

Phytoalexines et réactions de défense de la tomate aux infections par *Phytophthora parasitica* et *Verticillium albo-atrum*

ANNIE VERNENGI

Laboratoire de phytopathologie de l'Office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer, 72, route d'Aulnay, 93140 Bondy, France

J. EINHORN, G. KUNESCH, C. MALOSSE ET FLORENCE RAMIANDRASOA

Laboratoire des médiateurs chimiques, Institut national de la recherche agronomique — Centre national de la recherche scientifique, Brouessy — Magny-les-Hameaux, 78470 Saint-Rémy-les-Chevreuse, France

ET

A. RAVISÉ

Laboratoire de phytopathologie de l'Office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer, 72, route d'Aulnay, 93140 Bondy, France

Reçu le 5 juillet 1985

VERNENGI, A., J. EINHORN, G. KUNESCH, C. MALOSSE, F. RAMIANDRASOA ET A. RAVISÉ. 1986. Phytoalexines et réactions de défense de la tomate aux infections par *Phytophthora parasitica* et *Verticillium albo-atrum*. *Can. J. Bot.* **64**: 973–982.

Deux cultivars de tomates de phénotype Saint-Pierre, isogéniques pour la résistance à la verticilliose et différents par celle au mildiou (et à *Phytophthora parasitica* Dast.), sont inoculés par *P. parasitica* et par *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth. Aux réactions de défense correspond l'accumulation, dans les tissus, de sesquiterpènes, de composés phénoliques, de tomatine et de dérivés oxygénés de linoléate de méthyle. Les synthèses de ces substances chez l'hôte sont modulées selon les cultivars et les parasites confrontés. Les études d'inhibition *in vitro* de *P. parasitica* révèlent une importante synergie entre des diénols d'une part, et des produits phénoliques et la tomatine d'autre part.

VERNENGI, A., J. EINHORN, G. KUNESCH, C. MALOSSE, F. RAMIANDRASOA, and A. RAVISÉ. 1986. Phytoalexines et réactions de défense de la tomate aux infections par *Phytophthora parasitica* et *Verticillium albo-atrum*. *Can. J. Bot.* **64**: 973–982.

Two cultivars of tomato of Saint-Pierre phenotype, isogenic for the resistance against verticilliosis and different for the resistance against mildew (and against *Phytophthora parasitica* Dast.), were inoculated with *P. parasitica* and with *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth. Associated with the defence reactions, an accumulation of sesquiterpenes phenolic compounds, tomatin, and oxygenated compounds of methyl linoleate took place in the tissues. Synthesis of these compounds in the host varies with the cultivars and the parasites in presence. *In vitro* studies on the inhibition of *P. parasitica* have shown an important synergism between the dienols on one side and the phenolic compounds and tomatin on the other side.

[Translated by the Journal]

Introduction

Les phytoalexines de la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) de même que celles de l'aubergine (*Solanum melongena* L.) sont moins bien connues que celles d'autres Solanacées (Kuc *et al.* 1976) ou de Légumineuses (Darvill et Albersheim 1984). Parmi les réactions aux agressions parasitaires, l'accumulation de métabolites secondaires, préexistants ou postérieurs à l'infection, contribue au blocage des agents pathogènes dans les tissus (Stoessl 1983; Smith *et al.* 1984). C'est pourquoi nous avons tenté d'approfondir la connaissance des mécanismes de défense impliqués chez la tomate. En réponse à des infections cryptogamiques, cette plante élabore de la tomatine (Langcake *et al.* 1972; Hammerschlag et Mace 1975), des composés phénoliques (Matta *et al.* 1969; Ravisé et Tanguy 1971; Glazener 1982), des sesquiterpènes (Tjamos et Smith 1975; Elgersma 1980). Plus récemment, De Wit et Kodde (1981) ont identifié des substances polyacétyléniques chez des cultivars résistants à la cladospore. À la suite de nos études sur l'accumulation des composés phénoliques de la tomate (Ravisé et Trique 1972a; El Khatib *et al.* 1974), la stimulation de leurs synthèses par apport de catéchol (Retig et Chet 1974) ou d'acide quinique (Carrasco *et al.* 1978) fut prouvée. De même, le phosétyl d'aluminium, à des doses non toxiques *in vitro* pour les *Phytophthora* spp., et des éliciteurs fongiques, provoquent l'accumulation de composés phénoliques et le blocage du parasite dans les tissus (Vo Thi Hai *et al.* 1979; Vernenghi 1985). Nous nous proposons d'étudier la

contribution de plusieurs substances inhibitrices, élaborées par deux cultivars isogéniques de tomates (possédant en commun l'allèle *Ve* de résistance à la verticilliose et différant par la réaction aux *Phytophthora* spp.), aux réactions de défense contre *Phytophthora parasitica* d'une part et *Verticillium albo-atrum* d'autre part.

Matériel et techniques

Plante hôte

Deux cultivars de tomates de phénotype Saint-Pierre sont utilisés : 'Piéraline' avec les gènes de résistance au mildiou (*Ph + S*) et à la verticilliose (*Ve*), 'Piéralbo' isogénique de 'Piéraline' par l'allèle *Ve*. Ils sont cultivés en serre à une température de 22 à 30°C l'été et de 18 à 24°C pendant les périodes froides; un éclairage d'appoint assure une photopériode de 14 h. Les plants sont inoculés à 3 semaines en fin de montaison et avant l'émission du premier bouquet floral.

Agents pathogènes

La souche de *Phytophthora parasitica* Dast. a été isolée sur plants de tomates au Liban en 1975. Elle est conservée sur milieu nutritif gélosé (Ravisé 1972). La souche de *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth, provient du Liban où elle a été isolée de la tomate en 1974. Elle est conservée sur décoction de malt gélosé (Boisson et Lahlou 1981).

Les thalles de culture en milieu liquide sont dilacérés au broyeur Turmix pendant 1 min pour les deux parasites (la dilacération étant vérifiée sous microscope). La dose d'inoculum correspond à 10 mg de mycélium sec de *P. parasitica* et à une concentration de conidies comprise entre 10⁶ et 5 × 10⁶ mL⁻¹ pour *V. albo-atrum*. Avant inoculation, les plants subissent une scarification de l'épiderme du

collet sur 1 cm de haut, où est déposé le broyat mycélien. L'infection évolue pendant 10 jours; ce délai permet l'apparition de symptômes typiques des deux parasites sur des plants non résistants. Les tiges, sectionnées sur 10 cm de haut, et les racines sont alors récoltées et conservées à -18°C . Des lots de plants témoins, seulement blessés, sont traités de façon similaire en présence de la même flore saprophyte.

Techniques d'extraction, de purification et de dosage

Les tissus, broyés à froid dans du chloroforme, sont maintenus pendant 24 h à température ambiante et à l'obscurité pour diffusion des substances apolaires (lipides et sesquiterpènes). Ils sont ensuite repris par le méthanol pour extraire les substances polaires (phénols et alcoïdes).

Les dérivés oxygénés d'acides gras et les sesquiterpènes sont préparés par entraînement à la vapeur d'eau (Moede 1983) puis en chromatographie liquide à haute performance (CLHP). Les séparations initiales sont réalisées sur une colonne de silice de $13\text{ mm} \times 30\text{ cm}$ ($10\text{ }\mu\text{m}$) imprégnée de 10% de NO_3Ag avec un mélange en proportions variables de toluène et d'acétate d'éthyle. D'autres purifications sont réalisées avec double détection à l'ultraviolet (UV) et réfractométrique sur colonnes de silice de $13\text{ mm} \times 50\text{ cm}$ ($7\text{ }\mu\text{m}$) et de $10\text{ mm} \times 30\text{ cm}$ ($5\text{ }\mu\text{m}$) éluées par les mélanges hexane - acétate d'éthyle (Hx - Ae, 2 : 1) et hexane - acétate d'éthyle - méthanol (Hx - Ae - MeOH, de 100 : 30 : 3 à 50 : 80 : 12).

Les substances polaires sont séparées par chromatographie de la phase méthanolique sur colonnes atmosphériques de polyvinylpyrrolidone, de gel LH20 ou de résines échangeuses d'ions. Les purifications finales sont réalisées en CLHP sur une colonne de silice de $13\text{ mm} \times 50\text{ cm}$ ($7\text{ }\mu\text{m}$) (éluée par les mélanges Hx - Ae - MeOH (50 : 80 : 12) et Ae - MeOH (5 : 1)) ou sur une colonne de silice greffée en C18 de $13\text{ mm} \times 50\text{ cm}$ ($7\text{ }\mu\text{m}$) (éluée par un gradient de méthanol de 5 à 99% dans une solution acétique à 5%).

Les phénols totaux sont dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu modifiée par Ribéreau-Gayon (1968). Leur concentration est exprimée en équivalent d'acide chlorogénique par rapport à la masse fraîche.

Techniques analytiques

Les extraits bruts sont analysés en CLHP sur une colonne de silice de $10\text{ mm} \times 30\text{ cm}$ ($5\text{ }\mu\text{m}$) (éluée par un gradient d'hexane et d'un mélange Ae - MeOH (10 : 1)) et sur une colonne de silice greffée en C18 de $13\text{ mm} \times 50\text{ cm}$ ($7\text{ }\mu\text{m}$) (éluée par un gradient de méthanol de 5 à 99% dans une solution acétique à 5%).

Les produits purifiés sont caractérisés en chromatographie sur couche mince (CCM) par leur R_f et après révélation par différents réactifs : trichlorure d'antimoine à saturation dans le chloroforme (125°C , 10 min), vanilline sulfurique (100°C , 5 min), paranitraniline diazotée.

Les spectres de masse sont obtenus avec un appareil CG-SM (chromatographe en phase gazeuse - spectromètre de masse) Nermag R10-10C piloté par ordinateur, en impact électronique et en ionisation chimique. Le couplage CG-SM est réalisé avec un chromatographe Girdel 32 équipé d'une colonne capillaire de 25 m chargée soit de CP Sil 5 (phase apolaire) soit de CP Wax 57 (phase polaire). La température d'éluion est programmée de 60 à 240°C avec une progression de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) sont établis à l'Institut de chimie des substances naturelles avec un appareil Brüker de 400 MHz dans le CDCl_3 .

Synthèse des diénols et leurs études chimiques

Par la voie chimique, ils sont obtenus en traitant du linoléate de méthyle avec un excès de dioxyde de sélénium dans le benzène. Le produit brut est chromatographié en CLHP sur une colonne de silicagel avec des concentrations croissantes d'acétate d'éthyle dans l'hexane. Le rendement est de 25%. Le spectre infrarouge (IR - liquide) indique 3400 (OH) et 1720 cm^{-1} (C=O).

Par la voie enzymatique, l'acide linoléique est oxydé en milieu basique par une lipoxygénase de soja en présence de NaBH_4 . Après extraction à l'éther, le produit de réaction est purifié par CLHP dans

les mêmes conditions que ci-dessus. Les structures des diénols sont vérifiées avec des microtechniques de dérivation et de dégradation chimiques (hydrogénation catalytique, ozonolyse, traitement au chlorure d'acétyle).

Tests biologiques

Ils sont de deux ordres : sur chromatogrammes et en lames à concavité.

Sur les chromatogrammes, après éluion, on pulvérise une suspension de spores de *Cladosporium cladosporioides* (Friesen) de Vries puis un bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé. Après 3 jours d'incubation en étuve à 28°C , le mycélium noir du champignon s'est développé sur la plaque où des plages blanches révèlent la présence des zones fongitoxiques. Les substances inhibitrices correspondant à ces zones sont extraites en grande quantité pour réaliser des tests en lames à concavité (Ravisé et Triqué 1972a). La toxicité de ces produits pour *P. parasitica* et *V. albo-atrum* est déterminée pour une gamme de concentrations comprises entre 50 et $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; chaque série correspond à un minimum de 30 répétitions. À chaque observation microscopique, le nombre d'hyphes émis à la périphérie des microthalles est déterminé; la croissance en fonction du temps et l'évolution de l'autolyse provoquée par les inhibiteurs sont évaluées sur 50 hyphes. Les phénomènes de synergie entre les substances fongitoxiques sont étudiés de la même façon. Les microcultures sont incubées en étuve à 28°C , à l'obscurité. Les concentrations létales sont déterminées, après un temps variable d'incubation, après transfert des microthalles sur milieu nutritif gélosé en tubes à essais incubés pendant 96 h en étuve. Nous indiquons seulement les résultats concernant l'inhibition de *P. parasitica*.

Résultats

Sesquiterpènes

Non décelés dans les tissus des plants témoins (même après scarification), plusieurs sesquiterpènes sont accumulés après inoculation de *P. parasitica* ou de *V. albo-atrum*. Ils sont toxiques pour *C. cladosporioides* en CCM. Des fractions partiellement purifiées inhibent la croissance des deux parasites en microcultures en lames à concavité. À cause des difficultés de séparation d'avec les esters méthyliques d'acides gras insaturés et leurs dérivés oxygénés, et des pertes en résultant, nous n'avons pas dosé les concentrations des sesquiterpènes dans les tissus infectés.

Un premier groupe, séparé par CLHP sur une colonne de silice, avec pour éluant le mélange Hx - Ae - MeOH (100 : 30 : 3), comprend les six substances suivantes (comprenant des isomères) caractérisées par leur R_f en CCM (Hx - Ae - MeOH, 50 : 50 : 5) et par leurs propriétés spectrales (spectrométrie de masse, le pic de base étant souligné) :

- (1) R_f 0,42; M^+ 232; m/z 204 ($M - 28$), 189, 176, 161, 143, 131, 119, 105, 95, 91.
- (2) R_f 0,46; M^+ 236 (deux isomères); m/z différent à 189, 135, 133, 131, 94, pic de base : 143. Ce sesquiterpène semble proche de la lubimine.
- (3) R_f 0,60-0,68; M^+ 222 (deux isomères); m/z 204 ($M - 18$), 189, 173, 161, 143, 131, 119, 107, 105, 95, 93, 91, pics de base des isomères : 204 et 143. Ces deux isomères présentent des pics d'intensités différentes.
- (4) R_f 0,75; M^+ 246; m/z 218 ($M - 28$), 203, 200, 190, 161, 147, 133, 121, 105, 95, 93, 91. C'est le principal sesquiterpène entraîné par la vapeur d'eau.

Un second groupe comprend deux sesquiterpènes élués en CLHP sur une colonne de silice, par le mélange Hx - Ae - MeOH (50 : 80 : 12). Dans le même système en CCM, leur R_f sont :

- (1) R_f 0,65; M^+ 220; m/z 205, 189, 169, 159, 143, 131, 121, 105, 91.

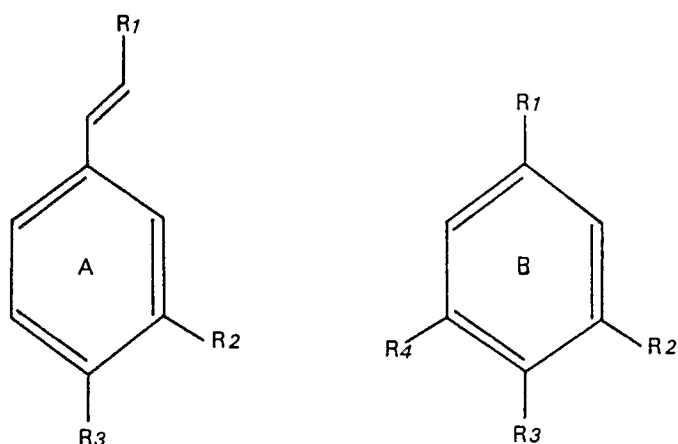


FIGURE 1. Principaux constituants phénoliques décelés dans les extraits de tomate. (A) Série cinnamique : acide *p*-coumarique, $R_1 = \text{COOH}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$; acide caféique, $R_1 = \text{COOH}$, $R_2 = R_3 = \text{OH}$; acide férulique, $R_1 = \text{COOH}$, $R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{OH}$; acide chlorogénique, $R_1 = \text{COO-quinique}$, $R_2 = R_3 = \text{OH}$. (B) Série benzoïque : acide d'hydroxy-3,4 benzoïque, $R_1 = \text{COOH}$, $R_2 = R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{H}$; acide trihydroxy-3,4,5 benzoïque, $R_1 = \text{COOH}$, $R_2 = R_3 = R_4 = \text{OH}$; vanilline, $R_1 = \text{CHO}$, $R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{H}$; diméthoxy-3,4 benzaldéhyde, $R_1 = \text{CHO}$, $R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$, $R_4 = \text{H}$.

TABLEAU 1. Comparaison des teneurs en phénols totaux dans les tissus des cultivars Piéraline et Piéralbo inoculés par *P. parasitica* et par *V. albo-atrum*

Traitement	Teneur en phénols	
	Piéraline	Piéralbo
Témoin	500	590
Inoculation par <i>P. parasitica</i>	720	695
Inoculation par <i>V. albo-atrum</i>	690	785
Stimulation par <i>P. parasitica</i>	44	18
Stimulation par <i>V. albo-atrum</i>	38	33

NOTA : Sauf pour la stimulation, où elle est exprimée en pourcentages, la teneur en phénols totaux est exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide chlorogénique par gramme de tissus frais.

(2) R_f 0,75; M^+ 222; m/z 208, 204, 189, 177, 161, 143, 131, 119, 105, 95, 93, 91.

La plupart de ces sesquiterpènes présentent une fonction oxygénée (alcool ou cétone).

Alcaloïdes

La tomatine et son aglycone sont présents parmi les substances polaires extraites des tissus par le méthanol. Fortement absorbés sur le polyvinylpyrrolidone, ces produits sont élués par le méthanol (50%) additionné de PO_4HNa_2 à pH 11.

La tomatine et la tomatidine sont purifiées en CLHP sur une colonne de silice greffée en C18. La première est éluée entre 5 et 15%, la seconde entre 60 et 99% de méthanol dans une solution acétique à 5%.

Leurs valeurs R_f en CCM dans le mélange chloroforme-méthanol (clf-MeOH, 1 : 1) sont 0,37 (tomatine) et 0,85 (tomatidine). Le trichlorure d'antimoine à chaud donne une tache de couleur bistre violacé avec la tomatine, rose pâle avec la tomatidine. À partir de 350 g de tissus de racines et de collets infectés par *P. parasitica*, 20 mg de tomatidine ont été purifiés par CLHP. Compte non tenu des pertes au cours des manipulations successives, cela correspondrait à une teneur

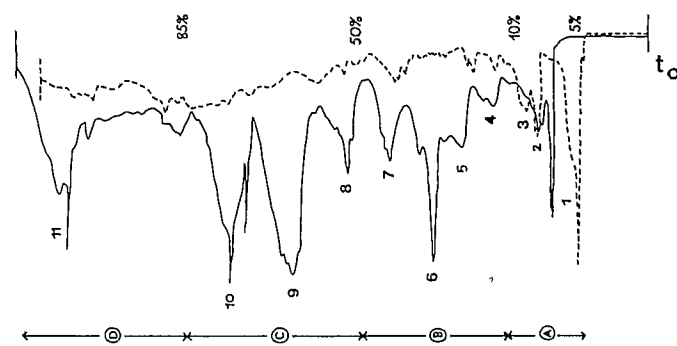


FIGURE 2. Analyse comparative (équivalent 1 g de tissus frais) en CLHP de la composition d'extraits méthanoliques de plants du cultivar Piéraline témoin (---) et inoculé par *P. parasitica* (—). Le chromatogramme est subdivisé en quatre zones d'éluion selon le pourcentage de méthanol : A, 5–10%; B, 10–50%; C, 50–85%; D, 85–99%. Conditions : colonne de silice greffée en C18, de 13 mm \times 50 cm (7 μm); gradient de méthanol de 5 à 99% dans une solution acétique à 5%; débit, 2,5 mL \cdot min $^{-1}$ \cdot t_0 , injection. Les pics numérotés de 1 à 11 correspondent aux différentes substances éluées (nos 3–10, composés phénoliques, cf. tabl. 2; nos 11, esters méthyliques d'acides gras polyéniques et leurs dérivés oxygénés).

moyenne dans les tissus de 60 μg par gramme de tissus frais. La concentration réelle aux points d'infection est vraisemblablement plus importante.

Composés phénoliques

Leurs teneurs augmentent principalement au niveau du collet et des racines, dans les zones de pénétration des agents pathogènes. Les différentes techniques de séparation mises en oeuvre n'évitent pas la dégradation, notamment des acides caféique et férulique ainsi que de leurs dérivés.

Les réactions de défense dans les tissus où sont bloqués les hyphes des parasites correspondent à une nette accumulation d'acides cinnamiques et de leurs dérivés et, dans une moindre mesure, de substances de la série benzoïque (fig. 1). Les dosages indiquent les importances relatives des stimulations de synthèses (tabl. 1).

Les études chromatographiques et les analyses en CG-SM sont en accord avec ces observations. Le tableau 2 résume les caractères chromatographiques des principales substances inhibitrices obtenues par diffusion hors des tissus. Nous ne mentionnons pas les glycosides et les esters d'acides cinnamiques qui ont fait l'objet d'études antérieures (El Khatib *et al.* 1974).

Les analyses en CLHP sur colonne de silice greffée en C18, avec pour éluant un gradient de méthanol, indiquent sans ambiguïté que les réactions de défense correspondent à d'importantes accumulations de quatre groupes de substances phénoliques dont les teneurs sont fréquemment décuplées (fig. 2, pics 7 à 10).

Dérivés oxygénés d'acides gras

Des fractions toxiques en CCM pour *C. cladosporioides* et en lames à concavité pour *P. parasitica* et *V. albo-atrum*, obtenues dans toutes les confrontations hôte-parasite, s'avèrent contenir presque exclusivement des substances lipidiques. Les substances inhibitrices correspondent à des dérivés d'esters méthyliques d'acides gras en C18 insaturés, principalement des diénols (hydroxy-9 octadécadiène-10,12 et hydroxy-13 octadécadiène-9,11 oate de méthyle). Nous avons vérifié qu'il n'existe pas de formes estérifiées sur les parois.

TABLEAU 2. Modalité d'élution de composés phénoliques en CLHP et migrations en CCM

Composé phénolique	R_f en CCM			% de méthanol en CLHP		
	Hx-Ae-MeOH	Hx-Ae-MeOH	Clf-MeOH	Sortie	Pic	Fin d'élution
	(50 : 50 : 5)	(50 : 80 : 12)	(85 : 15)			
Acide trihydroxybenzoïque	0	0,23	0,17	53	55 et 57	65
Acide chlorogénique	0	0,18	0,39	57	59	62
Acide dihydroxybenzoïque	0,25	0,50	0,34	60	64	75
Acide caféique	0,20	0,44	0,35	65	67	75
Vanilline	0,76	0,80	0,90	65	65 et 67	70
Diméthoxybenzaldéhyde	0,80	0,90	0,95	67	71	79
Acide <i>p</i> -courmarique	0,44	0,62	0,57	70	74 et 75	80
Acide férulique	0,41	0,59	0,52	73	75 et 77	85

NOTA : La CLHP a été réalisée sur colonne de silice greffée en C18 (ODS C18), de 13 mm × 50 cm, dans un gradient de méthanol et de solution acétique à 5%.

TABLEAU 3. Résumé des analyses en CLHP des accumulations relatives de diénols et de sesquiterpènes selon le cultivar et le parasite confrontés

Motif	Zones								
	A			B			C D		
	Pic 1	Pic 2	Pic 3	Pic 4	Pic 5	Pic 6	Pic 7	Pic 8	Pic 9
'Piéraline' témoin	+	tr	tr	tr	+	+	+	tr	tr
'Piéraline' - <i>P. parasitica</i>	+	++	+	++	++	++	++	+++	tr
'Piéraline' - <i>V. albo-atrum</i>	+	+	+	+	++	tr	tr	tr	++
'Piéralbo' témoin	+	+	tr	tr	+	+	+	tr	tr
'Piéralbo' - <i>P. parasitica</i>	+	++	+	++	++	+	+++	+++	tr
'Piéralbo' - <i>V. albo-atrum</i>	+	++	+	++	++	tr	tr	tr	+++

NOTA : La CLHP a été réalisée sur colonne de silice de 10 mm × 30 cm (5 μ m), avec gradient d'hexane et d'un mélange Ae-MeOH (10 : 1); la détection UV a été effectuée à 280 nm. tr, traces; +, ++ et +++, intensité croissante des pics.

Ces produits sont difficilement séparables des lipides constitutifs. Nous avons obtenu de bons résultats en procédant à des entraînements à la vapeur d'eau à partir d'extraits chloroformiques. Les purifications sont ensuite améliorées en CLHP sur colonne de silice imprégnée de 10% de NO_3Ag , avec élution par différents mélanges de toluène et d'acétate d'éthyle. Nous indiquons en (tableau 3) les conditions d'élution en CLHP sur une colonne de silice et les modulations des réactions de défense.

En CCM dans le système Hx-Ae (2 : 1), les diénols correspondent à deux bandes de R_f (0,65 et 0,67) colorées en bistre par le trichlorure d'antimoine à chaud. Avec pour éluant le mélange Hx-Ae-MeOH (50 : 50 : 5), nous observons des plages de toxicité au $R_f = 0,90$ pour *C. cladosporioides* avec les diénols et au même R_f pour l'ester méthylique de l'acide linoléique.

Les caractéristiques structurales et les propriétés biologiques des diénols naturels ont été confirmées à l'aide de produits similaires obtenus par synthèse, soit par oxydation chimique du linoléate de méthyle, soit par oxydation enzymatique de l'acide linoléique suivie d'une estérification.

Les produits de synthèse et les substances naturelles présentent les mêmes propriétés physico-chimiques : temps de rétention en CG, spectres de masse en impact électronique et en ionisation chimique (NH_3 ou NO) (fig. 3). Leur caractérisation chimique est établie après étude des produits de réduction par hydrogénation catalytique ($M = 314$, esters méthyliques des acides hydroxy-9 octadécanoïque et hydroxy-13 octadécanoïque), obtention d'une structure triénique après traitement par le chlorure d'acétyle et ozonolyse suivant deux conditions

(méthanol à température ambiante et dichlorométhane à -70°C) (fig. 4).

Modulation des réactions aux infections expérimentales

Parmi les techniques chromatographiques utilisées, l'analyse des extraits de tissus par CLHP avec gradients d'élution sur colonne de silice (éluants organiques) ou sur colonne de silice greffée en C18 (éluants aqueux, cf. fig. 2) reflète, en première approximation, les différences des réactions de défense des deux cultivars à *P. parasitica* et à *V. albo-atrum*. Les modalités d'élution sur colonne de silice des sesquiterpènes, des diénols et d'une partie des composés phénoliques sont indiquées dans le tableau 3.

L'accumulation de quatre groupes de sesquiterpènes décelée dans les pics 2 et 3 ($M : 222, 232, 236$ et 246) correspond à l'inoculation des deux agents pathogènes aux deux cultivars. Des esters méthyliques des acides linoléique et linoléique sont accumulés dans les deux cas (pic 3); les diénols sont élués dans les pics 4 et 5. Il s'accumule davantage d'esters méthyliques dans le couple 'Piéralbo' - *P. parasitica* que dans le couple 'Piéraline' - *P. parasitica*. Les pics 6 à 9 des zones B, C et D correspondent à l'élution de diméthoxybenzaldéhyde et d'acides cinnamiques libres.

Le tableau 4 indique les différences de réactions au parasitisme analysées en CLHP sur colonne de silice greffée en C18.

Les extraits bruts des deux cultivars possédant l'allèle *Ve* de résistance présentent les mêmes caractéristiques après l'inoculation par *V. albo-atrum*. Par contre, nous observons de nettes différences entre les deux cultivars après infection par

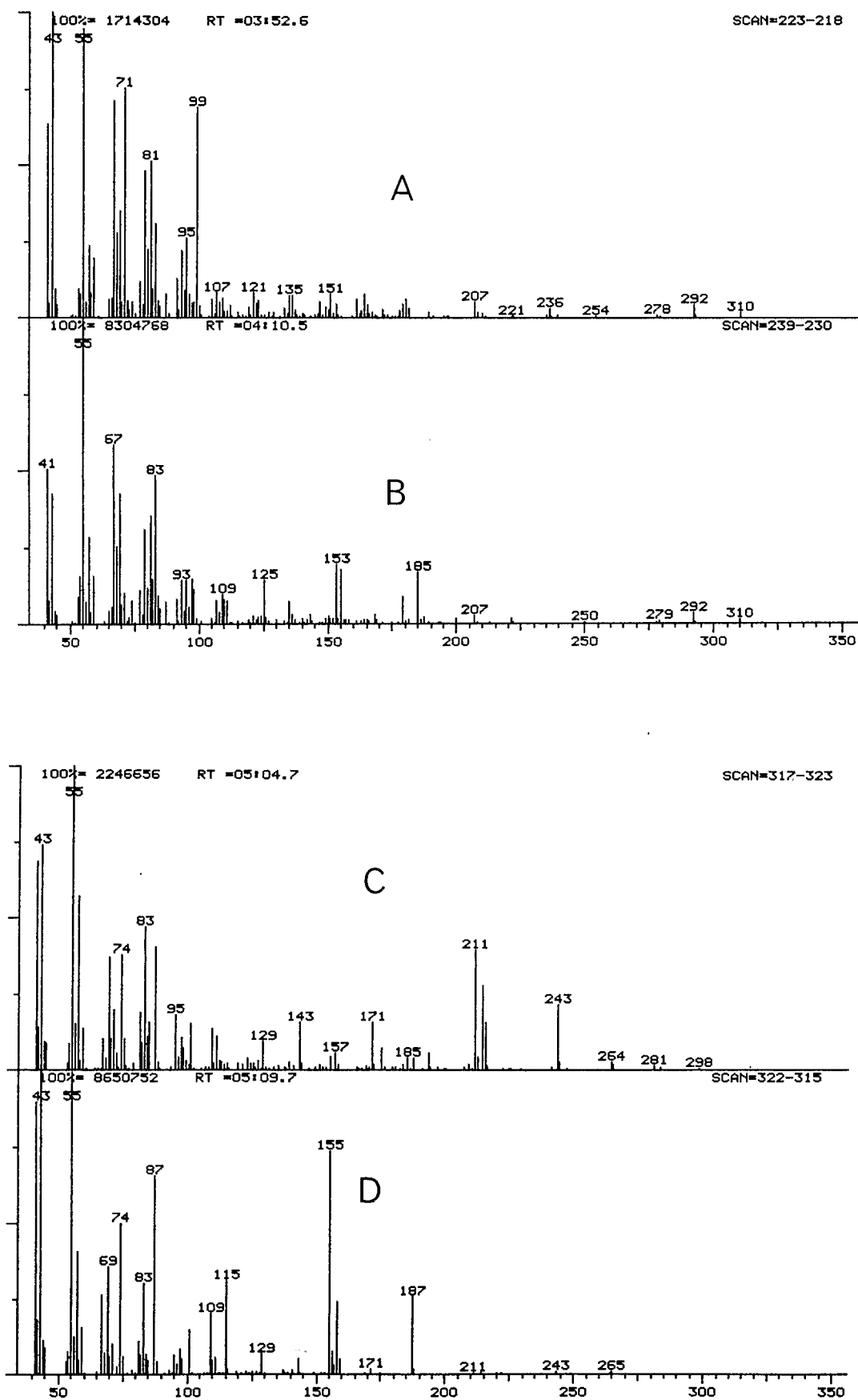


FIGURE 3. Spectres de masse des diénols naturels avant (A, B) et après (C, D) hydrogénation catalytique en impact électronique (70 eV) : A, hydroxy-13 octadécadiène-9,11 oate de méthyle; B, hydroxy-9 octadécadiène-10,12 oate de méthyle; C, hydroxy-13 octadécanoate de méthyle; D, hydroxy-9 octadécanoate de méthyle.

TABLEAU 4. Résumé des analyses en CLHP des accumulations relatives de composés phénoliques selon le cultivar et le parasite confrontés

Motif	Zones										
	A			B				C			D
	Pic 1	Pic 2	Pic 3	Pic 4	Pic 5	Pic 6	Pic 7	Pic 8	Pic 9	Pic 10	Pic 11
'Piéraline' témoin	+	+	+	+	+	tr	+	tr	tr	tr	tr
'Piéraline' - <i>P. parasitica</i>	+	+	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++
'Piéraline' - <i>V. albo-atrum</i>	+	+	+	+	++	++	+	+++	+++	+++	++
'Piéralbo' témoin	+	+	+	+	+	+	++	tr	tr	tr	tr
'Piéralbo' - <i>P. parasitica</i>	+	+	+	+	++	+	++	+	+	+	+++
'Piéralbo' - <i>V. albo-atrum</i>	+	+	+	+	++	++	+	+++	+++	+++	++

NOTA : La CLHP a été réalisée sur colonne de silice greffée en C18, de 13 mm × 50 cm (7 µm), avec gradient de 5 à 99% de méthanol dans une solution acétique à 5%; la détection UV a été effectuée à 250 nm. tr, traces; +, ++ et +++, intensité croissante des pics.

P. parasitica. Les teneurs en substances constitutives de la zone A ne sont pas modifiées (sauf celles de la tomatine non décelée à 250 nm). En revanche, dans les zones B et C correspondant aux composés phénoliques, des réactions différentielles sont décelées. Ainsi, la synthèse des substances correspondant aux pics 4 et 5, peu stimulée dans la confrontation 'Piéraline' - *P. parasitica*, est 5 fois plus importante dans le couple 'Piéralbo' - *P. parasitica*. Le phénomène inverse est observé pour les pics 6 et 7. La réaction du cultivar Piéraline est environ 10 fois plus importante que celle de 'Piéralbo' dans la zone C (pics 8 à 10). La zone D correspond à l'élué des esters méthyliques des acides gras insaturés et de leurs dérivés oxygénés. Les écarts par rapport au témoin confirment les analyses sur colonne de silice.

Toxicité in vitro

Sesquiterpènes

L'intensité relative des pics obtenus en CG-SM permet d'évaluer le pourcentage de sesquiterpènes contenu dans les fractions analysées. Dans ces conditions, nous estimons que la DL₉₀ (dose létale pour 90% des individus) de ces produits est de l'ordre de 50 µg · mL⁻¹ pour *C. cladosporioides* sur CCM. Les principaux sesquiterpènes inhibent ce champignon aux R_f 0,35; 0,46; 0,60-0,68; 0,75, avec pour éluant le mélange Hx-Ae-MeOH (50 : 50 : 5). Deux sesquiterpènes de nature plus polaire provoquent une inhibition aux R_f 0,65 et 0,76 avec le mélange Hx-Ae-MeOH (50 : 80 : 12). Les faibles quantités de substances complètement purifiées n'ont pas permis d'étudier leur toxicité en lames à concavité pour *P. parasitica*.

Dérivés oxygénés d'acides gras polyinsaturés

Les modalités d'inhibition de *P. parasitica* par les produits naturels ou de synthèse sont identiques. Après 3,5; 7 et 24 h d'incubation, les inhibitions de croissance du champignon sont respectivement de 50, 70 et 90% pour 50 µg · mL⁻¹ de diénols. Les substances, même aux plus faibles concentrations, empêchent l'émission d'hyphes à partir des implants : à 50 µg · mL⁻¹, la densité du thalle n'atteint pas le dixième de celle du témoin.

Des essais à différents pH montre que ce dernier n'influe pas sur la toxicité de ces produits pour *P. parasitica*, c'est pourquoi les inhibitions sont réalisées à pH 6,2. Par contre, les études de synergie avec la tomatine ou son aglycone sont effectuées à pH 5,2, ces composés se révélant toxiques seulement en milieu acide.

La figure 5 indique les modalités de l'inhibition en fonction de la concentration en diénols et du temps d'incubation. Aux concentrations de 50 et 75 µg · mL⁻¹, la croissance démarre

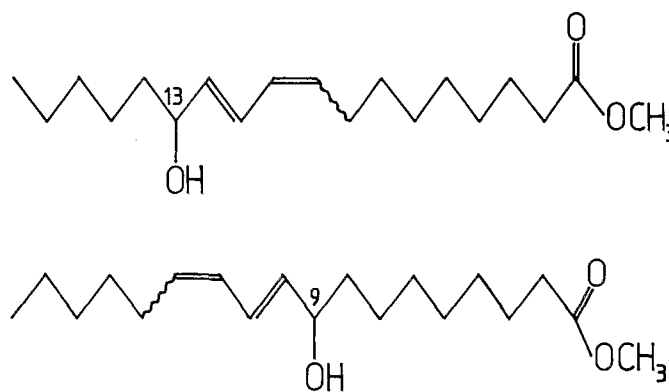


FIGURE 4. Structures des deux diénols extraits de la tomate.

sans délai. Dès le seuil de 100 µg · mL⁻¹, une phase de latence apparaît. Au bout de 24 h, la croissance est totalement bloquée dans tous les motifs.

La reproduction asexuée est également très perturbée. En effet, dès la concentration de 50 µg · mL⁻¹, la germination des sporocystes est de l'ordre de 10% par rapport au témoin. Par contre, l'aspect du cytoplasme des chlamydozoïdes n'évolue pas au cours de l'incubation, ce qui laisse présumer une faible perméabilité de leur paroi aux inhibiteurs. Pour le vérifier, après des incubations de 1 à 6 jours, les microcultures sont transférées en tubes sur milieu nutritif gélosé. Seuls les implants pourvus de chlamydozoïdes parviennent à engendrer un nouveau thalle dont la croissance reste cependant faible et intramatricielle.

Phénols et alcaloïdes

Des études antérieures indiquent la toxicité des composés phénoliques de la tomate (Ravisé et Trique 1972a; Vo Thi Hai et al. 1979) où de la tomatine et de son aglycone (Arneson et Durbin 1967; Roddick 1974, 1976); nous avons seulement vérifié ici leur toxicité à la concentration de 100 µg · mL⁻¹ (fig. 6). Les composés phénoliques les plus toxiques sont l'acide dihydroxy-3,4 benzoïque, les acides *p*-coumarique, caféique férulique. La tomatine n'est inhibitrice qu'à pH acide; dans les mêmes conditions, l'aglycone est moins actif.

Synergie

L'ingénierie inhibitrice du diénol de synthèse à 50 µg · mL⁻¹ est complémentaire de celle des substances phénoliques et des alcaloïdes à 100 µg · mL⁻¹ (fig. 6). Les synergies les plus importantes sont obtenues avec les deux aldéhydes benzoïques et les acides caféique et férulique. La phase de latence de

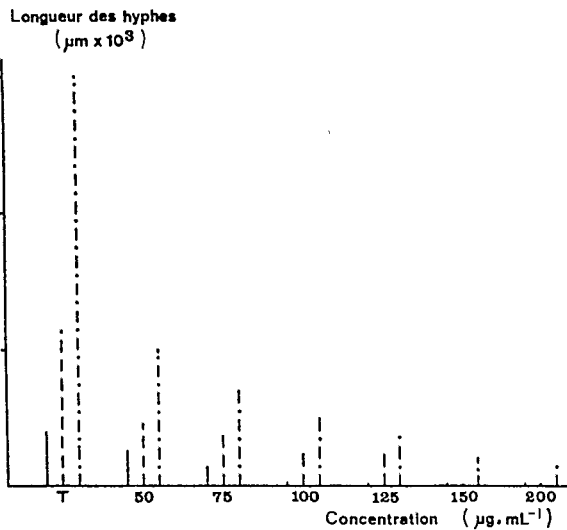


FIGURE 5. Croissance des hyphes de *P. parasitica* *in vitro* en fonction de la concentration en diénols de synthèse, après 3,5 (—), 7 (---), et 24 h (·-·-·) d'incubation.

reprise de croissance varie de 3,5 h à plus de 7 h selon les associations. Dans tous les cas, la croissance est bloquée en moins de 24 h. L'association entre le diénoel et la tomatine ou la tomatidine abaisse le seuil de toxicité de 25 à 35%.

Symptômes d'inhibition (fig. 7)

Après 7 h d'incubation, la microculture témoin de *P. parasitica* en lame à concavité présente des hyphes longs, flexueux et peu ramifiés (fig. 7A).

En présence de $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de diénols, les premiers symptômes d'inhibition apparaissent en moins de 3 h d'incubation, vers l'apex des hyphes en croissance. Au bout de 7 h de contact (fig. 7B), la paroi des apex s'épaissit et devient réfringente. De fausses cloisons limitent des segments d'hyphes et un début de granulation cytoplasmique apparaît.

Après 24 h d'incubation (fig. 7C), les hyphes en élongation deviennent toruleux et ramifiés en arbuscules coralloïdes. La granulation du cytoplasme évolue en dégénérescence lipidique et aboutit à l'autolyse. De même, le contenu des sporocystes, malgré un épaississement de la paroi, dégénère dans un délai de 24 à 36 h. L'association d'alcool diénique avec des composés phénoliques (dérivés des acides benzoïque et cinnamique) ou avec la tomatine engendre une dégénérescence cytoplasmique plus intense et plus rapide. L'autolyse apparaît en moins de 24 h.

Discussion et conclusion

Les réactions de défense de la tomate, analysées dans quatre combinaisons hôte-parasite, correspondent à une stimulation de plusieurs voies biosynthétiques, tel qu'observé chez d'autres plantes cultivées (Stoessl 1983).

Dans nos essais, ces réactions sont modulées selon l'agent pathogène inoculé; des résultats similaires sont décrits pour d'autres cultivars de tomate dans l'interaction avec *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Verticillium dahliae* (Hutson et Smith 1983).

Si plusieurs sesquiterpènes analysés en SM (isomères de la lubimine, dérivé de la solavétivone) présentent des analogies avec ceux décrits dans les réactions de défense des Solanacées (Stoessl *et al.* 1976), par contre, nous n'avons pas décelé de rishitine qui a été observée dans d'autres infections de la

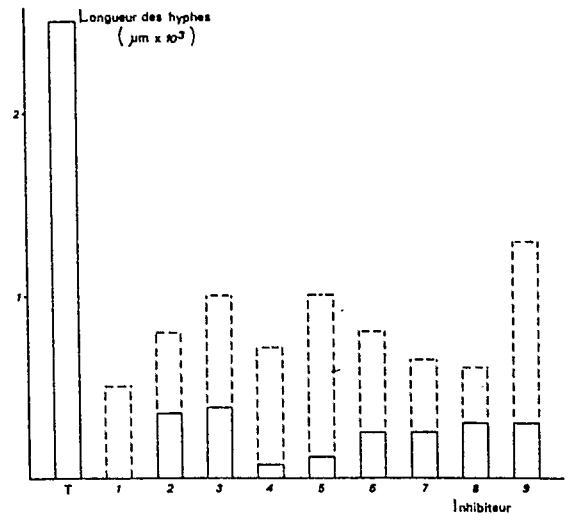


FIGURE 6. Inhibition de la croissance des hyphes de *P. parasitica* *in vitro* selon les effecteurs. T, témoin; 1, diénoel de synthèse à $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; --- (2-9), $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de composés phénoliques, soit acide dihydroxy-3,4 benzoïque (2), acide trihydroxy-3,4,5 benzoïque (3), vanilline (4), diméthoxy-3,4 benzaldéhyde (5), acide caféique (6), acide férulique (7), acide *p*-coumarique (8) ou acide chlorogénique (9); —, association de $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de diénoel et $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de composé phénolique.

tomate (Tjamos et Smith 1975; Elgersma 1980).

Étudiée en CCM pour *C. cladosporioides*, la toxicité *in vitro* des sesquiterpènes que nous avons isolés de la tomate paraît moindre que celle des sesquiterpènes élaborés par le tabac en réaction à *Peronospora tabaci* et à *Pseudomonas lachrymans* (Guedes *et al.* 1982).

La réaction physiologique la plus importante semble correspondre à la stimulation de synthèse des phénylpropanoïdes. Ces résultats corroborent ceux d'études de réaction à la fusariose (Matta *et al.* 1969; Danko et Corden 1981), aux *Phytophthora* spp. (Trique 1981) et à *Botrytis cinerea* (Glazener 1982). Nous observons une importante accumulation d'acides cinnamiques, principalement d'acide férulique également toxique pour les parasites du tabac (Ravisé et Tanguy 1973; Kuć 1983) et du concombre (Hammerschmidt 1980; Hammerschmidt et Kuć 1982).

Les diénols dérivés du linoléate de méthyle constituent la fraction la plus importante des substances toxiques d'origine lipidique. Cependant, d'autres dérivés oxygénés d'acides polyéniques (en cours d'étude) contribuent aux réactions de défense de la tomate contre *P. parasitica* et *V. albo-atrum* (Vernenghi 1985; Vernenghi *et al.* 1985). Chez le riz, des monoépoxydes de l'acide linoléique sont estérifiés aux parois des cellules; ils inhibent *in vitro* *Pyricularia oryzae* (Kato *et al.* 1983). Le linoléate de méthyle et ses produits d'oxydation sont également toxiques pour ce parasite (Shimura *et al.* 1981) et pour *P. parasitica* (Vernenghi 1985). Nous présumons que, chez la tomate, ces substances correspondent aux sécrétions lipidiques toxiques observées en microscopie électronique dans les réactions du feuillage à *Cladosporium fulvum* (Lazarovits et Higgins 1976a, 1976b) ou, après traitement par le phostétyl d'aluminium, à *P. capsici* (Durand et Sallé 1981).

Des effets de synergie sont observés entre les phytoalexines élaborées chez plusieurs plantes, en particulier, chez le haricot infecté par *Botrytis cinerea* ou *Colletotrichum lindemuthianum* (Garcia-Arenal *et al.* 1978; Bailey *et al.* 1980; Fraile *et al.*

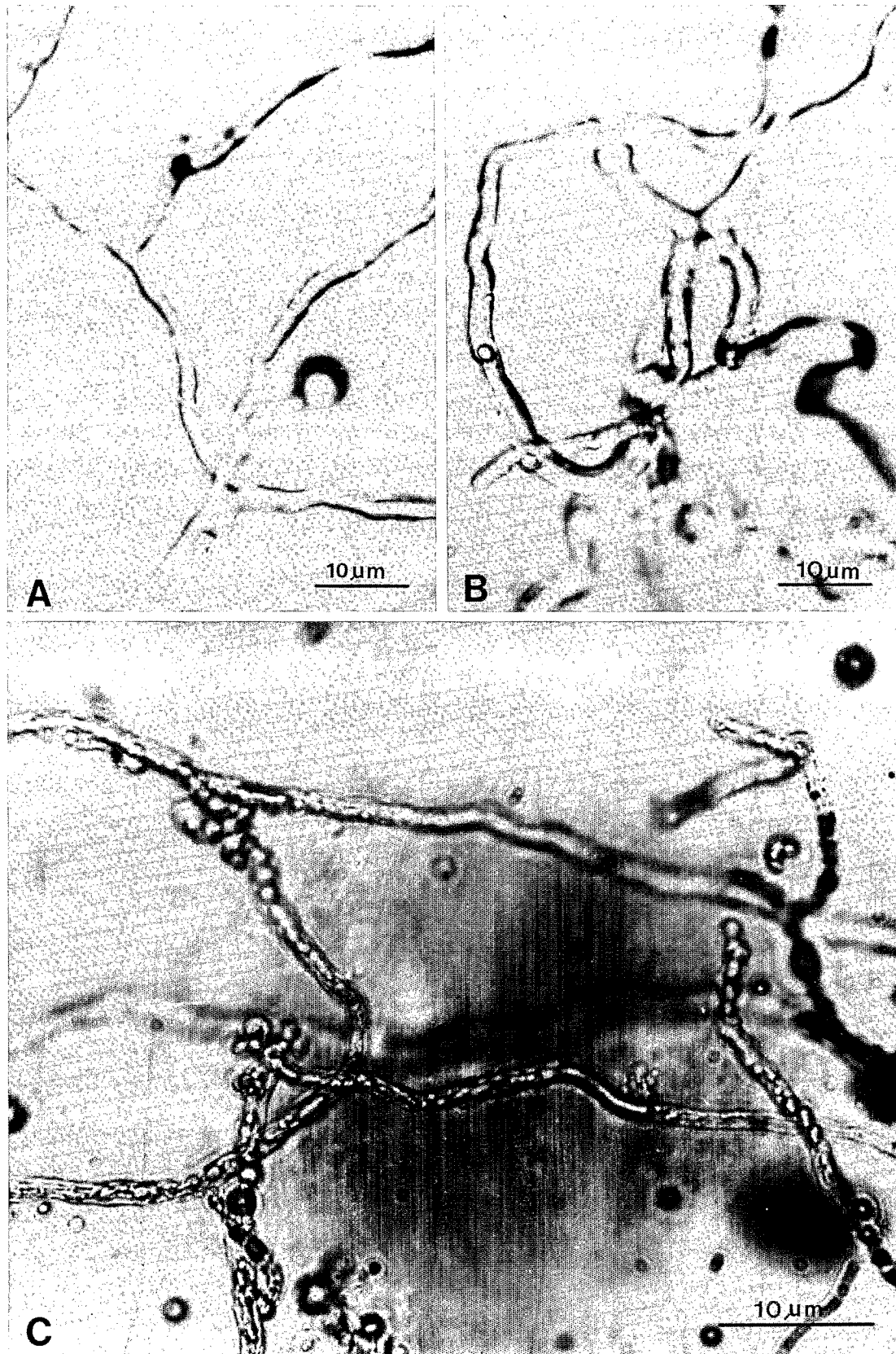


FIGURE 7(A). Aspect d'une microculture témoin de *P. parasitica* en lame à concavité, après 7 h d'incubation à 28°C. (B). Aspect d'une microculture dans les mêmes conditions, en présence de 50 μg · mL⁻¹ de diénoyl de synthèse. (C). Conditions expérimentales identiques à celles de la figure 7B, après 24 h d'incubation.

1982). *In vitro*, la toxicité des diénols de la tomate est accrue par leur association avec des inhibiteurs phénoliques et stéroïques, vraisemblablement à cause de la complémentarité des cibles chez le parasite.

Les phénylpropanoïdes perturbent la glycolyse (Krebs *et al.* 1983), la phosphorylation oxydative (Benz et Mc Laughlin 1983), la synthèse et l'activité d'enzymes lytiques (Ravisé et Kirkiacharian 1976; Ravisé et Chopin 1981). La tomatine et son aglycone agissent sur les mitochondries et les lysosomes au niveau de l'activité phosphatase acide (Roddick 1978). Nous présumons que la fonction diénol puisse agir, comme la fonction époxyde, sur les phospholipides de la membrane en modifiant le degré d'insaturation donc la fluidité et la perméabilité (De Gier *et al.* 1982). Nos observations, réalisées après l'élaboration des différentes barrières biochimiques contre *P. parasitica* ou *V. albo-atrum*, ne rendent pas compte de la dynamique de la réaction de l'hôte. Nous avons établi une première analyse de l'inhibition, dans les tissus de l'hôte, de la croissance de souches de *P. palmivora* ou de *P. parasitica* et de l'activité de leurs enzymes pectinolytiques (Ravisé et Trique 1972b). Cette étude des réactions de l'hôte sera affinée dans la mesure où nous parviendrons à observer les séquences d'inhibition des deux parasites selon les étapes de synthèse des facteurs de résistance et à préciser les limites d'efficacité des barrières suivant la pression d'inoculum et les facteurs du milieu.

Remerciements

Les auteurs remercient Madame Sylvaine Chuilon (Laboratoire des médiateurs chimiques) et Monsieur R. Pelletier (Office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer) de leur contribution technique.

- ARNESON, P. A., et R. D. DURBIN. 1967. Hydrolysis of tomatine by *Septoria lycopersici*: a detoxification mechanism. *Phytopathology*, **57**: 1358–1360.
- BAILEY, J. A., P. M. ROWELL et G. M. ARNOLD. 1980. The temporal relationship between host cell death, phytoalexin accumulation, and fungal inhibition during hypersensitive reactions of *Phaseolus vulgaris* to *Colletotrichum lindemuthianum*. *Physiol. Plant Pathol.* **17**: 329–339.
- BENZ, R., et S. MC LAUGHLIN. 1983. The molecular mechanism of action of the proton ionophore FCCP (carbonylcyanide *p*-trifluoromethoxyphenylhydrazon). *Biophys. J.* **41**: 381–398.
- BOISSON, C., et H. LAHLOU. 1981. Polymorphisme intraclonal des souches marocaines du *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, forme à microsclérotés. *C.R. Seances Acad. Sci. Ser. D*, **290**: 915–918.
- CARRASCO, A., A. M. BOUDET et G. MARIGO. 1978. Enhanced resistance of tomato plants to *Fusarium* by controlled stimulation of their natural phenolic production. *Physiol. Plant Pathol.* **12**: 225–232.
- DANKO, S. J., et M. E. CORDEN. 1981. Partial purification of fungitoxic substances from tomato plants inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, **71**: 104.
- DARVILL, G., et P. ALBERSHEIM. 1984. Phytoalexins and their elicitors. A defense against microbial infection in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**: 243–275.
- DE GIER, J., C. J. A. VAN ECHTELD, A. T. M. VAN DER STEEN, F. C. NOORDAM, A. J. VERKLEIJ et B. DE KRULJFF. 1982. Lipid organization and barrier functions of membranes. *Dans Biochemistry and metabolism of plant lipids. Éditeurs*: J. F. G. M. Wintermans et P. C. J. Kuifer. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam. pp. 315–325.
- DE WIT, P. J. M., et E. KODDE 1981. Induction of polyacetylenic phytoalexins in *Lycopersicon esculentum* after inoculation with *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*). *Physiol. Plant Pathol.* **18**: 143–148.
- DURAND, M. C., et G. SALLÉ. 1981. Effet du tris-O-éthyl phosphonate d'aluminium sur le couple *Lycopersicon esculentum* Mill. (var. Piéraline) – *Phytophthora capsici* Léon — Étude cytologique et cytochimique. *Agronomie (Paris)*, **1**: 723–732.
- ELGERSMA, D. M. 1980. Accumulation of rishitin in susceptible and resistant tomato plants after inoculation with *Verticillium albo-atrum*. *Physiol. Plant Pathol.* **16**: 149–153.
- EL KHATIB, A., A. ARAMOUNI, A. HASSAN et A. RAVISÉ. 1974. Accumulation de composés phénoliques et de phytoalexines par des variétés de tomate cultivées sur des sols infectés au Liban. *Phytopathol. Z.* **81**: 23–37.
- FRAILE, A., F. GARCIA-ARENAL, J. J. GARCIA-SERRANO et E. M. SAGASTA. 1982. Toxicity of phaseolin, phaseolinisoflavan and kievitone to *Botrytis cinerea*. *Phytopathol. Z.* **105**: 161–169.
- GARCIA-ARENAL, F., A. FRAILE et E. M. SAGASTA. 1978. The multiple phytoalexin response of bean (*Phaseolus vulgaris*) to infection by *Botrytis cinerea*. *Physiol. Plant Pathol.* **13**: 151–156.
- GLAZENER, J. A. 1982. Accumulation of phenolic compounds in cells and formation of lignin-like polymers in cell walls of young tomato fruits after inoculation with *Botrytis cinerea*. *Physiol. Plant Pathol.* **20**: 11–25.
- GUEDES, M. E. M., J. KUĆ, R. HAMMERSCHMIDT et R. BOSTOCK. 1982. Accumulation of 6 sesquiterpenoid phytoalexins in tobacco leaves infiltrated with *Pseudomonas lachrymans*. *Phytochemistry*, **21**: 2987–2988.
- HAMMERSCHLAG, F., et M. E. MACE. 1975. Antifungal activity of extracts from *Fusarium* wilt—susceptible and resistant tomato plants. *Phytopathology*, **65**: 93–94.
- HAMMERSCHMIDT, R. 1980. Lignification and related phenolic metabolism in the induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium* and *Cladosporium cucumerinum*. Thèse de doctorat, University of Kentucky, Lexington.
- HAMMERSCHMIDT, R., et J. KUĆ. 1982. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. *Physiol. Plant Pathol.* **20**: 61–71.
- HUTSON, R. A., et I. M. SMITH. 1983. The response of tomato seedling roots to infection by *Verticillium albo-atrum* or *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Ann. Appl. Biol.* **102**: 89–97.
- KATO, T., Y. YAMAGUCHI, T. UYCHARA, T. YOKOYAMA, T. NAMAI et S. YAMANAKA. 1983. Self-defensive substances in rice plant against rice-blast disease. *Tetrahedron Lett.* **24**: 4715–4718.
- KREBS, H. A., D. WIGGINS, M. STUBB, A. SOLS et F. BEDOYA. 1983. Studies on the mechanism of the antifungal action of benzoate. *Biochem. J.* **214**: 657–663.
- KUĆ, J. 1983. Induced systemic resistance in plants to diseases caused by fungi and bacteria. *Dans The dynamics of host defence. Éditeurs*: J. A. Bailey et B. J. Deverall. Academic Press, London.
- KUĆ, J., W. W. CURRIER et M. J. SHIH. 1976. Terpenoid phytoalexins. *Dans Biochemical aspects of plant-parasite relationship. Éditeurs*: J. Friend et D. R. Threlfall. Academic Press, London. pp. 225–237.
- LANGCAKE, P., R. B. DRYSDALE et H. SMITH. 1972. Postinfectious production of an inhibitor of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by tomato plants. *Physiol. Plant Pathol.* **2**: 17–25.
- LAZAROVITS, G., et V. D. HIGGINS. 1976a. Histological comparison of *Cladosporium fulvum* race 1 on immune, resistant, and susceptible tomato varieties. *Can. J. Bot.* **54**: 224–234.
- 1976b. Ultrastructure of susceptible, resistant, and immune reactions of tomato to races of *Cladosporium fulvum*. *Can. J. Bot.* **54**: 235–249.
- MATTA, A., I. GENTILE et I. GIAI. 1969. Accumulation of phenols in tomato plants infected by different forms of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, **59**: 512–513.
- MOEDE, J. 1983. Wasserdampffüchtige Stoffwechselprodukte aus Kartoffelpflanzen mit antimykotischer Wirkung. *Naturwissenschaften*, **70**: 258–259.

- RAVISÉ, A. 1972. Observations sur la nutrition de souches de *Phytophthora* de Bary parasites de cultures tropicales. *Agron. Trop. (Paris)*, **27** : 309–320.
- RAVISÉ, A., et J. CHOPIN. 1981. Influence de la structure de composés phénoliques sur l'inhibition du *Phytophthora parasitica* et d'enzymes participant aux processus parasitaires. V. Flavones, O- et C-glycosides. *Phytopathol. Z.* **100** : 257–269.
- RAVISÉ, A., et B. S. KIRKIACHARIAN. 1976. Influence de la structure de composés phénoliques sur l'inhibition du *Phytophthora parasitica* et d'enzymes participant aux processus parasitaires. I. Isoflavonoïdes et coumestanes. *Phytopathol. Z.* **85** : 74–85.
- RAVISÉ, A., et J. TANGUY. 1971. Relations entre les constituants phénoliques de divers *Lycopersicum* Mill. et leur résistance à plusieurs espèces de *Phytophthora* de Bary. *C. R. Seances Acad. Sci., Ser. D*, **272** : 1252–1255.
- 1973. Étude des réactions phénoliques de plantules de *Nicotiana* inoculées par des souches de *Phytophthora* de Bary. *Phytopathol. Z.* **76** : 253–264.
- RAVISÉ, A., et B. TRIQUE. 1972a. Réactions phénoliques et production de phytoalexine chez des plantules de *Lycopersicum* Mill. infectées par des souches de *Phytophthora* de Bary. *C.R. Seances Acad. Sci. Ser. D*, **274** : 1505–1508.
- 1972b. Détermination des enzymes pectinolytiques de deux souches de *Phytophthora* de Bary. Variations d'activité dans les tissus des plantules de tomate en relation avec les génomes de résistance. *Agron. Trop. (Paris)*, **27** : 751–762.
- RETIG, N., et I. CHET. 1974. Catechol-induced resistance of tomato plants to *Fusarium* wilt. *Physiol. Plant Pathol.* **4** : 469–475.
- RIBÉREAU-GAYON, P. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- RODDICK, J. G. 1974. The steroidal glycoalkaloid tomatine. *Phytochemistry*, **13** : 9–25.
- 1976. Intracellular distribution of the steroidal glycoalkaloid α -tomatine in *Lycopersicon esculentum* fruit. *Phytochemistry*, **15** : 475–477.
- 1978. Effect of α -tomatine on the integrity and biochemical activities of isolated plant cell organelles. *J. Exp. Bot.* **29** : 1371–1381.
- SHIMURA, M., M. IWATA, N. TASHIRO, Y. SEKIZAWA, Y. SUZARKI, S. MASE et T. WATANABE. 1981. Anticonidial germination factors induced in the presence of probenazole in infected host leaves. I. Isolation and properties of 4 actives substances. *Agric. Biol. Chem.* **45** : 1431–1435.
- SMITH, I. M., A. RAVISÉ et G. BOMPEIX. 1984. Resistance induced in higher plants by fungi and microorganisms. Communication au 4^e congrès de la Federation of European Societies of Plant Physiology. Strasbourg, 29 juillet au 3 août 1984.
- STOESSL, A. 1983. Secondary plant metabolites in preinfectious and postinfectious resistance in the dynamics of host defense. Éditeurs : J. A. Bailey et B. J. Deverall. Academic Press, London.
- STOESSL, A., J. G. STOTHERS et E. W. B. WARD. 1976. Sesquiterpenoid stress compounds of the Solanaceae. *Phytochemistry*, **15** : 835–872.
- TJAMOS, E. C., et I. M. SMITH. 1975. The expression of resistance to *Verticillium albo-atrum* in monogenically resistant tomato varieties. *Physiol. Plant Pathol.* **6** : 215–225.
- TRIQUE, B. 1981. Interactions métaboliques précoces dans quelques relations parasitaires *Lycopersicon-Phytophthora*. Thèse de doctorat ès sciences, Université de Brest, Brest.
- VERNENGI, A. 1985. Réactions de défense du *Lycopersicum esculentum* Mill. à des infections cryptogamiques : mise en évidence de phytoalexines et de leurs propriétés inhibitrices. Thèse de doctorat de 3^e cycle, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI.
- VERNENGI, A., J. EINHORN, G. KUNESCH, C. MALOSSE, F. RAMIANDRASOA et A. RAVISÉ. 1985. Propriétés inhibitrices *in vitro* de dérivés oxygénés d'acides gras polyinsaturés chez le *Lycopersicum esculentum* Mill. en réaction à l'infection par le *Phytophthora parasitica* Dast. *C.R. Seances Acad. Sci. Ser. III*, **301** : 743–748.
- VO THI HAI, B. BOMPEIX et A. RAVISÉ. 1979. Rôle du tris-O-éthyl phosphonate d'aluminium dans la stimulation des réactions de défense des tissus de tomate contre le *Phytophthora capsici*. *C.R. Seances Acad. Sci. Ser. D*, **288** : 1171–1174.



National Research
Council Canada

Conseil national
de recherches Canada

Canada

Reprinted from

Réimpression du

**Canadian
Journal of
Botany**

**Journal
canadien de
botanique**

**Phytoalexines et réactions de défense de la tomate aux
infections par *Phytophthora parasitica* et *Verticillium
albo-atrum***

ANNIE VERNENGI, J. EINHORN, G. KUNESCH, C. MALOSSE,
FLORENCE RAMIANDRASOA ET A. RAVISÉ

Volume 64 • Number 5 • 1986

Pages 973—982

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 23233 ex. 1

Cote : B 23233

Date : 87/01/29 53