

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER
CENTRE D'ADIOPOBOUME
B.P. V51 ABIDJAN (Côte d'Ivoire).

Laboratoire de Phytopathologie.

R A P P O R T D E S T A G E

VARIABILITÉ DES CARACTÈRES CULTURAUX AU SEIN
D'UNE POPULATION DE PARASITÉS

par

EFFI AKA Parfait

Stage effectué au Laboratoire de Phytopathologie de juillet à septembre 1982

S O M M A I R E

- I - INTRODUCTION GENERALE
- II - PRESENTATION DES ACTIVITES DE L'ORSTOM
 - Les différents laboratoires
 - Le laboratoire de Phytopathologie
- III - VARIABILITE DES CARACTERES CULTURAUX AU SEIN D'UNE POPULATION DE PARASITES
 - A - INTRODUCTION
 - Le parasite
 - La maladie
 - B - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA VARIABILITE DES CARACTERES CULTURAUX AU SEIN D'UNE POPULATION DE *PHELLINUS NOXIUS*
 - 1 - But du travail
 - 2 - Matériel et Méthodes
 - 2/1 - Matériel
 - a - Origine des souches
 - b - Culture des souches
 - c - Conservation des souches
 - 2/2 - Méthodes
 - a - Influence de la température sur la croissance radiale des souches de *P. noxius*
 - b - Influence du pH sur la croissance radiale des souches de *P. noxius*
 - c - Mise en évidence et caractérisation de quelques enzymes intracellulaires de *P. noxius*
 - 3 - Résultats
 - a - Influence de la température
 - b - Influence du pH
 - c - Influence du pH et de la température dans les conditions optimales
 - d - Mise en évidence de quelques enzymes intracellulaires.
 - 4 - Exploitation des résultats
 - 5 - Conclusion
- IV - CONCLUSION GENERALES
- V - REFLEXIONS
- VI - BIBLIOGRAPHIE

I. INTRODUCTION - GÉNÉRALE

Le présent stage, effectué à l'issue de ma deuxième année de DUES (DEUG), s'inscrit dans le cadre d'un programme de sensibilisation et d'initiation à la recherche scientifique.

Ces stages, décidés par le Ministère de la Recherche scientifique de Côte d'Ivoire avec la collaboration des Organismes et Instituts de la place, ont pour objectif de permettre aux étudiants en fin de cycle d'études dans les disciplines scientifiques, de se familiariser avec la recherche scientifique.

C'est ainsi qu'à la suite de ma demande de stage à l'adresse du Ministère de la Recherche Scientifique, j'ai été affecté à l'ORSTOM (Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre Mer) au Laboratoire de Phytopathologie sous la responsabilité de Mr NICOLE Michel.

Au cours des deux mois qu'a duré mon stage j'ai été amené à travailler sur l'un des deux agents de pourridié étudiés au laboratoire : *Phellinus noxius* parasite d'*Hevea brasiliensis* et d'autres essences en forêt naturelle.

Mon travail a porté essentiellement sur l'étude de la variabilité des caractères cultureux au sein d'une population de *Phellinus noxius*.

II - PRESENTATION DES ACTIVITES DE L'ORSTOM

L'ORSTOM est implanté à Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) depuis 1946. L'installation des différents laboratoires s'est faite progressivement et selon les besoins du moment. Actuellement cet Office collabore étroitement avec le Ministère de la Recherche Scientifique dans le but d'orienter ses activités vers une recherche adoptée, au développement de la Côte d'Ivoire.

LES DIFFERENTS LABORATOIRES

Le Centre d'Adiopodoumé couvre 12 disciplines scientifiques. Il ne nous a pas été possible de visiter tous les laboratoires. Je me contenterai de les mentionner sans plus.

. Phytopathologie

(voir laboratoire de Phytopathologie).

. Virologie

L'activité de ce laboratoire est tournée vers la virologie végétale. Le laboratoire procède à un inventaire, une détermination et le mode de transmission du virus en vue d'une lutte.

. Génétique

Biologie de la reproduction et du développement des espèces végétales tropicales. Le laboratoire de génétique travail sur du matériel sélectionné et des produits de prospection. Le laboratoire procède à une évaluation agronomique du matériel par une étude des descripteurs morphologiques et par une analyse biochimique qui vise à déterminer les systèmes enzymatiques. Le laboratoire travail actuellement sur le *Panicum*, le Caféier, le Mil, le Riz et le Gombo.

. Physiologie Végétale

Le laboratoire travail étroitement avec les organismes et Instituts de la place et qui traitent le caoutchouc naturel.

Le programme du laboratoire de physiologie végétale porte sur l'Hévéa. Le laboratoire se préoccupe du phénomène des encoches sèches. Les investigations de ce laboratoire porte sur les trois points suivants :

- Recherche de critère de sélection précoce d'arbres hauts producteurs.
- Optimisation de l'exploitation des Hévéa afin de prévenir l'apparition d'encoches sèches.
- Recherche de substances stimulant la production du latex par les arbres.

. Nématologie

Les Nématodes sont des vers ronds répandus dans la nature (sols, eau, sables marins). Ils parasitent les végétaux et causent des dégâts importants dans les plantations en désorganisant les fonctions racinaires.

Le laboratoire travaille sur l'élaboration d'une méthode de lutte contre le parasitisme. Le programme actuel du laboratoire couvre les cultures en plantations industrielles.

. Hydrologie

Etude des eaux superficielles

Le premier volet de la recherche en hydrologie a été la détermination des données hydrologiques de base du milieu naturel de la Côte d'Ivoire. Des études ont été effectuées sur les processus de ruissellement et d'infiltration.

Le laboratoire dispose de plusieurs stations.

Le programme actuel porte sur l'étude de l'influence de la déforestation sur le ruissellement (région de Taï) et sur les caractéristiques et le comportement des sols sous pluies simulées.

. Laboratoire Central d'Analyses

Le laboratoire d'Analyse est à la disposition des pédologues, des Hydrologues, Agronomes, des Botanistes et de tous les autres laboratoires de l'ORSTOM en général. Le service chargé d'effectuer des dosages chimiques et des études physico-chimiques sur les échantillons fournis par les différents laboratoires intéressés.

. Pédologie

Géochimie de surface et étude des sols.

Le laboratoire repertorie et classe les sols en vue d'établir des cartes pédologiques.

Ces documents permettent de déceler les potentialités des sols des différentes régions pour une exploitation agricole rationnelle.

. Agronomie

Le laboratoire d'Agronomie étudie les modalités d'alimentation minérale et hydrique des plantes en relation avec les techniques de culture.

Le laboratoire travaille sur l'Ananas, le Riz pluvial, le Manioc et sur certaines cultures fourragères.

Ce laboratoire travaille étroitement avec le laboratoire de pédologie et celui de génétique.

. Bioclimatologie

Le laboratoire étudie le comportement des organismes végétaux dans le milieu où ils croissent et se développent. Les éléments de base du laboratoire de Bioclimatologie sont les données climatiques. Le laboratoire exploite des données statistiques qui permettent de prévoir à long terme des variations climatiques. L'analyse fréquentielle des pluies et des déficits hydriques permet de définir la meilleure période de rendement des plantations.

. Laboratoire de Botanique

. Pédologie expérimentale

LE LABORATOIRE DE PHYTOPATHOLOGIE

Le laboratoire de phytopathologie est concerné par l'étude des maladies causées par les champignons parasites. Sur le terrain il est procédé à une détection des foyers infectés. Au laboratoire il est procédé à l'isolement et une identification des parasites. A la suite de ces deux étapes il est entrepris une étude de la physiologie du parasitisme.

Cette phase nécessite de nombreuses expérimentations : Cytologiques, biochimiques, épidémiologique.

Le laboratoire travail sur trois programmes qui sont les suivantes :

Les maladies des plantes maraîchères
Les maladies des légumineuses
L'interaction hôte parasite autre *Hevea brasiliensis*
et les agents de pourridié suivant :

Rigidoporus lignosus (pourridié blanc)
Phellinus noxius (pourridié brun).

III - VARIABILITE DES CARACTERES CULTURAUX AU SEIN D'UNE POPULATION de P. NOXIUS

A - INTRODUCTION

Le parasite *Phellinus noxius* (GH. Cun) appartient à la famille des Polyporacées de la classe des Basidiomycètes. Les échantillons conservés au laboratoire sur milieu maltéa gelosé présentent un mycélium filamenteux blanc ou brun suivant l'âge de la culture.

Dans la nature, le mycélium différencie un carpophore de couleur brun foncé apparaissant au collet des arbres mort ou mourant (SAMASSEKOU et coll. 1982).

Ce champignon est actuellement connu en Côte d'Ivoire sur *Hevea brasiliensis* (GEIGER et coll. 1981 ; NANDRIS et NICOLE 1981). Il se vit également en plantation forestière sur *Cedrela odorata* (SAMASSEKOU et coll. 1982).

La maladie causée par *Phellinus noxius* est le pourridié brun. Elle se traduit au niveau du système racinaire par la présence d'un épais manchon, constitué d'un agrégat de sable et de mycélium (PICHELL, 1956).

L'étude de cet agent pathogène s'est avérée nécessaire compte tenu des dégats qu'il occasionne en plantation.

Cette étude, conduite dans le but d'élaborer une méthode de lutte nécessite une connaissance approfondie de l'agent pathogène et de la physiologie du parasitisme.

Au laboratoire, des expérimentations sur des jeunes plants d'Hévéa infectés artificiellement par *P. noxius* (NANDRIS et coll.; 1982) ont montré que la colonisation par le mycélium des différents tissus de la racine est progressive ; elle est liée à une forte activité enzymatique (NICOLE et coll. 1982). Celle-ci se traduit par une dégradation importante de la racine.

B - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA VARIABILITE DES CARACTERES CULTURAUX AU SEIN D'UNE POPULATION DE PHELLINUS NOXIUS

1 - But du travail

Le but de ces expérimentations est de déterminer des différences de comportement cultural au sein d'une population de *Phellinus noxius*

2 - Matériel et méthode

2.1 - Technique de culture

a) - Origine des souches

Nous disposons de 9 souches de *P. noxius* dont les caractéristiques géographiques sont consigné dans le tableau I.

N° de souche Nom					34 San Pedro	35 Bétié	39 Cameroun	44 Mopri	45 Yapo
Caractéristiques	2 Bereby	3 Bereby	6 Taï	7 Taï					
Origine	S Ouest CI	S ouest CI	S ouest CI	S ouest CI	S.O CI	Est CI	Cameroun	Sud CI	S Est CI
Date d'isolement	1977	1977	1978	1978	1980	1981	1981	1981	1981
Hôte	<i>Hevea brasi- liensis</i>	<i>Hevea brasi- liensis</i>	Forêt Naturelle	Forêt Naturelle	<i>Cedrela Odorata</i>	<i>Hevea brasi- liensis</i>	<i>Hevea brasi- liensis</i>	<i>Cedrela Odorata</i>	<i>Cedre- la</i>

Tableau I : Caractéristiques et Origine géographique d'isolats de *Phellinus noxius*

b) - Culture des souches

La culture des souches est réalisée sur :

milieu solide malt 2 % et gélosé 2 %
milieu liquide malté à 2 %

Le milieu solide est constitué de :

20g d'extrait de malt
20g de gelose
1000ml d'eau distillée.

Le milieu liquide est constitué de :

2g d'extrait de malt dans 1000 ml d'eau distillée. Avant l'ensemencement chaque milieu est stérilisé à l'autoclave. L'ensemencement est réalisée en chambre stérile de la manière suivante :

. Milieu solide

Après avoir coulé les milieux sur les boîtes de petri, on prélève à la périphérie d'un mycélium âgé de 5 jours, un implant de 8 mm de diamètre qu'on dispose au centre de la boîte de petri.

. Milieu liquide

Le milieu de culture est reparti dans des erlenmeyer de 100cc. Dans chaque erlenmeyer on introduit 3 implants identiques.

Les cultures ainsi réalisées sont disposées en chambre de culture à 28°C sous un éclairage constant.

c) - Conservation des souches

Les souches sont conservées en mycothèque, sur milieu malté 2 % et gélosé 2 % dans des tubes à essai, à une température de 20°C.

2.2. - Expérimentations

a) - Influence de la température sur la croissance radiale des souches de *P. noxius*

On étudie la croissance du mycélium de chaque souche sur milieu malté gélosé à température variable : 20, 25, 30 ou 35°C. Pour chaque souche, l'échantillonnage est de 7 boîtes de petri. Les délais de mesure sont 2, 4 et 6 jours. La mesure de la croissance radiale est effectuée sur la base de la boîte de petri. Un marquage des limites de la croissance de chaque souche est réalisé à chaque délai, suivant son diamètre. La distance entre deux des deux points de marquage, de part et d'autre de l'implant traduit la croissance du mycélium.

b) - Influence du pH sur la croissance radiale des souches de *P. noxius*

La croissance radiale du mycélium des différentes souches de *P. noxius* est suivie en fonction du pH du milieu.

Les pH retenus sont : 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9.

Pour obtenir les pH désirés on ajoute dans des proportions définies au préalable, de la soude 1N pour les pH y compris entre 6 et 9 et de l'acide chlorhydrique 1N pour les pH inférieur à 6.

pH théorique	Quantité de NaOH ou de HCl ajoutée	pH réel
9	9,6 ml de NaOH/1	9,1
8	4,44 ml de NaOH/1	8,5
7	2,4 ml de NaOH/1	7,1
6	o (pH du milieu gelosé naturel)	6
5	1,2 ml de HCl/1	5,3
4	5,3 ml de HCl/1	3,95
3	11,04 ml de HCl/1	3

N.B. : Pour éviter l'hydrolyse acide du milieu, l'addition de l'acide chlorhydrique se fait à 50°C.

Les souches sontensemencées en chambre stérile. Les boîtes de Petriensemencées sont disposées dans la salle de culture dans les conditions citées plus haut.

Les mesures se font de manière identique à celle pratiquée précédemment.

c) - Mise en évidence et caractérisation de quelques enzymes intracellulaires de *P. noxius*

Les enzymes étudiées sont :

- Les phosphatases acides (PAC)
- La malate deshydrogenase (MDH)
- une esterase (EST)
- La leucyl aminopeptidase (LAP)

Pour leur mise en évidence nous pratiquerons l'électrophorèse sur gel d'amidon en système horizontal décrit selon la méthode de SMITHIES (1955).

- Préparation des cultures

La culture des souches est réalisée sur milieu liquide malté à 2 % (voir culture des souches).

- Préparation des gels

Dans un erlenmeyer de 500 ml la quantité nécessaire (28g) d'amidon hydrolysé (CANNAUGHT) est mélangé avec 200 ml de tampon Tris-maléate ; on obtient un gel à 14 %.

Le mélange est chauffé et constamment agité jusqu'à ce qu'il prenne l'aspect translucide. A ce moment il est dégazéfié à l'aide d'une pompe à vide et versé dans un moule plastique de dimensions intérieures 23 x 8 x 0,6 cm.

Une plaque de verre épaisse, maintenue à l'aide de pinces CLE, est appliquée pour chasser l'excès d'amidon et les éventuelles bulles d'air. Les gels sont préparés 3 à 4 avant la migration.

La plaque de verre est retirée et le gel est découpé transversalement à 0,5 et 7 cm d'une des extrémités. La bande 0,5 cm est retirée ; ce qui permet de déplacer la tranche 6,5 cm afin de créer un espace pour la mise en place des échantillons.

- Préparation des broyats et extraction des enzymes

Le mycélium développé par chaque souche au bout de 10 jours de culture, est prélevé, lavé à l'eau distillée puis séché sur du papier buvard. Le broyage est fait au mortier additionné de sable de Fontainebleau. Après broyage, on presse le mycélium dans une seringue afin d'en extraire le contenu cellulaire. Les extraits sont cueillis sur une plaque à godets en porcelaine.

- Préparation des échantillons et mise en place

Des rondelles de papier WHATMAN N° 1 sont mises à imbiber dans les extraits. Ces rondelles sont par la suite disposées contre le gel dans les fentes aménagées à cet effet. Il est disposé échantillons par gel. Un témoin de migration (bleu de bromophenol) est placé aux extrémités de la fente d'insertion.

- Migration

Les migrations étudiées sont du type anodique puisque les gels sont acides. (pH 6 Tris maléate). La migration se fait en chambre froide à 8°C. Le gel est connecté aux bacs d'électrodes par deux épaisseurs de papier WHATMAN N° 3, imbibés par capillarité de tampon Tris-maléate. Le dispositif expérimental est présenté dans la figure I ci-dessous.

Figure I : Coupe transversale de la plaque pour la migration.

- Une cale d'amidon de 2 cm de large et 8 cm de long est placée à l'extrémité cathodique pour éviter

- Une feuille de para évite la déshydratation du gel.

- Un bac rempli de glace évite l'échauffement du gel en son centre et les distorsions de migration dues à une défaillance de l'alimentation électrique.

Le voltage est de 30 volts par gel et la durée de migration est de 13H.

- La révélation

Les révélateurs sont spécifiques à chaque enzyme.
Les formules sont les suivantes.

- MDH : SHAW et PRASAD (1970) modifié

NAD	25 mg
Malate 1M pH6	10 ml
Tampon tris HCl 0,5M pH 8,5	: 20 ml
H ₂ O	66 ml
NBT	10 mg/ml 2 ml
PMS	10 mg/ml 2 ml

- EST : SCAN DALIOS (1969) modifié

Blue RR salt :	100 mg
Tampon phosphate 1M pH 7,1	: 97 ml (agitation)
α Naphtyl acetate 2 % dans acétone	1,5 ml
β Naphtyl acétate 2 % dans acétone	1,5 ml.

incubation à l'obscurité 3H.

- PAC : PAL, ENDO et OKA (1975)

α Naphtyl acide phosphate	50 mg
Fast Garnet GBC	50 mg
Tampon acétate de Na 0,05M pH 5	100 ml

incubation à 40°C

- LAP : SHAW et PRASAD (1970)

L Leucyl β Naphtyl amide HCl	50 mg
H ₂ O	30 ml
Tris-maleate 0,2M pH 3,3	50 ml
NaOH 0,2M	20 ml

3) - Résultats

a - Influence de la température sur la croissance radiale des souches de *P. noxius*

Dans le tableau qui suit, sont consignées les diamètres moyens des mycéliums développés par chacune des 9 souches de *P. noxius*.

Température en °C

Nom et N° de souches	Délais	20	25	30	35
2	2	16,49	26,25	29,49	8
	4	40,49	66,40	75,49	8
	6	64,75	104,50	<u>110</u>	8
3	2	17,28	24,75	30,06	8,0
	4	43,13	72,64	88,85	8
	6	77,6	110	<u>110</u>	8
6	2	29,07	25,22	36,5	12,28
	4	49,64	75,31	97,3	12,28
	6	83,75	110	<u>109,6</u>	13
7	2	16,14	24,9	30,7	8
	4	39,06	66,1	71,4	14,35
	6	65,85	105,8	<u>107,21</u>	15,8
32	2	18,64	29,2	37,1	8
	4	52,64	86,21	90,21	8
	6	88,6	110	<u>110</u>	8
35	2	16,8	28,5	32	8
	4	46,7	70,4	72,43	8
	6	77,5	<u>110</u>	<u>110</u>	8,85
39	2	13,8	25	25	8
	4	39	65	65	8
	6	69	<u>110</u>	<u>110</u>	8,96
44	2	15,4	21	34	8
	4	42,65	63,6	94	8
	6	74	110	<u>110</u>	8,4
	2	15	23,4	27	8
	4	41	74	70,3	8
	6	72,7	<u>107,5</u>	97,4	9

Tableau 1

Les valeurs soulignées représentent les maximums de croissance de chaque souche

L'analyse de ce tableau permet les groupements suivant :

25°C : 45, 39, 35.

30°C : 2, 6, 7, 3, 32, 35, 39, 44.

b - Influence du pH sur la croissance radiale de souche de *P. noxius*

N° de souche	Delai	pH							
		3,1	4	5	6	7	8	9	3,95
2	1	15,5	18,1	16,4	17,6	18,3	18,1	14,45	17,3
	2	43,1	50,37	50,75	55,9	56,35	48,1	48,8	38,85
	3	75,7	91	91,2	99,5	<u>102,1</u>	100,48	90	50,8
3	1	14,9	18,3	18,1	18,2	17,9	19	14,5	15
	2	37,37	51	56,75	59,8	66,45	51,1	51,8	31,75
	3	70,8	97,1	<u>110</u>	108,6	106,1	93,6	94,25	<u>50,3</u>
6	1	15	18,5	16,35	20,1	18,6	18,6	13	14
	2	43,9	55,3	55,9	55,7	62,25	62,5	41,6	32
	3	69,4	98,3	103	106,7	103,6	<u>108,6</u>	77,5	49,5
7	1	13,5	18,6	17,25	14	15,4	15,6	16,6	14,1
	2	34,25	48,7	48,4	49,7	49,1	49,27	40,1	31
	3	63,2	83,25	88,6	<u>88,5</u>	<u>86,7</u>	05,5	72,2	45
32	1	16	19,4	20,25	19,5	19,6	18,2	18,8	18
	2	45,75	61,3	62,1	64,6	68	61,7	57,8	36,37
	3	77,2	107,6	106	<u>110</u>	108,75	105,8	99,7	53
35	1	14,5	17,4	19,2	20,5	18	16,75	13,1	16,75
	2	35,7	48,95	53	58,75	58,7	51	45,4	34,25
	3	67,1	79,25	<u>91,8</u>	<u>93,75</u>	<u>93,6</u>	87,6	76,4	48
39	1	16,5	16,1	18,17	20,2	19,5	16,77	17,1	19,37
	2	43,22	48	52,6	54,2	59,6	51,7	53,7	38
	3	68,6	87,55	<u>97</u>	<u>98,3</u>	<u>96,1</u>	94,4	94,3	56
44	1	16,5	16	19	20,5	20,3	22,1	19	15,6
	2	42,25	52,1	59	61,4	59,8	60,75	55,7	35,31
	3	62,5	91,1	100,8	<u>103,4</u>	<u>102,75</u>	<u>98,1</u>	94	50,3
45	1	16	18,5	17	18,5	17,1	19,8	17,5	16,5
	2	36,7	47,2	49	53,5	51	49	42,5	36,7
	3	53,7	80,5	84,3	<u>89,5</u>	86	82,3	77	54,6

Tableau 2

Tableau présentant les diamètres des cultures du mycélium développés par chacune des 9 souches de *P. noxius*.

Ce tableau fait apparaître les regroupements suivants :

- pH 5 : souches 3, 39
- pH 6 : souches 7, 32, 39, 44*, 45
- pH 7 : souches 2, 7, 35, 39, 44
- pH 8 : souches 6

C - Influence du pH, et à température optimale sur la croissance des souches de *Phellinus noxius*

pH	5	6	7	8
N° de souche				
2	29 73,3 110	27,6 77,63 110	34,75 91,87 110	22 61,5 110
3	32,87 84,3 110	26,75 76 110	25,6 75,25 110	22 61,5 110
6	41,6 95 110	29,12 76,37 108,7	24,5 56,4 101,6	31,12 68,12 109,9
7	22,12 63,12 104	27,5 67 108,7	23,3 67,5 109,8	20,75 52,3 93,75
32	21,16 75,16 110	28,14 85,3 110	25,7 72,6 110	23,5 72,5 110
35	28,6 84,5 110	29,4 90,4 110	25,3 67,1 110	24,9 76,3 110
39	24,62 68,12 110	20,1 60,75 110	24 65,25 108	28 65 110
44	25,6 73,85 105,6	35 84 110	30,71 82,3 110	27,3 76 110
45	22,57 65,3 99	17,3 56,6 100,3	22,85 79,16 110	25,3 66,3 106,4

Tableau 3

Influence du pH sur la croissance des souches à la température 25°C

pH	5	6	7	8
N° de souche				
2	26,7 48,9 79,5	34,5 66 98,25	31 75,5 94,6	27 72,7 110
3	28,7 67,1 88	33,2 74,1 107,5	27,5 73 108	34 79 110
6	39,4 82,1 109,4	24 74,5 110	31 78 109,7	31,1 80,2 110
7	24 52 72	25 52 80,1	28,25 71,3 105,3	25 55 98
32	18 60,1 103	35 82 107	35,3 85,4 105	26 73 102,1
35	28,5 54 75	32 67 91,7	30 75 101,8	28 70 101,7
39	22 51 87	29 68 106	29,7 70,75 109,5	24 65,5 95,5
44	24 55 94	33,4 71,1 103,6	27 67,4 101	31 73 110
45	25 47 72	24,8 52 73	25 64 98,9	25,4 53 79,7

Tableau 4

Influence du pH sur la croissance des souches à la température 30°C

d) - Mise en évidence des enzymes intracellulaires

L'analyse electrophoretique des extraits de souches de *P. noxiu* a donné les résultats suivant pour les phosphatases acides et les esterases. (photos 1 et 2) (tableau 5)

	2	3	6	7	32	35	39	44	45
PAC	2,8	2,8	2,8	2,6	2,8	3,0	2,9	2,8	3
Esterase	7,6	7,7	7,6	7,6	7,5	7,6	7,7	7,6	7,5
	4,7	4,6	4,6			4,6	4,7	4,7	4,7
	4,3	4,3		4,5	4		4,6	4,3	4,6
	4	4	3,9	4	3,7	4	4,3	4,5	4,3
	3,2	3	3	2,7	2,7	3,2	3	3	3,1
	2,5	2,3	2,5	2,5	2,5	1,9	2,3	1,9	2,3

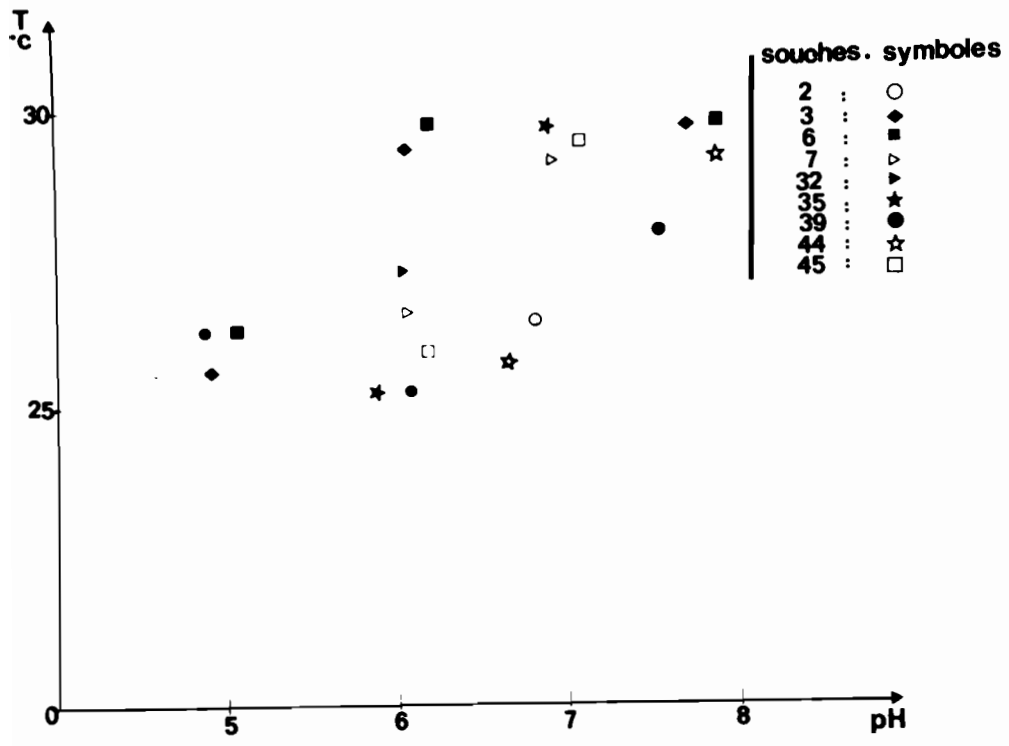
Tableau 5 : Front de migration des enzymes PAC et EST.
Chaque valeur représente le front de migration d'une bande.

Pour les MDH (Malate deshydrogenase) on ne peut pas mentionner de front de migration. Cependant pour chaque souche on observe un traînée colorée en violet avec deux petites bandes à la base.
ne représentation par absence ou présence a été préférée (photo 3 ; tableau 6).

Tableau 6

Souches	2	3	6	7	32	35	39	44	45
Front									
MDH	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+			+	+	+	

. Après trois essais il n'a peut être observé de LAP (Lencyl aminopeptidase)



4 - Exploitation des résultats

a) - Critères température et pH

Le Tableau 1 : La croissance du mycélium en fonction de la température permet de faire deux regroupements des souches

25°C : 45, 39 et 35

30°C : 44, 39, 32, 7, 6, 3 et 2 et 35

On observe un recoupement des deux groupes au niveau de la souche 39, 35. Ces souches présenteraient elles (un optimum) pour des températures intermédiaires entre 25°C et 30°C ?

Le tableau 2 : La croissance de mycélium en fonction du pH permet les regroupements suivants :

pH 5	3, 39
pH 6	7, 32, 39, 44, 45
pH 7	2, 7, 35, 39, 44
pH 8	6

Les tableaux 3 et 4, 5 font apparaître les regroupements

	25°C	30°C
pH 5	3, 6, 39	6
pH 6	7, 32, 35, 44	2, 32
pH 7	2, 7, 44	2, 7, 35, 39 et 45
pH 8	39	3, 6, 44

Lorsqu'on observe les groupes formés à l'issue des différentes expérimentations, il est possible de classer les souches étudiées dans les ensembles suivants :

A = {7, 2, 6, 3} B = {32, 44} C = {45, 39, 35}

Cependant il est à noter que la souche 32 est proche des souches 2 et 7 (voir tableaux). On peut rapprocher la 44 de la 7 parce qu'elles apparaissent presque toujours ensemble.

b) - Critères Enzymatiques

Phosphatases acides

Lorsqu'on considère les pF des différentes bandes, on peut faire les regroupements suivants :

35, 39, 45
2, 3, 6, 32 et 44 on pourrait joindre à ce groupe la souche 7.

Estérase

2, 3, 39, 44, 45 même nombre de bandes
6, 35 absence de la 3ème bande
7, 32 absence de la 2ème bande

Les différences s'observent aussi au niveau des fronts de migrations.

Malate deshydrogenase

L'absence de la bande pour les souches 45, 32 et 7, permet de faire un regroupement en deux ensembles des souches étudiées 45, 7 et 32
2, 3, 6, 35, 39, 44.

5 - CONCLUSION

Mises à part les souches 7 et 32 qui se distinguent des autres pour les estérases et la malate deshydrogenase, et les 6 et 35 qui, s'isolent pour les estérases seulement, les autres souches ont à peu près la même comportement au niveau des différentes enzymes étudiées. Les différences existent seulement au niveau des fronts de migration.

Apparemment les souches 2 et 3 seraient très proches l'une de l'autre. Si on se réfère aux résultats de l'analyse intraspécifique des souches de *Phellinus noxius* faite par SAMASSEKOU (1981) on pourrait grouper les souches étudiées en deux grands groupes 2, 3, 7, 32, 35, 39, 44, et 45, 6 et 35.

Cependant, il faut noter que les souches 7 et 32 sont un peu à part on pourrait leur ajouter la souche 45 à cause de la 3ème bande qui manque pour les MDH (malate deshydrogenase).

IV - CONCLUSION GENERALE

L'étude de la variabilité des caractères cultureux au sein d'une population de *Phellinus noxius* avait pour but de déterminer des différences de comportement au niveau des conditions physiques (température et pH) d'une part et de comportement de certaines enzymes intracellulaires (Est, MDH, LAP, PAC) d'autre part. Elle m'a permis d'isoler, avec quelques réserves quant à la reproductibilité des résultats obtenus, trois groupes qui sont les suivants :

2, 3, 39, 44
45, 7 et 32
6, 35.

Au sein du premier groupe, les souches 2 et 3 sont très proches l'une de l'autre (critère température, pH, EST, MDH, PAC). Il est ainsi intéressant de remarquer que ces deux souches proviennent de la même région. (S. ouest Côte d'Ivoire) et qu'elles parasitent le même hôte. Les souches 39 et 44 sont légèrement éloignées à cause des facteurs température et pH.

Les souches 32 et 7 qui n'étaient pas très loins l'une de l'autre se retrouvent ensemble pour le critère Estérase et Mala te deshydrogenase. (Origine commune, hôtes différents). Quant à la souche 45 difficilement située puisque pour les critères température et pH elle est classée dans le même groupe que les souches 39, 35. Les souches 6 et 35 qui forment un groupe à part pour les critères Estérase.

Afin d'arriver à une discrimination effective du pouvoir pathogène de ces différentes souches, il serait nécessaire de procéder à une étude in vivo en inoculant des plants d'Hévéa à l'aide de chacune des souches. Cette expérimentation permettrait de caractériser des races physiologiques au sein de cette population.

V - REFLEXION

Ce stage de deux mois, qui avait pour but de nous initier à la recherche scientifique est bien à propos pour les étudiants en fin de cycle d'étude. En effet, elle nous aura permis de nous familiariser, avec les techniques et méthodes utilisées pour l'étude et l'analyse de problèmes scientifiques.

Pour ma part elle m'a permis de faire le point de mes connaissances et d'en acquérir de nouvelles. Cependant, la durée du stage ne permet pas d'arriver à des résultats concluants en général pour le simple fait que les manipulations et expérimentations souffrent de quelques facteurs qu'on englobe sous l'appellation de facteurs limitants qu'il est très important de déterminer pour espérer arriver à de bonnes conclusions.

VI - BIBLIOGRAPHIE

- NANDRIS et NICOLE, 1981.- Mise au point d'un protocole d'inoculation artificielle de jeunes plants d'Hévéa par *Rigidoporus lignosus* et *Phellinus noxius*
+ abst, congrès sur la protection des cultures tropicales LYON - FRANCE.
- GEIGER J.P., NANDRIS., NICOLE M. et HUGUENIN B., 1981.- Les pourridiés de l'Hévéa. II Etude de l'agression du système racinaire de l'Hévéa par *Rigidoporus lignosus* et *Phellinus noxius*
+ abst, congrès sur la protection des cultures tropicales. LYON - France.
- SAMASSEKOU S., 1981.- Contribution à l'étude de certains champignons parasites de racines d'espèces ligneuses cultivées en Côte d'Ivoire.
Rapport ORSTOM.
- G. SECOND, P. TROUSLOT, 1980.- Electrophorèse d'enzyme de Riz (*ORYZA* sp) Travaux et documents de l'ORSTOM N° 120.
PARIS.

ZYMOGRAMME DE *PELLINIUS NOXIUS*

Les enzymes concernés sont les Esterases, Les Malate déshydrogenases (MDH) le Phosphatases acides (PAC).

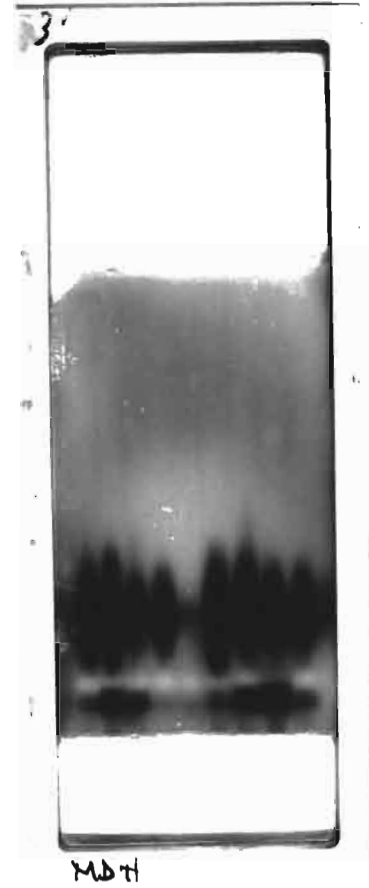
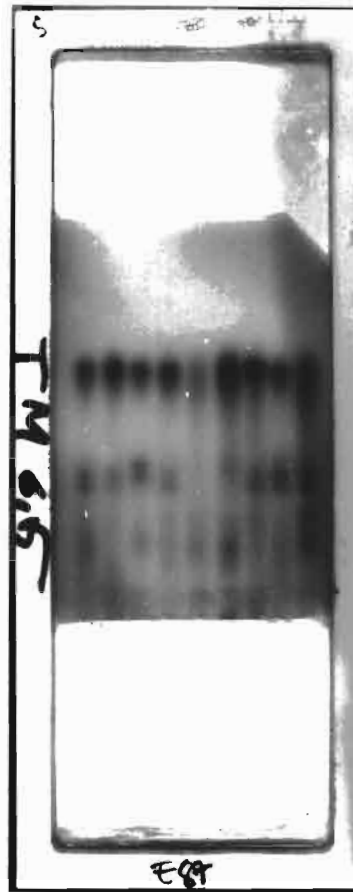
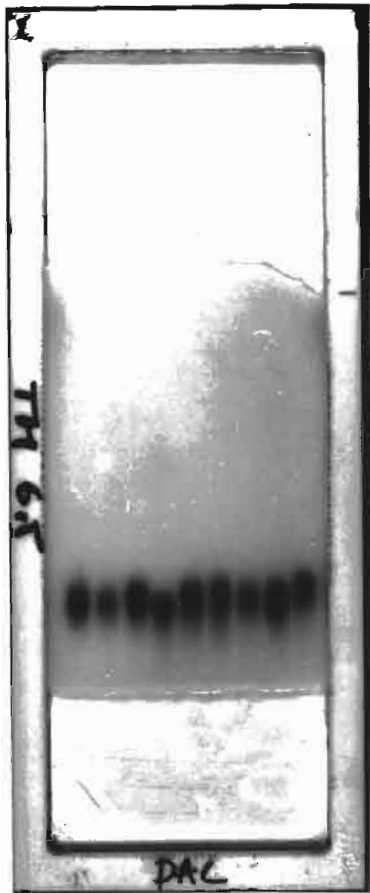


Photo I (PAC)

Phosphatase Acide
gauche à droite
on à la bande représenta-
tives des souches
2, 3, 6, 7, 32, 35, 39, 44 et 45

Photo II (EST)

Esterase
de gauche à droite
on lit les souches 2, 3, 6
7, 32, 35, 38, 44, et 45
les bandes sur la même ligne représentent
les isozymes

Photo III (MDH)

Malate déshydrogenase
de droite à gauche
on lit les souches
de 4 à 45

N.B. : La présence ou l'absence d'une bande est un critère de distinction de la souche concernée
La limite supérieure de chaque bande représente le front de migration de l'enzyme dans le cas de la souche. Elle serait aussi un critère de distinction entre les souches.