

QUELQUES CARACTERISTIQUES PHYSIOLOGIQUES DE
PYTHIUM MYRIOTYLUM, AGENT PATHOGENE DE LA POURRITURE
RACINAIRE DU MACABO (XANTHOSOMA SAGITTIFOLIUM) AU CAMEROUN

*Some Physiological Characteristics of Pythium Myriotylum,
Causal Agent of Cocoyam (Xanthosoma Sagittifolium)
Root Rot Disease in Cameroun*

S. NZIETCHUENG

Institut de la Recherche Agronomique,
B.P. 44 Dschang, CAMEROUN

RESUME

Les résultats des études effectuées sur l'influence des différents milieux de culture, du pH, de la température et de la lumière sur la croissance mycélienne et le mode de reproduction de *P. myriotylum* sont rapportés.

Le même champignon sécrète en milieu de culture des protéases, très actives en milieu neutre et une pectinéméthylestérase avec un optimum d'activité situé aux alentours de pH 7,0.

SUMMARY

*Results of studies performed on the effect of different culture media, pH, temperature and light on mycelial growth and mode of reproduction of *P. myriotylum* are reported.*

The same fungus produces in vitro proteolytic enzymes very actives in neutral medium and a pectinemethylesterase with optimum activity around pH 7.0.

INTRODUCTION

Pythium myriotylum Drechsl. est, au Cameroun, l'agent pathogène responsable de la pourriture des racines du macabo *Xanthosoma sagittifolium* dont les tubercules constituent l'aliment de base pour une bonne partie des populations de la zone forestière (NZIETCHUENG 1983 a et b ; 1985).

Afin de mieux comprendre le comportement de ce parasite, sur son hôte, nous avons examiné, in vitro l'influence de certains milieux de culture, du pH, de la température et de la lumière sur l'aspect cultural, la croissance mycélienne et le mode de reproduction.

P. myriotylum parasite responsable des nécroses des racines et du "stunting" observés sur les jeunes plantules de tomate *Lycopersicum sp.*, sécrète des toxines qui jouent un rôle dans la pathogénèse (CSINOS et HENDRIX 1978; CSINOS 1979). D'après DOW et LUMSDEN en 1975, le même champignon développe un mycélium inter et intracellulaire dans les tissus de l'hypocotyle du haricot *Phaseolus sp.*. Nous avons effectué quelques études préliminaires sur la sécrétion éventuelle, in vitro, des enzymes hydrolytiques par ce parasite.

I. MATERIEL ET TECHNIQUES

L'isolat de *P. myriotylum* que nous avons utilisé provient des racines pourries de macabo récoltées dans la zone écologique de Njombe (Cameroun) (NZIETCHUENG 1985).

Dans le but d'examiner l'influence de certains facteurs trophiques et physiques sur l'aspect cultural, la croissance mycélienne et le mode de reproduction de ce champignon, nous avons testé les milieux suivants :

Potato-Dextrose - Agar (PDA); milieu V-8; Extrait de Malt-Gélose - Glucose (MAG); LIMA BEAN Agar (LBA); Oat Meal Agar (OMA); Corn Meal Agar (CMA) et Malt Broth Mehrlich (MBM) (TUIITE, 1969; NZIETCHUENG, 1985). La composition du milieu (MBM) est la suivante : Extrait de Malt (Difco) 5,0 g ; Glucose 15,0 g; Peptone 1,0 g; KH₂ PO₄ 1,0 G. Mg SO₄ 0,5 g; Gélose 20,0 g. Le milieu à base d'extraits de racines de macabo (ERM) : 400 g de racines de macabo lavées à l'eau courante sont bouillies dans 800 ml d'eau distillée, ensuite broyées et filtrées. Au filtrat on ajoute 5 g de glucose et 20 g de gélose et on ajuste à 1 litre.

La sécrétion in vitro d'enzymes hydrolytiques par *P. myriotylum* a été examinée sur les milieux à base de racines et de fragments de tubercules de macabo (RTM) 100 g environ lavés à l'eau courante sont introduits dans les fioles d'Erlenmeyer de 250 ml avec quelques millilitres d'eau distillée et stérilisée; des fragments de tubercules de pomme de terre (TPT) ont été utilisés dans les mêmes conditions.

Les différents milieux de culture sont ensemencés avec des explantats calibrés de mycélium frontal provenant des cultures sur milieu "MBM". L'incubation de *P. myriotylum* sur milieu "RTM" et "TPT" se fait à la température de la salle (24-25°C), elle dure trente jours.

1.1 Etude de l'influence des facteurs trophiques et physiques sur le développement de *P. myriotylum*

Préalablement à tout essai le parasite est cultivé sur le "MBM" ou le "CMA". Pour l'étude de la croissance mycélienne, des explantats circulaires de 6 mm de diamètre sont prélevés à l'emporte-pièce dans la zone de croissance active d'une culture de deux jours et repiqués au centre des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, contenant le milieu à tester, en appliquant le mycélium sur le milieu. Chaque essai comporte dix boîtes de Pétri pour chaque facteur étudié. Nous avons ainsi étudié l'influence des différents milieux sur l'aspect cultural du parasite, la croissance mycélienne et le mode de reproduction.

En utilisant comme milieu de base la solution de Richards Gélosée (NZIETCHUENG 1978) et le "MBM", l'influence des différentes sources de carbone, de la température (10 à 50°), de l'éclairement et du pH sur la croissance mycélienne a été examinée.

1.2. Confection des milieux de culture à différents pH

Le milieu de base est le "MBM". Le tampon utilisée est celui de McILVAINE (acide citrique 0,1 M; phosphate disodique 0,2 M mélangés en proportions variables avec la gamme des pH 2,2 à 8,0).

Pour éviter l'hydrolyse de la gélose aux pH inférieurs à 5,0, les solutions (nutritive et tampon) sont mélangées, après la stérilisation, en parties égales. Chacune d'elles a une concentration double de celle de la solution finale. Le milieu "MBM" non tamponné a été utilisé comme témoin en vue d'examiner la toxicité de la solution tampon.

L'influence des milieux de culture, du pH et de l'éclairement sur le développement du parasite a été examinée à 30 ± 1°C.

Mesure de la vitesse de croissance mycélienne

La croissance mycélienne est déterminée par la mesure $l = l_1 - l_0$ chaque jour par lecture au papier millimétré à la face inférieure de la boîte. A cause de la croissance très rapide de *P. myriotylum* sur la plupart des milieux, l'incubation dans les différents tests ne dure que 24 heures.

1.3. Techniques enzymologiques

1.3.1. Obtention des solutions enzymatiques

Les tissus parasités des fragments de tubercules de macabo sont broyés au moyen d'un mixer avec le mélange extracteur constitué d'un tampon de McILVAINE pH 7,0 NaCl 10 % (BOMPEIX 1972, NZIETCHUENG 1978; NZIETCHUENG et BOMPEIX 1980). Un millilitre d'extrait correspond à 0,5 g de poids de tissus frais.

Le broyage des tissus peut aussi être effectué au mortier en présence d'une petite quantité de sable fin lavé aux acides. Toutes ces opérations se font à basses températures (+4°C). Le broyat est ensuite filtré; une dialyse de 36 heures à (+4°C) contre une solution de saccharose 20 % renouvelée deux fois est nécessaire pour éliminer certaines molécules dont la présence peut masquer les activités enzymatiques.

Après toutes ces opérations, les solutions enzymatiques sont soit utilisées immédiatement soit conservées au congélateur à (-20°C) jusqu'à leur emploi.

1.3.2. Evaluation des activités enzymatiques par la méthode de "Diffusion-Gélose" ("Cup-Plate method")

Le principe de la méthode (DINGLE et al., 1953; HANKIN et ANAGNOSTAKIS 1975, NZIETCHUENG et BOMPEIX 1980, FEDERICI 1982), est de déposer des préparations enzymatiques, ou des fragments de tissus parasités ou même des explantats de mycélium, ou encore des rondelles de papier filtre imbibé de solution enzymatique à tester, sur la gélose en boîte de Pétri qui contient un substrat approprié à l'activité enzymatique recherchée. Dans tous les cas, nous utilisons 100 µl de solutions enzymatique.

Après 24 heures d'incubation à 30°C nous recouvrons le disque de gélose-substrat avec une solution particulière à chaque type d'activité enzymatique. On exprime ensuite la dimension de la zone de lyse (dl) par la valeur D (diamètre total) - 8 (diamètre de puits pratiqués dans la gélose-substrat à l'aide d'un emporte-pièce de 8 mm de diamètre) = dl (diamètre de l'activité enzymatique).

Le tampon que nous avons utilisé dans tous les cas est celui de McILVAINE, pH 2,2 - 8,0. Le milieu test contient pour un litre de solution : 10 g ppm de merthiolate de soude pour inhiber le développement de tous les microorganismes.

A 50 ml de la solution tampon-substrat (à concentration double) portée à 60°C dans un bain-marie sont additionnés 50 ml de gélose fondue à 100°C (concentration double) puis ramenés à 60°C. Les solutions préparées simultanément sont mélangées soigneusement (agitation magné-

tique) puis réparties dans les boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte.

Protéases

Le substrat que nous avons utilisé est la gélatine (PROLABO). La révélation des activités se fait avec une solution d'acide trichloroacétique 5 %.

La protéine non digérée enzymatiquement précipite et on note la présence d'une zone de lyse claire en cas d'activité enzymatique (NZIETCHUENG et BOMPEIX 1980).

Amylases

La mise en évidence de la sécrétion d'amylases peut être faite à partir des cultures de parasites sur milieu gélosé contenant 1 % d'amidon (NZIETCHUENG 1978) ou avec des extraits enzymatiques. Dans le premier cas, après deux jours de culture, nous recouvrons toute la surface du "milieu - *P. myriotylum* avec une solution de Lugol dont la composition est la suivante:

Iodure de potassium	2,0 g
Iode	0,2 g
Eau	100 cm ³

Quelques minutes après, l'amidon non digéré est coloré en bleu. On note alors en avant du front de la progression mycélienne une zone de lyse jaune traduisant l'activité enzymatique. Dans le deuxième cas, le milieu test contient 1 % d'amidon, 2 % de gélose. La révélation se fait toujours avec du Lugol et en cas d'activité on note une zone de lyse jaune sur un fond bleu.

Pectinéméthylestérase (PME)

La technique de DINGLE et al. (1953) ne permet pas de mettre en évidence la PME sur un disque de gélose-substrat en présence de la polygalacturonase ; celle de McCOMB et McCREADY (1958) est beaucoup plus spécifique et aboutit à des résultats plus intéressants.

Le milieu test contient 1 % de pectine hautement méthylée (95 %) et 2 % de gélose. Après incubation pendant 24 heures dans une étuve à 30 °C, on recouvre la surface du "gélose-substrat - extrait enzymatique" avec les solutions suivantes qui doivent être préparées au moment de l'emploi:

- une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine 3,75% et puis en agitant, on ajoute une solution de soude caustique 9,4 %.

- Après 10 à 15 minutes, ces deux solutions sont éliminées et remplacées par 3 ml d'une solution d'acide chlorhydrique (un volume d'acide chlorhydrique concentré + deux volumes d'eau distillée) et 3 ml d'une solution de

chlorure ferrique 10 %. En cas d'activité PME, on note après quelques minutes l'apparition d'une zone claire et la pectine non attaquée enzymatiquement est colorée en rouge.

II RESULTATS

2.1. Influence des différents milieux de culture sur l'aspect cultural, la croissance mycélienne et le mode de reproduction

Sur l'aspect cultural

Nous avons testé huit milieux de culture. L'incubation s'effectue à l'obscurité, à $30 \pm 1^\circ\text{C}$ et dure 24 heures (cf. supra.). Au vu des résultats du Tableau 1, on constate que *P. myriotylum* développe un mycélium blanc copieux très touffu sur les milieux : V-8 et ERM. Il est blanc et peu touffu sur les milieux CMA, PDA, MAG et MBM ; blanc dispersé sur OMA et LBA.

Sur la croissance mycélienne et le mode de reproduction

La croissance mycélienne de *P. myriotylum* n'est pas identique sur les différents milieux éprouvés. En effet les résultats portés dans le tableau 1 révèlent trois groupes de milieux.

Les milieux MBM et ERM sont plus favorables à la croissance mycélienne du parasite. Ensuite viennent les milieux V-8, LBA, OMA et CMA. Dans le troisième groupe sont classés les milieux PDA et MAG. La production des zoospores est importante sur les milieux MBM, ERM, LBA et OMA; elle est moyenne sur les milieux PDA, MAG, V-8 et CMA. Les oogones et les oospores sont abondants sur les milieux CMA, rares à absents sur les autres milieux.

2.2. Influence de la source de carbone sur la croissance mycélienne de *P. myriotylum*

Les milieux contenant le saccharose, le glucose et l'amidon comme source de carbone soutiennent une bonne croissance de *P. myriotylum*. Elle est plus faible sur les milieux contenant le fructose et la pectine (Tableau 2).

2.3. Influence de la température sur la croissance mycélienne

Les résultats du tableau 3 révèlent que la température a un effet stimulant sur la croissance mycélienne. En effet à $10^\circ \pm 1^\circ\text{C}$, la croissance mycélienne est nulle ; on note quelques hyphes dressées sur l'inoculum après 24 heures d'incubation; elle est faible à moyenne entre 10°C et 20°C ; optimale entre 20° et 40°C , la croissance maximale étant située aux alentours de 35°C (tableau 3).

Tableau 1 Influence des milieux de culture sur l'aspect cultural et la croissance mycélienne. Température et durée d'incubation (à l'obscurité) $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et 24 heures respectivement.

Milieu de culture	Aspect cultural	Croissance mycélienne moyenne en (cm)
MBM	Blanc ras, peu touffu	$5,3 \pm 0,1$
ERM	Blanc copieux, touffu	$5,3 \pm 0,1$
LBA	Blanc ras, dispersé	$5,0 \pm 0,1$
V - 8	Blanc copieux, touffu	$4,8 \pm 0,1$
OMA	Blanc ras, peu touffu	$4,7 \pm 0,1$
CMA	Blanc ras, peu touffu	$4,7 \pm 0,1$
MAG	Blanc ras, peu touffu	$4,4 \pm 0,1$
PDA	Blanc ras, peu touffu	$4,0 \pm 0,1$

- Les moyennes sont suivies de l'écart - type.

Tableau 2. Influence de la source de carbone sur la croissance mycélienne du parasite. Température et durée d'incubation (à l'obscurité) $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et 24 heures respectivement.

Source de carbone	Croissance mycélienne (cm) moyenne de dix boîtes de pétri
- Glucose	$5,0 \pm 0,15$
- Saccharose	$5,0 \pm 0,10$
- Amidon	$5,0 \pm 0,10$
- Fructose	$4,1 \pm 0,02$
- Pectine	$4,0 \pm 0,14$

. Milieu de base = Solution de Richards gélosée

. Les moyennes sont suivies de l'écart-type

Tableau 3. Influence de la température sur la croissance mycélienne.
 Température et durée d'incubation (à l'obscurité) $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$
 et 24 heures respectivement.

Température °C	Croissance radiale (cm) moyenne de dix boîtes de Pétri
10 ± 1	Croissance mycélienne uniquement sur l'inoculum
15 ± 1	$2,5 \pm 0,1$
20 ± 1	$3,3 \pm 0,1$
25 ± 1	$4,7 \pm 0,1$
30 ± 1	$4,9 \pm 0,2$
35 ± 1	$5,3 \pm 0,1$
40 ± 1	$4,5 \pm 0,2$
45 ± 1	Quelques hyphes notables sur l'inoculum
50 ± 1	Nulles.

. Milieux de base : "MBM"

. Les moyennes sont suivies de l'écart-type.

2.4. Influence du pH sur la croissance mycélienne et le mode de reproduction

En examinant le tableau 4 on constate que la croissance mycélienne de *P. myriotylum* est retardée à tous les pH par comparaison au témoin. Cette croissance est nulle pour les pH inférieurs à 3,0, faible pour les pH 3,0 à 5,0, moyenne pour les pH 5,0 à 8,0; elle est maximale aux alentours du pH 6,0. La formation des zoosporanges est optimale pour les pH situés aux alentours de 6,0 et nulle pour les pH inférieurs à 5,0. Le tampon de McILVAINE stimule probablement la formation des "appresorium - like". En effet nous avons observé au microscope sur la face inférieure des boîtes de Pétri contenant le parasite un nombre élevé des "appresorium - like" par comparaison au témoin (tableau 4).

2.5. Influence de la lumière sur l'aspect cultural et la croissance mycélienne

Les cultures sont réalisées sur milieu "MBM" gélosé. Les boîtes de Pétri sont en matière plastique plus perméable que le verre aux radiations lumineuse. Après ensemencement des milieux de culture (cf. supra) les boîtes de Pétri sont placées dans un sac en polyéthylène, transparent pour l'exposition à la lumière, emballées dans du papier d'aluminium avant d'être placées dans le sac en polyéthylène pour les essais à l'obscurité.

P. myriotylum développe un mycélium blanc copieux à l'obscurité, blanc et peu touffu à la lumière. L'éclairage continu et l'obscurité sont sans effet sur la croissance mycélienne (tableau 5).

2.6. Sécrétion in vitro des enzymes hydrolytiques par *P. myriotylum*

2.6.1. Amylases

Nous n'avons pas décelé, dans nos conditions d'expérience la présence d'amylases sécrétées en milieu de culture par *P. myriotylum*.

2.6.2. Pectinéméthylestérase (PME)

Avec la technique de "Diffusion - Gélose" nous avons évalué l'activité PME sécrétée par le parasite sur les milieux de culture constitués des fragments de tubercules et racines de macabo et de fragments de tubercules de pomme de terre. Les extraits provenant des tissus parasités de macabo ont une activité enzymatique plus grande par rapport à ceux issus des tissus parasités de pomme de terre (Tableau 6). La PME sécrétée par *P. myriotylum* a un optimum d'activité situé aux alentours de pH 7,0.

Tableau 4 : Influence pH sur la croissance mycélienne et le mode de reproduction. Température et durée d'incubation (à l'obscurité) $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et 24 heures respectivement.

pH	2,2	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0
Croissance mycélienne (cm)	-	0,0	2,0 \pm 0,3	3,1 \pm 0,2	4,0 \pm 0,1	3,4 \pm 0,3	2,8 \pm 0,8
Témoin							
(milieu "MBM" pH 6,0)					5,8 \pm 0,1		
Zoosporanges	-	-	-	++	+++	++	+
"Appresorium-like"	-	-	-	++	++	++	++

. Milieu de base : "MBM"

+++ : Fructuation forte

. Les moyennes sont suivies de

++ : Fructuation moyenne

l'écart-type.

+ : Fructuation faible

- : Fructuation nulle

Tableau 5 : Influence de la lumière sur l'aspect cultural et la croissance mycélienne. Température et durée d'incubation à $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et 24 heures respectivement.

Inoculum	Lumière	Obscurité
. Aspect cultural	Blanc copieux	Blanc peu touffu
. Croissance mycélienne (cm)	$3,9 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,1$

. Milieu de base "MBM"

. Les moyennes sont suivies de l'écart-type.

Tableau 6 : Activité pectinéméthylestérase (PME) *In vitro* de *P. myriotylum* à différents pH à 30°C (méthode de "Diffusion - Géluse" (dl cf. techniques).

Milieux de culture	Extraits enzymatiques issus de	
	Racines et tubercules de macabo parasités	Fragments de tubercules de pommes de terre parasités
pH	(dl)	(dl)
3,0	0,0	0,0
4,0	4,0	3,0
5,0	4,0	3,0
6,0	7,0	5,0
7,0	7,8	5,8
8,0	4,5	3,5

2.6.3. Activité protéases

P. myriotylum sécrète en milieu de culture des enzymes protéolytiques. Les résultats du tableau 7 (a et b) révèlent que les extraits enzymatiques issus du milieu "RTM" sont doués d'une grande activité protéolytique par rapport à ceux issus du milieu "TPT". En effet *P. myriotylum* sur milieu "RTM" développe un mycélium blanc et touffu contrairement à celui observé sur milieu "TPT" d'aspect blanc ras.

- Activités protéolytiques selon le pH et la température

L'effet de la température a été apprécié avec la même technique de "Diffusion-Gélose" à pH 7,0; l'activité protéolytique est maximale aux alentours de 33°C (tableau 8). Des résultats portés dans le tableau 7 (a et b) on constate que l'optimum d'activité protéolytique en ce qui concerne le pH est situé en milieu neutre pH 7,0. En effet la plupart des protéases sont actives en milieu neutre ou légèrement basiques; les protéases acides sont plus rares chez les agents phytopathogènes (NZIETCHUENG 1985).

DISCUSSION ET CONCLUSION

La croissance mycélienne de *P. myriotylum* ainsi que la formation des fructifications sont plus importantes sur le milieu "ERM" (Extrait de racines de macabo). Un phénomène identique est observé lorsqu'il est cultivé sur le milieu "RTM" (milieu à base de racines et de fragments de tubercules de macabo). Les racines ou extraits de racines de macabo contiennent probablement des éléments stimulants pour le développement de ce champignon. De nombreux travaux (PARK 1963 ; SCHROTH et HILDEBRAND 1964) ont rapporté l'influence des exudats racinaires, se traduisant soit par une stimulation ou par une inhibition du développement du parasite, dans les relations hôtes-parasites. Une analyse de la composition chimique des extraits et des exsudats des racines du macabo est envisagée.

Les températures élevées (20-40°C) favorisent la croissance de ce parasite ; elle est maximale à 33°C. Des résultats similaires ont été rapportés par BELL en 1967.

La croissance mycélienne est maximale au pH 6,0; toutefois et par comparaison au témoin, le tampon (acide citrique 0,1 M; phosphate disodique 0,2 M) s'est révélé toxique vis-à-vis du champignon. Nous étudierons l'influence d'autres tampons sur le développement de ce parasite.

L'effet de la lumière a été enregistré sur l'aspect cultural ; elle n'affecte pas la croissance mycélienne. D'après TRIONE et LEACH (1969), KITAMOTO et al. (1972), LEACH (1963), la lumière bleue ou le proche ultra-violet sont

Tableau 7 : Activités protéolytiques *in vitro* de *P. myriostylum* sur différents milieux de culture à 30°C (méthode de "Diffusion - Gélose" (dl. cf. techniques).

a) Extraits enzymatiques issus du milieu "RTM"

pH	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0
dl. (diamètre zone de lyse) (mm)	0,0	4,0	9,0	11,0	21,5	15,5

b) Extraits enzymatiques issus du milieu "TPT"

pH	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0
dl. (diamètre zone de lyse) (mm)	0,0	0,0	4,0	5,0	8,0	7,5

Tableau 8 : Influence de la température sur l'activité protéolytique à pH 7,0.

Température °C	10	15	20	25	30	35	40	45
dl. (diamètre zone de lyse) (mm)	-	8,0	16,5	16,5	20,0	20,0	18,0	±

± Activité enzymatique visuellement notable.

efficaces pour introduire la reproduction axesuée et même sexuée d'Ascomycètes, de Phycomycètes, de Zygomycètes et de Basidiomycètes. Cet aspect du problème sera étudié dans le cas de *P. myriotylum*.

P. myriotylum sécrète en milieu de culture une pectine-mytylestérase (PME) avec une activité optimale située aux alentours de pH 7,0 ; des protéases très actives en milieu neutre.

REFERENCES

- BELL D. V. 1967 - Pathogenicity of fungi to peanut seedlings in known fungal culture at four temperatures. Oléagineux 22: 373-375.
- BOMPEIX G. 1972 - Recherches sur la biologie du *P. alba* Guthrie. Thèse Doctorat Es Sciences Naturelles. Université Paris VI, 232 p.
- CSINOS A. S. and HENDRIX J. 1978 - Parasitic and non parasitic pathogenesis of tomato plants by *Pythium myriotylum*. Can. J. Bot 36 : 2334-2339.
- CSINOS A. S. 1979 - Non parasitic pathogenesis of germinating tomato by *Pythium myriotylum*. Can J. Bot. 57 (19) 2059-2063.
- DINGLE J., SOLOMONS G. L. and REID W.W. 1953 - The enzymic degradation of pectine and other polysaccharides. II - Application of "cup-plate" assay to the estimation of enzymes. J. Sci. Food Afric.; 4: 149-155.
- DOW R. L. and LUMSDEN R. D. 1975 - Histopathology of infection of bean with *Pythium myriotylum* compared with other *Pythium* species. Can. J. Bot. 53 (17) 1786-1795.
- FEDERECI F. 1982 - Extracellular enzymatic activities in *Aureobasidium pullulans*. Mycologia 74 (5) 738-743.
- HANKIN L. and ANAGNOSTAKIS S. L. 1975 - The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. Mycologia 67 587-607.
- KITAMOTO Y., SUZUKI A. and FURUKAWA S. 1972 - An action spectrum for light induced primordium formation in a Basidiomycete, *Favolus arcularius* fr. (Armes). Plant Physiol. 49 338-340.
- LEACH C. M. 1963 - The qualitative and quantitative relationship of monochromatic radiation to sexual and asexual reproduction of *Pleospora herbarum*. Mycologia 55 157-163.
- McCOMB E. A. and McCREADY R. M. 1958 - Use of hydroxamic acid

reaction for determining pectinesterase activity.
Stain. Tech. 33: 129-131.

- NZIETCHUENG S. 1978 - Contribution à la connaissance physiopathologique de la gangrène des pommes de terre causée par *Phoma exigua* Desm. Thèse Doctorat (3e cycle), Univ. Paris VI, 100 p.
- NZIETCHUENG S. et BOMPEIX G. 1980 - Etude des enzymes produites *in vitro* et *in vivo* par *Phoma exigua* Desm., agent pathogène de la gangrène des pommes de terre. Rev. Sci. Tech. DGRST (Cameroun) Vol 1 n° 1 p 27-42
- NZIETCHUENG S. 1983a - Etudes sur la pourriture racinaire du macabo (*Xanthosoma sagittifolium*) au Cameroun. I - Symptomatology et étiologie de la maladie. Agron. Trop. 38 (4) 321-325.
- NZIETCHUENG S. 1983b - Etudes sur la pourriture racinaire du macabo (*Xanthosoma sagittifolium*) au Cameroun. II - Quelques aspects de l'épidémiologie et moyens de lutte. Agron. Trop. 38 (4) 326-330.
- NZIETCHUENG S. 1985 - Genre *Xanthosoma* (macabo) et contrainte de production : Cas particulier de la pourriture racinaire causée par *Pythium myriotylum* Drechs. au Cameroun. Thèse Doct. Es. Sciences Nat. Université Yaoundé. 246 P.
- PARK D. 1963 - The ecology of soil borne fungal disease Annu. Rev. Phytopathol. 1: 241-248.
- SCHROTH M. N. and HILDEBRANG D. C. 1964 - Influence of plant exudates on root infecting fungi. Annu. Rev. Phytopathol. 2: 101-132.
- TRIONE E. J. and LEACH C. M. 1969 - Light induced sporulation and sporogenic substances in fungi. Phytopathology 59 1077-1083.
- TUITE J. 1969 - Plant pathological methods. fungi and bacteria Burgess Publishing Compagny U.S.A. 239 P.

