

COMMUNICATION BRÈVE

**Une méthode informatique de regroupement écologique
des champignons imparfaits**

P. ISOARD, M. FEVRE, E. ABRIGEON, J. JACQ et R. FONTANGES

Division de Microbiologie, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées Lyon 69 272,
Cedex I**Arrivé le 24 Mars 1973***A Computerized Method of Ecological Classification of the Imperfect Fungi**

Abstract. 13 strains of imperfect fungi have been studied in Lyon according to a biochemical criteria or growth of the studied species in a minimum but nitrogenous medium containing carbon elements. The inoculation is achieved by Api System ensemencement. The germination of the spores showing the carbon assimilation involves the appearance of a trouble. The intensity of this growth is coded by + or —.

The table of the characteristics for the various strains is studied thanks to a taxonomic method based on a relation of proximity by the Euclidean distance. Every strain is represented mathematically by a point in the characteristics-space. The strains are gathered into classes with regard to their proximity, every class being characterized by its centre of gravity. The similar characteristics are studied thanks to a classification tree or dendrogram.

The programme has regrouped the two species pathogenic fungi on the one hand and the ten strains taken in the atmosphere on the other hand, the telluric one having to be set apart.

L'utilisation conjointe des méthodes informatiques et des techniques biochimiques a conduit, ces dernières années, à des regroupements ou à des classifications nouvelles en de nombreux domaines. Si la bactériologie a particulièrement bénéficié de ces interprétations récentes, peu de travaux, en revanche, ont été réalisés en mycologie. C'est ce que nous avons tenté de faire, tout en mettant au point une certaine méthodologie.

Caractères biochimiques différentiels des champignons microscopiques

Il est relativement aisé de mettre en évidence un certain nombre de critères biochimique en mycologie. Parmi les très nombreuses recherches effectuées sur ce sujet nous pouvons citer les travaux sur les tyrosinases (CAPELLANO et DEMOULIN 1969, BOLDIN 1952), les laccases (BOLDIN 1953), les lecithinases (SIERRA 1957) et les diastases amylolytiques (BOLDIN 1953).

Nous avons, pour notre part, préféré une technique d'auxanogramme se rapprochant de la méthode de DROUHET (1952).

* L'adresse: 108 boulevard Pinel, 69272 Lyon Cedex I, France.

Troize souches de champignons imparfaits (ou Deuteromycètes) ont été utilisés: 2 espèces pathogènes pour l'homme, *Ctenomyces interdigitalis* et *Microsporum canis*, une souche tellurique phytopathogène: *Rhizoctonia solani* et 10 souches de champignons que nous avons prélevés

TABLEAU 1

TEST DE CROISSANCE

	d(—)arabinose	l(+)arabinose	ribose	d(+)xylose	l(—)xylose	galactose	d(+)glucose	d(+)mannose	l(—)sorbose	rhamnose	n. acetyl glucosamine	d(+)cellobiose	saccharose	d(+)trehalose
<i>Ctenomyces interdigitalis</i>	+	±	±	±	+	±	+	+	—	±	+	+	+	+
<i>Microsporum canis</i>	±	±	+	+	+	+	—	+	—	+	+	±	+	+
<i>Alternaria</i> sp.	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Fusarium</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Monilia</i> sp.	—	+	+	+	—	+	+	+	—	—	+	+	+	+
<i>Penicillium roquefortii</i>	—	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavipes</i>	—	+	+	+	—	+	+	+	—	±	±	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	—	+	+	+	—	+	+	+	±	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus glaucus</i>	—	+	—	+	—	+	+	+	±	±	—	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	—	+	—	+	—	+	+	+	+	±	±	+	+	+
<i>Aspergillus penicilloides</i>	—	+	+	+	±	—	+	+	+	±	+	+	+	+
<i>Aspergillus candidus</i>	—	+	+	+	±	±	+	+	±	±	+	+	+	+
<i>Rhizoctonia solani</i>	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+

Le critère biochimique que nous avons utilisé est donc le développement de l'espèce étudiée sur un milieu minimum azoté (sulfate d'ammonium à 2,55 g/l + solution d'oligoéléments de Berthelot à 50 ml ‰), additionné d'une source de carbone stérilisée par filtration. Cette source de carbone était représentée par des mannosides, des trisaccharides, des polysaccharides, des polyols et des glucosides.

Les différents milieux sont répartis dans des microcupules en rhodoïd, stérilisées pendant 24 h par exposition à un rayonnement monochromatique ultra-violet.

L'ensemencement est réalisé à l'aide d'une suspension de spores (conidies ou arthrospores). Celle-ci est obtenue en ajoutant à 100 ml de la solution minérale stérile une goutte d'alcoylsulfate secondaire à 21 ‰, puis en versant 10 ml de ce mélange sur une culture de 5 jours en gélose inclinée.

Par agitation, les spores rendues mouillables par l'agent tensioactif sont mises en suspension, ce qui permet l'inoculation des microcupules.

Les cultures effectuées en ambiance humide à 25 °C sont lues après 5 jours d'incubation.

La germination des spores, traduisant l'assimilation de la source de carbone, entraîne la production d'un mycélium et conduit à la formation d'un voile, plus ou moins important à la surface de la cupule. Suivant l'importance de ce développement, on note + ou ±.

Nous avons résumé les résultats obtenus dans le tableau 1 ou test de croissance. Ce dernier, appliqué à 13 souches de champignons microscopiques, comporte 37 éléments nutritionnels pour variables.

Pour interpréter ce test, nous avons utilisé une méthode d'analyse taxonomique. Celle-ci se propose de répartir l'ensemble des souches de champignons en plusieurs groupes ou classes. Le modèle centroïde, retenu pour cette étude, réalise des regroupements à partir d'une relation d'analogie basée sur une fonction de proximité. Dans notre application, nous avons employé la distance euclidienne généralisée aux espaces définis par un grand nombre de

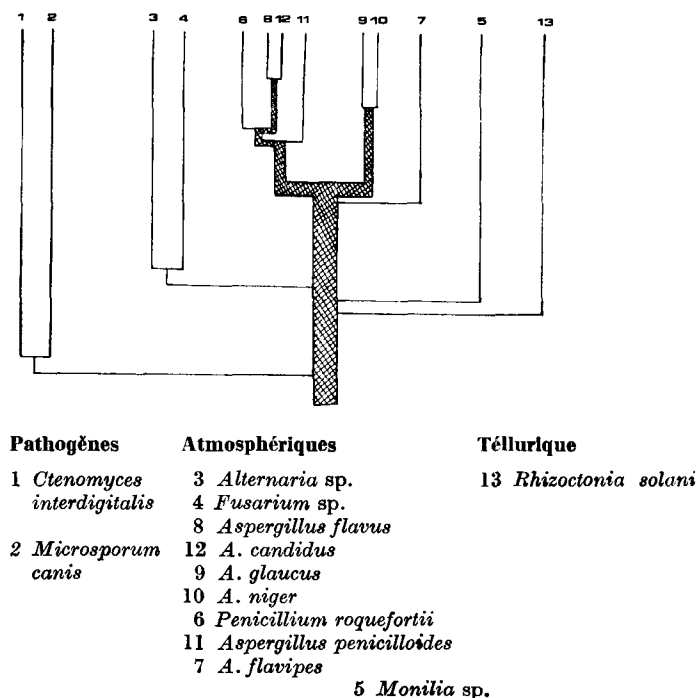


Fig. 1. Dendrogramme de champignons.

dimensions et calculée sur l'espace des variables réduites. Cette distance mesure l'écart qui existe entre deux variétés, dans cet espace.

Chaque souche va être ainsi représentée mathématiquement par un point dans un espace à 37 dimensions. Au cours du processus taxonomique, les variétés de champignons sont réunies en classe en fonction de leur proximité. A chaque étape, les classes formées par plusieurs souches sont décrites par leur centre de gravité ou barycentre. Enfin, les analogies entre les différents groupes obtenus sont étudiées grâce à un arbre de classification ou dendrogramme (Fig. 1).

Le tronc commun est représenté par le sous-groupe *Aspergillus flavus* et *candidus*, proche de *Penicillium roquefortii* et *penicilloides*, l'ensemble étant relié au sous-groupe *Aspergillus glaucus* et *niger*.

Alternaria sp. et *Fusarium* sp. forment une unité centrée de façon assez proche sur la branche principale. Puis, *Monilia* sp. et *Rhizoctonia solani* se greffent indépendamment encore plus loin du centre et enfin *Ctenomyces interdigitalis* et *Microsporum canis* sortent ensemble au niveau des aires très extérieures de l'axe principal.

Nous remarquons que les points représentatifs sont distribués de façon assez uniforme dans la région centrale du profil qui définit, lui-même, le modèle centroïde de cette étude.

Il faut noter le regroupement des espèces atmosphériques et l'éloignement des espèces pathogènes pour l'homme d'une part, pour le végétal d'autre part.

Ce résultat nous conduit à penser que les méthodes que nous avons décrites, peuvent nous donner un « biotype » des espèces envisagées. L'intérêt écologique et épidémiologique d'une telle étude est évident. Celle-ci permet en effet la détermination des « espèces frontalières », pouvant être à la fois présentes dans l'atmosphère et pathogènes pour l'homme.

Bibliographie

- CAPELLANO, A., DEMOULIN, V.: Nouvelles recherches sur la distribution des phénoloxydases et des peroxydases chez les gastéromycètes. — Bull. Soc. Mycol. **85** : 251—254, 1969.
- BOIDIN, J.: Recherche de la tyrosinase et de la laccase chez les basidiomycètes. — Intérêt taxonomique. — Rev. Mycol. **16** : 173—197, 1952.
- BOIDIN, J.: Essai biotaxonomique sur les basidiomycètes. — Rev. Mycol. **6** : 1953.
- DROUHET, J.: Tests de croissance de certains dermatophytes. — Ann. Inst. Pasteur **82** : 337—347, 1952.
- JACQ, J.: Contribution à l'étude de la formation et de l'identification des classes en biologie. — Thèse Doct. Sci., Lyon 1971.
- SIERRA, G.: Méthode simple pour déceler l'activité lipolytique des microorganismes. — Ant. Van Leeuwen. **23** : 241, 1957.