

Production d'acide benzoïque chez les fruits immatures de cultivars communs du pommier en réponse à l'infection par *Nectria galligena*.

P. SAINDRENAN et G. BOMPEIX*

PRODUCTION OF BENZOIC ACID BY THE IMMATURE FRUITS OF COMMON APPLE CULTIVARS IN RESPONSE TO INFECTION BY *NECTRIA GALLIGENA*

P. SAINDRENAN and G. BOMPEIX

Fruits, avril 1982, vol. 37, n° 4, p. 249-257.

ABSTRACT - Production of phytoalexins has been demonstrated in immature fruits of 13 common apple cultivars infected with *N. galligena*. The inhibitory effect is due mainly to the presence of benzoic acid and secondarily to that of p-hydroxybenzoic acid. The presence of these substances seems to be linked to the manifestation of resistance.

PRODUCTION D'ACIDE BENZOÏQUE CHEZ LES FRUITS IMMATURES DE CULTIVARS COMMUNS DU POMMIER EN REPONSE A L'INFECTION PAR *NECTRIA GALLIGENA*.

P. SAINDRENAN et G. BOMPEIX

Fruits, avril 1982, vol. 37, n° 4, p. 249-257.

RESUME - La production de phytoalexines a été mise en évidence chez les fruits immatures de 13 cultivars communs du Pommier infectés par *N. galligena*. L'activité inhibitrice est due principalement à la présence d'acide benzoïque et secondairement à celle d'acide p-hydroxybenzoïque. La teneur en ces substances apparaît liée à l'expression de la résistance.

INTRODUCTION

La résistance des pommes au parasitisme fongique est un phénomène complexe dont les manifestations mettent en jeu de multiples facteurs. On a évoqué parmi ceux-ci : les déficiences nutritionnelles liées à l'état physiologique de l'hôte qui peuvent limiter la croissance des champignons (SITTERLY et SHAY, 1960 ; BOMPEIX, 1970) ; l'action de composés phénoliques divers susceptibles de moduler la pathogenèse (COLE et WOOD, 1961 ; NDUBIZU, 1976) ; ainsi que le pH et la capacité tampon des tissus (BOMPEIX, 1977 ; SCHULZ, 1978).

Le rôle spécifique de substances antibiotiques induites en réponse à l'agression parasitaire a été pour la première fois formulé par SWINBURNE (1971) et la résistance au *N. galligena* de pommes immatures Bramley's Seedling attribuée à

la néoformation d'un composé fongitoxique, l'acide benzoïque (BROWN et SWINBURNE, 1971).

Les résultats obtenus par ces auteurs à partir d'une étude réalisée sur un seul cultivar nous ont conduits à étendre nos investigations à d'autres cultivars du Pommier et par conséquent à déterminer si l'importance prêtée à l'acide benzoïque dans la résistance pouvait être considérée comme de portée générale.

Nous avons donc d'une part cherché à caractériser la production d'acide benzoïque chez 13 cultivars communs des vergers français, après infection des fruits par *N. galligena*, et d'autre part examiné les relations entre cette production et les manifestations de la résistance.

MATERIEL

Les cultivars utilisés (figure 1) sont tous situés dans les vergers expérimentaux du Valois (Aisne) afin d'éliminer

* - Université Pierre et Marie Curie - Pathologie végétale, T53, 4, place Jussieu - 75230 Paris Cedex 05.

Cultivars	Pleine floraison	Dates de récolte				
		20 Sept	1 Oct	10 Oct	20 Oct	30 Oct
Idared	4 mai	//...//				
Scarlett	5 mai	//...//				
Black Stayman	5 mai	//...//				
Stayman Red	5 mai	//...//				
Winter Banana	6 mai	//...//				
Starkrimson	8 mai	//...//				
Oregon Spur	8 mai	//...//				
Early Red One	8 mai	//...//				
Mac Intosh	8 mai	//...//				
Golden Delicious	8 mai	//...//				
Jonared	10 mai	//...//				
Richared	10 mai	//...//				
Winston	12 mai	//...//				

FIGURE 1 - Dates de pleine floraison (stade F2 Fleckinger) et de récolte des différents cultivars en 1978 ; Villers-Cotterêts, Aisne.

dans la mesure du possible, la variabilité liée aux conditions climatiques et édaphiques. Les fruits ont été récoltés 110 jours après la pleine floraison (stade F2 Fleckinger) et le délai séparant la cueillette de l'inoculation n'a pas dépassé 48 heures.

L'isolat de *N. galligena* (CM 7701) provient d'une infection naturelle de fruit. La sporulation est obtenue en cultivant le champignon sur un milieu malt-agar-glucosé, à 20°C et à l'obscurité pendant 3 jours, et en soumettant ensuite les cultures à un éclairage continu de 30 W/m² pendant 4 jours.

METHODES

Inoculation.

Les pommes immatures sont désinfectées par l'hypochlorite de sodium et rincées à l'eau distillée stérile. Elles sont ensuite coupées au niveau de la zone équatoriale en deux parties égales, l'une conservant l'«œil», l'autre le pédoncule ; les surfaces de coupe sont inoculées avec 2 ml d'une suspension de spores de *N. galligena* (2.10⁶ spores/ml). Les fruits témoins sont traités par de l'eau distillée stérile. Les pommes sont ensuite placées dans des enceintes closes balayées par un flux d'air à humidité voisine de la saturation.

Extraction.

Après 10 jours d'incubation à 20°C, les fruits sont pelés,

des tranches de 5 mm d'épaisseur sont prélevées parallèlement à la surface inoculée et immédiatement plongées dans l'azote liquide. L'extraction est réalisée selon une technique dérivée de celle utilisée par BROWN et SWINBURNE (1971) : les échantillons sont broyés finement dans l'azote liquide ; 25 g de matériel végétal sont repris par 50 ml d'acétate d'éthyle ; après 20 mn d'agitation, l'extrait est filtré sur verre fritté n° 5 et le résidu solide est épuisé par deux fois 25 ml d'acétate d'éthyle.

Les filtrats rassemblés sont ensuite concentrés sous vide à 40°C et le résidu sec est repris par 3 ml d'acétate d'éthyle.

Séparation et caractérisation.

Chromatographie sur couche mince.

Les extraits bruts sont chromatographiés sur couche mince de silicagel (F 1500/LS 254 ; 0,25 mm d'épaisseur, Schleicher et Schüll). La meilleure résolution est obtenue avec la phase supérieure du mélange apolaire benzène-acide acétique-eau (6:7:3 ; V./V.), mélange utilisé couramment pour l'étude des produits d'hydrolyse (aglycones) des combinaisons d'acides phénoliques (IBRAHIM et TOWERS, 1960 ; RIBEREAU-GAYON, 1968). Après développement, les plaques sont examinées en lumière ultra-violette (254 nm) et reçoivent une pulvérisation de réactif à la p-nitroaniline suivie d'une seconde pulvérisation de carbonate de sodium à 15 p. 100.

Les bandes présentant le même Rf que l'acide benzoïque

de référence (produit SERVA) sont éluées par de l'éthanol à 95°. Après concentration de l'éluat, une chromatographie supplémentaire sur couche mince de cellulose (F 1440/LS 254) est réalisée dans l'acide acétique à 2 p. 100.

Spectrophotométrie.

Le spectre d'absorption en lumière ultra-violette de l'éluat chromatographique dans l'éthanol à 95° est établi et comparé au spectre d'absorption de l'acide benzoïque de référence ayant subi le même traitement.

Chromatographie en phase gazeuse.

L'analyse est réalisée sur deux cultivars : Black Stayman et Oregon Spur. La technique utilisée dérive de celle employée par KUZDZAL-SAVOIE et al. (1971) pour la mise en évidence de l'acide benzoïque dans les acides gras libres des fromages.

Les extraits bruts de tissus sains et parasités sont évaporés à sec. Les résidus sont repris par la potasse alcoolique 1N et portés à 60°C durant une heure. Après séparation de l'insaponifiable par le pentane, les composés acides sont libérés de leur sel par l'acide chlorhydrique, repris par le pentane, puis méthylés par le mélange méthanol-trifluorure de bore 14 p. 100, (Applied Sciences Lab.).

L'étude qualitative est effectuée sur un appareil INTER-

SMAT IGC muni d'un détecteur à ionisation de flamme. Le système analytique est constitué d'une colonne en métal d'une longueur de 2 m, d'un diamètre de 3 mm, et d'une phase stationnaire de phényl-méthylsilicone (OV17) absorbée à 3 p. 100 en poids sur un support inerte chromosorb W HMDS de calibre 80-100 mesh. Le gaz vecteur est de l'azote au débit de 30 ml/mn. Les températures de l'injecteur, de la colonne et du détecteur sont respectivement de 220°C, 170°C et 210°C.

Dosage de l'acide benzoïque.

Deux techniques sont utilisées : la spectrophotométrie et la photodensitométrie.

Spectrophotométrie.

Après chromatographie ascendante des différents extraits dans le mélange Bz-A-E, les bandes correspondantes à l'acide benzoïque sont éluées par l'éthanol à 95° et l'éluat est filtré sur millipore (0,8 μ). Un blanc (poudre de silicagel après chromatographie préalable) est effectué dans les mêmes conditions. Les mesures sont faites dans l'ultra-violet à 273 nm (BROWN et SWINBURNE, 1971).

Photodensitométrie.

Tous les essais sont réalisés sur couches minces de silicagel

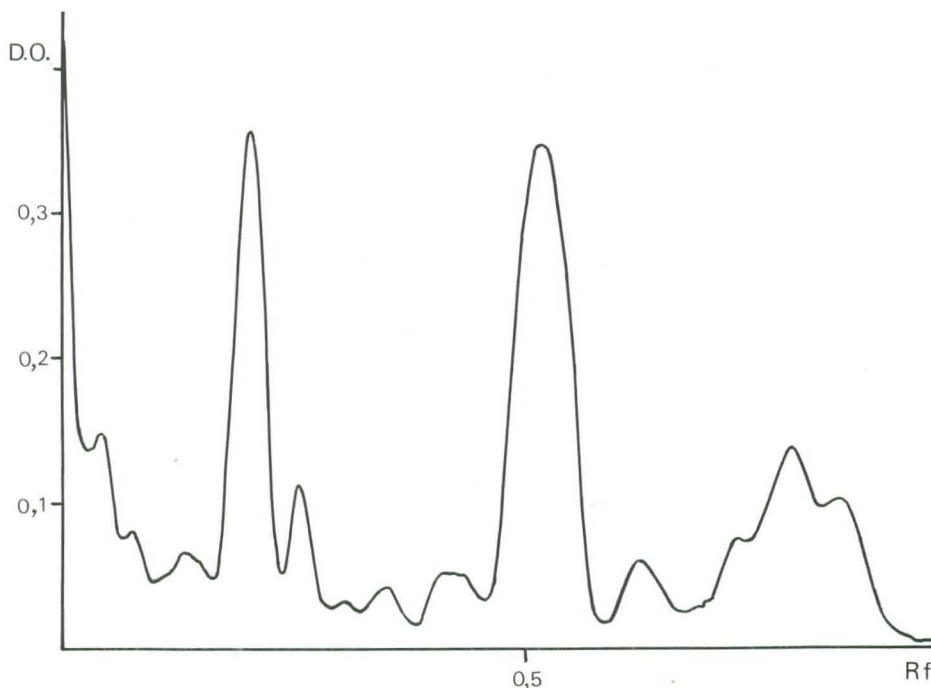


FIGURE 2 - Courbe photodensitométrique du chromatogramme d'une séparation sur couche mince d'un extrait de tissus de pommes (cv. Oregon Spur) parasité par *Nectria galligena*.
Plaqué de gel de silice développée dans le mélange benzène-acide acétique-eau (6:7:3, vol./vol. phase supérieure).

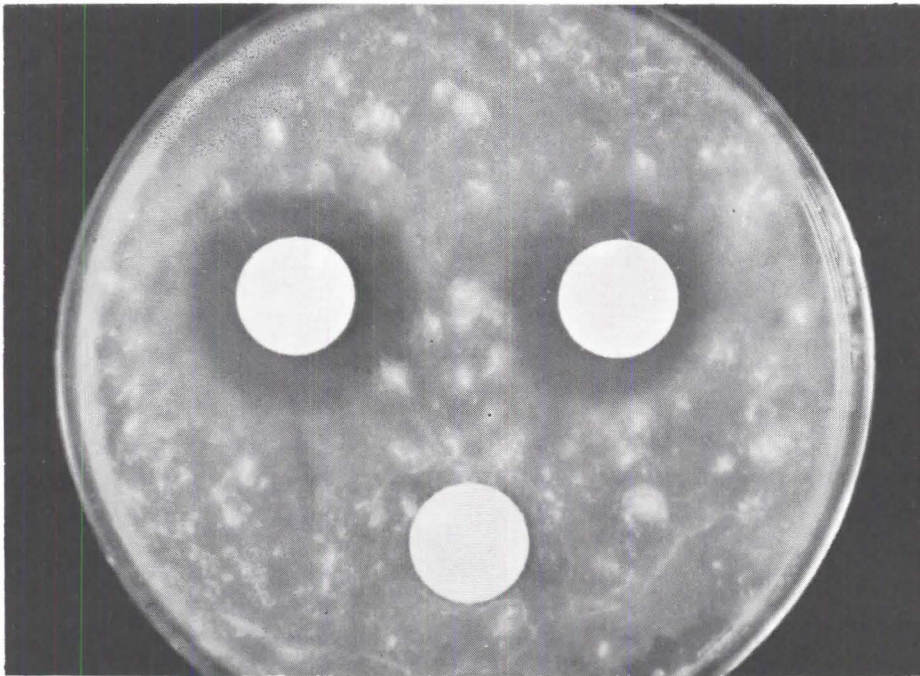


Figure 3. Mise en évidence de la fongitoxicité d'un extrait brut de tissus infectés par *N. galligena* (partir supérieure de la figure) ; extrait brut de tissus sains (partie inférieure de la figure).

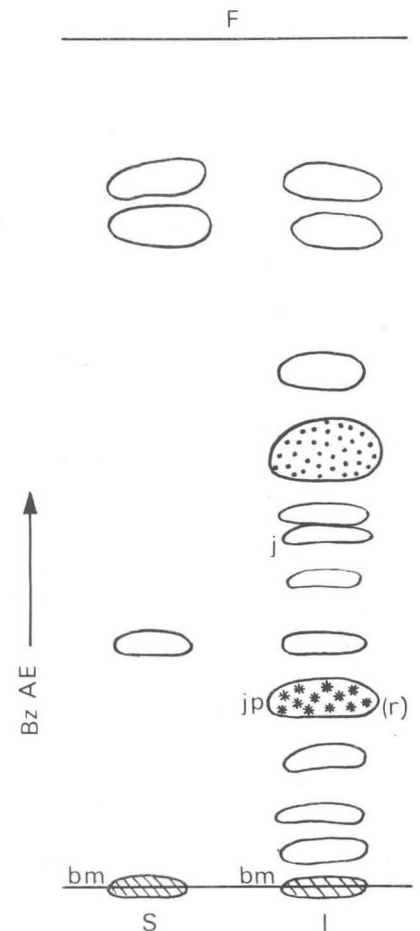
FIGURE 4 - Chromatogramme monodimensionnel d'un extrait de tissu de pommes Starkrimson dans le système de solvant benzène-acide acétique-eau.

S : extrait de tissus sains , I : extrait de tissus infectés ; F : front du solvant.

Révélation à la p-nitroaniline : j = jaune ; jp = jaune pâle ; bm = brun-marron.

Révélation à la p-nitroaniline + Na₂CO₃ 15 p. 100 : (r) = rouge.

Les taches qui présentent une activité fongitoxique révélée par le test biologique sur plaque sont hachurées ou ponctuées.



avec indicateur de fluorescence. Les mesures sont effectuées par transmission en fluorimétrie d'absorption sur un photomètre-intégrateur Vernon PHI-6 équipé d'une lampe mercure haute pression (bande d'émission à 254 nm), (figure 2).

La surface des bandes, après migration dans le mélange Bz-A-E, n'étant pas rigoureusement proportionnelle à la quantité d'acide benzoïque déposée, une courbe d'étalonnage a été réalisée.

Tests de toxicité.

Test de toxicité in vitro.

L'activité fongitoxique des extraits bruts est vérifiée par la technique suivante :

200 μ l d'une suspension de spores de *N. galligena* (10^6 spores/ml) sont étalés sur 10 ml de milieu malt-agar-glucosé coulés en boîtes de Pétri à fond plat. 50 μ l de chaque extrait à tester sont déposés, soit dans des puits d'un diamètre de 8 mm pratiqués dans le milieu, soit à la surface de disques stériles d'antibiogrammes (Whatman) de 13 mm de diamètre. Après quatre jours d'incubation à 20°C et à l'obscurité, le diamètre des zones d'inhibition autour des puits ou autour des disques est mesuré.

Test biologique sur plaques.

La présence de composés fongitoxiques peut être détectée directement sur les plaques de chromatographie.

Des extraits de tissus non infectés et de fruits inoculés sont chromatographiés dans le mélange Bz-A-E. Après séchage, les plaques reçoivent une pulvérisation d'une suspension

dense de spores de *Cladosporium cladosporioides* incorporée à du milieu malt gélosé à 1 p. 100 et auquel sont ajoutées quelques gouttes de Tween 80. Les plaques sont examinées après 72 heures d'incubation en chambre humide à 25°C. Les zones d'inhibition correspondantes aux produits fongitoxiques apparaissent blanches sur fond gris-verdâtre.

RESULTATS

Production de substances fongitoxiques en réponse à l'infection par *N. galligena*.

Les tests de toxicité réalisés *in vitro* (figure 3) mettent en évidence l'activité fongitoxique de tous les extraits de tissus infectés alors qu'aucune activité similaire n'est décelée à partir des extraits de fruits non inoculés. Bien que les diamètres des zones d'inhibition varient d'un cultivar à l'autre (tableau 1), leur mesure ne permet pas de comparer entre elles les teneurs en composés inhibiteurs, même d'une manière semi-quantitative. En effet, l'activité bactériostatique et fongistatique de l'acide benzoïque est fonction du pH (BOSUND, 1960 ; BROWN et SWINBURNE, 1974), et se trouve par conséquent directement liée à l'acidité des fruits.

Il est à noter également que lorsque la lecture des tests est effectuée après 7 jours d'incubation, au lieu des 4 jours habituels, les zones d'inhibition paraissent moins nettes et sont progressivement envahies par les hyphes mycéliens ; cette observation laisse supposer une action plus fongistatique que fongicide des extraits de tissus infectés.

TABLEAU 1 - Mise en évidence d'une activité fongitoxique dans les tissus de pommes inoculés.

Cultivars	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
	autour des puits	autour des disques
Black Stayman	29	21
Early Red One	15	9
Golden Delicious	14	10
Idared	19	10
Jonared	18	12
Mac Intosh	12	0
Oregon Spur	22	12
Richared	14	11
Scarlett	28	23
Starkrimson	21	12
Stayman Red	27	22
Winston	10	0
Winter Banana	18	14

Le diamètre de la zone d'inhibition correspond au diamètre de la zone translucide diminué du diamètre du puits (8 mm) ou du diamètre du disque (13 mm) pour la technique des antibiogrammes.

Le dépôt de chaque extrait correspond environ à 0,40 g de poids frais.

Détection et caractérisation des composés inhibiteurs.

La chromatographie monodimensionnelle des extraits de tissus dans le mélange Bz-A-E a permis de repérer en lumière ultra-violette (254 nm) la présence de composés nouveaux apparus en réponse à l'infection par *N. galligena* (figure 4).

Les substances inhibitrices, révélées par les tests biologiques sur plaques, sont localisées au niveau de trois bandes dont celle de Rf 0,52 présente le maximum d'activité à l'encontre du *Cladosporium* (tableau 2). Il est à noter qu'une très faible inhibition est retrouvée aux niveaux des taches résiduelles à la fois dans les tissus infectés et les tissus sains.

Les deux composés de Rf 0,21 et 0,52 présents dans les tissus inoculés ont les mêmes caractéristiques chromatographiques que les acides témoins p-hydroxybenzoïque (Rf 0,21 ; coloré en rouge par le réactif à la p-nitroaniline

+ Na₂CO₃) et benzoïque (Rf 0,52 ; incolore). La tache de Rf 0,52 éluée à partir du silicagel et chromatographiée sur couche mince de cellulose dans l'acide acétique à 2 p. 100 se situe au même emplacement que l'acide benzoïque de référence ayant subi le même traitement (Rf 0,73-0,75). L'identité de l'acide benzoïque est confirmée par spectrophotométrie de l'éluat éthanolique qui montre deux maxima d'absorption, l'un à 229 nm, l'autre à 273 nm.

Une confirmation supplémentaire des résultats précédents est apportée par l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. L'existence d'un composé ayant le même comportement que le benzoate de méthyle standard (temps de rétention : 2 mn 50 s) est détectée dans les extraits de tissus infectés des cultivars Black Stayman et Oregon Spur. Aucune substance analogue n'a pu être identifiée à partir des extraits de tissus sains correspondants.

TABLEAU 2 - Tests biologiques sur plaque : inhibition de la croissance du *Cladosporium*.

Bandes de Rf :	Importance relative de l'inhibition obtenue à partir de :	
	tissus infectés	tissus sains
0	+	+
0,21	++	-
0,52	+++	-

- : absence d'inhibition + : trace d'inhibition ++ : légère inhibition
+++ : inhibition totale de la croissance du *Cladosporium*.

TABLEAU 3 - Production d'acide benzoïque dans les pommes immatures de différents cultivars en réponse à l'infection par *N. galligena*.

Cultivars	Acide benzoïque (mg/100 g m.f.)	
	Spectrophotométrie ^a	Photodensitométrie ^b
Black Stayman	52,9	55,4
Bramley's Seedling ^c	-	8,7
Early Red One	26,6	25,1
Golden Delicious	33,2	35,5
Idared	16,1	15,1
Jonared	40,1	39,8
Mac Intosh	5,3	3,7
Oregon Spur	41,0	39,4
Richared	43,5	40,9
Scarlett	74,6	68,3
Starkrimson	24,5	23,2
Stayman Red	48,8	45,4
Winston	3,3	4,5
Winter Banana	43,4	41,6

Aucune trace d'acide benzoïque n'a été décelée dans les lots de fruits témoins non inoculés.

a : dosage effectué à 273 nm

b : dosage effectué par fluorimétrie d'absorption.

c : seul le dosage par photodensitométrie a été réalisé pour le cultivar Bramley's Seedling.

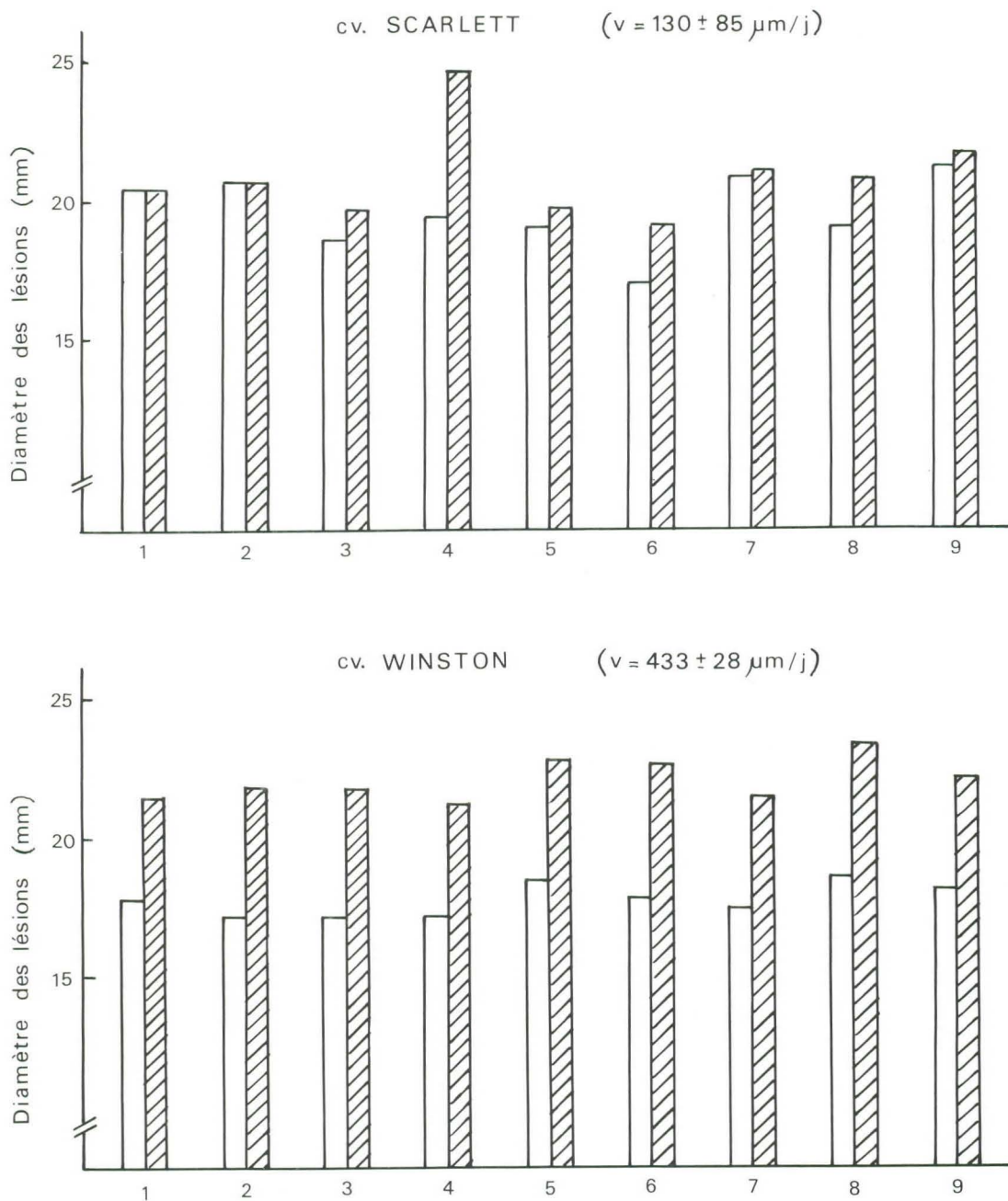


FIGURE 5 - Diamètres moyens des lésions dans les fruits immatures des cultivars Scarlett et Winston, 20 et 30 jours après inoculation par le *N. galligena*.

- diamètre moyen de 4 lésions/fruit, après 20 jours d'incubation à 22°C
- diamètre moyen de 4 lésions/fruit, après 30 jours d'incubation à 22°C

les fruits sont numérotés de 1 à 9 et les vitesses de croissance mycélienne sont indiquées pour chaque cultivar

TABLEAU 4 - Evolution comparée des lésions dans les cultivars Winston et Scarlett.

Cultivars	p. 100 de réussite d'infection	vitesse de croissance * ($\mu\text{m}/\text{j}$)
Winston	100	433 \pm 28
Scarlett	100	30 \pm 85

* - vitesse de croissance mesurée entre le vingtième et le trentième jour après l'inoculation.

Teneur en acide benzoïque des différents cultivars.

Les pommes Bramley's Seedling ont été ajoutées aux 13 cultivars précédemment cités. Les fruits cueillis 115 jours après la pleine floraison ont été inoculés par *N. galligena* et les extractions effectuées selon les techniques décrites ci-dessus.

Les différences de teneurs en acide benzoïque de certains cultivars apparaissent très importantes (tableau 3). Les pommes Scarlett contiennent, par exemple, 15 à 20 fois plus de ce composé que les pommes Winston. De plus, il est remarquable de noter, - sous la réserve émise précédemment concernant le rôle de l'acidité des fruits - que les plus faibles teneurs en acide benzoïque correspondent au plus faible niveau de fongitoxicité déterminé par les tests biologiques *in vitro*.

Etude comparée de la croissance *in vivo* de *N. galligena*.

Afin d'établir une relation entre les différences de teneurs en acide benzoïque observées et le degré de résistance à l'infection parasitaire, des pommes Scarlett (haute teneur en acide benzoïque) et Winston (faible teneur en acide benzoïque) sont inoculées par des implants calibrés de mycélium frontal à raison de 4 implants par fruit. Les mesures portant sur le diamètre moyen des lésions sont effectuées 20 et 30 jours après l'inoculation, la croissance *in vivo* étant très lente.

Si le pourcentage de réussite d'infection est de 100 p. 100 dans les deux cas (tableau 4), la vitesse de croissance mycélienne chez le cultivar Winston est environ trois fois supérieure à celle mesurée chez le cultivar Scarlett. Les différences observées sont hautement significatives au seuil de 5 p. 100.

Cependant, il ne s'agit en fait que de valeurs moyennes qui ne rendent qu'imparfaitement compte du phénomène. En effet, si l'on considère chaque fruit séparément (figure 5), la croissance de *N. galligena* dans les tissus de pommes Winston apparaît progressive et régulière, les valeurs extrêmes allant de 250 à 650 $\mu\text{m}/\text{j}$. A l'inverse, la progression des nécroses est extrêmement faible ou même nulle chez les pommes Scarlett à l'exception d'un seul fruit (n° 4).

Malgré l'hétérogénéité de la réponse, le fait important à souligner est la stabilisation de la nécrose à certains sites d'inoculation.

CONCLUSION

L'inoculation des fruits immatures de 13 cultivars du Pommier par *N. galligena* provoque une réaction des tissus caractérisée par la néoformation de composés fongitoxiques. Cette réponse à l'infection est identique à celle décrite pour le même parasite par BROWN et SWINBURNE (1971) chez les pommes Bramley's Seedling.

Les tests biologiques réalisés à partir de chromatogrammes montrent que l'activité antibiotique des extraits de tissus infectés est liée principalement à la présence d'acide benzoïque et secondairement, pour une part très faible, à celle d'acide p-hydroxybenzoïque. Les autres composés non identifiés sont présents seulement à l'état de traces ; ils ne peuvent jouer un rôle dans l'expression de la résistance que dans la mesure où ils contribuent à augmenter l'acidité du milieu. On sait en effet que l'action toxique de l'acide benzoïque est maximum à un pH voisin de son pKa, soit 4,2 (BROWN et SWINBURNE, 1974).

Le pH tissulaire peu élevé des pommes immatures avant récolte est dû à leur richesse en acides malique et quinique (ULRICH, 1970) et cette acidité organique est en elle-même facteur de résistance (BOMPEIX, 1977) ; elle intervient donc également en modulant l'activité fongitoxique de l'acide benzoïque.

Quantitativement, la réponse induite varie considérablement selon le cultivar : par exemple, les teneurs en acide benzoïque mesurées chez les pommes Scarlett sont de 74,6 mg/100 g/pF et chez les pommes Winston, de 3,3 mg/100 g/pF. Parallèlement, la fongitoxicité des extraits bruts, évaluée par un test biologique *in vitro*, est forte pour Scarlett et faible pour Winston.

D'autre part, les mesures portant sur la croissance du *N. galligena*, *in vivo*, indiquent que la durée de la phase d'installation du parasite est comparable pour les deux cultivars, et qu'un délai de 20 jours est nécessaire pour que la progression des nécroses se stabilise chez Scarlett, alors qu'elle se poursuit chez Winston. La résistance biochimique induite est donc relativement lente à s'établir. Cette lenteur s'oppose à la rapidité d'apparition des phytoalexines dans les organes végétaux en voie de croissance, comme chez le Soja par exemple, (YOSHIKAWA et al., 1978).

Nous avons pu observer dans certains cas une absence apparente de réponse par la méthode biologique des antibiogrammes. Peut-être faut-il rapprocher ces résultats négatifs de ceux qu'a obtenus SWINBURNE (1971) chez Granny Smith et Starking, en évaluant directement la toxicité des tissus nécrosés. Mais en procédant dans de tels cas, à des dosages directs, il a été néanmoins possible de mettre en

évidence de faibles teneurs en acide benzoïque. Les méthodes de détection biologiques sont donc apparemment moins sensibles que les méthodes biochimiques.

L'existence d'une réponse induite à une agression parasitaire, caractérisée par la production d'acide benzoïque, apparaît donc comme un phénomène général chez les fruits du *Pirus malus*.

BIBLIOGRAPHIE

- BOMPEIX (G.). 1970.
Intervention des facteurs nutritionnels dans le développement *in vivo* des parasites latents du type *Gloeosporium* spp.
C.R. Acad. Sc., 271, 1623-1626.
- BOMPEIX (G.). 1977.
Analyse du rôle de l'acide malique en tant que phytoncide. Recherche d'un modèle expérimental *in vitro*.
Ouvrage jubilaire dédié à M. le Professeur G. VIENNOT BOÛRGIN *Soc. Fr. Phytopath.*, 27-46.
- BOSUND (I.). 1960.
The bacteriostatic action of benzoic and salicylic acids. V.- Influence of pH on the total uptake of benzoic acid by *Proteus vulgaris* and baker's yeast.
Physiologica Plantarum, 13, 793-799.
- BROWN (A.E.) et SWINBURNE (T.R.). 1971
Benzoic acid : an antifungal compound formed in Bramley's Seedling apple Fruits following infection by *Nectria galligena* BRES.
Physiol. Pl. Path., 1, 469-475.
- BROWN (A.E.) et SWINBURNE (T.R.) 1971.
The effect of pH and substituent groups on the inhibitions of *Nectria galligena* spores by benzoic acid.
Record of Agric. Res., 22, 21-25.
- COLE (M.) et WOOD (R.K.S.). 1961.
Pectic enzymes and phenolic substances in apples rotted by fungi.
Ann. Bot., 25, 435-452.
- IBRAHIM (R.K.) et TOWERS (G.H.N.). 1960.
The identification, by chromatography, of plant phenolic acids.
Arch. Bioch. Bioph., 87, 125-128.
- KUZDZAL-SAVOIE (S.), LOSI (G.), KUZDZAL (W.) et GOTO (K.). 1971.
Mise en évidence des acides benzoïque, phénylacétique (ou α -toluïque) et phénylpropionique (ou hydrocinnamique) dans les acides gras libres du Munster et du Livarot.
La Technique laitière, n° 724.
- NDUBIZU (T.O.C.). 1976.
Relation of phenolic inhibitors to resistance of immature apple fruits to rot.
J. Hort. Sci., 51, 311-319.
- RIBEREAU-GAYON (P.). 1968.
Les composés phénoliques des végétaux.
Dunod ed., Paris.
- SCHULZ (F.A.). 1978.
Some physiological and biochemical aspects of the action mechanism of fungal parasites during fruit storage.
Fruits, 33, 15-21.
- SITTERLY (W.R.) et SHAY (J.R.). 1960.
Physiological factors affecting the onset of susceptibility of apple fruits to rotting by fungus pathogens.
Phytopathology, 49, 485-509.
- SWINBURNE (T.R.). 1971.
The infection of apples, var. Bramley's Seedling, by *Nectria galligena* BRES.
Ann. appl. Biol., 68, 253-262.
- ULRICH (R.). 1970.
Organic acids.
In : *The Biochemistry of Fruits and their Products. Food Science and Technology, a series of monographs. Academic Press*, 89-118.
- YOSHIKAWA (M.), YAMAUCHI (K.) et MA SAGO (H.). 1978.
Glyceollin : its role in restricting fungal growth in resistant soybean hypocotyls infected with *Phytophthora megasperma* var. *sojae*.
Physiol. Pl. Path., 12, 73-82.

