

BULLETIN MENSUEL
DE LA
SOCIÉTÉ LINNÉENNE DE LYON

FONDEE EN 1822

RECONNUE D'UTILITE PUBLIQUE PAR DECRET DU 9 AOUT 1937
des SOCIETES BOTANIKUES DE LYON, D'ANTHROPOLOGIE ET DE BIOLOGIE DE LYON
REUNIES

et de leurs GROUPES RÉGIONAUX : ROANNE, VALENCE, etc.

Siège social et Secrétariat général : 33, rue Bossuet, 69006 Lyon

TRESORERIE :

T A R I F

| | 1976 | 1977 |
|--|------|------|
| Abonnement France | 45 F | 50 F |
| Membre scolaire | 22 F | 25 F |
| Abonnement Etranger | 50 F | 55 F |
| Changeement d'adresse, inscription ou réintégration en sus | 7 F | 7 F |

N.B. — Les virements à notre C.C.P. LYON 101-98 ou les chèques bancaires, doivent être rédigés au nom de la SOCIETE LINNEENNE DE LYON.

SOMMAIRE

| | |
|--|-----|
| DUFAY Cl. — Additions au catalogue des Lépidoptères de la région lyonnaise (Quatrième supplément). <i>Erratum et Addenda</i> | 293 |
| ROMAN E. et PICHOT J. — Observations récentes sur quelques puces de nids d'oiseaux. Présence à Lyon de <i>Ceratophyllus columbae</i> (insectes Siphonaptères) | 294 |
| ROMAN E. et PICHOT J. — Remarques systématiques et biogéographiques sur quelques Diptères <i>Tabanidae</i> de France et de localités suisses voisines | 297 |
| DUBOIS A. — Deux <i>Rana cyanophlyctis</i> du Népal aux yeux noirs (Amphibiens, Anoures) | 303 |
| ARMAND-FRAYSSE D. et LEBRETON Ph. — Recherches physiologiques sur les champignons. V. — Données nouvelles d'ordre analytique concernant les champignons lignivores | 308 |

RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR LES CHAMPIGNONS. V. — DONNEES NOUVELLES D'ORDRE ANALYTIQUE CONCERNANT LES CHAMPIGNONS LIGNIVORES

par ARMAND-FRAYSSE D. et LEBRETON Ph.

Résumé. — Elargissant les tests classiques des mycologues utilisant des phénols simples comme révélateurs des activités lignivores des Hyménomycètes, les auteurs proposent la rutine (rhamnoglucosyl-3 quercétine) comme substrat complémentaire ; l'ensemble des résultats est traité par analyse factorielle des correspondances.

Une corrélation positive apparaît, d'une part entre la notion de pourriture blanche et la présence de polyphénol-oxydases (dont celles responsables de la destruction de la rutine), d'autre part entre la notion de pourriture rouge et divers types de substitution osidique de la quercétine.

Summary. — To discern between the two classical groups of wood-destroying Hymenomycetes, the authors add rutin (quercetin-3-rhamnoglucoside) as a complementary substrate to the standard mycological tests.

The data are submitted to correspondence analysis (canonical analysis of qualitative data) ; the results confirm the correlation between white-rot fungi and polyphenol-oxidases (including those of rutin catabolism), while brown-rot fungi show successive patterns of quercetin osidic substitution.

I. INTRODUCTION

Depuis des décennies, un problème à la fois fondamental et appliqué retient la double attention des mycologues et des forestiers : celui des Champignons lignivores, responsables des « pourritures » dites *blanches* ou *rouges* observées lors de l'attaque du bois. On connaît dans leurs grandes lignes les processus biochimiques impliqués : la pourriture blanche résulte de la persistance de la cellulose après destruction du second constituant macromoléculaire, la lignine, par le jeu de phénol-oxydases ; la pourriture rouge, quant à elle, voit disparaître la cellulose sous l'action d'osidases, la lignine résiduelle prenant une coloration brun-rougeâtre due à des processus de quinonisation.

Les Champignons provoquant la pourriture du bois sont essentiellement des Basidiomycètes et représentent environ 2 000 espèces selon BRAUNS F. E. (1952) ; il s'agit principalement d'Homobasidiés, notamment d'Aphyllophorales (Théléphoracées, Polyporacées) mais aussi de quelques Agaricales (*Pleurotus*, *Collybia*, *Armillaria*, *Schizophyllum*...).

Dès 1863 et 1866, SCHACHT H. et WILLKOMM M. regroupent les données antérieures et leurs observations sur la décomposition du bois par les Champignons, tandis que HARTIG R., en 1874, emploie le premier les termes de pourriture rouge et blanche. Mais ce n'est que depuis les travaux de WEHMER C., de HUBERT E. E. et de BAVENDAMM W., de 1924 à 1928, qu'est admise la relation entre pourriture rouge et décomposition de la cellulose d'une part, pourriture blanche et dégradation de la lignine d'autre part.

II. APPROCHE PRATIQUE DU PROBLÈME

Pour cerner au mieux ce problème des attaques fongiques, il convient de connaître aussi précisément que possible, non seulement l'identité (taxinomique) des « agresseurs », mais encore la nature de l'agressé.

Or le bois est d'une telle complexité biochimique¹ qu'il offre une matière première peu convenable à des études définies et reproductibles; l'attaque d'éprouvettes (bûchettes de bois aseptisées, GUILLEMAIN J. et KOVOOR J., 1964) est lente, et les colorations finales obtenues d'appréciation parfois subjective.

Bien des auteurs ont donc pensé clarifier le problème en s'intéressant à l'un ou l'autre de ses aspects métaboliques. Un milieu à base de cellulose (ou d'autres substrats osidiques), relativement simple, peut permettre d'envisager une partie du problème. En ce qui concerne la fraction phénolique, BAVENDAMM W. a été le premier, en 1928, à proposer des molécules simples comme les acides gallique et tannique pour éprouver les aptitudes polyphénol-oxydasiques responsables des pourritures blanches.

Ainsi, en 1938, DAVIDSON R. W. *et al.* peuvent-ils écrire : « thus BAVENDAMM's generalization, that brown rot fungi are negative when tested for oxidase by the use of gallic and tannic acids and that white rot fungi (96 %) give positive reactions with the same media is essentially correct », et ajoutent-ils eux-mêmes à la liste des substrats, des composés phénoliques comme le gaïacol et le p-crésol. Ce sont les « révélateurs » qu'utilisent classiquement la plupart des mycologues concernés, par exemple BODIN J., en 1958, dans sa thèse consacrée à la biotaxinomie des Hydnés résupinés et des Corticiés.

On pourrait évidemment songer à la lignine elle-même, mais c'est en fait retomber, au moins partiellement sur les difficultés signalées à propos du bois lui-même : la lignine n'est ni d'une extraction aisée, ni d'une structure précisément définie. On citera à ce propos les travaux de BIRKINSHAW J. H., FINDLAY W. P. K. et WEBB R. A. (1940), FUKUZUMI T. (1960), ISHIKAWA H., SCHUBERT W. J. et NORD F. F. (1963), ainsi qu'HENDERSON M. E. K. en 1963 ; dans un autre travail l'un d'entre nous s'est d'ailleurs livré à une étude bibliographique et expérimentale de la structure et de la dégradation de la lignine soumise à attaque fongique par *Radulum casearium* et *Trametes versicolor* (THIVEND S. et LEBRETON Ph., 1969).

Compte tenu de ces divers travaux, nous proposons ici un nouveau substrat biochimique présentant un compromis entre les exigences d'accessibilité et de définition structurale d'une part, de représentativité chimique d'autre part : la rutine, rhamnoglucosyl-3 quercétine, molécule flavonique d'origine végétale présente dans les tissus de nombreuses espèces ligneuses (ou herbacées) offre à la fois un squelette polyphénolique et un reste glucidique où domine la liaison β -glucose.

Une précédente communication (ARMAND-FRAYSSE D. et LEBRETON Ph., 1969) nous a permis de rendre compte des modalités biochimiques, notamment des systèmes enzymatiques impliqués, du métabolisme de la rutine par *Coniophora puteana* ; s'y ajoutait l'étude d'une vingtaine d'espèces considérées de manière plus globale en ce qui concerne leurs aptitudes cataboliques à l'égard de ce substrat.

Nous traitons ci-dessous de l'ensemble des méthodes finalement retenues, destinées à mettre en évidence un éventail aussi large que possible des diverses activités enzymatiques, supports des propriétés biologiques observées.

1. Il peut être considéré (voir BROWNING B. L., 1963) comme un complexe de deux macromolécules, l'une de nature osidique — la cellulose — basée sur la répétition de maillons glucose liés en 1-4 β , l'autre — la lignine — basée sur la polymérisation d'unités cinnamiques (squelette vanillique pour les résineux, syringique pour les feuillus). A cette architecture de base s'associent divers métabolites dits secondaires : autres glucides, lipides, protides, acides-phénols, flavonoïdes, terpènes, constituants minéraux, etc...

III. PARTIE EXPÉRIMENTALE

1. Matériel biologique.

a. espèces étudiées.

Nous avons mis en œuvre au total 21 espèces fongiques, tant Aphyllophorales qu'Agaricales, responsables de pourritures rouges comme de pourritures blanches (voir tableau I). On remarque que la majorité des Polyporacées sont de pourriture rouge, alors que l'inverse est la règle pour les Agaricales étudiées.

b. techniques de culture.

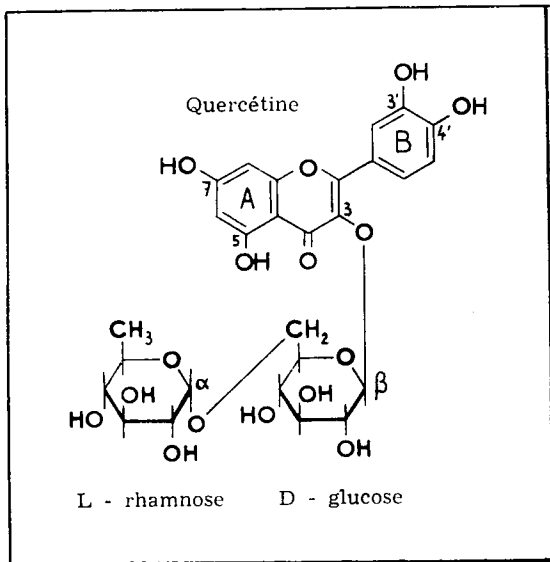
Elles ont été précédemment rapportées dans le détail (ARMAND-FRAYSSÉ D. et LEBRETON Ph., 1969 ; ARMAND-FRAYSSÉ D., 1974) : des cultures mycéliennes sont conduites en milieu liquide « 1 » de ODDOUX, éventuellement additionné de 40 mg/l de rutine. On suit de semaine en semaine l'évolution métabolique, jusqu'à trois mois en certains cas.

2. Analyse biochimique.

a. analyse des métabolites de la rutine et activités enzymatiques.

Le filtrat de culture est extrait par l'éther éthylique puis par l'acétate d'éthyle ; le premier solvant entraîne l'aglycone flavonique éventuellement libéré, le second l'hétéroside non transformé mais aussi certains produits résultant du métabolisme osidasique.

La chromatographie sur papier, ou sur couche mince de polyamide, de ces extraits permet d'obtenir des taches qui, éluées et soumises à spectrophotométrie U.V., livrent la structure des substances correspondantes.



RUTINE

= rutinose-3 quercétine

= α -L-rhamnopyranosido-(1 \rightarrow 6) β -D-glucopyranosyl-3 quercétine

TABLEAU I

| Espèces | Type de pourriture |
|--|--------------------|
| APHYLLOPHORALES | |
| THELEPHORACEAE s. l. | |
| <i>Basidioradulum orbiculare</i> (Fr.) Nobles | Blanche |
| <i>Coniophora puteana</i> (Schum. ex Fr.) Karst. | Rouge |
| <i>Hymenochaete rubiginosa</i> (Fr.) Lev. | Blanche |
| « <i>Radulum</i> » <i>casearium</i> (Morg.) Lloyd ² | Blanche |
| <i>Stereum sanguinolentum</i> (Alb. et Schw. ex Fr.) Fr. | ? ³ |
| POLYPORACEAE | |
| <i>Coriolellus albidus</i> (Fr.) Bond. | Rouge |
| <i>Daedalea quercina</i> (L.) ex Fr. | Rouge |
| <i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw. ex Fr.) Karst. | Rouge |
| <i>Fomitopsis rosea</i> (Alb. et Schw. ex Fr.) Karst. | Rouge |
| <i>Gloeophyllum saepiarium</i> (Wulf. ex Fr.) Karst. | Rouge |
| <i>Osmoporus odoratus</i> (Wulf. ex Fr.) Sing. | Rouge |
| <i>Piptoporus betulinus</i> (Bull. ex Fr.) Karst. | Rouge |
| <i>Trametes versicolor</i> (L. ex Fr.) Pil. | Blanche |
| AGARICALES | |
| PLEUROTACEAE | |
| <i>Lentinus lepideus</i> (Fr. ex Fr.) Fr. | Rouge |
| <i>Panellus serotinus</i> (Pers. ex Fr.) Kühn. | Blanche |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fr.) Kumm. | Blanche |
| <i>Schizophyllum commune</i> Fr. | Blanche |
| MARASMIACEAE | |
| <i>Flammulina velutipes</i> (Curt. ex Fr.) Sing. | Blanche |
| TRICHOLOMACEAE | |
| <i>Armillaria mellea</i> (Vahl ex Fr.) Kumm. | Blanche |
| <i>Armillaria tabescens</i> (Scop. ex Fr.) Emel | Blanche |
| NAUCORIAACEAE | |
| <i>Naematoloma sublateritium</i> (Fr.) Karst. | Blanche |

2. Les guillemets indiquent une position systématique d'attente.
 3. Blanche ou rouge selon les auteurs.

La *disparition progressive* de la rutine avec apparition de quercétine libre correspond à un *catabolisme osidasique* (α -rhamnosidase + β -glucosidase, cf. formule) très faible à faible (1) ⁴ s'il est lent et peu actif ; la synthèse de nouveaux glycosides à partir de l'aglycone libéré (ribosidases ou autres osidasés) correspond à une activité osidasique forte (2). Par contre, la *disparition rapide et totale* de la rutine implique éventuellement l'existence d'osidasés mais surtout de *phénol-oxydases* très actives : cette dégradation phénol-oxydasique sera qualifiée de totale (2) par opposition au respect de la rutine (0).

L'activité β -glucosidasique a été en outre précisée en absence de rutine, pour les filtrats (F) comme pour les broyats mycéliens (M), par emploi du substrat PNPG (p-nitrophényl- β -D-glucopyranoside), l'aglycone libéré étant estimé visuellement en milieu carbonate alcalin (λ_M 402 nm) ; coloration jaune, nulle (0), moyenne (1) ou forte (2).

b. *action sur des phénols simples* ⁵.

L'information précédente — le « test-rutine » — est complétée plus classiquement par l'oxydation de 4 substrats phénoliques : gaïacol I, p-crésol II, homogatéchol III et hydroquinone IV.

Dans tous les cas, l'activité des filtrats de culture et des broyats mycéliens a été estimée, par colorimétrie, au maximum de sa production (de 2 à 7 semaines), l'échelle suivante est retenue :

— pas de coloration visuellement décelable en moins de 20 heures : activité nulle (0) ;

— coloration faible à moyenne, en quelques heures : activité moyenne (1) ;

— coloration forte et rapide : activité forte (2).

Les colorations obtenues sont justifiées p. 313.

3. Traitement des données.

L'ensemble des données ainsi semi-quantifiées (0, 1, 2) constitue une matrice de données soumise à l'analyse factorielle des correspondances. Cette méthode d'analyse multivariée, désormais classique en Biologie (voir LEBART L., 1969 ; BENZECRI J. P., 1973), permet à partir d'une « distance » entre les lignes (ou les colonnes) de tableaux de fréquence, d'extraire objectivement des facteurs numériques successifs, non corrélés, d'importance décroissante, qui expliquent la liaison statistique entre les deux ensembles finis étudiés, ici les espèces fongiques et les propriétés enzymatiques. En pratique, chaque espèce et chaque caractère enzymologique se voient affectés d'une abscisse sur des axes factoriels F_1, F_2, F_3, \dots , une représentation plane, voire tridimensionnelle, permettant généralement d'exprimer visuellement l'essentiel des relations entre espèces et/ou caractères.

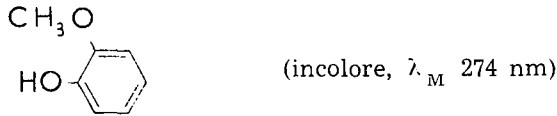
Du point de vue pratique, une activité β -glucosidasique moyenne à forte s'étant révélée dans le mycélium de toutes les espèces, cette information a été omise dans la liste des caractères enzymatiques retenus. De plus, l'absence d'un caractère n'ayant pas ici la signification d'un vrai zéro, il a paru utile de dédoubler chaque colonne du tableau en lui adjoignant son opposé. Chaque caractère figure ainsi sous forme « positive » (symbolisée par o sur la figure) et sous sa forme « négative » (symbolisée par ●). Cette technique rend le schéma d'analyse plus lisible et plus interprétable.

4. Dans ces notions se trouvent en fait contenues des informations relatives à l'intensité des taches chromatographiques et à la rapidité d'apparition des divers métabolites.

5. Mme THIVEND S., Ingénieur C.N.R.S., a assuré la partie technique de cette étude.

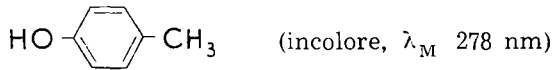
SUBSTRATS SOUMIS AUX POLYPHÉNOL-OXYDASES FONGIQUES

I. — GAÏACOL (= o-méthoxy-phénol).



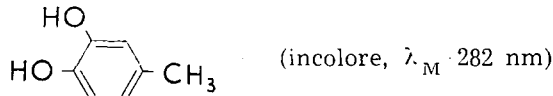
Donne naissance à la tétragaïaquinone (*rouge-brun*, λ_M 470 et 425 nm).

II. — p-CRÉSOL (= p-méthyl-phénol).



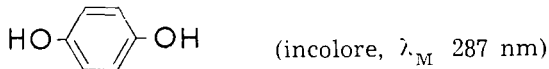
Sous l'influence d'une crésolase (E.C. 1.99.1, au moins partiellement synonyme de tyrosinase, ou plus précisément d'o-hydroxy-phénol-hydroxylase), le p-crésol donne naissance à l'homocatéchol, *incolore* mais *susceptible de transformations ultérieures*. Mais on peut également observer la formation de dimères phénoliques hydroinsolubles, responsables d'un *louche* (λ_M 295 nm après dissolution par l'éthanol).

III. — HOMOCATÉCHOL (= o-hydroxy-p-crésol).



Substrat artificiel ou produit enzymatiquement à partir du p-crésol, l'homocatéchol est susceptible de subir l'action d'une catécholase (E.C. 1.10.3.1), pour donner par quinonisation accompagnée de la soudure de deux noyaux aromatiques, une coloration *brune* (λ_M environ 400 nm).

IV. — HYDROQUINONE (forme réduite = p-diphénol).



Ce substrat donne, sous l'action d'une laccase (E.C. 1.10.3.2.), la p-quinone (forme oxydée *rose*, λ_M 360 et 470 nm).

IV. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats concernant le test-rutine et l'activité β -glucosidasique des filtrats de culture des mycéliums sont transcrits dans le tableau II; ceux relatifs aux activités polyphénol-oxydasiques figurent dans le tableau III. L'ensemble condensé et exprimé comme rapporté ci-dessus constitue la matrice numérique de l'analyse factorielle des correspondances.

1. Activités polyphénol-oxydasiques.

Dans le cas du gaïacol, la tétragaïaquinone obtenue est identique pour les filtrats et broyats mycéliens⁶; l'enzyme est assez fréquente chez les pour-

6. Vérifié par extraction à l'éther, chromatographie sur couche mince et spectrophotométrie UV-visible.

TABLEAU II
 ACTIVITÉ β -GLUCOSIDASIQUE EXOCELLULAIRE ; MÉTABOLISME DE LA ROUTINE

| Espèces | Type de pourriture | β -gluco- sidase β G | métabolisme de type « osidique » Ro | métabolisme de type « phéno- lique » Rp |
|-------------------------------------|--------------------|--|--|---|
| <i>Coniophora puteana</i> | rouge | 2 | 2 | 0 |
| <i>Corirolellus albidus</i> | rouge | 0 | 0 | 0 |
| <i>Daedalea quercina</i> | rouge | 1 | 2 | 0 |
| <i>Fomitopsis pinicola</i> | rouge | 1 | 2 | 0 |
| <i>Fomitopsis rosea</i> | rouge | 0 | 0 | 2 |
| <i>Gloeophyllum saepiarium</i> .. | rouge | 2 | 2 | 0 |
| <i>Lentinus lepideus</i> | rouge | 0 | 2 | 0 |
| <i>Osmoporus odoratus</i> | rouge | 0 | 0 | 0 |
| <i>Piptoporus betulinus</i> | rouge | 2 | 0 | 0 |
| <i>Stereum sanguinolentum</i> ... | rouge ? | 1 | 2 | 0 |
| <i>Armillaria mellea</i> | blanche | 0 | 0 | 2 |
| <i>Armillaria tabescens</i> | blanche | 0 | 1 | 0 |
| <i>Basidiaradulum orbiculare</i> .. | blanche | 1 | 0 | 2 |
| <i>Flammulina velutipes</i> | blanche | 2 | 1 | 0 |
| <i>Hymenochaete rubiginosa</i> ... | blanche | 1 | 2 | 0 |
| <i>Naematoloma sublateritium</i> .. | blanche | 2 | 1 | 0 |
| <i>Panellus serotinus</i> | blanche | 0 | 1 | 0 |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> | blanche | 1 | 1 | 0 |
| <i>Radulum casearium</i> | blanche | 0 | 0 | 2 |
| <i>Schizophyllum commune</i> ... | blanche | 2 | 2 | 0 |
| <i>Trametes versicolor</i> | blanche | 2 | 0 | 2 |

ritures blanches (8 espèces sur 11, soit plus de 70 %), et — fort logiquement — rare chez les pourritures rouges (1 espèce sur 9 seulement, soit environ 10 %).

Dans le cas du p-crésol, dont les transformations sont complexes, le produit terminal principal diffère selon qu'il s'agit du filtrat ou du broyat mycélien. Dans le premier cas, apparaît un louche blanchâtre (solubilisable par l'éthanol, λ_M 295 nm); ce processus n'intéresse aucune pourriture rouge mais 5 pourritures blanches. Dans le cas des mycéliums, il apparaît une coloration brun-rougeâtre chez 2 des 11 pourritures blanches (soit environ 20 %) et 4 des 9 pourritures rouges (environ 45 %); le fait que les quinones n'apparaissent pas à partir du filtrat peut être dû à une non-diffusibilité de l'enzyme d'o-hydroxylation, ou de l'enzyme de quinonisation, ou des deux à la fois.

Mais l'utilisation de l'homocatéchol, fourni au filtrat, permet de préciser les résultats obtenus avec le p-crésol : puisque le filtrat se montre très généralement apte à quinoniser l'homocatéchol, les résultats impliquent que la non-diffusibilité de l'enzyme d'o-hydroxylation était à mettre en cause dans le cas précédent. On doit néanmoins noter que, dans le cas de l'homocatéchol, les colorations obtenues ne sont pas identiques pour filtrat et broyat; compte tenu des λ_M relativement élevées, il s'agit probablement dans les deux cas de

ACTIVITÉS POLYPHÉNOL-OXYDASIQUES (0, 1, 2) DU FILTRAT DE CULTURE (F)
ET DU BROYAT MYCÉLIEN (M) VIS-A-VIS DU GAÏACOL (I), DU p-CRÉSOL (II),
DE L'HOMOCATÉCHOL (III) ET DE L'HYDROQUINONE (IV)

| Espèces | Type de pourriture | I | I | II | II | III | III | IV | IV |
|-------------------------------------|-----------------------|---|---|----|----|-----|-----|----|----|
| | | F | M | F | M | F | M | F | M |
| <i>Coniophora puteana</i> | rouge | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Coriolellus albidus</i> | rouge | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| <i>Daedalea quercina</i> | rouge | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Fomitopsis pinicola</i> | rouge | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Fomitopsis rosea</i> | rouge | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| <i>Gloeophyllum saepiarium</i> .. | rouge | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Lentinus lepideus</i> | rouge | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| <i>Osmoporus odoratus</i> | rouge | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| <i>Piptoporus betulinus</i> | rouge | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Stereum sanguinolentum</i> | rouge ? | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Armillaria mellea</i> | blanche | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Armillaria tabescens</i> | blanche | 2 | 2 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | 1 |
| <i>Basidioradulum orbiculare</i> .. | blanche | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Flammulina velutipes</i> | blanche | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Hymenochaete rubiginosa</i> ... | blanche | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| <i>Naematoloma sublateritium</i> .. | blanche | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| <i>Panellus serotinus</i> | blanche | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> | blanche | 2 | 2 | 2 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| <i>Radulum casearium</i> | blanche | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| <i>Schizophyllum commune</i> ... | blanche | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Trametes versicolor</i> | blanche | 0 | 2 | 2 | 0 | 2 | 2 | 2 | 2 |

quinones, conduisant ou non à des processus distincts de C-condensation (λ_M 390 nm pour le filtrat; λ_M 440 nm pour le mycélium).

Enfin, le cas de l'hydroquinone comme substrat (aucune activité chez les pourritures rouges; un tiers d'espèces actives à pourriture blanche) laisse entrevoir l'existence d'un système enzymatique simple diffusible, les activités des filtrats et broyats étant égales ou proches, et les colorations identiques.

2. Activités osidasiques et test-rutine.

Toutes les espèces sont pourvues de β -glucosidase (s) mycélienne (s), un certain nombre seulement d'activité β -glucosidasique diffusible dans le filtrat: ce dernier caractère est donc ici *a priori* le seul intéressant et peut-être éventuellement considéré comme un critère « perméase positive ».

Une espèce comme *Coniophora puteana*, dépourvue de toute phénol-oxydase et métabolisant progressivement la rutine par des voies osidasiques, s'oppose logiquement à des espèces comme *Basidioradulum orbiculare*, à faible activité β -glucosidasique « diffusible », qui dégrade totalement et rapidement le squelette flavonique (cette aptitude étant révélée par la richesse en polyphénol-oxydases exocellulaires notamment), ou comme *Coriolellus albidus* qui, dépourvue de toute enzyme diffusible, respecte la molécule de rutine.

Par contre, une espèce comme *Lentinus lepideus* soulève quelque problème puisque, dépourvue de β -glucosidase exportable, elle n'en modifie pas moins la partie osidique de la rutine. Et cette situation paraît encore plus paradoxale chez *Fomitopsis pinicola* qui, au cas précédent ajoute la présence d'une catécholase diffusible respectant néanmoins le groupement o-hydroxylé du phényle latéral de la rutine. On peut certes envisager une pénétration ou un contact membranaire des substrats, mais il convient plutôt, pensons-nous, de dépasser le cas d'espèces par une analyse plus globale, prenant également en compte la nature des pourritures en cause.

3. Types de pourritures et caractères enzymatiques.

D'une part nous prenons ici en considération l'ensemble des caractères enzymatiques — test-rutine inclus — reconnus aux 21 espèces et traités par l'analyse factorielle des correspondances, d'autre part nous recherchons à quel type de pourriture, voire à quel groupe systématique, appartient chaque espèce considérée.

L'ensemble des résultats est traduit par la figure jointe où sont représentés simultanément, d'une part les caractères enzymologiques (en présence et absence), d'autre part les espèces fongiques ; on distingue types de pourritures et catégories taxinomiques : on constate ainsi que des valeurs positives d'abscisses sur l'axe factoriel F_1 (qui porte sensiblement 40 % de l'information totale) marquent la présence de polyphénol-oxydases, notamment de *laccase* (substrat hydroquinone) tant dans le mycélium que dans le filtrat ; par contre, les créso-lases mycéliennes sont peu significatives sur cet axe factoriel. F_1 peut donc être homologué, dans une certaine mesure, aux informations apportées par les tests chimiques des mycologues classiques. Effectivement, à ces caractères polyphénol-oxydasiques correspond un « polygone » I regroupant 7 espèces : *Armillaria tabescens*, *Panellus serotinus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, *Naematoloma sublateralitium*, *Radulum casearium*, *Basidioradulum orbiculare*, toutes de pourriture blanche indiscutée ⁷.

Au même domaine correspond également un test-rutine (au sens de dégradation oxydative poussée) positif, qui se confirme donc comme un bon révélateur des potentialités phénol-oxydasiques et des pourritures blanches .

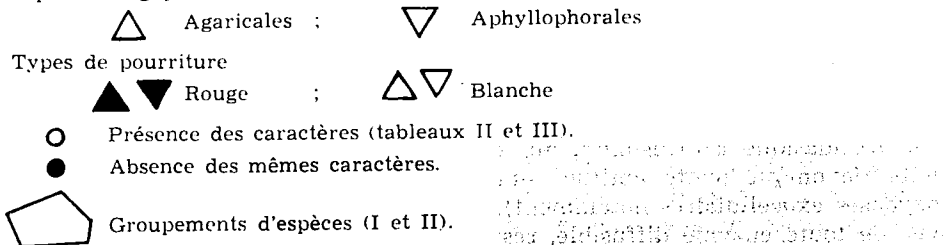
7. Réparties entre Aphyllophorales et Agaricales, ce qui tend à montrer que l'aspect taxinomique est ici mineur.

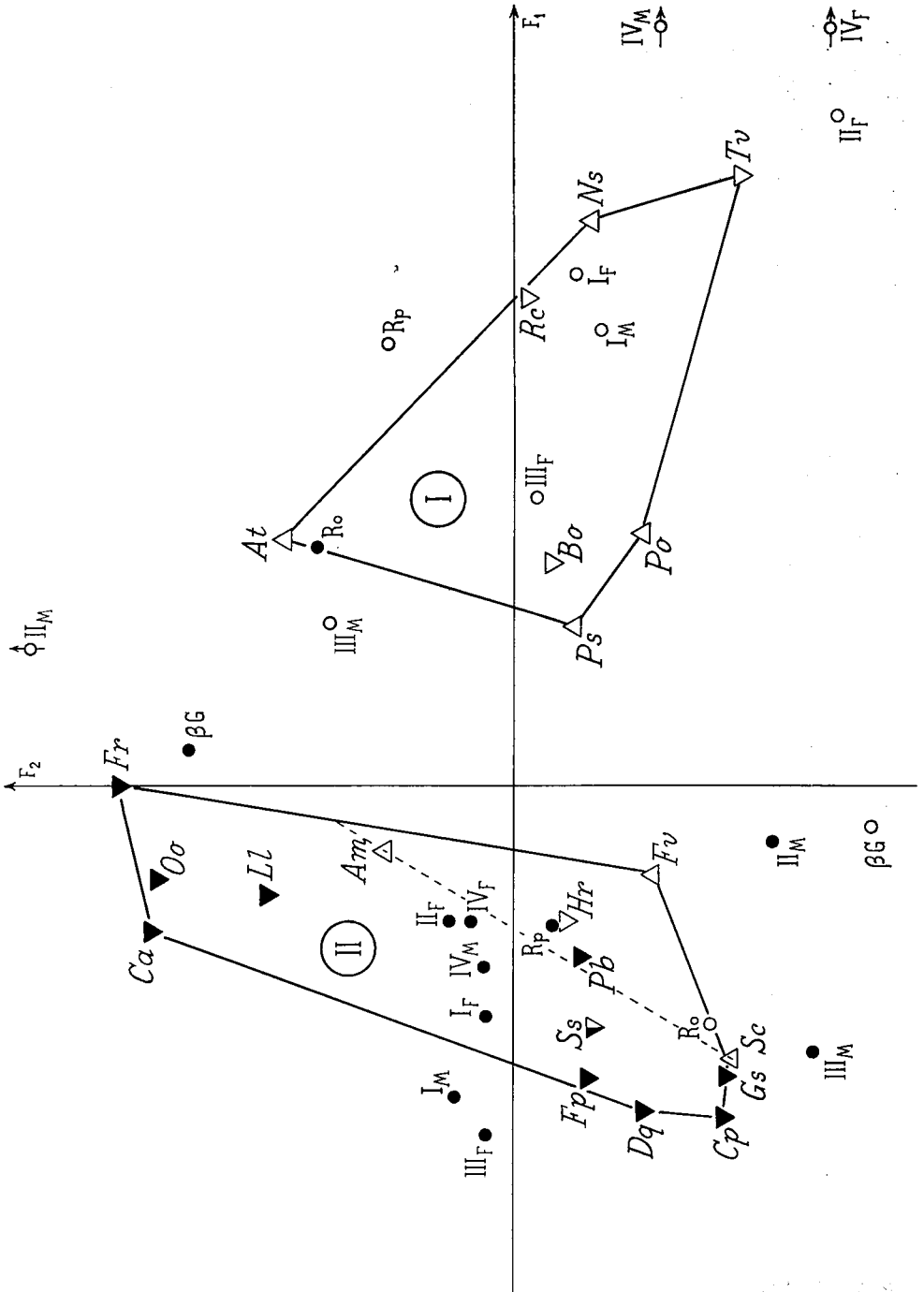
FIGURE CI-CONTRE :

Répartition de 21 espèces de Champignons lignivores, dans un système d'axes factoriels $F_1 - F_2$, après analyse des correspondances à partir de 11 caractères enzymologiques de cultures mycéliennes.

Les deux facteurs F_1 et F_2 emportent 58,5 % du total de l'information.

Espèces fongiques désignées par leurs initiales (tableau I).





A des valeurs négatives de F_1 — donc à l'absence de polyphénol-oxydases — correspond un second sous-groupe nettement séparé, composé de 14 espèces : *Fomitopsis rosea*, *Coriolellus albidus*, *Fomitopsis pinicola*, *Daedalea quercina*, *Coniophora puteana*, *Gloeophyllum saepiarium*, *Schizophyllum commune*, *Flammulina velutipes*, *Osmoporus odoratus*, *Lentinus lepideus*, *Armillaria mellea*, *Hymenochaete rubiginosa*, *Piptoporus betulinus*, *Stereum sanguinolentum*. Se rassemblent ici la totalité des 9 espèces de pourriture rouge objets de ce travail, mais aussi 4 espèces de pourriture blanche. Ce polygone II correspond plutôt à des activités osidasiques positives, puisque s'inscrit à sa proximité le caractère positif du test-rutine, au sens osidasique de celui-ci : la rutine se confirme donc comme un substrat particulièrement révélateur, sous les deux aspects osidique et phénolique. On rappelle que le mycélium de toutes les espèces est pourvu de β -glucosidase ; la non-diffusibilité de cette activité enzymatique et l'existence de crésolase mycélienne s'homologuent à des abscisses positives sur l'axe F_2 (voir figure), lequel emporte environ 19 % de l'information totale. L'axe factoriel F_3 , non représenté ici et portant environ 14 % de l'information n'apporte pas d'éclaircissements supplémentaires à notre propos. Cette séparation relativement satisfaisante, acquise répétons-le sur l'axe factoriel F_1 , et nettement corrélée aux deux aspects complémentaires du test-rutine, comporte néanmoins 4 exceptions relatives à la notion de pourriture : *Flammulina velutipes*, *Schizophyllum commune*, *Hymenochaete rubiginosa* et *Armillaria mellea*, soit 3 Agaricales et 1 Aphyllophorale classiquement considérées comme pourritures blanches⁸, ressortissent en effet ici au polygone II des pourritures rouges. Mais s'il en est ainsi, il est également vrai que ces 4 espèces sont en position marginale : un tracé (en pointillé) peut même être fait qui, dans le polygone II, regroupe les pourritures rouges authentiques loin du polygone I : l'exception constatée n'est donc qu'en partie réelle, bien que subsiste par le fait un important hiatus au sein de l'ensemble II des pourritures blanches. Si nous examinons maintenant de plus près les 4 cas litigieux, les constatations suivantes peuvent être faites :

— *Flammulina velutipes* est en effet faiblement pourvue en polyphénol-oxydases, mais présente néanmoins des activités mycéliennes non nulles à l'égard du gaïacol et de l'homocatéchol ; la rutine est respectée en tant que polyphénol ;

— *Armillaria mellea* attaque par contre totalement la rutine, bien que peu pourvue également en polyphénol-oxydases ;

— *Schizophyllum commune* et *Hymenochaete rubiginosa*, considérées comme pourritures blanches par les mycologues, demeurent une énigme pour le biochimiste : leur activité phénol-oxydasique est faible à nulle, tout particulièrement pour la rutine. Ce sont ici les deux exceptions les plus nettes au schéma d'analyse et d'interprétation enzymologiques des pourritures fongiques.

V. CONCLUSIONS

Le rattachement d'un Champignon lignivore à tel type de pourriture, blanche ou rouge, est chose parfois délicate, du double point de vue de la commodité et de l'objectivité des résultats. Les mycologues, puis les biochimistes ont donc développé des « tests » offrant aux potentialités enzymatiques fongiques des substrats phénoliques simples, comme le gaïacol.

8. *Stereum sanguinolentum* est considérée comme pourriture blanche ou rouge selon les auteurs ; nos résultats tendent donc à appuyer la seconde de ces propositions.

Le présent travail se proposait de compléter et d'élargir les travaux antérieurs, ceci à double titre :

— en étendant la gamme des activités (non seulement phénol-oxydasiques, mais aussi osidasiques) et des substrats (autres phénols simples, mais aussi rutine) ;

— en traitant des résultats dans une optique synthétique dépassant les cas particuliers grâce à l'analyse factorielle des correspondances.

Pour l'essentiel, la notion de *pourriture blanche* s'homologue à l'existence d'activités polyphénol-oxydasiques diffusibles, notamment de laccase, de crésolase, et d'enzymes ayant le gaïacol et la rutine (partie phénolique) comme substrat. Les espèces fongiques correspondantes dégradent la fraction phénolique du bois (lignine), laissant intacte la cellulose, responsable de l'aspect blanchâtre observé.

Inversement, les *pourritures rouges* sont marquées par l'absence des mêmes activités enzymatiques, y compris dans les mycéliums ; la rutine est transformée par voie osidasique. L'activité β -glucosidasique exportable (« perméase ») permet de considérer *Fomitopsis rosea* et *Gloeophyllum saepiarium* comme deux types extrêmes de ce groupe.

Quatre espèces classiquement considérées comme pourritures blanches viennent « contaminer » l'ensemble des pourritures rouges ; si cette juxtaposition est somme toute mineure pour *Flammulina velutipes* et *Armillaria mellea*, *Schizophyllum commune* et *Hymenochaete rubiginosa* constituent pour le biochimiste des anomalies que rien ne permet d'expliquer pour l'instant.

Si les phénols classiques ont vu en général confirmer leur intérêt et si les osidasés ont joué un rôle de second plan, le test-rutine développé à propos de ce travail s'est trouvé par contre bien corrélé avec les notions classiques de pourritures ; mais tout critère pris isolément est apparu susceptible d'être mis en échec au niveau des cas particuliers.

ARMAND-FRAYSSÉ D. et LEBRETON Ph.,
Equipe de Phytochimie et Phytophysiologie,
Laboratoire de Mycologie associé au C.N.R.S.,
Département de Biologie Végétale,
Université Claude-Bernard, Lyon I,
43, boulevard du 11-Novembre-1918,
Fr-69621 Villeurbanne.

Remerciements : Nous remercions vivement le Laboratoire de Biométrie de l'Université Claude-Bernard, LYON I, qui a bien voulu réaliser l'analyse factorielle des correspondances.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARMAND-FRAYSSÉ D. et LEBRETON Ph., 1969. — Recherches physiologiques sur les Champignons. III. — Transformations métaboliques de la rutine par les Champignons lignivores. Bull. Soc. Chim. Biol., 51, 563-578.
- ARMAND-FRAYSSÉ D., 1974. — Contribution à la connaissance physiologique et biochimique des Hyménomycètes lignivores. Thèse Doct. d'Etat, Lyon, 199 p.
- BAVENDAMM W., 1928. — Über das Vorkommen und den Nachweis von Oxydasen bei Holzerstörenden Pilzen. Z. f. Pflanzenkrankheiten, 38, 257-276.
- BENZECRI J. P. et col., 1973. — L'analyse des données. II. — L'analyse des correspondances. Dunod, Paris, 619 p.
- BIRKINSHAW J. H., FINDLAY W. P. K. and WEBB R. A., 1940. — Biochemistry of the wood-rotting fungi. II. — The acids produced by *Coniophora cerebella* Pers. Biochem. J., 34, 906-916.
- BOIDIN J., 1958. — Essai biotaxonomique sur les Hydnes résupinés et les Corticiés. Etude spéciale du comportement nucléaire et des mycéliums. Rev. Mycol. Fr., mém. hors-série n° 6, 388 p.

- BRAUNS F. E., 1952. — The Chemistry of Lignin. Academic Press Inc., New-York, 808 p.
- BROWNING B. L., 1963. — The Chemistry of Wood. Interscience Publ., New-York, London, 689 p.
- DAVIDSON R. W., CAMPBELL W. A. and BLAISDELL D. J., 1938. — Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. J. Agr. Research, 57, 683-695.
- FUKUZUMI T., 1960. — Enzymic Degradation of Lignin. Part. I. — Paper chromatographical Separation of Intermediate Degradation Products of Lignin by the Wood-rotting Fungus *Poria subacida* (Peck) Sacc. Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 24, 728-738.
- GUILLEMAIN J. et KOVOOR J., 1964. — Contribution à l'étude de la dégradation biologique des bois. Chimie et Biochimie de la Lignine, de la Cellulose et des Hémicelluloses. Symp. intern. Grenoble, 435-438.
- HARTIG R., 1874. — Wichtige Krankheiten der Waldbäume. Berlin, 127 p.
- HENDERSON M. E. K., 1963. — Fungal metabolism of certain aromatic compounds related to lignin. Pure Appl. Chem., 7, 589-602.
- HUBERT E. E., 1924. — The diagnosis of decay in wood. J. Agr. Research, 29, 523-567.
- ISHIKAWA H., SCHUBERT W. J. and NORD F. F., 1963. — Lignins and Lignification. XXX. — Enzymic degradation of guaiacyl glycerol and related compounds by white-rot Fungi. Biochem. Z., 338, 153-163.
- LAMAISON J.-L., 1976. — Intérêt chimiotaxinomique de l'équipement enzymatique des macromycètes. Bull. Soc. bot. Fr., 123, 119-136.
- LEBART L., 1969. — Introduction à l'analyse des données. Ann. CREDOC, Consommation n° 3-4, Dunod, Paris, 65-87.
- NOBLES M. K., 1948. — Studies in forest pathology. VI. — Identification of cultures of wood-rotting Fungi. Canad. J. Res., 26, 281-431.
- SCHACHT H., 1863. — Über die Veränderungen durch Pilze in abgestorbenen Pflanzenzellen. Jahrb. f. w. Bot., 3, 442-483.
- THIVEND S. et LEBRETON Ph., 1969. — Champignons lignivores. Contribution à l'étude de la dégradation de la lignine. Rev. A.T.I.P., 23, 313-324.
- WEHMER C., 1927. — Lignin und Huminstoffe bei der pilzlichen Holzersetzung. Ber. Dtsch. Bot. Ges., 45, 536-553.
- WILLKOMM M., 1866. — Zur Kenntnis der Rot- und Weiszfäule, 31-100, in : « Die mikroskopischen Feinde des Waldes. Naturwissenschaftliche Beiträge zur Kenntnis der Baum- und Holzkrankheiten ». Dresden, 1866-1867, 228 p.

BIBLIOGRAPHIE

AUDIO VISUEL. *Moyens, arts et techniques*. 250 p., 93 illustr., 25 F. Publications Photo-Revue, 118 bis, rue d'Assas, Paris 75006.

Ce livre traite des moyens audio-visuels et de leurs applications, des possibilités offertes par ces instruments d'une efficacité exceptionnelle.

Ce petit livre n'a pas l'ambition d'épuiser ce vaste sujet mais de servir d'initiation à tous ceux qui sont sollicités à l'heure actuelle et depuis plus d'une décennie par ces techniques révolutionnaires et les appareils de plus en plus perfectionnés mis à la disposition de tout un chacun.

Parmi les chapitres nous relevons : les magnétophones, le disque, la sonorisation des diapositives ou des films, la projection fixe dans le domaine de l'enseignement et de la culture, et bien d'autres avis ayant trait à la radio ou à la télévision. En fin d'ouvrage l'auteur aborde les domaines récents des video-cassettes et des moyens d'instruction programmée et des machines à apprendre.

Une importante bibliographie moderne et de langue française complète heureusement ce livre, avec une page de titres de revues et deux pages d'adresses utiles.

De très nombreux conseils émaillent les divers chapitres.

Cet ouvrage permettra à tous ceux qui par goût ou nécessité ont besoin de l'audio visuel, de trouver des renseignements généraux et par la bibliographie de compléter par une autre documentation plus spécialisée.

Les naturalistes auront intérêt à utiliser les conseils nombreux et utiles de ce livre pour parfaire la présentation des documents photographiques.

L. G.