

MISE EN EVIDENCE DE QUELQUES PROTEINES IMPLIQUEES DANS LES INTERACTIONS *Dioscorea alata* L. - *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ.

H. SANOU¹, N. AHOUSSOU², S. AKE², K. DIOPOH³

¹Laboratoire de Génétique
UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 B.P. 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales
UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 B.P. 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

³Laboratoire de Biotechnologie
UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 B.P. 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

RESUME

L'antracnose de l'igname est une maladie parasitaire qui cause d'importants dégâts surtout chez l'espèce *Dioscorea alata* L. Le principal agent pathogène responsable est un champignon ascomycète : *Colletotrichum gloeosporioides*. Des tests de pathogénie effectués par confrontation entre les feuilles d'igname et les souches du champignon ont permis de constater que tous les clones ne réagissent pas de la même manière face à l'infection. Des couples ont été constitués entre différents génotypes d'igname (très sensible, tolérant ou résistant) et deux souches du champignon, une pathogène et l'autre, non pathogène. Les teneurs en protéines foliaires et l'activité spécifique peroxydasique augmentent régulièrement du 1^{er} au 10^e jour chez tous les clones avec les concentrations plus importantes chez les clones résistants par rapport aux clones sensibles. Elles sont également plus importantes après confrontation avec la souche non pathogène. Le profil enzymatique des isoperoxydases laisse apparaître une bande supplémentaire de faible intensité chez les clones résistants dans les interactions compatibles.

Mots clés : Anthracnose, phytoalexines, interactions compatibles, interactions incompatibles, Côte d'Ivoire.

ABSTRACT

CHARACTERISATION OF SOME PROTEINS INVOLVED IN THE INTERACTION BETWEEN *Dioscorea alata* L. - *Colletotrichum gloeosporioides*

Among the parasite pressures known for the yam plant, the anthracnose generates many damages to the *Dioscorea alata* L. specie. The causal agent of the disease is an Ascomycete fungus (*colletotrichum gloeosporioides*). Pathogenesis tests done by exposing yam leaves to fungus populations revealed that all clones do not react the same way to the infection. Different yam genotypes (very susceptible, tolerant and resistant) were paired with two populations of fungus, one pathogenic and the other not. Foliar protein contents and the specific peroxydasic activity increase regularly from the first (1st) to the tenth (10th) day in all clones with the most important concentrations in resistant clones in comparison to the susceptible clones. Proteins contents are also more important after comparison with non pathogen populations. Isozym analysis of isoperoxydases permit to see a supplementary band of weak intensity in resistant clones compatible interactions.

Keywords : Anthracnose, phytoalexines, compatible interactions, incompatible interactions, Côte d'Ivoire.

INTRODUCTION

L'igname (*Dioscorea alata*) est cultivée pour ses tubercules et ses bulbilles. En tant que vivrier, elle occupe une place importante dans l'économie et dans l'alimentation des populations des zones intertropicales. L'Afrique contribue actuellement pour 95 % de la production mondiale et la Côte d'Ivoire pour 10 % (Ahoussou, 1990). En Afrique, la zone de production de l'igname s'étend de la Côte d'Ivoire au Cameroun en passant par le Nigeria qui est le plus gros producteur, avec 75 % de la production mondiale (Asiedu, 1994).

La production de l'igname est entravée par plusieurs facteurs dont notamment, une disponibilité limitée en semenceaux, une diminution des terres fertiles, un coût élevé de la main d'œuvre requise pour la préparation du sol, le tuteurage, le sarclage, la récolte et la conservation (Asiedu, 1994). Les contraintes biotiques exercées par les virus, les cryptogammes vasculaires, les nématodes et les insectes ont également une incidence négative sur la production.

L'antracnose constitue l'une de ces contraintes biotiques. C'est une maladie cryptogamique provoquant le flétrissement de la plante avec une diminution importante du rendement en tubercules. Elle a été décrite par plusieurs auteurs qui s'accordent à l'attribuer à un cortège parasitaire, dont l'un des parasites importants serait *Colletotrichum gloeosporioides*, forme imparfaite et *Glomerella cingulata* forme parfaite du même champignon (Degras, 1986).

Vu l'impact de l'antracnose sur le rendement de l'igname, et compte tenu de l'importance économique de cette plante, des études ont été menées au plan épidémiologique pour déterminer l'ampleur et la répartition de cette maladie sur le territoire national. Un inventaire des champignons inféodés à l'igname à différents stades du cycle, dans diverses zones

climatiques a été également fait, ainsi que les études d'interaction hôte-parasite au niveau du couple *D. alata* et *C. gloeosporioides*. Ahoussou, (1989) a réussi à montrer après confrontation entre feuilles d'igname et souches de champignon, que tous les clones d'igname ne réagissent pas de la même manière face aux différentes souches et que l'activité phytotoxique était probablement le fait d'une glycoprotéine. Des résultats ultérieurs (Sanou, 1996) ont confirmé ceux des travaux de Ahoussou, (1989) et indiquent, en plus, l'absence de corrélation entre le niveau de ploïdie des clones d'igname et le degré de résistance à l'antracnose. Par ailleurs, il a été montré que les peroxydases des espaces intercellulaires jouent un rôle important dans le processus de défense de la cellule hôte par activation en réponse à une infection (Jennifer et Hammerschmidt, 1988 ; Geiger *et al.*, 1989). Ces enzymes catalysent la dernière étape de la biosynthèse de la lignine, un métabolite important dans les mécanismes de la résistance des plantes aux pathogènes (Geiger *et al.*, 1993).

L'objectif de ce travail est de montrer l'implication de ces enzymes dans les interactions *Dioscorea alata* *Colletotrichum gloeosporioides*. En effet, le dosage des protéines totales et les mesures de l'activité peroxydasique réalisés à partir des feuilles saines inoculées prélevées sur différents clones montrent que la teneur en protéine totale et l'activité peroxydasique diffèrent selon que les feuilles sont inoculées ou non, mais également en fonction de la sensibilité des clones utilisés.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL

L'étude a porté sur les feuilles de cinq clones d'igname : très sensible (287), sensible (601), peu sensible (899),

tolérant (1793) et résistant (Brazo Fuerte). Ces clones proviennent de la collection d'ignames de l'ancienne Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université de Cocody-Abidjan.

Les isolats de champignons proviennent des champs d'igname de l'ancien Institut International de Recherche Scientifique pour le Développement en Afrique (IIRSDA) à Adiopodoumé situé à 17 km d'Abidjan sur la route de Dabou.

METHODES

Dans la plupart des travaux effectués dans ce domaine, l'action parasitaire sur les clones est évaluée par l'intensité des symptômes qui apparaissent sur les feuilles, se traduisant par la colonisation et la destruction progressive des tissus de la plante hôte par les organes infectieux du parasite. Ici, nous avons utilisé des méthodes de dosage permettant de déterminer quelques protéines impliquées dans les interactions hôte-parasite : *Dioscorea alata* L. - *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. C'est ainsi que la teneur en protéines totales, en peroxydases, l'activité peroxydasique et le profil des isoperoxydases chez les feuilles

inoculées et non inoculées ont été déterminés et comparés.

Cette étude a été réalisée sur les couples constitués entre les génotypes 287, 601, 899, 1793, Brazo Fuerte et les souches S₁ pathogènes et S₂₂ non pathogènes.

Isolement des souches et inoculation des feuilles d'igname

Les fructifications de *Colletotrichum gloeosporioides* sont prélevées et repiquées sur milieu Maltea gelosé à l'aide d'une loupe binoculaire. Le pH du milieu a été ajusté à 5,5 avant autoclavage pendant 30 min. à 115 °C (tableau 1).

Les spores prélevées à partir de culture pure, ont été mises dans l'eau stérile et homogénéisées au Vortex. La concentration de la suspension réalisée et déterminée, à l'aide d'un hématimètre a été de 10⁵ spores/ml.

Les feuilles d'igname prélevées en champ ont d'abord été lavées, essuyées puis blessées à l'aide d'un scalpel. L'inoculum a été déposé à l'aide d'une pipette Pasteur sur la face inférieure des feuilles.

Tableau 1 : Composition du milieu de culture (à base d'extrait de Malt) utilisé.

Characteristics of the culture medium (malt extract base) used.

Composition*	Quantité (g)
Extrait de malt	15 g
Gelose	20 g
Extrait de levure	2 g
Bactopeptone	2 g
Eau distillée	1000 ml

* Le milieu de culture a été ajusté à pH 5,5 puis autoclavé pendant 30 min à 115 °C

Des couples ont donc été constitués entre les feuilles de ces clones et deux souches de champignon dont l'une pathogène S_1 et l'autre non pathogène S_{22} . Les feuilles témoins ont été inoculées avec de l'eau stérile. Les feuilles ont ensuite été déposées sur du papier Whatman humidifié et placé dans des mini-serres qui ont été conservées à une température de 28 °C pour une photopériode de 12 h. L'humidité a été maintenue saturante.

Méthodes de dosage et d'extraction des protéines foliaires totales

La technique de dosage utilisée dérive de celle de Bradford (1976), par spectrophotométrie. La solution de Bradford a été obtenue à partir de 100 mg de Bleu de Coomassie G-250 dissous dans 50 ml d'éthanol à 95 %. A ceci on a ajouté 100 ml d'acide phosphorique à 85 %. Le mélange prend une coloration vinasse et est alors complété à 1 l avec de l'eau distillée.

Pour l'extraction des protéines foliaires, 200 mg de feuilles d'igname ont été prélevés autour de la lésion d'antracnose, celles-ci ont ensuite été broyées dans 0,6 ml de tampon phosphate de Na (10 mM), en présence de 100 µl de triton à 10 %, d'une pincée de polyclar et de sable fin. Après centrifugation en chambre froide, le surnageant a été recueilli et conservé dans la glace. Le dosage des protéines et des peroxydases a été effectué à partir de ce surnageant.

Les échantillons à doser ont été préparés à partir de 10 µl de surnageant auxquels on ajoute 90 µl d'eau distillée, 10 µl HCl 0,1 N et 3,6 ml de la solution de Bradford.

A partir d'une solution de sérum albumine bovine (1 mg/ml), une gamme (0 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg, 50 µg) correspondant à 0 µl, 10 µl, 20 µl, 30 µl 50 µl est préparée. Chaque fraction a été complé-

tée à 3,71 ml avec la solution de Bradford. Le tube 0 a servi de témoin. La DO a été mesurée à 595 nm. Une courbe étalon a servi à déterminer les différentes concentrations en protéines.

Dosage des peroxydases

La technique de dosage des peroxydases utilisée dérive de celle de Nadolny et Sequeira (1980) cité par Veiger et al. (1989). Le substrat est le gaïacol qui, en présence de peroxydase et d'eau oxygénée s'oxyde pour donner un composé brun dont on peut suivre l'apparition à 470 nm. Le surnageant recueilli précédemment a servi d'extrait enzymatique.

L'activité enzymatique a été mesurée en utilisant un milieu réactionnel contenant 2 ml de tampon phosphate de Na 0,01 M, 0,1 ml d'eau oxygénée 0,1 %, 2 ml de Gaïacol 0,2 % et 0,9 ml d'extrait enzymatique.

La DO a été mesurée à 470 nm contre un témoin ne contenant pas d'eau oxygénée. L'activité spécifique est exprimée par la variation de l'absorbance à 470 nm par min et par mg de protéines. Le temps de la réaction a été de 4 minutes.

Comparaison des profils enzymatiques

Une électrophorèse en plaques sur gel de polyacrylamide a été réalisée à partir des extraits enzymatiques des feuilles d'igname infectées. Deux cent mg de feuilles infectées ont été broyées dans 0,6 ml de tampon d'extraction composé de 8,8 g d'acide ascorbique, 4,84 g de Tris, 0,68 g d'EDTA, cyanure de K^+ , (3 grains), 4 ml de mercaptoéthanol, 200 ml de H_2O (QSPF), en présence de 100 µl de triton à 10 %, d'une pincée de polyclar et de sable fin. Après centrifugation en chambre froide le surnageant ou extrait enzymatique a été recueilli et conservé dans de la glace.

Le système utilisé, dérive de celui de Ladet (1982). Il comprend un gel de concentration 3 % et un gel de résolution 10 % (tableau 2). Ces gels ont été préparés à partir du tampon Tris 89 mM, acide borique 89 mM, EDTA 2,5 mM (Tampon TBE pH 8,3) et une solution de polyacrylamide à 30,8 %. (acrylamide 30 %, bis acrylamide 0,8 %).

RESULTATS

Influence de l'agression mécanique sur la teneur en protéines totales et le profil des isoperoxydases

Les données recueillies indiquent que les concentrations en protéines des

Tableau 2 : Composition des gels de Polyacrylamide utilisés dans l'électrophorèse des peroxydases. *Characteristics of Polyacrylamide gels used in the electrophoresis of the peroxydases enzymes.*

Constituants des gels	Concentration (ml) des différents constituants dans différents gels	
	Gel de migration (10 %)	Gel de concentration (3 %)
Acrylamide/bis acrylamide	13,3	2,5
Tampon TBE pH 8,3	4	2,5
Amonium persulfate (10 %)	1,33	0,25
H ₂ O	21,	19,75
Temed	20 10 ⁻³	12,5 10 ⁻³

Les échantillons à déposer sur les gels sont constitués par 1/2 volume de surnageant, auquel est ajouté un volume de Bleu dilué de 1/2 (Bleu = bleu de bromophénol 0,01 % et du glycerol 1 %). A l'aide d'une microseringue, 50 µl des échantillons ont été déposés par puits. Une couche de tampon de résolution a été utilisée pour recouvrir les échantillons.

La migration a été réalisée à l'aide d'un tampon TBE au dixième (10^e) d'un courant de 60 mA et une tension de 150 volts pendant 3 h.

Méthode de révélation

Les isoenzymes ont été visualisées grâce à une réaction colorée. L'oxygène libéré a oxydé le substrat qui prend une couleur brune. La révélation est faite à l'aide d'une solution de préincubation (46 ml d'acétate de sodium 0,5 M, 20 mg de 3 amino 9 éthyl carbazole, 2 ml de chlorure de calcium 1 M). Après 15 mn de préincubation, on a ajouté de l'eau oxygénée à 30 %.

feuilles blessées non inoculées avec le champignon et laissées en survie augmentent régulièrement du 1^{er} au 10^e j chez tous les clones d'igname.

Les géotypes n° 1793 et Brazo Fuerté possèdent les plus fortes teneurs tandis que les clones 287 et 601 ont les plus faibles concentrations en protéines (figure 1).

Le profil électrophorétique des peroxydases chez les feuilles blessées et laissées en survie pendant 6 h ont présenté deux bandes chez les clones 1793, 899, 601 et Brazo Fuerté, et trois bandes chez le 287 (figures 2, A et B). Les bandes de clone 899 ont été peu intenses, de même que les deux bandes basses du clone 287.

Cependant les zymogrammes obtenus à partir des feuilles laissées en survie pendant 7 j ont présenté des bandes plus intenses.

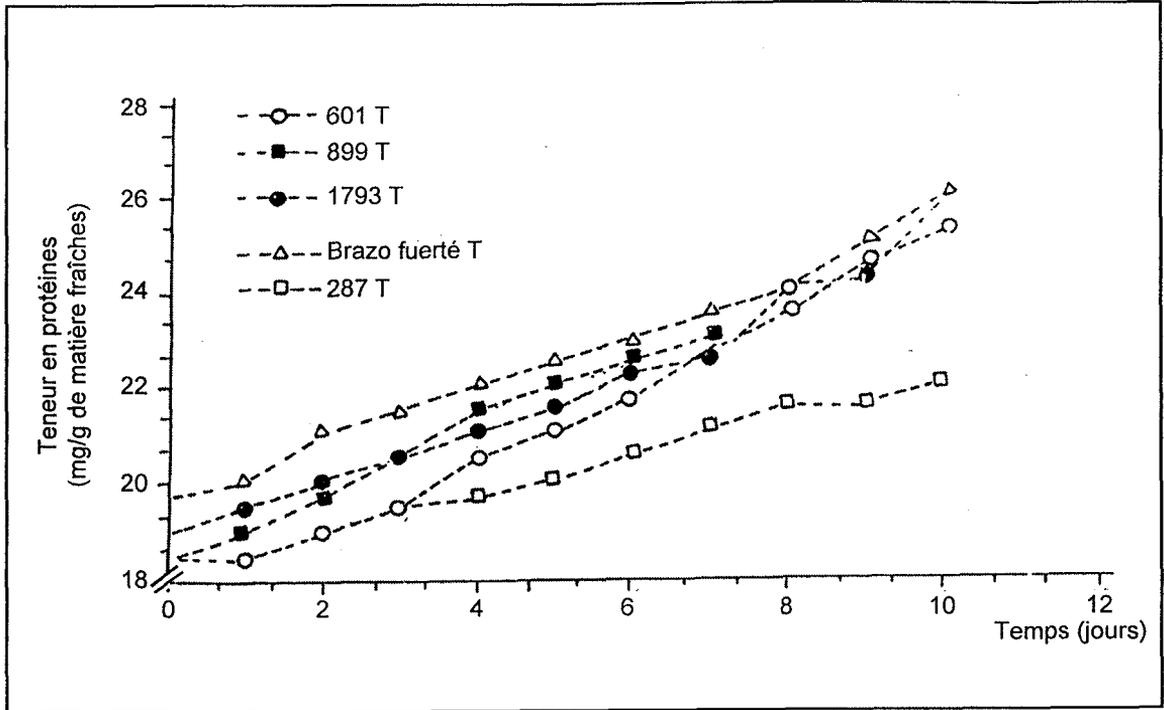


Figure 1 : Evolution de la teneur en protéines des feuilles blessées mécaniquement, chez les clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 et 601 de *D. alata*.

Protein content of mechanically injured leaves in clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 and 601 of D. alata.

L'intensité des bandes peroxydasiques ainsi que les concentrations des protéines de feuilles blessées non inoculées avec le champignon ont augmenté dans le temps. Face à une blessure, les feuilles d'igname réagissent donc en synthétisant plus de protéines et de peroxydases.

Influence de l'inoculum S_1 sur la teneur en protéines totales, l'activité peroxydasique et le profil des isoperoxydases

Les teneurs en protéines (figure 3) augmentent régulièrement chez les feuilles inoculées avec la souche S_1 . L'analyse de la courbe de l'activité spécifique (figure 4) montre une augmentation régulière chez tous les clones.

La teneur en protéines et l'activité spécifique peroxydasique chez les cultivars 1793 et Brazo Fuerté sont les plus élevées. La teneur en protéines est plus élevée chez les feuilles inoculées avec la souche S_1 que chez les feuilles non inoculées.

Mais au bout de 10 jours, on note l'apparition d'une nouvelle bande fine (n° 4) chez le cultivar Brazo Fuerté (figure 5, A et B).

La stimulation de la synthèse des protéines et des peroxydases en particulier, est corrélée avec l'infection parasitaire ; plus le temps de confrontation entre le pathogène et l'hôte est long, plus le taux de protéines synthétisées et l'activité peroxydasique sont élevés. L'augmentation est plus importante chez le clone résistant pour lequel on note l'apparition d'une quatrième bande plus fine.

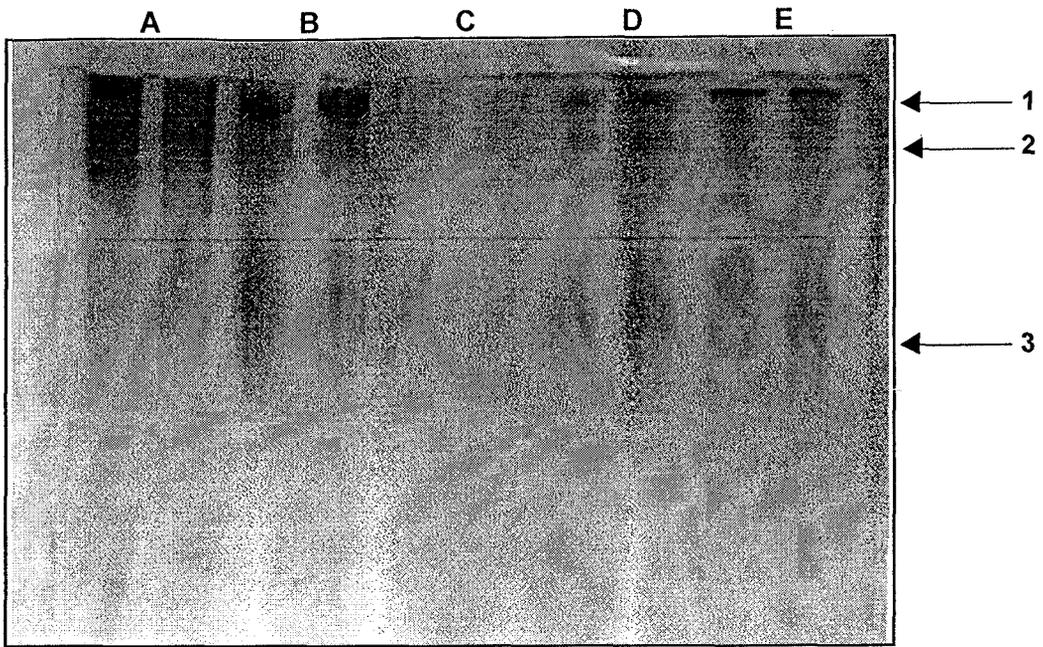


Figure 2 A : Zymogramme des peroxydases chez les clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 et 601 de *D. alata*, 6 h après une agression mécanique foliaire.

Zymogramm of peroxydases enzymes from clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 and 601 of D. alata, 6 hours after mechanical leaf injury.

A = clone 1793 B = Brazo fuerté C = clone 899 D = 601

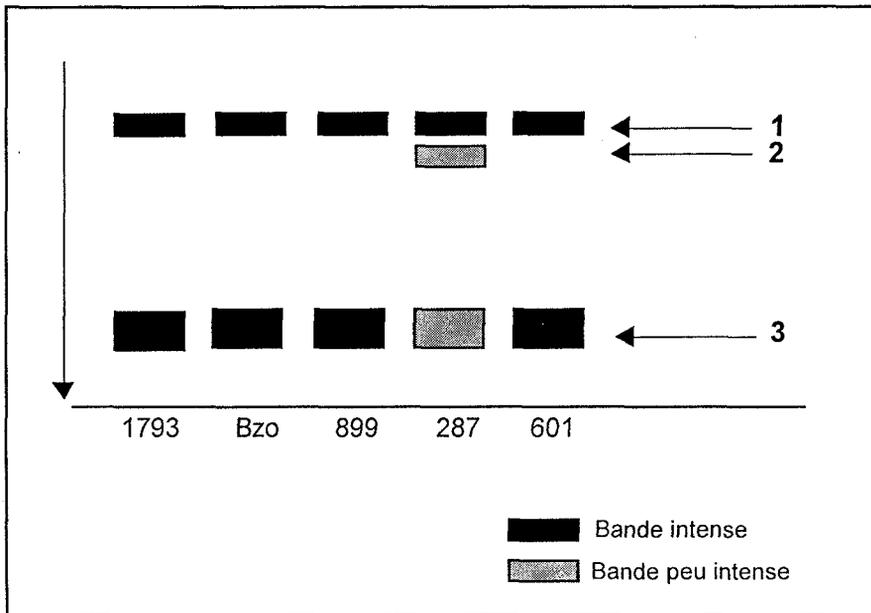


Figure 2 B : Zymogramme des peroxydases chez les clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 et 601 de *D. alata*, 6 h après une agression mécanique foliaire.

Zymogramm of peroxydases of clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 and 601 of D. alata, 6 h after mechanical injury.

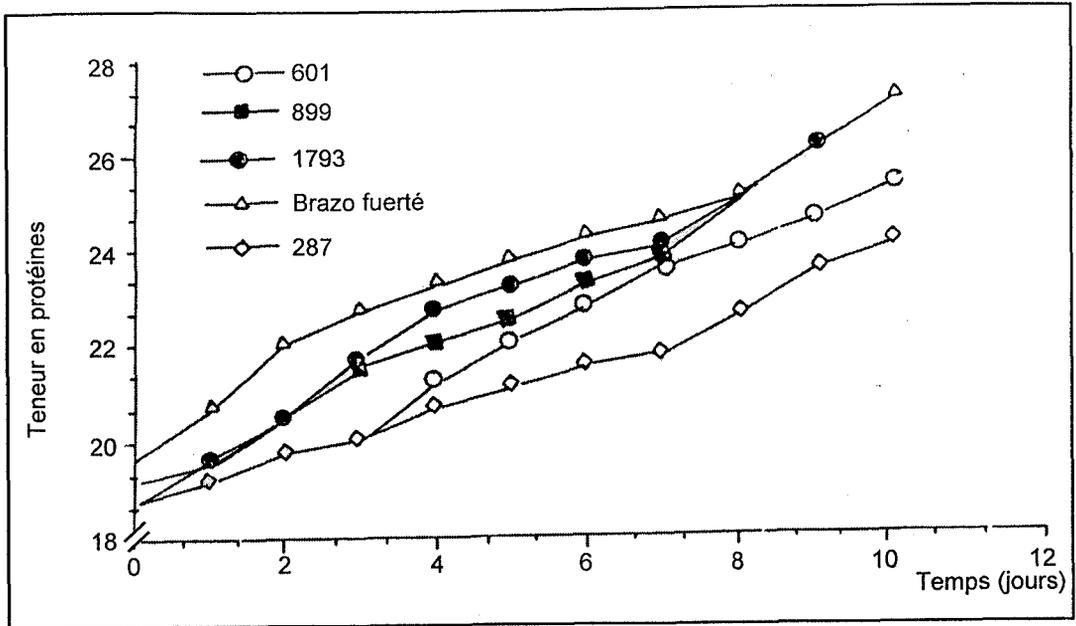


Figure 3 : Evolution de la teneur en protéines des feuilles infectées avec la souche S_1 de *C. gloeosporioides* chez les clones 1793, avec Brazo Fuerté, 899, et 601 de *D. alata*.
Protéin leaves contents of clones 1793, Brazo Fuerté, 899 and 601 of D. alata infected with the S_1 strain of C. gloeosporioides.

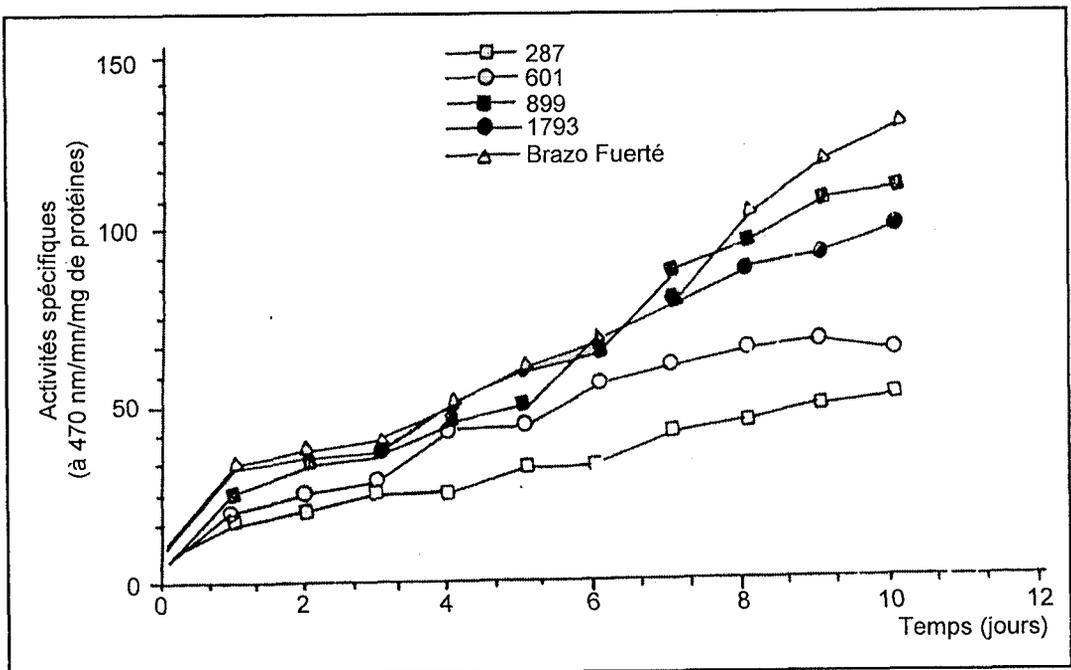


Figure 4 : Evolution de l'activité spécifique des peroxydases des feuilles infectées avec la souche S_1 de *C. gloeosporioides* chez les clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 et 601 de *D. alata*.
Specific activities of peroxydase enzymes in leaves of clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 and 601 of D. alata infected with the S_1 strain of C. gloeosporioides.

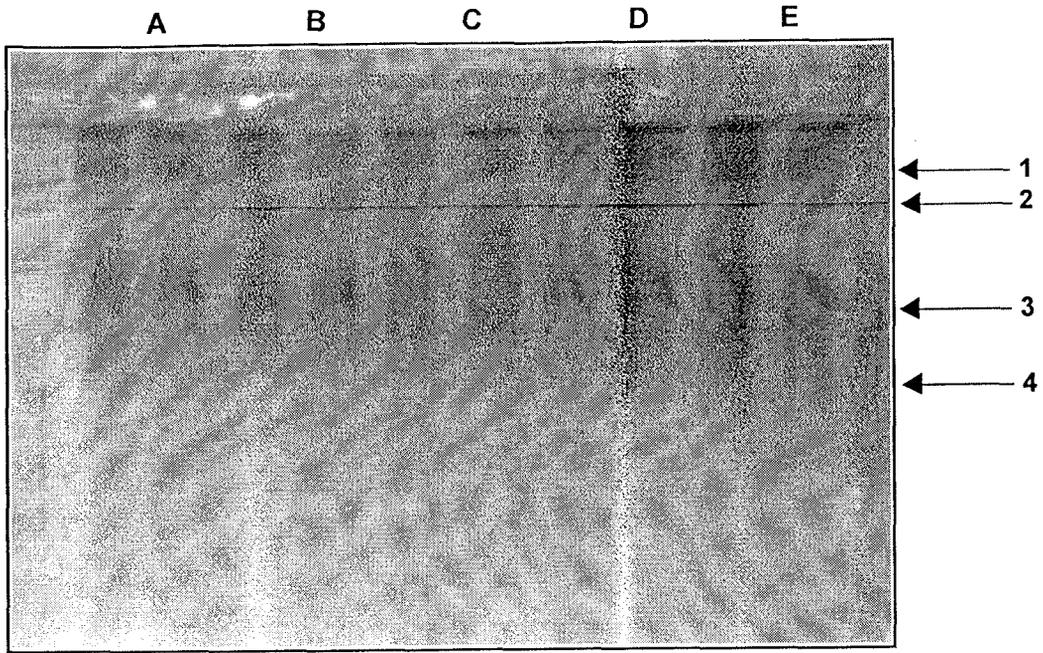


Figure 5 A : Zymogramme des peroxydases 10 j après inoculation avec la souche S₁ de *C. gloeosporioides* aux clones 1793 (A), Brazo Fuerte (B), 899 (C), 287 (D) et 601 (E) de *D. alata*.

Zymogramm of peroxydase enzymes from clones 1793 (A), Brazo Fuerte (B), 899 (C), 287 (D) and 601 (E) of *D. alata* 10 days after inoculation with the S₁ strain of *C. gloeosporioides*.

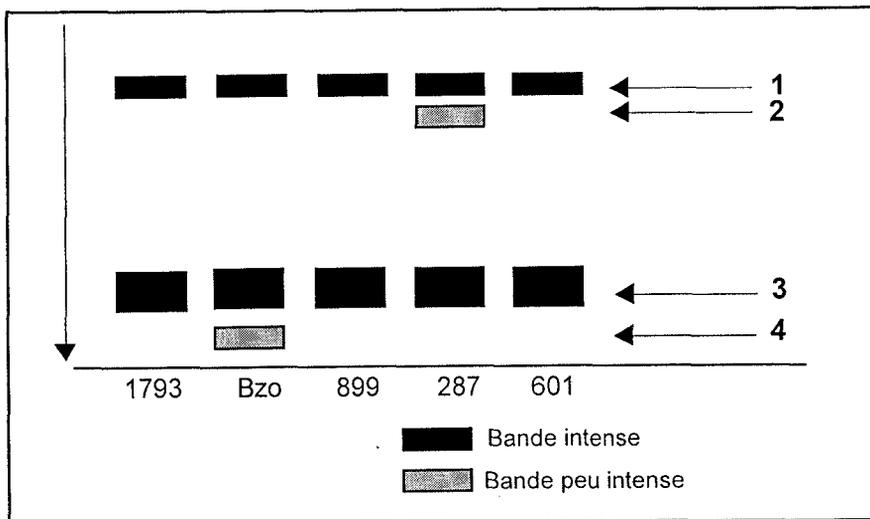


Figure 5 B : Zymogramme des peroxydases 10 j après inoculation par le champignon des feuilles des clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 et 601 de *D. alata*.

Zymogramm of peroxydases of clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 and 601 of *D. alata* 10 days after leaf inoculation.

Influence de l'inoculum S_{22} sur la teneur en protéines, l'activité spécifique des peroxydases et le profil des isoperoxydases.

La teneur en protéines (figure 6) et l'activité spécifique peroxydasique (figure 7) a augmenté chez les feuilles inoculées avec la S_{22} .

Elles ont été plus élevées chez les génotypes n° 1793 et Brazo Fuerté, tolérant et résistant que chez les clones sensibles et très sensibles. Ces paramètres ont été par ailleurs plus élevés chez celles inoculées avec S_{22} que chez les feuilles inoculées avec S_1 et avec l'eau distillée. Le zymogramme des peroxydases a présenté, 6 h après inoculation, le même profil que les feuilles témoins et celles inoculées avec S_1 , mais les bandes ont été plus intenses (figure 8, A et B). Sept jours après inoculation, les cultivars 1793 et Brazo Fuerté ont laissé apparaître une nouvelle activité isoperoxydasique d'intensité faible (figure 9, A et B).

DISCUSSION

Les agressions, qu'elles soient purement mécaniques ou parasitaires, provoquent une augmentation de la teneur en protéine et de l'activité peroxydasique (Geiger *et al.*, 1993. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par d'autres auteurs sur d'autres espèces végétales. Ainsi, Christ et Möisinger (1989), ont montré une augmentation du pool protéique chez les feuilles de tomate infectées par *Phytophthora infestans*, Matthieu *et al.*, (1988) ont montré que les feuilles de tomate, face à l'infection par *Cladosporium fulvum*, synthétisent une grande quantité de protéines intercellulaires.

En ce qui concerne l'influence sur la teneur en protéines totales sur l'activité peroxydasique et le profil isoperoxy-

dasique, il est normal que ces paramètres soient supérieurs à ceux obtenus sur des feuilles non inoculées. L'inoculum S_1 étant pathogène, une double agression a lieu, d'abord mécanique par la blessure occasionnée et parasitaire par l'action symptomatique du champignon. La stimulation de la synthèse des protéines et de l'activité peroxydasique est beaucoup plus efficace dans ce cas de double agression et se traduit, au bout de dix jours, par l'apparition d'une nouvelle bande fine (N° 4) chez le cultivar Brazo Fuerté, plus résistant et donc disposant d'un arsenal biochimique de défense plus important. Jennifer et Hammerschmidt, (1988) ont montré que l'augmentation de cette activité est deux fois plus importante chez les feuilles de Cucurbitacées infectées par *C. lagenarium*, comparativement à celles des feuilles laissées en survie.

Les résultats obtenus sur la teneur en protéine et l'activité peroxydasique avec l'inoculum S_{22} non pathogène, paraissent contradictoires. Il est possible que le biotype non agressif S_{22} du champignon stimulerait plus l'activité des gènes impliqués chez l'hôte. Une autre modalité serait que le biotype agressif S_1 du champignon tout en stimulant quantitativement l'activité des gènes impliqués de la pathogénèse comme le biotype S_1 produirait un inhibiteur ou un detoxifiant des mécanismes de résistance de l'hôte.

Pour vérifier cette hypothèse, il est possible d'utiliser des souches intermédiaires de pathogénie décroissante entre la souche S_1 et la souche S_{22} c'est-à-dire une gamme de souches virulentes, les inoculer à des clones tolérants et à des clones résistants, et comparer les teneurs en protéines les activités peroxydasiques. Or, dans l'état actuel des connaissances sur l'anthracnose de l'igname, il serait plus indiqué de parler de souches agressives de *C. gloeosporioides*, et non de souches virulentes. En conséquence, compte tenu de cela, nos résultats sont préliminaires et les expérimentations antérieures sur une meilleure caractérisation des souches du champignon, par rapport à leurs caractérisations pathogènes devraient permettre de les confirmer.

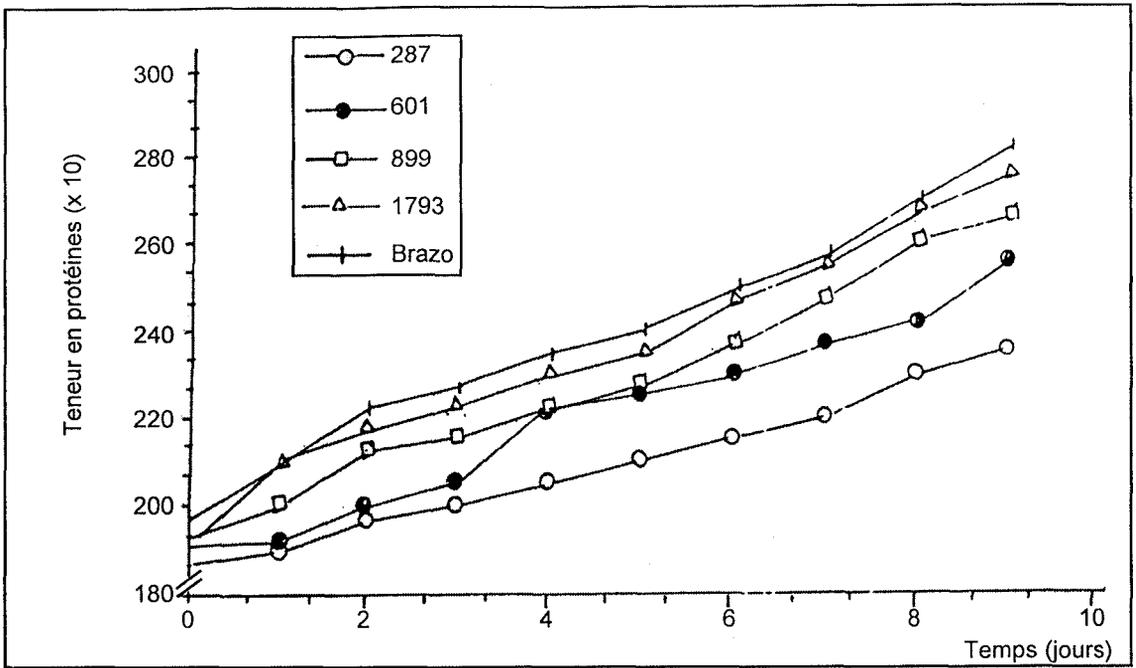


Figure 6 : Evolution de la teneur en protéines des feuilles inoculées avec la souche S_{22} de *C. gloeosporioides* chez les clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 et 601 de *D. alata*.
 Leaves protein contents of clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 and 601 of *D. alata* inoculated with the S_{22} strain of *C. gloeosporioides*.

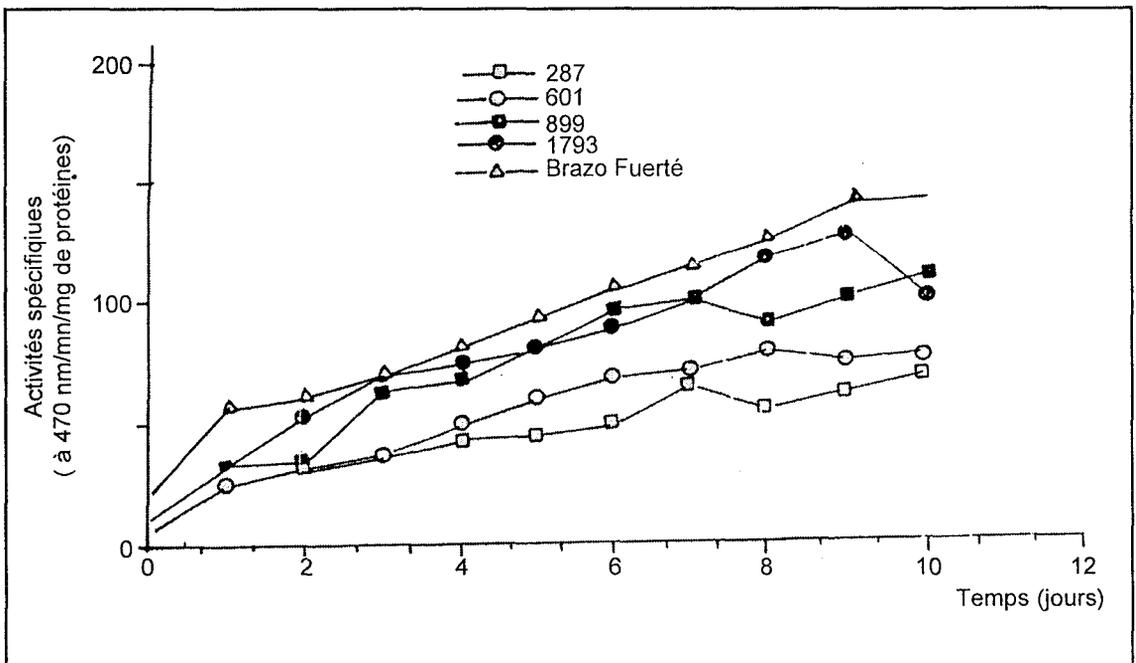


Figure 7 : Evolution de l'activité spécifique peroxydasique des feuilles inoculées avec la souche S_{22} de *C. gloeosporioides* chez les clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 et 601 de *D. alata*.
 Peroxydases specificity leaves activity of clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 and 601 of *D. alata* inoculated with the S_{22} strain of *C. gloeosporioides*.

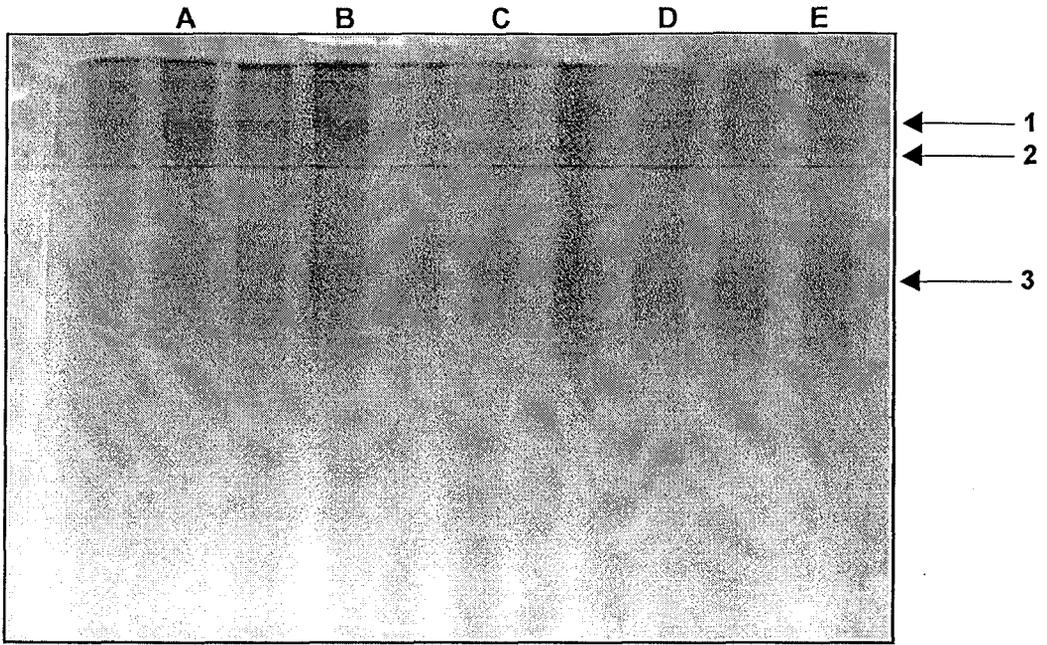


Figure 8 A : Zymogramme des peroxydases, 6 h après inoculation avec la souche S_{22} de *C. gloeosporioides* aux clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 et 601 de *D. alata*.
 Zymogramm of peroxidase enzymes from clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 and 601 of *D. alata* 6 h after inoculation with the S_{22} strain of *C. gloeosporioides*.

A = clone 1793 B = Brazo fuerté C = clone 899 D = 601 E = 287

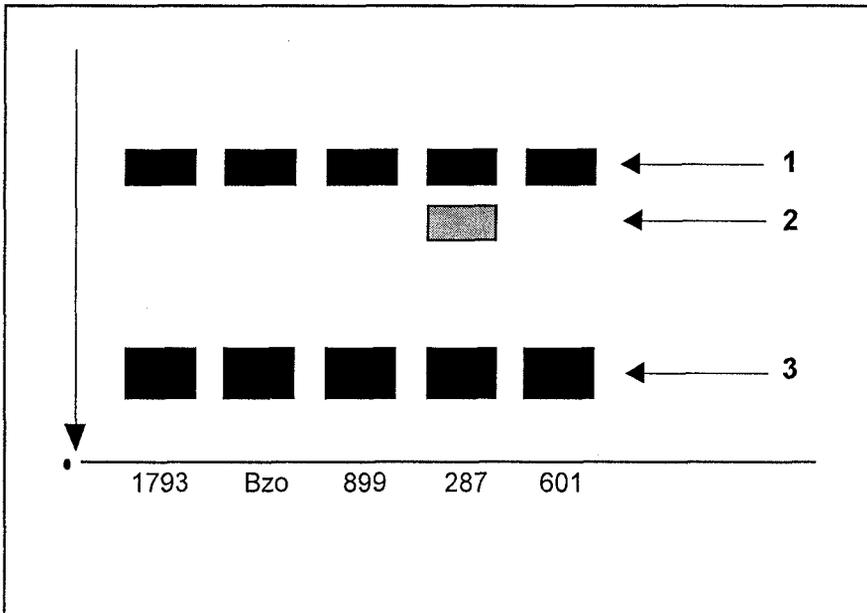


Figure 8 B : Zymogramme des peroxydases, 6 j après inoculation avec la souche S_{22} de *C. gloeosporioides* aux clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 et 601 de *D. alata*.
 Zymogramm of peroxidase enzymes from clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 and 601 of *D. alata* 6 days after inoculation with the S_{22} strain of *C. gloeosporioides*.

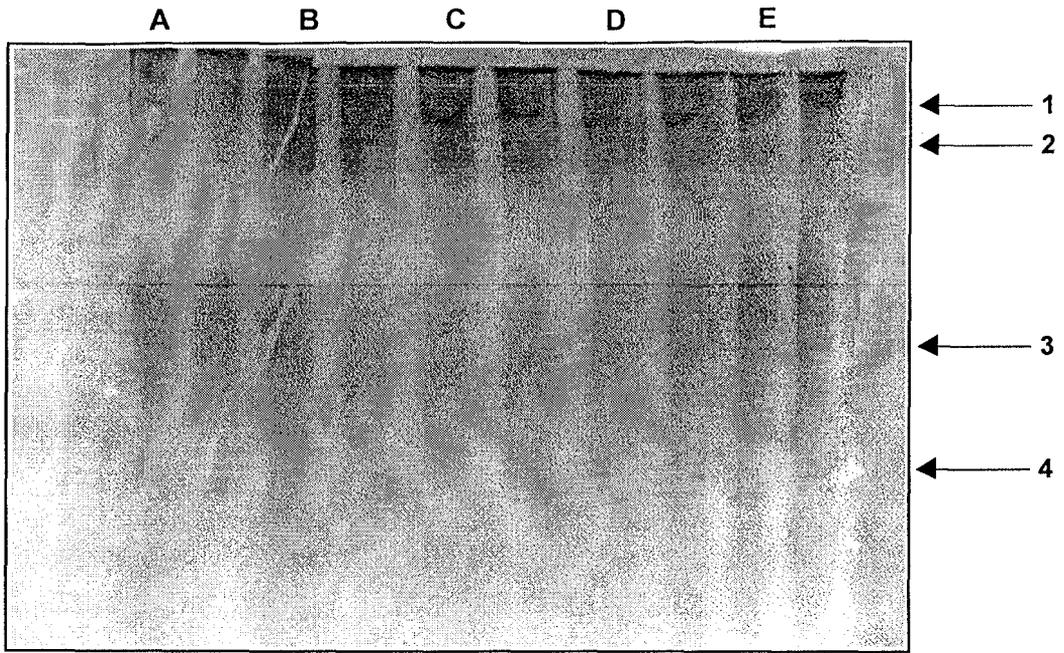


Photo 9 A : Zymogramme des peroxydases 7 j après inoculation avec la souche S_{22} de *C. gloeosporioides* chez les clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 et 601 de *D. alata*.

Zymogramm of peroxydase enzymes from clones 1793, Brazo Fuerté, 899, 287 et 601 de *D. alata* 7 h after inoculation with *C. gloeosporioides*.

A = clone 1793 B = Brazo fuerté C = clone 899 D = 601 E = 287

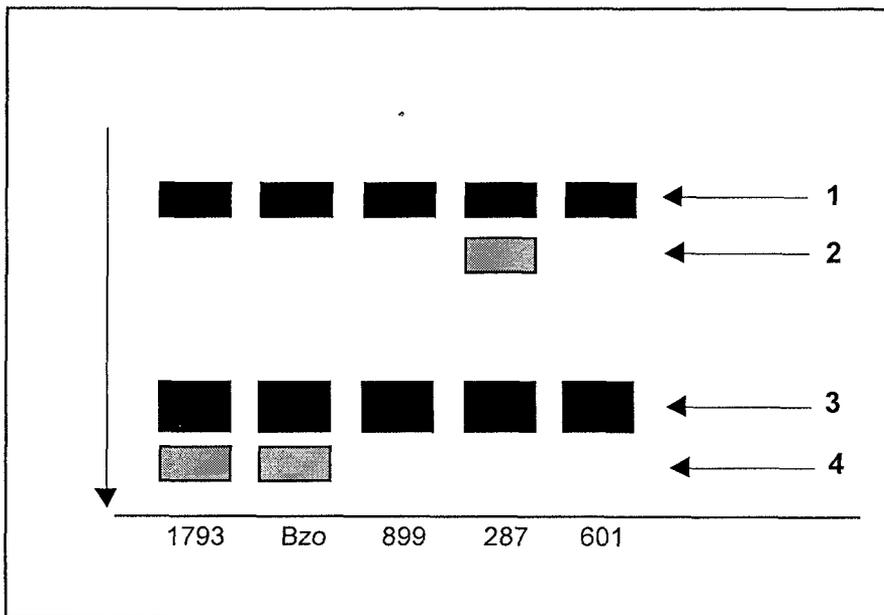


Figure 9 B : Zymogramme des peroxydases, 7 heures après inoculation avec la souche S_{22} de *C. gloeosporioides* aux clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 et 601 de *D. alata*.

Zymogramm of peroxydase enzymes from clones 1793, Brazo Fuerte, 899, 287 and 601 of *D. alata* 7 hours after inoculation with the S_{22} strain of *C. gloeosporioides*.

REFERENCES

- AHOUSSOU (N.). 1989. Etude de l'antracnose de l'igname (*Dioscorea alata*) provoquée par *Colletotrichum gloeosporioides*. Thèse de Doctorat d'Etat : 100 p.
- ASIEDU (R.). 1994. Vers l'amélioration génétique des ignames (*Dioscorea* spp.) en Afrique. Bulletin des plantes tropicales à racines et tubercules, volume 8, n° 1 : 7-9.
- BRADFORD (M. M.). 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry, 72 : 248-154.
- CHRIST (U.) and (E.) MÖSINGER. 1989. Pathogenesis-related proteins of tomato Induction by *Phytophthora infestans* and other biotic and abiotic inducers and correlations with resistance. Physiological and Molecular Plant Pathology, 35 : 53-65.
- DEGRAS (I.). 1986. L'igname, plante à tubercule tropicale. Edition G. P. Maisonneuve. Agence de Coopération Culturelle et Technique : 408 p.
- GEIGER (J. P.), (B.) RIO, (D.) NANDRIS, et (M.) NICOLE. 1989. Peroxydase production in tissues of the rubber tree following infection by root rot fungi. Physiological and Molecular Plant Pathology, : 241-256.
- GEIGER (J. P.), (M.) NICOLE, (A.) TOPAN, (D.) ROBY, (N.) BENHAMON. 1993. Lignification : A defense reaction of trees to root rotting fungi. Mechanism of Plant Defense Responses, 2 : 355. Short article.
- JENNIFER (A.), et (R.) HAMMERSCHMIDT. 1988. Comparative study of acidic peroxydases associated with induced resistance in cucumber, muskmelon and watermelon. Physiological and Molecular Plant Pathology, 33 : 255-261.
- LADET (M.). 1982. Etude de la variabilité enzymatique inter et intra-spécifique par électrophorèse dans le genre *Cucurbita* D.E.A. d'Agronomie (Arboriculture) INRA Avignon-Monfavet : 74 p.
- MATTHIEU (H. A.), (J.) JOOSTEN et (M.) DE WIYY. 1988. Isolation, purification and preliminary characterization of a protein specific for comparable *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*)/tomato interactions. Physiological and Molecular Plant Pathology, 33 : 241-253.
- NADOLNY (L.) et (L.) SEQUEIRA. 1980. Increases in peroxydases activities are not directly involved in induced resistance in tobacco. Physiological and Molecular Plant Pathology, 16 : 1-8.
- NICOLE (M.), (D.) NANDRIN, (S.) DIGBEU, (P.) ZOHOURY. 1990. Pathologie fongique de l'igname en Côte d'Ivoire (enquête 1989). Institut International de Recherche Scientifique pour le Développement en Afrique : 103 p.
- SANOU (H.). 1996. Anthracnose de l'igname : Etude du pouvoir pathogène et recherche d'un mécanisme de défense de l'hôte *Dioscorea alata* L. Thèse de Doctorat 3è cycle : spécialité Génétiques et Amélioration des Plantes). Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Nationale de Côte d'Ivoire, 129 p.
- SMITH (A.) et (R.) HAMMERSCHMIDT. 1988. Comparative study of acidic peroxydases associated with induced resistance in Cucumber, muskmelon and watermelon. Physiological and Molecular Plant Pathology, 33 : 255-262.