Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 87 (1977)

Heft: 1-2

Artikel: Rôle des saponines dans la résistance des plantes aux maladies fongiques

Autor: Defago, Geneviève

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-61658

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Ber. Schweiz. Bot. Ges. *87* (1/2), 79–132 (1977)

Rôle des saponines dans la résistance des plantes aux maladies fongiques

par *Geneviève Défago*

Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich

Manuscrit reçu le 14 décembre 1976

Table des matières

I. Introduction
II. Saponines
1. Constitution chimique, extraction, détermination quantitative
2. Propriétés
3. Répartition dans le règne végétal
4. Répartition dans la plante
5. Biosynthèse, localisation, signification physiologique et biodégradation
6. Régulation de la biosynthèse des saponines
6.1. Influence de la lumière, de la température et des engrais
6.2. Influence de l'âge
6.3. Influence des blessures et interaction avec les infections
6.4. Influence de produits chimiques
7. Toxicité pour les microorganismes et pour les cellules végétales
7.1. Spectre d'organismes
7.2. Sensibilité différentielle des organes de champignon
8. Mécanismes de la toxicité
9. Facteurs influençant le pouvoir fongicide des saponines in vitro
9.1. Structure des molécules de saponines et de stérols
9.2. Température
9.3. Durée d'exposition et quantité de cellules traitées
9.4. Ions Mg^{2+}, K^{+}, Na^{+}, Ca^{2+}
9.5. pH et tampon
9.6. Milieu de culture
9.7. Préculture du champignon
10. Mécanismes de la résistance des champignons in vitro
11. Mise en évidence du rôle des saponines comme substances de défense
11.1 Analyse des phénomènes naturels
11.2. Manipulations expérimentales
12. Fongicides agissant comme les saponines
13. Modèle d'action des saponines comme substances de défense
III. Résumé – Zusammenfassung – Summary
IV. Bibliographie

I. Introduction

Les saponines sont des glucosides; elles sont synthétisées presque exclusivement par les végétaux supérieurs et elles sont davantage caractérisées par leurs propriétés physico-chimiques et biologiques que par leur structure moléculaire. Une de ces propriétés est leur toxicité pour les champignons. La teneur en saponines des tissus végétaux sains est, la plupart du temps, suffisante pour inhiber la croissance de ces microorganismes in vitro. D'autre part, cette teneur augmente souvent sous l'effet des blessures et des infections. De nombreux auteurs se sont donc efforcés de montrer que les saponines sont des substances naturelles de défense des plantes contre les maladies fongiques.

Maintes variations de leur structure chimique rendent les saponines spécifiques d'une espèce végétale, d'une cultivar, d'un organe ou d'un stade de développement. Cette spécificité pourrait ainsi être l'une des explications de la spécificité des maladies fongiques. En effet, une plante est constamment mise en présence de multiples espèces et races de champignons; cependant, seul un nombre restreint de microorganismes peut la rendre malade. Inversement, bien qu'un champignon entre en contact avec de nombreux tissus végétaux, il n'y pénètre que dans un petit nombre de cas et ne les envahit que plus rarement encore.

Les saponines sont en outre l'une des rares substances fongicides dont l'un des mécanismes d'action est, semble-t-il, connu. Ce mécanisme est la formation de complexes avec les stérols de la membrane plasmique des champignons. Ces complexes détruisent la semi-perméabilité cellulaire, ce qui entraîne la mort de la cellule. Les stérols fongiques permettent donc aux saponines des plantes d'agir.

Au contraire des saponines, les stérols sont présents aussi bien chez les végétaux supérieurs que chez les champignons; mais la structure des stérols fongiques est habituellement différente de celle des stérols des plantes supérieures. De plus, la cyclisation du squalène, qui est une étape de la biosynthèse des stérols, a lieu selon des voies différentes chez les champignons et les plantes supérieures.

Cette publication résume, à la lumière de leur valeur phytopathologique, l'état des connaissances actuelles sur les saponines; elle relate, en outre, quelques expériences faites dans nos laboratoires. Ces expériences montrent que les saponines réduisent in vivo le degré de gravité des maladies provoquées par les champignons.

Afin de faciliter la lecture de ce travail, nous donnons ici les définitions des saponines, des stéroides et des stérols que nous utilisons dans ce texte.

Saponines. Nous suivons *Tschesche* et al. (1973b), et définissons les saponines comme l'ensemble des glucosides dont les sucres sont de type courant et dont le noyau aglycone est de nature terpénoide (penta- ou tétracyclique), stéroide ou stéroide-alcaloide; ces glucosides sont fortement hémolytiques, soit immédiatement, soit après hydrolyse. Lorsqu'aucune mention spéciale n'est faite, nous comprenons sous le nom de saponines, les saponines de type monodesmosidique (cf. II.1).

Stéroides. Dérivés du noyau cyclopentano-hydrophénanthrène (noyau stérane).

Stérols. Groupe de stéroides dont l'atome de carbone C 3 est muni d'un groupe hydroxyle et qui possèdent une chaîne latérale aliphatique ramifiée, de 8 à 17 C; les stérols ont souvent une liaison double au C 5.

II. Saponines

1. Constitution chimique, extraction, détermination quantitative.

Constitution chimique. Les saponines sont des hétérosides; elles sont constituées d'un noyau aglycone et d'une partie sucre. Les saponines appartiennent donc au grand groupe des glucosides (tableau 1).

Tableau 1:

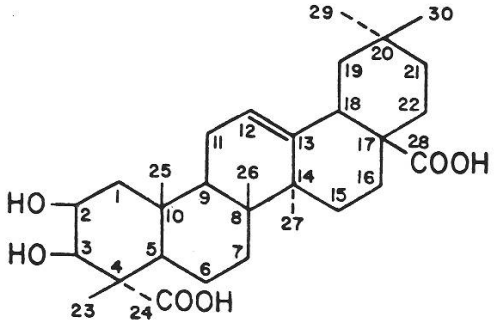
Structure chimique de quelques saponines et noyaux aglycones.

La structure des saponines est donnée sous une forme raccourcie; a) les unités de sucre sont abrégées de la façon suivante: L-arabinose: L-ar, D-galactose: D-ga, D-glucose: D-gl, acide D-glucoronique: D-glr, L-rhamnose: L-rh, D-xylose: D-xy. b) la configuration des liaisons glycosidiques est indiquée dans les cases par la notation α et β; la structure de toutes les unités de sucre est de type pyranoside; les atomes de C impliqués dans la liaison des unités de sucre entre elles sont indiqués par les nombres entre les cases.

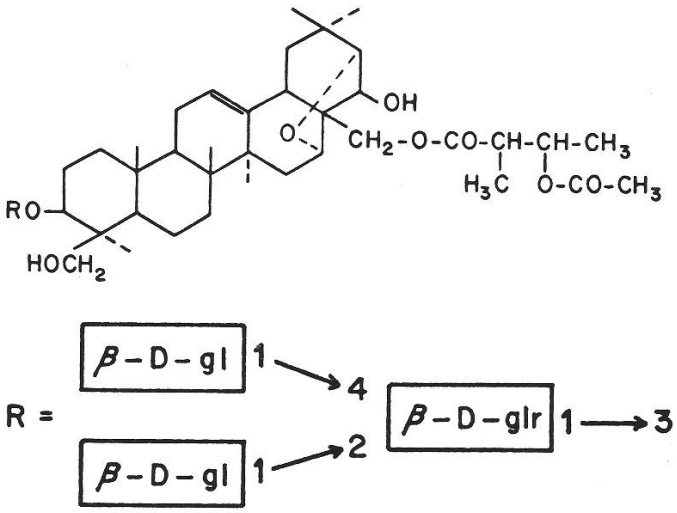
De plus, nous indiquons le nom des plantes et l'organe où la structure des saponines a été élucidée.

La structure des avénacines provient des travaux de *Tschesche* et al. 1973a et *Burkhardt* et al. 1964; celle de la tomatine est tirée de *Roddick* 1974a; celle des autres saponines se trouve chez *Tschesche* et al. 1973b.

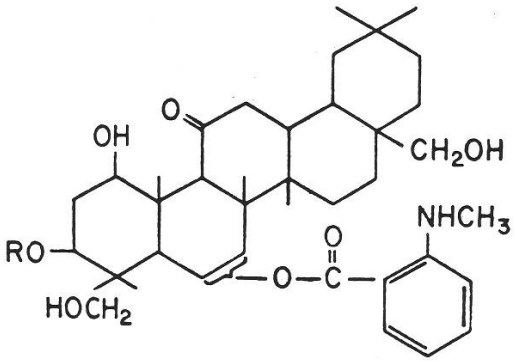
acide médicagénique:
noyau aglycone



aescine:
saponine monodesmosidique triterpénoïdale (*Aesculus hippocastanum,* fruits)



avénacine A:
saponine monodesmosidique triterpénoïdale; aglycone: avénamine A (*Avena sativa,* racines).

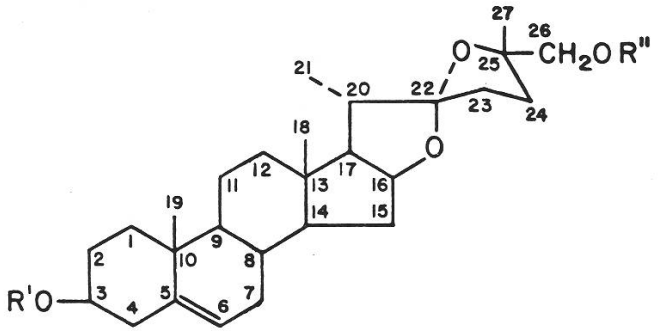


R = [β-D-gl] 1 ⟶ 4 [β-D-gl] 1 ⟶ 2 [α-L-ar] 1 ⟶ 3

avénacine B:
saponine monodesmosidique triterpénoïdale; aglycone: avénamine B (*Avena sativa,* racines). La structure de l'avénamine B est semblable à celle de l'avénamine A mais un groupe CH_2OH de cet aglycone est remplacé par un groupe CH_3.

R = [β-D-gl] 1 ⟶ 4 [β-D-gl] 1 ⟶ 3

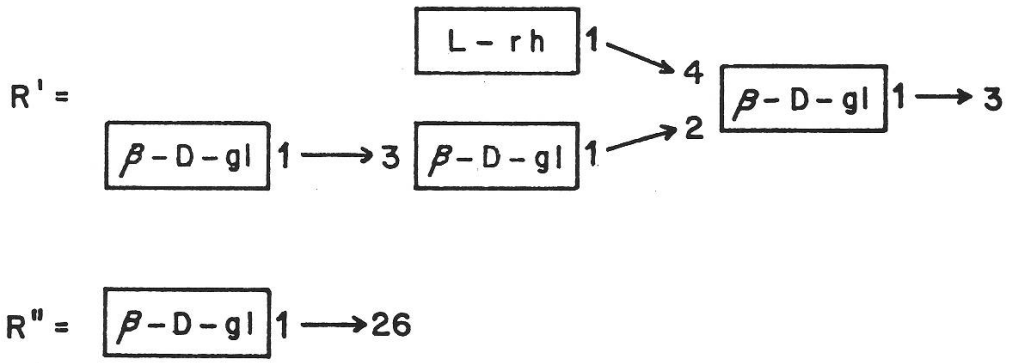
avénacoside A:
saponine bidesmosidique stéroïdale (*Avena sativa,* feuilles)



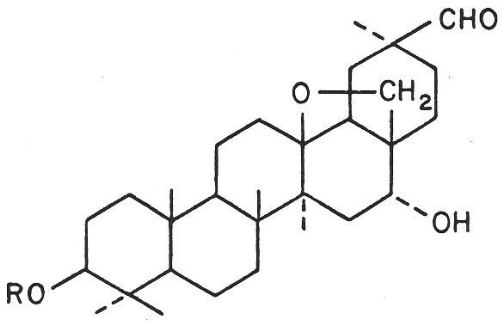
R' = [L-rh] 1 ⟶ 4 ; [β-D-gl] 1 ⟶ 2 ; [β-D-gl] 1 ⟶ 3

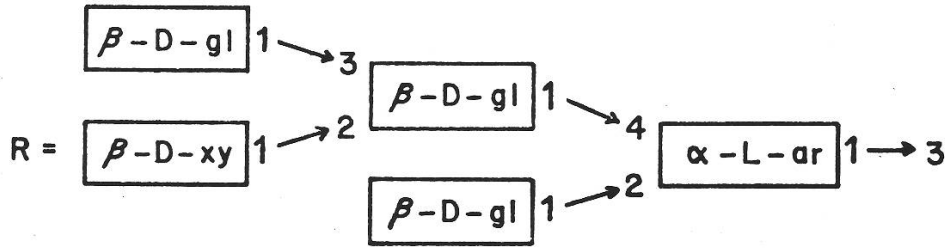
R" = [β-D-gl] 1 ⟶ 26

avénacoside B:
saponine bidesmosidique stéroïdale (*Avena sativa,* feuilles)
l'aglycone de l'avénacoside B est identique à celui de l'avénacoside A

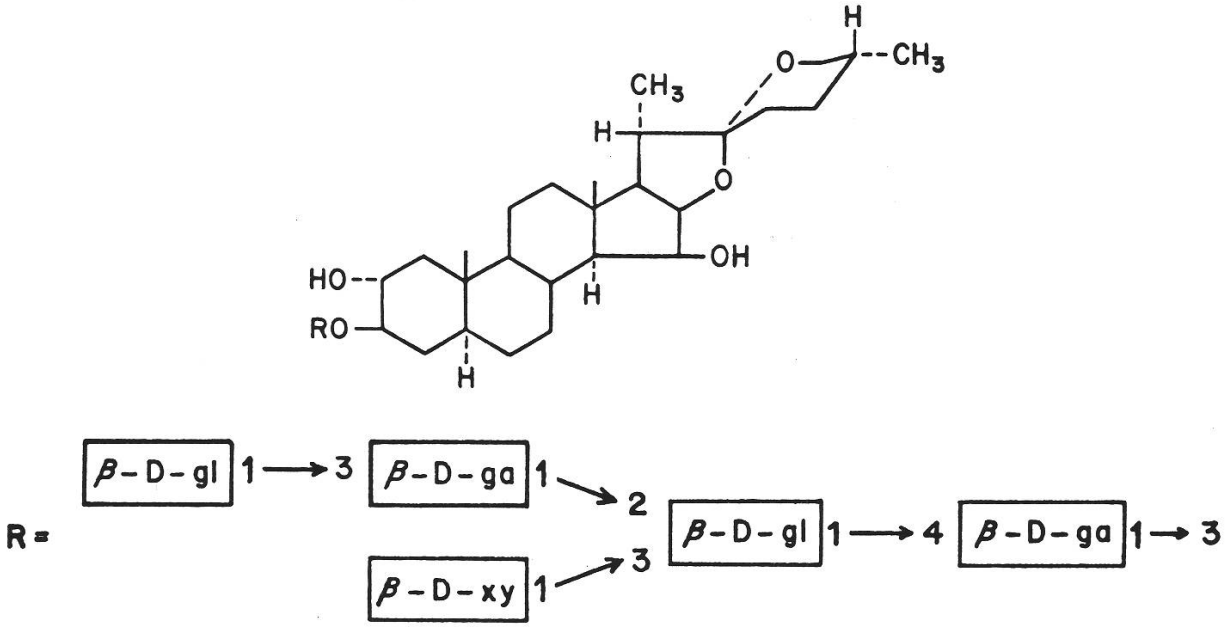


cyclamine:
saponine monodesmosidique triterpénoïdale (*Cyclamen europeum,* bulbes)

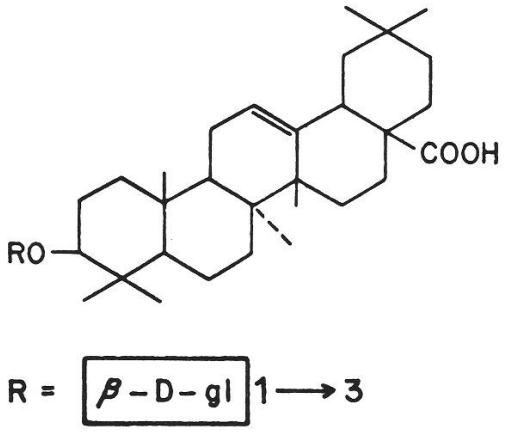




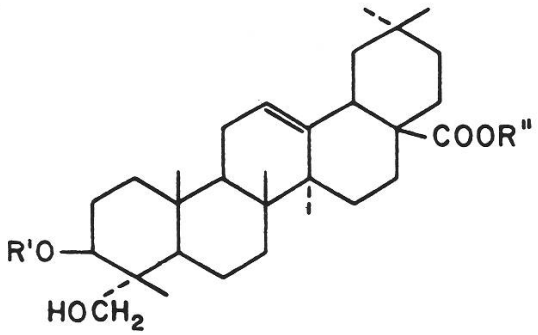
digitonine:
saponine monodesmosidique stéroïdale (*Digitalis purpurea,* graines)



glucoside de l'acide oléanique:
saponine monodesmosidique triterpénoïdale; aglycone: acide oléanique (*Beta vulgaris,* racines).



hédérasaponine C (syn. kalopanaxsaponine B):
saponine bidesmosidique triterpénoïdale (*Hedera helix,* feuilles)

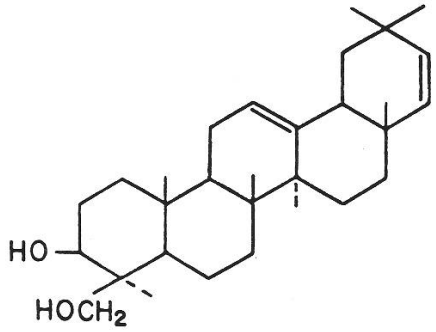


R' = [α-L-rh] 1 ⟶ 2 [α-L-ar] 1 ⟶ 3

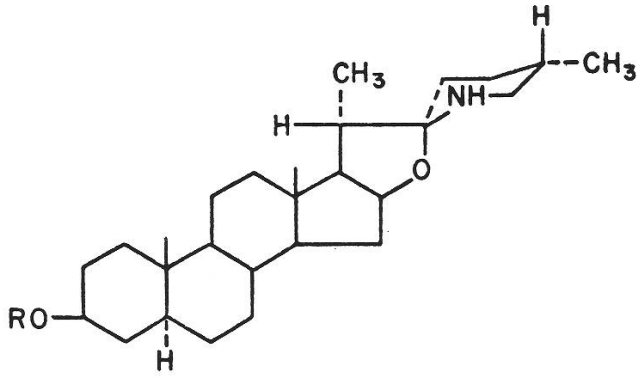
R" = [α-L-rh] 1 ⟶ 4 [β-D-gl] 1 ⟶ 6 [β-D-gl] 1 ⟶ 28

α hédérine:
saponine monodesmosidique triterpénoïdale (*Hedera helix,* feuilles)
structure identique à celle de l'hédérasaponine C mais R" = H

soyasapogénol C:
noyau aglycone triterpenoïdal



tomatine:
saponine alcaloïdale de type stéroïdal (*Solanum Lycopersicum*)



R = [β-D-gl] 1 ⟶ 2 / [β-D-xy] 1 ⟶ 3 [β-D-gl] 1 ⟶ 4 [α-D-ga] 1 ⟶ 3

Suivant la structure du noyau aglycone (nommé aussi sapogénine) on distingue:

- les saponines stéroïdales (squelette à 27 C);
- les saponines triterpénoïdales (squelette à 30C);
- les saponines alcaloïdales de type stéroïdal, chez qui le squelette renferme un atome d'azote. Ces saponines sont aussi nommées saponines basiques; dans la suite de ce travail, nous les mentionnons sous le nom de saponines alcaloïdales.

Le nombre et la position des groupes hydroxyles, la place de l'atome d'azote, la présence occasionnelle de groupes d'atomes de carbone attachés au squelette, ainsi que des modifications de configuration, entraînent une très grande variété de noyaux aglycones.

Suivant la structure de la partie sucre, on distingue:

- les saponines monodesmosidiques; ce sont les saponines comprenant une seule chaîne de sucre attachée normalement à l'atome de carbone C 3;
- les saponines bidesmosidiques, ou saponines comprenant deux chaînes de sucre; l'une est attachée au C 3 et l'autre soit au C 26 (saponines stéroïdales), soit au C 28 (saponines triterpénoïdales).

Les saponines bidesmosidiques se laissent facilement transformer en saponines monodesmosidiques par l'hydrolyse de la chaîne de sucre qui est attachée au C 26 ou au C 28.

Les saponines monodesmosidiques stéroïdales sont appellées aussi saponines de type spirostanol. Les saponines bidesmosidiques stéroïdales peuvent être divisées en saponines de type furostanol et en saponines de type nuatigénine (*Tschesche* et al. 1973b).

La chaîne de sucre attachée au C 3 compte de 1 à 10 unités d'oses associés. Chez les saponines stéroïdales, on trouve principalement du glucose, du galactose, du rhamnose, du xylose et de l'arabinose. Le D-glucose, le D-galactose, le DL-arabinose, le D-xylose, le rhamnose, le 6-desoxy-D-glucose, l'acide uronique, l'acide D-glucoronique, l'acide saccharique et l'acide D-galacturonique ont été isolés des saponines à noyau terpénoïdal.

La chaîne de sucre attachée au C 26 est, dans la cinquantaine de cas étudiés jusqu'à présent, constituéé d'une seule molécule de D-glucose. La chaîne de sucre attachée au C 28 peut être aussi compliquée que celle attachée au C 3.

Il existe donc un grand nombre possible de chaînes de sucre. Celles-ci se combinent avec des noyaux aglycones, eux-mêmes très divers. La formule des saponines peut donc varier beaucoup, ce qui explique et permet la spécificité des saponines.

Les dernières revues sur la chimie des saponines ont été écrites par *Agarwal* et al. (1974), *Tschesche* et al. (1973b), *Heftmann* (1968 et 1967), *Schreiber* (1968), *Boiteau* et al. (1964), *Prelog* et al. (1960). Nous renvoyons le lecteur à ces ouvrages pour plus de détails.

Extraction. Les saponines sont mises en évidence par leurs propriétés caractéristiques (cf. II.2); elles sont extraites par l'eau et par l'alcool chauds des tissus broyés (*Tschesche* et al. 1973b, *Basu* et al. 1967); souvent elles sont précipitées par le cholestérol avant d'être soumises à d'autres étapes de purification. Les saponines peuvent être analysées par chromatographie sur couche bidimensionnelle; elles sont alors révélées soit par une réaction chimique qui colore le noyau aglycone, soit par l'hémolyse des érythro-

cytes enfermés dans une couche de gélatine. La purification et l'analyse de la structure chimique des saponines sont complexes (voir *Tschesche* et al. 1973b); nombre de travaux s'effectuent non avec une saponine pure, mais avec un mélange de saponines. Dans ce cas, la saponine dont la teneur est la plus élevée, donne son nom au mélange (*Birk* 1969).

Détermination quantitative. La détermination chimique quantitative d'une saponine dans un tissu comporte une longue suite d'étapes. Ceci introduit inévitablement plusieurs sources d'inexactitude, surtout lorsque la quantité de tissus extraits est faible. Quand une saponine connue est étudiée pour ses propriétés biologiques, en particulier pour son pouvoir fongicide, on peut mesurer sa teneur dans un tissu en utilisant des tests biologiques; cette méthode est plus rapide et plus précise. Les saponines sont dans ce cas, extraites des tissus préalablement dégraissés; on teste ensuite leur pouvoir hémolytique en s'assurant que celui-ci est bien annulé en présence de cholestérol ou d'un autre stérol fongique exogène (*Défago* et al. 1975a, *Lüning* 1975, *Lüning* et al. 1975, *Schlösser* 1971, Pharmacopea helvetica 1971, *Büchi* et al. 1950). L'index hémolytique (I.H.) permet alors de mesurer la concentration de la saponine en question dans les tissus. Il faut pourtant remarquer que l'I.H. d'un mélange de saponines est parfois plus faible que celui de la somme des I.H. des saponines pures; d'autre part, le taux d'impureté peut influencer fortement le pouvoir hémolytique d'une saponine. Ainsi la cyclamine pure à 98% possède un I.H. de 360'000, alors que la cyclamine à 100% de pureté a un I.H. de 640'000 (*Tschesche* et al. 1964). Ces imprécisions n'entachent pourtant guère l'estimation du pouvoir fongicide d'un tissu lorsque celui-ci est mesuré par rapport à un système de référence. Pour déterminer la teneur en saponines d'un tissu, on se sert parfois d'autres propriétés des saponines, comme la formation de mousse stable, la formation de complexes avec le cholestérol, le rapport entre la teneur en sucre et en noyau aglycone, l'inhibition de la croissance du *Trichoderma viride* et de la germination des graines de laitue (*Heftmann* et al. 1973, *Birk* 1969, *Pedersen* et al. 1967, *Zimmer* et al. 1967).

2. *Propriétés*

Saponines monodesmosidiques. Les saponines de ce groupe ont en commun de nombreuses propriétés physico-chimiques et biologiques; celles-ci sont plus ou moins prononcées suivant la structure chimique de la molécule. Les plus importantes sont la diminution de la tension superficielle, la formation de mousse stable, la formation de complexes avec les stérols et les stéroïdes, le goût amer, l'hémolyse des érythrocytes, la toxicité pour les animaux à sang froid, pour les protozoaires, pour les champignons, pour certains insectes, bactéries et virus. De plus, beaucoup de saponines ont un effet cytostatique et cancérostatique (*Tschesche* et al. 1973b et 1965). De fortes quantités de saponines dans la terre [1]) peuvent inhiber ou retarder la germination des semences; d'autre part, la présence de saponines à haute dose dans le fourrage cause parfois des troubles aux ruminants. Les tubercules de la pomme de terre sont considérés comme impropres à la consommation lorsque leur teneur en solanine dépasse 20 mg par 100 g de poids frais (*Jadhav* et al. 1975).

[1]) **Ces saponines proviennent de la décomposition dans le sol des résidus végétaux des plantes synthétisant des saponines.**

Les saponines ont trouvé de nombreuses applications dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire, la construction, la photographie et les produits de beauté (*Birk* 1969).

Saponines bidesmosidiques. Ce groupe de saponines diminue la tension superficielle; il ne possède, par contre, pas les autres propriétés typiques des saponines monodesmosidiques.

3. Répartition dans le règne végétal

Les saponines sont synthétisées par plus de 500 espèces appartenant à au moins 80 familles. Apparues pour la première fois dans l'évolution chez les *Equisétacées,* les saponines sont l'apanage des végétaux; toutefois, on les a également mises en évidence chez certains Echinodermes (*Echinodermata Asteroidea* et *Holothurioidea; Kitagawa* et al. 1976, *Hegnauer* 1962 à 1973, *Tschesche* et al. 1973b). Parmi les plantes et les arbres de grande culture qui synthétisent des saponines, on peut citer:

- pour les saponines triterpénoïdales, les betteraves *(Beta vulgaris),* la luzerne *(Medicago sativa),* le trèfle *(Trifolium pratense),* l'épinard *(Spinacia oleracea),* le soya *(Glycine soya),* l'arachide *(Arachis hypogea),* le théier *(Thea sinensis)* et le marronier d'Inde *(Aesculus hippocastanum);*
- pour les saponines stéroïdales, l'asperge *(Asparagus officinalis)* et l'avoine *(Avena sativa);*
- pour les saponines alcaloïdales, la tomate *(Solanum Lycopersicum)* et la pomme de terre *(Solanum tuberosum).*

Rappelons ici que la racine de saponaire *(Saponaria officinalis)* a été utilisée pendant des siècles comme savon. C'est d'ailleurs de saponaire que vient le terme de saponine, terme appliqué aux substances végétales qui forment une mousse stable dans l'eau.

Les saponines peuvent être caractéristiques d'un genre, d'une espèce ou seulement d'un cultivar; les différents cultivars se différencient entre eux non par l'absence ou la présence de saponines dans leur tissus, mais par la nature chimique des molécules de saponines synthétisées. Prenons quelques exemples de cette spécificité:

- la tomatine n'a été extraite que du genre *Solanum* (*Roddick* 1974a);
- les avénacines ne sont probablement synthétisées que par l'avoine et peut-être par l'*Arrhenaterum elatius,* d'ailleurs très proche du point de vue systématique (*Tschesche* et al. 1973a, *Turner* 1953);
- la luzerne ‚Du Puits' synthétise une trentaine de saponines dont les noyaux aglycones dérivent de l'acide médicagénique; au contraire, les noyaux de la luzerne ‚Lanothan' sont d'un type différent: le type soyasapogénol (*Berrang* et al. 1974).

Notons par contre, que chez le soya, il n'existe pas de différences entre les saponines des nombreux cultivars (*Birk* 1969).

Une plante peut contenir plusieurs saponines différant entre elles par la structure du noyau aglycone et/ou de la chaîne de sucre. Ainsi, chez le genre *Solanum,* les saponines alcaloïdales peuvent être accompagnées de saponines stéroïdales (*Wolters* 1965); par contre, la luzerne ‚Lanothan' synthétise une trentaine de saponines dont plusieurs ont un noyau aglycone semblable (*Berrang* et al. 1974).

4. Répartition dans la plante

Tous les organes d'une plante peuvent contenir des saponines. Les organes d'une même plante se différencient parfois par leur teneur quantitative et qualitative en saponines; les différences sont probablement dues à une synthèse séparée dans chaque organe (cf. II.5). La teneur en saponines semble être contrôlée par un système polygénique (*Sanford* et al. 1972); elle est normalement de quelques pour-cent, mais peut varier de 0,01 à 20% du poids sec (*Hegnauer* 1963 à 1972).

La teneur en saponines de la plante est la plus élevée aux endroits de grande croissance, comme la région méristématique des racines, la partie apicale des scions, les yeux de la pomme de terre, les graines en formation, les fruits verts de la tomate (*Roddick* 1974a et b, *Hauser* 1961, *Turner* 1960b, *Sander* 1956, *Wolf* 1946). La teneur des feuilles en saponines est normalement plus élevée que celle des tiges; chez de nombreuses espèces, comme le soya et la luzerne, les graines sont l'organe où s'accumule le plus de saponines (*Roddick* 1974a, *Schlösser* 1971, *Paquin* 1966, *Kern* 1952, *Wolf* 1946).

Les cultures de cellules végétales (callus) synthétisent nettement moins de saponines que les organes d'où elles proviennent; les cultures d'organes contiennent par contre des saponines en quantités relativement élevées (*Roddick* 1974a).

On trouve parfois des saponines dans la rhizosphère de certaines plantes comme la luzerne par exemple; ces saponines proviennent de la décomposition des tissus et inhibent la germination des semences (*Shany* et al. 1970, *Birk* 1969). Les saponines sont normalement localisées dans la surface des organes (cf. II.6.3). Cependant, chez les semences du poivron, les saponines semblent être enfermées à l'intérieur des tissus, dans les grains d'aleurone (*Gál* 1965).

Les saponines peuvent être spécifiques d'un organe; les différents organes se différencient non par l'absence ou la présence de saponines dans leurs tissus, mais bien par la nature chimique des molécules synthétisées. Ainsi, les racines des plantes ont parfois des saponines de structure chimique différente des saponines des tiges; ces différences peuvent toucher la partie sucre de la molécule (tel est le cas de la luzerne; *Shany* et al. 1970) ou la molécule entière (noyau aglycone et partie sucre): les racines de l'avoine, par exemple, synthétisent des saponines monodesmosidiques, triterpénoïdales, alors que les tiges renferment des saponines bidesmosidiques stéroïdales (*Lüning* 1975).

5. Biosynthèse, localisation, signification physiologique et biodégradation

Biosynthèse. Le point de départ de la biosynthèse du noyau stéroïdal et terpénoïdal est l'acétyl CoA. Cette biosynthèse passe par la cyclisation du squalène; celle-ci s'effectue selon des modes différents chez les champignons et les plantes supérieures (*Weete* 1973). On suppose que la synthèse des noyaux de type alcaloïdal a lieu à partir des noyaux de type stéroïdal de même configuration; la synthèse de ces noyaux a lieu partiellement au niveau des microsomes. L'origine de l'atome d'azote demeure toutefois inconnue. Aucune indication n'existe non plus à propos de la biosynthèse de la partie sucre.

La synthèse des saponines semble avoir lieu indépendamment dans chaque organe; en effet, les racines des plantes contiennent parfois des saponines de structure chimique très différente de celle des saponines des tiges (cf. II.4). De plus, le porte greffe n'influence pas la teneur en saponines des greffons (*Sander* 1956).

Localisation. La localisation cellulaire demeure incertaine; on admet généralement, sans preuves expérimentales récentes et convaincantes, que les saponines sont entreposées dans les vacuoles, à la fin de leur biosynthèse; il est aussi possible qu'elles soient partiellement dissoutes dans le cytoplasme ou liées soit à la membrane cellulaire, soit à celle des organites (*Roddick* 1976b, *Akahori* et al. 1970, *Blunden* et al. 1965). D'autres localisations devraient pouvoir être envisagées, puisque certaines observations suggèrent que les saponines alcaloïdales sont partiellement transportées dans le système vasculaire (*Sander* 1956, *Kern* 1952), ou bien qu'elles diffusent au travers des tissus (*Zitnak* et al. 1970).

Signification physiologique. La signification physiologique des saponines est encore très hypothétique. Les saponines sont considérées soit comme des substances de défense contre les insectes, les nématodes, les champignons, certaines bactéries et virus; soit comme des synergistes d'hormones de croissance; soit comme des réserves d'hydrate de carbone; soit encore comme des produits inutiles du métabolisme secondaire (*Jadhav* et al. 1975, *Roddick* 1975b et 1974a, *Tschesche* et al. 1973b, *Birk* 1969). Les saponines monodesmosidiques constitueraient la forme de dépôt des saponines bidesmosidiques; celles-ci, plus facilement solubles dans l'eau, seraient transportées à l'intérieur de la plante, sur le lieu d'attaque des microorganismes par exemple (*Tschesche* et al. 1973b).

Biodégradation. Les plantes dégradent souvent leurs saponines en vieillissant (cf. II.6.2); les mécanismes de cette dégradation sont très peu connus. Chez la tomate et les tubercules de la pomme de terre, on a toutefois pu mettre en évidence des enzymes capables d'hydrolyser les molécules de saponines ou de dégrader leur noyau aglycone (*Zacharius* et al. 1975, *Sander* 1956). Les hydrolases semblent être relativement spécifiques. Ainsi, une hydrolase des feuilles de la tomate est capable de dégrader la tomatine mais non la démissine et la solanine (*Prokoshev* et al. 1956). La dégradation de la tomatine dans les fruits mûrs de la tomate semble suivre une autre voie, celle de la transformation du noyau aglycone en allopregnenolone; cette transformation a lieu probablement sans hydrolyse préalable du noyau aglycone (*Heftmann* et al. 1972).

6. Régulation de la biosynthèse des saponines

6.1. Influence de la lumière, de la température et des engrais.

Lumière. Certaines conditions d'éclairage et, en particulier certaines longueurs d'ondes de la lumière visible, favorisent parfois la synthèse des saponines chez les plantes entières (*Lüning* 1975, *Goth* et al. 1969, *Paseshnichenko* 1957, *Sander* 1956).

Chez la pomme de terre, la lumière augmente plus la teneur en chaconine qu'en solanine (*Paseshnichenko* 1957). D'autre part, le verdissement des tubercules de ce végétal est accompagné d'une forte synthèse de saponines alcaloïdales (*Jadhav* et al. 1975, *Conner* 1937).

Température. La synthèse des saponines, sous l'influence des blessures, est fonction de la température chez les tubercules de la pomme de terre (cf. II.6.3.; *Currier* et al. 1975).

Engrais. Les engrais azotés diminuent la teneur en saponines alcaloïdales par gramme de matière sèche chez la pomme de terre (*Nowacki* et al. 1975).

6.2. Influence de l'âge.

La teneur en saponines d'un organe atteint sa valeur la plus élevée lorsque cet organe est en état de forte croissance. Cette teneur diminue ensuite avec la maturation et la sénescence; les diverses saponines d'un organe ne disparaîssent pas à la même vitesse. L'influence de l'âge sur la synthèse et la dégradation des saponines a été le mieux étudiée chez la pomme de terre et chez la tomate; quelques indications existent pour d'autres espèces végétales.

Pomme de terre. Lors de la croissance des jeunes plantules, la teneur en saponines dimunue avec l'âge; la teneur en chaconine baisse plus rapidement que celle en solanine chez certains cultivars (*Paseshnichenko* 1957). D'autre part, les feuilles perdent les 5/6ièmes de leur teneur en saponines entre le premier et le quatrième mois de leur croissance; cette perte atteint donc 1,3 mg par gramme de tissu frais (*Sinden* et al. 1973, *Wolf* 1946).

Tomate. La tomatine est absente des graines dormantes; elle apparaît par contre immédiatement dans les racines en formation, en quantité relativement élevée (*Roddick* 1974a). Le pourcentage de tomatine dans la matière sèche des racines tend à diminuer dans les jours suivant la germination (*Défago* et al. 1975b). Les fruits verts contiennent jusqu'à 500 ppm de tomatine; celle-ci disparaît presque entièrement au cours de la maturation (*Schlösser* 1975, *Verhoeff* et al. 1975, *Sander* 1956).

Autres espèces végétales. Pendant les premiers jours de croissance de la plantule, la teneur en saponines des racines augmente chez la luzerne et la betterave sucrière, mais diminue chez l'avoine (*Défago* et al. 1975b, *Lüning* 1975). D'autre part, la plantule entière de la digitale pourpre *(Digitalis purpurea)* voit sa teneur en sapogénine diminuer au cours du premier mois de croissance (*Evans* et al. 1972).

6.3. Influence des blessures et interaction avec les infections.

Sous l'effet des blessures, les saponines bidesmosidiques peuvent être transformées en saponines monodesmosidiques, donc toxiques. De plus, la teneur en saponines monodesmosidiques d'un tissu dépourvu de saponines bidesmosidiques peut augmenter, et ces substances peuvent faire leur apparition dans des tissus préalablement dépourvus de saponines. Cette augmentation est parfois favorisée, parfois inhibée par les infections. Les mécanismes de ces interactions ont été étudiés pour quelques saponines bidesmosidiques et pour certaines saponines alcaloïdales; quelques rares indications existent pour les autres types de saponines. Nous résumons ci-après les principaux résultats (cf. aussi II. 11.1).

Saponines bidesmosidiques. Le lierre synthétise différentes saponines terpénoïdales de type bidesmosidique; l'une d'entre elles (la plus abondante) est l'hédérasaponine C. Cette saponine perd une chaîne de sucre lorsqu'elle est traitée in vitro par un broyat de tissus et elle se transforme en une molécule de α-hédérine; cette molécule est de type monodesmosidique. La transformation de l'hédérasaponine C en α-hédérine peut être inhibée par le filtrat de culture de certains champignons et les extraits de feuilles de lierre infectées par ces champignons (*Schlösser* 1973b). Les saponines bidesmosidiques des feuilles de l'avoine et du *Dioscorea floribunda* peuvent aussi être transformées dans leur forme monodesmosidique par les broyats des tissus qui les synthétisent (*Lüning* et al. 1975, *Joly* et al. 1969).

Saponines alcaloïdales. Chez la pomme de terre intacte, les saponines sont localisées dans la pelure (*Allen* et al. 1968). Sous l'effet des blessures, la teneur totale en saponines augmente et les saponines font leur apparition dans les couches sous-jacentes de la pelure. Cette augmentation est de plus en plus faible en profondeur; elle dépend du cultivar (tableau 2, figure 1; *Shih* et al. 1973b, *Locci* et al. 1967, *McKee* 1955).

Tableau 2:

Localisation des saponines alcaloïdales (α-solanine et α-chaconine) dans les tubercules sains de la pomme de terre (d'après *Allen* et al. 1968).

section de tissu	μmoles de saponines par g de poids frais	
	cultivar ‚Russet Burbank'	‚Kennebec'
premier mm de pelure	535	1110
cortex	14	41
région périmedullaire	0	0

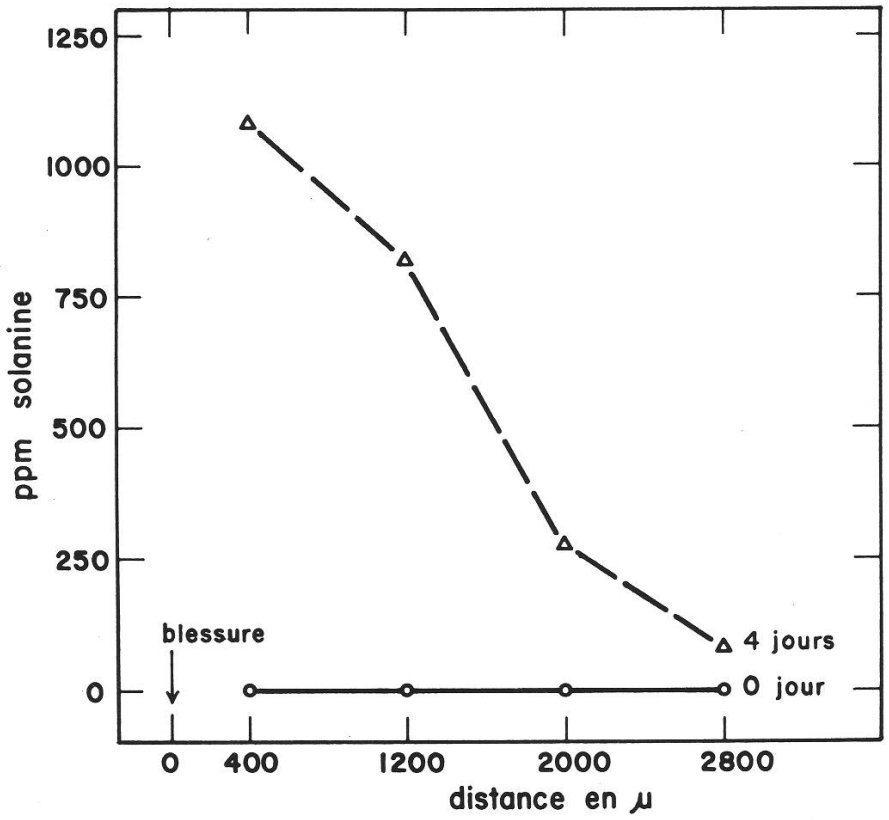


Figure 1:

Influence des blessures sur la teneur en solanine des tubercules de la pomme de terre (teneur des tissus frais déterminée 0 et 4 jours après la blessure; distance mesurée à partir de la blessure; profondeur de celle-ci, 0,5 cm; d'après *McKee* 1955 et 1954).

Les tranches de tubercules traitées par de l'eau ou par une suspension de champignons vivants ou morts ont une augmentation de leur teneur en saponines moins forte que les tranches non traitées; cette augmentation est due au découpage en tranches. Le degré d'inhibition de cette augmentation n'est pas directement associé au pouvoir pathogène du champignon. Au lieu d'accumuler des saponines, les tranches de tubercules traitées synthétisent 5 différents terpénoïdes dont plusieurs d'entre eux, comme la rishitine et la phytotubérine, sont des phytoalexines (substances naturelles de défense induites par l'infection). Les saponines alcaloïdales et les terpénoïdes ont en commun une partie de leur voie biosynthétique (acétate, mévalonate). On peut donc admettre que certaines enzymes sont, sous l'effet des champignons, activées ou bloquées. Si les blessures précèdent l'infection ou si la température est trop élevée, l'interférence entre la production des saponines et des terpénoïdes n'a pas lieu et la synthèse des phytoalexines est fortement réduite; la teneur en saponines demeure alors élevée (*Currier* et al. 1975, *Shih* et al. 1973a et b, *Allen* et al. 1968, *Locci* et al. 1967).

Notons en outre, que la teneur en saponines alcaloïdales des fruits d'un *Solanum* est fortement réduite par le virus de la mosaïque (*Rangaraju* et al. 1975, *Liu* et al. 1974).

Saponines d'un autre type. Les variations de la teneur en saponines terpénoïdales et stéroïdales sous l'effet des infections sont peu connues. La teneur en saponine du cyclamen ne varie pas (*Schlösser* 1973a); par contre, celle de la betterave sucrière augmente d'environ 20% lorsque la plante est parasitée par le *Pythium paroecandrum* (*Défago* et al. 1975b).

6.4. Influence de produits chimiques.

L'influence de produits chimiques sur la biosynthèse des saponines n'a été étudiée que chez les tubercules de la pomme de terre. Ces nombreuses études s'efforcent de découvrir des substances inhibant l'accumulation de la solanine, laquelle accompagne toujours le verdissement des tubercules. Ces produits sont soit aspergés sur les feuilles avant l'arrachage, soit appliqués aux tubercules au moment de leur conservation. Cette application a lieu par injection sous vide ou par bain. Plusieurs substances dont l'acide nicotinique, la glycérine, certains complexes du fer, diverses huiles et détergents, permettent de réduire de 20 à 70% la biosynthèse des saponines (voir la liste détaillée chez *Jadhav* et al. 1975). Au contraire, le N^6-benzyladénine injecté sous vide dans les tubercules augmente la synthèse des saponines chez certains cultivars. Cette augmentation est due à une synthèse intensifiée des saponines déjà présentes dans les tubercules non traités et à l'apparition de nouvelles substances (*Jeppsen* et al. 1975).

7. Toxicité pour les microorganismes et pour les cellules végétales

7.1. Spectre d'organismes.

Tous les groupes de microorganismes testés et tous les types de cellules végétales sont sensibles aux saponines. Cette sensibilité est la plus largement exprimée chez les champignons. Pourtant, certains virus, mycoplasmes, actinomycètes, bactéries et myxomycètes peuvent être également empoisonnés par les saponines.

Virus. Une des saponines des feuilles du *Gymnema sylvestre* est antivirale (*Sinsheimer* et al. 1968); d'autre part, le titre d'une suspension de virus ‚Sarcome de Rous' devient 500 fois plus petite en présence de 100 ppm de digitonine (*Dourmashkin* et al. 1962).

Bactéries. Quelques rares bactéries sont sensibles aux saponines, ainsi le *Mycobacterium tuberculosis* est entièrement inhibé par 12,5 ppm d'avénacine (*Maizel* et al. 1964) et la croissance du *Corynebacterium sepedonicum* est retardée de trois jours par 100 ppm de solanine et de chaconine (*Paquin* et al. 1964). Le pouvoir bactériostatique ou bactéricide de la cyclamine et de la primuline est supérieur à celui de plusieurs autres saponines, tout en restant relativement peu élevé (*Tschesche* et al. 1965).

Actinomycètes. La tomatine inhibe l'*Actinomyces scabies* (*Irving* 1947).

Myxomycètes. L'un des microorganismes les plus sensibles aux saponines est le myxomycète *Physarum polycephalum.* La croissance du corps plasmodial est en effet inhibée à 99% par les saponines de la luzerne à la concentration de 1 ppm (*Assa* et al. 1975). La digitonine, à une concentration de 50 ppm, entraîne la lyse du *Mycoplasma laidlawii,* lorsque ce microorganisme a incorporé du cholestérol (*Assa* et al. 1972).

Champignons. A la concentration de 1 ppm, plusieurs saponines commencent à être fongistatiques. Des teneurs de 3 à 200 ppm de saponines sont, en général, mortelles pour nombre de champignons. Pourtant, certaines souches et espèces peuvent supporter plusieurs milliers de ppm sans dommage. Le *Piricularia ozyzae,* le *Claviceps purpurea,* le *Trichoderma viride* et certaines espèces de levures sont très sensibles aux saponines (*Schlösser* 1971, *Wolters* 1968, 1966a, b, c, 1965, 1964, *Zimmer* et al. 1967, *Maizel* et al. 1964). Suivant les espèces de champignons, la toxicité des saponines est donc plus ou moins équivalente à celle de la griséofulvine (*Tschesche* et al. 1965). Les races d'un champignon peuvent différer ou non entre elles par leur sensibilité à une saponine donnée (*Turner* 1961, *Kern* 1952). Le pouvoir fongicide d'une saponine dépend de sa structure chimique et de nombreux autres facteurs (cf. II. 9 et 10). Ainsi le *Trichoderma viride* est plus inhibé par les saponines des racines de la luzerne que par celles de la tige; ces saponines se différencient entre elles par leur partie sucre et par des variations du noyau sapogénine (*Leath* et al. 1972, *Gestetner* et al. 1971). Plusieurs espèces de champignons sont résistantes, par exemple, à l'avénacine et à la tomatine; ces deux substances appartiennent pourtant au groupe des saponines les plus toxiques pour les champignons.

Végétaux supérieurs. Les cellules des différentes espèces végétales ne réagissent pas toutes de la même façon à l'apport de saponines exogènes. Par exemple, une saponine ne semble pas avoir d'influence sur les tissus des végétaux capables de la synthétiser; elle entraîne par contre la perte du liquide cellulaire des autres espèces végétales. En particulier, le contenu des vacuoles s'échappe dans le milieu ambiant (*Roddick* 1976a et 1975a, *Boas* 1928). D'autre part, des concentrations élevées de saponines réduisent souvent la germination des graines et la croissance des racines des plantes qui ne synthétisent pas ces saponines; appliquées en faibles concentrations, ces substances ont un effet inverse. Elles peuvent en outre induire la formation de tumeurs (*Birk* 1969, *Heftmann* 1963, *Balansard* et al. 1943). Notons encore que la tomatine inhibe l'élongation des coléoptiles du blé lorsque cette élongation est provoquée par l'apport d'acide indol-acétique exogène (*Roddick* 1975b).

7.2. Sensibilité différentielle des organes de champignons.

Tous les organes d'un même champignon ne sont pas identiquement sensibles aux saponines. Ainsi, la pointe des hyphes des champignons testés est l'endroit le plus sensible du mycélium (*Wolters* 1966b, *Boas* 1928). En présence de digitonine par exemple, les extrémités des hyphes du *Sclerotium rolfsii* se gonflent; 60 à 90 secondes après l'aspersion de la saponine, elles éclatent (*Assa* et al. 1972). Les zoospores des *Phytophtora* sont plus sensibles aux saponines de la luzerne, ou à la solanine, que les sporanges ou que les hyphes pourvues de stérols; cette sensibilité des propagules s'exprime soit par un éclatement, soit par une inhibition de la germination (*Zentmyer* et al. 1967, *McKee* 1959 et 1955). Les conidies sont souvent, par contre, plus résistantes aux saponines que le mycélium. De plus, les saponines peuvent, chez certaines souches, favoriser l'intensité de la conidiation tout en réduisant la croissance mycélienne (tableau 3). Un phénomène semblable a été observé lorsque le coprin est traité aux antibiotiques polyéniques (cf. II. 10); rappelons que ces antibiotiques et les saponines ont probablement un mécanisme d'action semblable.

Tableau 3:

Influence de la tomatine sur la croissance mycélienne, la germination des conidies et l'intensité de la sporulation de deux souches du *Fusarium lycopersici* (une souche est pathogène pour les tomates ‚Bonny Best'; l'autre ne l'est pas; croissance sur gélose, à 27° C et à l'obscurité; l'intensité de la sporulation est mesurée par unité de surface du mycélium; 100% = valeur sur le milieu dépourvu de tomatine).

souche	tomatine M	croissance	% germination	intensité de la sporulation
pathogène	10^{-6}	95	106	91
	10^{-5}	77	92	203
	10^{-4}	36	87	517
non pathogène	10^{-6}	85	67	3008
	10^{-5}	67	79	639
	10^{-4}	21	33	333

8. Mécanismes de la toxicité

Les saponines agissent sur le métabolisme et l'ultrastructure des cellules; on a tenté d'expliquer les bases moléculaires de cette toxicité par certaines des propriétés que les saponines révèlent in vitro. Ces propriétés sont la tendance à former des complexes avec différents types de molécules comme les stérols, les stéroïdes, les protéines, les phospholipides et les polyphénols ainsi que la faculté d'abaisser la tension superficielle. Remarquons qu'une saponine peut être plus toxique ou moins toxique que son noyau aglycone (*Sinden* et al. 1973, *Schlösser* et al. 1969, *Arneson* et al. 1968a, *Wolters* 1966a et 1964). Quant au rôle de la chaîne de sucre dans la toxicité des saponines, il n'est pas encore clair. Selon *Segal* et al. (1975a et b, 1974), l'hydrolyse des saponines, au niveau de la membrane cellulaire, est une étape nécessaire dans le processus de leur toxicité pour les champignons et les érythrocytes (cf. II. 10).

Influence sur le métabolisme. Les saponines détruisent la semi-perméabilité cellulaire des champignons. Plusieurs constituants de la cellule s'échappent dans le milieu ambiant. Parmi ceux-ci, on peut remarquer du phosphate minéral, des ions K^+ et des ions Mg^{2+} chez certains champignons, des acides aminés, des substances qui absorbent dans l'ultraviolet (des nucléotides?). Cette perte de matériel perturbe le métabolisme de la cellule et en particulier sa respiration (*Olsen* 1971 a et b, *Turner* 1960b); elle bloque, de plus, la fermentation alcoolique des levures (*Kuszlik-Jochym* et al. 1973, *Boas* 1928). D'autre part, l'absorption des ions est inhibée (*Olsen* 1971c). La perte du contenu cellulaire entraîne, lorsqu'elle est forte, un ralentissement de la croissance et la mort de la cellule; lorsqu'elle est faible, elle réduit très probablement la pression interne des hyphes et donc leur pouvoir perforateur; ce pouvoir est très important du point de vue phytopathologique.

Influence sur l'ultrastructure. Au microscope électronique, l'action des saponines se détecte par l'apparition de „pits"; ces „trous" atteignent 80 à 90 Å de diamètre chez les membranes artificielles contenant du cholestérol. Dans le cas des membranes des érythrocytes et chez les virus, ils mesurent 40 à 50 Å. Ces trous sont répartis régulièrement sur toute la surface extérieure des globules rouges, par exemple; ils correspondent vraisemblablement à un réarrangement de la structure de la membrane à la suite de la formation de complexes entre les saponines et les stérols. Il est moins probable qu'il s'agisse d'un „arrachage" des molécules de stérols (*Seeman* et al. 1973, *Husson* et al. 1963, *Bangham* et al. 1962, *Dourmashkin* et al. 1962, *Glauert* et al. 1962). Ce nouvel arrangement est probablement à l'origine de la désintégration de la membrane dans le cas où la pression interne de la cellule est forte (par exemple, chez les cellules de la pointe des hyphes, chez les zoospores des *Phytophthora*). En absence de désintégration, ce nouvel arrangement est la cause probable de la destruction de la semi-perméabilité cellulaire.

Base moléculaire.

FORMATION DE COMPLEXES AVEC LES STEROLS. Les saponines et, sous certaines conditions leur noyau aglycone, possèdent in vitro une affinité très forte pour les stérols; cette affinité est utilisée pour l'isolation et la purification de nombreuses saponines (cf. II. 1 et 9.1). Déjà *Fischer* (1927) et *Boas* (1928) avaient pressenti que la formation de complexes in vivo, entre les saponines et les stérols, était la raison principale de la toxicité des saponines. *Fischer* dit en effet: „die Annahme, dass das undissoziierte salzsaure Solanin nicht mehr hämolytisch wirkt, lässt sich auch mit der von Hausmann gefundenen Eigenschaft des Salzes keine Verbindung mit Cholesterin zu geben, in Einklang bringen. ..... Da man den Mechanismus der Saponinhämolyse wenigstens teilweise auf eine Bindung des Erythrocytencholesterins mit dem Saponin zurückführt, die eine Zerstörung des Blutkörperchens bewirkt, ist also eine Analogie deutlich erkennbar". *Boas* écrit pour sa part: „die Beseitigung der Sterine durch Digitonin ist daher ein stärkerer Angriff auf die Zelle als die Veränderung der Lezithinkomponente". Ce mécanisme d'action semble avoir été oublié pendant plus de trente ans; il a été par la suite, l'objet de nombreuses études plus ou moins approfondies (*Défago* et al. 1975b, *Olsen* 1973, *Gestetner* et al. 1972, *Schlösser*

1972b et 1969, *Ferenczy* et al. 1970, *Arneson* et al. 1968a, *Wolters* 1966a et b, *Tschesche* et al. 1964, *Kinsky* 1963). Ce renouveau d'interêt est dû à la découverte d'un autre groupe de substances, les antibiotiques polyéniques. Bien que les antibiotiques polyéniques aient une structure chimique très différente de celle des saponines, ils forment des complexes in vitro avec les stérols. Ces antibiotiques ont fait l'objet de nombreuses études ces dernières années (*Hamilton-Miller* 1974). Ces travaux ont produit un faisceau de preuves indiquant clairement que la toxicité des antibiotiques polyéniques a pour condition nécessaire la formation de complexes in vivo avec les stérols.

Le rôle des stérols dans la toxicité des saponines et des antibiotiques polyéniques pour les champignons peut être mis facilement en évidence chez les *Pythium* et les *Phytophthora.* Ces deux genres ne synthétisent pas de stérols, au contraire des autres genres; ils peuvent, par contre, absorber des stérols exogènes. Lorsque les hyphes croissent en absence de stérols, elles sont résistantes aux saponines; lorsqu'elles absorbent par contre des stérols exogènes, elles deviennent sensibles aux saponines et la semi-perméabilité des cellules est détruite (cf. aussi II. 11.2; *Défago* et al. 1975a et b, *Schlösser* 1972b, *Gottlieb* 1971, *Child* et al. 1969, *Schlösser* et al. 1966). Rappelons que les zoospores, dont la formation nécessite la présence de stérols, sont toujours très sensibles aux saponines (cf. II. 7.2).

Les saponines et les antibiotiques polyéniques ont donc probablement un mécanisme d'action semblable (*Wolters* 1966a). Toutefois, certaines différences existent entre le mécanisme d'action de ces deux groupes de substances; ainsi la digitonine se distingue de la nystatine (un antibiotique polyénique) par:

- une affinité beaucoup plus grande pour les protoplastes du *Neurospora crassa* (*Lampen* 1962);
- une absence de formation de complexes avec les stérols estérifiés des protoplastes des levures (*Kinsky* 1963).

De plus, tous les champignons que l'on peut isoler de la nature et qui synthétisent des stérols, sont sensibles aux antibiotiques polyéniques; l'apparition de souches résistantes dans la nature ou en clinique [1]), n'est pas un problème, car ces souches sont peu vitales (*Hamilton-Miller* 1974). La toxicité d'une saponine varie par contre fortement d'une souche ou d'une espèce de champignon à l'autre (cf. II. 10). Ces différences laissent supposer que les mécanismes d'action des antibiotiques et des saponines ne sont pas entièrement identiques.

On peut admettre une théorie du mode d'action des saponines passant par la formation de complexes in vivo avec les stérols localisés surtout dans la membrane plasmique. Pour clarifier les idées, nous énumérons ci-dessous, d'abord les arguments en faveur de cette théorie, puis les arguments contre. Un bon nombre d'arguments „pour" partent du fait que le mode d'action supposé est celui des antibiotiques polyéniques.

[1]) **Les antibiotiques polyéniques sont surtout employés dans la lutte contre les champignons parasites de l'homme.**

Arguments en faveur de la théorie des complexes stéroliques:

1) Les saponines, comme les antibiotiques polyéniques, forment des complexes in vitro avec les stérols (par exemple, avec les dérivés de l'ergostérol et du cholestérol) communément présents dans la membrane plasmique des cellules eucaryotes.

2) Les saponines, comme les antibiotiques polyéniques, provoquent la formation de „pits" sur les membranes artificielles contenant des stérols et sur les membranes plasmiques cellulaires.

3) Les saponines, comme les antibiotiques polyéniques, détruisent la perméabilité cellulaire.

4) Les saponines, comme les antibiotiques polyéniques, sont toxiques pour les *Pythium* et les *Phytophthora* seulement lorsque la membrane de ces champignons a absorbé des stérols formant des complexes avec les saponines.

5) Les saponines bidesmosidiques ne forment pas de complexes avec les stérols in vitro et elles ne sont pas toxiques.

6) Le degré de toxicité des saponines pour les champignons va de pair avec leur degré d'affinité pour l'ergostérol (cf. II. 9.1).

7) La teneur en stérols de différents champignons peut être associée à leur degré de sensibilité envers diverses saponines (cf. II. 10).

Notons que les points 6 et 7 n'ont été contrôlés que dans un très petit nombre de cas.

Arguments contre:

1) Les saponines et les antibiotiques polyéniques ont une structure chimique très différente.

2) Chez les érythrocytes, il n'y a pas de corrélation entre le degré d'affinité de diverses saponines pour le cholestérol et leur pouvoir hémolytique; cette absence de corrélation peut être due soit aux conditions très peu physiologiques dans lesquelles la formation de complexes a été étudiée, soit au fait que la formation de complexes entre les saponines et les stérols ne joue qu'un rôle secondaire dans l'hémolyse des érythrocytes (*Tschesche* et al. 1973 b et 1964).

3) Les saponines sont normalement aussi bien toxiques envers les cellules eucaryotes (ces cellules contiennent ou synthétisent des stérols) qu'envers certains microorganismes procaryotes (ces microorganismes contiennent normalement peu ou pas de stérols).

4) Une saponine n'est pas toxique, semble-t-il, pour l'espèce végétale qui la synthétise; elle est par contre toxique pour les autres espèces végétales, voisines sur le plan systématique. Ces espèces ont pourtant des stérols identiques, pour autant que les connaissances scientifiques actuelles permettent de le juger.

FORMATION DE COMPLEXES AVEC LES PROTEINES, LES LIPIDES ET LES PHENOLS. Cette formation de complexes est moins spécifique que celle avec les stérols. Aucune indication n'existe, à notre connaissance, sur la partie de la

molécule de saponine responsable de la formation de complexes avec ces substances. La formation de complexes des saponines avec les protéines et les phospholipides contribue, par exemple, dans le cas du *Physarum polycephalum* à la forte toxicité des saponines (*Assa* et al. 1975). La formation de complexes avec les protéines peut entraîner l'inhibition ou l'intensification de l'activité de certaines enzymes comme les protéases, les péroxydases et la cholinestérase (*Shcherbanivs'kyl* et al. 1974, *Birk* 1969). Elle peut empêcher aussi l'approvisionnement normal des bactéries en nourriture et être à l'origine de l'effet bactériostatique de la solanine et de la chaconine sur le *Corynebacterium sepedonicum* (*Paquin* et al. 1964). Certaines saponines forment en outre des complexes avec les phénols (*Hegnauer* 1962 à 1973, *Tschesche* et al. 1973b) ou avec d'autres lipides que les phospholipides (*Frühling* et al. 1971); rien n'indique que cette formation de complexes contribue à la toxicité des saponines.

ABAISSEMENT DE LA TENSION SUPERFICIELLE. Les saponines bidesmosidiques diminuent la tension superficielle tout aussi fortement que les saponines monodesmosidiques. Les saponines bidesmosidiques ne se sont pas révélées toxiques pour les différents types de cellules testées (érythrocytes et champignons), au contraire des saponines monodesmosidiques. On peut donc admettre que la diminution de la tension superficielle ne contribue pas à la toxicité des saponines (*Tschesche* et al. 1973b).

La toxicité des saponines pour les différents types d'organismes semble donc être liée à la propriété de ces substances de former des complexes avec différentes substances. Chez les champignons, la présence de stérols réagissant avec les saponines apparaît comme une condition nécessaire du pouvoir fongicide de ces substances et de leur noyau aglycone. Par contre, la toxicité des saponines n'est très probablement pas dépendante d'une autre de leurs propriétés, celle d'abaisser la tension superficielle.

9. Facteurs influençant le pouvoir fongicide des saponines in vitro

Le pouvoir fongicide des saponines est influencé par de nombreux facteurs; les plus importants sont la structure des molécules de saponines et de stérols, la température, la durée d'exposition, le pH, les ions environnants et les conditions de préculture du champignon.

9.1. Structure des molécules de saponines et de stérols.

La structure des saponines et celle des stérols influencent la stabilité des complexes formés in vitro entre ces deux groupes des substances; cette stabilité se reflète partiellement dans le pouvoir fongicide des saponines. D'autres facteurs (liés à la structure des saponines et n'influençant pas la stabilité des complexes in vitro) jouent un rôle dans la toxicité des saponines; ces facteurs sont jusqu'à maintenant peu connus.

Stabilité des complexes stérols-saponines. Dans des solutions éthanoliques ou aqueuses, les saponines ont tendance à former des complexes avec certains stéroïdes. Ces complexes sont des produits d'addition; ils ne sont pas dûs à des liaisons covalentes.

Ils peuvent précipiter ou demeurer en solution (*Gestetner* et al. 1972, *Schlösser* 1969, *Wulff* 1968, *Tschesche* et al. 1964). Les stéroïdes qui forment des complexes avec les saponines appartiennent souvent à la série du cholestane et au groupe des stérols. Ils peuvent aussi être des noyaux aglycones de certaines saponines comme la digitogénine et la tomatidine. La formation de complexes avec les noyaux aglycones dépend fortement des conditions d'expériences. Ainsi la tomatidine peut ou non être précipitée par le cholestérol (*Arneson* et al. 1968a, *Schulz* et al. 1957). Pour des conditions d'expériences données, le pourcentage des molécules d'une saponine qui forme des complexes avec un stérol déterminé (par exemple, le cholestérol) dépend de la structure de la saponine (tableau 4; *Ferenczy* et al. 1970, *Wolters* 1966a, *Tschesche*

Tableau 4:

Pourcentage des molécules d'une saponine formant des complexes avec le cholestérol (100% = nombre total des molécules de saponines; d'après *Tschesche* et al. 1964).

saponine	pourcentage
digitonine (mélange)	73,5
digitonine (pure)	91,0
tomatine	62,6
démissine	45,4
α-chaconine	39,0
α-solanine	35,8
aescine (mélange)	30,5
cyclamine	23,7

et al. 1964); inversement une saponine donnée forme des complexes avec certains stérols, et non avec d'autres; le rapport molaire saponine-stérol est une mesure pour cette affinité (tableau 5; *Gestetner* et al. 1972, 1971). La stabilité des complexes dépend surtout de la structure du noyau aglycone (par exemple, de celle du C 23 et du C 28 des dérivés de l'acide médicagénique; *Gestetner* et al. 1972); elle dépend, par contre, peu de la structure de la chaîne de sucre attachée au C 3 (*Tschesche* et al. 1964). La chaîne de sucre attachée au C 26 ou au C 28 empêche la formation de complexes avec les stérols; cette chaîne est responsable de l'absence de toxicité des saponines bidesmosidiques (*Tschesche* et al. 1973b, *Wulff* 1968). Dans les très rares cas étudiés jusqu'à présent, le degré de toxicité des saponines monodesmosidiques pour les champignons va de pair avec leur degré d'affinité pour l'ergostérol (stérol normalement présent dans la membrane plasmique des champignons; *Ferenczy* et al. 1970). Rappelons qu'il n'y a pas de corrélation entre le degré d'affinité de diverses saponines pour le cholestérol et leur pouvoir hémolytique (cf. II. 8).

La stabilité des complexes influence directement la capacité de certains stérols de détoxiquer les saponines, lorsque ces deux types de substances sont ajoutés ensemble au milieu de culture du champignon. Ainsi les hyphes du *Sclerotium rolfsii* synthétisent du cholestérol; l'inhibition de leur croissance par les saponines de la luzerne peut être annulée par l'addition de cholestérol. Le β-sitostérol, le 5-stigmastène-3β-ol, l'ergo-

Tableau 5:

Formation de complexes entre les saponines de la luzerne et différents stérols in vitro (d'après *Gestetner* et al. 1972).

stérol	formation de complexes	rapport moléculaire * saponines / stérol
cholestérol	+	1/ 4,9
7 déhydrocholestérol	+	1/ 5,3
5-stigmastene-3β-ol	+	1/ 7,9
ergostérol	+	1/ 8,5
5α-cholestan-3-one	+	1/ 8,8
5β-cholestan-3β-ol	–	–
5-androstene-3β-17β-diol	–	–
acide 3 hydroxy-5-cholen-24-oïque	–	–

* Le poids moléculaire du mélange est calculé en prenant la moyenne du poids moléculaire des différentes saponines; celui-ci varie de 1000 à 1200.

stérol et le 5α-cholestan-3-one sont impuissants à détoxiquer ces saponines bien qu'ils réussissent à former des complexes in vitro avec elles. La stabilité de leurs complexes est en effet inférieure à celle des complexes avec le cholestérol (tableau 5; *Gestetner* et al. 1972 et 1971).

Autres facteurs. La solanine qui diffère de la chaconine par une molécule de sucre (1 D-galactose à la place de 1 L-rhamnose; figure 2) est deux fois moins toxique que la chaconine pour l'*Alternaria solani* (*Sinden* et al. 1973) et pour les érythrocytes (*Tschesche* et al. 1964); la stabilité du complexe cholestérol-solanine et cholestérol-chaconine est pourtant la même in vitro (tableau 4).

9.2. La température.

La sensibilité des cellules aux saponines varie avec la température. Ainsi à 0° C, les cellules entières ou les protoplasmes du *Syncepahlastrum racemosum* sont insensibles à la tomatine et à la solamargine; à 20° C par contre, les saponines détruisent la perméabilité des cellules et entraînent la mort de l'organisme. Ce phénomène a pour origine probable une localisation différente de l'ergostérol dans les membranes suivant la température. En effet, à 0° C, les cellules vivantes du *Pichia saitoi* qui réagit comme le *S. racemosum,* n'absorbent pas de saponines; par contre, les cellules dénaturées par la chaleur enlèvent, à 0° C, les saponines du milieu ambiant; les cellules vivantes absorbent les saponines à 20° C (*Ferenczy* et al. 1970).

9.3. Durée d'exposition et quantité de cellules traitées.

Au cours de la première heure du traitement la sensibilité des spores du *Fusarium coeruleum* à la solanine augmente; ensuite elle demeure constante. Pour des concentrations faibles de saponine (27 ppm), la toxicité est proportionnelle au nombre de spores (*McKee* 1959). Aucune autre étude sur ce sujet n'existe à notre connaissance.

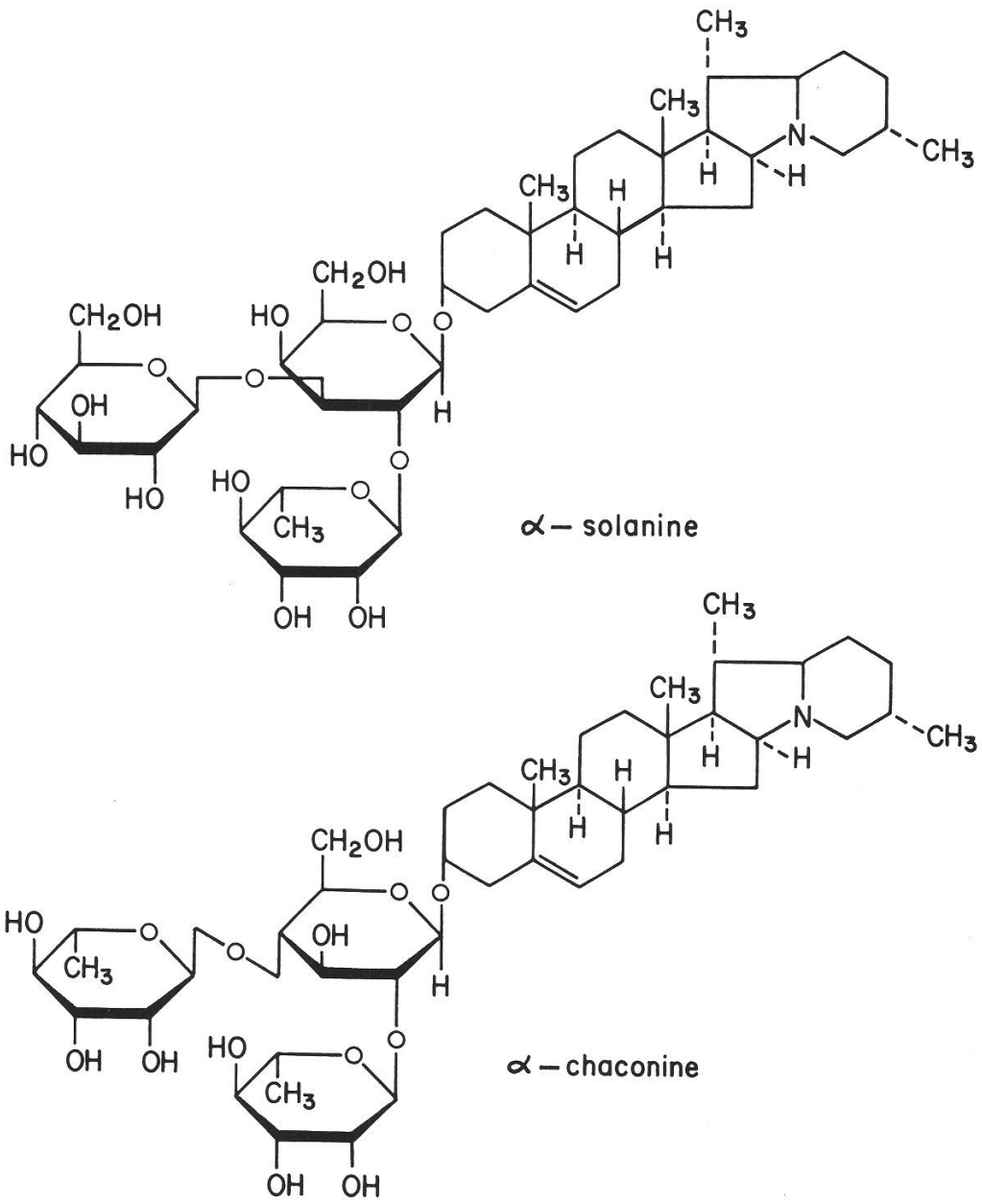


Figure 2:

Structure chimique de la solanine et de la chaconine.

9.4. ions Mg^{2+}, K^{+}, Na^{+}, Ca^{2+}.

Si le Mg^{2+} a parfois une influence négative ou nulle sur la toxicité des saponines, le K^{+} et le Na^{+} augmentent le pouvoir fongicide des saponines (*Olsen* 1972, *McKee* 1959). Le Ca^{2+} par contre, détoxifie partiellement ou totalement l'action des saponines, en influençant la balance Ca^{2+}-Na^{+} (*McKee* 1959 et 1957) et/ou empêchant plus ou moins totalement la formation de complexes avec les stérols membranaires (*Olsen* 1973). Chez le *Neurospora crassa,* l'action de l'aescine est totalement inhibée par le Ca^{2+}; par contre, cette détoxication n'est que partielle pour le *Gaeumannomyces graminis* (*Olsen* 1972).

9.5. pH et tampon.

Chez les saponines alcaloïdales, seule la forme dissociée peut former des complexes avec les stérols; le pH a donc une très forte influence sur la toxicité de ces saponines (*Fischer* 1927) ainsi au pH 3, il faut 300 fois plus de tomatine qu'au pH 8 pour obtenir le même degré d'inhibition de la germination des spores de l'*Helminthosporium turcicum* (*Arneson* et al. 1968a). Pour la solanine, un phénomène identique est observable (tableau 6).

Tableau 6:

Influence du pH sur le LD_{50} de la solanine sur la germination des spores du *Fusarium coeruleum* (d'après *McKee* 1959).

pH	8,3	8,0	7,6	7,0	6,5	5,9	5,6
solanine ppm	8	11	20	85	260	1100	2000

Chez les saponines terpénoïdales, la toxicité est influencée, indépendamment du pH, par la concentration et la nature du tampon. Cette influence est probablement de nature indirecte; elle est due à l'action du tampon sur les ions Ca^{2+} (*Olsen* 1971a et b). La toxicité de l'aescine est plus forte en présence d'un tampon au phosphate ou au citrate qu'en présence d'un tampon à l'acide succinique (*Olsen* 1972 et 1971c).

9.6. Milieu de culture.

A part le cas exceptionnel des *Pythium* et *Phytophthora* (cf. II. 8), il existe très peu d'études se rapportant à l'influence du milieu de culture du champignon sur sa sensibilité aux saponines. L'augmentation de la concentration du milieu de culture ou de la molarité de certaines sources de carbone diminue parfois la toxicité des saponines (*Gál* 1965, *Kern* 1952).

9.7. Influence de la préculture.

Des spores du *Fusarium coeruleum,* obtenues à partir d'une culture sur un milieu contenant de la solanine et du chlorure de calcium, sont moins sensibles que celles provenant d'une culture sur gélose de pomme de terre (*McKee* 1959). De plus, les spores du *Cladosporium fulvum,* formées sur les organes malades de la tomate, sont plus résistantes à la tomatine que celles provenant d'un milieu synthétique ou défini (*Agerberg* et al. 1933).

10. Mécanismes de la résistance des champignons in vitro

Les diverses espèces et souches de champignons sont plus ou moins sensibles aux saponines monodesmosidiques. Pourtant les mécanismes de résistance des champignons aux saponines n'ont été que très peu étudiés et ces études ont porté seulement sur

des souches naturellement résistantes. Plusieurs modèles de mécanismes de la résistance peuvent être proposés; ceux-ci sont basés sur les transformations des molécules, soit des saponines, soit des substances formant des complexes avec les saponines. Voici les principaux:

1. Transformation de la molécule de saponine alcaloïdale dans sa forme non dissociée. Cette transformation est due à un changement du pH du milieu de culture par les produits du métabolisme fongique. Ce changement permet de détoxiquer les saponines alcaloïdales, car seule la forme dissociée de cette molécule peut former des complexes avec les stérols. Ainsi, plusieurs champignons deviennent résistants à la tomatine en excrétant des acides organiques; ces acides abaissent, en effet, le pH du milieu de culture (*Schlösser* 1975, *Arneson* et al. 1968a).

2. Transformation du noyau aglycone des saponines. Cette transformation a lieu en grande partie dans le milieu de culture des champignons; le noyau aglycone est transformé de telle façon qu'il ne forme plus des complexes avec les stérols fongiques. Ce mécanisme n'a pas encore été étudié; pourtant tout laisse penser qu'il puisse exister, car les spores et le mycélium de très nombreux champignons font subir aux stéroïdes des transformations spécifiques, qui sont utilisées en mycologie industrielle. La transformation du noyau aglycone des saponines est connue dans le cas de la diosgénine par l'*Helicostylum piriforme,* et de la diosgénone par le *Fusarium solani* (*Kondo* et al. 1966, *Hayakawa* et al. 1962). Ces réactions sont dues à des enzymes constitutives des spores mises en état de prégermination. Le mycélium peut aussi transformer les stéroïdes mais l'activité des hyphes est très inférieure à celle des propagules; d'autre part, les enzymes mycélienes sont des enzymes adaptatives (*Smith* et al. 1975).

Les transformations des noyaux stéroïdaux sont spécifiques d'une souche ou d'une espèce de champignons. Ce mécanisme de résistance rendrait donc bien compte des variations de la sensibilité de diverses souches de champignons à une saponine donnée. Il pourrait en outre expliquer pourquoi les conidies de nombreux champignons sont beaucoup moins sensibles que le mycélium aux saponines (cf. II. 7.2).

Il n'est pas encore clair si de telles transformations sont suffisamment efficaces pour assurer la détoxication des saponines et si elles peuvent avoir lieu alors que le noyau aglycone est attaché à la chaîne d'hydrate de carbone.

3. Hydrolyse de la chaîne de sucre dans le milieu de culture du champignon. Cette hydrolyse est due à des β-glucosidases extracellulaires fongiques; elle rend la saponine moins soluble. Souvent, le noyau aglycone n'atteint ainsi pas l'hyphe, qui devient résistante; si le noyau aglycone de plusieurs saponines est donné de telle façon qu'il entre en contact avec l'hyphe, celle-ci demeure sensible (cf. II. 8). Ce mécanisme a été observé pour la solanine, la tomatine et les avénacines.

SOLANINE. Le *Fusarium coeruleum* hydrolyse la chaîne de sucre de la solanine, une unité d'ose après l'autre. Cette hydrolyse débute après trois jours de croissance du champignon dans un milieu additionné de la saponine; l'hydrolyse diminue la sensibilité du *Fusarium* à la solanine (*McKee* 1959).

TOMATINE. Le *Septoria lycopersici* sépare une seule unité de glucose de la chaîne de sucre de la tomatine. Cette hydrolyse partielle le rend résistant à la saponine dans les conditions étudiées. L'enzyme responsable de cette hydrolyse est une β-glucosidase spécifique; elle est constitutionnelle et extra-cellulaire (*Durbin* et al. 1969,

Arneson et al. 1967). Après dix jours de croissance en présence de tomatine, de nombreux champignons sont capables de libérer la tomatidine (noyau aglycone de la tomatine) de sa liaison avec les molécules de sucre (*Van Dijkman* 1972).

AVENACINES. Les saponines de l'avoine sont hydrolysées par le *Gaeumannomyces graminis* var. *avenae* et par différents autres champignons; cette hydrolyse assure une protection partielle des champignons contre ces saponines. Cependant, plusieurs espèces de champignons résistants aux avénacines hydrolysent cette molécule moins rapidement que les espèces sensibles (*Lüning* 1975, *Turner* 1961 et 1960a).

4. Inhibition de l'hydrolyse de la chaîne de sucre dans la membrane plasmique fongique. Cette hydrolyse est, selon certains auteurs, une étape nécessaire dans le processus de la toxicité des saponines; elle est provoquée par des β-glucosidases localisées dans la membrane cellulaire fongique (cf. II. 8). Ces glucosidases sont peu spécifiques; leur inhibition par des inhibiteurs spécifiques empêche la destruction de la semi-perméabilité des hyphes du *Botrytis cinerea* et du *Rhizoctonia solani* lorsque ces champignons sont immergés dans des solutions de saponines (*Segal* et al. 1975b). Les champignons dépourvus de β-glucosidases membranaires capables d'hydrolyser des saponines seraient donc résistants à ces substances. Ces enzymes étant peu spécifiques, ce mécanisme de résistance, s'il existe, explique donc mal qu'une souche de champignons soit sensible à une saponine mais résistante à une autre.

5. Formation de complexes avec des molécules de la paroi cellulaire fongique. Cette formation de complexes entraîne une détoxication dans la mesure où ces molécules jouent un rôle peu important dans le métabolisme fongique. Avant d'entrer en contact avec la membrane plasmique, les saponines doivent passer au travers de la paroi cellulaire. Celle-ci contient des protéines et des lipides qui peuvent former, théoriquement, des complexes avec les saponines (cf. II. 8). La formation de tels complexes empêcherait donc les saponines d'atteindre la membrane protoplasmique et d'être toxiques.

Tableau 7:

Influence de la nystatine sur la croissance, la sporulation et la production de stérols hydrosolubles chez le *Coprinus cinereus* (d'après *Défago* et al. 1976).

souche	nystatine	poids sec mycélium	nombre de conidies par g de mycélium	stérols hydrosolubles
	ppm	mg/1	x 10^7	mg / g mycélium
sauvage	0	705 ± 107	6,6 ± 3,7	1,3 ± 1,1
sauvage	2	521 ± 28	0,4 ± 0,9	0,7 ± 0,7
mutant	0	784 ± 50	8,7 ± 6,6	0,4 ± 0,5
mutant	2	840 ± 150	48,7 ± 18,6	7,1 ± 0,8

D'autre part, les parois cellulaires contiennent probablement des stérols enfermés dans des complexes formés par des polysaccharides (*Safe* et al. 1976, *Pillai* et al. 1975, *Thompson* et al. 1973). La digitonine libère le cholestérol de ces complexes; cette libération entraîne logiquement la détoxication de la digitonine (*Adams* et al. 1967). Les stérols hydrosolubles permettraient donc de détoxiquer les saponines. Notons que ces complexes jouent, peut-être, aussi un rôle dans la résistance des champignons aux antibiotiques polyéniques (tableau 7).

Ce mécanisme de résistance, s'il existe, explique mal la toxicité plus ou moins prononcée de diverses saponines pour un champignon donné.

6. Changement de la teneur qualitative et quantitative en stérols de la membrane plasmique fongique. Ces changements empêchent la formation de complexes entre les stérols et les substances toxiques. Ce mécanisme de résistance est le moyen habituel de défense des champignons contre les antibiotiques polyéniques (*Grindle* 1974 et 1973, *Kim* et al. 1974a et b, *Hamilton-Miller* 1972, *Molzahn* et al. 1972). Il n'a pas été étudié pour les saponines; pourtant, tout laisse supposer qu'il existe, car la similitude d'un des mécanismes d'action des saponines et des antibiotiques polyéniques devrait entraîner une similitude des mécanismes de résistance.

De plus certains faits expérimentaux rendent plus vraisemblable la possibilité d'existence de ce mécanisme de résistance; citons:

- l'ordre de sensibilité des différents champignons à l'aescine (saponine du marronier d'Inde) est le même que l'ordre décroissant de la teneur totale de leur mycélium en stérols; ces substances sont, chez les microorganismes étudiés, principalement localisées dans la membrane plasmique (*Olsen* 1973).
- La sensibilité de différents champignons aux saponines de la luzerne et à la digitonine est associée étroitement à la teneur en cholestérol de ces champignons (*Assa* et al. 1972).

Notons ici que le nombre des stérols fongiques est limité (*Weete* 1973). Ce mécanisme de résistance n'explique donc pas entièrement le degré plus ou moins prononcé de la sensibilité de diverses souches de champignons à une saponine donnée.

11. Mise en évidence du rôle des saponines comme substances de défense

11.1. Analyse des phénomènes naturels.

Les saponines se trouvent à une concentration suffisante (0,01 à plusieurs % du poids frais) dans beaucoup de plantes pour inhiber la croissance des champignons. D'autre part, elles sont surtout localisées dans les parties du végétal mises fréquemment en danger (racines, graines, écorces, feuilles). Elles se trouvent, en outre, concentrées dans la surface extérieure de ces organes (*Jadhav* et al. 1975, *Allen* et al. 1968, *Gál* 1965, *Tschesche* et al. 1965). Cette surface est le lieu de prédilection de l'attaque fongique. Remarquons de plus, que la teneur en saponines d'une plante peut varier suivant l'organe et le stade physiologique.

La sensibilité plus ou moins prononcée de certaines espèces de champignons à une saponine, le grand nombre de saponines, le degré plus ou moins accusé de leur toxicité suivant leur structure et les conditions écologiques, permettraient de rendre compte du degré plus ou moins prononcé de résistance d'une espèce végétale, d'un

cultivar ou d'un organe à un parasite donné. De plus, les saponines pourraient expliquer que la résistance d'une plante varie avec l'âge et l'état de latence de certaines maladies.

Afin de mettre en évidence le rôle des saponines comme substances de défense, de nombreux auteurs ont analysé la teneur en saponines d'un organe ou d'un végétal sain ou malade; de plus, ils se sont efforcés de trouver une corrélation entre cette teneur et la résistance à un parasite donné. D'autre part, le pouvoir pathogène d'un champignon pour une plante a été souvent mis en relation avec sa capacité de détoxiquer les saponines synthétisées par cette plante.

Ces études ont porté surtout sur la tomate et la pomme de terre qui synthétisent presque exclusivement des saponines alcaloïdales. Quelques expériences ont été faites avec l'avoine, le lierre et le cyclamen; ces espèces végétales contiennent des saponines stéroïdales ou terpénoïdales. Nous allons passer en revue les principaux résultats, en les groupant par espèce végétale.

Avoine. (*Avena sativa;* saponines: avénacines A et B, avénacosidases A et B; tableau 1).

RACINES. Le *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* attaque le blé et cause la maladie du piétin échaudage. L'avoine est, par contre, résistante à ce champignon. Les hyphes pénétrent les racines de l'avoine et du blé; elles poussent entre les cellules du cortex et se ramifient librement. La colonisation du blé est plus forte que celle de l'avoine. 20 à 30 jours après l'infection, les hyphes meurent dans l'avoine alors qu'elles continuent à pousser dans le blé; chez cette graminée, elles provoquent des lésions brunes et entraînent souvent la mort de la plantule. On admet que la cause de la mort des hyphes dans l'avoine est une saponine, l'avénacine. Cette saponine est, en effet, présente en quantité élevée dans le méristème des racines d'avoine; ainsi une pointe de racine d'une plantule âgée de 5 à 7 jours contient environ 8 μg d'avénacine; moins de 4 μg suffisent pour inhiber in vitro la croissance du champignon. Remarquons, que la teneur en avénacine des racines diminue avec l'âge (*Lüning* et al. 1976); cette diminution explique mal le fait que les hyphes ne sont tuées qu'après trois semaines de croissance dans la plante, alors que la teneur en saponines des racines est nettement plus faible qu'au début de l'infection. Une explication possible de ce phénomène est qu'il faut trois semaines au champignon pour endommager suffisamment les tissus de l'avoine pour que ceux-ci libèrent la saponine. Le blé ne synthétise pas d'avénacine; cette saponine peut donc être un des facteurs de résistance de l'avoine contre le *G. graminis* var. *tritici.*

La souche du *G. graminis* var. *avenae* est capable de parasiter l'avoine. Cette souche pousse bien en présence d'avénacine; elle peut, en effet, hydrolyser la saponine grâce à une enzyme extracellulaire, l'avénacinase (cf. II. 10); l'avénacine partiellement hydrolysée est moins toxique pour le *Neurospora crassa.* L'excrétion d'avénacinase permettrait donc à la souche du *G. graminis* var. *avenae* de parasiter l'avoine (*Turner* 1961, 1960a et b, 1956 et 1953).

La teneur en avénacines (les analyses modernes ont montré que l'avénacine est en réalité constituée de deux molécules, les avénacines A et B; *Tschesche* et al. 1973b, *Maizel* et al. 1964) des racines est réduite de 99% et plus quand ces organes sont parasités par différents champignons. Cette réduction de la teneur en avéna-

cines a été observée lorsque les racines étaient déjà très malades; elle est due, – dans le cas de l'infection par le *Fusarium avenaceum* –, à une β-glucosidase. Cette enzyme peut être isolée des racines malades mais non des racines saines; elle est probablement identique à la β-glucosidase que le champignon produit dans son milieu de culture artificiel. Remarquons, que cette enzyme agit lentement, ce qui permet aux avénacines d'endommager quelque peu la semi-perméabilité du *Fusarium* in vitro; ce reste de toxicité ne suffirait pas à enrayer l'infection (*Lüning* 1975).

FEUILLES. Les feuilles de l'avoine synthétisent des saponines de type bidesmosidique, les avénacosides A et B. Sous l'effet des blessures, ces saponines sont transformées par les enzymes de la feuille en leur forme monodesmosidique, les 26-desgluco-avénacosides A et B; ces saponines sont toxiques pour nombre de champignons (cf. II. 6.3). Elles protégeraient donc les feuilles de l'avoine contre leur colonisation par les hyphes de ces champignons. Les 26-desgluco-avénacosides ne sont pas toxiques pour l'*Helminthosporium avenaceum,* un parasite des feuilles de l'avoine. En effet, ce champignon hydrolyse très rapidement ces saponines in vitro. La teneur en avénacosides des feuilles fortement infectées par le champignon, est très inférieure à celle des tissus sains; on peut mettre en évidence dans les tissus malades une β-glucosidase spécifique des avénacosides; elle est semblable à celle produite par le champignon in vitro et elle est absente des feuilles saines.

Il n'est pas encore clair si la destruction des avénacosides permet le parasitisme ou est une cause secondaire de celui-ci (*Lüning* 1975, *Lüning* et al. 1975).

Lierre. (*Hedera helix;* saponines principales: hédérasaponines B et C; tableau 1).

FEUILLES. Sous l'effet d'un broyage mécanique, les saponines du lierre, de type bidesmosidique, sont transformées par le système enzymatique de la plante en leur forme monodesmosidique (cf. II. 6.3). Ces saponines pourraient constituer jusqu'à 28% du poids sec de la plante. 85% des saponines monodesmosidiques sont de l'α-hédérine. Cette substance tue in vitro la plupart des champignons parasites et saprophytes du lierre, ainsi d'ailleurs que d'autres champignons, à des concentrations de 30 à 170 ppm.

Le lierre est parasité par un très petit nombre de champignons; on admet que la plupart des microorganismes blessent, d'une façon ou d'une autre, les cellules du lierre et entraînent la transformation des hédérasaponines en hédérines. L'α-hédérine serait ainsi libérée au niveau des hyphes qu'elle tuerait.

Lors du broyage des feuilles parasitées par le *Phyllostica concentrica* et le *Pestalotia microspora,* la conversion des saponines bidesmosidiques en saponines monodesmosidiques n'a pas lieu. Cette inhibition est due, semble-t-il, à un produit extracellulaire du métabolisme fongique. L'inhibition de la transformation des hédérasaponines en hédérines permettrait donc à ces champignons de parasiter le lierre (*Schlösser* 1973 b et 1972a).

Cyclamen. (*Cyclamen persicum;* saponine: cyclamine; tableau 1).

ENSEMBLE DE LA PLANTE. La teneur en cyclamine des racines, des feuilles et du corme est très élevée; celle des tiges est par contre faible (respectivement 1 à 6 mg et 50 à 90 μg par ml de jus cellulaire). 30 à 170 ppm de cyclamine inhibent complètement la croissance de nombreux champignons. Parmi les 15 espèces fongiques testées,

3 seulement dégradent la cyclamine; deux de ces trois espèces (le *Botrytis cinerea* et le *Cryptocline cyclaminis*) sont parasites du cyclamen. Deux autres parasites fongiques de cette plante ne dégradent pas la cyclamine; l'un est sensible à la cyclamine, l'autre résistant. Quelques champignons pathogènes du cyclamen pénètrent d'abord les tiges puis se répandent dans les feuilles. Cette généralisation est précédée, dans le cas de l'infection par le *Botrytis cinerea,* par une diminution de la teneur en cyclamine des feuilles. Si le *B. cinerea* est déposé dans des blessures artificielles des feuilles saines, il meurt en une semaine. La teneur en saponine demeure constante pendant cette période; elle est probablement trop forte pour que le champignon puisse la dégrader.

La cyclamine protégerait donc le cyclamen contre l'attaque de certains champignons (*Schlösser* 1973a et 1971).

Tomate. (*Solanum Lycopersicum;* saponine: tomatine; tableau 1).

Les racines, les tiges, les feuilles et les fruits des différents cultivars de la tomate contiennent de 0,08 à 5,1% de tomatine (*Roddick* 1974a). A partir de 40 ppm, cette saponine inhibe complètement la croissance de plusieurs champignons parasites des plantes (*Wolters* 1966b). On admet donc que les parasites de la tomate sont résistants à la tomatine ou peuvent la détoxiquer. Ainsi, parmi 30 espèces et souches de champignons testées, les 14 parasites de la tomate sont parmi les 16 espèces et souches les plus résistantes à la tomatine (*Arneson* et al. 1968b).

Différents auteurs se sont efforcés d'analyser le rôle protecteur de la tomatine contre les parasites des feuilles, des fruits et contre les infections généralisées.

FEUILLES. Différentes races du *Cladosporium fulvum* peuvent coloniser certains cultivars; les cultivars résistants se défendent par un mécanisme d'hypersensibilité: les cellules attaquées voient leur semi-perméabilité détruite par un métabolite fongique; cette destruction stoppe l'avance du champignon et libère peut-être la tomatine.

La germination des conidies des différentes races du *C. fulvum* n'est pas inhibée par la tomatine ou la tomatidine. La croissance mycélienne est insensible à la tomatine; la tomatidine inhibe par contre, la croissance de certaines races; cette inhibition est d'environ 40% pour 1000 ppm de tomatidine. Toutes les races hydrolysent la tomatine en tomatidine (*Van Dijkman* 1972, *Sijpesteijn* et al. 1971). La teneur en tomatine des feuilles des différents cultivars utilisés n'a pas été déterminée précisément; elle peut varier de 0,22 à 5,1%; elle est habituellement de 1 à 2% du poids sec (*Roddick* 1974a).

Le parasite responsable de la septoriose des feuilles de la tomate, le *Septoria lycopersici,* détoxique la tomatine in vitro et in vivo par une enzyme (cf. II. 10). Le *Septoria lactucae* et le *Septoria lini* ne synthétisent pas cette enzyme et ne sont pas parasites de la tomate (*Arneson* et al. 1967). La parenté systématique entre les trois *Septoria* n'est pas admise par tous les auteurs. Il n'est donc pas certain que la spécificité du *Septoria lycopersici* pour la tomate soit liée à sa capacité de détoxiquer la tomatine (*Van Dijkman* 1972).

FRUITS. La résistance des fruits de la tomate à divers parasites diminue avec la maturation. Ainsi le *Monilia fructigena,* le *Gloeosporium fructigenum,* le *Colletotrichum phomoides* et le *Botrytis cinerea* colonisent seulement les fruits colorés, donc mûrs; ce dernier champignon peut, par contre, pénétrer les cellules de l'épiderme des fruits verts, mais il ne s'y répand pas. Parmi les champignons testés, seul le

Corticium rolfsii parasite les fruits verts. Les pelures des fruits verts contiennent beaucoup de tomatine (plus de 800 ppm); celles des fruits colorés très peu ou pas. Les tissus du mésocarpe réagiraient aux blessures mécaniques en élevant le pH du jus cellulaire s'échappant dans la plaie. Rappelons ici que la toxicité de la tomatine pour les champignons dépend du pH du milieu de croissance fongique (cf. II. 9.5).

Les champignons parasites des fruits de la tomate que nous avons cités sont sensibles à la tomatine; cette sensibilité est la moins prononcée chez le *C. rolfsii;* de plus ce parasite diminuerait le pH du jus des plaies et détoxiquerait ainsi la tomatine. Cette détoxication lui permettrait de parasiter les fruits verts. L'état de latence du *Botrytis cinerea* dans les fruits verts, s'expliquerait par le fait que la germination des conidies est beaucoup moins sensible à la tomatine que la croissance mycélienne; celle-ci ne serait possible que lorsque les fruits sont mûrs, donc dépourvus de tomatine. Les autres parasites mentionnés n'attaquent que les fruits rouges; l'absence de résistance des fruits à ce stade de leur maturité serait donc due à leur teneur très faible ou nulle en tomatine (*Schlösser* 1975, *Verhoeff* et al. 1975, *Allison* et al. 1952).

INFECTIONS GENERALISEES. Le rôle de la tomatine dans les infections généralisées n'est pas encore clarifié. Dès 1947, *Irving* supposa que cette saponine protégeait les plantes contre l'invasion du *Fusarium lycopersici.* Lorsque les spores du *Fusarium* sont introduites par des blessures artificielles dans le système vasculaire de la plante, elles se répartissent de la même façon dans les cultivars sensibles et résistants (*Mace* et al. 1971). Le nombre de propagules réisolables augmente au cours des quatre premiers jours suivant l'infection, puis diminue. A la fin de la première semaine, aucune différence ne peut être observée entre les cultivars résistants et les sensibles. A partir de ce moment là, le *F. lycopersici* se multiplie dans les cultivars sensibles; il est digéré dans les cultivars résistants (*Langcake* et al. 1975, *Défago* et al., non publié, 1975).

Les cultivars diffèrent entre eux non seulement par leur sensibilité au *F. lycopersici,* mais aussi par leur teneur en tomatine; celle-ci peut être différente dans les tissus sains et malades. Les résultats relatés dans la bibliographie sont contradictoires; voici les principaux:

- les différents cultivars (en particulier ‚Bonny Best' et ‚Homestead') ne synthétisent pas suffisamment de saponines pour que la croissance du champignon puisse être inhibée (*Défago* et al., non publié, 1975, *Kern* 1952);
- la teneur en saponines des cultivars sains et résistants est nettement plus élevée que celle des cultivars sensibles, sains; la teneur demeure constante au cours de l'infection (*Hammerschlag* et al. 1975);
- les cultivars sensibles et résistants (en particulier ‚Bonny Best' et ‚Homestead'), sains, ont la même teneur en tomatine; celle-ci augmente fortement chez les deux groupes de cultivars à la suite de l'infection; l'augmentation a lieu surtout dans les tiges mais aussi dans les racines et dans les feuilles; la teneur en tomatine est amplement suffisante pour inhiber la croissance du *F. lycopersici* (*McCance* et al. 1975, *Drysdale* et al. 1973, *Langcake* et al. 1972);
- les cultivars sensibles malades ont nettement moins de tomatine que les cultivars sains, sensibles (*Irving* 1947).

Une des origines de ces divergences peut être l'influence des facteurs écologiques sur la biosynthèse des saponines (cf. II. 6.1).

Il faut noter qu'aucune théorie n'a été proposée jusqu'ici qui explique d'une manière satisfaisante la résistance ou la sensibilité de la tomate au *F. lycopersici* (par exemple, *Langcake* et al. 1975, *McCance* et al. 1975, *Drysdale* et al. 1973, *Jones* et al. 1972).

La résistance de la tomate au flétrissement bactérien *(Pseudomonas solanacearum)* semble être due à la tomatine. Les racines des cultivars résistants contiennent 400 à 2600 ppm de tomatine; cette teneur peut doubler sous l'effet de l'infection; les racines des cultivars sensibles ne contiennent que 100 à 300 ppm de saponine; cette teneur diminue ou demeure constante lors de la maladie. La tomatine est bactériostatique à partir de 400 ppm pour le *Pseudomonas solanacearum* (*Mohanakumaran* et al. 1969).

Pomme de terre. (*Solanum tuberosum;* saponines principales: α-solanine, α-chaconine; figure 2).

La teneur en saponines des germes, des fleurs, des feuilles et de la pelure des tubercules est suffisante pour inhiber in vitro la croissance du *Corynebacterium sepedonicum* et de nombreux champignons (*Shih* et al. 1973b, *Allen* et al. 1968, *Locci* et al. 1967, *Paquin* et al. 1964). L'efficacité du rôle protecteur des saponines a été analysée dans les feuilles, les tubercules et dans l'ensemble de la plante.

FEUILLES. L'*Alternaria solani* infecte les jeunes feuilles de la pomme de terre et y demeure à l'état latent. Lorsque les feuilles deviennent plus âgées, le parasite se répand dans les tissus et produit les taches concentriques typiques de l'alternariose.

La teneur en saponines des feuilles de la pomme de terre diminue avec l'âge; par contre, la dimension des lésions augmente (tableau 8). La solanine, à une concentration de 500 ppm, inhibe in vitro la croissance de l'*A. solani* de 50%; à une concentration de moins de 100 ppm, cette saponine n'est plus toxique pour l'*Alternaria.* On peut donc, avec *Sinden* et al. (1973), assumer que les saponines maintiennent très probablement le champignon à l'état latent dans les jeunes feuilles.

Tableau 8:

Influence de l'âge des feuilles de la pomme de terre sur leur teneur en saponines et sur la grandeur des lésions de l'alternariose (d'après *Sinden* et al. 1973).

âge jours	ppm saponines (par unité de poids frais)	lésions ϕ mm
30	1570	0,1
70	1020	2,3
90	540	3,1
120	560	3,0

TUBERCULES. Chez les tubercules des cultivars résistants au *Fusarium coeruleum* et au *Fusarium avenaceum,* l'avance des deux champignons est stoppée peu de jours après que ces champignons aient été déposés dans des blessures artificielles. Le mode de pénétration des deux *Fusarium* est différent; le *F. avenaceum* tue les cellules à mesure qu'il avance; le *F. coeruleum* pousse par contre longtemps entre les cellules sans les endommager visiblement. Dans le cas de la pourriture causée par le *F. avenaceum,* les saponines pourraient être libérées de leur compartiment cellulaire, alors que dans le cas du *F. coeruleum,* elles demeureraient dans les cellules. Le pH du jus cellulaire des tissus malades s'élève à 8, celui des tissus sains à 6.

La teneur en saponines des tubercules augmente sous l'effet des blessures; elle peut atteindre, dans le voisinage des plaies cicatrisées, jusqu'à 1200 ppm (cf. II. 6.3). La toxicité de la solanine au pH 8 est beaucoup plus forte qu'au pH 6; le LD 50 pour la germination des spores des deux *Fusarium* est, au pH de 8, de 1 à 2 ppm (cf. II. 9.5). La teneur en saponines des tissus blessés est donc nettement supérieure à celle qui inhibe la germination des spores des deux champignons. 500 ppm de solanine n'inhibent par contre, que peu la croissance mycélienne du *F. coeruleum* poussant sur un milieu de pommes de terre gélosées; aucune indication n'existe pour la croissance du *F. avenaceum* (cf. II. 7.2).

McKee conclut donc que les saponines protègent peut-être les tubercules contre l'attaque du *F. avenaceum,* mais pas contre celle du *F. coeruleum* (*McKee* 1959, 1957, 1955 et 1954).

Le rôle des saponines dans la protection des tubercules contre le *Phytophthora infestans* est peu clair. Dans la nature, les zoospores pénètrent par les lenticelles et/ou par les stolons. Les expériences faites en laboratoire utilisent des tubercules coupés en tranches de 1 cm d'épaisseur. La teneur en phytoalexines et en saponines des tissus a été analysée comme conséquence des mécanismes de défense, alors que les tissus s'étaient déjà défendus avec succès contre l'infection. La même remarque s'applique probablement aux expériences faites avec l'*Helminthosporium carbonum* (*Currier* et al. 1975, *Shih* et al. 1973b, *Allen* et al. 1968, *Locci* et al. 1967).

ENSEMBLE DE LA PLANTE. Plusieurs chercheurs se sont efforcés de comparer la teneur en saponines de l'ensemble de la plante de différents cultivars au degré de résistance de ces cultivars contre toute une série de parasites; parmi ceux-ci on compte le *Phytophthora infestans,* l'*Alternaria solani,* le *Streptomyces scabiosae* et le *Verticillium alboatratum.* Ces expériences ont été faites en champ, sous différentes conditions climatiques. Aucune corrélation entre le degré de résistance des différents cultivars et leur teneur en saponines n'a pu être trouvée. Notons que ces analyses ont été effectuées plusieurs mois après le début des infections (*Frank* et al. 1975, *Deahl* et al. 1973, *Paquin* 1966).

Les saponines luttent très probablement contre les champignons au moment où ceux-ci tendent à se développer à l'intérieur des tissus. Il est donc peu probable que l'on puisse trouver une corrélation entre la teneur en saponines des plantes malades depuis plusieurs semaines et celles apparemment saines, mais dont les tissus contiennent plus ou moins de microorganismes à l'état latent et qui ont combattu avec succès un nombre plus ou moins grand d'attaques parasitaires.

La teneur élevée en saponines d'une plante ou d'un tissu va donc souvent de pair avec la résistance accrue de cette plante aux champignons sensibles, in vitro,

à ces saponines. D'autre part, le pouvoir pathogène d'un champignon pour un organe ou une espèce végétale est souvent lié à sa capacité de détoxiquer les saponines de son hôte in vitro. Pourtant, la démonstration que les saponines protègent réellement une plante contre l'invasion fongique se heurte à deux difficultés principales:

1) l'absence de mutants artificiels résistants aux saponines; cette absence entraîne la comparaison du pouvoir pathogène d'espèces ou de variétés de champignons différant entre elles par de nombreux gènes; donc elles diffèrent entre elles par plusieurs autres caractères que leur sensibilité aux saponines;
2) l'absence de cultivars se différenciant entre eux par la possibilité de synthétiser des saponines; cette absence entraîne la comparaison de la résistance aux maladies de cultivars synthétisant plus ou moins de saponines de structure chimique plus ou moins apparentée. Rappelons ici que cette synthèse dépend fortement de facteurs extérieurs.

11.2. Manipulations expérimentales.

Les *Pythium* et les *Phytophthora* ne synthétisent pas de stérols, au contraire des autres espèces de champignons; ils peuvent par contre incorporer des stérols exogènes dans leur membrane plasmique. Lorsque cette membrane est dépourvue de stérols, ils sont insensibles aux saponines; par contre lorsqu'ils ont absorbé des stérols exogènes, ils sont sensibles aux saponines (cf. II.8). Les *Pythium* et les *Phytophthora* permettent donc de palier partiellement à l'absence de mutants artificiels résistants aux saponines; en effet, on peut chez ces espèces comparer le pouvoir pathogène d'inoculum génétiquement semblables, mais dont la sensibilité aux saponines est différente. Nous avons étudié ce phénomène chez le *Pythium paroecandrum* en analysant l'influence du cholestérol sur la sensibilité du mycélium aux saponines et sur le pouvoir pathogène pour différents hôtes synthétisant ou non des saponines. Nous avons étudié la relation existant entre ces diverses influences.

Le pathogène. Le *Pythium paroecandrum Drechsler* est un des agents de la fonte des semis de la betterave sucrière en Suisse; son spectre d'hôtes est très vaste. L'intensité de la maladie varie avec l'espèce d'hôte parasitée; les premiers symptômes apparaissent 24 heures après le début de l'infection (*Défago* et al. sous presse); quatre à six jours après le début de l'infection, les racines et le collet sont souvent bruns et macérés; la tige et le collet témoignent d'une désorganisation cellulaire; nombre de plantes ont une croissance réduite; beaucoup d'entre elles ne sont pas levées.

Influence de l'absorption de cholestérol sur la sensibilité in vitro du pathogène aux saponines. Quand le *P. paroecandrum* pousse en présence de cholestérol, il absorbe cette substance presque intégralement en quelques minutes. D'autre part, le *Pythium* est capable de transporter le cholestérol absorbé lorsqu'il pousse à partir d'un milieu contenant du cholestérol vers un milieu dépourvu de cholestérol. Cette propriété de transporter le cholestérol permet d'obtenir un mycélium relativement homogène quant à sa teneur en cholestérol. Nous mesurons le degré de sensibilité, à une saponine, des plaques de mycélium qui ont poussé respectivement dans 0, 0,1, 1, 10 et 100 ppm de cholestérol en procédant de la façon suivante: les plaques sont retirées

de leur milieu de culture puis lavées abondamment à l'eau distillée. Elles sont alors mises à flotter dans une solution de saponine (par exemple, de digitonine) de 0, 1, 10 et 100 ppm. Nous mesurons la teneur en acides aminés de ces solutions après que les plaques y ont flotté pendant 25 minutes; nous exprimons la teneur en acides aminés en mg de leucine; cette teneur est une mesure de la semi-perméabilité cellulaire; l'intensité de l'augmentation de la perte d'acides aminés est ainsi une mesure du degré de la toxicité de la digitonine. Cette toxicité est maximale lorsqu'une molécule de stérol absorbée est opposée à trois molécules de digitonine; elle est minimale lorsque le rapport du nombre de molécules de digitonine au nombre de molécules de cholestérol est inférieur ou supérieur à trois; elle est nulle quand le champignon est dépourvu de stérols ou en a absorbé une quantité massive (figure 3). La tomatine, – la saponine des racines et des tiges de la tomate –, a un effet semblable.

Influence de l'absorption de cholestérol sur le pouvoir pathogène du Pythium pour les différentes „plantes-hôtes". Les semences prégermées du pois *(Pisum sativum)*, du soya *(Glycine Soya)*, de la tomate *(Solanum Lycopersicum)*, de la betterave sucrière *(Beta vulgaris var. altissima)* et de la luzerne *(Medicago sativa)* ont été infectées avec du mycélium ayant absorbé plus ou moins de cholestérol. Le pouvoir pathogène du *Pythium* est influencé par la quantité de cholestérol que son mycélium

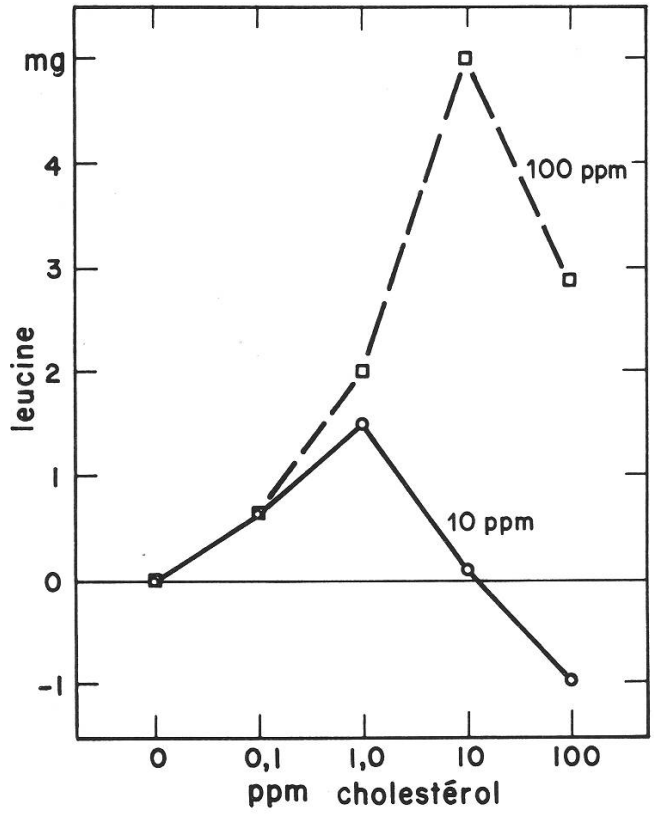


Figure 3:

Influence de la teneur en cholestérol du milieu de culture du *Pythium paroecandrum* sur sa sensibilité à 10 et 100 ppm de digitonine (la sensibilité est mesurée par l'augmentation de la perte d'acides aminés par le mycélium dans le milieu ambiant en présence de digitonine; cette augmentation indique une perturbation de la semi-perméabilité; elle est exprimée en mg de leucine, *Défago* et al. 1975b).

a absorbé (figure 4). Cette influence varie avec les hôtes. On peut grouper ceux-ci suivant deux catégories; la première est constituée par le pois, le soya et la luzerne; l'inoculum qui a absorbé du cholestérol, est plus pathogène pour ces hôtes que l'inoculum qui en est dépourvu. L'augmentation du pouvoir pathogène va jusqu'à 53% pour le pois; elle est d'une trentaine de pour-cent pour le soya et plus faible pour la luzerne. La seconde catégorie groupe la betterave et la tomate; cette catégorie est plus résistante aux inoculums qui ont incorporé un peu de cholestérol qu'à celui qui en est dépourvu. Une teneur plus élevée en stérols des inoculums restaure leur pouvoir pathogène.

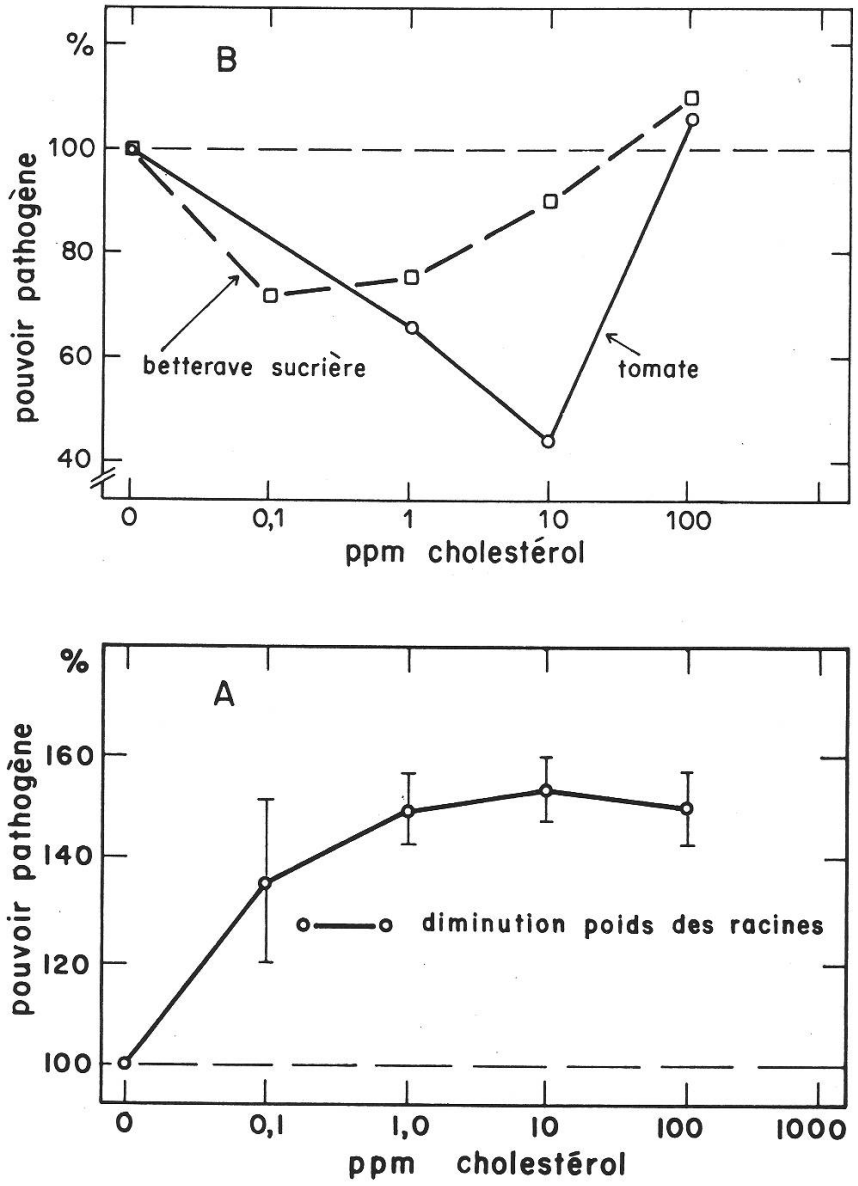


Figure 4:

Influence du cholestérol ajouté au milieu de culture de l'inoculum sur le pouvoir pathogène du *Pythium paroecandrum* pour différents hôtes. *A*, pois; *B*, betterave sucrière et tomate (en ordonnée, est noté la teneur en cholestérol de la solution dans laquelle l'inoculum a été placé; en abscisse, l'augmentation du pouvoir pathogène. Nous avons égalé à 100%, le pouvoir pathogène du *P. paroecandrum* dépourvu de cholestérol; *Défago* et al. 1975b).

Tableau 9:

Teneur en saponines des hôtes sains; *A*, par mg de racine sèche; *B*, par racine; l'astérisque indique que la toxicité des saponines est annulée par l'addition de cholestérol (la teneur en saponines est exprimée en équivalent digitonine; l'âge est compté à partir du moment où les graines ont germé; *Défago* et al. 1975b).

hôte	âge, jours	saponines µg A	B
pois	1	0,4 ± 0,0	0,7
	2	0,4 ± 0,0	1,2
soya	1	1,3 ± 0,1	0,4
	2	1,1 ± 0,1	0,9
luzerne	1	3,9 ± 0,0 *	0,7 *
	2	17,0 ± 6,0 *	6,3 *
tomate	1	4,2 ± 0,7 *	1,0 *
	3	3,0 ± 0,8 *	0,6 *
betterave	1	2,9 ± 0,0 *	1,1 *
	2	3,4 ± 0,3 *	1,7 *
	3	3,8 ± 0,3 *	1,9 *

Teneur en saponines des „plantes-hôtes". Les cinq espèces d'hôtes que nous avons choisies (pois, soya, betterave sucrière, tomate et luzerne), diffèrent entre elles par la teneur qualitative et quantitative en saponines de leurs racines (tableau 9). Nous mesurons la teneur en saponines des racines âgées d'un et deux jours, en extrayant avec un mélange d'alcool et d'eau chauffé à 90^0, les tissus broyés et dégraissés. Le pouvoir hémolytique de ces extraits est testé par rapport à celui de la digitonine et la teneur en saponines est exprimée en équivalent digitonine. L'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes de porc par l'adjonction de cholestérol indique si ces saponines forment des complexes avec le cholestérol: tel est le cas des saponines extraites des racines de la tomate, de la betterave et de la luzerne. On peut trouver dans la bibliographie spécialisée (par exemple, *Tschesche* et al. 1973; *Schreiber* 1968) de nombreuses analyses de ces saponines. La tomate synthétise principalement la tomatine, les saponines de la betterave dérivent de l'acide oléanique, celles de la luzerne de l'acide médicagénique. Le pois et le soya synthétisent des dérivés des soyasapogénols; ces dérivés ne forment pas de complexes avec le cholestérol.

Relation entre le pouvoir pathogène et la sensibilité du mycélium aux saponines. Les inoculums, qui ont absorbé du cholestérol, sont plus pathogènes que les inoculums dépourvus de stérols, pour les hôtes (pois et soya) ne synthétisant pas de saponines réagissant avec le cholestérol. Le pouvoir pathogène des inoculums sensibles, in vitro, aux saponines, est plus faible que le pouvoir pathogène des inoculums insensibles aux saponines, pour les hôtes (tomate et betterave) synthétisant des saponines. Cette insensibilité a pour origine, soit une absence, soit une surabon-

dance de cholestérol dans les hyphes. La quantité de saponines présente dans les racines de la tomate et de la betterave est suffisante, théoriquement, pour expliquer cette diminution du pouvoir pathogène. En conséquence, les saponines de la tomate et de la betterave empêchent, non seulement une aggravation de la maladie, mais produisent une amélioration de celle-ci.

Le *Pythium* qui a absorbé du cholestérol est légèrement plus pathogène que le *Pythium* dépourvu de cholestérol pour la luzerne; les racines de cette plante contiennent beaucoup de saponines formant des complexes avec le cholestérol; la luzerne devrait donc être, selon notre théorie, plus résistante aux inoculums, qui ont absorbé un peu de cholestérol, qu'à celui qui en est dépourvu. La présence d'acide tannique dans les racines de la luzerne peut expliquer cette divergence; en effet, le cholestérol augmente la résistance du *Pythium* à cet acide. Cette résistance pourrait bien masquer la sensibilité aux saponines.

En utilisant le *Pythium paroecandrum,* il est donc possible de montrer, in vivo, que les saponines augmentent la résistance des plantes à la maladie (*Défago* et al. 1975 a et b).

12. Fongicides agissant comme les saponines.

Un groupe de fongicides systémiques semble réagir avec les stérols de la membrane plasmique fongique comme les saponines. En effet, le tridémorphe (N-tridécyl-2,6-diméthyl-morpholine), le dodémorphe (N-cyclododécyl-2,6-diméthyl-morpholine) et l'hinosan (O-éthyl-5,5-diphényl-phosphoro-dithiolate) inhibent la croissance du *Pythium debaryanum* lorsque le mycélium de ce champignon a absorbé du cholestérol ou de l'ergostérol; le *Pythium* dépourvu de stérols est insensible à ces fongicides. Ces trois produits détruisent la semi-perméabilité des autres champignons et des plantes supérieures. Toutefois, chez le *Fusarium lycopersici,* la concentration des fongicides nécessaire pour inhiber 50% de la croissance n'est pas suffisante pour augmenter la perte de liquide cellulaire. Tout laisse donc penser que ces fongicides ont plusieurs sites d'action. L'un d'entre eux serait les stérols membranaires. Ce site n'est probablement pas le plus important (*Buchenauer* 1975).

13. Modèle d'action des saponines comme substances de défense.

On peut représenter le rôle des saponines dans la résistance ou la sensibilité d'une plante à la maladie de la façon suivante:

Le champignon pénètre dans une plante qui synthétise des saponines en quantités relativement élevées. Cette pénétration a lieu ou par une blessure déjà présente ou par des blessures que le champignon provoque lui-même par ses hyphes perforatrices et sa batterie d'enzymes. Sous l'effet des blessures, la biosynthèse des saponines est activée et les saponines bidesmosidiques sont transformées en saponines monodesmosidiques, donc toxiques. Le champignon se fraie un chemin entre les cellules de la plante; il excrète des enzymes et des substances de poids moléculaire faible qui détruisent la semi-perméabilité des cellules végétales; ces dernières libèrent alors les saponines. Les saponines libérées ralentissent la croissance du champignon et permettent à d'autres substances de défense d'agir. La maladie est alors endiguée (figure 5).

Le champignon est capable à son tour de se défendre contre les saponines. Il peut en effet soit être peu sensible aux saponines de par sa constitution, soit les détoxiquer, soit encore en freiner la synthèse. Ces différents mécanismes de défense lui permettent de coloniser la plante et de la rendre malade. La plus ou moins grande toxicité des saponines pour certains champignons, ainsi que la sensibilité plus ou moins prononcée d'un champignon pour certaines saponines, permettent d'envisager une grande variété de degrés d'établissement des microorganismes à l'intérieur de la plante et d'expliquer en partie la spécificité des maladies fongiques.

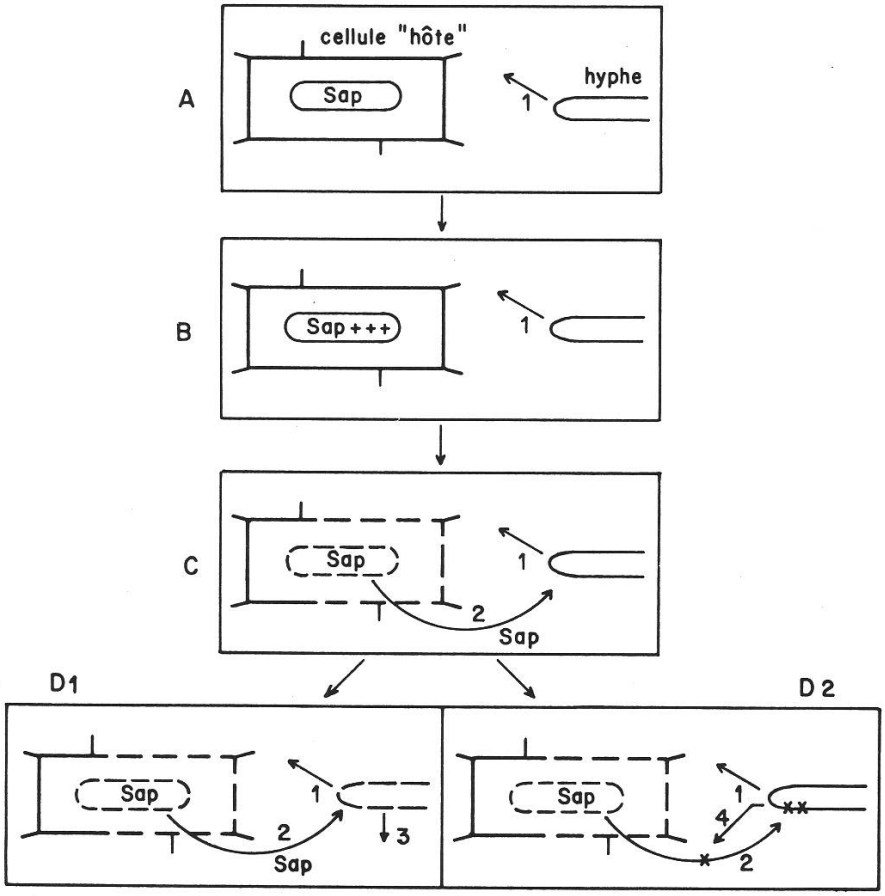


Figure 5:

Représentation schématique de l'action des saponines (les schéma A, B, C et D sont ordonnés dans l'ordre chronologique; sap = saponines; modifié et complété de *Lüning* 1975).

A. L'hyphe produit divers métabolites extra-cellulaires *(1)*.

B. Certains de ces métabolites font augmenter indirectement la teneur en saponines monodesmosidiques (saponines +++).

C. Certains métabolites de l'hyphe permettent la libération des saponines *(2)* dans le milieu de croissance du champignon.

D. 1. L'hyphe voit sa semi-perméabilité détruite, son contenu cellulaire s'échappe *(3)* et son avance est stoppée. L'hyphe est, par la suite, détruite par les saponines ou par d'autres métabolites de la plante.

D. 2. L'hyphe est, soit insensible de par sa structure (XX) aux saponines, soit elle les détruit ou les transforme par des produits de son métabolisme (*4;* X); l'hyphe poursuit son avance et la plante met en oeuvre d'autres mécanismes de défense.

14. Conclusions

La théorie postulant que les saponines sont des substances naturelles de défense s'appuie sur les faits suivants:

1. Les plantes contiennent souvent suffisamment de saponines pour inhiber la croissance de nombreux champignons phytopathogènes.
2. La teneur des plantes en saponines peut augmenter sous l'effet des blessures.
3. Les champignons pathogènes d'une plante synthétisant des saponines sont souvent moins sensibles aux saponines que les champignons non pathogènes; leur sensibilité aux saponines des autres plantes peut être forte.
4. Lorsqu'un tissu ou un organe voit diminuer sa teneur en saponines au cours de son développement, il devient souvent moins résistant à certains champignons sensibles à ces saponines; d'autre part, ce tissu laisse des agents pathogènes latents se développer.
5. La teneur en saponines d'un tissu visiblement malade est moins forte que la teneur en saponines du tissu sain.
6. Lorsque le mycélium d'un *Pythium* est rendu sensible aux saponines par absorption d'un peu de cholestérol, il est moins pathogène pour les plantes synthétisant des saponines que le mycélium insensible aux saponines. Cette insensibilité est due soit à l'absence soit à une surabondance de cholestérol dans les hyphes.
7. Il y a des exceptions à toutes ces règles. Elles peuvent se comprendre partiellement en raison des nombreux facteurs qui influencent l'intensité de la biosynthèse des saponines et leur degré de toxicité pour les champignons.

La spécificité des maladies fongiques peut s'expliquer par:

1. La grande variété de saponines et le degré plus ou moins prononcé de leur toxicité suivant leur structure.
2. La sensibilité plus ou moins prononcée de certaines souches et espèces de champignons pour une saponine donnée.

Dans les cas étudiés jusqu'à présent, les saponines semblent prendre part à la digestion du champignon, une fois que celui-ci a pénétré dans la plante; elles ne sont pas associées aux réactions d'hypersensibilité.

La localisation des saponines et les conditions dans lesquelles elles sont libérées de leur compartiment cellulaire dans le milieu intracellulaire, demeurent inconnues. On ne sait pas non plus si les saponines, au moment de leur libération, entrent parfois en contact avec certaines substances de la plante (stérols, lipides, polyphénols) et si elles se trouvent ainsi détoxiquées avant d'atteindre les hyphes. Ces inconnues concernant la localisation et la détoxication dans la plante hôte ne permettront d'estimer exactement le rôle des saponines comme substances de défense que lorsque l'on disposera, chez les agents pathogènes, de mutants artificiels résistants aux saponines. Nous avons tout récemment réussi à obtenir de tels mutants (tableau 10).

Tableau 10:

Liste des différents groupes de mutants artificiels, résistants à la tomatine, obtenus jusqu'à maintenant (3/3 = croissance longitudinale en absence de tomatine).

espèce		méthode de mutation	ppm tomatine pour une croissance de 0	1/3	2/3
Fusarium solani					
souche sauvage		–	200	12	1
mutants:	groupe 1	UV	400	–	–
	groupe 2	NTG	400	–	–
	groupe 3	UV	>800	–	800
	groupe 4	NTG	>800	800	–
Fusarium martii					
souche sauvage		–	200	–	–
mutants:	groupe 5	NTG	800	–	–

On peut, avec *Ingham* (1973) et *Mahadevan* (1970), ranger les saponines dans la classe des prohibitines: il s'agit des métabolites synthétisés par la plante en quantité suffisante pour bloquer in vivo le développement des microorganismes non adaptés à ces substances. Pourtant, l'augmentation de la teneur des tissus en saponines sous l'effet des blessures permet, à notre avis, de rattacher aussi ces substances à la classe des inhibitines: ce sont les métabolites synthétisés par les plantes apparemment saines, mais dont la concentration dans les tissus végétaux augmente nettement après le début de l'infection; cette augmentation permet aux inhibitines d'exprimer entièrement leur potentiel toxique.

Prohibitines ou inhibitines, les saponines protègent très probablement nombre d'espèces végétales contre une multitude de champignons. Un petit nombre de ces microorganismes échappent à leur pouvoir et deviennent parasites dans la mesure où ils sont capables de vaincre les autres mécanismes de défense de la plante.
Les saponines peuvent en outre, expliquer une partie de la spécificité des maladies fongiques, ainsi que l'état de latence de certaines maladies.

V. Sommaire

Les saponines sont des glucosides qui sont presque exclusivement synthétisées par les végétaux supérieurs. L'aglycone est de nature terpénoïde, stéroïde ou stéroïde-alcaloïde. Il est muni d'une chaîne de sucre (saponine monodesmosidique) ou de deux chaînes de sucre (saponine bidesmosidique); ces chaînes sont constituées d'une ou de plusieurs unités d'oses. Les saponines munies de deux chaînes de sucre en perdent facilement une par hydrolyse. Les saponines ainsi obtenues et les saponines monodesmosidiques sont caractérisées par un ensemble de propriétés. Une de ces propriétés est leur pouvoir toxique pour les champignons.

La teneur en saponines des plantes supérieures est en général élevée (plusieurs pour-cent du poids sec). Elle peut augmenter sous l'effet des blessures et des infections. De nombreux auteurs se sont donc efforcés de montrer que les saponines sont des substances naturelles de défense des plantes contre les maladies fongiques.

Les saponines sont synthétisées par plus de 500 espèces appartenant au moins à 80 familles; parmi ces espèces se trouvent de nombreuses plantes d'importance agronomique. Certains genres, espèces ou cultivars synthétisent des saponines qui leur sont caractéristiques; d'autre part, les différents organes d'une même plante peuvent avoir des saponines de structure chimique différente; de plus, la teneur en saponines peut varier fortement d'un organe à l'autre. Les saponines sont donc probablement synthétisées séparément dans chaque organe.

La localisation des saponines dans les cellules demeure incertaine. On admet généralement qu'elles sont stockées dans les vacuoles mais il n'est pas impossible qu'elles soient fixées aux membranes des cellules ou des organites; il se peut aussi qu'elles soient dissoutes dans le cytoplasme.

La teneur en saponines d'une plante est influencée par la lumière, la température et l'apport d'engrais; elle atteint, dans un organe donné, sa valeur la plus élevée lorsque cet organe est en état de forte croissance; elle diminue souvent lorsque cet organe vieillit. Cette diminution est due en partie à une dégradation (par exemple lors de la maturation des fruits de la tomate ou le vieillissement des feuilles de la pomme de terre). Sous l'effet des blessures et des infections, la teneur en saponines augmente souvent; parallèlement, les saponines bidesmosidiques sont transformées en leur forme monodesmosidique; seule cette dernière forme est toxique pour les champignons. Les saponines perturbent la semi-perméabilité cellulaire des champignons; au microscope électronique, l'action des saponines sur les membranes artificielles et celles des érythrocytes correspond à l'apparition de „trous" (pits). Les saponines qui sont toxiques pour les champignons, forment des complexes in vitro avec les stérols normalement présents dans la membrane plasmique des champignons. Elles se comportent donc comme les antibiotiques polyéniques. Le mécanisme de la toxicité de ces antibiotiques est la formation de complexes in vivo avec les stérols des membranes plasmiques. Il y a de bonnes raisons de penser que chez les saponines aussi la formation de complexes représente un mécanisme d'action essentiel. C'est ainsi que les champignons qui ne synthétisent pas de stérols, ne deviennent sensibles aux saponines que lorsque qu'ils ont incorporé dans leur membrane plasmique des stérols exogènes. Les saponines bidesmosidiques (possédant deux chaînes de sucre) ne forment pas de complexes et ne sont pas toxiques. La structure chimique des saponines et des stérols impliqués influence la stabilité des complexes et ainsi la toxicité des saponines.

Les différents champignons sont diversement sensibles aux saponines. Pour expliquer ces différences, divers mécanismes de résistance peuvent être pris en considération: passage des saponines de l'état dissocié à l'état non dissocié; transformation de l'aglycone par le champignon; hydrolyse de la chaîne de sucre dans le milieu ambiant; inhibition de cette hydrolyse au niveau de la membrane plasmique; formation de complexes avec des molécules de la paroi cellulaire; différences dans la teneur qualitative et quantitative en stérols des cellules fongiques.

Le rôle des saponines en tant que facteurs de résistance contre les champignons parasites a été souvent étudié (par exemple chez la tomate et la pomme de terre). Les résultats ne concordent guère. Une difficulté réside dans l'action rapide et localisée des saponines après le début de l'infection. Des modifications ultérieures du taux de saponines de l'ensemble de la plante ou d'un organe peuvent ainsi donner une fausse image des processus impliqués.

Sur le modèle de la fonte des semis causée chez différentes plantes par des espèces du genre *Pythium,* il nous a été possible de tourner d'importantes difficultés expérimentales. Les *Pythium* et les *Phytophthora* (ces deux genres appartiennent à la classe des *Oomycètes*) ne synthétisent pas de stérols mais peuvent absorber des stérols exogènes dans leur membrane plasmique. La destruction de la semi-perméabilité des cellules fongiques par la digitonine, une saponine, dépend de la quantité de cholestérol absorbé; elle croit jusqu'à un rapport moléculaire cholestérol : digitonine de 1:3 et décroît de nouveau pour des concentrations plus élevées de cholestérol. Le pouvoir pathogène du champignon pour des plantules de différentes espèces est également influencé par le taux de cholestérol absorbé. Chez la betterave et la tomate, le pouvoir pathogène décroît d'abord avec une concentration croissante de cholestérol absorbé, puis augmente à nouveau. Chez le pois et le soya, le pouvoir pathogène croît avec l'augmentation du taux de cholestérol absorbé. Seules la betterave et la tomate contiennent des saponines, qui forment des complexes avec le cholestérol et sont ainsi toxiques pour le *Pythium;* les teneurs en saponines dans la racine de ces plantules sont assez hautes pour expliquer une diminution du pouvoir pathogène du champignon.

D'après les indications bibliographiques et selon nos propres travaux, on peut envisager, pour expliquer l'action des saponines comme facteur de résistance, le modèle suivant: un champignon sensible aux saponines pénètre par des blessures (présentes ou qu'il occasionne) dans une plante synthétisant des saponines. Le taux en saponines de la plante hôte peut alors augmenter. Le champignon attaque par des enzymes ou d'autres molécules les membranes des cellules de l'hôte. Les saponines sont alors libérées et elles bloquent la croissance du champignon par formation de complexes avec les stérols de la membrane plasmique de ce dernier; l'infection est ainsi localisée. D'autres champignons, sont en raison de la constitution chimique de leurs membranes, peu sensibles aux saponines ou peuvent détoxiquer les saponines de l'hôte par divers mécanismes. Les champignons sont alors capables d'envahir la plante et de la rendre malade. Diverses questions restent à ce propos ouvertes (localisation des saponines dans la cellule, libération des saponines hors de la cellule, etc.). Nombre de ces questions devraient pouvoir être résolues à l'aide de mutants artificiels; nous avons obtenu de tels mutants récemment dans nos recherches.

Zusammenfassung

Saponine sind Glycoside, die fast ausschliesslich in höheren Pflanzen vorkommen. Das Aglykon ist terpen-, steroid- oder steroidalkaloid-artig gebaut; es trägt an einem oder an zwei C-Atomen eine Zuckerkomponente aus einem oder mehreren Zuckern. Die Saponine mit zwei Zuckerketten spalten die eine leicht durch Hydrolyse ab. Die (von Natur aus oder nach Hydrolyse) eine Zuckerkette tragenden Saponine haben eine Reihe von gemeinsamen Eigenschaften; eine davon ist (im Unterschied zu den Saponinen mit zwei Zuckerketten) die Giftwirkung auf Pilze.

Der Saponingehalt höherer Pflanzen ist im allgemeinen relativ hoch (mehrere Prozent des Trockengewichts); er kann nach Verletzungen oder Infektionen zunehmen. Zahlreiche Autoren haben deshalb Saponine zur Erklärung der Resistenz von Pflanzen gegen parasitische Pilze herangezogen.

Saponine wurden in über 500 Pflanzenarten aus mindestens 80 Familien nachgewiesen; darunter finden sich zahlreiche wichtige Kulturpflanzen. Einzelne Gattungen, Arten oder Sorten von Blütenpflanzen können charakteristische Saponine bilden. In verschiedenen Organen einer Pflanze kann der Saponingehalt qualitativ und quantitativ verschieden sein. Die Saponine werden offenbar in den verschiedenen Organen einer Pflanze unabhängig synthetisiert.

Die Lokalisierung der Saponine in der Zelle ist noch nicht endgültig geklärt. Allgemein wird angenommen, dass sie in der Vakuole eingelagert werden, doch scheint auch eine Bindung an Membranen von Zellen oder Organellen und ein Vorkommen im Cytoplasma in gelöster Form möglich.

Der Saponingehalt der Pflanzen wird durch Licht, Temperatur und Düngung beeinflusst; er ist im allgemeinen in der Phase des stärksten Wachstums am höchsten und nimmt mit der Reifung ab; so werden die Saponine in reifenden Tomaten und alternden Kartoffelblättern teilweise abgebaut. Nach Verletzungen oder Pilzinfektionen steigt der Saponingehalt häufig an; dabei können auch Saponine mit zwei Zuckerketten in solche mit einer Zuckerkette umgewandelt und dadurch für Pilze giftig gemacht werden.

Saponine schädigen die Semipermeabilität von Pilzzellen. In künstlichen Membranen und solchen von Erythrozyten lassen sich submikroskopische „Löcher" (pits) nachweisen. Die auf Pilze giftig wirkenden Saponine bilden in vitro Komplexe mit Sterolen der Plasmamembran von Pilzzellen. Sie verhalten sich darin gleich wie die Polyen-Antibiotica. Die Giftwirkung dieser Antibiotica beruht auf der Komplexbildung mit Sterolen in vivo. Verschiedene Beobachtungen sprechen dafür, dass die Komplexbildung auch bei Saponinen den wesentlichen Wirkungsmechanismus darstellt. So sind Pilze, die keine Sterole bilden (z.B. *Pythium*-Arten) nur für Saponine empfindlich, wenn ihnen Sterole verabreicht werden. Saponine mit zwei Zuckerketten bilden keine Komplexe und wirken nicht giftig. Die chemische Struktur der beteiligten Saponine und Sterole beeinflusst die Stabilität der Komplexe und damit die Giftwirkung der Saponine.

Verschiedene Pilze sind für Saponine verschieden empfindlich. Zur Erklärung der Unterschiede kommen verschiedene Mechanismen in Frage: Übergang des Saponins von der dissoziierten in die nicht dissoziierte Form; Umwandlung des Aglykons durch den Pilz; Hydrolyse der Zuckerkette im Substrat; Hemmung der Hydrolyse in der

Zellmembran; Komplexbildung mit anderen Verbindungen der Zellwand; quantitative und qualitative Unterschiede im Sterolgehalt der Pilzzellen.

Die Rolle der Saponine als Resistenzfaktoren gegen parasitische Pilze ist schon oft untersucht worden (v.a. an Kartoffel- und Tomatenpflanzen); die Ergebnisse widersprechen sich jedoch stark. Eine Schwierigkeit dürfte daher kommen, dass die Saponine mit grosser Wahrscheinlichkeit rasch nach der Infektion und lokalisiert zur Wirkung kommen; spätere Veränderungen im Saponingehalt ganzer Pflanzen oder Organe können deshalb ein falsches Bild liefern.

In eigenen Untersuchungen am Modell des durch *Pythium*-Arten verursachten Wurzelbrandes verschiedener Pflanzen konnten wesentliche experimentelle Schwierigkeiten umgangen werden. *Pythium*- und *Phytophthora*-Arten (aus der Pilzgruppe der *Oomyceten*) bilden keine Sterole, absorbieren sie jedoch in der Plasmamembran. Die Schädigung der Semipermeabilität der Pilzzellen durch das Saponin Digitonin in vitro hängt von der Menge des aufgenommenen Cholesterins ab; sie nimmt bis zu einem Molverhältnis von Cholesterin : Digitonin = 1:3 zu und nimmt mit höherem Cholesteringehalt wieder ab. Auch die Pathogenität des Pilzes für Keimpflanzen verschiedener Arten wird durch den Cholesteringehalt beeinflusst. Bei Zuckerrüben und Tomatenpflanzen nimmt die Pathogenität mit steigendem Cholesteringehalt zunächst ab und dann wieder zu; bei Erbsenpflanzen und Sojabohnen nimmt die Pathogenität mit steigendem Cholesteringehalt zu. Nur Zuckerrüben und Tomatenpflanzen enthalten Saponine, die mit Sterolen Komplexe bilden und dadurch auf Pilze giftig wirken; die in den Wurzeln dieser Pflanzen enthaltenen Saponinmengen sind hoch genug, um die Abnahme der Pathogenität des Pilzes zu erklären.

Auf Grund der Literatur und eigener Arbeiten lässt sich das folgende Modell der Wirkungsweise der Saponine als Resistenzfaktoren entwickeln. Ein saponinempfindlicher Pilz dringt durch vorhandene oder von ihm selbst geschaffene Verletzungen in eine saponinhaltige Pflanze ein. Die Saponinbildung der Wirtspflanze kann dabei aktiviert werden. Der Pilz greift durch Enzyme oder andere Verbindungen die Membranen der Wirtszellen an; dadurch werden die Saponine der Wirtspflanze freigelegt, hemmen das Wachstum des Pilzes durch Komplexbildung mit seinen Sterolen und lokalisieren dadurch die Infektion. Andere Pilze sind wegen ihres Membranchemismus wenig saponinempfindlich oder können die Saponine der Wirtspflanze entgiften; sie können deshalb die Pflanze besiedeln und krank machen. Verschiedene Fragen bleiben dabei noch offen (Lokalisierung der Saponine in der Zelle, Austritt der Saponine aus der Zelle u.a.). Ein Teil dieser Fragen dürfte sich mit Hilfe von experimentellen, saponinresistenten Mutanten parasitischer Pilze klären lassen; solche Mutanten konnten vor kurzem in unseren laufenden Untersuchungen erhalten werden.

Summary

The function of saponins in the resistance of plants to parasitic fungi.

Saponins are glycosides occurring almost only in higher plants. The aglycon has a terpenoid, steroid, or steroid-alcaloid structure; it carries, at one or two carbon atoms, a side chain consisting of one or several sugars. Saponins with two sugar chains easily hydrolyse one of them. Saponins with one sugar chain (naturally or after hydrolysis) have several common characteristics; one of them (in contrast to saponins with two sugar chains) is the toxic action on fungi.

The saponin content of higher plants is in general relatively high (several per cent of the dry weight); it may increase after mechanical lesions or fungal infections. Therefore, several authors tried to explain the resistance of plants against fungal parasites by the action of saponins.

Saponins have been found in more than 500 species of higher plants from at least 80 families, including numerous important cultivated plants. Single genera, species, or varieties of plants may form characteristic saponins. The saponin content may differ qualitatively and quantitatively in the organs of a plant. Saponins apparently are synthesized independently in the different organs of a plant.

Localization of saponins in the cell is not yet definitely clear. It is assumed, in general, that saponins are localized in the vacuole but it is also possible that they are bound to membranes of cells or cell organells or that they occur as solutes in the cytoplasm.

The saponin content of plants is influenced by light, temperature, and nutrition. In general, it reaches its maximum during the period of most intensive growth and decreases with maturation. Thus, saponins are partially decomposed in ripening tomato fruits and old potato leaves. After mechanical lesions or fungal infections the saponin content frequently increases; during these processes, saponins with two sugar chains may lose one of them and thus become toxic for fungi.

Saponins damage the semipermeability of fungal cells. In artificial membranes and membranes of erythrocytes submicroscopical holes („pits") may be found. Saponins toxic for fungi form in vitro complexes with sterols of fungal cell membranes. This is a common characteristic with polyene antibiotics. The toxic action of these antibiotics is based on the formation of complexes with sterols in vivo. Several observations lead to the assumption that the same mechanism of action is essential for saponins. Thus, fungi which do not form any sterols (e.g. species of *Pythium*) are sensitive to saponins only after application of sterols. Saponins with two sugar chains do not form complexes with sterols and are not toxic. The chemical structure of the saponins and sterols involved affects the stability of complexes and the toxic action of saponins.

Different fungi have different degrees of sensitivity to saponins. Several mechanisms are possible to explain this. A saponin may change from a dissociated into a non dissociated state; the aglycon may be transformed by the fungus; the sugar chain may be hydrolysed in the substrate; hydrolysis may be inhibited in the cell membrane; complexes with other compounds of the cell membrane may be formed; fungal cells may differ quantitatively and qualitatively in their sterol content.

The function of saponins as resistance factors against parasitic fungi has been studied in several cases (e.g. potato and tomato plants); the results are very contro-

versial. One important difficulty probably is that saponins may act very fast and localized after infection; later changes in saponin contents of organs or whole plants, therefore, may lead to wrong conclusions.

In our investigations on damping-off of plants caused by *Pythium* species, several experimental difficulties could be excluded. Species of *Pythium* and *Phytophthora* (both belonging to the fungal group of *Oomycetes*) do not form sterols but are able to absorb them in their cytoplasmic membrane. The degree of damage to the semi-permeability of fungal cells by the saponin digitonin depends on the quantity of cholesterol absorbed; it increases to a molar ratio of cholesterol : digitonin of 1 : 3 and decreases with further increasing cholesterol content. The pathogenicity of the fungus for seedlings of various plants depends on cholesterol contents. Pathogenicity for sugar beets and tomato plants decreases with increasing cholesterol content and increases again when a certain amount of cholesterol is reached. In pea and soy bean seedlings, pathogenicity increases with increasing cholesterol content. Sugar beets and tomato plants only contain saponins which form complexes with sterols and which are toxic for fungi; roots of these plants contain enough saponins to explain the decrease in pathogenicity.

Based on the literature and on our own results, the following hypothesis on the action of saponins as resistance factors is proposed. A fungal parasite sensitive to saponins penetrates into a plant containing saponins through lesions which may be present before infection or caused by the penetrating fungus. Production of saponins by the host plant may be activated during this period. The fungus attacks (by enzymes or other compounds) the host cell membranes; in consequence, saponins of the host cells are set free, inhibit growth of the fungus by formation of complexes with its sterols, and localize the infection. Other fungi are little sensitive to saponins (because of the chemical structure of their membranes) or are able to detoxify the saponins of the host plant or they do not set free saponins from the host cells; they are able, therefore, to grow in the host plant and to cause a disease. Several aspects of the problem remain to be cleared (localization of saponins in the cell, liberation of saponins from cells, etc.). Some of these questions may be solved with the aid of experimentally induced, saponin resistant mutants of parasitic fungi. Such mutants have been produced recently in our current experiments.

Remerciements

Ce travail fait partie d'une thèse d'habilitation à l'EPF-Z; il a été rendu possible grâce à l'appui et à l'intérêt témoignés par le Professeur H. Kern. Il a été facilité par la collaboration efficace des membres de l'Institut de botanique spéciale de l'EPF-Z et par celle de plusieurs étudiants; citons notamment MM M. Bazzigher, C. Gessler, Mme K. Kaiser, MM R. Lüchinger, D. Lüscher, Dr. K.F. Memmen, Dr. U. Mühlethaler, Dr. S. Naef-Roth, Dr. F. Ruffner. Nombre d'expériences citées dans cette publication sont dues à la collaboration technique de Mme G. Springenfeld. Mr. A. Kühne a exécuté les figures. Le Fond National (partie des projets n. 3.280.74 et 3.087-0.76) et les services financiers de l'EPF-Z ont fourni l'apport pécuniaire nécessaire. A toutes ces personnes, je tiens à exprimer ma profonde gratitude.

IV. Bibliographie

Adams B.G. et L.W. Parks, 1967. A water-soluble form of ergosterol and cholesterol for physiological studies. Biochem. Biophys. Res. Comm. *28,* 490–494.

Agarwal S.K. et R.P. Rastogi, 1974. Review triterpenoid saponins and their genins. Phytochemistry *13,* 2623–2645.

Agerberg L.S., M. Schmidt et R. v. Sengbusch, 1933. Der Einfluss künstlicher Kultur auf das Verhalten der Konidien von *Cladosporium fulvum.* Planta *21,* 511–512.

Akahori A., F. Yasuda, K. Kagawa, M. Ando et M. Togami, 1970. Intracellular distribution of the steroidal sapogenins in *Dioscorea tokoro.* Phytochemistry *9,* 1921–1928.

Allen E.H. et J. Kuć, 1968. α-solanine and α-chaconine as fungitoxic compounds in extracts of Irish potato tubers. Phytopathology *58,* 776–781.

Allison P. Van Berg, 1952. Relation of solanine content of tomato fruits to colonization by *Colletotrichum phomoides.* Phytopathology *42,* 1.

Arneson P.A. et R.D. Durbin, 1967. Hydrolysis of tomatine by *Septoria lycopersici:* a detoxification mechanism. Phytopathology *57,* 1358–1359.

– –, 1968a. Studies on the mode of action of tomatine as a fungitoxic agent. Plant. Physiol. *43,* 683–686.

– –, 1968b. The sensitivity of fungi to α-tomatine. Phytopathology *58,* 536–537.

Assa Y., B. Gestetner, I. Chet et Y. Henis, 1972. Fungistatic activity of lucerne saponins and digitonin as related to sterols. Life Sciences *11,* 637–647.

– , I. Chet, B. Gestetner, R. Govrin, Y. Birk et A. Bondi, 1975. The effect of alfalfa saponins on growth and lysis of *Physarum polycephalum.* Arch. Microbiol. *103,* 77–81.

Balansard J. et F. Pellessier, 1943. Les saponines de *Quillaya* et *Polygala* agents de prolifération cellulaire. Compt. Rend. Soc. Biol. *137,* 523–525.

Bangham A.D. et R.W. Horne, 1962. Action of saponin on biological cell membranes. Nature *196,* 952–953.

Basu N. et R.P. Rastogi, 1967. Triterpenoid saponins and sapogenins. Phytochemistry *6,* 1249–1270.

Berrang B., K.H. Davis Jr., M.E. Wall, C.H. Hanson et M.E. Pedersen, 1974. Saponins of two alfalfa cultivars Phytochemistry *13,* 2253–2260.

Birk Y., 1969. Saponins. Dans: Liener (éd), Food science and technology. Academic Press, New York, 169–210.

Blunden G., R. Hardmann et W.R. Wensley, 1965. Effects of enzymes on *Yucca glauca* Nutt. and other steroid-yielding monocotyledons. J. Pharm. Pharmacol. *17,* 274–280.

Boas F., 1928. Die Pflanze als kolloides System. Naturwissensch. u. Landwirtschaft, *14,* 82–109.

Boiteau P., B. Pasisch et A. Rakoto Ratsimamanga, 1964. Les triterpénoides en physiologie végétale et animale. éd. Gauthier-VI, Centre de la recherche scientifique, Paris.

Buchenauer H., 1975. Various response of cell membranes of plant and fungal cells to different systemic fungicides. VII. International Plant Protection Congress, Moscow 1975. Reports and informations; section *III;* chemical control, 94–110.

Büchi J. et R. Dolder, 1950. Die Bestimmung des Hämolytischen Index (H.I.) offizineller Arzneidrogen. Pharm. Acta Helv. *25,* 179–188.

Burkhardt H.J., J.V. Maizel et H.K. Mitchell, 1964. Avenacin, an antimicrobial substance isolated from *Avena sativa,* II. Structure. Biochemistry *3,* 426–431.

Child J.J., G. Défago et R.H. Haskins, 1969. The effect of cholesterol and polyene antibiotics on the permeability of the protoplasmic membrane of *Pythium* PRL 2142. Can. J. Microbiol. *15,* 599–603.

Conner H.W., 1937. Effect of light on solanine synthesis in the potato tuber. Plant Physiol. *12,* 79–98.

Currier W.W. et J. Kuć, 1975. Effect of temperature on rishitin and steroid glycoalkaloid accumulation in potato tuber. Phytopathology *65,* 1194–1197.

Deahl K.L., R.J. Young et S.L. Sinden, 1973. A study of the relationship of late blight resistance to glycoalkaloid content in fifteen potato clones. Amer. Potato J. *50,* 248–253.

Défago G. et H. Kern, 1975a. Absorption et transport du cholestérol par le *Pythium paroecandrum.* Phytopath. Z. *84,* 34–46.

– , K.F. Memmen et H. Kern, 1975b. Influence du cholestérol et des saponines sur le pouvoir pathogène du *Pythium paroecandrum.* Phytopath. Z. *83,* 167–184.

– , U. Mühlethaler et H. Kern, 1977. Influence de la nystatine, un antibiotique polyénique, sur la conidiation des stérols liés par complexes et sur la sporulation du *Coprinus cinereus*. Experientia *33*, 327–328.
– , et H. Kern, 1977. Rôle des stérols dans la résistance ontogénique du *Pisum sativum* au *Pythium paroecandrum*. Phytopath. Z. Sous presse.
Dourmashkin R.R., R.M. Dougherty et R.J.C. Harris, 1962. Electron microscopic observations on *Rous sarcoma* virus and cell membranes. Nature *194*, 1116–1119.
Drysdale R.B. et P. Langcake, 1973. Response of tomato to infection by *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. Dans: Byrde R.Y.W. et C.V. Catting (éds), Fungal pathogenicity and the plant's responses. Academic Press, London, 423–436.
Dupéron P. et M. Renaud, 1966. Nature des stérols de la graine de *Pisum sativum*. Evolution de ces substances au cours de la germination à l'obscurité. C.R. Soc. Biol. *160*, 1710–1714.
Durbin R.D. et T.F. Uchytil, 1969. Purification and properties of a fungal glucosidase acting on α-tomatine. Biochim. Biophys. Acta *191*, 176–178.
Edwards P.A. et C. Green, 1972. Incorporation of plant sterols into membranes and its relation to sterol absorption. FEBS Lett. *20*, 97–99.
Evans F.J. et P.S. Cowley, 1972. Variation in cardenolides and sapogenins in *Digitalis purpurea* during germination. Phytochemistry *11*, 2729–2733.
Ferenczy L., F. Kevei, I. Berek et J. Teren, 1970. Some new data on the antifungal effects of steroid glycosides. Dans: Wirkungsmechanismen von Fungiziden, Antibiotika und Cytostatika. Internationales Symposium Reinhardsbrunn 1969. Akademie Verlag, Berlin, 191–199.
Fischer R., 1927. Der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Solanin-Hämolyse. Biochem. Z. *209*, 319–325.
Frank J.A., J.M. Wilson et R.E. Webb, 1975. The relationship between glycoalkaloids and disease resistance in potatoes. Phytopathology *65*, 1045–1049.
Frühling J., W. Penasse, G. Sand et A. Claude, 1971. Réactions de la digitonine avec le cholestérol et autres lipides de la corticosurrénale du rat: étude par microscopie électronique. J. Microscopie *12*, 83–106.
Gál I.E., 1965. Neuere Angaben über Capsicidin. Experientia *21*, 383.
Gestetner B., Y. Assa, Y. Henis, Y. Birk et A. Bondi, 1971. Lucerne saponins. IV. Relationship between their chemical constitution, and haemolytic and antifungal activities. J. Sci. Fd Agric. *22*, 168–172.
– , –, –, Y. Tencer, M. Rotman, Y. Birk et A. Bondi, 1972. Interaction of lucerne saponins with sterols. Biochim. Biophys. Acta *270*, 181–187.
Glauert A.M., J.T. Dingle et J.A. Lucy, 1962. Action of saponin on biological cell membranes. Nature *196*, 954–955.
Goth R.W., S.B. Sinden et M.J. O'Brien, 1969. Effect of light and glycoalkaloids on lesion development caused by *Alternaria solani* on potatoes. Phytopathology *59*, 1556.
Gottlieb D., 1971. Functions of sterols in fungi. Dans: Akai S. et S. Ouchi (éds.), Morphological and biochemical events in plant-parasite interaction. The Phytopathological Society of Japan, Tokyo.
Grindle M., 1973. Sterol mutants of *Neurospora crassa:* their isolation, growth characteristics and resistance to polyene antibiotics. Molec. gen. Genet. *120*, 283–290.
– 1974. The efficacy of various mutagens and polyene antibiotics for the induction and isolation of sterol mutants of *Neurospora crassa*. Molec. gen. Genet. *130*, 81–90.
Hamilton-Miller J.M.T., 1972. Sterols from polyene-resistant mutants of *Candida albicans*. J. Gen. Microbiol. *73*, 201–203.
– 1974. Fungal sterols and the mode of action of the polyene antibiotics. Adv. Appl. Microbiol. *17*, 109–134.
Hammerschlag F. et M.E. Mace, 1975. Antifungal activity of extracts from *Fusarium* wilt-susceptible and-resistant tomato plants. Phytopathology *65*, 93–94.
Hauser H., 1961. Über basische und neutrale Saponine in Tomatenkeimlingen. Dissertation Berlin.
Hayakawa S. et Y. Sato, 1962. Microbiological transformation of diosgenin. J. Org. Chem. *27*, 704–705.
Heftmann E., 1963. Biochemistry of plant steroids. Ann. Rev. Plant Physiol. *14*, 225–248.
– 1967. Biochemistry of steroidal saponins and glycoalkaloids. Lloydia *30*, 209–230.
– 1968. Biosynthesis of plant steroids. Lloydia *31*, 293–317.

– et S. Schwimmer, 1972. Degradation of tomatine to 3β-hydroxy-5α pregn-16-en-20-one by ripe tomatoes. Phytochemistry *11*, 2783–2787.
– , –, 1973. A radioligand assay of tomatine. Phytochemistry *12*, 2661–2663.
Hegnauer R., 1962–1973. Chemotaxomie der Pflanzen, t. 1–6, Birkhäuser, Basel.
Husson F. et V. Luzzati, 1963. Structure of red-cell ghosts and the effect of saponin treatment. Nature *197*, 822.
Ingham J.L., 1973. Disease resistance in higher plants. The concept of pre-infectional and post-infectional resistance. Phytopath. Z. *78*, 314–335.
Irving G.W. Jr., 1947. Biochemistry. – The significance of tomatin in plant and animal disease. J. Wash. Acad. Sci. *37*, 293–296.
Jadhav S.J. et D.K. Salunkhe, 1975. Formation and control of chlorophyll and glycoalkaloids in tubers of *Solanum tuberosum* L. and evalutation of glycoalkaloid toxicity. Adv. Fd. Res. *21*, 307–354.
Jeppsen R.B., D.K. Salunkhe, M.T. Wu et R.P. Sharma, 1975. Effects of N^6-benzyladenine on glycoalkaloids in potatoes as determined by thin layer chromatography. Experientia *31*, 345–346.
Joly R.A., J. Bonner, R.D. Bennett et E. Heftmann, 1969. Conversion of an open-chain saponin to dioscin by a *Dioscorea floribunda* homogenate. Phytochemistry *8*, 1445–1447.
Jones T.M., A.J. Anderson et P. Albersheim, 1972. Hostpathogen interactions. IV. Studies on the polysaccaride-degrading enzymes secreted by *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici.* Physiol. Plant. Pathol. *2*, 153–166.
Kern H., 1952. Über die Beziehungen zwischen dem Alkaloidgehalt verschiedener Tomatensorten und ihrer Resistenz gegen *Fusarium lycopersici.* Phytopath. Z. *19*, 351–382.
Kim S.J. et K.J. Kwon-Chung, 1974a. Polyene-resistant mutants of *Aspergillus fennelliae:* sterol content and genetics. Antimicrob. Agents Chemother. *6*, 102–113.
– , –, G.W.A. Milne et B. Prescott, 1974b. Polyene-resistant mutants of *Aspergillus fennelliae:* identification of sterols. Antimicrob. Agents Chemother. *6*, 405–410.
Kinsky S.C., 1963. Membrane sterols and the selective toxicity of polyene antifungal antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother. *1963*, 367–394.
Kitagawa I., T. Sugawara et I. Yosioka, 1976. Saponin and sapogenol. XV. Antifungal glycosides from the sea cucumber *Stichopus japonicus* Selenka (2) Structures of holotoxin A and holotoxin B. Chem. Pharm. Bull. *24*, 275–284.
Kondo E. et T. Mitsugi, 1966. Microbiological synthesis of 16-Keto steroids from steroidal sapogenins. J. Amer. Chem. Soc. *88*, 4737–4738.
Kuszlik-Jochym K. et B. Mazur, 1973. A search for inhibitors of anaerobic metabolism of carbohydrates among the triterpene saponin glycosides. Preliminary screening of plant extracts. Acta Biol. Crac. Ser. Bot. *16*, 203–213.
Lampen J.O., 1962. Intermediary metabolism of fungi as revealed by drug reaction. Dans: Dalldorf G. (éd.) Fungi and fungus diseases. Charles C. Thomas, Springfield, 102–116; cité par Kinsky 1963.
Langcake P. et R.B. Drysdale, 1975. The role of pectic enzyme production in the resistance of tomato to *Fusarium oxysporum f. lycopersici.* Physiol. Plant Pathol. *6*, 247–258.
– , – et H. Smith, 1972. Post-infectional production of an inhibitor of *Fusarium oxysporum f. lycopersici* by tomato plants. Physiol. Plant Pathol. *2*, 17–25.
Leath K.T., K.H. Davis, Jr., M.E. Wall et C.H. Hanson, 1972. Vegetative growth responses of alfalfa pathogens to saponin and other extracts from alfalfa (*Medicago sativa* L.). Crop.Sci. *12*, 851–856.
Liu K.C. et J.S. Boyle, 1974. Hemolysins in potato plants and their relation to virus infection. Phytopathology *64*, 714–718.
Locci R. et J. Kuć, 1967. Steroid alkaloids as compounds produced by potato tubers under stress. Phytopathology *17*, 1272–1273.
Lüning H.U., 1975. Saponine in *Avena sativa,* ihre Bedeutung im Resistenzmechanismus gegenüber phytopathogenen Pilzen. Dissertation, Bonn.
– et E. Schlösser, 1975. Rôle of saponins in antifungal resistance. V. Enzymatic activation of avenacosides. Z. PflKrank. PflSchutz *82*, 699–703.
– , –, 1976. Saponine in *Avena sativa.* Angew. Botanik *50*, 49–60.
Mace M.E., J.A. Veech et F. Hammerschlag, 1971. *Fusarium* wilt of susceptible and resistant tomato isolines: spore transport. Phytopathology *61*, 627–630.

Mahadevan A., 1970. Prohibitins and disease resistance. Phytopath. Z. *68,* 73–80.
Maizel J.V., H.J. Burkhardt et H.K. Mitchell, 1964. Avenacin, an antimicrobial substance isolated from *Avena sativa.* I. Isolation and antimicrobial activity. Biochemistry *3,* 424–426.
McCance D.J. et R.B. Drysdale, 1975. Production of tomatine and rishitin in tomato plants inoculated with *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici.* Physiol. Plant Pathol. *7,* 221–230.
McKee R.K., 1954. Dry-rot disease of the potato. VIII. A study of the pathogenicity of *Fusarium caeruleum* (Lib.) Sacc. and *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. Ann. appl. Biol. *41,* 417–434.
– 1955. Host-parasite relationships in the dry-rot disease of potatoes. Ann. appl. Biol. *43,* 147–148.
– 1957. Solanine and related alkaloids. Nature *179,* 313–314.
– 1959. Factors affecting the toxicity of solanine and related alkaloids to *Fusarium caeruleum.* J. gen. Microbiol. *20,* 686–696.
Mohanakumaran N., J.C. Gilbert et I.W. Buddenhagen, 1969. Relationship between tomatin and bacterial wilt resistance in tomato. Phytopathology *59,* 14.
Molzahn S.W. et R.A. Woods, 1972. Polyene resistance and the isolation of sterol mutants in *Saccharomyces cerevisiae.* J. Gen. Microbiol. *72,* 339–348.
Nowacki E., M. Jurzysta et P. Górski, 1975. Effect of availability of nitrogen on alkaloid synthesis in *Solanaceae.* Bull. Acad. Pol. Sci. *23,* 219–225.
Olsen R.A., 1971a. Triterpeneglycosides as inhibitors of fungal growth and metabolism. 1. Effect on growth, endogenous respiration and leakage of UV-absorbing material from various fungi. Physiol. Plant. *24,* 534–543.
– 1971b. Triterpeneglycosides as inhibitors of fungal growth and metabolism. 2. Effect on leakage of inorganic ions. Physiol. Plant. *25,* 204–212.
– 1971c. Triterpeneglycosides as inhibitors of fungal growth and metabolism. 3. Effect on uptake of potassium, magnesium and inorganic phosphate. Physiol. Plant. *25,* 503–508.
– 1972. Triterpeneglycosides as inhibitors of fungal growth and metabolism. 4. Effect of calcium and magnesium on growth capability, leakage of UV-absorbing substances and cations, and uptake of potassium. Physiol. Plant. *27,* 202–208.
– 1973. Triterpeneglycosides as inhibitors of fungal growth and metabolism. 5. Role of the sterol contents of some fungi. Physiol. Plant. *28,* 507-515.
Paquin R., 1966. Study on the role of the glycoalkaloids in the resistance of potato to bacterial ring rot. Amer. Potato J. *43,* 349–354.
– et R.A. Lachance, 1964. Effects des glycoalcaloides de la pomme de terre sur la croissance de *Corynebacterium sepedonicum* (Spieck. and Kott.) Skapt. and Burkh. Can. J. Microbiol. *10,* 115–122.
Paseshnichenko V.A., 1957. Content of solanine and chaconine in the potato during the vegetation period. Biochemistry (USSR) *22,* 929–931.
Pedersen M.W., D.E. Zimmer, D.R. McAllister, J.O. Anderson, M.D. Wilding, G.A. Taylor et C.F. McGuire, 1967. Comparative studies of saponin of several alfalfa varietes using chemical and biochemical assays. Crop Sci. *7,* 349–352.
Pharmacopea helvetica, 1971. Ed. sexta, t. 1, Allgem. Teil, dtsch. Ausgabe, Bern, 315.
Pillai C.G.P. et J.D. Weete, 1975. Sterol-binding polysaccharides of *Rhizopus arrhizus, Penicillium roquefortii* and *Saccharomyces carlsbergensis.* Phytochemistry *14,* 2347–2351.
Prelog V. et O. Jeger, 1960. Dans: Manske R.H.F. (éd.), The Alkaloids t. 6, Academic Press, New York and London. 346.
Prokoshev S.M., E.I. Petrochenko et V.A. Paseshnichenko, 1956. Dokt. Akad. Nauk SSSR *106,* 313; d'après Roddick 1974a.
Rangaraju R. et V.V. Chenulu, 1975. Effect of *Solanum khasianum* mosaic virus on certain growth characters and alkaloid content of its host. Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung. *10,* 237–243.
Roddick J.G., 1974a. The steroidal glycoalkaloid α-tomatine. Phytochemistry *13,* 9–25.
– 1974b. Biosynthesis and distribution of tomatine in cultured excised *Lycopersicon esculentum* roots. Phytochemistry *13,* 1459–1462.
– 1975a. Effect of α-tomatine on the permeability of plant storage tissues. J. Exp. Bot. *26,* 221–227.
– 1975b. Effect of α-tomatine on the response of wheat coleoptile segments to exogenous indole-3-acetic acid. J. Exp. Bot. *26,* 749–756.

– 1976a. Response of tissues and organs of tomato to exogenous α-tomatine. J. Exp. Bot. *27,* 341–346.
– 1976b. Intracellular distribution of the steroidal glycoalkaloid α-tomatine in *Lycopersicon esculentum* fruits. Phytochemistry *15,* 475–477.
Safe S. et J. Caldwell, 1976. In vitro binding of sterols by extracts from *Mucor rouxii* cells grown under different environmental conditions. Can. J. Microbiol. *22,* 1163–1168.
Sander H., 1956. Studien über Bildung und Abbau von Tomatin in der Tomatenpflanze. Planta *47,* 374–400.
Sanford L.L. et S.L. Sinden, 1972. Inheritance of potato glycoalkaloids. Amer. Potato J. *49,* 209–217.
Schlösser E., 1969. Interaction of saponins with cholesterol, lecithin, and albumin. Can. J. Physiol. Pharmacol. *47,* 487–490.
– 1971. Cyclamin, an antifungal resistance factor in cyclamen species. Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung. *6,* 85–95.
– 1972a. *Pestalotia microspora* (Speg.) *Guba* on a variegation of English ivy (*Hedera helix* L.). Z. PflKrankh. PflSchutz *79,* 308–309.
– 1972b. Sterol dependent membranelytic action of saponins. Phytopath. Z. *74,* 91–94.
– 1973a. Rôle of saponins II. Increased cyclamin contents in leaves of *Cyclamen persicum* as a response to microorganisms? Phytopath. Z. *77,* 184–186.
– 1973b. Rôle of saponins in antifungal resistance II. The hederasaponins in leaves of English ivy (*Hedera helix* L.). Z. PflKrankh.PflSchutz *80,* 704–710.
– 1975. Rôle of saponins in antifungal resistance. III. Tomatin dependent development of fruit rot organisms on tomato fruits. Z. PflKrankh.PflSchutz *82,* 476–484.
– et D. Gottlieb, 1966. Sterols and the sensitivity of *Pythium* species to filipin. J. Bacteriol. *91,* 1080–1084.
– et G. Wulff, 1969. Über die Strukturspezifität der Saponinhämolyse. I. Triterpensaponine und -aglykone. Z. Naturforschg. *24b,* 1284–1290.
Schreiber K., 1968. Steroid alkaloids. The Solanum Group. Dans: Manske R.H.F., (éd.) The Alkaloids, t. 10, 1–192; Academic Press New York and London.
Schulz G. et H. Sander, 1957. Über Cholesterin-Tomatid. Eine neue Molekülverbindung zur Analyse und präparativen Gewinnung von Steroiden. Hoppe-Seyler's Zeitschrift physiol. Chemie *308,* 122–126.
Seeman P., D. Cheng et G.H. Iles, 1973. Structure of membrane holes in osmotic and saponin hemolysis. J. Cell. Biol. *56,* 519–527.
Segal R. et I. Milo-Goldzweig, 1975a. On the mechanism of saponin hemolysis. II. Inhibition of hemolysis by aldonolactones. Biochem. Pharmacol. *24,* 77–81.
– et E. Schlösser, 1975b. Role of glycosidases in the membranlytic, antifungal action of saponins. Arch. Microbiol. *104,* 147–150.
– , P. Shatkovsky et I. Milo-Goldzweig, 1974. On the mechanism of saponin hemolysis. I. Hydrolysis of the glycosidic bond. Biochem. Pharmacol. *23,* 973–981.
Shany S., Y. Birk, B. Gestetner et A. Bondi, 1970. Preparation, characterisation and some properties of saponins from lucerne tops and roots. J. Sci. Fd. Agric. *21,* 131–135.
Shcherbanisvs'kyl L.R. et L.M. Blahonravova, 1974. Effect of saponins on peroxidase activity in vitro. Ukr. Bot. Zh. *31,* 505–509.
Shih M. et J. Kuć, 1973a. Incorporation of ^{14}C from acetate and mevalonate into rishitin and steroid glycoalkaloids by potato tuber slices inoculated with *Phytophthora infestans.* Phytopathology *63,* 826–829.
– , – et E.B. Williams, 1973b. Suppression of steroid glycoalkaloid accumulation as related to rishitin accumulation in potato tubers. Phytopathology *63,* 821–826.
Shoppee Ch.W., 1964. Chemistry of the steroids. 2e éd.: Butterworths, London.
Sietsma J.H., 1971. Some effects of cholesterol on the metabolism of *Pythium* sp. PRL 2142. Biochim. Biophys. Acta *244,* 178–185.
– et R.H. Haskins, 1968. The incorporation of cholesterol by *Pythium* sp. PRL 2142, and some of its effects on cell metabolism. Can. J. Biochem. *46,* 813–818.
Sijpesteijn A.K. et A. van Dijkman, 1971. A biochemical basis for the defence reaction of tomato to *Cladosporium fulvum.* Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung. *6,* 79–84.

Sinden S.L., R.W. Goth et M.J. O'Brien, 1973. Effect of potato alkaloids on the growth of *Alternaria solani* and their possible role as resistance factors in potatoes. Phytopathology *63*, 303–307.
Sinsheimer J.E., G. Subba Rao, H.M. McIlhenny, R.V. Smith, H.F. Maassab et K.W. Cochran, 1968. Isolation and antiviral activity of the gymnemic acids. Experientia *24*, 302–303.
Smith J.E. et D.R. Berry, (éds.), 1975. The filamentous fungi, t. 1, Industrial mycology. Arnold, London.
Thompson J.D., B.A. Knights et L.W. Parks, 1973. Identification and properties of a sterol-binding polysaccaride isolated from *Saccaromyces cerevisiae*. Biochim. Biophys. Acta *304*, 132–141.
Tschesche R. et G. Wulff, 1964. Konstitution und Eigenschaften der Saponine. Planta med. *12*, 272–292.
– , –, 1965. Über die antimikrobielle Wirksamkeit von Saponinen. Z. Naturforschg. *20b*, 543–546.
– , H. Chandra Jha et G. Wulff, 1973a. Über Triterpene – Zur Struktur des Avenacins. Tetrahedron *29*, 629–633.
– et G. Wulff, 1973b. Chemie und Biologie der Saponine. Fortschr. Chem. org. Naturstoffe *30*, 462–606.
Turner E.M., 1953. The nature of the resistance of oats to the take-all fungus. J. Exp. Bot. *4*, 264–271.
– 1956. The nature of the resistance of oats to the take-all fungus. II. Inhibition of growth and respiration of *Ophiobolus graminis* Sacc. and other fungi by a constituent of oat sap. J. Exp. Bot. *7*, 80–92.
– 1960a. An enzymic basis for pathogenic specificity. Nature *186*, 325–326.
– 1960b. The nature of the resistance of oats to the take-all fungus. III. Distribution of the inhibitors in oat seedlings J. Exp. Bot. *11*, 403–412.
– 1961. An enzymic basis for pathogenic specificity in *Ophiobolus graminis*. J. Exp. Bot. *12*, 169–173.
Van Dijkman A., 1972. Natural resistance of tomato plants to *Cladosporium fulvum*, a biochemical study. Proefschrift, Nijmegen, 1–95.
Verhoeff K. et J.I. Leim, 1975. Toxicity of tomatine to *Botrytis cinerea*, in relation to latency. Phytopath. Z. *82*, 333–338.
Weete J.D., 1973. Sterols of the fungi: Distribution and biosynthesis. Phytochemistry *12*, 1843–1864.
Wolf M.J., 1946. Estimation and physiological role of solanine in the potato. J. Agric. Res. *73*, 1–32.
Wolters B., 1964. Beziehungen zwischen Struktur und antibiotischer Wirkung bei einigen Steroidalkaloiden. Arch. Pharm. *297*, 748–754.
– 1965. Der Anteil der Steroidsaponine an der antibiotischen Wirkung von *Solanum dulcamara*. Planta med. *13*, 189–193.
– 1966a. Zur antimikrobiellen Wirksamkeit pflanzlicher Steroide und Triterpene. Planta med. *14*, 392–401.
– 1966b. Die Wirkung einiger Triterpen-Saponine auf Pilze. Naturwissenschaften *53*, 253.
– 1966c. Die Verbreitung antibiotischer Eigenschaften bei Saponindrogen. Deutsche Apotheker-zeitung *106*, 1729–1733.
– 1968. Saponine als pflanzliche Pilzabwehrstoffe. Planta *79*, 77–83.
Wulff G., 1968. Neuere Entwicklungen auf dem Saponingebiet. Deutsche Apotheker-Zeitung *108*, 797–808.
Zacharius R.M., E.B. Kalan, S.F. Osman et S.F. Herb, 1975. Solanidine in potato *(Solanum tuberosum)* tuber tissue disrupted by *Erwinia atroseptica* and by *Phytophthora infestans*. Physiol. Plant. Pathol. *6*, 301–305.
Zentmyer G.A. et C.R. Thompson, 1967. The effect of saponins from alfalfa on *Phytophthora cinnamomi* in relation to control of root rot of avocado. Phytopathology *57*, 1278–1279.
Zimmer D.E., M.W. Pedersen et C.F. McGuire, 1967. A bioassay for alfalfa saponins using the fungus, *Trichoderma viride* Pers. ex Fr. Crop. Sci. *7*, 223–224.
Zitnak A. et G.R. Johnson, 1970. Glycoalkaloid content of B 5141-6 potatoes. Amer. Potato J. *47*, 256–260.