-P., SADYKOV A.-S., DENLIEV P.-K. 1965 Khimiya Prirod. Soed., 1, 67.
- 116 PALLADIN V.-I. 1908 Ber. Bot. Ges., 26 a, 125.
- 117 PALLADIN V.-I. 1912 Ber. Bot. Ges., 30, 104.
- 118 PARUPS E.-V. 1967 Canad. J. Biochem., 45, 427.
- 119 PATEL R.-P., OKUN M.-R. 1971 Biochem. J., 24, 439.
- 120 PATIL S.-S., DIMOND A.-E. 1967 Phytopatol, 57, 492.
- 121 PATSCHKE L., BARZ W., GRISEBACH H. 1964 Z. Naturforsch., 19 b, 110.
- 122 PAUPADRIN C. 1965 C.R. Acad. Sc., 261, 4206.
- 123 PAUPARDIN C., TIZIO R. 1970 Potato Res., 13, 187.
- 124 PAYNOT M., MARTIN C. 1969 Bull. Soc. Fr. Physiol. Végét., 15, 47.
- 125 PETINOV N.-S., KOLESNIKOVA P.-D. 1970 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 192, 1391.
- 126 PETRU E., CHRASTIL J. 1955 Ceskosl. Biol., 4, 162.
- 127 PHILLIPS I.-D.-J. 1961 Nature, 192, 240.
- 128 PILET P.-E. 1964 Phytochem., 3, 617.
- 129 PILET P.-E., MATO M.-C. 1967 Ann. Physiol. Végét., 9, 369.
- 130 PILET P.-E., SEVHONKIAN S. 1969 Physiol. Vég., 7, 325.
- 131 PISEK A., WINKLER E. 1956 Protoplasma, 46, 597.
- 132 POLYA L. 1963-1964 Acta Debrecen. Sér. Biol., 2, 85.
- 133 POTTY V.-H. 1969 Anal. Biochem., 29, 535.

- 134 RABECHAULT H., CAS G. 1973 C.R. Acad. Sc., Paris. 277, 2697.
- 135 REDFEARN E.-R. 1965 in : « Biochemistry of quinones », éd. Academic Press, London, New-York.
- 136 REZNIK H. 1960 Ergebnisse Biol., 23, 14.
- 137 RIBEREAU-GAYON P. 1968 « Les Composés Phénoliques des Végétaux », p. 202, Dunod, Paris.
- 138 ROHRINGER R., SAMBORSKI D. 1967 Ann. Rev. Phytopathol., 5, 77.
- 139 RUBIN B.-A., ARTSIKOVSKAYA E.-V. 1960 « Biokhimiya i fiziologiya immuniteta rastenii » Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscou.
- 140 RUBIN B.-A., PEREVYASKINA L.-I. 1951 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 79, 303.
- 141 RUGE U. 1939 Z. Bot., 33, 529.
- 142 SADYKOV A.-S., ISMAILOV A.-I., MAVLANOVA D.-U. 1965 Khimiya Prirod. Soed., 1, 104.
- 143 SADYKOV A.-S., KARIMDJANOV A.-K. 1960 Uzb. Khim. Zh., 1, 52.
- 144 SADYKOV A.-S., KARIMDJANOV A.-K., ISMAILOV A.-I. 1968 «Izutchenie katekhinov nektorykh rastenii» in: «FenoInyie soedineniya i ikh biologitcheskiye funktsii», Red. Kursanov A.-L., Zapromietov M.-N., Izd. Nauka, Moscou.
- 145 SADYKOV A.-S., PAKUDINA Z.-P., DENLIEV P.-K. 1960 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 6, 23,
- 146 SADYKOV A.-S., PAKUDINA Z.-P., DENLIEV P.-K. 1961 Dokl. Akad. Nauk SSSR. 6, 41.
- 147 SCARTH G.-W., SHAW M. 1951 Plant Physiol., 26, 581.
- 148 SCHANTZ E.-M. 1966 Ann. Rev. Plant Physiol., 17, 409.
- 149 SCHNEIDER V. 1971 Z. Pflanzenphysiol., 64, 15.
- 150 SCHNEIDER V. 1973 Z. Pflanzenphysiol., 70, I, 88.
- 151 SKOOG F., MONTALDI E. 1961 Proc. Natl. Acad. Sci., 47, 36.
- 152 SMITH F.-H. 1967 J.A.O.C.S., 44, 267.
- 153 SONDHEIMER E. 1964 Bot. Rev., 30, 667.
- 154 SONDHEIMER E., GRIFFIN D.-H. 1960 Science, 131, 672.
- 155 STAFFORD H.-A. 1969 Phytochem., 8, 743.
- 156 STALLKNECHT G.-F. 1972 Plant Physiol., 50, 412.
- 157 STENLID G. 1961 Physiol. Plantarum, 14, 659.
- 158 STEWARD F.-C., BIDWELL R.-G.-S., YEMM E.-W. 1956 Nature, 178, 734.
- 159 STOCKER O. 1961 « Les effets morphologiques et physiologiques du manque d'eau sur les plantes. Recherches sur la zone aride. XV Echanges hydriques des plantes en milieu aride ou semi-aride ». Ed. UNESCO, p. 69.
- 160 STROGONOV B.-P. 1947 Izv. Akad. Nauk SSSR, Sér. Biol., 6, 777.
- 161 STRUMEYER D.-H., MALIN M.-J. 1969 Biochim. Biophys. Acta, 184, 643.

- 162 STSENT-DERDI A. 1937 Biokhimiya, 2, 152.
- 163 SUMERE (van) 1960 « Phenolics in plants in health and disease ». Ed. Pergamon Press, Oxford, London, New-York, Paris, p. 24.
- 164 TANGUY J. 1970 Thèse Doct. Sc. Nat., Paris.
- 165 TANGUY J. 1971 Physiol. Vég., 9, 169.
- 166 TANGUY J., GALLET M. 1969 C.R. Acad. Sc., D, 269, 589.
- 167 TAYLOR A.-O. 1968 Phytochem., 7, 63.
- 168 THIEMAN K.-W., TOMASZEWSKI M., PORTER W.-L. 1962 Nature, 193, 1203.
- 169 TOMASZEWSKI M. 1959 Bull. Acad. Pol. Sci., 7, 127.
- 170 TROUGHTON J.-R., COVAN I.-R. 1968 Science, 161, 281.
- 171 TURETSKAYA R.-Kh., KEFELI V.-I. 1963 Usp. Biol., 57, 99.
- 172 URITANI I. 1961 Symp. Biochemistry Plant Phenolic Substances, Colorado State Univ., 98.
- 173 VARGA M., KOVES E. 1959 Nature, 183, 401.
- 174 VENDRIG J.-C., BUFFEL K. 1961 Nature, 192, 276.
- 175 VIEIRA DA SILVA J.-B. 1970 Thèse Doct. Sc. Nat., Orsay.
- 176 VINCE D. 1968 Planta, 82, 261.
- 177 WATKIN J.-E., UNDERHILL E.-W., NEISH A.-C. 1957 Canad. J. Biochem. Physiol., 35, 901.
- 178 WEINBACH E.-C., GARBUS J. 1965 J. Biol. Chem., 240, 1811.
- 179 WEISSENBOCK G. 1970 Ber. Dtsch. Bot., 83, 79.
- 180 WEISSENBOCK G., TEVINI M., REZNIK H. 1971 Z. Pflanzenphysiol., 64, 274.
- 181 WEYGAND F., WENDT H. 1959 Z. Naturforsch., 14 b., 421.
- 182 WHEELER A.-W., KING H.-G.-C. 1968 Phytochem., 7, 107.
- 183 WHITMORE F.-W., ZAHNER R. 1964 Science, 145, 166.
- 184 WITHERS W.-A., CARRUTH F.-E. 1915 J. Agric. Res., 5, 261.
- 185 ZAPROMIETOV M.-N. 1958 Fiziol. Rasten., 5, 51.
- 186 ZAPROMIETOV M.-N. 1959 Dokl. Akad. Nauk SSSR, 125, 1359.
- 187 ZAPROMIETOV M.-N. 1963 Fiziol. Rasten., 10, 73.
- 188 ZAPROMIETOV M.-N. 1964 « Biokhimiya katekhinov » Izd. Nauka, Moscou.
- 189 ZAPROMIETOV M.-N. 1964 Usp. Biokh., 6, 284.
- 190 ZAPROMIETOV M.-N. 1967 Usp. Sovrem. Biol., 63, 380.
- 191 ZAPROMIETOV M.-N. 1970 Zurn. Obsh. Biol., 31, 201.
- 192. ZAPROMIETOV M.-N., BUKLAIEVA V. 1967 Fiziol. Rasten., 14, 197 et 804.

- 193 ZAPROMIETOV M.-N., BUKLAIEVA V. 1968 Fiziol. Rastern., 15, 457.
- 194 ZAPROMIETOV M.-N., KOLONKOVA S.-V. 1967 Dokl. Akad. Nauk., SSSR, 176, 470.
- 195 ZELTICH I. 1967 «Water and CO<sub>2</sub> transport in the photosynthetic process» in: «Harvesting the sun, photosynthesis in plant life» Red. San Pietro A., Greer F.-A., Arny T. Ed. Academic Press, New-York, p. 231.

ORSTOM - Centre d'Adiopodoumé Laboratoire de Physiologie végétale B.P. V 51 - ABIDJAN - Côte-d'Ivoire