

Contribution à l'étude de la composition chimique des substances secrétées par *Pythium diclinum* en milieu liquide
Contribution to the study of the chemical composition of *Pythium diclinum* secretions in liquid media

Amal El Androusse, Aicha El Aissami, Rabia Checti, Omar Benkemmar and Mohamed Lamghari

Volume 23, Number 2, 2010

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/039908ar>

DOI: <https://doi.org/10.7202/039908ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN

0992-7158 (print)

1718-8598 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

El Androusse, A., El Aissami, A., Checti, R., Benkemmar, O. & Lamghari, M. (2010). Contribution à l'étude de la composition chimique des substances secrétées par *Pythium diclinum* en milieu liquide. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 23(2), 173–179. <https://doi.org/10.7202/039908ar>

Article abstract

Pythium diclinum, isolated for the first time from Moroccan waters, produces several volatile metabolites with very diverse properties including, for example, 4-hydroxybenzaldehyde which is involved in the pathogenesis of several other micro-organisms, and tridecane which is a pollutant. Other detected compounds include the odoriferous molecules such as cyclotetradecane, 2 ethylhexanol and benzaldehyde, the presence of which suggests a possible contribution of Oomycetes to odour and taste problems in drinking waters. This study also showed that *Pythium* species are pathogens for several crops, owing to their production of enzymes and toxins. They are also able to produce beneficial compounds, such as myristic acid and phenylethanol, which are used particularly in the cosmetic, pharmaceutical and agro-alimentary industries.

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES SUBSTANCES SECRÉTÉES PAR *PYTHIUM DICLINUM* EN MILIEU LIQUIDE

Contribution to the study of the chemical composition of Pythium diclinum secretions in liquid media

AMAL EL ANDROUSSE^{1*}, AICHA EL AISSAMI¹, RABIA CHECT², OMAR BENKEMMAR¹, MOHAMED LAMGHARI³

¹Laboratoire de Botanique, Département de Biologie, Faculté des Sciences Rabat, Maroc

²Laboratoire de Chimie organique, Département de Chimie, Faculté des Sciences Rabat, Maroc

³Laboratoire central de l'office national de l'eau potable (ONEP), Rabat

Reçu le 22 mars 2007, accepté le 21 avril 2008

RÉSUMÉ

Pythium diclinum isolé pour la première fois des eaux marocaines, possède l'aptitude de produire plusieurs métabolites volatils qui ont des propriétés très diverses. Commençons par le 4-hydroxybenzaldéhyde qui est impliqué dans la pathogenèse de plusieurs autres microorganismes et le tridécano qui est un polluant. D'autres composés détectés sont des odoriférants tels le cyclotétradécane, l'éthyl-2-hexanol et le benzaldéhyde, ce qui suggère une éventuelle contribution des Oomycètes aux problèmes d'odeurs et de goût dans les eaux potables. Cette étude a montré également que les *Pythium* sont des agents pathogènes pour plusieurs cultures par la production des enzymes et des toxines. Elles peuvent également produire des composés bénéfiques, notamment l'acide myristique et le phényléthanol utilisés particulièrement en cosmétique, dans les industries pharmaceutique et agro-alimentaire.

Mots clés: *Pythium diclinum*, composés volatils, retenue du barrage, pollution.

ABSTRACT

Pythium diclinum, isolated for the first time from Moroccan waters, produces several volatile metabolites with very diverse properties including, for example, 4-hydroxybenzaldehyde which is involved in the pathogenesis of several other micro-organisms, and tridecane which is a pollutant. Other detected compounds include the odoriferous molecules such as cyclotetradecane, 2 ethylhexanol and benzaldehyde, the presence of which suggests a possible contribution of Oomycetes to odour and taste problems in drinking waters. This study also showed that *Pythium* species are pathogens for several crops, owing to their production of enzymes and toxins. They are also able to produce beneficial compounds, such as myristic acid and phenylethanol, which are used particularly in the cosmetic, pharmaceutical and agro-alimentary industries.

Key words: *Pythium diclinum*, volatile compounds, pollution, dam reservoir.

*Auteur pour correspondance :

Courriel : elandrousse_amal@yahoo.fr
elaissami@fsr.ac.ma

1. INTRODUCTION

Les écosystèmes aquatiques sont le siège d'une vie foisonnante, tant animale que végétale, qui joue un rôle primordial dans le fonctionnement de ces milieux. Parmi les microorganismes peuplant les eaux douces, *Pythium* est l'un des plus actifs.

Plusieurs études ont rapporté la capacité de ce genre à produire des composés de différentes natures. Les enzymes y occupent une place très importante, tels que les pectinylases et les cellulases produites par la plupart des *Pythium* phytopathogènes, notamment *P. debaryanum*, *P. aphanidermatum*, *P. graminicola*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. scleroteichum* et *P. splendens* (BELL et WALKER, 2004; CHEN *et al.*, 1998; GUPTA, 1956; NEMEC, 1974; PLAATS-NITERINK, 1981). D'autres enzymes sont également produites tels que la ceramide aminoethylphosphonate par *P. prolatum* (WASSEF et HANDRIX, 1976) et l'isocitrate dehydrogenase par *P. ultimum* (KIM *et al.*, 1996). D'autres composés comme les phytotoxines ont été isolés à partir de plusieurs espèces. Notons, à titre d'exemple, l'acide indole 3-acétique et le tryptophole produits par *P. ultimum* et *P. Group F* (REY *et al.*, 2001). Ajoutons à tout cela plusieurs acides gras d'importance économique considérable produits par *P. ultimum* et *P. irregulare*, notamment l'acide eicosapentaénoïque (Oméga 3) et l'acide arachidonique (GANDHI et WEETE, 1991; OBRIEN *et al.*, 1993; STREDANSKY *et al.*, 2000; ZHU, 2002).

La littérature reporte l'analyse de ces métabolites principalement par la Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) (MICHEL, 2001), l'électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du laurylsulfate de sodium (SDS PAGE) (CHEN *et al.*, 1998), la Chromatographie sur Couche Mince (CCM) (WASSEF et HANDRIX, 1976) et autres, cependant très peu d'études ont fait appel à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (ZHU, 2002).

Se basant surtout ce qui précède, nous nous sommes proposés de faire une étude sur les métabolites volatils de *P. diclinum*, sachant que ce dernier a été isolé à partir d'une retenue de barrage destinée en grande partie à la production d'eau potable.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Culture du champignon

Pythium diclinum a été isolé pour la première fois à partir d'une retenue de barrage destinée en grande partie à la production d'eau potable. Il a été cultivé dans deux milieux liquides différents : un milieu riche, PYG (Peptone Yeast Glucose) (FULLER et JAWORSKI, 1987) et un milieu pauvre, PCB (Potato Carrot Broth) (PLAATS-NITERINK, 1981).

500 mL de chacun des deux milieux sont inoculés avec huit rondelles de 5 mm de diamètre (ZHU, 2002) prélevées d'une jeune colonie de l'espèce à tester. Des milieux non inoculés servent de témoins. Les cultures liquides sont incubées sous agitation à 90 tours par minute et une température de 25 ± 1 °C.

Après 20 jours d'incubation, les cultures sont passées à travers des filtres de verre fritté de porosité n° 2. Les filtrats bruts ainsi obtenus sont ensuite soumis à l'extraction.

2.2 Extraction

L'extraction a été faite avec deux solvants organiques, le chloroforme et l'acétate d'éthyle, dans le but d'extraire le plus grand nombre de composés (EL AISSAMI *et al.*, 1999).

Un volume de 500 mL de chacun des filtrats est traité trois fois de suite par 500 mL du solvant. Les trois phases organiques recueillies sont évaporées à sec à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait obtenu est repris ensuite dans 1 mL du solvant.

2.3 Analyse des extraits de *Pythium* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM):

Les extraits sont analysés par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un appareil de type HP 6890 équipé d'une colonne capillaire modèle HP-5MS (5 % Phenyl Methyl Siloxane).

La température du four étant programmée comme suit : 2 minutes à 80 °C suivies d'une première montée jusqu'à 180 °C à raison de 10 °C•min⁻¹, stabilisation à cette température pendant 2 min puis d'une deuxième montée jusqu'à 250 °C à raison de 5 °C•min⁻¹. L'injecteur est porté à une température fixe de 260 °C. Le volume injecté est de 1 µL et le gaz vecteur est l'hélium.

L'identification des composés a été réalisée par couplage du chromatographe en phase gazeuse à un spectromètre de masse. L'appareil est couplé à un système informatique gérant trois bibliothèques de spectres de masse : NIST98, HPPEST et PMW_TOX2. Les composés majoritaires ont été comparés à des produits de références.

3. RÉSULTATS

3.1 Milieu PYG

L'extrait chloroformique de *P. diclinum* cultivé sur milieu liquide PYG a montré plusieurs pics majoritaires. L'identification des spectres de masse a montré huit composés dont le plus important est le cyclotétradécane suivi par l'acide

myristique. Les six autres composés sont deux acides, un alcool, un aldéhyde et une cétone, leurs abondances sont comprises entre 3,32 % et 9,1 %.

L'extrait d'acétate d'éthyle renferme douze composés de nature différente. Sept des produits détectés sont des hydrocarbures dont un est insaturé. Il y a également trois alcools, un ester et un aldéhyde. Le composé majoritaire est le tridécane suivi du phthalate de diisooctyle et du dodécane avec des abondances respectives de 100 %, 46,76 % et 32,06 %. Les autres composés détectés ont des abondances faibles comprises entre 3,54 % et 18,33 % (Tableau 1).

3.2 Milieu PCB

L'extrait chloroformique dans le milieu PCB montre peu de composés, il faut noter toutefois que, parmi les composés identifiés, trois sont majoritaires, le phthalate de diisooctyle, le cyclotétradécane et le tétradécane. Le tritétracotane et l'orthoxénol ont également été détectés mais avec de très faibles abondances.

L'analyse de l'extrait d'acétate d'éthyle montre qu'il renferme treize composés. Leurs spectres de masse nous ont permis de les identifier. Six des produits détectés sont des

Tableau 1. Composition chimique des extraits obtenus par les deux solvants (chloroforme et acétate d'éthyle), des filtrats de culture des trois *Pythium* dans le milieu liquide PYG.
Table 1. Chemical composition of the extracts obtained by extraction with two solvents (ethyl acetate and chloroform) of the culture filtrates from the three *Pythium* species grown in liquid PYG medium.

Composés	<i>P. diclinum</i>	
	Chloroforme	Acétate d'éthyle
Cyclotétradécane	100 %	---
Tridécane	---	100 %
Phthalate de diisooctyle	---	46,76 %
Acide myristique	50,53 %	---
Dodécane	---	32,06 %
4-hydroxybenzaldéhyde	8,26 %	10,45 %
Acide 2-méthylbutanoïque	9,10 %	---
Hexahydro-pyrrolo [1,2a]pyrazine-1,4-dione	9,01 %	---
Tritétracotane	---	18,33 %
Tétradécane	---	16,75 %
2-(2-butoxyethoxy)ethanol	---	11,74 %
Tétraméthyl-2,6,11,15-héxadécane	---	12,55 %
1-héptadécène	---	9,16 %
Phényléthanol	5,32 %	4,67 %
9-méthylnonadécane	---	8,08 %
Acide benzoïque	3,32 %	---
Benzoate de butyle	5,29 %	---
4-nitrophénol	---	3,54 %

hydrocarbures saturés, dont deux monocycliques, notamment le cyclooctane et le cyclotétradécane qui est le composé majoritaire. Les autres composés sont de natures différentes, trois alcools dont l'abondance varie entre 3,65 % et 10,09 %, un amide (12,81 %), un aldéhyde (7,39 %), un anhydride (6,64 %) et une cétone (3,75 %) (Tableau 2).

Parmi ces composés, citons le dodécane, le tridécane, le tétradécane, le cyclotétradécane et le phthalate de diisooctyle qui sont détectés aussi bien dans le milieu PYG que dans le milieu PCB (Tableaux 1 et 2). Notons également que quatre de ces métabolites, notamment le tridécane, le cyclotétradécane, le phthalate de diisooctyle et l'acide myristique, sont très abondants.

En comparant les extraits (par le chloroforme et l'acétate d'éthyle) du *Pythium* cultivé sur milieux PYG et PCB, on remarque que la culture de *P. diclinum* en milieu PYG présente beaucoup plus de produits. En effet, le nombre des composés secrétés dans ce milieu et extraits par les deux solvants est de 18.

Par ailleurs, en comparant l'extrait chloroformique et celui de l'acétate d'éthyle dans chacun des deux milieux PYG (Tableau 1) et PCB (Tableau 2), nous constatons que l'extrait chloroformique renferme moins de composés.

4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'étude des cultures de *P. diclinum*, sur milieux liquides PYG et PCB, a permis d'isoler et d'identifier plusieurs composés volatils. Un grand nombre de ces composés est obtenu par extraction à l'acétate d'éthyle, le nombre de composés extraits par le chloroforme étant réduit. Ces résultats concordent avec ceux de EL AISSAMI *et al.* (1999) qui ont démontré une meilleure extraction des composés volatils de *Verticillium alboatrum* par l'acétate d'éthyle.

Les métabolites secondaires produits par *Pythium spp* ont fait l'objet de plusieurs études. Il s'agit le plus souvent d'enzymes hydrolytiques tels que les pectinlyases, les polygalacturonases et les cellulases (CHEN *et al.*, 1998; GUPTA, 1956; NEMEC, 1974) et également des toxines qui contribuent à la pathogenèse de ces espèces comme l'acide indole 3-acétique et le tryptophole (REY *et al.*, 2001). Les méthodes d'analyses utilisées dans ces cas sont principalement la Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC), l'électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du laurylsulfate de sodium (SDS PAGE), la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), etc., mais très peu d'études ont fait appel à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (ZHU, 2002).

Tableau 2. Composition chimique des extraits obtenus par les deux solvants (chloroforme et acétate d'éthyle), des filtrats de culture des trois *Pythium* dans le milieu liquide PCB.

Table 2. Chemical composition of the extracts obtained by extraction with two solvents (ethyl acetate and chloroform) of the culture filtrates from the three *Pythium* species grown in liquid PCB medium.

Composés	<i>P. diclinum</i>	
	Chloroforme	Acétate d'éthyle
Phthalate de diisooctyle	100 %	---
Cyclotétradécane	18,49 %	55,83 %
Anhydride phthalique	---	6,64 %
Dodécane	---	13,73 %
Acétanilide	---	12,81 %
Tritétracontane	4,91 %	4,25 %
Tridécane	---	11,87 %
Tétradécane	5,70 %	7,00 %
Orthoxénol	4,84 %	10,09 %
Benzaldéhyde	---	7,39 %
2-éthylhexanol	---	4,74 %
Cyclooctane	---	4,01 %
2-aminocyclohepta-2,4,6-trién-1-one	---	3,75 %
Phényléthanol	---	3,65 %
Phthalate de diisooctyle	100 %	---
Cyclotétradécane	18,49 %	55,83 %
Anhydride phthalique	---	6,64 %
Dodécane	---	13,73 %

Les résultats de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) des extraits de *Pythium* nous ont permis de constater sa capacité à sécréter en culture pure un grand nombre de composés volatils.

Parmi les métabolites identifiés, nous citons :

Le 4-hydroxybenzaldéhyde qui a été reporté comme l'un des métabolites secondaires de plusieurs microorganismes phytopathogènes (MICHEL, 2001). Citons à titre d'exemple, *Phycomyces blakesleeanus* (BARRERO *et al.*, 1996), *Streptomyces rimosus* (CATLIN *et al.*, 1968), *Ophiostoma crassivaginata* (AYER et TRIFONOV, 1995) et *Ceratocystis clavigera*, *C. ips*, *C. huntii* (AYER *et al.*, 1986) responsables de la maladie des taches bleues des pins. Citons aussi des champignons impliqués dans la maladie de l'esca (vigne) (POLIART, 2000). Il s'agit de *Phaeoacremonium chlamydosporum*, *P. aleophilum* et *Fomitiporia punctata*. Et également, *Ophiostoma novo-ulmi*, pathogène de l'orme (MICHEL, 2001).

L'éthyl-2-hexanol et le **benzaldéhyde** sont des composés polluants des milieux aquatiques et sont responsables d'odeurs dans l'eau potable (AWWA, 1989).

Toutefois, il faut noter que plusieurs des composés identifiés sont d'un grand intérêt économique. Notons comme exemple :

L'acide myristique, composé naturel présent dans les produits laitiers et les graisses animales et végétales. Il est utilisé en cosmétique et en industrie pharmaceutique (MERCK, 1996). Consommé à dose physiologique, l'acide myristique aurait un effet favorable sur le profil lipidique comme le montre une étude réalisée chez le hamster (LOISON *et al.*, 2002). Récemment, il a été également identifié parmi les acides gras responsables des arômes de distillation de l'extrait des prunes (TESEVIC *et al.*, 2005). La production de cet acide gras a été également reportée chez une autre espèce de *Pythium* : *P. irregulare* (ZHU, 2002). De même, d'autres acides gras d'une grande importance comme l'acide indole 3-acétique (Oméga 3), l'acide δ -linoléique et l'acide arachidonique ont été également détectés dans les cultures des espèces *P. ultimum* et *P. irregulare* (GANDHI et WEETE, 1991; O'BRIEN *et al.*, 1993; STINSON *et al.*, 1991; STREDANSKY *et al.*, 2000; ZHU, 2002).

L'acetanilide ou N-phénylacétamide, composé doté de plusieurs propriétés pharmacologiques (analgésique, antipyrétique, etc.) (MERCK, 1996).

Le phényléthanol connu également par le 2-phenylethanol, le β -phenylethanol ou le benzyl carbitol. C'est un antimicrobien, un antiseptique et un désinfectant, il est aussi utilisé comme une essence et un conservateur aromatique dans la pharmacie et la parfumerie. ETSCHMANN *et al.* (2002) et FABRE *et al.*

(1998) ont rapporté que ce métabolite peut être produit par les levures, notamment *Kluyveromyces marxianus*. De même, il a été identifié parmi les métabolites odoriférants produits par les actinomycètes aquatiques.

Le cyclotétradécane, détecté parmi les métabolites volatils responsables des arômes du distillat des prunes (TESEVIC *et al.*, 2005) et l'acide 2-méthylbutanoïque, agent aromatisant qui entre dans la composition de plusieurs produits alimentaires et cosmétiques et également produit naturellement présent dans le café, le cacao, les fraises et les framboises (MERCK, 1996).

Le tridécane secrété également par plusieurs basidiomycètes (FONS *et al.*, 2003), notamment les genres *Cantharellus*, *Craterellus* et *Hydnum*.

Aussi, nous avons remarqué que certains métabolites secrétés sont utilisés comme antimicrobiens comme **l'orthoxénol**, agent désinfectant et antimicrobien utilisé dans la fabrication de pesticides.

On peut donc conclure de cette étude que plusieurs des métabolites volatils secrétés par *Pythium* ont des propriétés odoriférantes, ce qui peut suggérer éventuellement la contribution des Oomycètes à côté des actinomycètes et des cyanobactéries aux problèmes d'odeurs et de goût dans les eaux potables. Nous avons aussi constaté la présence dans les extraits du *Pythium* d'un composé impliqué dans la pathogenèse de plusieurs microorganismes. Et enfin, cette étude nous a permis de découvrir que *Pythium*, qui est un agent redoutable pour plusieurs cultures par ses enzymes (CHEN *et al.*, 1998; GUPTA, 1956; NEMEC, 1974) et ses toxines (REY *et al.*, 2001) est capable de produire des composés bénéfiques, utilisés particulièrement en cosmétique et dans les industries pharmaceutique et agro-alimentaire.

5. REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié de subventions dans le cadre du Programme marocain de recherches scientifiques PROTARS (I n° PIT1/28), d'une convention avec le Laboratoire central de l'Office National de l'Eau Potable de Rabat et d'une collaboration franco-marocaine (action intégrée n° MA/02/51).

6. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AYER W.A., L.M. BROWNE, M.C. FENG, H. ORSZANSKA et H. SAEEDI-GHOMI (1986). The chemistry of the blue

- stain fungi. Part1. Some metabolites of *Ceratocystis* species associated with mountain pine beetle infected Iodgepole pine. *Can. J. Chem.*, 64, 904-909.
- AYER W.A. et L.S. TRIFONOV (1995). Phenolic and polyketide metabolites of the aspen blue stain fungus *Ophiostoma crassivaginata*. *Phytochem.*, 38, 371-372.
- AWWA (American Water Works Association Research Foundation Lyonnaise des eaux) (1989). Identification and treatment of tastes and odors in drinking water. *AWWA*, 390p.
- BARRERO A., J.E. OLTRA et J.A. POYATOS (1996). Acidic metabolites from *Phycomyces blakesleeanus*. *Phytochem.*, 42, 1427-1433.
- BELL C. et T. WALKER (2004). Production of cellulase by *Pythium irregulare* growing on Flax shive substrate. Dans : *3rd Annual SPRI Research Poster*, Friday, July 16, Hendrix Student Center, Clemson University, Clemson, SC, États-Unis.
- CATLIN E.R., C.H. HASSALL et B.C. PRATT (1968). Biosynthesis of phenols. XIV. Isolation of some shikimic acid-derived metabolites from mutant strains *Streptomyces rimosus* unable to produce oxytetracycline. *Biochim. Biophys. Acta*, 156, 109-118.
- CHEN W.C., H.J. HSIEH et T.C. TSENG (1998). Purification and characterization of a pectin lyase from *Pythium splendens* infected cucumber fruits. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 39, 181-186.
- EL AISSAMI A., H.E. AMRI, N. MRABET, R. CHEKTI et H. LAHLOU (1999). Contribution to the study of the chemical composition of *Verticillium albo-atrum* secretions in liquid media. *Mycopathol.*, 144, 93-95.
- ETSCHMANN M., W. BLUEMKE, D. SELL et J. SCHRADER (2002). Biotechnological production of 2-phenylethanol. *Appl. Microbiol. Biot.*, 59, 1-8.
- FABRE C.E., P.J. BLANC et G. GOMA (1998). Production of 2-phenylethyl alcohol by *Kluyveromyces marxianus*. *Biotechnol. Prog.*, 14, 270-274.
- FONS E., S. RAPIOR, G. EYSSARTIER et J.M. BESSIÈRE (2003). Substances volatiles dans les genres *Cantharellus*, *Craterellus* et *Hydnum*. *Cryptogamie Mycol.*, 24, 367-376.
- FULLER M. et A. JAWORSKI (1987). Zoosporic fungi in teaching and research. SOUTHEASTERN PUBLISHING CORP. (Éditeur), Athens, Georgia, 303 p.
- GANDHI S.R. et J.D. WEETE (1991). Production of the polyunsaturated fatty acids by fungus *Pythium ultimum*. *J. Gen. Microbiol.*, 137, 1825-1830.
- GUPTA S.C. (1956). Studies in the physiology of parasitism: The production of pectolytic enzymes by *Pythium de Baryanum* Hesse. *Ann. Bot.*, 20, 179-190.
- KIM H., Z. MOZAFFAR et J.D. WEETE (1996). A dual cofactor-specific isocitrate dehydrogenase from *Pythium ultimum*. *Can. J. Microbiol.*, 42, 1241-1247.
- LOISON C., F. MENDY, C. SEROUGNE et C. LUTTON (2002). Increasing amounts of dietary myristic acid modify the plasma cholesterol level and hepatic mass of Scavenger receptor BI without affecting bile acid biosynthesis in hamsters. *Reprod. Nutr. Dev.*, 42, 101-114.
- MERCK INDEX (1996). *An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. Twelfth Edition. WHITEHOUSE STATION (Éditeur), New Jersey USA.
- MICHEL A. (2001). *Métabolites secondaires d'Ophiostoma novo-ulmi et de Ceratocystis fimbriata sp. platani, pathogènes de l'orme et du platane*. Thèse de Doctorat Ès-Sciences, Univ. de Neuchâtel, Paris, France, 206 p.
- NEMEC S. (1974). Production of pectinases and cellulase by six *Pythium* species isolated from necrotic strawberry roots. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, 52, 283-289.
- OBRIEN D.J., M.J. KURANTZ. et R. KWOCZAK (1993). Production of eicosapentaenoic acid by the filamentous fungus *Pythium irregulare*. *Appl. Microbiol. Biot.*, 40, 211-214.
- PLAATS-NITERINK A.J. Van der (1981). Monograph of the genus *Pythium*. Baarn, Centraalbureau voor Schimmelcultures. *Stud. Mycol.*, 21, 1-242.
- POLIART C. (2000). *Isolement et caractérisation de métabolites secondaires issus de champignons impliqués dans la maladie de l'esca*. Thèse de Doctorat Ès-Sciences, Univ. de Neuchâtel, Paris, France, 175 p.
- REY P., S. LEUCART, H. DÉSILETS, R.R. BÉLANGER, J.P. LARUE et Y. TIRILLY (2001). Production of Indole-3-acetic acid and Tryptophol by *Pythium ultimum* and *Pythium Group F*: Possible role in pathogenesis. *Eur. J. Plant Pathol.*, 107, 895-904.
- STINSON E.E., R. KWOCZAK et M.J. KURANTZ (1991). Effect of cultural conditions on production

of eicosapentaenoic acid by *Pythium irregulare*. *J. Ind. Microbiol.*, 8, 171-178.

STREDANSKY M., E. CONTI et A. SALARIS (2000). Production of polyunsaturated fatty acids by *Pythium ultimum* in solid-state cultivation. *Enzyme Microb Technol.*, 26, 304-307.

TEŠEVIĆ V., N. NIKIĆEVIĆ, A. JOVANOVIĆ, D. DJOKOVIĆ, L. VUJISIĆ, I. VUČKOVIĆ et M. BONIĆ, (2005). Volatile components of plum brandies. *Food Technol. Biotechnol.*, 43, 367-372.

WASSEF M.K. et J.W. HANDRIX (1976). Ceramide aminoethylphosphonate in the fungus *Pythium prolatum*. *Biochim. Biophys. Acta*, 18, 172-178.

ZHU H. (2002). *Utilization of rice bran by Pythium irregulare for lipid production*. Thesis for the degree of Master of Science in Biological and Agricultural Engineering, Louisiana State University, Louisiana, USA, 79 p.