

*Mission au Liban
de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer,
Faculté Française de Médecine et de Pharmacie à Beyrouth*

Influence de la structure de composés phénoliques sur l'inhibition du *Phytophthora parasitica* et d'enzymes participant aux processus parasitaires

I. Isoflavonoïdes et coumestanes

Par

A. RAVISÉ¹) et B. S. KIRKIACHARIAN

Avec 2 figures

Reçu le 10 juin 1975

De nombreuses recherches tendent à indiquer que plusieurs groupes de substances phénoliques, préexistantes dans les plantes ou dont la synthèse est induite par l'invasion des tissus, interviennent dans les relations entre hôtes et parasites (INGHAM 1973). Ces composés contribuent non seulement à l'inhibition de la croissance et à celle d'activités enzymatiques fondamentales des agents pathogènes, comme dans le cas du *Fomes annosus* (CERNY 1973, JOHANSSON et HÄGERBY 1974), mais aussi à modifier certains éléments des structures membranaires dans les tissus de l'hôte (BECKMAN, MUELLER et MACE 1974).

Des coumarines s'accumulent, en réponse à divers types d'agression, chez des plantes taxonomiquement éloignées, notamment les *Nicotiana* sp. (LOCHE 1966, TANGUY 1970, RAVISÉ et TANGUY 1973), le *Solanum tuberosum* (CLARKE 1973), les *Daucus* sp. (SARKAR et PHAN 1975), le *Rhododendron simsii* (RAUTENBERG 1973). A la suite de troubles physiologiques ou d'infections, les teneurs en flavonoïdes s'accroissent chez les *Gossypium* sp. (RAVISÉ et TRIQUE 1972 b) (BRZOWKA, HANOVER et TANGUY 1973) et chez de nombreuses légumineuses (RATHMELL et BENDALL 1971, OLAH et SHERWOOD 1971 et 1973). Dans les

¹) Avec la collaboration technique de NABIH ABOU HADIR.

feuilles de *Beta vulgaris*, deux phytoalexines — une flavanone et une isoflavone — apparaissent après la pénétration du *Cercospora beticola* (GEIGERT et al. 1973). Récemment furent démontrées les propriétés d'une phytoalexine du haricot, la kiévitone (SMITH, VAN ETTEN et BATEMAN 1973) qui est une isoflavanone.

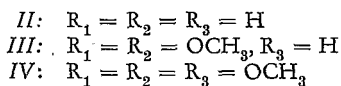
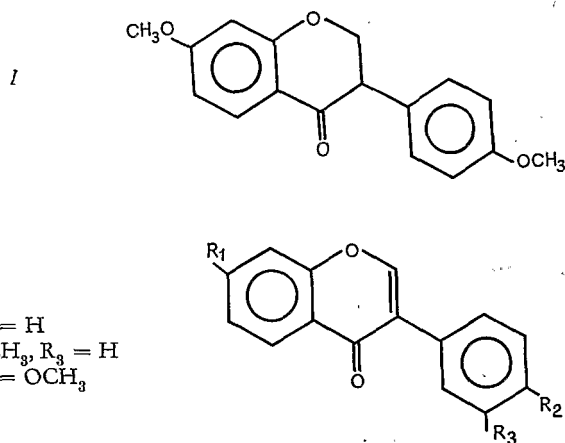
C'est pourquoi nous avons, à l'aide de coumarines, d'isoflavonoïdes et de coumestanes tenté d'étudier *in vitro* l'incidence de la structure de composés phénoliques ou de leurs éthers méthyliques sur la croissance du *Phytophthora parasitica* et sur plusieurs activités enzymatiques intervenant dans les relations hôte — parasite. Nous considérons tout d'abord l'action d'isoflavonoïdes et de coumestanes.

Matériel et techniques

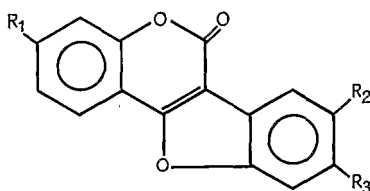
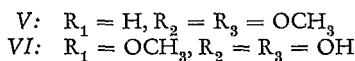
1. Les inhibiteurs

L'activité de six produits de synthèse est comparée à celle du capsidiol, sesquiterpène naturel de formule $C_{15}H_{24}O_9$, élaboré par le *Capsicum frutescens* (STOESSL, UNWIN et WARD 1972) en réponse à une infection fongique. La substance purifiée nous fut gracieusement fournie par le Docteur A. STOESSL (Agricultural Research Institute, London, Ontario — Canada).

La diméthoxy-7,4' isoflavanone — I —, l'isoflavone — II —, la diméthoxy-7,4' isoflavone — III — et la triméthoxy-7,3,4' isoflavone — IV — nécessaires à ces investigations ont été préparées par hydroboration suivie d'oxydation chromique (BROWN et GARG 1961) des coumarines et des hydroxy-4 coumarines convenablement substituées (KIRKIACHARIAN, ELIA et MAHUZIER 1974; KIRKIACHARIAN 1975; KIRKIACHARIAN et CHIDIAC 1973; KIRKIACHARIAN et CHIDIAC 1975).



En ce qui concerne les coumestanes — V et VI —, ils ont été obtenus par application de la réaction de WANZLICK (WANZLICK, GRITSKY et HEILDOPREIM 1963) à l'hydroxy-4 coumarine (Fluka) et à l'hydroxy-4 méthoxy-7 coumarine (KIRKIACHARIAN 1966, KIRKIACHARIAN et MENTZER 1964).



2. Tests de toxicité en microculture

Nous avons employé, pour les tests de toxicité, une souche de *Phytophthora parasitica* Dastur, isolée au Liban sur *Lycopersicum esculentum* Mill. Celle-ci est cultivée sur décoction de farine d'avoine glucosée, gélosée et supplémentée en thiamine.

Les produits à étudier, en solution dans l'éthanol, sont incorporés à une solution minérale, tamponnée à pH = 6 par des phosphates, glucosée et supplémentée en thiamine (RAVISÉ et TANGUY 1973). La concentration en éthanol, identique dans les essais et dans les témoins est de 1/10 (V/V). Les microcultures sont réalisées sur des lames à concavité (Thomas) suivant une technique précédemment décrite (RIOU et RAVISÉ 1970).

L'incubation se déroule à 30 °C pendant 96 heures. Après l'observation au microscope de l'évolution des microthalles, ceux-ci sont transférés en tubes contenant la décoction d'avoine mentionnée ci-dessus. L'éventuelle reprise de croissance est déterminée après une semaine d'incubation à 30 °C.

3. Etude de l'influence des substances sur les réactions enzymatiques

Tous les essais se déroulent à 30 °C.

a — Polyphénol-oxydase

La solution enzymatique préparée à partir de tissus de *Lycopersicum esculentum* est employée suivant une technique précédemment décrite (FUCHS 1965, RAVISÉ et TRIQUE 1972a) avec un substrat de pyrocatechol (Fluka) à 0,50 p. 100 dans un tampon Mac Ilvaine — 0,1 M — de pH = 6. La réaction est suivie par spectrophotométrie à 400 nm.

b — Beta-glucosidase

Les expériences sont conduites avec une beta-glucosidase commerciale (Fluka) dégradant le p-nitrophényl beta,D-glucopyranoside (Fluka) à pH = 5,5 dans un tampon citrate à 50 mM, et mesurées par spectrophotométrie à 410 nm (REESE et al. 1968).

c — Lyases pectiques

Elles proviennent soit de cultures de la souche de *Phytophthora parasitica* soit d'une préparation commerciale (Fluka). Leur activité est mesurée sur une pectine très méthylée (Ruban brun, Unipectine S.A.) et sur l'acide polygalacturonique (Sigma). Le milieu réactionnel est tamponné suivant les cas à pH = 6 ou 7,5 — par des tampons citrate ou tris-HCl à 50 mM — et contient de 25×10^{-5} à 75×10^{-5} de substrat, en présence de $CaCl_2$ à 1 mM. Le rapport des concentrations entre effecteur et enzyme y varie de 1/10 à 1/2. Les mesures d'activité sont effectuées par spectrophotométrie dans l'ultra-violet entre 226 et 238 nm (RAVISÉ et TRIQUE 1972b) puis, après réaction avec l'acide thiobarbiturique, par spectrophotométrie entre 530 et 560 nm (TRIQUE 1971).

d — Hydrolases pectiques

Les essais sont effectués avec une préparation commerciale (Fluka) sur les mêmes substrats que pour les lyases pectiques mais à pH = 5 dans un tampon citrate à 0,05 M, en présence de NaCl à 10^{-1} M. Les rapports de concentration entre effecteur et enzyme varient de 1/10 à 1/20. L'intensité de l'inhibition est mesurée par spectrophotométrie entre 490 et 530 nm après traitement par l'acide thiobarbiturique (TRIQUE 1971).

Résultats

1. Etude de la toxicité

Toutes les substances éprouvées, en milieu liquide et sous faible tension d'oxygène, sont toxiques pour le *Phytophthora parasitica*. Il existe entre elles des différences qualitatives et quantitatives comme l'indique le tableau 1.

Tableau 1

Comparaison de la toxicité des isoflavones, de l'isoflavanone, des coumestanes et du capsidiol pour la souche de *Phytophthora parasitica*. Les réductions de croissance sont exprimées par rapport aux témoins de chaque série

| Substances | Concentrations | | |
|--------------------------------------|--|------------------------------------|---|
| | 5×10^{-6} | 10^{-5} | 2×10^{-5} |
| capsidiol | $\frac{3}{4}$ | dose létale | |
| diméthoxy-7,4' isoflavanone | $\frac{1}{2}$ | dose létale | |
| diméthoxy-7,4' isoflavone | $\frac{1}{4}$ | totale | valeur égale ou supérieure à la dose létale |
| diméthoxy-11,12 coumestane | sans réduction de croissance par rapport au témoin | de $\frac{8}{10}$ à $\frac{9}{10}$ | valeur égale ou supérieure à la dose létale |
| dihydroxy-11,12 méthoxy-7 coumestane | sans réduction de croissance par rapport au témoin | de $\frac{8}{10}$ à $\frac{9}{10}$ | valeur égale ou supérieure à la dose létale |
| isoflavone | sans réduction de croissance par rapport au témoin | de $\frac{8}{10}$ à $\frac{9}{10}$ | valeur égale ou supérieure à la dose létale |
| triméthoxy-7,3',4' isoflavone | sans réduction de croissance par rapport au témoin | $\frac{1}{2}$ | valeur égale ou supérieure à la dose létale |

Le capsidiol, phytoalexine extraite du piment, provoque l'inhibition la plus importante: à la concentration de 5×10^{-6} , la croissance est faible par rapport au témoin. Il apparaît des malformations des parois des hyphes associées à une importante vacuolisation du cytoplasme dans les filaments et dans les sporocystes. La dose létale est de l'ordre de 10^{-5} . La diméthoxy-7,4' isoflavanone, un peu moins active à la concentration de 5×10^{-6} , semble létale à 10^{-5} et provoque les mêmes symptômes que le capsidiol.

La diméthoxy-7,4' isoflavone inhibe moins la croissance à 5×10^{-6} et provoque seulement une dégénérescence lipidique partielle du cytoplasme. Cependant, à la concentration de 10^{-5} , les microthalles émettent des filaments grêles et courts, des altérations cytoplasmiques sont décelables même à l'intérieur des chlamydospores. L'inhibition est réversible: les implants engendrent un thalle lorsqu'ils sont transférés sur décoction de farine d'avoine. La dose létale se situe entre 10^{-5} et 2×10^{-5} .

Un autre groupe correspond à l'isoflavone, au diméthoxy-11,12 coumestane ainsi qu'au dihydroxy-11,12 méthoxy-7 coumestane. Dans leur cas, l'in-

hibition de croissance est nulle à la concentration de 5×10^{-6} , elle est de l'ordre de huit à neuf dixièmes à 10^{-5} . A ce stade, s'observent d'importants troubles physiologiques.

Enfin, la substance la plus étherifiée — la triméthoxy-7,3',4' isoflavone — est la moins toxique. A la concentration de 10^{-5} , elle provoque seulement une réduction de croissance d'environ un demi par rapport au Témoin. Pour ces quatre substances, la dose létale se situe entre 10^{-5} et 2×10^{-5} .

2. Influence des produits sur les activités enzymatiques

a — Sur la beta-glucosidase

L'inhibition de l'activité beta-glucosidasique est quasi identique avec les isoflavones et les coumestanes. L'activité du capsidiol ne fut pas étudiée, la plus grande partie de l'échantillon ayant été consacrée aux tests d'inhibition du parasite.

La substance de base, l'isoflavone, provoque une réduction d'activité de 30 pour 100. Les deux dérivés méthoxylés et la diméthoxy-7,4' isoflavanone déterminent une diminution d'activité comprise entre 25 et 28 pour 100, de même que le diméthoxy-11,12 coumestane. Le dihydroxy-11,12 méthoxy-7 coumestane, légèrement plus actif, réduit l'activité beta-glucosidasique de 37 pour 100.

b — Sur les hydrolases pectiques

Le tableau 2 indique l'inhibition de l'activité endo-pectine hydrolase pour deux rapports effecteur/enzyme: 1/10 et 1/20.

Il ressort de ces résultats qu'hormis le dihydroxy-11,12 méthoxy-7-coumestane, l'isoflavone et ses dérivés possèdent des propriétés effectrices semblables. Aux deux rapports effecteur/enzyme éprouvés, il semblerait que la structure de base, l'isoflavone, soit la plus inhibitrice. La diméthoxy-7,4' isofla-

Tableau 2

Réduction de l'activité endo-pectine hydrolase, après 20 heures d'incubation à 30 °C, pour deux rapports effecteur/enzyme: 1/10 et 1/20. L'inhibition est exprimée en pourcentage par rapport ou témoin

| Substances | Effecteur/enzyme | |
|--------------------------------------|------------------|------|
| | 1/10 | 1/20 |
| dihydroxy-11,12 méthoxy-7 coumestane | 20 | 20 |
| diméthoxy-11,12 coumestane | 50 | 20 |
| triméthoxy-7,3',4' isoflavone | 47 | 24 |
| diméthoxy-7,4' isoflavone | 50 | 29 |
| isoflavone | 68 | 26 |
| diméthoxy-7,4' isoflavanone | 70 | 29 |
| capsidiol | 24 | — |

vanone paraît plus active que les deux isoflavones méthoxylées. Nous observons une importante différence entre les deux coumestanes.

Les six substances étudiées agissent lentement sur la réaction enzymatique. Le taux d'inhibition maximal est obtenu après quatre à sept heures d'incubation.

La nature de l'inhibition est déterminée aux deux rapports entre effecteur et enzyme pour des concentrations en substrat variant de 25×10^{-5} à 75×10^{-5} . Les résultats obtenus sont, aux fluctuations expérimentales près, indépendants de la concentration en substrat. Il s'agit donc d'une inhibition non compétitive.

c — Sur les transéliminases pectiques

La mesure en ultra-violet de la formation de doubles liaisons après clivage des chaînes pectiques est plus sensible que la méthode à l'acide thiobarbiturique utilisée seule pour les hydrolases pectiques. C'est pourquoi, corrélativement à une réduction de la concentration en enzyme, nous avons pu étudier l'évolution de la réaction pour des rapports entre effecteur et enzyme de 1/10 à 1/2 malgré la faible solubilité des substances éprouvées.

Inhibition de l'activité d'une endo-pectine lyase en fonction du rapport effecteur/enzyme. Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction d'activité par rapport au témoin après 25 heures d'incubation à 30 °C

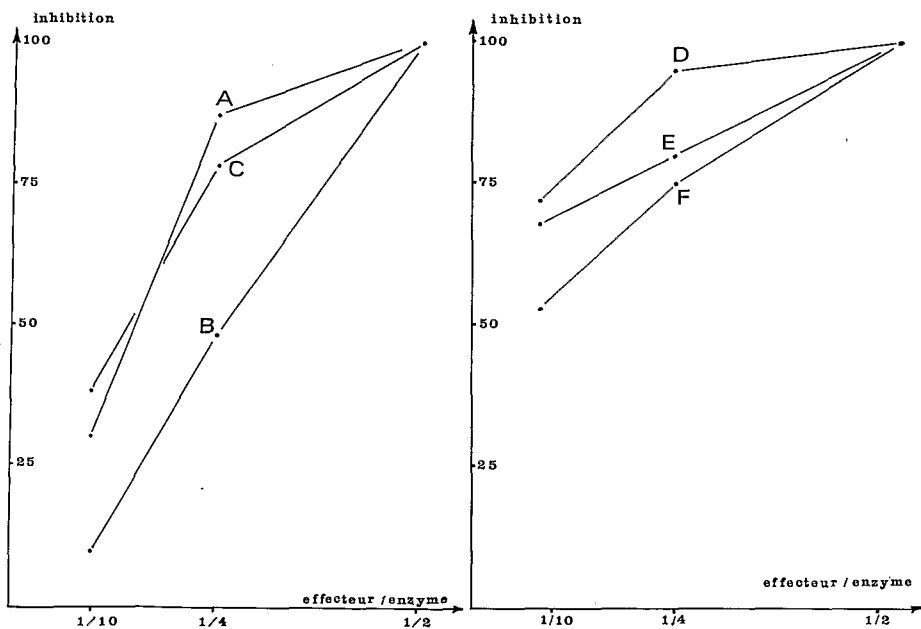


Fig. 1. A = isoflavone, B = diméthoxy-7,4' isoflavone, C = triméthoxy-7,3',4' isoflavone
 Fig. 2. D = diméthoxy-11,12 coumestane, E = dihydroxy-11,12 méthoxy-7 coumestane,
 F = diméthoxy-7,4' isoflavanone

Les figures 1 et 2 indiquent les moyennes des pourcentages d'inhibition d'activité endo-pectine transéliminase en fonction du rapport effecteur/enzyme.

Pour cinq des substances, l'inhibition est meilleure aux rapports 1/10 et 1/4. La phytoalexine de référence, le capsidiol semble peu inhibitrice au rapport 1/10.

L'isoflavone provoque une réduction d'activité de 30 p. 100 et de 87 p. 100 ($R = 1/4$) par rapport au témoin. La diméthoxy-7,4' isoflavone, moins active, détermine une inhibition de 10 p. 100 ($R = 1/10$) et de 40 p. 100 ($R = 1/4$) en apparence directement proportionnelle à la concentration en effecteur. La triméthoxy-7,3',4' isoflavone semble non seulement plus active mais agir de la même façon que l'isoflavone.

La diméthoxy-7,4' isoflavanone et les deux coumestanes provoquent une inhibition plus importante de l'activité endo-pectine lyase, surtout pour le rapport effecteur/enzyme de 1/10.

Nous avons vérifié que la cinétique de l'inhibition provoquée par les six substances de synthèse n'est pratiquement pas modifiée, avec les rapports effecteur/enzyme de 1/10 et de 1/4, lorsque la concentration en substrat varie de 25×10^{-5} à 75×10^{-5} : cette inhibition est donc de type non compétitif pour le substrat.

Tableau 3

Evolution, en fonction du temps, de l'inhibition de l'activité d'une endo-pectine lyase pour un rapport effecteur/enzyme de 1/4 et avec une concentration en substrat de 5×10^{-4} (pectine ruban run). Les valeurs indiquées correspondent au pourcentage d'inhibition

| Substances | Durée d'incubation | | |
|--------------------------------------|--------------------|---------|------|
| | 3 H 1/2 | 7 H 1/2 | 25 H |
| diméthoxy-11,12 coumestane | 95 | 95 | 95 |
| diméthoxy-7,4' isoflavanone | 75 | 75 | 77 |
| triméthoxy-7,3',4' isoflavone | 58 | 78 | 51 |
| diméthoxy-7,4' isoflavone | 0 | 37 | 45 |
| dihydroxy-11,12 méthoxy-7 coumestane | 0 | 15 | 80 |

Le mode d'action de ces effecteurs sur l'activité endo-pectine transéliminasiqve varie selon les substances comme l'indique le tableau 3. Le diméthoxy-11,12 coumestane et la diméthoxy-7,4' isoflavanone inhibent rapidement la réaction enzymatique. Les deux isoflavones méthoxylées se comportent de façon analogue, avec une réduction d'activité initiale plus faible. Le méthoxy-7-dihydroxy-11,12 coumestane provoque seulement le quart de l'inhibition maximale en sept heures et demi.

d — Sur la polyphénol-oxydase

Cinq des produits étudiés n'exercent aucune influence dépressive, à la concentration de 10^{-5} , sur l'activité d'une polyphénol-oxydase extraite de tomate. Il en est de même pour le capsidiol. La diméthoxy-7,4' isoflavone, à la même concentration, stimule de 14 pour 100 l'activité de cette enzyme. Il fut vérifié que, dans les conditions de l'expérience, après six heures de contact, la substance n'est pas utilisée comme substrat (spectre plat, constance des caractéristiques).

tères chromatographiques). Par contre, il ne fut pas possible de déterminer son action éventuelle à forte concentration à cause de sa faible solubilité dans l'eau.

Discussion

Les six produits comparés *in vitro* au capsidiol agissent différemment sur le *Phytophthora parasitica*. La diméthoxy-7,4' isoflavanone est aussi toxique que le sesquiterpène naturel. Les autres substances se répartissent en trois niveaux d'inhibition mais possèdent une caractéristique commune: la dose létale se situe entre 10^{-5} et 2×10^{-5} .

La diméthoxy-7,4' isoflavone est presque aussi toxique que l'isoflavanone correspondante. Par contre, les deux coumestanes différant par leur degré de méthylation et celui d'hydroxylation agissent de la même façon et ne sont pas plus toxiques que l'isoflavone: des troubles importants n'apparaissent dans les microcultures qu'à la concentration de 10^{-5} .

Enfin, l'isoflavone la plus méthylée semble inhiber le moins la souche de *Phytophthora parasitica*. Ce résultat serait dans une certaine mesure comparable aux travaux de CATROUX et FOURNIER (1970): ils ont établi que deux souches bactériennes du sol peuvent méthyler l'acide gallique.

Les échanges avec l'équipe canadienne ont permis de confronter nos résultats avec les études sur l'activité de sesquiterpènes (WARD, UNWIN et STOESSL 1974). En milieu liquide, sous faible tension d'oxygène, nous observons que la dose létale du capsidiol pour la souche de *Phytophthora parasitica* éprouvée est intermédiaire entre l'ED 50 (inhibition de 50 p. 100 de la croissance) définie sur milieu gélosé pour une souche de *Phytophthora infestans* et une de *Phytophthora capsici*. D'autre part, les doses létales définies pour les six substances s'avèrent, avec les mêmes différences indiquées ci-dessus, plus faibles que les ED 50 de la capsénone et de plusieurs sesquiterpènes dérivés du capsidiol.

Les inhibitions observées semblent varier suivant la structure des produits: ces résultats paraissent différents de ceux obtenus par AKINREFON (1968) avec dix composés phénoliques pour cinq souches de *Phytophthora palmivora*. Par contre, nos observations tendent à corroborer les travaux de SAKUMA et TOMIYAMA (1967) démontrant que la résistance de tissus de *Solanum tuberosum* à une race non compatible de *Phytophthora infestans* est accrue par l'adjonction de substances phénoliques.

La kiévitone, phytoalexine isolée du haricot (SMITH, VAN ETTEN et BATEMAN 1973) est une tétrahydroxy-5,7,2',4' isopentényl-8 isoflavanone. Sa toxicité pour des *Phytophthora* n'a pas été éprouvée, mais elle inhibe le *Rhizoctonia solani* à 6×10^{-5} incorporée à un milieu gélosé. Il serait donc utile de pouvoir comparer la toxicité de diverses isoflavanones pour déterminer quels pourraient être les éléments y contribuant.

Nous avons constaté que la diméthoxy-7,4' isoflavone stimule l'activité d'une polyphénol-oxydase extraite de plants de tomate. Nous avons décelé une propriété analogue chez deux coumarines: la hydroxy-4 méthoxy-7 coumarine et la chloro-3' hydroxy-4 méthoxy-7 coumarine (RAVISÉ et KIRKIACHARIAN

1975). Nous avons précédemment observé que des substances assimilées à des phytoalexines synthétisées par des *Gossypium* et des *Lycopersicum* favorisaient l'activité polyphénol-oxydasiq ue sans être utilisées comme substrat (RAVISÉ et TRIQUE 1972 b). Nous n'avons pas trouvé d'indice permettant d'interpréter cette propriété commune qui contribue à la stimulation d'un des processus de réaction de l'hôte contre le parasitisme (FUCHS 1965, TAKAI et HUBBES 1972).

Les six produits de synthèse provoquent des réductions comparables de l'activité beta-glucosidasique, le dihydroxy-11,12 méthoxy-7 coumestane paraissant le plus actif. Au cours des dégradations parasitaires, cette enzyme peut être sécrétée par plusieurs agents pathogènes — *Ascochyta imperfecta* (OLAH et SHERWOOD 1973), *Helminthosporium turcicum* (MACE 1973) —. Son inhibition partielle pourrait modifier les activités enzymatiques dans la fraction lysosomique des cellules ainsi que l'évolution des glucosides élaborés par l'hôte.

Les enzymes pectinolytiques sont inhibés différemment par les six composés étudiés.

La diméthoxy-7,4' isoflavanone est presque aussi active sur les transéliminases que sur les hydrolases pectiques. Par contre, la série d'isoflavones agit différemment: elles inhibent convenablement les hydrolases mais sont peu actives sur les lyases, notamment la diméthoxy-7,4' isoflavone. Le dihydroxy-11,12 méthoxy-7 coumestane, en opposition avec le coumestane diméthoxylé, inhibe peu l'activité des hydrolases, au contraire les deux substances sont très actives sur les lyases pectiques.

Nous possédons peu d'éléments de comparaison sur l'inhibition de l'activité, *in vitro*, des enzymes pectinolytiques. Trois études relatent des inhibitions de ce genre par des composés phénoliques possédant des structures différentes (GROSSMANN 1968, MAHADEVAN et REDDY 1968, MOLOT 1970). Dans tous les cas, l'incorporation de phénols détermine une réduction notable de l'activité pectinolytique. Des indications indirectes sont fournies pour deux plantes à teneurs élevées en flavonoïdes. Bien que la catéchine, pentahydroxy-3,5,7,3',4' flavone, inhibe faiblement *in vitro* les enzymes pectinolytique du *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum* parasite du coton, son introduction sous forme oxydée dans les tissus de la plante confère une protection non proportionnelle aux résultats obtenus *in vitro* (RAJ et MAHADEVAN 1970). De même, dans des plantules de cotonnier à différents stades de croissance, l'activité des enzymes pectinolytiques du *Rhizoctonia solani* est d'autant plus réduite que s'accroît la teneur en phénols, notamment en catéchine (HUNTER 1974). Chez le *Phaseolus vulgaris*, la résistance à la dégradation des parois par le *Rhizoctonia solani* est attribuée à la phaséoline et à une seconde substance identifiée depuis lors à la kiévitone mentionnée ci-dessus (BATEMAN et al. 1969).

Résumé

Des composés phénoliques — isoflavones, isoflavanone, coumestanes — inhibent *in vitro* la croissance du *Phytophthora parasitica* et l'activité d'enzymes lytiques. La structure des substances et leur degré de méthylation influent

sur le taux d'inhibition, en particulier celle d'enzymes pectinolytiques. Hormis un cas de stimulation, ces produits n'affectent pas l'activité d'une polyphénoloxydase extraite de tomate.

Zusammenfassung

Einfluß der Struktur phenolischer Verbindungen auf die Hemmwirkung von *Phytophthora parasitica* und von lytischen Enzymen

I. Isoflavonoide und Cumestane

Phenolische Verbindungen (Isoflavone, Isoflavanone, Cumestane) hemmen *in vitro* das Wachstum von *Phytophthora parasitica* und die Aktivität lytischer Enzyme. Die Struktur der Substanzen und ihr Methylierungsgrad beeinflussen die Wirkung, insbesondere die Hemmung pektinspaltender Enzyme. Außer in einem Fall von Stimulierung beeinflussen diese Verbindungen eine aus Tomatenpflanzen extrahierte Polyphenoloxydase nicht.

Summary

Effects of the structure of phenolic compounds on the inhibition of *Phytophthora parasitica* and on lytic enzymes

I. Isoflavonoids and Coumestans

Phenolic compounds (isoflavones, isoflavanones, coumestans) inhibit *in vitro* the growth of *Phytophthora parasitica* and the activity of lytic enzymes. The structure of these phenolics and their degree of methylation affect the inhibition and mainly that of pectinolytic enzymes. Except in one case of stimulation the activity of a polyphenol oxidase extracted from tomato plants was not modified by these compounds.

Nous remercions le Docteur A. STÖESSL (Institut de Recherches Agronomiques du Canada, London—Ontario) qui a eu l'obligeance de nous fournir un échantillon de capsidiol puis de nous autoriser à publier les résultats obtenus.

Bibliographie

- AKINREFON, O. A., 1968: Phenolic fungitoxicity and the possible role of phenolase of *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. *Phytopath. Z.* 63, 153—164.
- BATEMAN, D. F., et al., 1969: Susceptibility to enzymatic degradation of cell walls from bean plants resistant and susceptible to *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Plant Physiol.* 44, 641—648.
- BECKMAN, C. F., W. C. MUELLER, and M. E. MACE, 1974: The stabilization of artificial and natural cell wall membranes by phenolic infusion and its relation to wilt disease resistance. *Phytopathology* 64, 1214—1220.
- BROWN, H. C., and C. P. GARG, 1961: *J. Amer. Chem. Soc.* 83, 2951.
- BRZozowska, J., P. HANOWER et J. TANGUY, 1973: Polyphénols des feuilles de cotonnier et influence sur leur composition d'un choc hydrique ou nutritionnel. *Phytochemistry* 12, 2353—2357.

- CATROUX, G., et J. C. FOURNIER, 1970: Méthylation des hydroxyyles phénoliques de l'acide gallique par deux souches bactériennes isolées du sol. C. R. Acad. Sci., Sér. D, 271, 2460—2463.
- CERNY, G. VON, 1973: Hemmung einiger Ektoenzyme von *Fomes annosus* (Fr.) Cke. durch Holz- und Bastextrakte aus *Picea abies* (Karst.). Eur. J. Forest Path. 3, 214—220.
- CLARKE, D. D., 1973: The accumulation of scopolin in potato tissue in response to infection. Physiol. Plant Path. 3, 347—358.
- FUCHS, A., 1965: Polyphenol oxidases and phenolics in relation to resistance against cucumber scab in *Cucumis sativus*. I. Fungal and host polyphenol oxidases. Netherl. J. Plant Path. 71, 157—166.
- GEIGERT, J., et al., 1973: Two phytoalexines from sugar beet (*Beta vulgaris*) leaves. Tetrahedron 29, 2703—2706.
- GROSSMANN, F., 1968: Studies on the therapeutic effects of pectinolytic enzymes inhibitors. Netherl. J. Plant Path. 74, 153—166.
- HUNTER, R. E., 1974: Inactivation of pectic enzymes by polyphenols in cotton seedlings of different ages infected with *Rhizoctonia solani*. Physiol. Plant Path. 4, 151—159.
- INGHAM, J. L., 1973: Disease resistance in higher plants. The concept of pre infectinal and post infectinal resistance. Phytopath. Z. 78, 314—315.
- JOHANSSON, M., and E. HÄGERBY, 1974: Influence of growth conditions, metabolic inhibitors and phenolic compounds on the ATP pool in *Fomes annosus*. Physiol. Plantarum 32, 23—32.
- KIRKIACHARIAN, B. S., 1966: Thèse Doctorat Sciences, Paris No. AO 1047.
- —, 1975: Chem. Com. 5, 162.
- —, et H. CHIDIAC, 1973: C. R. Acad. Sci., Sér. C, 276, 795.
- —, et — —, 1975: C. R. Acad. Sci., Sér. C, 280, 775.
- —, G. H. ELIA et G. MAHUIZIER, 1974: C. R. Acad. Sci., Sér. C, 279, 151.
- —, et C. MENTZER, 1964: Br. Fr. (C.N.R.S.) P.V. 98, 794.
- LOCHE, J., 1966: Contribution à l'étude des polyphénols de la plante de tabac. SEITA — Ann. de la direction des études et de l'équipement 3, 15—107.
- MACE, M. E., 1973: Histochemistry of beta-glucosidase in isolines of *Zea mays* susceptible or resistant to northern corn leaf blight. Phytopathology 63, 243—245.
- MAHADEVAN, A., and M. KOTI REDDY, 1968: The effect of phenolic compounds on growth, polygalacturonase production and activity of *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum*. Netherl. J. Plant Path. 74 (Suppl. 1), 87—90.
- MOLOT, P. M., 1970: Influence de l'acide p-coumarique sur l'activité des pectinases et des cellulases et sur leur sécrétion par *Fusarium roseum* var. *graminearum*. C. R. Acad. Sci., Sér. D, 270, 2097—2100.
- OLAH, A. F., and R. T. SHERWOOD, 1971: Flavones, isoflavones, and coumestans in alfalfa infected by *Ascochyta imperfecta*. Phytopathology 61, 65—69.
- —, and — —, 1973: Glycosidases activity and flavonoid accumulation in Alfalfa infected by *Ascochyta imperfecta*. Phytopathology 63, 739—742.
- RAJ, S. A., et A. MAHADEVAN, 1970: Induction of wilt resistance in cotton by phenolic compounds. Indian Phytopath. 23, 89—94.
- RATHMELL, W. G., and D. S. BENDALL, 1971: Phenolic compounds in relation to phytoalexin biosynthesis in hypocotyls of *Phaseolus vulgaris*. Physiol. Plant Path. 1, 351—362.
- RAUTENBERG, E., 1973: Untersuchungen an *Exobasidium*-Gallen von *Rhododendron simsii* Planch. III. Fluoreszierende Phenolderivate in Gallen und Blättern. Phytopath. Z. 78, 214—226.
- RAVISÉ, A., et B. S. KIRKIACHARIAN, 1975: Influence de la structure de composés phénoliques sur l'inhibition du *Phytophthora parasitica* Dastur. II. Coumarines et dérivés (en pré-paration).
- —, et J. TANGUY, 1973: Etude des réactions phénoliques de plantules de *Nicotiana* inoculées par des souches de *Phytophthora* de Bary. Phytopath. Z. 76, 253—264.
- —, et B. TRIQUE, 1972a: Détermination des enzymes pectinolytiques de deux souches de *Phytophthora* de Bary. Variations d'activité dans les tissus de plantules de tomate en relation avec les génomes de résistance. Agron. Trop. 27, 751—752.

- , et —, 1972b: Réactions de plantules de *Gossypium* L. au parasitisme de *Phytophthora* de *By. tropicaux*. Propriétés de composés phénoliques élaborés par des plantules de *Gossypium* L. et de *Lycopersicum* Mill. *Coton Fibres Trop.* 27, 295—310.
- RIOU, S., et A. RAVISÉ, 1970: Etude des chlamydo-spores chez quelques espèces de *Phytophthora* de Bary. *Cah. Maboké* 8, 93—106.
- REESE, E. T., A. M. MAGUIRE, and F. W. PARRISH, 1968: Glucosidases and exoglucanases. *Canad. J. Biochem.* 46, 25—34.
- SAKUMA, T., and K. TOMIYAMA, 1967: The role of phenolic compounds in the resistance of potato tuber tissue to infection by *Phytophthora infestans*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 33, 48—58.
- SARKAR, S. K., and C. T. PHAN, 1975: The biosynthesis of 8-hydroxy-6-methoxy-5-methyl-3,4-dihydroxyisocoumarin and 5-hydroxy-7-methoxy-2-methyl-chromone in carrot tissues treated with ethylene. *Physiol. Plantarum* 33, 108—112 (et publications antérieures).
- SHERWOOD, R. T., A. F. OLAH, W. H. OLESON, and E. E. JONES, 1970: Effect of disease and injury on accumulation of a flavonoid estrogen, coumestrol, in alfalfa. *Phytopathology* 60, 684—688.
- SMITH, D. A., H. D. VAN ETEN, and D. F. BATEMEN, 1973: Kievitone, the principal antifungal component of "substance II" isolated from *Rhizoctonia*-infected bean tissues. *Physiol. Plant Path.* 3, 179—186.
- STOESSL, A., C. H. UNWIN, and E. W. B. WARD, 1972: Postinfectious inhibitors from plants. I. Capsidiol, an antifungal compound from *Capsicum frutescens*. *Phytopath. Z.* 74, 141—152.
- TAKAI, S., and M. HUBBES, 1973: Polyphenol-oxidase activity and growth inhibition of *Hypoxyton pruinautum* (Klotzsche) Cke. by Aspern bark meal. *Phytopath. Z.* 78, 97—108.
- TANGUY, J., 1970: Quelques aspects du métabolisme des composés phénoliques chez les *Nicotiana* hypersensibles au virus de la mosaïque du tabac, souche commune. Thèse Doctorat Sciences, Paris.
- TRIQUE, B., 1971: Pectinases et acide fusarique du *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaidis*; leurs rôles dans la fusariose du palmier à huile. *Oléagineux* 26, 163—168.
- WANZLICK, H., R. GRISKY et H. HEILDOPREIM, 1963: *Ber.* 96, 305.
- WARD, E. W. B., C. H. UNWIN, and A. STOESSL, 1974: Postinfectious inhibitors from plants. XIII. Fungitoxicity of the phytoalexin, capsidiol, and related sesquiterpenes. *Canad. J. Bot.* 52, 2481—2488.

Adresses des auteurs: A. RAVISÉ, directeur de recherches à l'O.R.S.T.O.M. — Boîte postale 9344, Beyrouth (Liban); B. S. KIRKIACHARIAN, professeur agrégé, laboratoire de pharmacie chimique de la Faculté Française de Médecine et de Pharmacie — Boîte postale 5076 à Beyrouth (Liban).

Adresse en France: Ravise' — 29, me Louis Rolland — 18000 Bourges — France.

Sonderdruck aus „Phytopathologische Zeitschrift“

[Phytopath. Z. 85, 74—85, 1976]

Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdruckes, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten.

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

Mission au Liban

*de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer,
Faculté Française de Médecine et de Pharmacie à Beyrouth*

**Influence de la structure de composés phénoliques sur l'inhibition
du *Phytophthora parasitica* et d'enzymes participant aux processus
parasitaires**

I. Isoflavonoïdes et coumestanes

Par

A. RAVISÉ et B. S. KIRKIACHARIAN

28 AVR. 1976

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 7942 Phyto