

# CRYPTOGAMIE

## MYCOLOGIE

TOME 13 Fascicule 4 1992

T. 13 - 4

-2- 1333



# CRYPTOGAMIE

## Mycologie

ANCIENNE REVUE DE MYCOLOGIE  
Fondée par R. Heim en 1936

Directeur scientifique: Mme J. Nicot  
Secrétaire de Rédaction: Mme M.C. Boisselier  
Editeur: A.D.A.C. - 12 rue Buffon F-75005 Paris.

### BUREAU DE RÉDACTION

**Ecologie et Phytopathologie:** G. Durrieu (Laboratoire Botanique et Forestier, 39 Allées Jules Guesde, F-31062 Toulouse Cedex) - **Systématique:** P. Joly (Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, F-75005 Paris) - **Physiologie:** G. Manachère (Laboratoire de Mycologie, Université de Lyon I, 43 bd du 11 Novembre 1918, F-69622 Villeurbanne Cedex) - **Cytologie:** D. Zickler (Laboratoire de Génétique, Université Paris Sud, Centre d'Orsay, Bât. 400, F-91405 Orsay) - **Autres spécialités:** M.F. Roquebert (Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, F-75005 Paris).

### COMITÉ DE LECTURE

J. Boidin (Lyon), J. Chevaugne (Orsay), J. Fayret (Toulouse), W. Gams (Baarn), G.L. Hennebert (Louvain-la-Neuve), Ch. Montant (Toulouse), Cl. Moreau (Brest), D.N. Pegler (Kew), B. Sutton (Kew), G. Turian (Genève).

### MANUSCRITS

Les manuscrits doivent être adressés directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Le Bureau peut demander l'avis d'un lecteur, même s'il n'appartient pas au Comité de Lecture. Bien qu'étant une revue de langue française, les articles rédigés en anglais, allemand, italien et espagnol sont acceptés. Les disquettes de micro-ordinateur (IBM, IBM compatible, et MacIntosh) sont vivement souhaitées. Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le fascicule 1 de chaque tome. Les auteurs recevront 25 tirés-à-part gratuits; les exemplaires supplémentaires seront à leur charge.

### TARIFS DES ABONNEMENTS Tome 14, 1993

CRYPTOGAMIE comprend trois sections: Algologie, Bryologie-Lichénologie, Mycologie.

Pour une section: France: (326 F ht) 332,85 F ttc - Étranger: 357,00 F  
Pour les 3 sections: France: (918 F ht) 937,28 F ttc - Étranger: 1000,00 F

Paiement par chèque bancaire ou postal à l'ordre de:

A.D.A.C. - CRYPTOGRAMIE (CCP La Source 34 764 05 S),  
adressé à: A.D.A.C. 12, rue Buffon, F-75005 Paris.

CRYPTOGAMIE, Mycologie est indexé par *Biological Abstracts*, *Current Contents*,  
Publications bibliographiques du CNRS (Pascal).

Pr 6103 B

# CRYPTOGAMIE

## MYCOLOGIE

TOME 13 FASCICULE 4 1992

### CONTENTS

OLUFOLAJI D.B. - Effects of aeration, light and temperature on spore germination and germ tube growth of <i>Curvularia pallescens</i> Boed. ....	259
HEYKOOP M., ESTEVE-RAVENTOS F. y MORENO G. - Some interesting Agaricales collected in the province of Guadalajara (Spain). (In Spanish) .....	265
PONCET S., MONTROCHER R. and COUBLE A. - Electrophoretic isoenzyme patterns of some yeast strains used in wine industry. ....	283
MORENO G., ILLANA C. and HEYKOOP M. - Spanish Myxomycetes. VI. Four interesting species belonging to the Stemonitales. ....	295
LÉGER J.C. et LANQUETIN P. - <i>Hymenochaete pseudoadusta</i> nov. sp. (Basidiomycetes Aphyllphorales): description and cultural characteristics. (In French) .....	305
CHINNARAJ S. - Higher marine fungi of Lakshadweep Islands and a note on <i>Quintaria lignatilis</i> . ....	313
HARIDY M.S.A. - Yeast flora of raw milk in El-Minia city, Egypt. ....	321
BENKHEMMAR O., LAHLOU H., BOMPEIX G., DUPONT J., EL MNIAI H. et BOUBEKRI C. - Fungal contamination of dessert grapes held in cold storage. (In French) .....	327
Bibliography .....	337
Index of volume 13 .....	342



Bibliothèque Centrale Muséum



3 3001 00226850 5 Source: MNHN, Paris



## EFFECTS OF AERATION, LIGHT AND TEMPERATURE ON SPORE GERMINATION AND GERM TUBE GROWTH OF *CURVULARIA PALLESCENS* BOED.

D.B. OLUFOLAJI

Department of Crop Production, Federal University of Technology,  
P.M.B. 704, Akure, Nigeria.

**ABSTRACT** - Spore germination and germ tube growth of *Curvularia pallescens* were studied under various light and dark regimes, by observing spores in suspension drops on glass slides without coverslips, with normal coverslips, or with shimmed coverslips. These studies were carried out at temperatures: 10, 15, 20, 25 and 30°C. Light (1,133 lux) good aeration and temperatures of 25-30°C significantly promoted spore germination and intercalary outgrowth. By contrast post germination elongative growth was also promoted regardless of light or dark conditions.

**RÉSUMÉ** - La germination des spores et la croissance du tube germinatif de *Curvularia pallescens* ont été étudiées en régimes lumineux ou obscurs en comparant à des températures échelonnées entre 10 et 30°C leur développement en suspension dans des gouttes dépourvues ou couvertes de lamelles appliquées telles qu'elles ou surélevées par des débris de celles-ci. La lumière (1.133 lux), une bonne aération et des températures de 25-30°C ont stimulé de manière significative tant la germination que l'émergence intercalaire de tubes. Par contraste, l'élongation post-germinative des tubes a été aussi stimulée mais indépendamment de l'alternative lumière-obscureté.

**KEY WORDS** : *Curvularia pallescens*, spore germination.

### INTRODUCTION

The ability of plant pathogenic fungi to infect their hosts depends upon the germinability of their spores and the vigour of germ tube growth. Environmental conditions may alter the ability of fungi to produce germ tubes and infection structures.

The spores of some fungi do germinate and produce appressoria under low oxygen tensions or high concentrations of gases such as CO<sub>2</sub> (Buston et al., 1966; Schanel, 1976). Oxygen tension and CO<sub>2</sub> concentration during spore germination could be modified by different methods of coverslip placement on a spore suspension or by not placing a coverslip (Russo et al., 1979). Light is necessary for spore germination and germ tube growth of some fungi (Cole & Geeligs, 1977; Khan, 1977). Laboratory techniques could be used to test the effect of light quantity and quality on spore germination (Cochrane, 1958; Ekpo & Esuruoso, 1977; Lapp & Skoropad, 1976).

*Curvularia pallescens* Boed. with multi-celled conidia, has the capability of producing more than one germ tube, and this attribute is believed to contribute to the success of *C. pallescens* as a pathogenic fungus (Mabadaje, 1969).



The purpose of this study was to determine effects of aeration, light and temperature on spore germination and germ tube growth of *C. pallescens*. This study was motivated by the idea that the information obtained might provide a basis for manipulation of the fungus in future physiological studies involving growth and infection processes.

## MATERIALS AND METHODS

The isolate of *C. pallescens* used during the study was obtained from infected maize leaves at the experimental plot of the National Cereals Research Institute, More Plantation, Ibadan, Nigeria.

Spore suspensions were prepared by flooding with sterile deionized water, 12 day-old sporulating cultures of *C. pallescens* and dislodging spores with a bent glass rod. The suspensions were filtered through a double layer of sterile muslin cloth, to remove the hyphae. The filtered suspensions were poured into McCartney bottles and centrifuged at 2,750 g for 5 mins. After washing three times, the spore suspensions were standardised to  $1.0 \times 10^4$  spores per ml of deionized water with the aid of a Fusch's Rosenthal haemocytometer counting apparatus supplied by NAAFCO Scientific Supplies Nig. Limited (Lagos, Nigeria). Spore suspension drops of about 0.1ml were placed on glass microscope slides above moistened filter paper in petri-dishes. The suspension was left uncovered (UC) or covered with a coverslip (CC) or with shimmed coverslips (SC) and incubated at temperatures of 10, 15, 20, 25 and 30°C up to 24 hours, under continuous cool-white fluorescent light (1,133 lux) or in complete darkness. The experiment was replicated five times. Shims were made by placing intact coverslips on droplets of spore suspension surrounded by pieces of broken coverslips. The procedure increased aeration and gas exchange in the spore suspension and was similar to the method used by Russo et al. (1979). Gallenkamp incubators with and without illumination were used for controlling the various temperature regimes and light conditions.

Observations were made at 6, 12, 18 and 24 hours after incubation similar to the method described by Russo et al. (1979). Three microscope fields each were examined along three axes: 0.3mm (L1), 4-7mm (L2), and 8-11mm (L3) from the approximate centre of coverslips for CC and SC. A different method was applied to the UC since the droplets did not disperse until the coverslips were placed on them before viewing. Coverslips were carefully applied onto the suspension, to prevent extensive dispersal of spores. Observations were made in the same manner as for the CC and SC treatments. Percentage spore germination, germination in more than one cell of the spore (intercalary germination), number of germ tubes and average length of main tubes per spore were recorded.

## RESULTS

The results were similar for all incubation periods, and therefore only results obtained at 24 hr after incubation are presented. The effects of light and gaseous exchange on *C. pallescens* were significant at all incubation temperatures. However, temperature effect was major and significant up to 25°C, after which there was no significant effect due to further increase in temperature (Fig. 1). Spores incubated under light germinated better than those in the dark (Fig. 1). Furthermore, SC under light incubation significantly promoted spore germination more than SC under dark as well

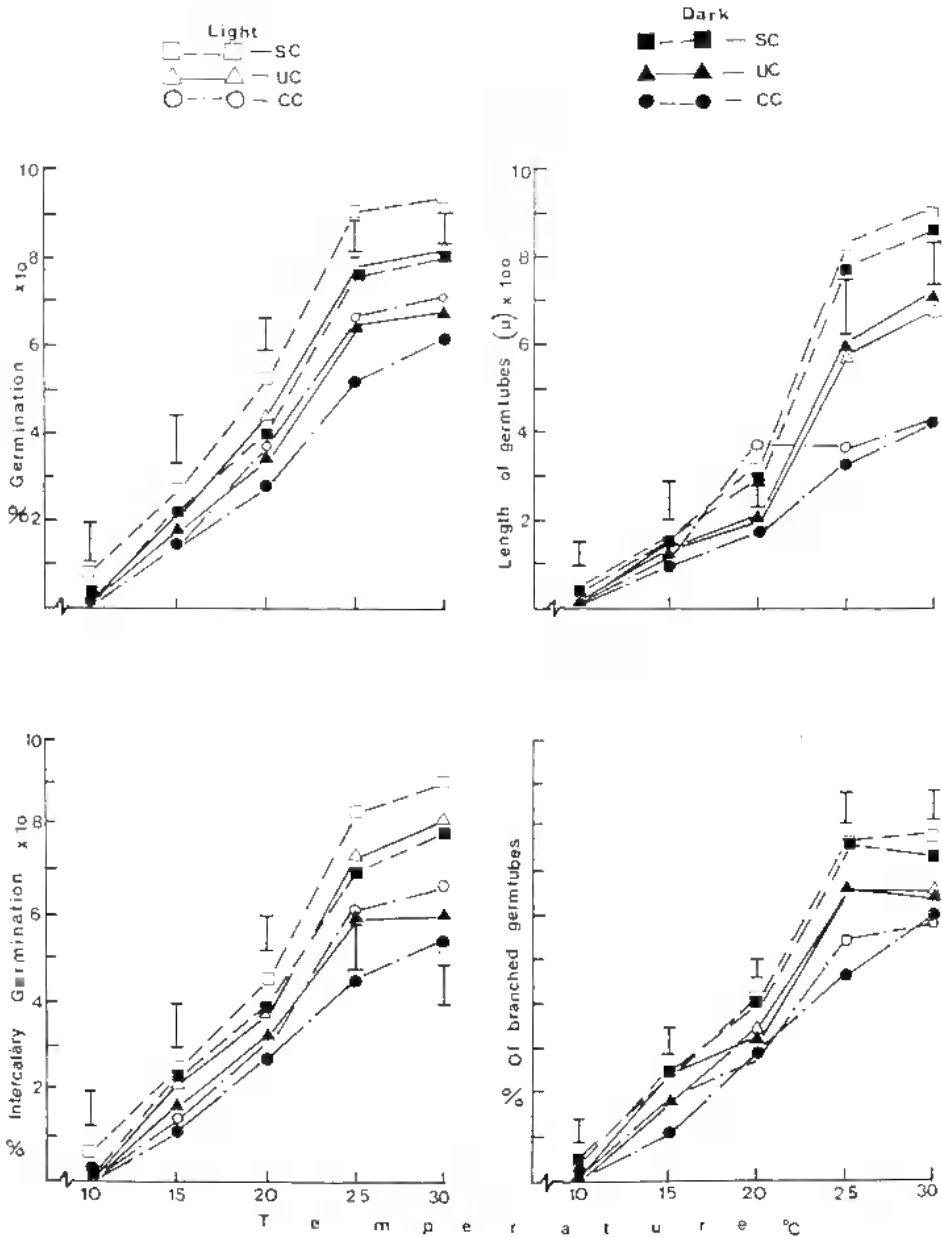


Fig. 1. The effect of light, gaseous exchange and temperature regimes on germination and germ tube growth of *Curvularia pallescens* spores after 24 hours of incubation in droplets without coverslips (UC), normal coverslips (CC) and shimmed coverslips (SC).

Fig. 1 - Effet de la lumière, des échanges gazeux et de la température sur la germination des spores et la croissance du tube germinatif de *Curvularia pallescens* après 24h d'incubation dans des gouttes non couvertes de lamelles (UC), couvertes de lamelles (CC) ou lamelles surélevées (SC).

as light and conditions with UC or CC. Intercalary germination followed this same trend.

Elongation as well as branching of the germ tubes were not significantly different under either light or dark regimes, but spore suspension in the SC treatment produced significantly longer germ tubes than those formed with UC or CC. In all the light and temperature treatments, branching and elongation were least without coverslips (UC) (Fig. 1), but here, spores lying close to the edge of the suspension drops did differ markedly from the inner ones.

Due to the fact that the fungus did not produce appressoria throughout the investigations, no record of this structure was included in the data.

## DISCUSSION

The effects of temperature, light and aeration on spore germination and germ tube growth of fungi can not be under-estimated. The impact of temperature on germination and growth of several pathogenic fungi has already been stressed by Cochrane (1958). The effect of gaseous exchange (Medeiros & De Ti Alvin, 1967; Russo et al., 1979; Wallace et al., 1976), and the importance of light or dark incubation on spore germination and germ tube growth and development has been reported (Ekpo & Esu-ruoso, 1977; Russo et al., 1979; Wallace et al., 1976).

Some fungi prefer light to dark period for germination and growth (Russo et al., 1979) and the results of this study indicate that light may be one activator agent of spore germination in *C. pallescens*. However, light or dark apparently have little or no effect on post germination growth and development of *C. pallescens*. Temperature played a major role in fungal germination and the optimum temperature of 25-30°C needed no doubt favoured enzymatic reactions involved in germination processes (Jef-feries & Young, 1976). Intercalary germination was promoted by the same light, gaseous exchange and temperature conditions.

Spore germination with the SC treatment was significantly higher than with other treatments. Gaseous exchange can promote spore germination (Toler et al., 1966) while poor gaseous exchange may inhibit spore germination (Macko et al., 1976). It could be that since spores of *C. pallescens* sank in water, the UC treatment could not provide conditions of good gaseous exchange in the spore suspension. The placing of shimmed (SC) as well as normal coverslips (CC) breaks the surface tension of the water and allows more aeration than no coverslips (UC). Although germ tubes of *C. pallescens* developed equally well under light or dark, growth was better in the SC treatment presumably because of better aeration. This result confirms a previous study (Russo et al., 1979). However, temperature was the major factor since it influenced post germination growth as well as spore germination (Cochrane, 1958). Thus, for infection of the host, *C. pallescens* would need optimum environmental conditions before leaf spot disease of maize could maximally develop. Germination of *C. pallescens* spores may be aided by light, gaseous exchanged and optimum temperatures, while germ tube growth and development may be promoted by aerobic conditions at an optimum temperature in either the light or the dark. The quantity and quality of gaseous exchange and light are areas that need further investigation.



## LITERATURE CITED

- BUSTON H.W., MOSS M.O. and TYRELL D., 1966 - The influence of CO<sub>2</sub> on growth and sporulation of *Chaetomium globosum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 49: 387-396.
- COCHRANE V.W., 1958 - *Physiology of Fungi*. New York, J. Wiley & Sons.
- COLE J.S. and GEELIGS J.W.G., 1977 - Time lapse photograph of formation and release of conidia of *Erysiphe cichroracearum* on tobacco. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 67: 339-342.
- EKPO E.J.A. and ESURUOSO O.F., 1977 - Factors affecting spore germination in cowpea isolate of *Cercospora cruenta* Sacc. *Phytopathol. Z.* 89: 249-255.
- JEFFERIES P. and YOUNG T.K.W., 1976 - Physiology and fine structure of sporangiospore germination in *Piptocephalis unispora* prior to infection. *Arch. Microbiol.* 107: 99-107.
- KHAN M., 1977 - Light stimulation of fungus spore germination. *Z. Pflanzenphysiol.* 81: 374-376.
- LAPP M.S. and SKOROPAD W.P., 1976 - A mathematical model of conidial germination and appressoria formation of *Collectotrichum graminicola*. *Canad. J. Bot.* 54: 2239-2242.
- MABADEJE S.A., 1969 - *Curvularia* leaf spot of maize. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 52: 267-271.
- MACKO V., STAPLES R.C., YANI Z. and GRANADOS R.R., 1976 - Self-inhibitors of Fungi spore germination. In: *The fungal spore - Form and function*. New York, J. Wiley and Sons.
- MEDEIROS A.G. and DE TI ALVIN P., 1967 - Influence of CO<sub>2</sub> and air humidity on sporulation of *Phytophthora palmivora* (Butl). *Bult Turrialba* 17: 18-22.
- RUSSO V., ANDERSON C. and PAPPELIS A., 1979 - Effect on germination and post-germination development of *Colletotrichum dermatium* var. *circinans* due to light and dark incubation and coverslip placements. *Mycopathologia* 67: 165-168.
- SCHANEL L., 1976 - Role of CO<sub>2</sub> in growth and decaying activity of wood rotten fungi. *Ref. Žurn. Biol.* 12: 192-248.
- TOLER R.W., DUKES P.D. and JENKINS S.F., 1966 - Growth response of *Fusarium oxysporum* f. *tracheiphilum* *in vitro* to varying oxygen and carbon-dioxide tensions. *Phytopathology* 56: 183-186.
- WALLACE D.R., MACHEOD D.M., SULLIVAN C.R., TYRELL D. and DE LYZER A.J., 1976 - Induction of resting spore germination in *Entomophthora aptidis* by long day light conditions. *Canad. J. Bot.* 54: 1410-1418.



## ALGUNOS AGARICALES INTERESANTES DE LA PROVINCIA DE GUADALAJARA (ESPAÑA PENINSULAR)

M. HEYKOOP, F. ESTEVE-RAVENTOS y G. MORENO

Dpto de Biología Vegetal (Botánica), Universidad de Alcalá de  
Henares, 28871 Madrid, España.

RESUMEN - Se describen o comentan 26 táxones de *Agaricales s.l.* recogidos en diversas localidades de la provincia de Guadalajara. Seis táxones no han citados previamente en la Península Ibérica: *Calocybe fallax*, *Clitocybe acicola*, *Cortinarius bataillei*, *Entoloma undulatosporum*, *Hygrocybe substrangulata* e *Hygrophorus pseudodiscoideus* var. *cistophilus*. Se aportan fotografías de las características más representativas.

ABSTRACT - 26 taxa of *Agaricales s.l.*, collected in several localities of the province of Guadalajara, are described or commented. Some of them are figured with photographs of the most outstanding characteristics. Six taxa have not been recorded previously in the Iberian Peninsula: *Calocybe fallax*, *Clitocybe acicola*, *Cortinarius bataillei*, *Entoloma undulatosporum*, *Hygrocybe substrangulata* and *Hygrophorus pseudodiscoideus* var. *cistophilus*.

KEY WORDS : Taxonomy, Chorology, Agaricales s.l., Guadalajara, Spain.

### INTRODUCCION

Con este trabajo pretendemos contribuir al conocimiento, tanto taxonómico como corológico, de los *Agaricales s.l.* de la provincia de Guadalajara (España). A pesar del gran interés ecológico de esta provincia, debido a la gran diversidad de ecosistemas mediterráneos diferentes que podemos encontrar (encinares, melojares, jarales, pinares, sabinars etc.), y de su riqueza micológica pocos han sido los trabajos micológicos llevados a cabo en esta provincia castellana. Aparte de citas esporádicas de algunos táxones, podemos destacar las aportaciones, más amplias, de López de los Mozos (1982), López de los Mozos & Calonge (1982), Blanco (1985) y Blanco & Moreno (1986). Los resultados, parciales, que aquí se publican forman parte de la tesis doctoral de uno de nosotros (M. H.) sobre los *Agaricales s.l.* de esta provincia, y recogen una serie de táxones que tienen interés científico por su rareza, sobre todo para la Península Ibérica, aunque, en algunos casos, también para el resto de Europa.

Las fotografías al microscopio óptico han sido realizadas con un microscopio Nikon modelo Optiphot con sistema incorporado automático de fotografía. Las fotografías al microscopio electrónico de barrido fueron realizadas con un microscopio Zeiss modelo 950. El material se ha estudiado en agua destilada, solución de hidróxido amónico al 10%, hidróxido potásico al 5%, solución de rojo congo amoniacal y reactivo de Melzer. Ha sido depositado en el Herbario del Departamento de Biología Vegetal (Botánica) de la Universidad de Alcalá de Henares (Madrid) -H.AH-

## CATALOGO DE ESPECIES

*Agaricus mediofuscus* (Möller) Pilát, *Shorn. Nár. Mus. v Praze. Rada B. Prir. Vedy* 7(1): 8, 1951.

Material estudiado: Codes, bajo *Quercus faginea*, 18-XI-90, leg. F. Esteve-Raventós & V. González. H.AH 13136.

Los ejemplares estudiados concuerdan perfectamente con la descripción de Cappelli (1983, 1984). En España sólo se conoce la cita de Navarra (García Bona, 1982, 1987).

*Amanita echinocephala* (Vitt.) Quél., *Champ. Jura Vosges I. Mém. Soc. Emul. Montbéliard, Sér. 2*, 5: 321, 1872.

Material estudiado: Horna, en humus de *Quercus rotundifolia*, 30-IX-90, leg. J. Alvarez, M.N. Blanco, F. Esteve-Raventós & Heykoop. H.AH 12889.

*Bolbitius reticulatus* (Pers.; Fr.) Ricken, *Die Blätterpilze* 1: 68, 1915.

Material estudiado: Arroyo de la Nava de la Obceca, Sigüenza, bajo *Quercus faginea*, 12-XI-88, leg. J. Alvarez & F. Esteve-Raventós, H.AH 13037.

Este taxon se caracteriza por su pequeño porte y superficie pileica más o menos rugosa y reticulada, con colores grisáceo-lilacinos y aspecto de un pequeño *Pluteus*.

Watling (1982) considera *Bolbitius aleuriatus* como sinónimo de *B. reticulatus*. Moser (1983) indica que *B. aleuriatus* es una especie independiente cuya diferencias principales son la superficie del píleo no reticulada y que tiene esporas de tamaño ligeramente inferior, siendo de 9-10,5 x 4-5 µm para *B. aleuriatus* y 10-11 x 5-6 µm para *B. reticulatus*. Nuestro material presenta esporas intermedias, cuyo tamaño está comprendido entre (8,5)9-10 x 5,5-6,5 µm. Además presenta la superficie del píleo bastante rugosa y reticulada por lo que consideramos a esta como un taxon variable.

*Boletus lupinus* Fr., *Epicr. Syst. mycol.*: 416, 1838.

Material estudiado: Baides, en bosque mixto de *Quercus rotundifolia* y *Juniperus thurifera*, 30-IX-90, leg. J. Alvarez, M.N. Blanco, F. Esteve-Raventós & M. Heykoop, H.AH 12790. Idem, H.AH 12891. Idem, 28-IX-90, leg. J. Alvarez H.AH 12791. Idem, 9-X-90, leg. G. Moreno, N. Ayala & C. Ochoa, H.AH 12779 y H.AH 12792.

Nuestras recolecciones coinciden con las descripciones de los trabajos monográficos de Engel et al. (1983) y Alessio (1985).

En España, se conoce sólo del País Vasco (Anónimo, 1981; Mendaza & Díaz, 1988).

*Boletus pulchrotinctus* Alessio, *Fungi Europaei* 2: 231, 1985.

Material estudiado: Baides, en bosque mixto de *Quercus rotundifolia* y de *Juniperus thurifera*, 9-X-90, leg. G. Moreno, N. Ayala & C. Ochoa, H.AH 12787. Idem, H. AH 12780.

Taxon descrito recientemente por Alessio (1985), perteneciente a la sección *Luridi* Fr. Se caracteriza por presentar un sombrero en la juventud con tonos rosa-carmín sobre fondo grisáceo-blancuecino claro a beige. El pie es amarillo, con tonos rosados concoloros al sombrero y con retículo evidente. La carne y los tubos del

himenio son de color amarillo limón y azulean al corte. Los poros tienen un color rojizo sobre fondo amarillo.

Esta especie sólo ha sido recogida con anterioridad, en nuestro país, en Cataluña (Vidal & Pascual, 1989; Rocabrúna, com. pers.)

*Calocybe fallax* (Sacc.) Sing. ex Redhead & Sing., *Mycotaxon* 6: 501, 1978. (Fig. 1-8).

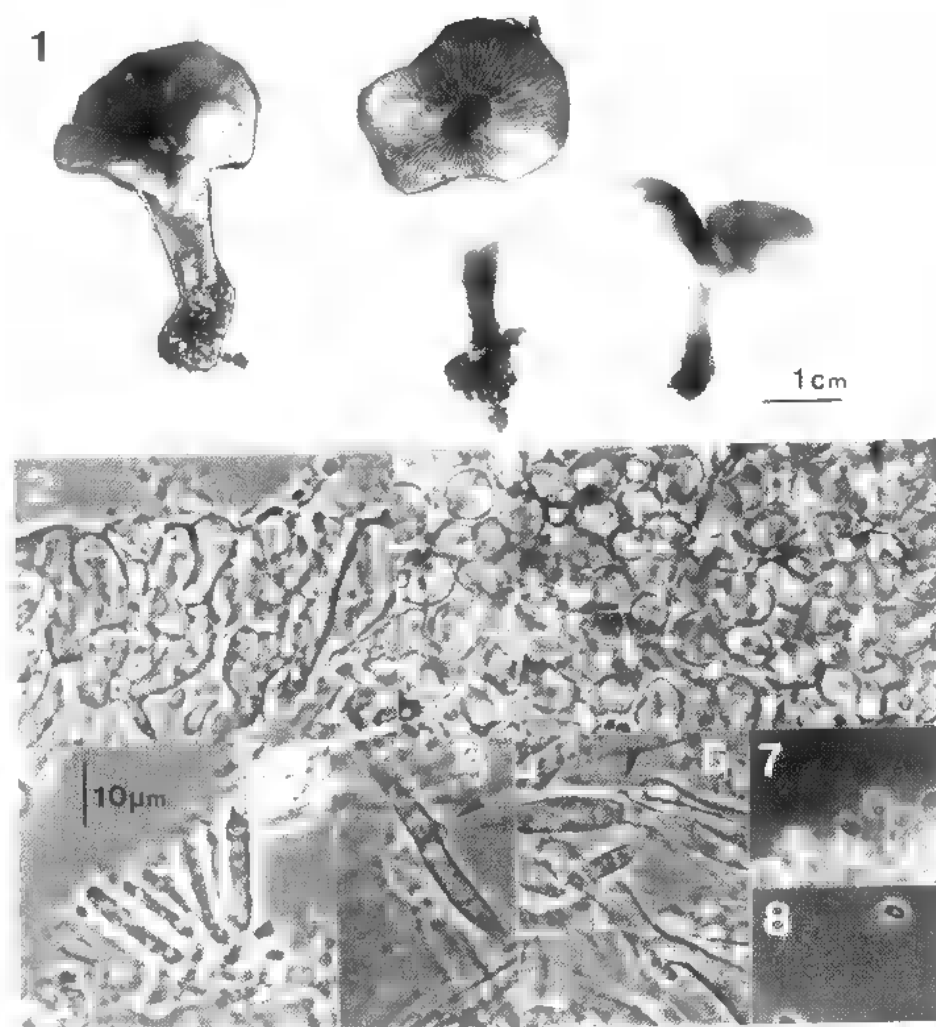


Fig. 1-8. *Calocybe fallax* (Sacc.) Sing. ex Redhead & Sing. (H.AH 14416). 1: Cuerpos fructíferos. 2: Sección de pileipellis. 3: Pileipellis. 4: Himenio. 5-6: Fibulas. 7-8: Esporas.

Material estudiado: Guadalajara: Majaerayo, bajo *Cistus laurifolius*, 26-XI-89, leg. P. Cantero, F. Esteve-Raventós & M. Heykoop, H.AH 12722. Madrid: Exposición micológica de Madrid, 1-XII-90, leg. anónimo, H. AH 14416.

El material estudiado presenta un píleo convexo a aplanado convexo, de 1,5-2,5 cm de diámetro, liso, muy higrófono, de color anaranjado-amarillo. Láminas apretadas, muy amarillas y levemente escotadas, junto con lamélulas concoloras. Pie cilíndrico a aplastado en los ejemplares más viejos, de 2-3,5 x 0,2-0,6 cm, amarillo (-anaranjado), más o menos concoloro con las láminas. Carne amarillenta, con olor fúngico agradable. Esporada blanca. Esporas de 3,5-4,5 x 2-2,5(3,5)  $\mu\text{m}$ , elipsoidales, lisas, no amiloides. Basidios de 18-20 x 4-5  $\mu\text{m}$ , con esterigmas de 2-3  $\mu\text{m}$  de longitud, tetraspóricos, cilíndricos a ligeramente claviformes, con granulación siderófila, fibulados. Cistidios no observados. Pileipellis himeniforme, formada por células más o menos claviformes a esferopedunculadas de 13-18 x 8-13  $\mu\text{m}$ , con paredes refringentes en agua y contenido intracelular amarillento en KOH al 5%; pileitrama formada por hifas entremezcladas de forma laxa y provistas también de un contenido intracelular amarillento en KOH al 5%, fíbulas presentes en los septos. Caulocistidios de 25-47 x 4-5,5  $\mu\text{m}$ , cilíndricos, hialinos, ligeramente ensanchados en el ápice, en grupos densos (sobre todo en el ápice del pie).

Moser & Jülich (1987) aportan una fotografía muy ilustrativa de esta especie, aunque con el nombre de *C. naucoria*. Posteriormente, estos mismos autores (Moser & Jülich, 1989) vuelven a ilustrar este taxon, ya bajo la denominación de *C. fallax*. El problema nomenclatural fue resuelto por Redhead & Singer (1978). Los caracteres de esta especie son las esporas pequeñas y cutícula himeniforme, los cuales la diferencian de *C. chryseron* (Bull.: Fr.) Sing. (que presenta también coloraciones naranja-amarillentas), así como la presencia de fíbulas en todo el carpóforo. *Calocybe fallax*, según la bibliografía consultada, es la primera vez que se cita para la Península Ibérica.

*Clitocybe acicola* Sing. ex Sing., *Z. Mykol.* 56(1): 6, 1990. (Fig. 9-12).  
= *C. obsoleta* s. Métrod, *Bull. Soc. Mycol. France* 55 (1): 110, 1939.

Material estudiado: Sigüenza, bajo *Pinus pinaster* y *Pinus sylvestris*, 20-XI-91, leg. G. Moreno & M. Heykoop, H.AH 14178.

Especie propuesta por Singer (1943), aunque no válidamente publicada, al no aportar una diagnosis latina. Posteriormente Romagnesi (1989) acepta la especie de Singer, aunque sin validarla. Recientemente Singer (1990), en un estudio sobre el complejo *Clitocybe obsoleta* la valida aportando además una descripción.

Esta especie, pertenece a la sección *Fragantes* Harm.; nuestro material se caracteriza por presentar un píleo de 1,5-4 cm de diámetro, higrófono, con el margen estriado, de color beige-caramelo claro en estado húmedo que toma un color beige-grisáceo pálido al secar; pie más o menos concoloro al sombrero, de 2-3 x 0,3-0,4 cm. Las láminas son netamente decurrentes y tienen un color blanquecino-crema. Presenta un fuerte olor a anís y la carne tiene un sabor suave, algo dulzaino. Presenta esporas de 5-6 x 3-3,5  $\mu\text{m}$ , elipsoidales, hialinas. Cistidios ausentes. La pileipellis es una cutis filamentosa con hifas fibuladas que no muestran pigmento incrustante.

Este taxon es muy próximo a *C. obsoleta* (Batsch) Quél., pero difiere de él por su color algo más pálido, el margen del píleo claramente estriado en estado húmedo y sus esporas más pequeñas (6-8 x 3,2-4  $\mu\text{m}$  en *C. acicola* frente a (6)7-10 x (2,5)3,5-5,3  $\mu\text{m}$  en *C. obsoleta*). Nuestro material se ajusta bastante bien a la descripción de Singer (1990) aunque sus esporas son ligeramente menores. *Clitocybe fragrans* (With.: Fr.) Kumm. también presenta un fuerte olor a anís, pero, sin embar-

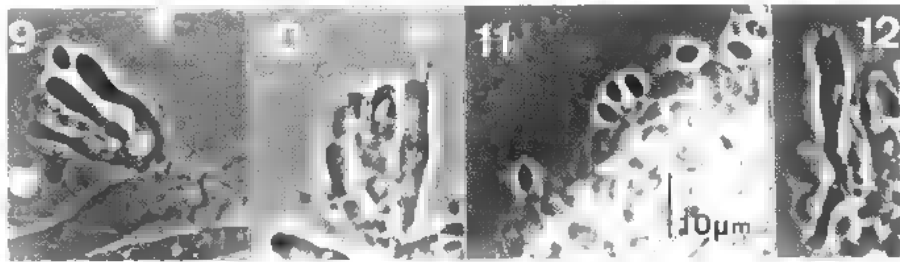


Fig. 9-12. *Clitocybe acicola* Sing. ex Sing. (H.AH 14178). 9-10 y 12: Himenio. 11: Esporas.

go se diferencia por el color pardo más oscuro en el centro del píleo, con el margen beige-gris más claro, y por sus esporas mayores. Según Singer (1990) *C. acicola* estaría ampliamente distribuido, aunque es esporádico en Europa. En España no ha sido citado aunque creemos que probablemente haya sido confundido con *C. obsoleta* o con *C. fragrans*.

*Clitocybe cistophila* Bon & Contu, *Doc. Mycol.* 60: 43-44, 1985.

Material estudiado: Majaerayo, bajo *Cistus laurifolius*, 26-XI-89, leg. P. Cantero, F. Esteve-Raventós & M. Heykoop, H.AH 12735.

Especie típica y frecuente en los jarales de toda España. Se caracteriza por su pequeño porte y fuerte olor a anís. Es probable que se trate tan sólo de una var. ecológica del grupo *Clitocybe obsoleta*.

*Conocybe mesospora* Kühn ex Kühn. & Watl., *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh* 38: 336, 1980.

Material estudiado: El Rebollar de Carabias, Sigüenza, en praderas calizas en borde de camino, 12-XI-88, leg. J. Alvarez & F. Esteve-Raventós, H.AH 12982. Idem, entre hierba de rebollar aclarado, H.AH 12983.

Nuestro material coincide perfectamente con la descripción de Kühner (1935). Sólo ha sido citado con anterioridad en nuestro país en Cataluña por Singer (1947).

*Cortinarius bataillei* (Favre ex Moser) Høiland, *Opera Bot.* 71: 86, 1983. (Fig. 13-16).

≡ *Dermocybe bataillei* Favre ex Moser, *Schweiz. Z. Pilzk.* 54: 147, 1976.

Material estudiado: Entre Condemios de Abajo y Aldeanueva de Atienza, entre *Sphagnum* sp. en turbera del río Pelagallinas, 4-X-91, leg. M. Heykoop & G. Moreno, H.AH 13883.

Nuestro material presenta un píleo de 1,6 cm de diámetro, mamelonado, convexo, no higroscópico, ligeramente escuamuloso en el margen, con aspecto afieltrado, margen fuertemente fibriloso, de color amarillento tirando a pardo. Láminas adnatas, primero muy amarillas, luego de color azafrán, sin tonos oliváceos. Pie de 5 x 0,3 cm, cilíndrico, algo hueco, fibriloso en su parte externa, de color amarillento en la parte superior, en el tercio interior de marcada coloración anaranja (-rojiza). Cortina no observada (según Høiland (1983) es de color amarillo pálido). La carne en el píleo es de color amarillo pálido, siendo en el pie (sobre todo en la parte inferior) de color naran-

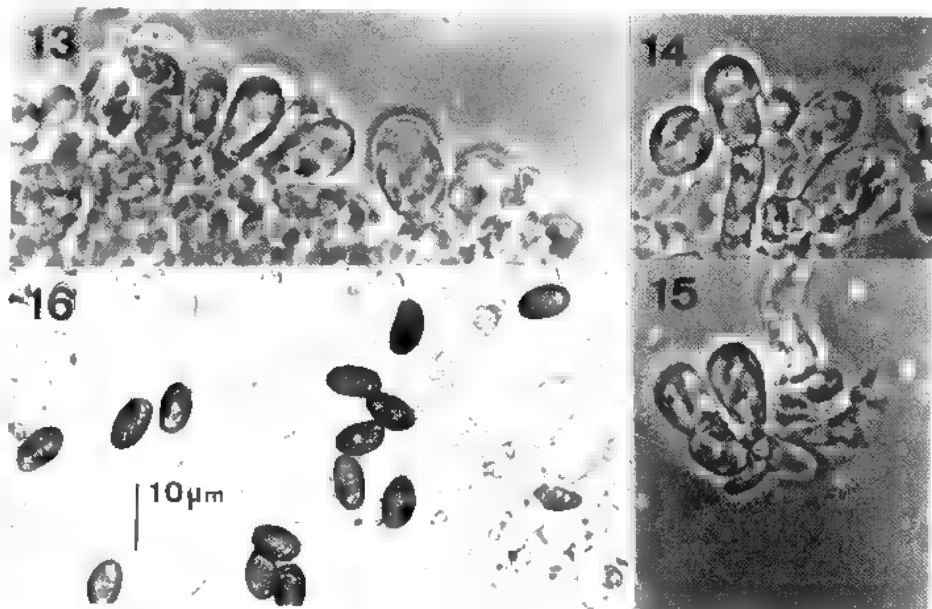


Fig. 13-16. *Cortinarius bataillei* (Favre ex Moser) Høiland (H.AH 13883). 13-15: Queilocistidios. 16: Esporas.

ja-amarillento o rojizo. Esporas de 7,5-9,5 x 4,5-5,5  $\mu\text{m}$ , en vista lateral amigdaliformes, en vista frontal más o menos elipsoidales a ovoides, verrugosas, pardo ferruginosas. Basidios de 25-30 x 7-9  $\mu\text{m}$ , tetraspóricos, claviformes, hialinos o con un contenido granular amarillento muy denso. Arista provista de queilocistidios claviformes. Fíbulas presentes. Reacciones con KOH al 5%: cutícula del píleo pardo oscuro; carne del píleo pardo-negruzco; carne del pie rojo-carmín.

Esta especie es próxima a *C. croceus*, a la cual recuerda mucho macroscópicamente. Difiere de ella por el fuerte color naranja de la parte basal del pie. Nuestra recolecta constituye la primera cita para el catálogo micológico español.

*Entoloma chalybaeum* (Fr.: Fr.) Noordel., *Nordic J. Bot.* 2: 163, 1982.

Material estudiado: Tamajón, bajo *Cistus laurifolius*, 25-X-90, leg. G. Moreno & M. Heykoop, H.AH 12765.

Típica especie del subgénero *Leptonia* caracterizada por las tonalidades azuladas en todo el carpóforo. Nuestro material se ajusta muy bien a la descripción de Noordeloos (1984).

*Entoloma cuspidiferum* Kühn. & Romagn. ex Noordel., *Persoonia* 10: 461, 1980.

Material estudiado: Entre Condemios de Abajo y Aldeanueva de Atienza, entre *Sphagnum* sp. en turbera del río Pelagallinas, 22-IX-91, leg. M. Ortega & M. Heykoop, H.AH 13822. Ibidem, 4-X-91, leg. M. Heykoop & G. Moreno, H. AH 13867.



Especie típica de las turberas, hábitat que justifica su poco conocimiento en nuestro país. Ha sido citado en la zona centro por Moreno (1976) y Barrio et al. (1985). Nuestro material coincide con la descripción de Noordeloos (1980).

*Entoloma undulatosporum* Arnolds & Noordel., *Persoonia* 10: 295, 1979. (Fig. 17-19).

Material estudiado: Riofrío del Llano, en pastizal, 22-XI-91, leg. M. de la Cruz, H.AH 14199.

Pileo primero convexo, luego aplanado-convexo, hasta 2,5cm de diám., pardo-negruzco, glabro. Láminas ligeramente decurrentes, más o menos grisáceas con tintes rosados. Pie cilíndrico hasta 2 cm de longitud y hasta 0,5 cm de diám., pardo oscuro, concoloro al pileo. Carne blanquecino-grisácea. Olor agradable. Esporas 10-11(12) x 6,5-7,5(8)  $\mu$ m, nodulosas y de perfil típicamente ondulado, de color rosa. Arista de la lámina fértil. Cistidios ausentes. Pileipellis una cutis con hifas de menos de 10  $\mu$ m de diám., con fuerte pigmento intracelular de color pardo. Fíbulas presentes y abundantes.

Este raro *Entoloma* perteneciente a la sección *Endochromonema* (Larg. & Thiers) Noordel. se caracteriza principalmente por su pequeño porte, sombrero muy oscuro con abundante pigmento intracelular pardo oscuro y esporas de paredes finas, nodulosas y débilmente angulosas. Esta especie sólo era conocida hasta ahora de dos localidades holandesas, Beilen y Axel (Noordeloos, 1988). Representa por tanto la tercera localidad en que se recoge y una nueva cita para el catálogo micológico español.

*Hygrocybe coccineocrenata* (P.D. Orton) Moser, *Röhrlinge*. *Blätterpilze*, 3. Aufl.: 68, 1967. (Fig. 20-24)

$\equiv$  *Hygrophorus coccineocrenatus* P.D. Orton, *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 43: 262, 1960.

Material estudiado: Entre Condemios de Abajo y Aldeanueva de Atienza, entre *Sphagnum* sp. en turbera del río Pelagallinas, 4-X-91, leg. G. Moreno & M. Heykoop, H.AH 13861.

Pileo de 5-11 mm de diámetro, convexo a plano convexo con margen crenulado e involuto, de color rojizo-anaranjado en húmedo, decolorándose progresivamente a amarillento-naranja, con la superficie central densamente cubierta de escamas marrones bien adpresas o erectas. Láminas gruesas, espaciadas y fuertemente decurrentes, de color amarillento claro a amarillo cera. Pie cilíndrico, de 20-30 x 1,5 mm, de color rojo escarlata en húmedo, decolorándose progresivamente a amarillo-naranja. Esporas de

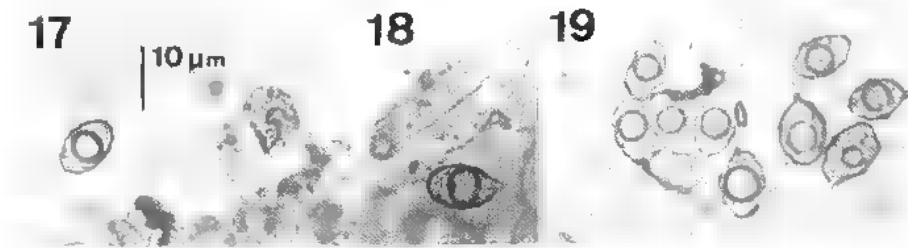


Fig. 17-19. *Entoloma undulatosporum* Arnolds & Noordel. (H.AH 14199). Esporas.

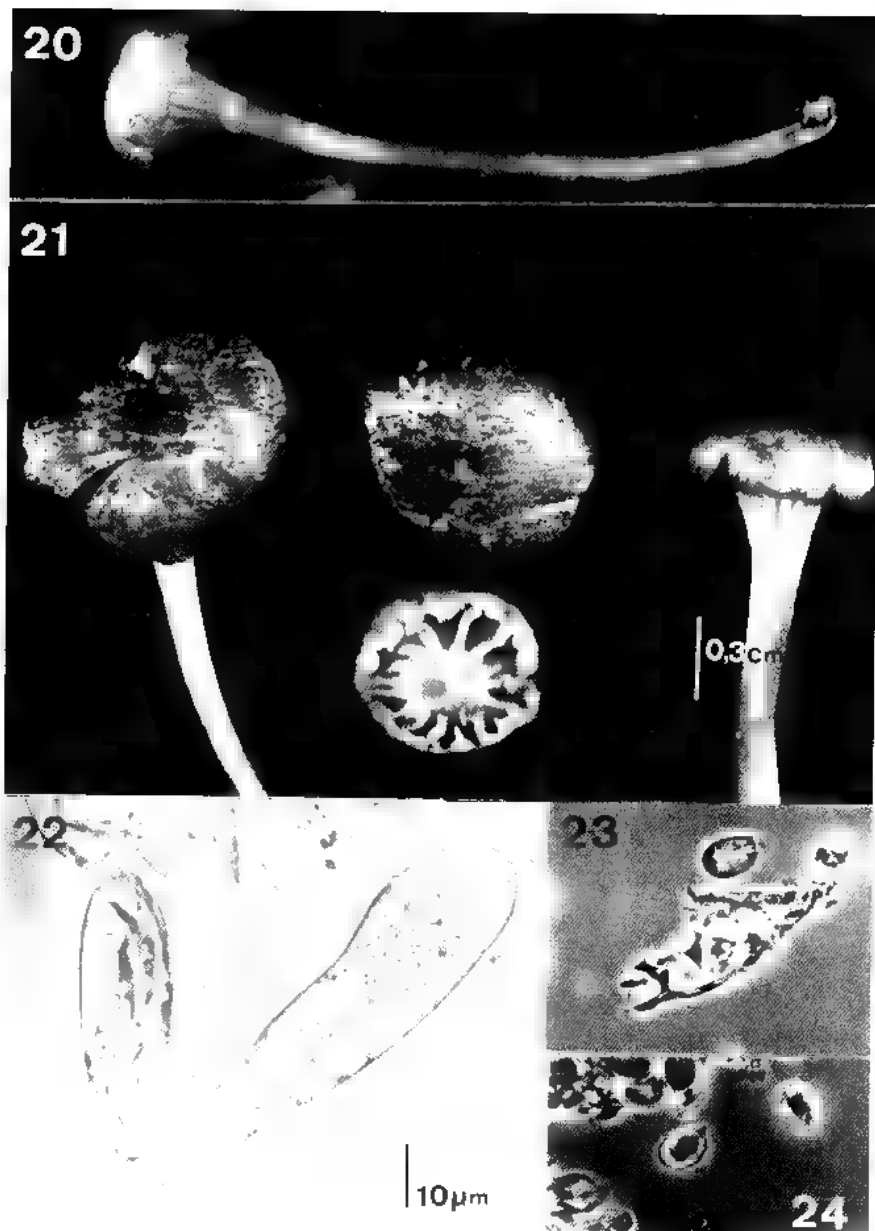


Fig. 20-24. *Hygrocybe coccineocrenata* (P.D. Orton) Moser (H.AH 13861). 20-21: Cuerpos fructíferos. 22: Pileipellis. 23-24: Esporas.

9-11 x 5,5-6,5  $\mu\text{m}$ , elipsoidales a ovoides, a menudo fascioliformes, algunas con constricción central. Basidios de 36-47 x 7-10  $\mu\text{m}$ , tetraspóricos, claviformes. Cistidios nulos. Trama del himenóforo subregular. Pileipellis en el centro una tricodermis con

pelos formados por cortos artículos de 10-17  $\mu\text{m}$  de diam., muchos de ellos con un pigmento intracelular pardo.

Este taxon ha sido recogido anteriormente de la zona centro por Moreno (1976).

*Hygrocybe substrangulata* (P.D. Orton) Moser, Röhrlinge. Blätterpilze, 4. Aufl.: 89, 1978. (Fig. 25-30)

$\equiv$  *Hygrophorus substrangulatus* P.D. Orton, *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 43: 269, 1960.

$\equiv$  *Hygrocybe coccineocrenata* (P.D. Orton) Moser var. *sphagnophila* (Peck) Arnolds, *Persoonia* 12: 475, 1985, s. Boertman, 1990: 29.

$\equiv$  *Hygrocybe coccineocrenata* (P.D. Orton) Moser fo. *ambigua* Kühner, *Bull. Soc. Mycol. France* 92: 463, 1976, s. Boertman, 1990: 29.

Material estudiado: Entre Condemios de Abajo y Aldeanueva de Atienza, entre *Sphagnum* sp. en turbera del río Pelagallinas, 4-X-91, leg. M. Heykoop & G. Moreno, H.AH 13860.

Píleo de 1,5-3 cm de diam., convexo ■ aplanado convexo, higrófono, estriado en el margen, de color rojo-anaranjado en húmedo, decolorándose progresivamente a amarillo-anaranjado, con la superficie central levemente cubierta de escamas adpresas concoloras con el píleo. Láminas gruesas, adnatas a subdecurrentes, de color amarillo pálido a color carne, arista concolora. Pie de 4-7 x 0,2-0,4 cm, cilíndrico, de color naranja-rojizo en húmedo, decolorándose progresivamente a amarillo-naranja, pudiendo quedar completamente amarillo al final. Esporas de 9-11(12,5) x 5-6(6,5)  $\mu\text{m}$ , elipsoidales con ápice obtuso, en un elevado número están constreñidas en la zona central. Basidios de 38-45 x 6-8  $\mu\text{m}$  (Q= 6), tetraspóricos, claviformes. Cistidios nulos. Trama del himenóforo más o menos regular formada por cadenas de elementos cortos de 60-90 x 8-10  $\mu\text{m}$ . Pileipellis en el centro una tricoadermis formada por pelos septados y fibulados, con elementos de 30-60 x 7-11  $\mu\text{m}$ , con pigmento intracelular ocráceo. La estípitipellis presenta una cutis formada por hifas fibuladas.

Arnolds (1990) diferencia *H. coccineocrenata* var. *sphagnophila* de *H. substrangulata*, entre otras razones por la presencia de escamas en el píleo en el primero y la ausencia de ellas en la última. Sin embargo, nosotros coincidimos con Boertmann (1990), quien propone la sinonimia de ambos táxones y aporta una iconografía muy representativa. Esta especie no había sido citada previamente en España, aunque quizás haya sido objeto de alguna confusión taxonómica.

*Hygrophoropsis pallida* (Cooke) Kreisel, *Handb. Pilzfreunde* 2 ed., 3: 150, 1977.

Material estudiado: Entre Condemios de Abajo y Aldeanueva de Atienza, entre *Sphagnum* sp. en turbera del río Pelagallinas, 4-X-91, leg. G. Moreno & M. Heykoop, H.AH 13866.

Especie típica de turberas, aunque Arnolds (1982) establece una ecología diferente de pastizales húmedos (*Molinio-Arrhenatheretea*). En España ha sido citado previamente en la zona centro por Barrio et al. (1985) y Esteve-Raventós (1987).

*Hygrophorus pseudodiscoideus* (Maire) Malenç. & Bertault var. *cistophilus* Bon, *Doc. Mycol.* 72: 63, 1988.

Material estudiado: Majaerayo, bajo *Cistus laurifolius*, 26-XI-89, leg. P. Cantero, F. Esteve-Raventós & M. Heykoop, H.AH 12736. Idem, H.AH 12737.

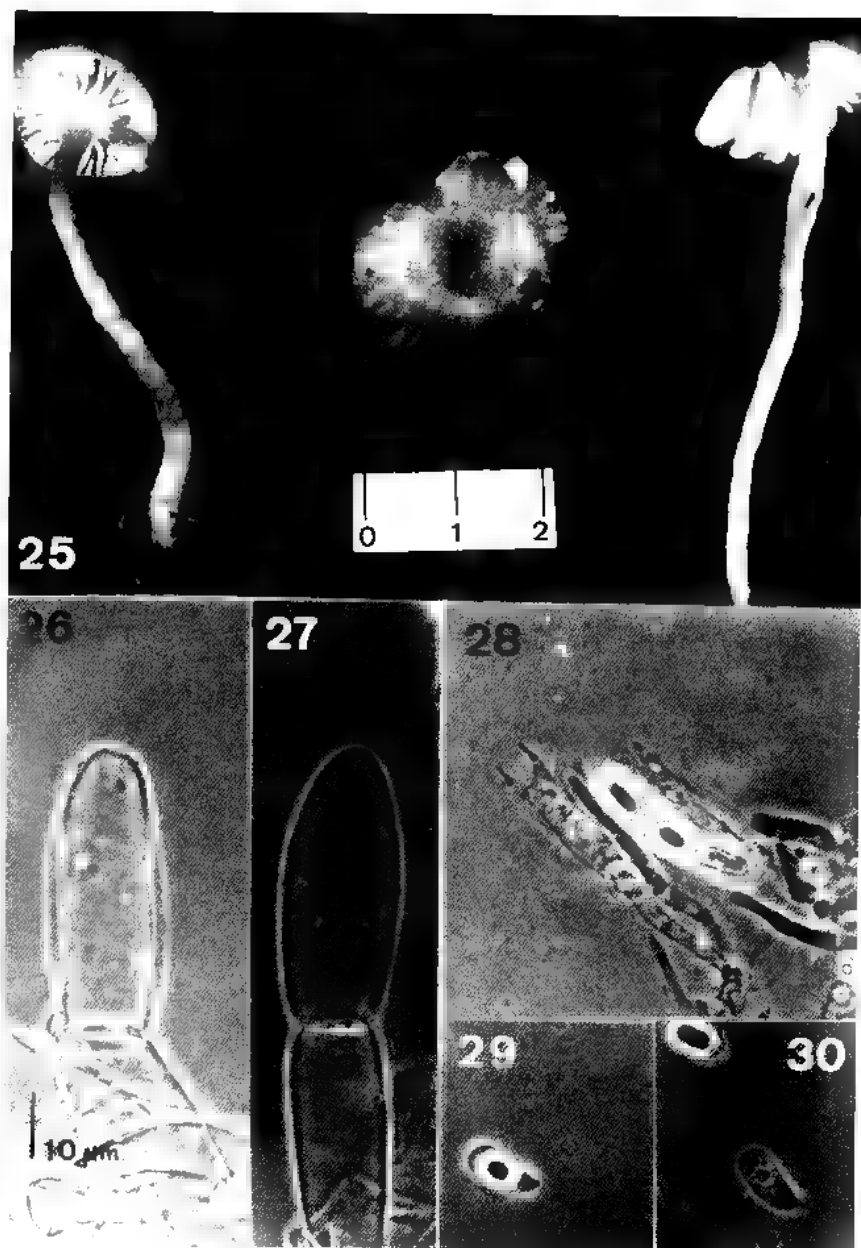


Fig. 25-30. *Hygrocybe substrangulata* (P.D. Orton) Moser (H.AH 13860). 25: Cuerpos fructíferos. 26-27: Pileipellis. 28: Himenio. 29-30: Esporas.

Este taxon, creado recientemente por Bon (1988), difiere principalmente de la var. tipo por su porte más pequeño y grácil así como por su ecología típica de jarales

y maquis mediterráneo. Según Bon (1990) la pileipellis también sería más gelificada que en la var. tipo. Es posible que se trate simplemente de una forma ecológica, sin embargo hasta que futuras recolectas no demuestren los posibles tránsitos entre uno y otro taxon preferimos reconocer esta variedad. *Hygrophorus pseudodiscoideus* ha sido citado en España de Cataluña (Malençon & Bertault, 1971, 1976; Bertault, 1982).

*Hypholoma elongatipes* (Peck) Peck, *Rep. New York State Mus. Nat. Hist.* 29: 40, 1876.

Material estudiado: Entre Condemios de Abajo y Aldeanueva de Atienza, entre *Sphagnum* sp. en turbera del río Pelagallinas, 4-X-91, leg. M. Heykoop & G. Moreno, H.AH 13872. Idem, H.AH 14286. Idem, 22-IX-91; leg. M. Ortega & M. Heykoop, H.AH 14282.

Nuestro material concuerda con la descripción de Barrio et al. (1985) quienes recolectaron esta especie con anterioridad en turberas de la zona centro, fructificando entre *Sphagnum* y otros briófitos.

*Lepiota griseovirens* Maire, *Bull. Soc. Mycol. France* 44: 37, 1928.

Material estudiado: Codes, en briófitos bajo *Juniperus thurifera*, 12-X-90, leg. F. Esteve-Raventós, M.N. Blanco, J. Alvarez & M. Heykoop, H.AH 12893.

Típica especie mediterránea, ya recolectada previamente varias veces en la Península Ibérica. Nuestro material se ajusta bien a la descripción de Candusso & Lanzoni (1990). En nuestro caso las medidas esporales son ligeramente mayores (8-11 x 3.5-4(4,5)  $\mu\text{m}$ ) que las indicadas por estos autores, siendo el resto de los caracteres iguales.

*Lyophyllum amariusculum* Cléménçon, *Mycotaxon* 15: 68, 1982.  
= *L. immundum* s. Kühn. & Romagn., 1953.

Material estudiado: Tamajón, en bosque mixto de *Quercus rotundifolia* y *Juniperus thurifera*, 25-X-90, leg. G. Moreno & M. Heykoop, H.AH 12753.

El problema nomenclatural de este taxon ha sido resuelto recientemente por Cléménçon (1982).

*Pluteus thomsonii* (Berk. & Broome) Dennis, *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 31: 206, 1948.

Material estudiado: Guijosa-Cubillos, Sigüenza, en pastizal de chopera y jaral, 12-XI-88, leg. F. Esteve-Raventós & J. Alvarez, H.AH 13480.

*Rhodocybe nitellina* (Fr.) Sing., *Mycologia* 38: 687, 1946.

Material estudiado: Pista entre Peralejos de las Truchas y laguna de Taravilla, en pinar de *Pinus nigra* ssp. *salzmannii*, 7-XI-91, leg. M. Heykoop, C. Illana & J. Alvarez, H.AH 14134. Monte El Pinillo, entre Alcoroches y Alustante, 24-X-91, leg. J. Alvarez & C. Bartolomé, en bosque de *Juniperus sabina* y *Pinus sylvestris*, H.AH 14283.

Taxon con aspecto de "colibioide" que se caracteriza por sus colores vivos anaranjados, así como por su fuerte olor farinoso. Nuestro material concuerda perfectamente con la descripción de Noordeloos (1988).

*Rozites caperata* (Pers.: Fr.) P. Karsten, *Bidrag Kännedom Finlands Natur Folk* 32: 20, 1879.

Material estudiado: Atienza, en bosque de *Quercus pyrenaica* próximo a *Erica scoparia* y *E. australis* ssp. *aragonensis*, 8-XI-91, leg. M. de la Cruz, H.AH 14139.

La única especie europea de este género es muy frecuente en el norte de la Península Ibérica y de Europa, pero sin embargo muy rara en el resto de España, donde sólo se conoce una cita de la zona centro (Esteve-Raventós, 1987) en bosque de *Pinus sylvestris*.

***Russula thyrrhenica*** Sarnari, *Boll. Gruppo Micol. G. Bresadola, Trento* 27: 282, 1984. (Fig. 31-35).

Material estudiado: Tamajón, bajo *Cistus ladanifer*, 25-X-90, leg. G. Moreno & M. Heykoop, H.AH 12773.

Presenta sombreros pequeños, de 3-5.5 cm de diám., plano-convexos. Cutícula de color rojo-vinoso y bordes rosa-violáceos, siendo fácilmente arrastrada hasta la mitad. Margen acanalado. Pie de hasta 3 x 1 cm, curvado y de color blanquecino. Láminas de color crema pálido. Carne dulzaina, al final ligeramente picante en las láminas. Esporada crema ocrácea. IId según la tabla de Romagnesi (1985). Presenta la pileipellis con abundantes hifas primordiales incrustadas y septadas, entremezcladas con otras estructuras intermedias entre dermatocistidios e hifas primordiales, sin incrustaciones y con reacción dudosa a los reactivos sulfoaldehídicos como indica Sarnari (1984). Esporas ovales, de 9-10 x 6.5-7 µm, crestado-reticuladas. Al M.E.B. se aprecia bien la ornamentación reticulada a subreticulada, con zonas más gruesas y bien marcadas.

*Russula thyrrhenica* es una especie mediterránea descrita de Italia (Cerdeña) y que aparece fuertemente ligada al género *Cistus*. Solamente se conoce en España de las Islas Baleares (Llistosela, 1991).

***Russula vinosopurpurea*** J. Schaeff., *Russula-monografie*: 260, 1952. (Fig. 36-42).

Material estudiado: Riba de Santiuste, bajo *Quercus pyrenaica*, 30-IX-91, leg. M. de la Cruz, H.AH 14162.

El material examinado presenta el sombrero con un color rojizo púrpura a melocotón con zonas maculadas dejando entrever coloraciones ocráceas, pie blanco y láminas ocráceas. Esporada ocrácea, IV c según la tabla de Romagnesi (1985). Tiene un sabor acre y pileipellis con abundantes dermatocistidios pluriseptados, cilíndricos y con un contenido pardo vinoso. Esporas de 7-9 x 6-7 µm, ovoides a elipsoidales y provistas de gruesas espinas muy prominentes de hasta 2 µm de longitud y 1 µm de anchura.

Ha sido recolectada con anterioridad solamente en el País Vasco (Anónimo, 1981).

***Tephroclybe mephitica*** (Fr.) Moser, *Röhrlinge. Blätterpilze*, 3. Aufl.: 115, 1967.

Material estudiado: Tamajón, entre briófitos en bosque mixto de *Quercus rotundifolia* y *Juniperus thurifera*, 25-X-90, leg. G. Moreno & M. Heykoop, H.AH 13484.

Nuestro material presenta el sombrero convexo a aplanado-convexo, de 0.8-1.8 cm de diám., blanquecino-grisáceo, recubierto por una pruinosidad blanca. Pie de 2-4.5 x 0.2-0.4 cm, grisáceo, recubierto totalmente por una pruinosidad blanquecino-grisácea más o menos concolora al sombrero y que se quita al frotar. Láminas adnatas, pardo claro a grisáceas. Olor fuertemente farinoso. Esporas de 4-5 x 2.5-3 µm, subglobosas a

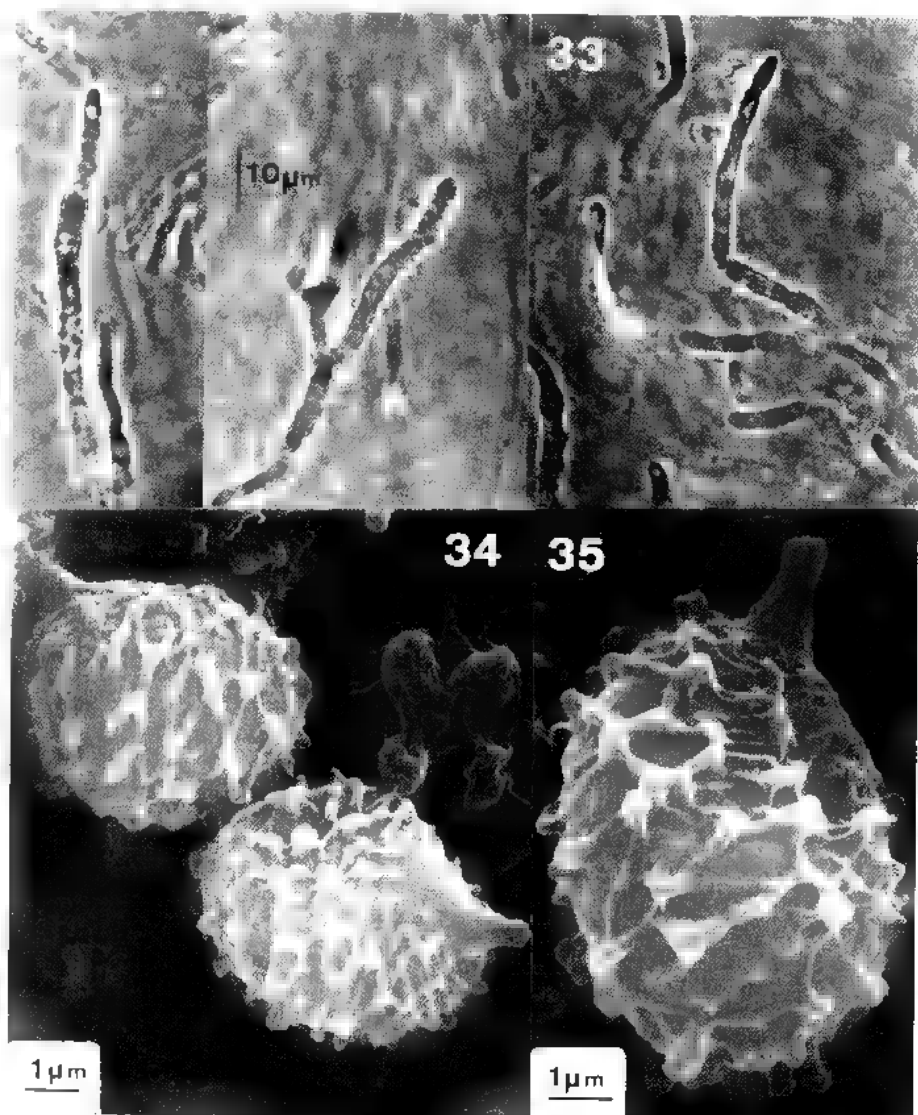


Fig. 31-35. *Russula thyrrhenica* Samari (H.AH 12773). 31-33: Pileipellis. 34-35: Esporas.

clipsoidales, pequeñas, lisas, hialinas y no amiloides. Basidios de 18-27 x 4-5  $\mu$ m, tetraspóricos, claviformes, con granulación carminófila en su interior. Cistidios nulos. Fíbulas presentes.

Se trata de una rara especie que ha sido interpretada de diferentes maneras (Nowsher et al., 1976) y que en la actualidad no parece aún del todo aclarada (Gubitz, 1986). En cualquier caso nuestro material encaja perfectamente con la plancha 45 B de

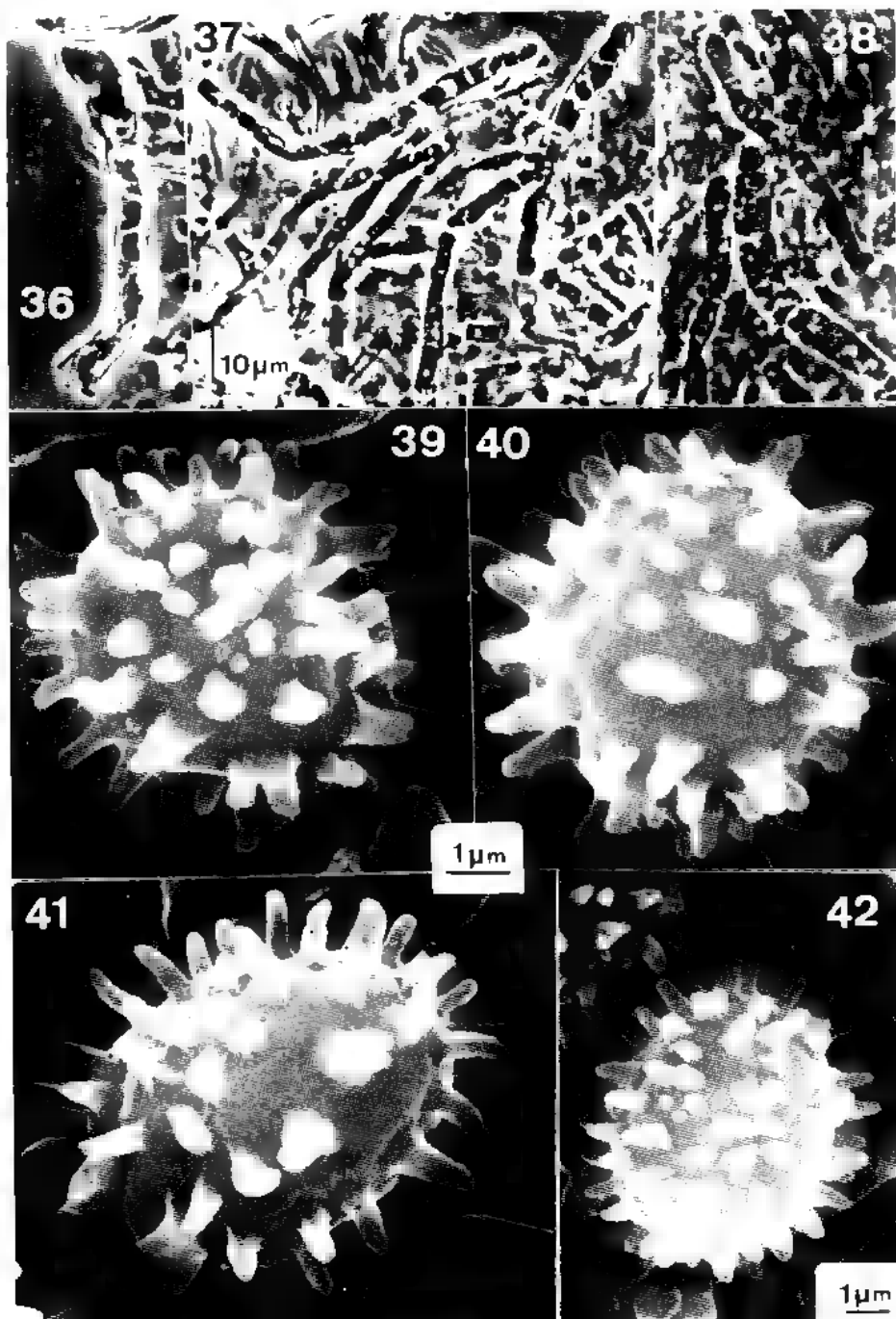


Fig. 36-42. *Russula vinosopurpurea* J. Schaeff. (H.AH 14162). 36-38: Pileipellis. 39-42: Esporas.



Lange (1936). En nuestro país sólo ha sido citado de Cataluña como *Collybia mephitica* por Maire (1937).

#### AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento al Dr. Arnolds por la confirmación de *Entoloma undulatosporum*. A A. Priego por su colaboración en microscopía electrónica. A Nikon Co. (Rego & Cia., S.A., Madrid) por sus consejos fotográficos.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALESSIO C.L., 1985 - *Fungi Europaei* 2. *Boletus* Dill. ex L. (*sensu lato*). Saronno, Libreria editrice Biella-Giovanna. 712 p.
- ANONIMO, 1981 - *Catálogo micológico del País Vasco*. San Sebastián, Sec. Micol. Soc. Aranzadi.
- ARNOLDS E., 1982 - Ecology and coenology of macrofungi in grasslands and moist heathlands in Drenthe, the Netherlands part 2 & 3. *Bibliotheca Mycologica* 90: 1-501.
- ARNOLDS E., 1990 - Tribus *Hygrocybeae* (Kühner) Bas & Arnolds. In: C. Bas, Th.W. Kuyper, M.E. Noordeloos & E.C. Vellinga, *Flora Agaricina Neerlandica* Vol. 2. Rotterdam, A.A. Balkema: 70-115.
- BARRIO L., MORENO G. y RON M.E., 1985 - Contribución al estudio de los hongos que fructifican sobre los briófitos de las comunidades higroturbosas del Sistema Central (Guadarrama y Ayllón). *Bol. Soc. Micol. Castellana* 9: 73-102.
- BERTAULT R., 1982 - Contribution à la flore mycologique de la Catalogne. *Acta Bot. Barcinon.* 34: 1-35.
- BLANCO M.N., 1985 - Contribución al estudio de los hongos que fructifican en *Quercus pyrenaica* Willd. procedentes de Majaclarayo (Guadalajara). Univ. De Alcalá de Henares, Fac. de Ciencias. Sección de Biológicas. Tesis de licenciatura. (Inéd.)
- BLANCO M.N. y MORENO G., 1986 - Contribución al estudio de los hongos que fructifican en el melojar (*Quercus pyrenaica*) de Majaclarayo (Guadalajara). *Bol. Soc. Micol. Madrid* 11: 39-58.
- BOERTMANN D., 1990 - Nye danske vokshatte. *Svampe* 22: 27-31.
- BON M., 1990 - Flore Mycologique d'Europe 1. Les Hygrophores. *Doc. Mycol., Mém. Hors-Sér.* 1. *Hygrophoraceae* Lotsy. 99 p.
- CANDUSSO M. e LANZONI G., 1990 - *Fungi Europaei* 3. *Lepiota* s.l. Saronno, Libreria editrice Giovanna Biella. 743 p.
- CAPPELLI A., 1983 - Il genere *Agaricus* L. ex Fr. ss. Karst. Sezione "Rubescentes" dei boschi. *Boll. Gruppo Micol. G. Bresadola, Trento* 26: 4-38.
- CAPPELLI A., 1984 - *Fungi Europaei* 1. *Agaricus* L.: Fr. ss. Karsten (*Psalliota* Fr.). Saronno, Libreria editrice Biella-Giovanna, 560 p.
- CLÉMENCON H., 1982 - Type studies and typification in *Lyophyllum* (Agaricales) I. Staining species. *Mycotaxon* 15: 67-94.
- ENGEL H., KRIEGLSTEINER G.J., DERMEK A. und WATLING R., 1983 - *Dickröhrlinge. Die gattung Boletus in Europa*. Coburg, H. Engel. 157 p.
- ESTEVE-RAVENTOS F., 1987 - Contribución al conocimiento taxonómico, ecológico y corológico del orden Agaricales s.l. (Basidiomycotina) en el Sistema Central (provincias de Madrid y Segovia). Univ. de Alcalá de Henares, Fac. Farmacia. Tesis doctoral. (Inéd.)

- GARCIA BONA L.M., 1982 - Contribución al conocimiento de la flora micológica de Navarra IV. *Anales Estac. Exp. Aula Dei* 16(1-2): 5-39.
- GARCIA BONA L.M., 1987 - *Catálogo micológico de Navarra. Cuad. Secc. Ci. Nat.* 3: 9-287.
- GUBITZ C., 1986 - Über einen bemerkenswerten Fund von *Lyophyllum mephiticum* (Fr.) Mos. mit wurzeindem Stiel. *Z. Mykol.* 52: 85-90.
- HØILAND K., 1983 - *Cortinarius* subgenus *Dermocybe*. *Opera Bot.* 7: 1-113.
- KÜHNER R., 1935 - Le genre *Galeru*. Paris, P. Lechevalier.
- LANGE J.E., 1936 - *Flora Agaricina Danica* Vol. 2. Copenhagen. 105 p.
- LLISTOSELLA J., 1991 - *Russulaceae*, notes floristiques. *Bull. Soc. Catalana Micol.* 14-15: 67-76.
- LOPEZ DE LOS MOZOS A.I., 1982 - Contribución al estudio de los hongos de la comarca de "La Sierra" (Guadalajara). Univ. Complutense de Madrid, Fac. de Farmacia. Tesis de licenciatura. (Inéd.)
- LOPEZ DE LOS MOZOS A.I. y CALONGE F.D. 1982 - Aportación al catálogo micológico de la provincia de Guadalajara. *Bol. Soc. Micol. Castellana* 7: 95-104.
- MAIRE R., 1937 - Fungi Catalaunici. Contribution à l'étude de la flore mycologique de la Catalogne. *Publ. Inst. Bot. Barcelona* 3: 1-128.
- MALENÇON G. et BERTAULT R., 1971 - Champignons de la péninsule Ibérique. II. Liste et répartition des champignons présentés à l'exposition de Barcelona les 8 et 9 novembre 1969. *Acta Phytotax. Barcinon.* 8: 69-94.
- MALENÇON G. et BERTAULT R., 1976 - Champignons de la péninsule Ibérique. V. Catalogne, Aragon, Andalousie. *Acta Phytotax. Barcinon.* 19: 1-68.
- MENDEZA R. y DIAZ G., 1988 - *Las setas*. Guía fotográfica y descriptiva. Vizcaya. Sección de Micología de Iberduero. 932 p.
- MORENO G., 1976 - Estudio sistemático, ecológico y corológico del orden Agaricales (Basidiomycetes) en España. Fac. de Farmacia, Univ. Complutense de Madrid. Tesis doctoral. (Inéd.)
- MOSER M., 1983 - Die Röhrlinge und Blätterpilze. *Kleine Kryptogamen flora* Band IIb/2. 5 Aufl. Stuttgart, New York, Gustav Fisher Verlag. 533 p.
- MOSER M. & JÜHLICH W., 1987 - *Farbatlas der Basidiomyceten* (lám. 2). Stuttgart, New York, Gustav Fisher Verlag.
- MOSER M. & JÜHLICH W., 1989 - *Farbatlas der Basidiomyceten* (lám. 4). Stuttgart, New York, Gustav Fischer Verlag.
- NOORDELOOS M.E., 1980 - *Entoloma* subgenus *Nolanea* in the Netherlands and adjacent regions with a reconnaissance of its remaining taxa in Europe. *Persoonia* 10: 427-534.
- NOORDELOOS M.E., 1984 - Studies in *Entoloma*. *Persoonia* 12: 195-223.
- NOORDELOOS M.E., 1988 - *Entolomataceae* Kottl. & P. In: C. Bas, Th. W. Kuyper, M.E. Noordeloos & E.C. Vellinga, *Flora Agaricina Neerlandica* Vol. 1. Rotterdam, A.A. Belkema: 77-177.
- NOWSHER A. KHAN A.Z.M. and HORA F.B., 1976 - New British records of *Tephroclype mephitica*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 67: 358-360.
- REDHEAD S.A. and SINGER R., 1978 - On *Calocybe* names. *Mycotaxon* 6: 500-502.
- ROMAGNESI H., 1985 - *Les Russules d'Europe et d'Afrique du Nord*. Vaduz, J. Cramer. 1030 p.
- ROMAGNESI H., 1989 - Quelques synonymies méconnues. *Bull. Soc. Mycol. France* 105: 253-257.
- SARNARI M., 1984 - *Russula* nuove o interessanti dell'Italia centrale e mediterranea. 1° Contributo. *Boll. Gruppo Micol. G. Bresadola, Trento* 27: 282-288.

- SINGER R., 1943 - Das system der Agaricales III. *Ann. Mycol.* 41: 1-189.
- SINGER R., 1947 - Champignons de la Catalogne. Espèces observées en 1934. *Collect. Bot. (Barcelona)* 1: 199-246.
- SINGER R., 1990 - *Clitocybe obsoleta*. *Z. Mykol.* 56: 5-7.
- VIDAL J.M. i PASCUAL R., 1989 - *Boletus pulchrotinctus* Alessio. (lám. 353). In: *Bolets de Catalunya* Vol. VIII. Barcelona, Societat Catalana de Micologia.
- WATLING R., 1982 - *British Fungus Flora. Agarics and Boleti.* 3. *Bolbitaceae: Agrocybe, Bolbitius & Conocybe*. Edinburg, Royal Botanic Garden. 139 p.



## ELECTROPHORETIC ISOENZYME PATTERNS OF SOME YEAST STRAINS USED IN WINE INDUSTRY

Simone PONCET, Robert MONTROCHER and Andrée COUBLE

Institut de Chimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université Cl.  
Bernard - LYON I, 43 Boulevard du 11 novembre 1918,  
69622 - VILLEURBANNE Cedex, France.

**ABSTRACT** - 12 strains of *Saccharomyces cerevisiae* sensu Yarrow (1984) were studied by gel electrophoresis for 11 isofunctional enzymes. These enzymes included three oxidoreductases (alcohol dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, malate dehydrogenase), seven hydrolases (alkaline and acid phosphatases, and various esterases -  $\alpha$  and  $\beta$  naphthyl acetate,  $\beta$  naphthyl propionate,  $\alpha$  naphthyl butyrate, indoxyl acetate) and one lyase (aldolase). Polymorphism was evident for most of the enzymes tested, and each strain had a unique pattern when all enzymes were considered. The numerical analysis of the electrophoretic patterns supported the conclusion that all strains were physiological variants of a single taxon. Enzyme electrophoresis was confirmed to be a useful criteria in clarifying taxonomic relationship in yeasts.

**RÉSUMÉ** - Le comportement enzymatique de 12 souches de *Saccharomyces cerevisiae* sensu Yarrow (1984) utilisées dans l'industrie du vin a été analysé par électrophorèse en gel de polyacrylamide. L'investigation a porté sur 11 enzymes différentes: trois oxydo-réductases (alcool déshydrogénase, glucose-6-phosphate déshydrogénase, malate déshydrogénase), sept hydrolases (phosphatases acide et alcaline, et diverses estérases -  $\alpha$  et  $\beta$  naphthyl acétate,  $\beta$  naphthyl propionate,  $\alpha$  naphthyl butyrate, indoxyl acétate) et une lyase (aldolase). Le polymorphisme est évident pour la plupart des enzymes recherchées et un profil caractéristique peut être rapporté à chaque souche. L'analyse numérique des profils enzymatiques permet de conclure que toutes les souches étudiées sont en fait des variants physiologiques d'un seul et même taxon. Cette étude confirme la valeur chimiotaxonomique du critère électrophorétique pour la classification des levures.

**KEY WORDS** : Isoenzymes, *Saccharomyces cerevisiae*, taxonomy, yeasts.

### INTRODUCTION

Commercially produced strains of yeast are being widely utilize in the wine industry. Although many factors are involved to determine the qualities of alcoholic beverages, the yeast contribute significantly to the development of their flavor or aroma as well as their organic composition.

Consequently, seeding with dry yeasts, made it necessary to assess more accurately the characterization of these new selected microorganisms. As most of the strains belong to the *Saccharomyces cerevisiae* group, conventional criteria such as morphological and physiological tests commonly employed in yeast taxonomy are not always reliable.

More advanced techniques including serology (Tsuchiya et al., 1965, 1974; Montrocher, 1982), DNA base composition (Nakase & Komagata, 1971; Poncet & Fiol, 1972), proton magnetic resonance spectra of the mannans components (Spencer & Gorin, 1969), co-enzyme Q system (Yamada et al., 1976, 1977), cytochrome spectra (Montrocher & Claisse, 1987) have been applied successfully for yeast characterization.

More recently, electrophoresis of total soluble cell proteins (Van Vuuren & Van Der Meer, 1987; Degré et al., 1989) or macromolecules excreted (Bouix & Leveau, 1983) have been used to distinguish between yeast strains, as well as chromosome electrophoresis (Lalande et al., 1987; Degré et al., 1989; Kaneko & Banno, 1991) or long-chain fatty acid composition (Cottrell et al., 1986; Trédoux et al., 1987; Viljoen et al., 1988).

Comparisons of nucleic acids such as nuclear DNA/DNA reassociation (Meyer & Phaff, 1972; Price et al., 1978; Vaughan Martini & Kurtzman, 1985; Vaughan Martini & Martini, 1987; Kurtzman, 1989a; Kaneko & Banno, 1991) as well as DNA fingerprinting (Pedersen, 1986; Degré et al., 1989), fragment patterns of mitochondrial DNA (Mac Arthur & Clark-Walker, 1983; Dubourdicu et al., 1987) or sequences of 18S and 25S RNA molecule (Lane et al., 1985; Kurtzman, 1989b; Kurtzman & Robnett, 1988, 1991) provide insight into the yeast taxonomy.

Electrophoretic comparison of isoenzymes is a current approach of molecular taxonomy. Such analysis have been applied in various fields: bacteria (Faure-Raynaud et al., 1990), fungi (Chen et al., 1991) and yeasts (Sidenberg & Lachance, 1983; Yamazaki & Komagata, 1981, 1982, 1983; Yamazaki et al., 1983; Yamazaki & Goto, 1985; Yamada & Nagakawa, 1988).

In the present paper, twelve commercial strains of *Saccharomyces cerevisiae*, from various origin and commonly used in wine industry were investigated for electrophoretic enzymes comparison.

## MATERIALS and METHODS

### 1. Microorganisms studied:

Twelve yeast strains were investigated. They all belonged to the species *Saccharomyces cerevisiae* (sensu Yarrow, 1984). They were obtained from Dr. Cuinier (Institut Technique du Vin, Tours, France). The strains, their sources and origin are listed in Table 1.

### 2. Preparation of free-cell extracts:

The strains were grown aerobically on GYP liquid medium containing glucose 5g.l<sup>-1</sup>, yeast extract 2g.l<sup>-1</sup> and bacto-peptone 2g.l<sup>-1</sup>, for 24 hr on a rotary shaking table, at 25°C.

The cells were harvested by centrifugation at 10,000g (4°C) for 15 mn, and the pellets were washed three times in distilled water.

Cells were disrupted with 0.5 mm glass beads in a Braun homogenizer for 3mn in Tris-HCl 0.06M pH 6.8 with chilling in ice.

The extracts were centrifugated at 10,000g for 15 mn at 4°C and the supernatants centrifuged again for 2 hrs using the Ti rotor of a Beckman ultracentrifuge at 100,000g. The enzyme preparations were stored at -20°C until analysis.

Table 1: Strains of *Saccharomyces cerevisiae* studied.  
 Tableau 1: Souches de *Saccharomyces cerevisiae* étudiées.

STRAINS TESTED		SOURCE	TRADE MARK
Strain	A	I.T.V. *, L-12	Joc-Lalvin
Strain	B	I.T.V., L-105	Lalvin
Strain	C	I.T.V., L-1090	Lalvin
Strain	D	I.T.V., L-311	Fermivin
Strain	E	I.T.V., L-395	Fermichamp
Strain	F	I.T.V., L-434	Levuline
Strain	G	I.T.V., L-448	Levuline
Strain	H	I.T.V., L-1077	SB-1
Strain	I	I.T.V., L-2056	L-2056
Strain	J	I.T.V., L-2266	L-2266
Strain	K	I.T.V., L-28	L-28
Strain	L	I.T.V., L-905	L-905

\* I.T.V. = Institut Technique du Vin, Tours, France.

Protein rate was determined by the Bradford method (1976), with BSA as standard.

### 3. Enzyme systems tested:

Eleven enzymes were examined: aldolase (ALD; EC 41213), alcohol deshydrogenase (ADH; EC 1111), glucose-6-phosphate deshydrogenase (G6PD; EC 11149); malate deshydrogenase (MDH; EC 11137), acid phosphatase (ACP; EC 3132), alkaline phosphatase (AKP; EC 3131) and esterases (EC 3111)  $\alpha$ -naphthyl acetate (EST 1), indoxyl acetate (EST 2),  $\beta$ -naphthyl acetate (EST 3),  $\beta$ -naphthyl propionate (EST 4) and  $\alpha$ -naphthyl butyrate (EST 5).

All first six enzymes were chosen for their location on the main pathways for carbohydrate metabolism; the last one (esterases) for the great polymorphism they showed in a lot of microorganisms.

#### 4. Polyacrylamide gel electrophoresis:

Protein samples were submitted to vertical electrophoresis on a 1.5 mm thick, 7.5% non denaturing polyacrylamid gel overlaid with a 4.5% polyacrylamide stacking gel using the discontinuous buffer system of Laemmli (1970).

The concentrations of protein preparations were adjusted for each enzyme tested (50 to 200 µg/100µl) in order to obtain the best resolution and equal volumes of sample buffer (30µl) were loaded into each lane of the gel.

Electrophoresis was carried out at 10°C with a constant 15 mA current per slab until the tracking dye (bromophenol blue) reached the bottom of the gel.

#### 5. Staining procedures of enzymes:

After electrophoresis, the gel slabs were placed directly into substrate solutions for the revelation of enzymatic activity. Histochemical reactions on the polyacrylamide gel were similar to those described in Pasteur et al. (1987).

#### 6. Numerical analysis:

The relative electrophoretic mobilities (Rm) of the enzyme bands were calculated as the ratio of the distance-migration of the enzyme from the origin to that of the tracking dye.

The different patterns (i.e. electromorphs) observed for each enzyme were numbered from decreasing anodal mobility, and the electromorph diversity (H) estimated by the H coefficient. ( $H = 1 - \sum x_i^2$ , where i is the frequency of the ith electromorph).

Jaccard similarity coefficients for all possible pairs of isolates were calculated according to Gardes et al. (1987) and the relatedness between the strains determined by the UPGMA method - Unweighted Pairwise Grouping Mathematical Average - (Ping-ung Li, 1981) that was then used to generate a dendrogram (Sneath & Sokal, 1973).

### RESULTS

Zymograms of the twelve *Saccharomyces cerevisiae* strains tested are illustrated in schematic diagrams (Fig. 1).

All strains exhibited activity for all the enzymes studied. The number of electromorphs observed per enzyme as well as the electromorph diversity are showed in Table 2.

The Rm of aldolase (ALD) ranged from 0.18 to 0.38. Strains D and E showed two isoenzymes bands and strain F eight. Nine distinct electromorphs were noted with a H diversity of 0.88.

The Rm of alcohol deshydrogenase (ADH) were distributed from 0.19 to 0.45. Two bands (strain I) to ten (strain G) were observed, leading to ten different electromorphs (H= 0.89).

Glucose-6-phosphate deshydrogenase (G6PD) showed four isoenzyme bands very narrowly ranged (Rm 0.27 to 0.30) and most of the strains exhibited only one band (0.28 or 0.30) common respectively to eight or seven strains. Six electromorphs were observed (H= 0.81).



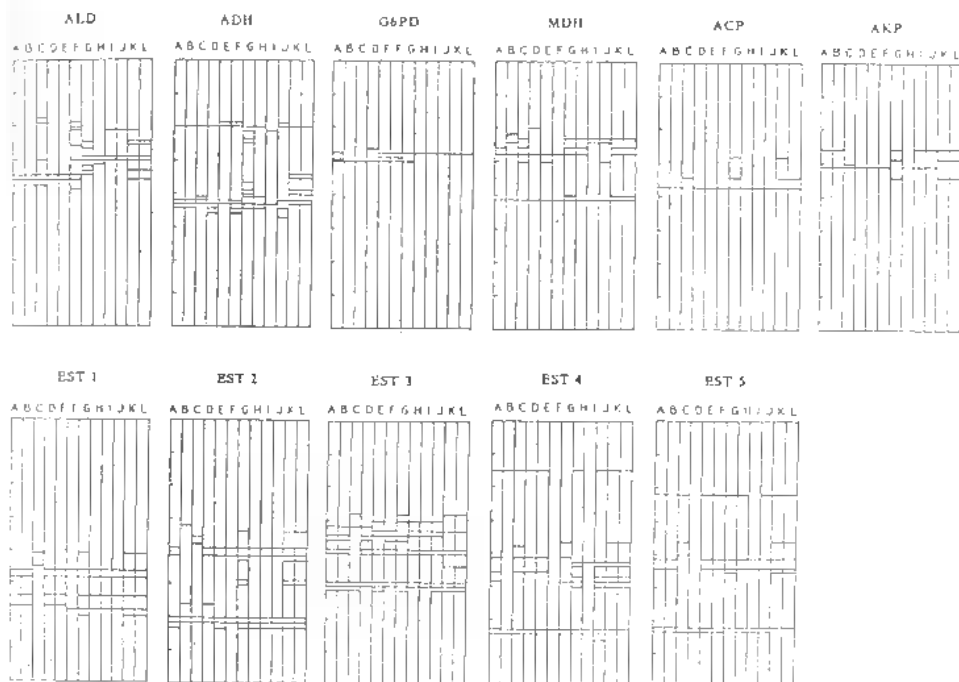


Figure 1: Diagram of the zymogram patterns of the 12 *Saccharomyces cerevisiae* strains studied.

Figure 1: Diagramme des profils enzymatiques des 12 souches de *Saccharomyces cerevisiae* étudiées.

Malate deshydrogenase (MDH) gave nine different bands ranged from Rm 0.20 to 0.41. Two bands (strain F) to five (strains C,G,K,L) were detected in one yeast leading to a great diversity of electromorphs ( $H=0.87$ ).

From all the enzymes tested, acid and alkaline phosphatases (ACP and AKP) exhibited the less high diversity with respectively three and four distinct electromorphs. Rm were distributed from 0.28 to 0.37 (ACP) and from 0.26 to 0.34 (AKP), no more than three different isoenzymes bands - and often only one - being detected in the strains.

Esterases showed the more anodal mobilities of all the enzymes studied. The Rm were widely ranged from 0.41 to 0.60 (EST 1), 0.32 to 0.63 (EST 2), 0.28 to 0.51 (EST 3), 0.15 to 0.65 (EST 4) and 0.22 to 0.63 (EST 5). The lowest diversity was observed for EST 2 ( $H=0.74$ ) and the highest for EST 4 with 10 distinct electromorphs ( $H=0.89$ ).

## DISCUSSION

As shown in Figure 1 and Table 2, all strains of *Saccharomyces cerevisiae* tested exhibited a great diversity of electrophoretic isoenzymes banding patterns, thus suggesting a large strain heterogeneity. This diversity was clearly underlined for enzymes such as ALD, ADH, MDH or EST 3, 4, where eight to ten different electro-

Table 2: Electromorph diversity of enzymes.

Tableau 2: Diversité des profils électrophorétique des enzymes.

Strains	ALD	ADH	G6PD	MDH	ACP	AKP	EST1	EST2	EST3	EST4	EST5
A	2	4	2	6	1	4	4	1	1	6	4
B	2	4	4	9	1	4	4	6	1	10	4
C	3	6	4	3	2	3	5	5	5	9	6
D	4	2	5	10	1	2	4	2	7	8	1
E	4	10	1	2	1	2	4	1	2	8	4
F	1	3	1	5	1	2	3	4	6	2	4
G	9	7	3	1	3	1	1	3	4	7	3
H	7	5	6	7	1	2	2	1	8	4	4
I	8	8	6	3	1	4	2	1	6	3	2
J	8	1	6	4	1	4	2	1	2	1	4
K	6	9	6	1	3	1	1	3	3	5	5
L	5	9	6	1	2	1	1	3	3	5	5
n° of strains	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
electromorphs	9	10	6	10	3	4	5	6	8	10	6
H diversity	0,88	0,89	0,81	0,87	0,51	0,71	0,75	0,74	0,86	0,89	0,77

morphs were detected with high H diversity coefficients narrowly ranged (0.86 to 0.89). However, this suggested heterogeneity was less obvious with enzymatic systems such as ACP or AKP which exhibited only three or four distinct electromorphs and low H coefficients (0.51 and 0.71 respectively).

When examined on the basis of precise conventional taxonomic criteria (Martins et al. 1990; Barnett et al., 1991), the main difference between all these yeasts was the assimilation of galactose, positive in strains B, C, D, G, I, J and L and negative in strains A, E, F, H and K. So, according to Van Der Walt (1970) they could be assigned into two clusters, the first ones in a "*Saccharomyces cerevisiae*" sub-group, and the last ones in a "*Saccharomyces bayanus*" sub-group.

To determine further the extend of relatedness between all the strains studied, the triangular matrix of Jaccard similarity coefficients was established (Table 3). The strains, all together, exhibited a relatively low similarity coefficient (0.14), the highest -0.82- being K/L ("*S. bayanus*" / "*S. cerevisiae*"), and the lowest -0- ("*S. cerevisiae*" strain C/ all other strains, B excepted). The so-called "*S. bayanus*" strains were found related to 0.19 average, with a range of distribution from 0 (K/A, E, F) to 0.36 (E/F). The so-called "*S. cerevisiae*" strains were also divergent with an average similarity coefficient of 0.09, with values from 0 (C/ other "*S. cerevisiae*" strains, B excepted) to 0.54 (I/J).

Indeed, "*S. cerevisiae*" and "*S. bayanus*" strains were widely overlapping and our results agreed quite well with numerical analysis -85 to 90% similarity between these two yeasts- (Campbell, 1972), cell wall antigenic structure -antigens 1, 10, 18, 2, 3, 14, 31 - (Tsuchiya et al., 1974), G + C content -38.8 to 40.2- (Nakase & Komagata, 1971) or pulsed field electrophoresis (Kaneko & Banno, 1991) and confirmed conclusions of Yarrow (1984) who considered *S. cerevisiae* and *S. bayanus* as synonyms.

Referring to the triangular matrix, similarity average values were calculated by the UPGMA method, and strains were included in the resulting dendrogram (Fig. 2).

Table 3: Matrix of pairwise Jaccard similarity coefficient between strains.  
 Tableau 3: Matrice des coefficients de similarité inter-souches (coefficients de Jaccard)

Strains	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
A	1,00											
B	0,14	1,00										
C	0,00	0,09	1,00									
D	0,18	0,18	0,00	1,00								
E	0,36	0,27	0,00	0,36	1,00							
F	0,18	0,18	0,00	0,18	0,36	1,00						
G	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00					
H	0,27	0,18	0,00	0,18	0,36	0,27	0,00	1,00				
I	0,27	0,18	0,00	0,09	0,18	0,09	0,00	0,45	1,00			
J	0,36	0,27	0,00	0,09	0,36	0,18	0,00	0,36	0,54	1,00		
K	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,09	0,09	0,09	1,00	
L	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,09	0,09	0,09	0,82	1,00

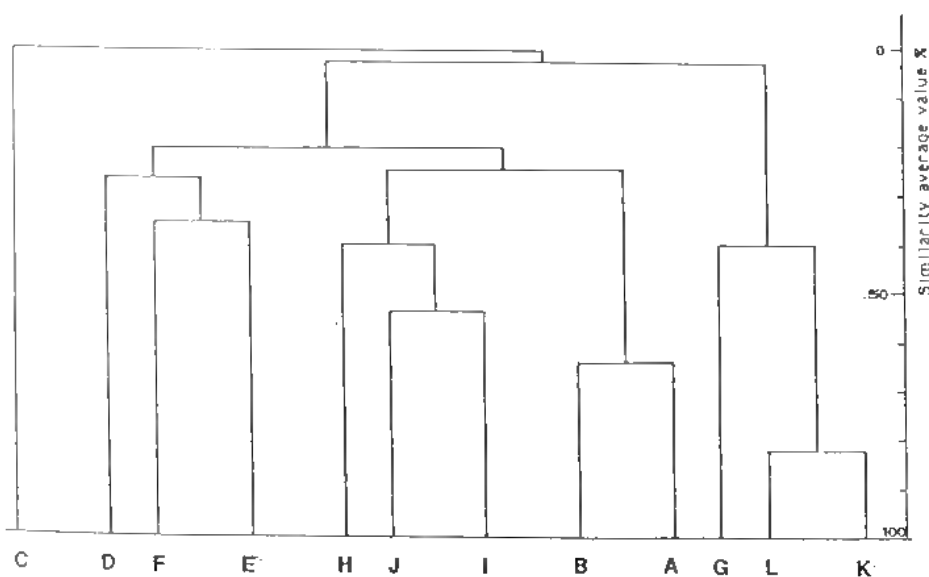


Figure 2: Dendrogram of 12 *Saccharomyces cerevisiae* strains studied on the basis of similarity average values (UPGMA method).

Figure 2: Dendrogramme des 12 souches de *Saccharomyces cerevisiae*, établi à partir des coefficients de similarité (calcul UPGMA).

With the exception of strain C, all other strains could be assigned into two clusters, the first one including strains G, L and K and the second one the remaining yeasts. In the first cluster, strains K ("*S. bayanus*") and L ("*S. cerevisiae*") revealed a high similarity value (82%) and were related to strain G ("*S. cerevisiae*") at 40% matching coefficient. In the second cluster, strain A ("*S. bayanus*") and B ("*S. cerevisiae*") were the most closely related (64%). Strains I and J ("*S. cerevisiae*") matched at 54% and were both related to strain H ("*S. bayanus*") -36% of similarity average value- were related to strain D ("*S. cerevisiae*") at 27%; it was

approximately the same -25.5%- for A, B/ H, I, J, while all the strains here included matched at 21%. No relationship closer than 3% matching was noted between these two clusters, while strain C ("*S. cerevisiae*") matched no more 1% with both them. So, numerical analysis clearly showed mutually wide matching coefficient between all these yeasts without allowing an obvious discrimination into two separate taxa.

However, when examined for deoxyribonucleic acid relatedness, *S. cerevisiae* and *S. bayanus* showed non substantial DNA homology -5% (Vaughan-Martini & Kurtzman, 1985; Vaughan Martini & Martini, 1987, Kaneko & Banno, 1991). Further, Kurtzman & Robnett (1991) reported distinct partial sequences of 18S and 25S ribosomal RNA for these two species. So, even if some differences can be shown among these yeasts, all the strains here investigated must be considered merely as physiological variants of a same species, *S. cerevisiae*.

### CONCLUSION

As an evidence, yeast classification mainly based on phenotypic characters such as morphological and physiological properties or biochemical reactions is not always satisfactory, especially in the delineation of closely related organisms. Because of strain variability in standard hydrocarbon assimilation and fermentation tests, the *Saccharomyces sensu stricto* species offer a good example of this problem. Molecular biology techniques such as electrophoretic comparison of enzymes or total soluble cell proteins as well as nuclear DNA reassociations, restriction patterns of mitochondrial DNA or sequences of larger ribosomal RNA may provided increased informations to assess more accurately relatedness among species.

### REFERENCES

- BARNETT J.A., PAYNE R.W. and YARROW D., 1991 - *Yeasts: characteristics and identification*. Cambridge, 2 nd Ed., Cambridge University Press, 1002 p.
- BOUIX M. and LEVEAU J.Y. , 1983 - Electrophoretic study of the macromolecules compounds excreted by yeasts: applications to differentiation between strains of the same species. *Biotechnol. & Bioengin.* 25: 133-142.
- BRADFORD M., 1976 - A rapid method for the quantification of microorganism quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochem.* 72: 248-254.
- CAMPBELL I., 1972 - Numerical analysis of the genera *Saccharomyces* and *Kluyveromyces*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 73: 279-301.
- CHEN W., HOY J.W. and SCHNEIDER R.W., 1991 - Comparisons of soluble proteins and isoenzymes for seven *Pythium* species and applications of the biochemical data to *Pythium* systematics. *Mycol. Res.* 95: 548-555.
- COTTRELL M., KOCK J.L.F., LATEGAN P.M. and BRITZ T.J., 1986 - Long-chain fatty acid composition as an aid in the classification of the genus *Saccharomyces*. *Syst. Appl. Microbiol.* 8: 166-168.
- DEGRÉ R., THOMAS D.Y., ASH J., MAILHIOT K., MORIN A. and DUBORD C., 1989 - Wine yeast strains identification. *Amer. J. Enol. Vitic.* 40: 309-315.
- DUBOURDIEU D., SOKOL A., ZUCCA J., THALOUARN P., DATTE A. et AIGLE M., 1987 - Identification des souches isolées de vins par l'analyse de leur ADN mitochondrial. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 21: 267-278.

- FAURE-RAYNAUD M. BONNEFOY-POIRIER M.A. and MOIROUD A., 1990 - Diversity of *Frankia* strains isolated from actinorhizae of a single *Alnus rubra* cultivated in nursery. *Symbiosis* 8: 147-160.
- GARDES M., BOUSQUET J. and LALONDE M., 1987 - Isoenzyme variation among 40 *Frankia* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 1596-1603.
- KANEKO Y. and BANNO I., 1991 - Reexamination of *Saccharomyces bayanus* strains by DNA-DNA hybridization and electrophoretic karyotyping. *IFO Res. Comm.* 15: 30-41.
- KURTZMAN C.P. and ROBBETT C.J., 1988 - Phylogenetic relationships among ascomycetous yeasts determined from ribosomal RNA sequence comparisons. 7th ISY Perugia, Abstract, 115 p.
- KURTZMAN C.P., 1989a - Impact of nucleic acid comparisons on systematic mycology. *Bot. J. Linn. Soc.* 99: 3-10.
- KURTZMAN C.P., 1989b - Estimation of phylogenetic distances among ascomycetous yeasts from partial sequencing of ribosomal RNA. *Yeast* 5: 351-354.
- KURTZMAN C.P. and ROBBETT C.J., 1991 - Phylogenetic relationship among species of *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Debaryomyces* and *Schwanniomyces* determined from partial ribosomal RNA sequences. *Yeast* 7, 61-72.
- LAEMMLI U.K., 1970 - Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- LALANDE M., NOOLAND J., TURMEL C., ROUSSEAU J. and SLATER G., 1987 - Pulsed-field electrophoresis: application of a computer model to the separation of large DNA molecules. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 84: 8011-8015.
- LANE D.J., PACE B., OLSEN G.J., STAHL D.A., SOGIN M.L. and PACE N.R., 1985 - Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 82: 6955-6959.
- MAC ARTHUR C.R. and CLARK-WALKER G.D., 1983 - Mitochondrial DNA size diversity in the *Dekkera* / *Brettanomyces* yeasts. *Curr. Genet.* 7: 29-35.
- MARTINS G., MONTRUCHER R. and PONCET S., 1990 - Différenciation rapide de souches de levures de vinification par une étude de caractères morphologiques et biochimiques. *Rev. Franç. Oenol.* 126: 35-43.
- MEYER S.A. and PHAFF H.J., 1972 - DNA base composition and DNA-DNA homology studies as tools in yeast systematics. In: A. Kockova-Kratochvilova and E. Minarik, *Yeasts, models in Sciences and Technics*. Bratislava, Slovak Academy of Sciences: 375-387.
- MONTRUCHER R., 1982 - Serological relationship among sporogenous and asporogenous yeasts. *Cell. Molec. Biol.* 28: 1-13.
- MONTRUCHER R. and CLAISSE M., 1987 - Spectrophotometric analysis of some *Candida* species and related yeasts. Significance in taxonomy. *Cell. Molec. Biol.* 33: 313-323.
- NAKASE T. and KOMAGATA K., 1971 - Significance of DNA base composition in the classification of yeast genus *Saccharomyces*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 17: 227-238.
- PASTEUR N., PASTEUR G., BONHOMME F., CATALAN J. et BRITTON-DAVIDIAN J., 1987 - *Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines*. Paris, Lavoisier Tec. Doc, 217 p.
- PEDERSEN M.B., 1986 - DNA sequence polymorphism in the genus *Saccharomyces*. III Restriction endonuclease fragment patterns of chromosomal regions in brewing and other yeast strains. *Carlsberg Res. Commun.* 51: 163-183.
- PIUNG LI W.H., 1981 - Simple method for construction phylogenetic trees from distance matrix. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 78: 1085-1089.
- PONCET S. and FIOL J.B., 1972 - Taxonomy of *Kluyveromyces*: evaluation of DNA base composition. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* 38: 145-152.

- PRICE C.W., FUSON G.B. and PHAFF H.J., 1978 - Genome comparison in yeast systematics: delimitation of species within the genera *Schwanniomyces*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces* and *Pichia*. *Microbiol. Rev.* 42: 161-163.
- SIDENBERG D.G. and LACHANCE M.A., 1983 - Speciation, species delineation and electrophoretic iso-enzyme patterns of the type strains of *Kluyveromyces* Van Der Walt emend Van Der Walt. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 33: 822-828.
- SNEATH P.H. and SOKAL R.R., 1973 - *Numerical taxonomy*. San Francisco, London, Freeman and Comp.
- SPENCER J.F.T. and GORIN P.A.J., 1969 - Systematics of the genera *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Endomycopsis*, *Kluyveromyces*, *Schwanniomyces* and *Brettanomyces*: proton magnetic resonance spectra of the mannans and mannose-containing polysaccharides as an aid in classification. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* 35: 361-378.
- TREDOUX H.G., KOCK J.L.F., LATEGAN P.M. and MULLER H.B., 1987 - A rapid identification technique to differentiate between *Saccharomyces cerevisiae* strains and other yeast species in wine industry. *Amer. J. Enol. Vitic.* 38: 161-164.
- TSUCHIYA T., FUKAZAWA Y. and KAWAKITA S., 1965 - Significance of serological studies on yeasts. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 26: 1-15.
- TSUCHIYA T., FUKAZAWA Y., TAGUCHI M., NAKASE T. and SHINODA T., 1974 - Serological aspects on yeast classification. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 53: 77-91.
- VAN DER WALT J.P., 1970 - Genus *Saccharomyces* Meyen emend. Reess. In: J. Lodder, *The Yeasts, a taxonomic study*. Amsterdam, North Holland: 555-718.
- VAN VUUREN H.J.J. and VAN DER MEER, 1987 - Fingerprinting of yeasts by protein electrophoresis. *Amer. J. Enol. Vitic.* 38: 49-53.
- VAUGHAN MARTINI A. and KURTZMAN C.P., 1985 - Deoxyribonucleic acid relatedness among species of the genus *Saccharomyces sensu stricto*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 35: 508-511.
- VAUGHAN MARTINI A. and MARTINI A., 1987 - Three newly delimited species of *Saccharomyces sensu stricto*. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* 53: 77-84.
- VILJOEN B.C., KOCK J.L.F. and BRITZ T.J., 1988 - The significance of long-chain fatty acid composition and other phenotypic characteristics in determining relationships among some *Candida*, *Kluyveromyces* and *Saccharomyces* species. *Syst. Appl. Microbiol.* 10: 116-120.
- YAMADA Y., NOJIRI M., MATSUYAMA M. and KONDO K., 1976 - Co-enzyme Q system in the classification of the ascosporegenous yeast genera *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* and *Endomycopsis*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 22: 325-337.
- YAMADA Y., ARIMOTO M. and KONDO K., 1977 - Co-enzyme Q system in the classification of some ascosporegenous yeast genera in the families Saccharomycetaceae and Spermophoraceae. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* 43: 65-71.
- YAMADA Y. and NAKAGAWA Y., 1988 - An electrophoretic comparison of enzymes in strains of the Q-9 equipped species in the genus *Sporobolomyces* Kluyver et Van Niel. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 34: 289-295.
- YAMAZAKI M. and KOMAGATA K., 1981 - Taxonomic significance of electrophoretic comparison of enzymes in the genera *Rhodotorula* and *Rhodospiridium*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 31: 361-381.
- YAMAZAKI M. and KOMAGATA K., 1982 - Asporogenous yeasts and their supposed ascosporegenous states: an electrophoretic comparison of enzymes. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 28: 119-138.
- YAMAZAKI M. and KOMAGATA K., 1983 - An electrophoretic comparison of enzymes of *Hansenula* yeasts. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 29: 365-378.

- YAMAZAKI M., GOTO S. and KOMAGATA K., 1983 - An electrophoretic comparison of the enzymes of *Saccharomyces* yeasts. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 29: 305-318.
- YAMAZAKI M. and GOTO S., 1985 - An electrophoretic comparison of enzymes in the genera *Lipomyces* and *Myxozyma*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 31: 313-321.
- YARROW D., 1984 - Genus *Saccharomyces* Meyen ex Reess. In: N.J.W. Kreger Van Rij, *The yeasts, a taxonomic study*, 3rd ed., Amsterdam, Elsevier Science Publ., 379-395.





## SPANISH MYXOMYCETES. VI. FOUR INTERESTING SPECIES BELONGING TO THE STEMONITALES

G. MORENO, C. ILLANA & M. HEYKOOOP

Dpto. Biología Vegetal, Universidad de Alcalá de Henares, 28871  
Alcalá de Henares, Madrid, Spain

**ABSTRACT** - *Comatricha pellucida* sp. nov. from Spain, is described and figured. *C. afroalpina* Rammeloo, described from Africa, and *C. anomala* Rammeloo, described from Belgium, are new records from Spain. They both have a distinctive spore ornamentation, especially when observed under the scanning electron microscope. We have added photographs of *Macbrideola macrospora* (Nann.-Brem.) Ing, which was obtained in a moist chamber culture.

**RESUMEN** - Se describe e ilustra *Comatricha pellucida* sp. nov. como taxon nuevo para la ciencia, procedente de España. *C. afroalpina* Rammeloo, descrita de Africa, y *C. anomala* Rammeloo, descrita de Bélgica, constituyen nuevos registros para España. Ambas se caracterizan por tener una ornamentación esporal típica, especialmente bajo el microscopio electrónico de barrido. Aportamos fotografías de *Macbrideola macrospora* (Nann.-Brem.) Ing, obtenido en cultivo de cámara húmeda.

**KEY WORDS** : Myxomycetes, Stemonitales, *Comatricha pellucida*, *Comatricha afroalpina*, *Comatricha anomala*, *Macbrideola macrospora*.

The terminology of Dörfelt & Marx (1990) is used.

*Comatricha afroalpina* Rammeloo, *Bull. Jard. Bot. Belg.*, 53: 297, 1983 (Figs. 1-10)

Sporocarps scattered, generally a few only, stalked, 1-2mm tall. Sporophores globose, dark brown. Stalk cylindrical, reddish-blackish, fibrous at base, mostly up to 1mm long. Columella a continuation of the stalk reaching about the centre of the sporophore, its apex merging into the thick capillitium branches. Capillitium scanty, pale brown, attached perpendicularly to the columella along its whole length, branches thick and anastomosing freely, especially towards the periphery, forming an incomplete surface net. Spores globose, pale brown, 8-10  $\mu\text{m}$  diam., baculate/warted all over (SEM shows baculae with lobed apices).

All the collections were obtained in moist chamber culture. The identities of specimens AH 12085 and 12871 were confirmed by Dr. Rammeloo. Collection AH 13285 has ellipsoid spores which are up to 11  $\mu\text{m}$  diam.

The outstanding characters of this species are the structure of the capillitium and spores. The capillitium is differentiated into strong primary branches which ramify in thinner filaments, anastomosing especially near the periphery. The spores are pale

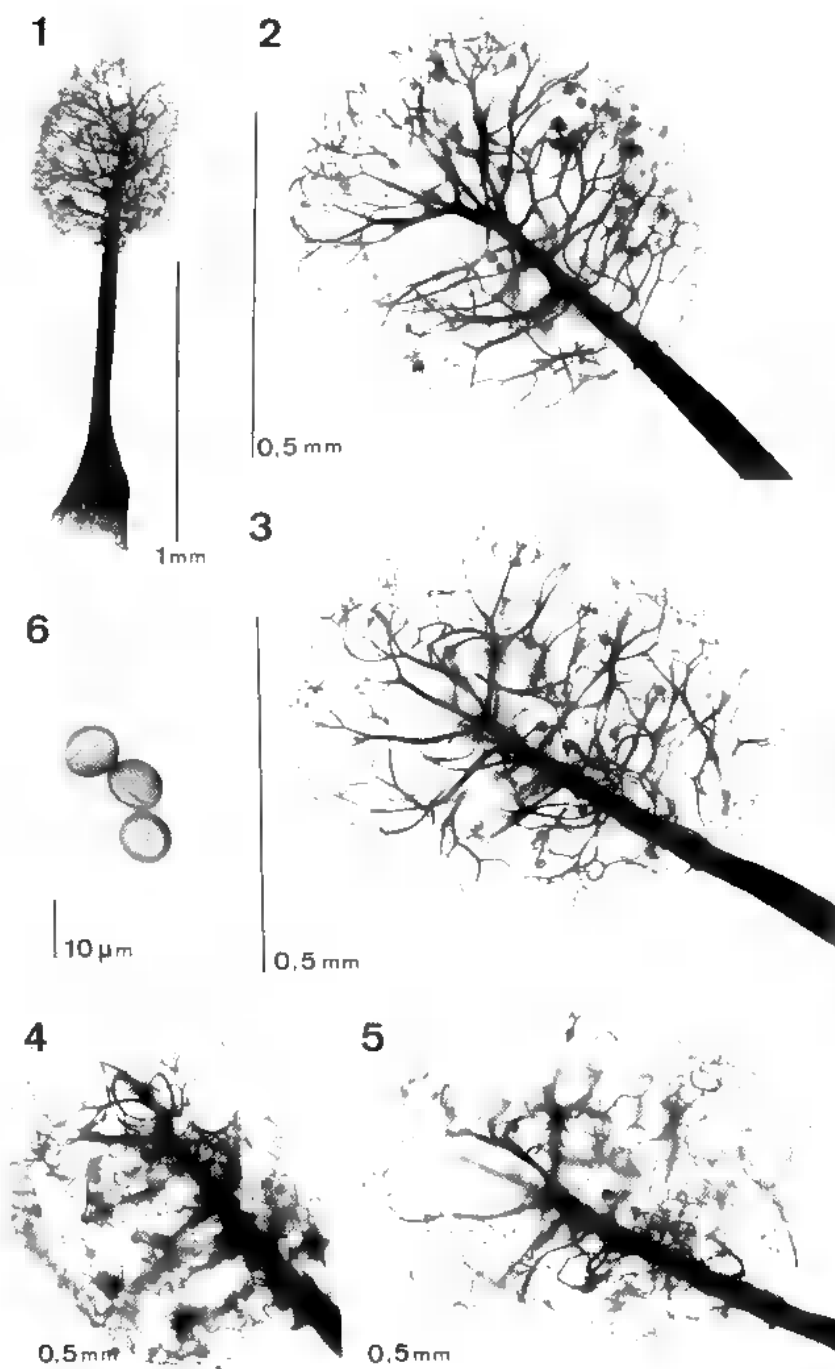


Fig. 1-6: *Comatricha afroalpina* Rammeloo (AH 12871). 1: sporocarp. 2-5: sporophores. 6: spores.

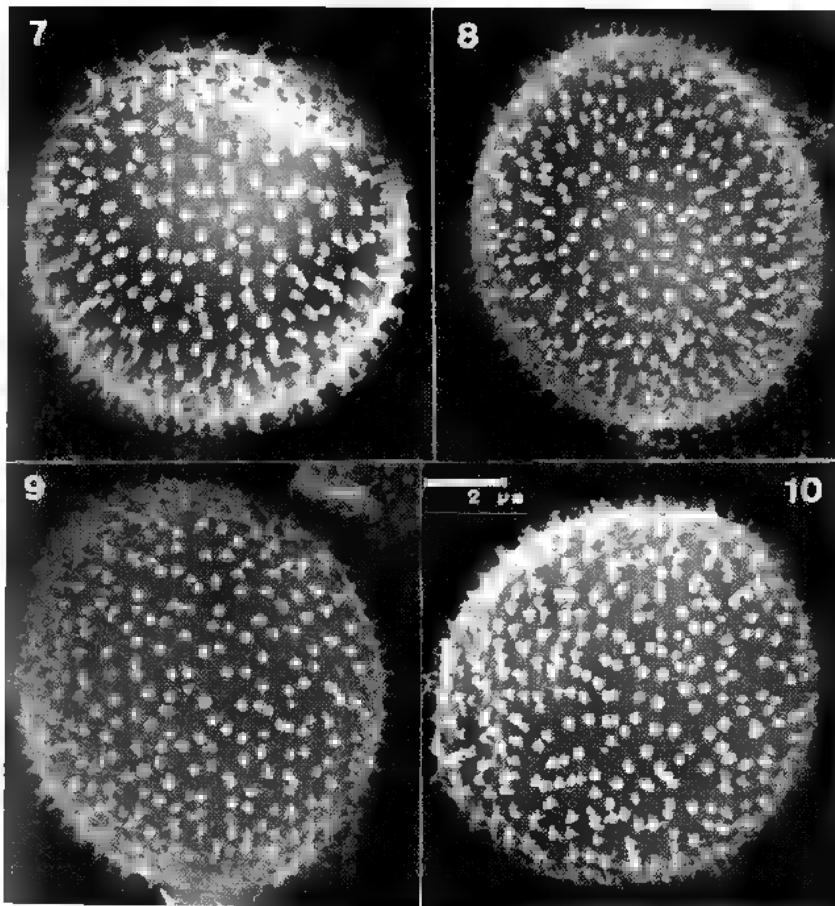


Fig. 7-10. *Comatricha afroalpina* Rammeloo. 7-8 (AH 12871) and 9-10 (AH 13285): spores.

and baculate. Buyck & Rammeloo (1983) discussed the relationships of this species with others. It has only been recorded previously from Africa.

**Material examined:**

GUADALAJARA: on wood of *Quercus faginea*, cerro Alto Llano, Turmiel, 27-XI-1990, AH 12871.

MADRID: on bark of *Vitis* sp., in moist chamber after 18 days, 13-VIII-1990, Quinta Cervantes, Alcalá de Henares, AH 12085. On bark of *Vitis* sp., in moist chamber from 24-IV-1991 to 16-V-1991, quinta Cervantes, Alcalá de Henares, AH 13285.

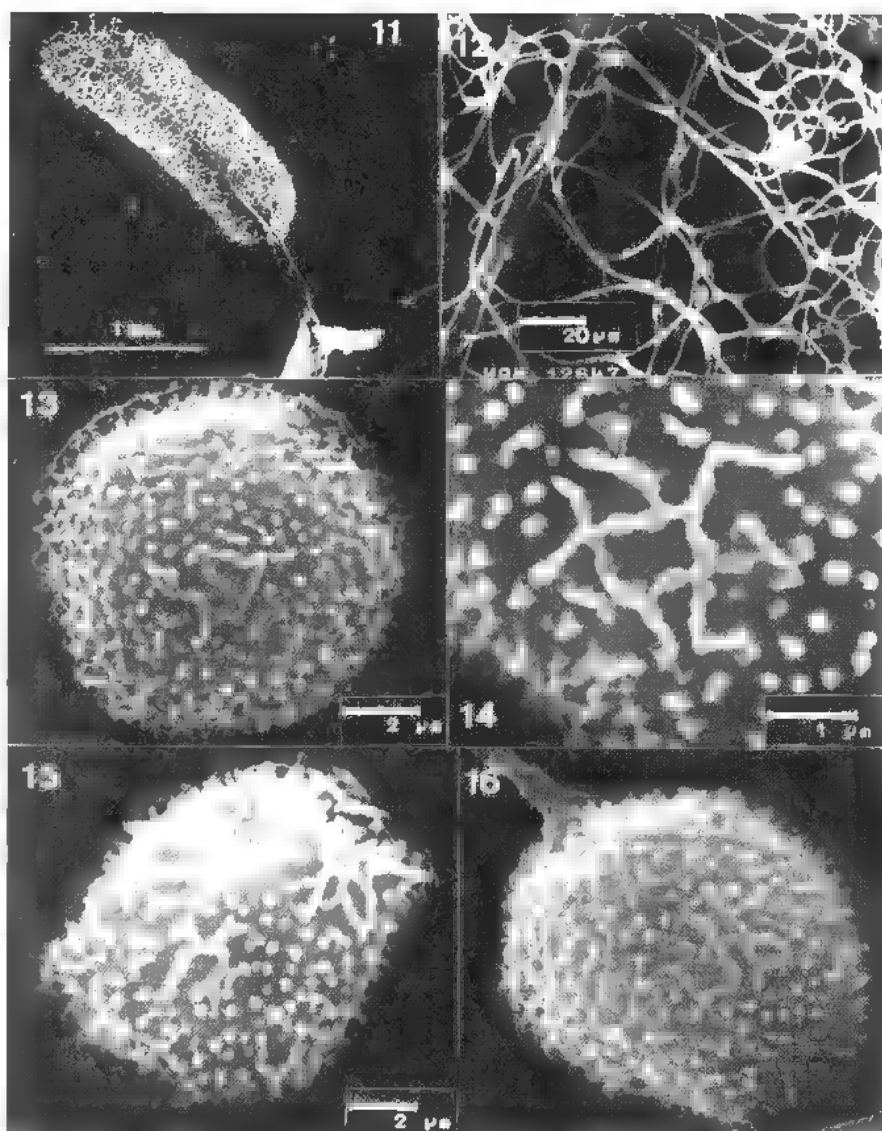


Fig. 11-16. *Comatricha anomala* Rammeloo. 11 (AH 12647): sporocarp. 12 (AH 12932): capillitium. 13-15 (AH 12932): spores and ornamentation. 16 (AH 13025): spore.

*Comatotricha anomala* Rammeloo, *Bull. Jard. Bot. Belg.* 46: 237, 1976 (Figs. 11-16)

Sporocarps in small groups of 5-20, cylindrical with convex apex, stalked, 0.2-0.35 cm tall. Hypothallus membranous, translucent, with a clear colour. Stalk short, 1/3 to 1/4 of the total height, dark brown, with a fibrous base. Peridium early evanescent. Columella attenuate from base to apex. Capillitium abundant, reddish-

brown, thin, with a scarcely developed peridial net and with numerous free ends. Spores pale brown, globose, 7.5-10  $\mu\text{m}$  diam., densely warted; because of the coalescence of the warts, some partial reticulation, more or less extensive in some zones, can be observed.

Rammeloo (1976) indicated in his original description that the spore size was 9-10  $\mu\text{m}$  diam. Kowalski & Demaree (1987) collected this species in California and they especially noted the smaller spore size of their specimen, i.e. 8-9  $\mu\text{m}$ . This agrees better with our collection AH 13025 in which the spores are 7.5-9  $\mu\text{m}$  diam.

*Comatricha anomala* is a species with a unique spore ornamentation in this genus, consisting of warts which coalesce into a nearly complete reticulation.

It has been recorded from Belgium (Rammeloo, op. cit.), Norway (Johannesen, 1984), Germany (Neubert & Baumann, 1986), USA (Kowalski & Demaree, op. cit.) and now for the first time from Spain, where it has always been collected on dead wood.

#### Material examined:

BADAJOS: On a branch of *Nerium oleander*, arroy Argallón, Azuaga, leg. J.R. García, 10-X-1990, AH 13025.

CASTELLON: on unidentified wood, Castellón, leg. A Burguete, 31-I-1990, AH 12932. On a stem of *Genista scorpius*, Fuente la Reina, leg. A. Burguete, 12-X-1990, AH 12647.

#### *Comatricha pellucida* Moreno & Illana, sp. nov. (Figs. 17-26)

(Etym.: from the Latin *pellucidus* because of the pale translucent capillitium)

*Sporocarpia glomerata, caespitosa, globosa, stipitata, brunneo-rubra, 0,3mm diam. et 0,4-1,2mm alta. Stipes niger, erectus, ad summum usque ad tertiam partem altitudinis totalis surgens, basis valde lata gradatim versus apicem minuens. Peridium fugax. Columella crassa gradatim macrescens, dimidium sporocarpium attinens. Capillitium valde ramosum et anastomosans filamentis valde angustis constitutum minus quam 1  $\mu\text{m}$  diam. latis, pallido-brunneis, multas ramificationes liberas, papillas parvas et nullum nodulum latum habentibus. Sporae 7-9  $\mu\text{m}$  diam., verrucosae, S.E.M. exploratae longa bacula inaequaliter distributa exhibentes.*

*Habitat: In foliis Ulmi minoris, Fuente la Reina, Castellón, leg. A. Burguete, 31.I.1990, AH 12867 Holotypus. (Isotypus in herbario privato Nannengae-Bremekamp, sub n° 16.690)*

Sporocarps in small clusters, gregarious, stalked, 0.4-1.2 mm tall. Sporophores globose, about 0.3 mm diam., red-brown. Hypothallus discoid, black. Stalk black, nearly half the total height, base very wide, attenuated upwards, reaching to the centre or a little over in the sporophore, where it splits into a few capillitium branches, slightly webbed at the base between the branches. Capillitium dense, thin, less than 1  $\mu\text{m}$  diam., pale brown, (Rayner) rosy buff, with very abundant small papillae, joined perpendicularly to the columella along its whole length, branched and anastomosing, axils not widened, base, except on the apex, not webbed, forming 2-3 somewhat elongate meshes on the radius, and with about 35-45  $\mu\text{m}$  long free ends pointing outwards. Spores globose, pale rosy or pale brown, 7-9  $\mu\text{m}$  diam., irregularly, minutely baculate (SEM; under the light microscope appearing spinulose) the baculae (spinules) less than 0.5  $\mu\text{m}$  long. Plasmodium not observed.

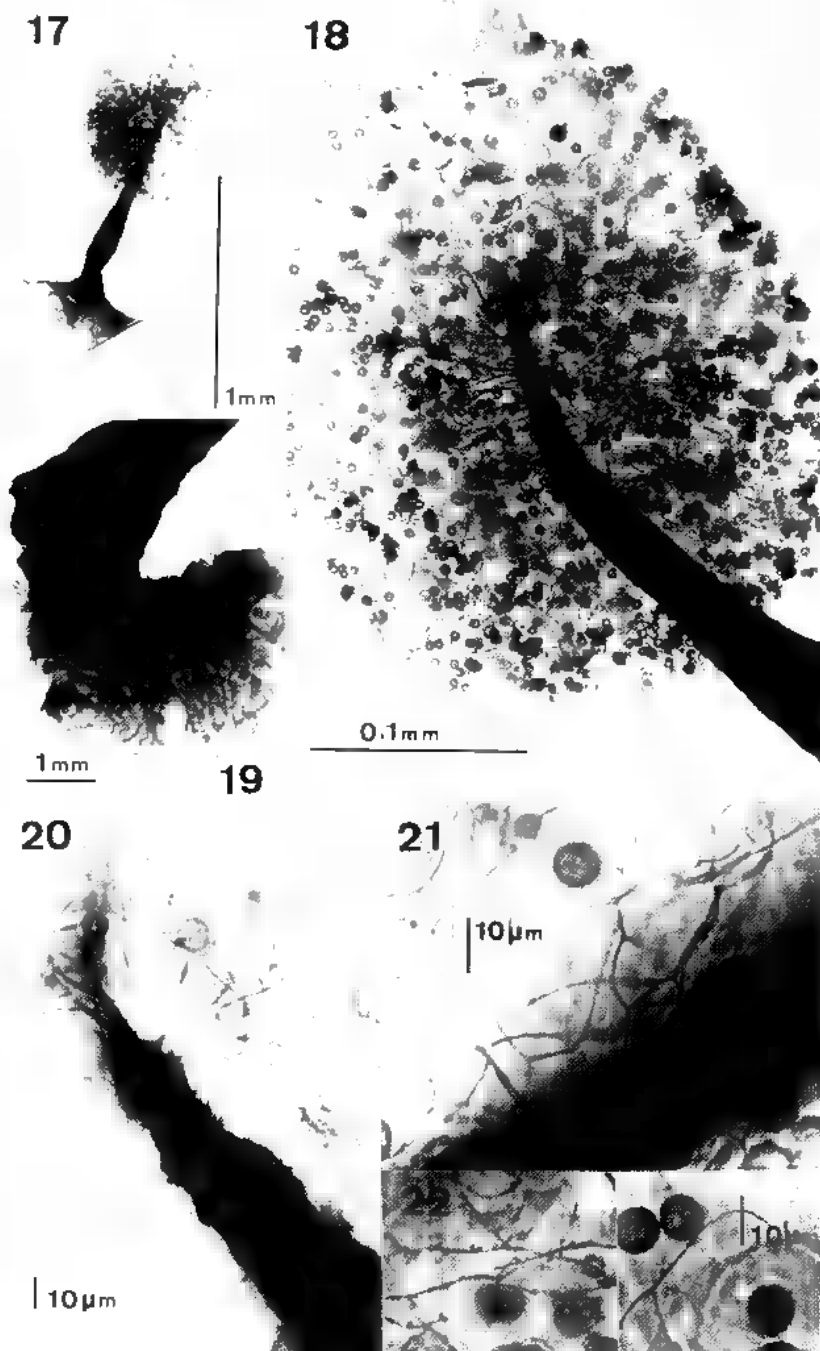


Fig. 17-22. *Comatricha pellucida* Moreno & Illana (*Holotypus*). 17: sporocarp. 18: sporophore. 19: hypothallus. 20-22: capillitium and spores.

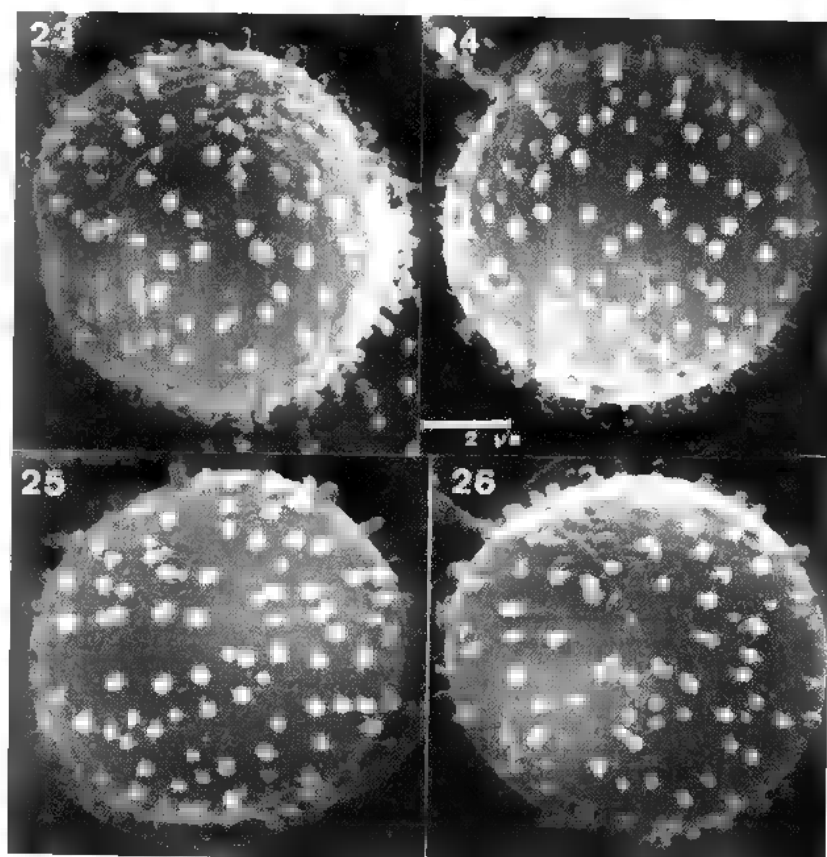


Fig. 23-26. *Comatricha pellucida* Moreno & Illana (*Holotypus*): spores and ornamentation.

Habitat: on leaves of *Ulmus minor*, Fuente la Reina, Castellón, leg. A. Burguete, 31-I-1990, AH 12867 *Holotypus*. (*Isotypus* in the private herbarium of Nannenga-Bremekamp sub n° 16.690).

*Comatricha pellucida* belongs to the subgenus *Laxaria* Nann.-Brem. It is characterized by redbrown sporophores, thin, pale, profuse, radiating from the columella capillitium net and rather pale spores. These characters separate it from any other known species of *Comatricha*.

*Macbrideola macrospora* (Nann.-Brem.) Ing, *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 78: 444, 1982. (Figs. 27-30)

≡ *Macbrideola cornea* var. *macrospora* Nann.-Brem., *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Ser. C*, 74: 363, 1971.

Nannenga-Bremekamp (1971) described *M. cornea* var. *macrospora* as characterized by bigger spores: 12-14  $\mu\text{m}$  diam., darker colour and spinulose spore ornamentation than in *M. cornea*. Ing (1982) raised it to specific rank.

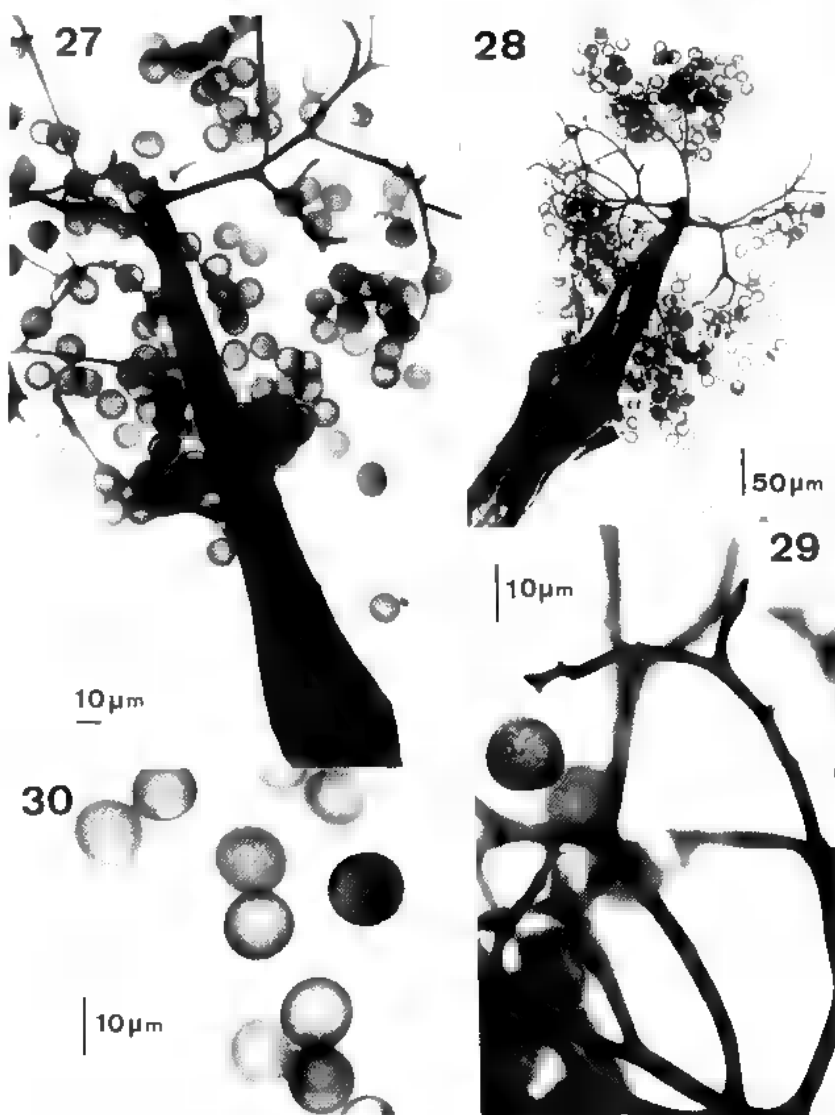


Fig. 27-30. *Macbrideola macrospora* (Nann.-Brem.) Ing (AH 13060). 27-28: sporocarps. 29: capillitium. 30: spores.

This taxon has been recorded before from Spain, from Barcelona (Llistosela & Aguasca, 1986).

**Material examined:**

CACERES: on bark of *Quercus pyrenaica*, in moist chamber from 1-II-1991 to 18-II-1991, Sierra de Bernabé del Piornal de Tomantós, 27-IV-1990, AH 13060.



## ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to express our gratitude to Dr. J. Rammeloo for the revision of all the species and for confirming, together with Mrs N.E. Nannenga-Bremekamp, *C. pellucida* as new to science. To Prof. Granada-Godoy for providing the latin diagnosis. To the "Consejo Social" of the University of Alcalá de Henares (C. Illana) and to the "Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Programa Nacional sobre Sistemas y Recursos Forestales" (G. Moreno) for the financial support which enabled us to visit these specialists. To Mrs. Nannenga-Bremekamp for going carefully through the manuscript. To Mr. A. Priego, technician of the University of Alcalá de Henares, for the SEM photographs.

## REFERENCES

- BUYCK B. et RAMMELOO J., 1983 - Flore illustrée des Champignons d'Afrique Centrale. Fasc. 11, *Diderma* (*Physarales*, *Myxomycetes*), *Echinosteliales* et *Stemonitales* (*Myxomycetes*). Meise, Jardin Botanique National de Belgique.
- DÖRFELT H. und MARX H., 1990 - Zur Terminologie der sporenbildenden stadien der Myxomyceten. *Beitr. Kennin. Pilze Mitteleuropa* 6: 5-14.
- ING B., 1982 - Notes on Myxomycetes III. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 78: 439-486.
- JOHANNESSEN E.W., 1984 - New and interesting Myxomycetes from Norway. *Nordweg. J. Bot.* 4: 513-520.
- KOWALSKI D.T. and DEMAREE R.S., 1987 - *Comatricha anomala*, a new record for the western hemisphere. *Mycologia* 79: 140-141.
- LLISTOSELA J. i AGUASCA M., 1986 - El 1er. "Mini-Foray" de la British Mycological Society a Catalunya (1985). *Bull. Soc. Catalana Micol.* 10: 19-33.
- NANNENGA-BREMEKAMP N.E., 1971 - Notes on Myxomycetes XVII. Some new species in *Cribraria*, *Comatricha* and *Physarum*, a new variety in *Macbrideola* and a new name in *Arcyria*. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Ser. C*, 74: 352-365.
- NEUBERT H. und BAUMANN K., 1986 - Myxomyceten aus der Bundesrepublik Deutschland, III. Liste der bislang bekannten Arten. *Carolina* 44: 61-66.
- RAMMELOO J., 1976 - *Comatricha anomala*, a new myxomycete from Belgium. *Bull. Jard. Bot. Belg.* 46: 237-240.



**HYMENOCHAETE PSEUDOADUSTA NOV. SP.  
(BASIDIOMYCÈTES APHYLLOPHORALES): DESCRIPTION  
ET CARACTÈRES CULTURAUX**

par J.C. LÉGER et P. LANQUETIN

Laboratoire de Biotaxinomie et Nuisances fongiques, Univ. Claude  
Bernard-Lyon I, Bât. 405, 43 Bd du 11 Novembre 1918, F-69622  
Villeurbanne Cedex.

**RÉSUMÉ** - Description d'*Hymenochaete pseudoadusta* nov. sp. récolté en Thaïlande et dont le basidiome évoque fortement celui d'*H. adusta* (Lév.) Har. et Pat.; par contre les caractères cultureux permettent de les distinguer aisément.

**ABSTRACT** - Description of *Hymenochaete pseudoadusta*, a new species collected in Thailand, the basidiocarp of which greatly resembles *H. adusta* (Lév.) Har. et Pat.; on the contrary their cultural characteristics are very different.

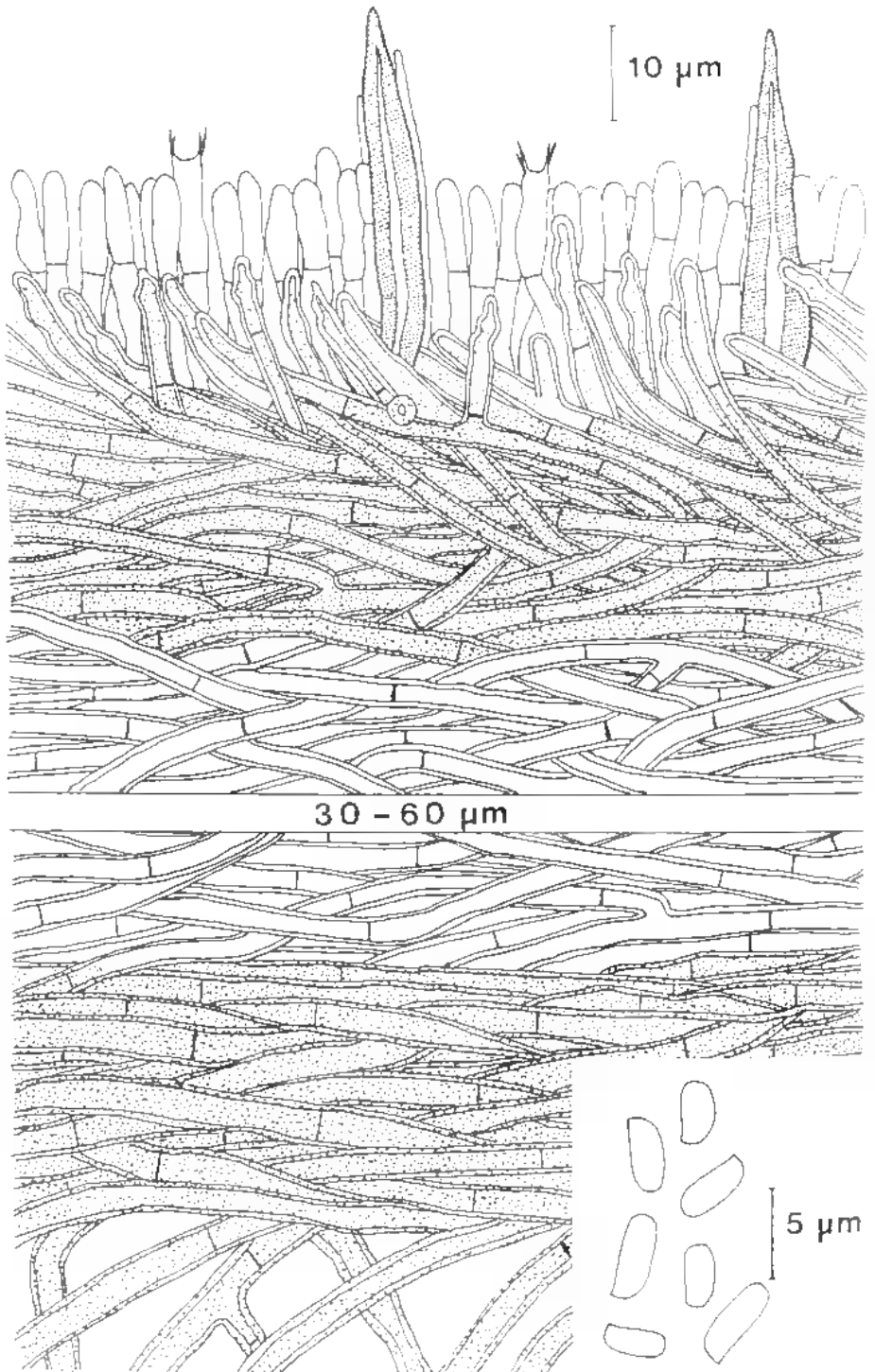
**MOTS CLÉS** : Aphyllophorales, *Hymenochaete*, systématique, cultures.

**DESCRIPTION**

***Hymenochaete pseudoadusta* nov. sp.**

*Basidiomata sessili-pileata gradati-imbricata, basi confluentia, tenuia, lenta, fragilia. Superficies pilei subtiliter hirsuta, castanea (omnino nigra ubi madida), permultis angustis striis concentricis obscurissime rubro-brunneis ad diluore castaneas, margine crenato-undulata, badia, tenui. Superficies hymenii nonnullis plicis concentricis praedita, subrubro-grisea ubi sicca, obscure castanea ubi madida, margine tenuissima, sericea, vivide cinnamomea. Tomentum ex hyphis rubro-brunneis, paulum ramosis, tunica incrassata, septis autem tenuibus, x 4-(5)µm. Cortex deest. Contextus ex hyphis ramosis, tunica incrassata, septis autem tenuibus, nonnihil confertis, ad superficiem parallele jacentibus, in dimidio inferiore hymenii oblique desinentibus, extremitatibus submoniliformibus. Setae subulatae, uniseriatae vel in setigero strato 40µm crasso dispositae, parum confertae, plerumque exilibus hyphis circumcinctae, 33-45 x 5,5-7-(8)µm, usque ad 25µm eminentes. Hymenium e basidiolis et basidiis 16-18 x 3-3,5 µm, 4 sterigmatibus 3µm longis. Sporae ellipticae vel cylindricae, 3,5-4,8-(5) x 1,5-1,8-(2)µm, tunica tenui, haud amyloideae, uninucleatae, in massa albae.*

**Holotypus**: LY-L611, Parc Kao Yai (Korat), Thaïlande, leg. A. David, 10 janvier 1990. **Paratypus**: LY-L 689, id. 7 août 1990.



**Basidiome** piléé, sous forme de chapeaux sessiles, de 10-40mm de rayon, étagés subimbriqués, confluent à la base, minces, flexibles mais fragiles. Surface du chapeau de couleur générale brun-chataigne (vers 2,5 YR 3/2 du Code Munsell = *castaneus* Sacc. = bone brown Ridgway) et virant au noir quand imbuë, finement hirsute avec de très nombreuses stries concentriques, étroites, allant de brun rouge foncé (2,5 YR 2/2) à chatain (2,5 YR 3/6); marge ondulée-crênelée, bai (vers 2,5 YR 4/6 = *badius* Fr.). Surface hyménienne présentant quelques plis concentriques, grisâtre-rougeâtre (5 YR 5/2 = benzo-brown) sur le sec et chatain foncé (2,5 YR 3/2) quand imbuë; marge soyeuse, très mince (0,5mm), cannelle vif (7,5 YR 6/8).

**Coupe** haute de 300-400µm, monomitique, montrant un tomentum, un contexte dépourvu de spinules, une couche sétigère et un hyménium mince, pas de cortex.

**Tomentum** de 200-250µm d'épaisseur mais pouvant atteindre parfois 600µm, formé d'hyphes brun-rouge peu ramifiées, à paroi épaisse mais à cloisons très minces, x 4-(5)µm.

**Contexte** de 120-150µm d'épaisseur, jaunâtre en son centre, brun-rougeâtre et plus sombre dans les 30-40µm situés sous l'hyménium et sous le tomentum. Hyphes ramifiées, x 3-4µm, orientées parallèlement à la surface du chapeau et relativement serrées, à paroi épaisse mais cloisons très minces, se terminant obliquement dans la moitié inférieure de l'hyménium ou bien affleurant la surface (et parfois la dépassant de 5µm environ); les 10-20µm terminaux de ces hyphes (ainsi que leurs courtes ramifications ascendantes) sont très souvent submoniliformes.

**Spinules** subulées, 33-45 x 5,5-7-(8)µm et exsertes de 25µm maximum, disposées sur un seul rang ou formant une couche sétigère de 40µm d'épaisseur, espacées, la plupart engainées d'hyphes grêles (1µm).

**Hyménium** d'une quinzaine de µm d'épaisseur, formé de basidioles et de basides 16-18 x 3-3,5µm, à 4 stérigmates de 3µm.

**Spores** elliptiques à cylindriques, 3,5-4,8-(5) x 1,5-1,8-(2)µm, à paroi mince, non amyloïde, uninucléées (Giemsa), blanches en masse.

Holotype: LY-L 611. Parc Kao Yai (Korat), 150km N-E de Bangkok, Thaïlande, leg. A. David, 10 janvier 1990. Paratype: LY-L 689, id., 7 août 1990.

#### Discussion:

*Hymenochaete pseudoadusta* est une espèce piléée sessile qui trouve sa place dans la section *Fultochaete* Escobar ex Léger (Léger, 1990); cette section regroupe les espèces présentant un contexte (=couche d'hyphes dépourvue de spinules et nommée 'ephal layer' par Burt, 1918) mais sans cortex. Les espèces piléées sessiles de la section *Fultochaete* sont: *H. adusta* (Lév.) Har. et Pat., *H. attenuata* Lév., *H. berkeleyana* (Mont.) Cke, *H. borealis* Burt, *H. cacao* (Berk.) Berk., *H. paucisetosa* Léger et Lanq., *H. perpusilla* Pat., *H. rheicolor* (Mont.) Lév. et *H. subferruginea* Bres. et Sydow.

Fig. 1 - *Hymenochaete pseudoadusta* nov. sp. (LY-L 611, type). Coupe transversale dans le basidiome et spores observées sur sporée dans le mélange phloxine-KOH 5%.

Fig. 1 - *Hymenochaete pseudoadusta* nov. sp. (LY-L 611, type). Transverse section through the basidiocarp and spores observed on a spore print in 5% KOH-phloxine.

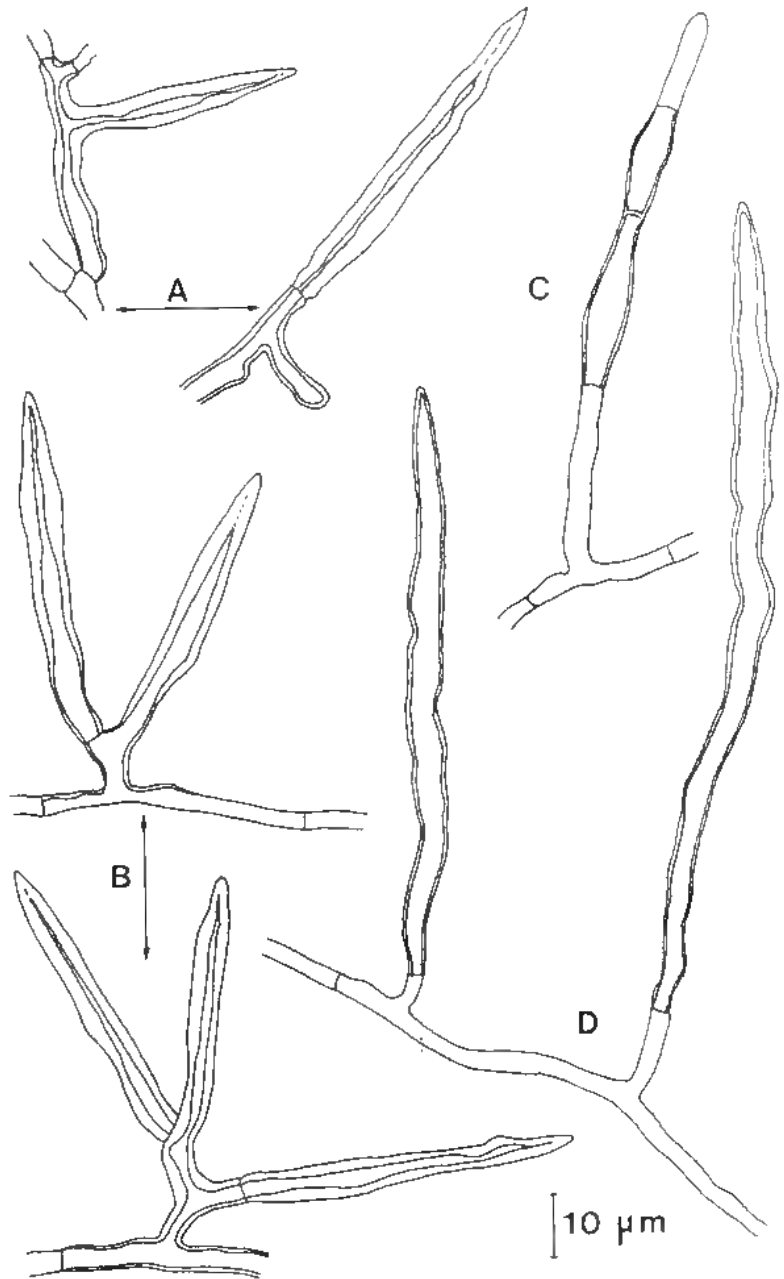


Fig. 2 - Cultures d'*Hymenochaete pseudoadusta* nov. sp. (LY-L 611, type). Mycélium aérien. A: spinules. B: spinules groupées par 2-3. C: hyphe pseudosétoïde à sommet arrondi. D: hyphes sétoïdes.

Fig. 2 - Cultures of *Hymenochaete pseudoadusta* (LY-L 611, type). Aerial mycelium. A: setae. B: groups of 2-3 setae. C: pseudosetoid hypha with rounded tip. D: setoid hyphae.

*H. pseudoadusta* nov. sp. est à rapprocher des espèces à spinules courtes (45µm de long maximum), comme *H. adusta*, *H. cacao* et *H. paucisetosa*: *H. paucisetosa* est caractérisé par ses spinules très rares dont 10% sont par ailleurs de forme très curieuse (Léger & Lanquetin, 1983); *H. cacao* possède à l'inverse des spinules très nombreuses, très serrées et formant une couche sétigère épaisse. C'est sans conteste *H. adusta* (voir Léger & Lanquetin, 1990) qui présente le plus de ressemblances tant morphologiques qu'anatomiques avec la nouvelle espèce ici décrite: cependant *H. adusta* s'en distingue par plusieurs caractères: spinules fusiformes très courtes (20-25 x 4-5µm), engainées d'un étui hyalin et dépassant très peu l'hyménium (15µm maximum), tomentum ras (100µm maximum) d'hyphes couvertes de granulations non cristallines et enfin spores 3-3,5 x 1,5-1,8µm, donc plus courtes que celles de *H. pseudoadusta*. *H. adusta* est une espèce asiatique, récoltée aux Philippines (type), au Vietnam (Patouillard, 1923 et 1928), au Japon (Imazeki, 1940; Ito, 1955; Aoshima & Furukawa, 1966) et en Thaïlande (Léger & Lanquetin, 1990); *H. pseudoadusta* de Thaïlande s'avère une espèce très ressemblante et de localisation géographique semblable.

### CARACTÈRES CULTURAUX (LY-L 611)

**Spores:** uninucléées.

**Monospermes:** les spores obtenues à Lyon, trois semaines après la récolte, germent au bout de 24 heures. Les 7 cultures monospermes étudiées cytologiquement sont formées d'une part d'hyphes principales, x 4-5,5µm, aux articles contenant le plus souvent 4-5 noyaux, mais aussi 6-8 noyaux et d'autre part d'hyphes secondaires, x 2-2,5-(3)µm, montrant généralement des articles à 2-3-(4) noyaux. Les monospermes ayant des hyphes aux articles plurinucléés comme les polyspermes, l'espèce est présumée homothalle. Le comportement nucléaire de *H. pseudoadusta* est plutôt faiblement holocénocytique: en effet, les articles binucléés sont trop peu nombreux pour que l'on puisse parler de comportement nucléaire normal avec des irrégularités comme c'est très souvent le cas chez les *Hymenochaete*.

**Polysperme:**

- croissance: extrêmement lente, 30-40mm en 6 semaines.

- aspect: marge irrégulière; sur la bouture, mycélium duveteux, alutacé pâle (10 YR 8/3) puis mycélium subtomenteux teinté de cannelle (7,5 YR 6/6), localement brun ferrugineux (5YR 5/6), recouvrant le milieu plus foncé. Avec l'âge, les teintes sont plus uniformes, allant de *rubiginosus* Fr. (7,5 YR 5/6) à brun ferrugineux (5 YR 5/8 et 5/6). Revers: bruni; odeur faible.

- Microscopie:

\* mycélium aérien montrant:

- des hyphes hyalines, x 1,5-2,5-(3)µm, régulières à paroi mince;

- de nombreuses hyphes brun-rougeâtre, x 1,5-2-(2,5)µm, à paroi épaisse, faisant penser à des fibres peu ou pas ramifiées et portant souvent des masses résinoïdes.

- des spinules lisses (Fig. 2A), peu nombreuses, à paroi épaisse et base plutôt rétrécie, (32)-47-62 x (4,5)-5-6µm. Elles sont quelquefois groupées par 2-3 (Fig. 2B).

Outre les spinules, peuvent être parfois observées des hyphes pseudosétoides, brunes, à paroi peu épaissie et à sommet arrondi (Fig. 2C). Sur milieu au malt Difco et bacto-agar Difco, les jeunes cultures monospermes ont montré de belles hyphes sétoides brunes, à paroi épaisse, (65)-70-105-(130) x (3)-4-5-(6)µm (Fig. 2 D).

Quant aux hyphes soudées en puzzle - typiques des cultures d'*Hymenochaete* - elles n'ont jamais été observées sur milieu de Nobles; le mycélium d'*H. pseudoadusta* est cependant capable d'en produire sur d'autres milieux.

\* mycélium submergé: la coupe radiale, très sombre en surface, avec d'importantes masses solidifiées souvent rougeâtres, est hyaline, en profondeur: dans la gélose très brunie, s'observent des hyphes brunes, peu régulières, x 1,5-3,5-(4) $\mu$ m, à contenu hétérogène, à paroi un peu épaissie et quelques hyphes plus larges, plus sombres, atteignant 6 $\mu$ m de diamètre mais rétrécies à 4 $\mu$ m vers le sommet, à paroi peu ou irrégulièrement épaissie; plus en profondeur, les hyphes, x 2-4 $\mu$ m, sont hyalines, subrégulières, à paroi mince.

- Cytologie: hyphes aux articles plurinucléés, contenant (2)-3-6-(8) noyaux avec parfois des séries d'articles à 3-4-5 noyaux. Les cultures en milieu liquide au malt, sous film de collodion, ont permis d'observer des drépanocytes contrairement aux cultures sur milieu de Nobles.

- Oxydases: acide gallique: +++++, 0                      gaiacol: +++, 0  
paracrésol: -                                                      tyrosine: -, 0

CODE (selon Nobles, 1965 et divers compléments regroupés dans Nakasone, 1990):

2a - 6 - 17 - (18) - 21 - 32 - 37 - 39 - 47 - (53) - (57) - (66).

Remarque: De l'espèce voisine *H. adusta*, dont les caractères mycéliens ont été décrits par Léger & Lanquetin (1990), les cultures de *H. pseudoadusta* se distinguent aisément par la croissance extrêmement lente, par la formation de spinules peu nombreuses mais toujours présentes et enfin par l'absence de dendrophyses caractéristiques du mycélium de *H. adusta*.

#### BIBLIOGRAPHIE

- AOSHIMA K. and FURUKAWA H., 1966 - *H. adusta* (Lév.) Bres. and *H. villosa* (Lév.) Bres. *Trans. Mycol. Soc. Jap.* 7: 12-15.
- BURT E.A., 1918 - The *Thelephoraceae* of North America. X. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 5: 301-372.
- IMAZEKI R., 1940 - Studies on the genus *Hymenochaete* of Japan. *Bull. Tokyo Sci. Mus.* 2: 1-22 (5 pl.).
- ITO S., 1955 - *Mycological Flora of Japan*. Vol. 2: Basidiomycetes; n° 4, Auriculariales, Tremellales, Dacrymycetales, Aphyllophorales (Polyporales). Tokyo, Yokendo Ltd, 450 p.
- LÉGER J.C. et LANQUETIN P., 1983 - Description of morphology, anatomy and cultural characters of *Hymenochaete paucisetosa* spec. nov. *Persoonia* 12: 87-94.
- LÉGER J.C., 1990 - Etude critique et validation des espèces nouvelles d'*Hymenochaete* décrites par G.A. Escobar. *Cryptogamie, Mycol.* 11: 289-312.
- LÉGER J.C. et LANQUETIN P., 1990 - Morphologie et caractères cultureux d'*Hymenochaete adusta* (Lév.) Hariot et Patouillard. *Cryptogamie, Mycol.* 11: 157-165.
- MUNSELL soil color charts, 1954 - Baltimore, U.S.A., Munsell Color Company.



- NAKASONE K.K., 1990 - Cultural studies and identification of wood-inhabiting *Corticaceae* and selected Hymenomycetes from North America. *Mycol. Mem.* 15. Ed. Cramer. 412 p.
- NOBLES M.K., 1965 - Identification of culture of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Canad. J. Bot.* 43: 1097-1139.
- PATOUILLARD N., 1923 - Contribution à l'étude des champignons de l'Annam. *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, Paris, 29: 332-339.
- PATOUILLARD N., 1928 - Nouvelle contribution à la flore mycologique de l'Annam et du Laos. *Ann. Cryptog. Exot.* 1: 2-24.
- RIDGWAY R., 1912 - *Color standards and color nomenclature*. Washington, U.S.A., Ridgway Ed.



## HIGHER MARINE FUNGI OF LAKSHADWEEP ISLANDS AND A NOTE ON *QUINTARIA LIGNATILIS*

S. CHINNARAJ

Biological Oceanography Division, National Institute of Oceanography  
Dona Paula, Goa-403004, India.

**ABSTRACT** - The dead and decayed mangroves, Seagrasses and drift wood samples collected from Lakshadweep Islands were examined for fungi and yielded 32 species of higher marine fungi which includes 23 Ascomycetes, 1 Basidiomycete and 8 Deuteromycetes. This is the first report of higher marine fungi from Lakshadweep Islands. A gelatinous sheath has been observed in fresh ascospores of *Quintaria lignatilis*.

**RÉSUMÉ** - Un premier inventaire sur le littoral des îles Lakshadweep a permis de répertorier 32 espèces de champignons dont 23 Ascomycètes, 1 Basidiomycète et 8 Deutéromycètes sur des végétaux en cours de dégradation et des bois flottants. Un manchon gélatineux a été observé autour des jeunes ascospores de *Quintaria lignatilis*.

**KEY WORDS** : Higher marine fungi, Lakshadweep Islands.

### INTRODUCTION

The role of marine fungi in the decomposition of organic matter in the marine environment is well documented (Fell & Master, 1980). The occurrence and distribution of marine fungi from the Indian Ocean has been studied to a certain extent (Borse, 1988; Hyde, 1988, 1989, 1990; Hyde & Jones, 1988; Hyde et al., 1990; Jones & Kuthubutheen, 1989; Kohlmeyer, 1984; Jones & Hyde, 1990; Kohlmeyer & Volkman-Kohlmeyer, 1991b; Leong et al., 1991). However, nothing is known about the occurrence of marine fungi from the Lakshadweep Islands. The present study was carried out to know the occurrence and distribution of marine fungi from the Lakshadweep Islands (Laccadive Islands).

### MATERIALS AND METHODS

The dead and decayed mangroves seagrasses and drift wood samples from the intertidal regions of Agatii, Androth, Cheriya, Kalpeni, Kavaratti, Kadmat and Minicoy Islands (Fig. 1) were collected in clean polythene bags during an oceanographic cruise to Lakshadweep Islands (R.V.G. Cruise No. 225, 5/2/92 to 20/2/92). The samples were examined for fungi after 7 to 10 days of incubation in a moist chamber. Identifications were made using standard keys and original descriptions. All the identified samples were deposited in the Taxonomy Reference Center at National Institute of Oceanography.

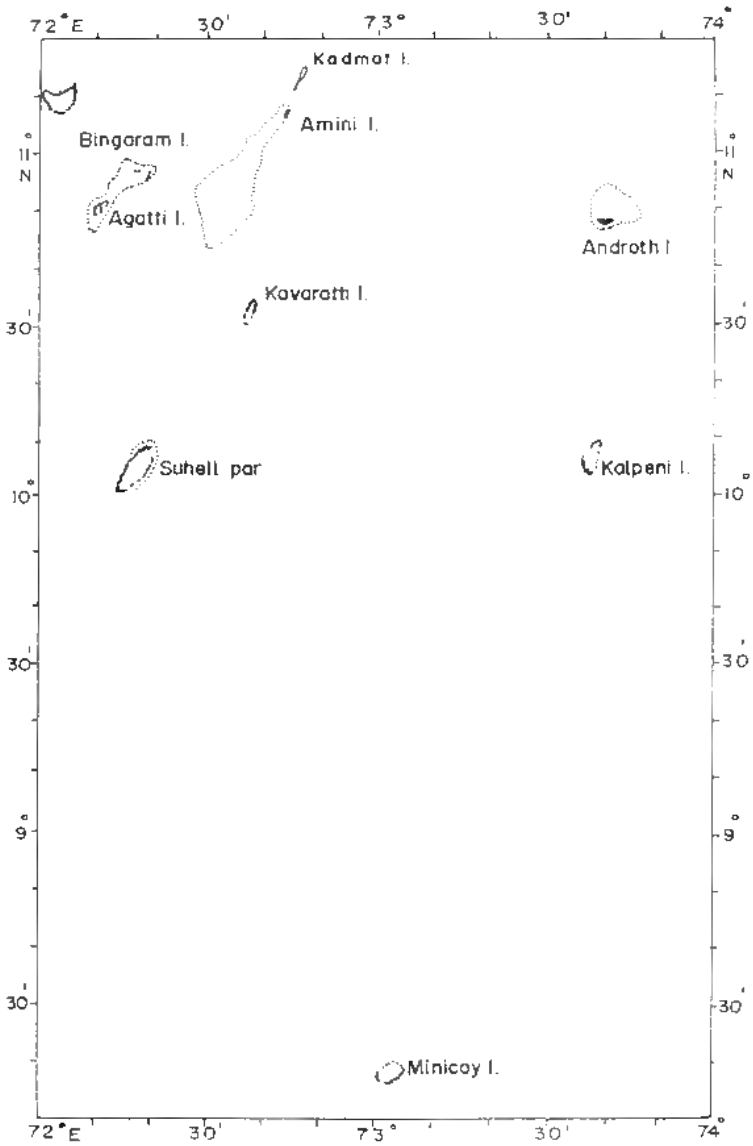


Fig. 1 - Map of Lakshadweep Islands (study area).

## OBSERVATIONS

## Ascomycetes

*Ascocratera manglicola* Kohlm.

Recorded on unidentified dead shoreline tree wood collected from Kadmat Island, (14/2/92 Herb. No. S.C.R. 340).

*Arenariomyces majusculus* Kohlm. et Volk.-Kohlm.

Recorded on the dead *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. wood heavily damaged by wood borers collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 324).

*Biatrisporia marina* Hyde et Borse

Recorded on dead *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. wood collected from Minicoy Island (10/2/92, Herb. No. S.C.R. 346, 350).

*Dactylospora haliotrepha* (Kohlm. et Kohlm.) Hafellner

Recorded on dead *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 327, 316).

*Halosarpheia abonnis* Kohlm.

Recorded on the dead *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. pneumatophore collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 331).

*Halosarpheia marina* (Cribb et Cribb) Kohlm.

Recorded on dead *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 312).

*Halosphaeria quadricornuta* Cribb et Cribb

Recorded on shoreline tree *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Kalpeni Island (6/2/92 Herb. No. S.C.R. 304), eroded coconut tree from Kavaratti Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 306a), unidentified drift wood collected from intertidal region of Kavaratti Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 306b).

*Leptosphaeria australiensis* (Cribb et Cribb) Hughes

Recorded on dead shoreline tree *Scaveola taccada* (Gaertn.) Roxb. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 313, 315), shoreline tree *Scaveola taccada* (Gaertn.) Roxb. wood collected from Cheryam Island (6/2/92 Herb. No. S.C.R. 333).

*Lignicola laevis* Höhnk

Recorded on dead shoreline tree *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Cheryam Island (6/2/92 Herb. No. S.C.R. 341), Androth Island (17/2/92 Herb. No. S.C.R. 345).

*Lindra thalassiae* Orpurt et al.

Recorded on drifted seagrass *Thalassia testudinum* König. collected from Kalpeni Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 308).

*Lophiostoma mangrovei* Kohlm. et Vittal

Recorded on dead bark of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. 352).

*Lulworthia grandispora* Meyers

Recorded on dead intertidal *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 320).

*Lulworthia* spp. (spore length 300 to 40 µm)

Recorded on dead intertidal *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. stem and pneumatophores collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 323, 323a), dead shoreline tree *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 325).

*Marinosphaera mangrovei* Hyde

Recorded on dead shoreline tree *Scaveola taccada* (Gaertn.) Roxb. collected from Kadmat Island (14/2/92 Herb. No. S.C.R. 348), pneumatophores of *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 347).

*Massarina thalassiae* Kohlm. et Volkm.-Kohlm.

Recorded on dead shoreline tree *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Kalpeni Island (6/2/92 Herb. No. S.C.R. 302), dead *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. wood and pneumatophore collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 318, 328).

*Massarina velatospora* Hyde et Borse

Recorded on intertidal *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 337).

*Massaria* sp.

Recorded on shoreline tree *Scaveola taccada* (Gaertn.) Roxb. wood collected from Androth Island (16/2/92 Herb. No. S.C.R. 326).

*Payosphaeria minuta* Leong et al.

Recorded on dead intertidal *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. wood and *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 342, 343).

*Quintaria lignatilis* (Kohlm.) Kohlm. et Volkm.-Kohlm.

This species was first described under the genus *Trematosphaeria* (Kohlmeyer, 1984). Later on, this fungus was described as new genus *Quintaria* (Kohlmeyer & Volkmann-Kohlmeyer, 1991a) in both studies, there was no mention of the gelatinous sheath around the ascospore. But our collections from Lakshadweep, Maldives, Andaman and Nicobar Islands (when the fresh ascocarps are observed) show a distinct gelatinous sheath around the ascospores (Plate 1).

Recorded on dead intertidal *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 314), dead shoreline tree *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 319, 321).

*Sarvoryella lignicola* Jones et Eaton

Recorded on unidentified drift wood collected from Kavaratti Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 309), dead intertidal shoreline tree *Scaveola taccada* (Gaertn.) Roxb. stem collected from Androth Island (16/2/92 Herb. No. S.C.R. 330).

*Sarvoryella paucispora* (Cribb et Cribb) Koch

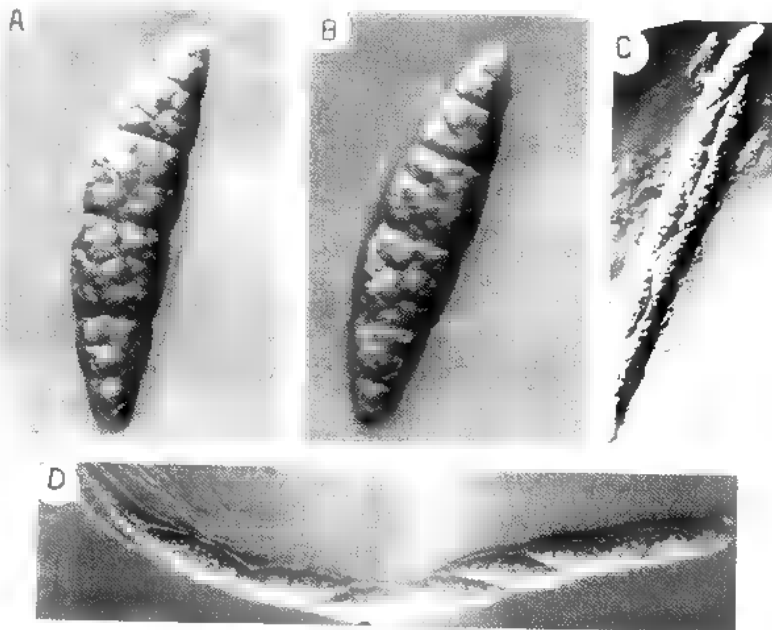


Plate I - A-D: *Quintaria lignatilis*. A-B: Gelatinous sheath around the ascospore (1100 x). C-D: Ascus (275 x).

Recorded along with *Monodicrys pelagica* (Johnson) Jones on unidentified drift wood collected from Kavaratti Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 310).

*Forpedospora radiata* Meyers

Recorded on dead shoreline tree *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Kalpeni Island (6/2/92 Herb. No. S.C.R. 305).

*Verruculina enalia* (Kohlm.) Kohlm. et Volkm.-Kohlm.

Recorded on dead shoreline tree *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Kalpeni Island (6/2/92 Herb. No. S.C.R. 301) unidentified drift wood and *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 317, 322, 329), dead shoreline tree *Scaveola taccada* (Gaertn.) Roxb. wood collected from Cheriyam Island (6/2/92 Herb. No. S.C.R. 334).

### Basidiomycetes

*Halocyphina villosa* Kohlm. et Kohlm.

Recorded on dead intertidal *Cerriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. wood collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 338, 339).

### Deuteromycetes

*Cirrenalia basiminuta* Ragukumar et al.

Recorded on drifted coconut frond collected from Kavaratti Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 332).

*Cirrenalia pygmaea* Kohlm.

Recorded on dead intertidal pneumatophore of *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 347).

*Humicola alopallonella* Meyers et Moore

Recorded on dead intertidal pneumatophore of *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 347a).

*Monodictys pelagica* (Johnson) Jones

Recorded on unidentified drift wood collected from Kavaratti Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 310).

*Periconia prolifica* Anast.

Recorded on dead intertidal shoreline tree *Pemphis acidula* Forst. wood collected from Kalpeni Island (6/2/92 Herb. No. S.C.R. 303).

*Trichocladium achrasporum* (Meyers et Moore) Dixon

Recorded along with *Humicola alopallonella* Meyers et Moore on dead pneumatophore of *Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob. collected from Minicoy Island (10/2/92 Herb. No. S.C.R. 347a).

*Zalerion maritimum* (Linder) Anast.

Recorded along with *Cirrenalia basiminuta* Ragukumar et al. on coconut frond collected from Kavaratti Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 332).

*Zalerion varium* Anast.

Recorded on unidentified drift wood collected from Kavaratti Island (8/2/92 Herb. No. S.C.R. 307).

#### ACKNOWLEDGEMENTS

I am thankful to Dr. A.G. Untawale Asst. Director for his encouragement, the Head Biological Oceanography Division N.I.O. for laboratory facilities, Prof. J. Kohlmeyer for reviewing the manuscript, Dr. Hyde for identification of *Q. lignatilis* and C.S.I.R. for financial assistance.

#### REFERENCES

- BORSE B.D., 1988 - Frequency of occurrence of marine fungi from Maharashtra coast, India. *Indian J. Mar. Sci.* 17: 165-167.
- FELL J.W. and MASTER I.M., 1980 - The association and role of fungi in mangrove detrital systems. *Bot. Mar.* 23: 257-263.
- HYDE K.D., 1988 - Studies on the tropical marine fungi of Brunei. *Bot. J. Linnean Soc.* 98: 135-151.
- HYDE K.D. and JONES E.B.G., 1988 - Marine mangrove fungi. *Mar. Ecol.* 9: 15-33.
- HYDE K.D., 1989 - Intertidal mangrove fungi from north Sumatra. *Canad. J. Bot.* 67: 3078-3082.



- HYDE K.D., 1990 - A comparison of intertidal mycota of five mangrove tree species. *Asian Mar. Biol.* 7: 93-107.
- HYDE K.D., CHALERMONGSE An. and BOONTHAVIKOON Th., 1990 - Ecology of intertidal fungi at Ranong mangrove, Thailand. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 31: 17-27.
- JONES E.B.G. and KUTHUPUTHEEN A.J., 1989 - Malaysian mangrove fungi. *Sydowia* 41: 160-169.
- JONES E.B.G. and HYDE K.D., 1990 - Observation on poorly known mangrove fungi and a nomenclatural correction. *Mycotaxon* 37: 197-201.
- KOHLMEYER J., 1984 - Tropical marine fungi. *Mar. Ecol.* 5: 329-378.
- KOHLMEYER J. and VOLKMANN-KOHLMEYER B., 1991a - Illustrated key to the filamentous higher marine fungi. *Bot. Mar.* 34: 1-61.
- KOHLMEYER J. and VOLKMANN-KOHLMEYER B., 1991b - Marine fungi of Queensland, Australia. *Austral. J. Mar. Freshwater Res.* 42: 91-99.
- LEONG W.F., TAN T.K. and JONES E.B.G., 1991 - Fungal colonization of submerged *Bruguiera cylindrica* and *Rhizophora apiculata* wood. *Bot. Mar.* 34: 69-79.



## YEAST FLORA OF RAW MILK IN EL-MINIA CITY, EGYPT

Mamdouh S.A. HARIDY

Botany Depart., Faculty of Science, El-Minia University, El-Minia,  
Egypt.

**ABSTRACT** - 126 yeast strains were isolated from raw milk samples collected from milk sellers at Al-Minia city, upper Egypt. On the basis of 24 morphological and physiological merkmals, the isolated yeast strains were assigned to 13 genera. *Debaryomyces hansenii* and *Clavispora lusitanae* were the most dominant species followed by *Trichosporon beigeli* and *Rhodotorula mucilaginosa*. *Kluyveromyces marxianus*, a lactose fermenting species, was also isolated. It is worth mentioning that the presence of the pathogenic species *Trichosporon beigeli* and *Rhodotorula mucilaginosa* constitutes a public health hazard and care should be taken for free milk from these human pathogens before being used.

**RÉSUMÉ** - A El-Minia, en Haute-Egypte, 126 souches de levures ont été isolées de lait frais, vendu par les commerçants de la ville. Sur la base des caractéristiques morphologiques et physiologiques, 24 espèces, réparties dans 13 genres, ont été répertoriées. Les plus répandues sont: *Debaryomyces hansenii* et *Clavispora lusitanae*, suivies de *Trichosporon beigeli* et de *Rhodotorula mucilaginosa*. On dénombre également *Kluyveromyces marxianus* qui fermente le lactose. Il convient d'indiquer que la présence d'espèces nuisibles comme *Trichosporon beigeli* et *Rhodotorula mucilaginosa* représente un problème pour l'hygiène publique et nécessite la purification du lait avant sa consommation.

**KEY WORDS** : yeast, milk, human pathogens, *Trichosporon beigeli*, *Rhodotorula mucilaginosa*.

Raw milk represents an ideal growth medium for bacteria, mould and yeasts (Dombrowski, 1910). Although intensive studies were carried out on spoilage of milk with moulds and bacteria, few studies were performed on the role of yeasts in this process. Recently, microbiologists have focused their attention on yeasts as food spoilage causative organisms in raw milk and milk products such as cheese, yoghurt and butter (Davis, 1975; Busse, 1978; Kielwein, 1982; Spillmann & Ceiges, 1983). Along that line, yeasts were found to produce volatile acids (Hosono & Tokita, 1970; Kang et al., 1976; Engel, 1980; Winkelmann, 1989; Lenoir, 1984), hydrolyse proteins and fats (Schmidt et al., 1979; Alifax et al., 1982; Schmidt, 1982) and ferment lactose forming CO<sub>2</sub> which leads to swelling and blowing off the product container (Kiss et al., 1966; Davis, 1970; Kroger, 1976; Busse, 1978; Spillmann & Ceiges, 1983).

Although the occurrence of yeasts in raw milk was reported by some investigators in several countries (Bridge Cooke & Brazis, 1968; Nakanishi & Arai, 1968, 1969; Rey Fernandez, 1972; Deiana et al., 1977; Haridy, 1987), few investigations were carried out along that line in Egypt and were mainly concerned with cheese and butter (Fahmy & Youssef, 1974; El-Gendy et al., 1979; El-Bassiony et al., 1980; Se-

ham et al., 1982; Zein et al., 1983), whereas none was performed on yeast flora of raw milk. In this paper we report on the yeast flora of raw milk samples collected from El-Minia city in upper Egypt in an attempt to evaluate the role of yeasts in spoilage of raw milk in this locality.

## MATERIALS AND METHODS

Raw milk samples were collected from milk sellers in sterile test tubes and were directly transported to the laboratory. Sampling was performed 2-3 times every month for a period of one year starting January 1990 to January 1991. For isolation and identification of yeast strains, 0.2 ml portions of raw milk were aseptically withdrawn and directly spread on YM-agar plates adjusted to pH 3.5 (Lodder, 1970) or mixed in a test tube with 0.8 ml sterile distilled water and decimal dilutions were prepared for counting purposes. Inoculated plates were inoculated at 28°C for 2-3 days. Developing yeast colonies were counted and after microscopic examination, strains were isolated, purified and preserved on YM-agar slants at 4°C. Identification of yeast strains was performed according to the standard keys of yeast identification (Lodder, 1970; Barnett et al., 1983; Kreger van Rij, 1984).

## RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the total yeast count of raw milk at different months during the sampling period and the level of occurrence of isolated species. All the tested samples contained yeast cells with a total count ranging between  $1.8 \times 10^2$  and  $2 \times 10^4$  cells per 1 ml raw milk. The highest count of yeast cells was recorded in April, May and September while the lowest number of yeast cells was found in December. In Italy, yeast count of milk was  $2 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$  (Fatichenti et al., 1977).

Table 2 shows that a total of 126 yeast strains were isolated from milk samples and identified to the species level and these were found to belong to 13 genera which are: *Debaryomyces* (27 isolates), *Clavispora* (24 isolates), *Trichosporon* (22 isolates), *Rhodotorula* (16 isolates), *Kluyveromyces* (10 isolates), *Torulaspora* (8 isolates), *Cryptococcus* (6 isolates), *Hansenula* (4 isolates), *Saccharomyces* (4 isolates) and *Candida* (2 isolates). Each of the genera *Dekkera*, *Schwanniomyces* and *Sporidiobolus* were represented by a single strain. *Debaryomyces hansentii* and *Clavispora lusitaniae* were more frequently isolated and occurred in high numbers of cells (table 1). *Trichosporon beigelii* and *Rhodotorula mucilaginosa* were regularly isolated but with low numbers of cells. Data indicated that these four species were capable of substantial growth in raw milk. These species were isolated by Haridy (1987) from raw milk in west Germany and the species *Debaryomyces hansentii* was the most dominant.

*Kluyveromyces marxianus*, a lactose fermenting species, was also isolated and was represented by 7.9% of the total isolates. The occurrence of this species in raw milk is previously reported by several investigators (Ingram, 1958; Nakanishi & Arai, 1968, 1969; Walker & Ayres, 1970; Peppler, 1976; Haridy, 1987).

The remaining yeast species listed in table 1 were sporadically isolated with few cell numbers and therefore were considered as contaminants that were unable to be established in raw milk.

Data in table 2 shows that, fermentation of glucose, assimilation of lactose and building of ascospores and true mycelium represented the differential merkmals for *Debaryomyces hansentii*, *Clavispora lusitaniae*, *Trichosporon beigelii* and *Rhodotorula*

Table 1: Distribution of yeast species in raw milk during 12 months period.  
 Tableau 1 - Répartition des levures dans le lait frais pendant 12 mois.

	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Total count of yeast cells/ml raw milk	$2.0 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$	$1.7 \times 10^3$	$1.3 \times 10^3$	$2.0 \times 10^4$	$1.0 \times 10^4$	$1.4 \times 10^3$	$1.3 \times 10^3$	$2.0 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$	$1.0 \times 10^3$	$1.8 \times 10^2$
<i>Debaryomyces hansenii</i>	+++	+++	++	+++	++	++	++	++	+	+	+++	+++
<i>Clavispora lusitanae</i>	+	+++	+++	+++	++	++	++	+	+++	+++	+++	+
<i>Trichosporon beigellii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	++
<i>Torulaspore delbrueckii</i>	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Cryptococcus laurentii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Hansenula polymorpha</i>	++	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+++
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	++	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+++	++
<i>Dekkera intermedia</i>	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida blankii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida episi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Sporidiobolus salmonicicola</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Debaryomyces vanriji</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Schwanniomyces occidentalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+++ = high number of colonies, ++ = moderate number of colonies, + = few number of colonies

Table 2 - Physiological and morphological properties of the isolated yeast species (\*)  
 Tableau 2 - Propriétés physiologiques et morphologiques des levures isolées.

SPECIES	number of strains tested	FERMENTATION				ASSIMILATION											GROWTH AT		BUILDING OF						
		glucose	galactose	maltose	sucrose	lactose	galactose	sorbitose	ribose	xylose	arabinose	rhamnose	sucrose	maltose	lactose	raffinose	mannitol	succinate	citrate	37°C	42°C	ascospores	true mycelium	pellicle	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	26	100	62	54	54	0	100	85	46	100	50	62	100	100	23	100	100	100	100	54	0	100	50	0	54
<i>Clavispora lusitanae</i>	24	100	100	42	75	0	100	100	42	100	0	100	100	100	0	100	100	100	17	100	84	100	100	0	100
<i>Trichosporon beigeleri</i>	22	0	0	0	0	0	100	64	73	100	100	55	100	91	100	100	82	81	62	64	27	0	0	0	0
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	16	0	0	0	0	0	100	88	100	88	38	100	100	0	100	100	100	25	63	0	0	100	100	0	100
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	10	100	100	70	100	100	100	100	20	60	0	100	80	100	100	80	100	40	40	40	20	100	100	0	100
<i>Torulopsispora delbrueckii</i>	8	100	0	75	25	0	50	25	0	100	0	0	100	100	0	100	0	25	0	75	0	100	50	0	50
<i>Cryptococcus laurentii</i>	6	0	0	0	0	0	100	100	100	100	100	67	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0	0	0
<i>Hansenula polymorpha</i>	4	100	100	0	50	0	50	100	50	50	0	100	100	0	0	100	50	0	0	100	100	100	100	0	100
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4	100	100	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100	50	0	100	100	0	0	50	50	100	100	0	100
<i>Debaryomyces vanriji</i>	1	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100	0	0	100	100	0	0	100	0	100	0	0	0
<i>Dekkera intermedia</i>	1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	100	100	0	0	100	0	100	0	0	0
<i>Schwanniomyces occidentalis</i>	1	100	100	0	0	0	100	100	100	100	0	100	100	0	100	100	100	100	100	100	0	100	0	0	0
<i>Candida apii</i>	1	0	0	0	0	0	100	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	100	100	0	0
<i>Candida blankii</i>	1	100	100	100	100	0	100	100	100	100	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>	1	0	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\* percentages of positive reactions of strains

*mucilaginosa* which are the most dominant species. Budding of arthrospores and asexual reproduction of fission were additive characteristics for *Trichosporon beigeli*. Budding of pigmented colonies, which are shiny, pink or red with entire margin, was of value in case of *Rhodotorula mucilaginosa*.

Of particular interest was the isolation of *Trichosporon beigeli* and *Rhodotorula mucilaginosa* in considerable numbers. These two species were reported as human pathogens by Hurley et al. (1987). Their presence in raw milk may be deleterious to human health and care should be taken to insure that raw milk should be free from them before being used.

#### ACKNOWLEDGEMENT

I thank Prof. Dr. Mohamed A. Elnaghy, Vice President, Minia University, for reading of the manuscript and continuous guidance during the work.

#### REFERENCES

- ALIFAX R., CHOISY C. and VEISSEYRE R., 1982 - XXI Intern. Milchwirtsch.-Kongr. Moskau Bd. 1 Buch 2, S. 271-272.
- BARNETT J.A., PAYNE R.W. and YARROW D., 1983 - *Yeasts, characteristics and identification*. Cambridge, Cambridge Univ. Press.
- BRIDGE COOKE W. and BRAZIS A.R., 1968 - Occurrence of moulds and yeasts in dairy products. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 35: 281-289.
- BUSSE M., 1978 - *Deutsch Molkerei-Zeitung* 99: 182-186.
- DAVIS J.G., 1970 - Fruit yoghurt. *Dairy Industry* 35: 676-680.
- DAVIS J.G., 1975 - The microbiology of yoghurt. In: J.G. Carr, C.V. Cutting & G.C. Whiting, *Lactic acid bacteria in beverages and food*. London, Acad. Press: 245-266.
- DEIANA P., FATICHENTI F. and FARRIS G.A., 1977 - Microbiological studies of goats milk and cheese in Sardegna. I. Yeasts. *Industria del Latte* 13: 49-56.
- DOMBROWSKI W., 1910 - Die Hefen in Milch und Milchprodukten. *Centralbl. Bakteriol. Parasitenk.* 28: 345-403.
- EL-BASSIONY T., ATIA M. and ABOUL KHIER F., 1980 - Search for the predominance of fungi species in cheese. *Assiut Vet. Med. J.* 7: 173-184.
- EL-GENDY S., KAMAL M., YOUSSEF E., HUSSEIN M. and HASSAN M., 1979 - Microflora of fresh and stored butter. *Egypt J. Food Sci.* 5: 53-60.
- ENGEL G., 1980 - Hefen und Schimmelpilze als Startkulturen. *Deutsche Molkerei-Zeitung* 34: 1236-1239.
- FAHMY I. and YOUSSEF L., 1974 - Incidence of yeasts as gas formers in Damietta cheese. *Agric. Res. Rev.* 52: 175-180.
- FATICHENTI F., FARRIS G.A. and DEIANA P., 1977 - Development of blastomycetic microflora in Flore Sardo Cheese. *Industria del Latte* 13: 11-18.
- HARIDY M., 1987 - Taxonomie milchwirtschaftlich wichtiger Hefen. Ph. D. These. Bakt. Ins. Techn. Univ. München, Deutschland.
- HOSONO A. and TOKITA F., 1970 - *Dairy Sci. Abstr.* 32: 369.
- HURLEY R., De LOUVOIS J. and MULHALL A., 1987 - Yeasts as human and animal pathogens. In: A.H. Rose & J.S. Harison, *The Yeasts*. Vol. I, London, Acad. Press: 207-281.

- INGRAM M., 1958 - In: A.H. Cooke. *Chemistry and biology of yeasts*. New York. Acad. Press Inc.: 603-633.
- KANG K.H., KAMINOGAWA S. und YAMAUCHI K., 1976 - Untersuchungen zur Käseherstellung unter Verwendung von *Debaryomyces hansenii*. *Jap. J. Zootechnol. Sci.* 47: 18-22.
- KIELWEIN G., 1982 - Kurs über mikrobiologische Probleme in der Milchwirtschaft. *Deutsche Molkerei-Zeitung* II: 320-321.
- KISS E., EROSS E. and MARKUS P., 1966 - XVII. Intern. Milchwirtsch. Kongr. München D.1.: 143.
- KREGER van RIJ N.J.W., 1984 - *The yeasts, a taxonomic study*. Amsterdam, Elsevier Sci. Publ.
- KROGER M., 1976 - Quality of yoghurt. *J. Dairy Sci.* 59: 344-350.
- LENOIR J., 1984 - The surface flora and its role in the ripening of cheese. *IDF Bull.* 171: 3-20.
- LODDER J., 1970 - *The yeasts, a taxonomic study*. 2nd ed. Amsterdam, North Holland Publish.
- NAKANISHI T. and ARAI I., 1968 - Studies on lactose fermenting yeasts from raw milk. I. *Jap. J. Dairy Sci.* 17: 152.
- NAKANISHI T. and ARAI I., 1969 - Studies on lactose fermenting yeasts from raw milk. II. Isolation and identification of lactose fermenting yeasts from raw milk. *Jap. J. Dairy Sci.* 18: 25.
- PEPPLER H.J., 1976 - Yeasts. In: M.P. Defigueiredo & D.F. Splittstoesser. *Food microbiology public health and spoilage aspects*. Westport Conn. AVI Publ. Co.Inc.: 427-454.
- REY FERNANDEZ M., 1972 - Incidence of yeasts in milk supplies in the province Leon. *Anales Fac. Veterin. Leon* 18: 95-147.
- SCHMIDT J.L., 1982 - Influence of yeasts on growth of *Penicillium*. XXI Intern. Milchwirtsch. Kongr. Moskau Bd. 1 Buch 2 S. 365.
- SCHMIDT J.L., GRAFFARD C. et LENOIR J., 1979 - *Le Lait.* 59: 142-163.
- SEHAM M., SHELEIH M.A. and SAUDI A.M., 1982 - Occurrence of yeasts in some Egyptian dairy products. *J. Egypt. Vet. Med. Assoc.* 42: 5-11.
- SPIILLMANN H. und GEIGES O., 1983 - Identifikation von Hefen und Schimmelpilzen aus bombierten Joghurt-Packungen. *Milchwissenschaft* 38: 129-132.
- WALKER H.W. and AYRES J.C., 1970 - Yeasts as spoilage organisms. In: A.H. Rose & J.S. Harrison. *The yeasts*. Vol. III. London Acad. Press: 464-528.
- WINKELMANN U., 1983 - Oberflächenkulturen in Käseereien. *Dr. Milchwirtschaft* 34: 319-321.
- ZEIN G.N., MOUSSA A.M., ABOU-ZEID M.M., GOMAA E. and FOFEL A., 1983 - Studies on Kareih cheese in the local markets of Monoufia. *Egypt. J. Dairy Sci.* II: 317-319.



## LES CONTAMINANTS FONGIQUES DU RAISIN DE TABLE MAROCAIN CONSERVÉ AU FROID

O. BENKHEMMAR<sup>1</sup>, H. LAHLOU<sup>1</sup>, G. BOMPEIX<sup>2</sup>, J. DUPONT<sup>3</sup>,  
H. EL MNIAI<sup>4</sup> et C. BOUBEKRI<sup>5</sup>

1. Université Mohammed V, Fac. Sci. Rabat, Dép. Biologie, B.P. 1014, Rabat, Maroc.
2. Univ. Pierre et Marie Curie, Lab. Biochimie et Pathologie Végétale, Place Jussieu, 75252 Paris, France.
3. Lab. Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, 75005 Paris, France.
4. Domaines Royaux, Direction Générale, 40 Avenue Ibn Toumert, Casablanca, Maroc.
5. Société de Développement Agricole (SO.DE.A), Dép. Participations, Direction Générale, Cité Agdal, Rabat, Maroc.

**RÉSUMÉ** - Les champignons *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* et divers *Penicillium*, notamment *Penicillium expansum*, sont responsables d'une grande partie des dégâts observés sur le raisin de table marocain conservé au froid. La contamination s'effectue à la fois au champ et dans l'entrepôt frigorifique où sont conservés d'autres types de fruits. A 0°C le *Rhizopus stolonifer* et l'*Aspergillus niger* ont une croissance nulle. En revanche les autres champignons sont capables de se développer. Le froid seul est donc insuffisant pour assurer une bonne conservation du raisin de table.

**ABSTRACT** - *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* and various *Penicillium* mainly *Penicillium expansum* were responsible for a great extent of deterioration on grapes held in cold storage. Contamination takes place in the field and in the storage room where other fruits have been stored. All the fungi cited above are capable to grow at 0°C, except *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*, so that cold only is not sufficient to preserve for a long time the quality of dessert grapes.

**MOTS CLÉS** : raisin de table, conservation frigorifique, moisissures.

### INTRODUCTION

Le développement des moisissures sur le raisin de table, au cours de la conservation frigorifique, provoque des dégâts très importants. Dans le but d'éviter ou au moins de minimiser ces dégâts, plusieurs travaux de recherche ont été réalisés au Maroc (Benkhemmar et al., 1990; Boubekri et al., 1987) et dans d'autres pays (Flanzy et al., 1982; Paulin, 1977).

L'efficacité de la lutte contre le développement de ces moisissures dépend de plusieurs facteurs. En effet, en plus de l'état initial du raisin à conserver (Benkhemmar et al., 1989), l'identification des contaminants du raisin, la connaissance de leurs

particularités biologiques et la détermination des sources de contamination s'avèrent indispensables pour choisir un moyen de lutte approprié et efficace.

Ce travail a été entrepris au Maroc afin d'apporter d'autres informations pouvant contribuer à l'amélioration et à la maîtrise de la conservation frigorifique du raisin de table.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel végétal

Ce travail a été réalisé durant quatre campagnes consécutives (de 1986 à 1990), le raisin de table provenant de la collection viticole UP 5015 appartenant à la Société de Développement Agricole (SO.DE.A) située dans la région de Fès à une altitude de 560m et une latitude de 33°50'. Plusieurs traitements fongicides sont effectués régulièrement dans cette collection, notamment des traitements contre le *Botrytis*, l'Excoriose, le Mildiou et l'Oïdium. Après chaque cueillette, et pour les quatre campagnes, le raisin a été conservé à une température de 0°C et à une humidité relative de 90%. La conservation est effectuée dans une chambre froide de l'entrepôt frigorifique de la SO.DE.A qui se trouve à El Hajeb à 50 km de la collection viticole. Cet entrepôt frigorifique est utilisé aussi pour conserver d'autres fruits, en particulier les pommes, les poires et les oranges.

### Isolement et identification des champignons responsables de pourritures sur le raisin de table

Afin de déterminer la source de contamination du raisin conservé, des prélèvements ont été réalisés d'une part au champ, d'autre part dans le couloir qui sépare les chambres froides de l'entrepôt frigorifique (température comprise entre 10° et 15°C) et enfin à l'intérieur de la chambre froide.

Le piégeage des spores est réalisé avant de mettre le raisin dans l'entrepôt frigorifique en exposant pendant sept heures (de 9 heures du matin à 16 heures de l'après-midi) dans différents endroits de chacun des lieux cités précédemment 20 boîtes de Pétri ouvertes contenant un jus de raisin gélosé de la variété Valency et un antibiotique (Chloramphenicol). Au laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de Rabat, et avant de porter ces boîtes de Pétri à 25°C, une préincubation à 10°C est effectuée pour réduire le développement des champignons qui envahissent rapidement les milieux de culture. Le développement des thalles isolés est contrôlé chaque jour pour éviter leur chevauchement. Les thalles qui se sont développés sont prélevés et repiqués séparément par bouturage sur le jus de raisin gélosé à raison d'une seule bouture par boîte de Pétri.

Des grappes de raisin moisies et non moisies ont été récoltées séparément dans le vignoble et placées dans des sachets individuels en polyéthylène pour les analyser au laboratoire. Des grappes de raisin moisies ont été également régulièrement prélevées dans la chambre froide durant toute la période de conservation. Au laboratoire, les pellicules des baies de ces grappes prélevées sont enlevées stérilement. La face externe de ces pellicules est placée au contact du jus de raisin gélosé dans les boîtes de Pétri. Les rafles de ces grappes sont découpées en petits fragments et introduits dans ce même milieu. De la même façon que précédemment ces boîtes sont incubées d'abord à 10°C, ensuite à 25°C et les thalles qui se sont développés sont prélevés séparément.

Les thalles isolés ont été purifiés, dénombrés et identifiés. La purification de ces thalles est obtenue après plusieurs repiquages successifs et clonage monospore sur le jus de raisin gélosé. Le dénombrement des thalles isolés a permis de déterminer le pourcentage qui représente la fréquence avec laquelle chaque type de thalle a été rencontré dans les différents lieux d'isolement lors des prélèvements. Ce pourcentage (P) est déterminé de la façon suivante:

$$P = \frac{\text{Nombre de thalles d'un champignon donné dans un lieu donné}}{\text{Nombre total des thalles de tous les champignons isolés dans ce même lieu}}$$

L'identification des champignons isolés a été effectuée au laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris par examen au microscope optique des prélèvements de structures conidiennes obtenues sur milieux appropriés (Ellis, 1971; Pitt, 1979; Raper & Fennell, 1965; Zycha et al., 1969).

### Etude de l'influence du milieu de culture et de la température sur la croissance des champignons isolés

Des boutures des champignons retenus pour la réalisation de cette étude ont été prélevées avec un emporte-pièce et déposées au centre des boîtes de Pétri de 90mm de diamètre, à raison d'une bouture par boîte, sur les milieux suivants:

- le milieu malté: 20g d'extrait de malt, 20g d'Agar et 1000ml d'eau distillée.

- le milieu de Czapek:  $\text{NaNO}_3$ : 2g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,5g,  $\text{KCl}$ : 0,5g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,01g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,01g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ : 0,005g, Saccharose: 30g, Agar: 20g et 1000ml d'eau distillée.

- les jus de raisin filtrés et non dilués d'une variété blanche (le Valency) et d'une variété noire (la King's Ruby). A chacun de ces jus, 20g d'Agar par litre sont ajoutés avant d'ajuster leur pH à 6,5.

Deux lots de dix boîtes de Pétri sont préparés pour chaque milieu et pour chaque champignon. Un de ces deux lots est incubé à 0°C correspondant à la température de la chambre froide, l'autre lot à 25°C qui correspond en moyenne à la température ambiante pendant l'été au Maroc. La croissance des thalles de ces champignons, au cours du temps, a été mesurée régulièrement.

### Inoculation des champignons isolés du raisin de table

Dans le but de s'assurer que les champignons isolés sont effectivement responsables des dégâts observés sur le raisin de table conservé au froid, une inoculation a été réalisée sur les variétés King's Ruby et Valency.

Les baies sont préalablement désinfectées par l'alcool puis rincées à l'eau stérile. Une seule blessure de 5mm de longueur par baie est réalisée à l'aide d'une lame de rasoir neuve et désinfectée. Sur les baies blessées et non blessées, des suspensions conidiennes de  $10^6$  conidies/ml d'eau stérile de chacun des champignons retenus ont été pulvérisées séparément. Des baies témoins blessées et non blessées non inoculées sont placées dans les mêmes conditions. Pour chacun de ces cas 100 baies ont été utilisées. Les baies inoculées et non inoculées sont incubées pendant 10 jours à 25°C dans de petits sachets en polyéthylène, à raison d'une baie par sachet. L'importance du développement de chacun de ces champignons sur les baies a été déterminée en évaluant, 10 jours après inoculation, la surface apparente envahie par rapport à la surface totale de la baie.

## RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les isollements réalisés ont permis de déceler la présence de différents champignons (Domsch et al., 1980):

*Rhizopus stolonifer* ((Ehrenb. ex Link) - Lindner 1913), *Mucor racemosus* (Fresenius 1850), *Alternaria alternata* ((Fr) Keissler 1912), *Botrytis cinerea* (Pers. ex Nocca et Balb 1812), *Aspergillus niger* (Van Tieghem 1867) et divers *Penicillium* notamment *Penicillium expansum* (Link ex Gray 1821).

Ces champignons ont été décrits par plusieurs auteurs dans d'autres pays (Rumbos, 1982; Stojanovic & Jurcevic, 1982; Zironi et al., 1982) comme étant des contaminants du raisin de table conservé au froid. La fréquence de ces champignons dans un lieu d'isolement donné est présentée dans le tableau I. L'analyse des résultats groupés dans ce tableau montre que les *Penicillium* sont les plus fréquents. Cependant aucune conclusion prématurée ne doit être tirée de cette constatation car le dénombrement des thalles isolés peut n'exprimer que l'aptitude à la sporulation d'une espèce. En effet, les champignons dont la sporulation est modérée, seront moins fréquents lors des isollements que ceux qui ont une sporulation active et qui sont faciles à détecter. Par ailleurs, les traitements contre le *Botrytis* effectués au champ durant les quatre campagnes consécutives, ont certainement réduit le développement de cette espèce, ce qui expliquerait son faible pourcentage dans les prélèvements réalisés au champ. Par contre, ce pourcentage est plus important à l'intérieur de la chambre froide puisque *B. cinerea* est capable de se développer activement entre -2°C et 5°C (Pitt & Hocking, 1985). Notons aussi que *R. stolonifer* et *A. niger* sont plus abondants au champ et absents dans l'air de la chambre froide, ce qui peut être expliqué par le fait que la basse température (0°C) réduit beaucoup leur développement et leur sporulation. En effet, les températures minimales de croissances sont de 6° à 8°C pour *A. niger* et de 4,5 à 5°C pour *R. stolonifer* (Pitt & Hocking, 1985).

L'analyse de ces pourcentages doit être effectuée avec beaucoup de prudence et il ne faudrait sous-estimer aucun des contaminants isolés même s'il est faiblement

Tableau 1: Fréquence (en %) des champignons isolés dans différents lieux de prélèvement.  
Table 1: Frequency (%) of fungi isolated in several places.

CHAMPIGNONS ISOLES	VIGNOBLE		DANS LE COULOIR DE L'ENTREPOT FRIGORIFIQUE	DANS LA CHAMBRE FROIDE	
	Dans l'air	Sur le raisin		Dans l'air	Sur le raisin
<i>Rhizopus stolonifer</i>	18,12	38,08	4,95	0	6,05
<i>Mucor racemosus</i>	6,94	5	0,45	1,53	19,02
<i>Alternaria alternata</i>	4,06	3,08	2,59	0,76	7,49
<i>Botrytis cinerea</i>	2,06	0,77	27	17,56	36,02
<i>Aspergillus niger</i>	32,94	22,11	2,02	0	4,33
<i>Penicillium spp</i>	35,88	30,96	62,99	80,15	27,09
NOMBRE TOTAL DES COLONIES ANALYSEES	3400	520	889	131	347

représenté. Les champignons isolés au champ, dans le couloir de l'entrepôt frigorifique et dans l'air de la chambre froide sont aussi présents sur le raisin conservé. Cette constatation permet de supposer que le champ et l'entrepôt frigorifique, dans lequel sont conservés d'autres types de fruits, constituent deux sources importantes de contamination pour ce raisin.

Hormis les autres champignons isolés, seul *P. expansum* a été identifié et retenu parmi les divers *Penicillium* dans la première partie de ce travail. La détermination des autres *Penicillium* fera l'objet de la 2ème partie de cette étude qui sera publiée ultérieurement. *P. expansum* qui produit de la patuline, mycotoxine dangereuse pour la santé humaine (Freymy, 1983; Stray, 1978), s'est avéré très fréquent sur le raisin conservé, raison pour laquelle nous lui avons accordé une importance particulière.

Les résultats figurant dans le tableau 2 montrent que l'accroissement à 25°C (mesures effectuées chaque jour jusqu'au 6ème jour) et à 0°C (mesures effectuées sur des périodes de 5 jours successives jusqu'au 31ème jour) de toutes les espèces étudiées est relativement plus important sur le jus de raisin gélifié des deux variétés que celui effectué sur les autres milieux de culture. Autrement dit, le jus de raisin constitue un milieu naturel très favorable au développement de ces champignons.

Les résultats de ce tableau montrent aussi qu'à 25°C *R. stolonifer* se développe rapidement sur les quatre milieux de culture par comparaison avec les autres espèces. En effet, les boîtes de Pétri contenant chacun de ces milieux ont été complètement envahies par cette espèce après 2 jours de culture. Cependant, malgré la rapidité de son développement, nous avons constaté que les filaments mycéliens formés par ce champignon sur le milieu de Czapek sont très peu abondants par rapport à ceux des autres milieux. *R. stolonifer* est incapable d'assimiler les nitrates se trouvant dans ce milieu (Domsch et al., 1980) ce qui expliquerait en partie cette constatation. Par ailleurs, l'accroissement de tous les champignons sur les quatre milieux à 0°C, ne démarre qu'à partir du 6ème jour après le repiquage.

A l'exception d'*A. niger* et de *R. stolonifer*, dont la croissance est totalement inhibée à 0°C, les autres champignons ont pu se développer à cette température mais beaucoup moins activement qu'à 25°C. Dans l'ensemble les vitesses de croissance sont assez constantes à 25°C jusqu'au 6ème jour et à 0°C jusqu'au 31ème jour. Une légère accélération peut parfois être observée en fin de culture. Il apparaît clairement que le froid seul est insuffisant pour éviter le développement de ces contaminants d'où la nécessité de combiner le froid à un traitement du raisin avec un fongicide approprié et efficace.

Les résultats groupés dans le tableau 3 permettent de constater que tous les champignons se sont développés sur les baies de Valency et de King's Ruby. La surface apparente envahie par chacun de ces champignons chez les baies blessées de la variété noire King's Ruby est moins importante que celle des baies blessées de la variété blanche Valency. Cette différence de développement pourrait être due à la richesse de King's Ruby en polyphénols. En effet, l'analyse des jus de ces deux variétés, réalisée à notre demande par l'Institut des Produits de la Vigne de l'I.N.R.A. de Narbonne (France), montre que 251,5mg de polyphénols totaux exprimés en acide gallique sont présents dans un litre de jus de King's Ruby, alors que la même quantité du jus de Valency n'en contient que 93,1mg.

Signalons enfin qu'aucun développement des espèces inoculées n'est constaté sur les baies non blessées des deux variétés. La présence des blessures sur le raisin semble être un facteur primordial pour l'installation et la prolifération de ces contaminants (Benkhemmar et al., 1989). Par ailleurs, nous remarquons que tous les champi-

Tableau 2: Effet du milieu de culture et de la température sur l'accroissement des champignons responsables de pourritures sur le raisin.

Table 2: Culture medium and temperature effects on fungal growth.

CHAMPIGNONS ISOLES	MILIEUX DE CULTURE	ACCROISSEMENT DIAMETRAL A 25°C (En mm)
<i>Rhizopus</i> <i>Stolonifer</i> <sup>(1)</sup>	Valency	35±0,7
	King's Ruby	34±0,4
	Malt	22±0,7
	Czapek	24±0,4
<i>Mucor</i> <i>racemosus</i> <sup>(2)</sup>	Valency	17±0,3
	King's Ruby	18±0,4
	Malt	10±0,1
	Czapek	13±0,3
<i>Alternaria</i> <i>alternata</i> <sup>(2)</sup>	Valency	6±0,4
	King's Ruby	6±0,6
	Malt	5±0,6
	Czapek	5±0,3
<i>Botrytis</i> <i>cinerea</i> <sup>(2)</sup>	Valency	7,5±0,3
	King's Ruby	7,5±0,1
	Malt	5,5±0,6
	Czapek	3,3±0,1
<i>Aspergillus</i> <i>niger</i> <sup>(2)</sup>	Valency	11±0,3
	King's Ruby	11±0,6
	Malt	5±0,2
	Czapek	6,5±0,1
<i>Penicillium</i> <i>expansum</i> <sup>(2)</sup>	Valency	4±0,7
	King's Ruby	4±0,3
	Malt	3±0,1
	Czapek	3,5±0,2
CHAMPIGNONS ISOLES		
CHAMPIGNONS ISOLES	MILIEUX DE CULTURE	ACCROISSEMENT DIAMETRAL A 0°C (En mm)
<i>Rhizopus</i> <i>Stolonifer</i> <sup>(1)</sup>	Valency	0
	King's Ruby	0
	Malt	0
	Czapek	0
<i>Mucor</i> <i>racemosus</i> <sup>(2)</sup>	Valency	6,5±0,5
	King's Ruby	7,5±0,1
	Malt	4±0,9
	Czapek	2±0,5
<i>Alternaria</i> <i>alternata</i> <sup>(2)</sup>	Valency	2±0,3
	King's Ruby	2±0,2
	Malt	2±0,1
	Czapek	1,5±0,1
<i>Botrytis</i> <i>cinerea</i> <sup>(2)</sup>	Valency	8±0,9
	King's Ruby	8,5±0,7
	Malt	3,5±0,3
	Czapek	5,5±0,3
<i>Aspergillus</i> <i>niger</i> <sup>(2)</sup>	Valency	0
	King's Ruby	0
	Malt	0
	Czapek	0
<i>Penicillium</i> <i>expansum</i> <sup>(2)</sup>	Valency	3,5±0,2
	King's Ruby	3±0,3
	Malt	2,5±0,2
	Czapek	1,5±0,2

\* : Chaque valeur représente la moyenne de dix répétitions suivie de son écart type.

(1) Mesures effectuées entre le 1er et le 2è jour, (2) entre le 2è et le 3è jour et (3) entre le 6è et le 11è jour (l'accroissement entre le 1er et le 6è jour est presque nul).

Tableau 3: Développement des champignons sur les baies 10 jours après inoculation.

Table 3: Development of fungi on grapes ten days after inoculation.

CHAMPIGNONS INOCULES AU RAISIN	VARIETES	ETAT INITIAL DES BAIES	POURCENTAGE DES BAIES AYANT UNE SURFACE APPARENTE ENVAHIE PAR LE CHAMPIGNON		
			$S_a < \frac{1}{3} S_t$	$\frac{1}{3} S_t \leq S_a < \frac{2}{3} S_t$	$S_a > \frac{2}{3} S_t$
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Valency	B	0	21	79
		NB	0	0	0
	King's Ruby	B	61	39	0
		NB	0	0	0
<i>Mucor racemosus</i>	Valency	B	0	57	43
		NB	0	0	0
	King's Ruby	B	72	28	0
		NB	0	0	0
<i>Alternaria alternata</i>	Valency	B	63	31	3
		NB	0	0	0
	King's Ruby	B	84	16	0
		NB	0	0	0
<i>Botrytis cinerea</i>	Valency	B	15	59	26
		NB	0	0	0
	King's Ruby	B	77	23	0
		NB	0	0	0
<i>Aspergillus niger</i>	Valency	B	7	64	29
		NB	0	0	0
	King's Ruby	B	75	25	0
		NB	0	0	0
<i>Penicillium expansum</i>	Valency	B	71	28	1
		NB	0	0	0
	King's Ruby	B	87	13	0
		NB	0	0	0

B: Blessées, NB: Non Blessées, Sa: surface apparente envahie par le champignon, St: Surface totale de la baie.

gnons isolés dans ce travail, connus comme des agents pathogènes d'autres fruits (Botton et al., 1990), sont capables de se développer sur le raisin de table et de le détériorer après inoculation. Ces champignons sont donc responsables au moins d'une grande partie des dégâts observés sur le raisin conservé au froid.

## CONCLUSION

Dans les conditions de ce travail, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* et *Penicillium expansum* apparaissent comme des contaminants responsables au moins d'une grande partie des dégâts observés sur les raisins de table conservés au froid. Le champ de la collection viticole et l'entrepôt frigorifique dans lequel sont conservés d'autres types de fruits, sont deux sources importantes de contamination de ce raisin. De même, il apparaît clairement d'une part que le froid seul est insuffisant pour empêcher le développement de ces contaminants, d'autre part, que la présence des blessures sur les baies du raisin est un

facteur primordial pour leur développement. Afin de réduire les dégâts enregistrés sur le raisin conservé, il est donc nécessaire de combiner au froid un traitement du raisin avec un fongicide comme le  $\text{SO}_2$  (Benkhemmar et al., 1989; Paulin, 1977) et de s'assurer si possible que les baies des grappes à conserver ne soient ni blessées, ni moisies, ni mouillées et possèdent un indice réfractométrique proche de 18 (Benkhemmar et al., 1989; Paulin, 1977). La présence de ces champignons sur le raisin avec des pourcentages différents nous a incités à envisager l'étude de la concurrence entre ces contaminants pour envahir un même milieu. Par ailleurs, on note la présence fréquente du *P. expansum* qui produit normalement de la patuline dans les pommes (Fremy, 1983; Stray, 1978). Des études sont entreprises pour détecter éventuellement la présence de cette toxine dans le jus de raisin.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions le Professeur ROQUEBERT au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, Monsieur TANTAOUI-ELARAKI, Professeur à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II de Rabat, Monsieur BOURZEIX et Monsieur HERIDA à l'Institut des Produits de la Vigne de l'I.N.R.A. de Narbonne, et Monsieur BENCHAKRI au Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de Rabat, de nous avoir aidés à réaliser ce travail.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BENKHEMMAR O., EL MNIAI H., BOUBEKRI C., LAHLOU H. et TANTAOUI-ELARAKI A., 1989 - La conservation frigorifique de six variétés de raisin de table cultivées au Maroc, par la méthode des sachets générateurs de  $\text{SO}_2$ . *Bulletin de l'O.I.V.* 695-696: 5-19.
- BENKHEMMAR O., EL MNIAI H., LAHLOU H., BOMPEIX G., BOUBEKRI C. and TANTAOUI-ELARAKI A., 1990 - Improvement of moroccan table grape varieties cold storage conditions. 8th Congr. Medit. Phytopathol. Union Proc. Agadir (Morocco): 259-261.
- BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GAUTHIER S., GUY Ph., LARPEL J.P., REYMOND P., SANGLIER J.J., VANSSIER Y. et VEAU P., 1990 - *Moisissures utiles et nuisibles: Importance industrielle* - 2ème édition. Paris, Masson: 210-220.
- BOUBEKRI C., TANTAOUI-ELARAKI A. et BOUZID M.J., 1987 - Essai de conservation frigorifique de deux variétés de raisin de table: Sultanine et Muscat d'Alexandrie. *Actes Inst. Agron. Vet. Hassan II, Rabat, Maroc*, 7(3-4): 91-94.
- DOMSCH K.H., GAMS W. and ANDERSON T.H., 1880 - *Compendium of soil fungi*. Londres, Academic Press. Vol. I, II.
- ELLIS M.B., 1971 - *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, CMI: 464-495.
- FLANZY C., ANDRE P., BLANC R., BURET M., CHAMBROY Y., PELISSE C. et RIQUET A.M., 1982 - Conservation de la Variété de raisin de table Ribol (*Vitis unifera*). Symp. Int. "Raisin de table-Raisin sec", Héraklion (Grèce): 611-622.
- FREMY J.M., 1983 - Connaissances actuelles sur la patuline. *Bull. Lab. Vét.* 11: 25-28.
- PAULIN A., 1977 - Un exemple d'application de la conservation du raisin par le procédé des sachets générateurs. Etude critique de la méthode. *Sci. Techn. Froid* 3: 205-212.
- PITT J.L., 1979 - *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*. Londres, Academic Press: 320-328.
- PITT J. and HOCKING A.D., 1985 - *Fungi and Food spoilage*. Australia, Academic Press: 169-257.



- RAPER K.B. and FENNELL D.I., 1965 - *The genus Aspergillus*. Baltimore, Maryland, Williams and Wilkins: 293-344.
- RUMBOS J., 1982 - Dégâts observés sur les grappes des raisins de table. Symp. Int. "Raisin de table-Raisin sec". Héraklion (Grèce): 455-463.
- STOJANOVICM et JURCEVIC A., 1982 - Contrôle microbiologique du raisin de table Afuz-Ali en entrepôt frigorifique. Symp. Int. "Raisin de table-Raisin sec". Heraklion (Grèce): 637-641.
- STRAY H., 1987 - HPLC determination of patulin in apple juice. *J.A.O.A.C.* 61 (6): 1359-1362.
- ZIRONI R., RIPONI C., FERRARINI R. et AMATI A., 1982 - Remarque sur le développement de "la moisissure acide" dans le dessèchement des raisins. Symp. Int. "Raisin de table-Raisin sec". Héraklion (Grèce): 479-489.
- ZYCHA H., SIEPMANN R. et LINNEMANN G., 1969 - *Mucorales*. Lehre, J. Cramer: 2-84.



## ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

CRANE J.L. and TAZIK P.P., 1992 - Catalog of types of the Illinois Natural History Survey Mycological Collections (ILLS). Illinois Natural History Survey Bulletin 34(6): 535-550.

Commencée avec les collections de rouilles de A.B. Seymour (1881-1886) et des mildious de T.J. Burrill (1882-1885), la collection mycologique de l'Illinois Natural History Survey comprend 47500 spécimens (champignons supérieurs et inférieurs). Le catalogue donne les références complètes (bibliographie, substrats, récolteur) de 300 types présents dans les collections.

HUHNDORF S.M., 1992 - Systematics of *Leptosphaeria* species found on the Rosaceae. Illinois Natural History Survey Bulletin 34(5): 479-534, 21 fig.

L'examen minutieux (asques, ascospores, hamathecium, centrum et surface de la paroi de l'ascocarpe) des 55 espèces de *Leptosphaeria* décrites sur Rosaceae, permet à l'auteur de les répartir selon leurs affinités avec les Pléosporales (*Leptosphaeriaceae* (clé aux 5 *Leptosphaeria* reconnus), *Phaesphaeriaceae*, *Lophiostomataceae*), les Mélanommatales, les Dothidéales (*Dothioraceae*, *Pseudosphaeriaceae*), et les Hyménoascomycètes (*Clypeosphaeriaceae*, *Diaporthaceae*, *Amphisphaeriaceae*). Proposition de nouv. combinaisons: *Paraphaeosphaeria concentrica* (J.B. Ellis & B.M. Everhart) (= *Leptosphaeria* c.), *P. pomona* (P.A. Saccardo) (= *Leptosphaeria* p.), *P. lucilla* (P.A. Saccardo) (= *Leptosphaeria* l.), *P. thomasiana* (P.A. Saccardo & C. Roumeguère) (= *Leptosphaeria* t.), *Kalmusia coniothyrium* (L. Kuckel) (= *Sphaeria* c.), *Lophiostoma subcutanea* (M.C. Cooke & J.B. Ellis) (= *Sphaeria* s.), *Sacchettoecium sepincola* var. *abbreviata* (M.C. Cooke) (= *Sphaeria abbreviata*), *Diadema sieversiae* (C.H. Peck) (= *Lophiostoma* s.), *Discotroma fuscella* (M.J. Berkeley & C.E. Broome) (= *Sphaeria* f.). L'importance de la spécificité de l'hôte ou de la préférence de substrat dans la délimitation des espèces ou des genres a besoin d'une clarification ultérieure (nécessité de récoltes nombreuses, de cultures pures, d'une étude précise de la distribution des substrats).

NANNENGA-BREMEKAMP N.E., 1991 - A Guide to temperate myxomycetes (An English translation by A. Feest and Y. Burggraaf of De Nederlandse Myxomyceten). Bristol, Biopress Ltd., 409p. ill. (Biopress Ltd, The Orchard, Clanage Road, Bristol BS3 2JX Avon, England, 60.00 £).

Le travail commun traducteurs/auteur a permis de compléter très largement l'édition de 1974, et de proposer au lecteur non seulement les Myxomycètes des Pays Bas, mais encore la quasi totalité des Myxomycètes de la zone tempérée. Les clés (illustrées) aux familles et aux genres précèdent un traitement taxonomique illustré et commenté des espèces de Myxomycètes. La langue anglaise étant plus répandue que le néerlandais, l'immense travail de Mme Nannenga-Bremekamp ne pourra rester ignoré.

PENNYCOOK S.R., 1989 - *Plant Diseases Recorded in New Zealand*. Vol. 1: 1-176; vol. 2: 1-502; vol. 32: 1-180. Plant Disease Division, Department of Scientific and Industrial Research, Private Bag, Auckland, New Zealand. ISBN 0-477-02547-1.

Cette publication constitue une révision approfondie des compilations précédentes des maladies de plantes, recensées en Nouvelle-Zélande et dont la dernière a été rédigée par Dingley en 1969. L'ouvrage proposé rassemble également les observations d'ordre phytopathologiques enregistrées depuis cette date et jusqu'en décembre 1987. Au total, plus de six mille annotations de divers types de désordres phytopathologiques affectant 1856 espèces végétales sont référencées. Ces désordres sont induits par plus d'un millier de pathogènes fongiques, soixante-dix organismes bactériens, seulement sept espèces d'algues et, enfin, près de cent cinquante virus. Une lecture rapide des seuls épithètes reproduits concernant des champignons, confirme que l'auteur n'a pas épargné ses efforts pour une mise à jour taxonomique correcte, en fonction des dernières dispositions du Code International de Nomenclature, des binomes des phanérogames cités et des cryptogames impliqués dans ces désordres phytopathologiques.

Le document est organisé en cinq parties, chacune contenant plusieurs sections en relation mutuelle, conçues pour répondre aux besoins d'utilisateurs issus d'horizons divers. La première partie, qui constitue aussi le volume n° 1, comporte la liste des espèces végétales hôtes annotées en Nouvelle-Zélande. Les binomes des plantes sont arrangées par ordre alphabétique des genres représentés et chaque binome est suivi par une liste exhaustive des pathogènes respectifs, regroupés en fonction de leur nature: champignon, algue, bactérie et virus. Ce volume comporte également un catalogue des mêmes plantes-hôtes regroupées selon des affinités d'ordre systématique: ordre, famille et genre. Cet arrangement favorise une vision élargie des problèmes pathologiques prévalents à des niveaux taxonomiques divers. La dernière section est un index alphabétique des noms communs des plantes vertes, très pratique pour celui qui démarre une recherche à partir d'un binome comportant quelques doutes quant à sa validité.

Le second volume, comparativement le plus épais, traite des seuls affections d'origine fongique. Le corps de cet ouvrage est une liste des champignons reconnus pathogènes arrangés en ordre alphabétique par genres. Chaque binome fongique comporte le nom de l'autorité non abrégé - une disposition qui évite les erreurs de transcription - et la date de première publication, suivi par une liste bien référencée des noms des plantes-hôtes respectifs. Ce volume se complète par une liste bibliographique des publications analysées, un catalogue systématique des champignons pathogènes et, enfin, un index des épithètes spécifiques de ces mêmes microorganismes. Enfin, le troisième volume rassemble les parties traitant des désordres ayant une origine algale, bactérienne ou virale. Chaque partie est établie sur le même schéma que précédemment et son objectif est de répondre aux besoins des spécialistes respectifs intéressés par les algues, les bactéries ou les virus.

Les trois volumes de cet index des maladies phytopathologiques induites, plus particulièrement par les cryptogames rassemble une masse très importante d'informations bien synthétisées. Le format sélectionné, type livre de poche, et la présentation bien aérée du texte sont de nature à favoriser un balayage visuel rapide des pages imprimées et une consultation aisée du document à la recherche d'une quelconque information. Nul doute que cet index qui vient s'ajouter à ceux récemment parus pour d'autres pays, sera d'une grande utilité pour les chercheurs et administratifs s'occupant des maladies végétales d'origine cryptogamique travaillant non seulement

dans des institutions de l'hémisphère sud mais aussi en Europe et en Amérique du Nord.

J. Mouchacca

WEBSTER R.K. and GUNNELL P.S., 1992 - Compendium of rice diseases. St Paul, Minnesota, APS Press, viii, 62 p., 13 fig. et 135 phot. coul. ISBN 0-89054-126-4.

Ce compendium présente la description technique et illustrée des maladies affectant le riz; ceci dans le but de permettre leur identification rapide, et un meilleur contrôle de ces maladies qui limitent la disponibilité en riz, aliment de base de millions d'homme. Les informations les plus récentes, l'état des recherches mais aussi les perspectives sont exposées pour des maladies aux formes très variées. Toutes les parties de la plante peuvent être atteintes par des agents pathogènes biologiques transmissibles et par des agents non biotiques. Glossaire, index.

REISSER W., 1992 - Algae and symbioses: plants, animals, fungi, viruses, interactions explored. Bristol, Biopress Ltd, xii, 746p., ill. (Biopress Ltd, The Orchard, Clanage Road, Bristol BS5 2JX, England).

De nombreux organismes vivent en associations s.l. avec les algues. Celles-ci, en tant que producteurs primaires, ont un rôle dominant dans tous les écosystèmes aquatiques. L'ouvrage, publié sous la direction de W. Reisser (de Göttingen) et comprenant 35 chapitres, est axé sur les phénomènes d'interactions algues/autres organismes, en excluant la dépendance écologique classique et le niveau "organelle". La formation symbiotique, facteur important de l'évolution conduisant à des recombinaisons intertaxonomiques, est perçue comme un des concepts les plus stimulants en biologie.

Les interactions sont décrites dans leurs formes symbiotiques au niveau cellulaires ou subcellulaires [le classement en habitats dulçaquicoles, marins ou terrioles permet de dresser un large panorama des organismes impliqués: protozoaires ou invertébrés, foraminifères ou ascidies, bryophytes ou champignons], et dans leurs formes épi- et endobiotiques [implication des différents groupes d'algues].

Les mécanismes spécifiques à ces interactions sont évalués en termes de types d'échanges de signaux [reconnaissance entre les organismes, régulation, reproduction]. Enfin la formation symbiotique est envisagée dans son rôle sur l'évolution algale.

Dans ce qui suit, il ne sera question que des interactions Algae/Fungi. Les différents types de relations champignons/algues sont évoqués par R. Honegger (Lichens: mycobiont-photobiont relationships, pp. 235-275). La morphologie du thalle et la nature de l'interaction apparaissent corrélées. Dans ces symbioses, il y a quatre types de transferts de métabolites du phycobionte autotrophe vers le mycobionte hétérotrophe (G.B. Feige & M. Jensen, Basic carbon and nitrogen metabolism of lichens, pp. 277-299). Ces types de transferts sont liés à la nature du phycobionte. G.B. Feige & M. Jensen abordent aussi le métabolisme particulier des céphalodies et celui de l'azote. Pour ces auteurs, si les périodes sèches et les phases de réhumidification jouent un rôle important dans la croissance des lichens, la translocation et le rôle nutritif du champignon ne doit pas être oublié. B. Büdel (Taxonomy of lichenized procaryotic blue-green algae, pp. 301-324) et G. Gärtner (Taxonomy of symbiotic eukaryotic algae, pp. 325-338) proposent les éléments nécessaires à une bonne identification du photobionte. Si celle des cyanobactéries n'est possible dans la plupart des cas qu'au niveau du genre, des cultures sur agar s'avèrent nécessaire pour une bonne identification des algues eucaryotes (clé aux genres sur la base de critères morpholo-

giques). D. Mollenhauer (*Geosiphon pyriforme*, pp. 339-351), consacre un chapitre à ce phycomycète particulier, dont les hyphes incorporent des filaments d'une cyanobactérie. Le *Geosiphon* est considéré comme un classique de la syncyanose.

L'article de E. Van Donk & K. Bruning (*Ecology of aquatic fungi in and on algae*, pp. 567-592) lie l'aspect taxonomique des champignons aquatiques croissant sur et dans des algues, à l'aspect écologique de ces champignons parasites. Les auteurs mettent en évidence les facteurs influençant la relation algues/champignons, et estiment nécessaires de nouvelles recherches afin de quantifier le rôle des champignons aquatiques dans le contrôle de la croissance de l'algue et dans la succession saisonnière.

Enfin, dernier volet de cette mise au point de l'étude de ces interactions algues/champignons, l'essai d'explication des mécanismes de ces échanges. V. Ahmadjian (*Basic mechanisms of signal exchange, recognition, and regulation in lichens*, pp. 676-697), expose les différents types de signaux émis par les biotes des lichens, signaux présents dans toutes les phases de la symbiose: reconnaissance des partenaires, transport de nutriment, reproduction. Il conclut en disant: "les lichens sont des associations hautement co-évoluées dont les biotes sont presque totalement dépendant l'un de l'autre, et répondent l'un à l'autre par une variété de signaux dont nous sommes seulement au début de la compréhension et de l'appréciation".

Cet ouvrage de synthèse sur les interactions algues/autres organismes est donc très complet, chaque chapitre comporte une large bibliographie, un index de 12p. en facilite l'accès. Pour les mycologues, il apporte des informations nouvelles sur la symbiose lichénique, notamment pour l'identification et la mise en évidence du rôle du photobiot.

D. Lamy

J.F. PEDERBY, C.E. CATEN, J.E. OGDEN & J.W. BENNETT, 1991 - *Applied molecular genetics of fungi*. Cambridge University Press, Cambridge, 187p. ISBN 0-521-41571-3.

Cet ouvrage émane du Symposium "Fungal Molecular Biology" organisé par la British Mycological Society à l'Université de Nottingham en Avril 1990. Il représente une sélection de 11 publications parmi les 29 présentées, dont les thèmes concernent le transfert de gènes et les techniques de clonage chez les champignons et leurs applications en biotechnologie.

Les trois premiers chapitres traitent de méthodologie. Dans le premier, intitulé "Gene transfer systems and vector development", van den Hondel & P.J. Punt nous expliquent simplement les techniques qui permettent d'introduire un DNA exogène dans une cellule fongique par l'intermédiaire d'un vecteur et ensuite de sélectionner les cellules qui l'ont incorporé. L'avantage de tels procédés est avant tout d'isoler des gènes, de les caractériser et d'analyser leur fonction. G. Turner développe ce thème dans le second chapitre "Strategies for cloning genes from filamentous fungi". Il nous précise qu'une liste des gènes clonés est publiée dans "Fungal genetics Newsletter" et mise à jour tous les ans. Les retombées industrielles sont primordiales et une meilleure connaissance de la biologie des organismes et de leur taxonomie se dégage. Le troisième chapitre est très étonnant et s'apparente plutôt à la balistique ! J.W. Watts & N.J. Stacey décrivent deux nouvelles méthodes percutantes, le fusil à particules et l'électroporation, qui ont l'avantage d'introduire les particules de DNA au travers de la paroi cellulaire sans avoir recours aux protoplastes.

Les 8 autres chapitres sont des exemples d'applications de ces méthodologies dans les grands domaines de l'industrie.

Les premiers candidats à ces manipulations génétiques ont été les levures; *Saccharomyces cerevisiae* dont le métabolisme, les caractéristiques et les procédés de fermentation sont connus de longue date a représenté un système de choix pour l'expression de protéines hétérologues (chapitre 4 de J.E. Ogden, chapitre 7 de R.A. Veale & P.E. Sudbery), pour sa conversion en souche amylolytique capable d'utiliser directement l'amidon en fermentation (chapitre 10, A.W.M. Strasser). L'amélioration des levures de brasserie fait l'objet du chapitre 8. E. Hinchliffe souligne la difficulté de recombiner ces organismes complexes tout en maintenant les caractères existants.

Trois chapitres traitent de la recombinaison des champignons filamenteux d'importance industrielle. M. Pentillä et al. détaillent au chapitre 5 la biologie moléculaire de *Trichoderma reesei* en vue d'améliorer les productions de complexes cellulases et d'essayer la sécrétion de protéines hétérologues. Parmi les *Aspergillus*, c'est *Aspergillus nidulans* véritable organisme de laboratoire qui a été choisi à l'origine pour le développement des systèmes d'expression et sécrétion de protéines étrangères. Depuis, de nouveaux hôtes sont testés: *Aspergillus niger* et *oryzae*, *Neurospora crassa* (chapitre 6, R.W. Davies). Au chapitre 9, P.H. Skatrud et al. développent les hypothèses évolutives de la synthèse des antibiotiques du groupe des  $\beta$ -lactams émises grâce à la recombinaison des souches.

R.P. Oliver et al. consacrent le dernier chapitre aux progrès réalisés en phytopathologie, notamment dans la compréhension des interactions hôtes-parasites.

Cet ouvrage passionnant aborde les domaines de recherches les plus actuels dont le souci est l'amélioration des productions industrielles et la compréhension des mécanismes de pathogénicité et d'avirulence en phytopathologie. On y découvre des retombées fondamentales quant à l'évolution des systèmes biologiques et à la connaissance de leur fonction.

Il est à recommander vivement à tous les mycologues professionnels ou amateurs qui trouveront une importante bibliographie très à jour et pourront estimer l'impact de la génétique moléculaire des champignons.

Joëlle Dupont

**TABLE DU TOME 13**

ABDEL-HAFEZ A.I.I. and EL-MAGHRABY O.M.O. - Fungal flora and aflatoxin associated with cocoa, roasted coffee and tea powders in Egypt .....	31
ALBALADEJO J. - voir DIAZ G.	
ALBERTINI L. - voir MOSTAFA M.	
ANDARY C., COSSON L., BOURRIER M.J., WYLDE R. et HEITZ A. - Chimio-taxinomie des bolets de la section <i>Luridi</i> .....	103
ARAGNO M. - voir JOB D.	
BARRAULT G. - voir MOSTAFA M.	
BELLEMÈRE A., JANEX-FAVRE M.C., MELENDEZ-HOWELL L.M. et PARGUEY-LEDUC A. - Diversité ultrastructurale de la paroi ascosporeale chez quelques Eupyrénomycètes .....	215
BENKHEMMAR O., LAHLOU H., BOMPEIX G., DUPONT J., EL MNIAI H. et BOUBEKRI C. - Les contaminants fongiques du raisin de table marocain conservé au froid .....	327
BETTUCCI L. and SILVA S. - Interspecific interactions between wood-rotting fungi from old standing trees .....	11
BOISSELIER M.C. - voir PERREAU J.	
BOMPEIX G. - voir BENKHEMMAR O.	
BOUBEKRI C. - voir BENKHEMMAR O.	
BOURRIER M.J. - voir ANDARY C.	
BUSCOT F. - Stratégies écologiques et biologiques des morilles .....	171
CHAUVET E. - De la biologie des Hyphomycètes aquatiques à l'écologie des rivières ....	203
CHEVALIER G. - voir FORTAS Z.	
CHINNARAJ S. - Higher marine fungi of Lakshadweep Islands and a note on <i>Quintaria lignatilis</i> .....	313
CONTU M. - <i>Cortinarius bisporiger</i> spec. nov., una nuova specie del subgen. <i>Phlegmacium</i> dalla Sardegna meridionale .....	99
COSSON L. - voir ANDARY C.	
COUBLE A. - voir PONCET S.	
DIAZ G., ROLDAN A. y ALBALADEJO J. - Influencia del tipo de suelo sobre las pautas de colonizacion y eficiencia en la simbiosis micorrizica de seis especies de <i>Glomus</i> .....	47
DUPONT J. - voir BENKHEMMAR O.	
DUPUY J., LE BARS J. et LE BARS P. - Mycotoxinogenèse de souches de <i>Fusarium</i> : contrainte en vue de leur utilisation dans la lutte biologique .....	159
DURRIEU G. et HASAN S. - Les champignons agents de lutte biologique contre les mauvaises herbes .....	149
EL MNIAI H. - voir BENKHEMMAR O.	
EL-MAGHRABY O.M.O. - voir ABDEL-HAFEZ A.I.I.	
ESTEVE-RAVENTOS F. - voir HEYKOOP M.	



FORTAS Z. et CHEVALIER G. - Caractéristiques de la germination des ascospores de <i>Terfezia arenaria</i> (Moris) Trappe, récolté en Algérie .....	21
GROSCLAUDE C. - Les dégâts de champignons lignivores sur platane .....	181
HARIDY M.S.A. - Yeast flora of raw milk in El-Minia city, Egypt .....	321
HASAN S. - voir DURRIEU G.	
HEITZ A. - voir ANDARY C.	
HEYKOOP M., ESTEVE-RAVENTOS F. y MORENO G. - Algunos Agaricales interesantes de la provincia de Guadalajara (España peninsular) .....	265
KEYKOOP M. - voir MORENO G.	
HINZELIN F., JACOB F.H., PERRIER J. et VERNER M.C. - Evolution de la flore levurienne au cours du traitement des ordures ménagères .....	1
ILLANA C. - voir MORENO G.	
JACOB F.H. - voir HINZELIN F.	
JANEX-FAVRE M.C. - voir BELLEMÈRE A.	
JOB D. and ARAGNO M. - Nutritional growth requirements for submerged cultures of the ectomycorrhizal fungi <i>Cenococcum geophilum</i> Fr. ....	79
LAHLOU H. - voir BENKHEMMAR O.	
LAMBOURDIÈRE J. - voir PERREAU J.	
LANQUETIN P. - voir LÉGER J.C.	
LE BARS J. et LE BARS P. - Contamination fongique de salaisons sèches de viande: origine, conditions d'apparition, prévention .....	193
LE BARS J. - voir DUPUY J.	
LE BARS P. - voir DUPUY J.	
LE BARS P. - voir LE BARS J.	
LÉGER J.C. et LANQUETIN P. - <i>Hymenochaete pseudoadusta</i> nov. sp. (Basidiomycètes Aphyllophorales): description et caractères culturaux .....	305
MELLENDEZ-HOWELL L.M. - voir BELLÈMERE A.	
MERCÉ J. - Variations altitudinales de la flore fongique parasite dans le sud de l'Espagne ( <i>Uredinales</i> , <i>Erysiphaceae</i> , <i>Ustilaginales</i> ). Aspects quantitatifs .....	87
MISHRA R.R. - voir SHUKLA A.K.	
MONTROCHER R. - voir PONCET S.	
MORENO G., ILLANA C. and HEYKOOP M. - Spanish Myxomycetes. VI. Four interesting species belonging to the Stemonitales .....	295
MORENO G. - voir HEYKOOP M.	
MOSTAFA M., BARRAULT G. et ALBERTINI L. - Lutte biologique contre <i>Drechlera teres</i> : action <i>in vitro</i> de microorganismes antagonistes sur la croissance mycélienne et la germination .....	125
OLUFOLAJI D.B. - Effects of aeration, light and temperature on spore germination and germ tube growth of <i>Curvularia pallescens</i> Boed. ....	259
PARGUEY-LEDUC A. - voir BELLEMÈRE A.	
PERREAU J., LAMBOURDIÈRE J. et BOISSELIER M.C. - <i>Mycena rosea</i> et le complexe <i>Mycena pura</i> .....	247
PERRIER J. - voir HINZELIN F.	

PONCET S., MONTROCHER R. and COUBLE A. - Electrophoretic isoenzyme patterns of some yeast strains used in wine industry .....	283
ROLDAN A. - voir DIAZ G.	
SHUKLA A.K. and MISHRA R.R. - Influence of soil management systems on the microfungal communities of potato field .....	135
SILVA S. - voir BETTUCCI L.	
SUBRAMANIAN C.V. - <i>Tretocephala decidua</i> gen. et sp. nov., an interesting new Hyphomycete .....	65
SUBRAMANIAN C.V. - Three interesting new Hyphomycetes from south east Asia .....	115
VERNER M.C. - voir HINZELIN F.	
WYLDE R. - voir ANDARY C.	
ZUCCONI L. - Mycological exsiccata from Borneo, collected by Odoardo Beccari, kept in the Herbarium Cesatianum (RO) .....	57
Analyses bibliographiques .....	69, 145, 253, 337
Instructions aux auteurs .....	77

Commission paritaire 16-1-1986 - N° 58611 - Dépôt légal 4<sup>e</sup> trimestre 1992 - Imprimerie F. Paillart  
 Sortie des presses le 30 décembre 1992 - Imprimé en France  
 Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)  
 Président : R. Baudoin ; Secrétaire : D. Lamy  
 Trésorier : J. Dupont ; Directeur de la publication : H. Causse



# CRYPTOGAMIE

## LE PÉRIODIQUE FRANÇAIS CONSACRÉ A LA CRYPTOLOGIE

CRYPTOGAMIE est un périodique édité par l'A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames), dont le siège est au Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle. Les chercheurs de tous pays y publient leurs travaux en français, allemand, anglais, espagnol et italien, après accord des Comités de Lecture constitués de spécialistes de réputation internationale.

CRYPTOGAMIE propose trois sections:

- Cryptogamie, Algologie
- Cryptogamie, Mycologie
- Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie

Chaque section publie 4 numéros par an (tirage: 450 exemplaires).

## THE FRENCH JOURNAL DEVOTED TO CRYPTOLOGY

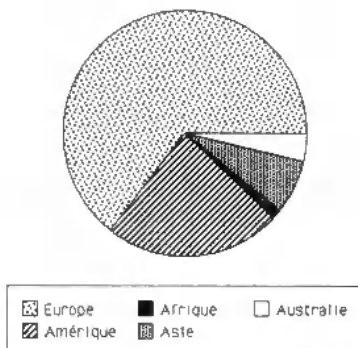
CRYPTOGAMIE is a periodical published by A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames), settled at Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle. Research workers from the whole world publish their papers in French, German, English, Spanish and Italian, after acceptation by a selection committee that comprises experts of international renown.

CRYPTOGAMIE offers to its subscribers three sections:

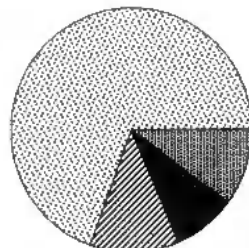
- Cryptogamie, Algologie
- Cryptogamie, Mycologie
- Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie

Each section publishes 4 numbers a year (printing: 450 ex.).

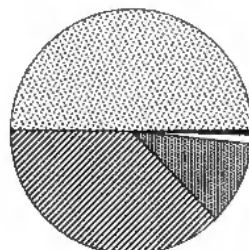
Diffusion de CRYPTOLOGIE



Origine des 453 articles publiés de 1986 à 1991



Répartition des articles publiés de 1986 à 1991 selon la langue



## SOMMAIRE

OUEFOUAI D.B. — Effects of aeration, light and temperature on spore germination and germ tube growth of <i>Curvularia pallescens</i> Boed.	259
HEYKOOP M., ESTEVE RAVENTOS E. y MORENO G. — Algunos Agaricales interesantes de la provincia de Guadalajara (España peninsular).	265
PONCET S., MONTECCHER R. and COUBLÉ A. — Electrophoretic isoenzyme patterns of some yeast strains used in wine industry.	283
MORINO G., LLANA C. and HEYKOOP M. — Spanish Myxomycetes. VI. Four interesting species belonging to the Stemonitales.	295
LEGER J.C. et LANQUETIN P. — <i>Hymenochaete pyralidochestis</i> nov. sp. (Basidiomycetes Aphyllophorales): description et caractères culturaux.	305
CHINNARAJ S. — Higher marine fungi of Lakshadweep Islands and a note on <i>Quambusia lignatilis</i> .	313
HARIDY M.S.A. — Yeast flora of raw milk in El Mimia city, Egypt.	321
BENKHEMMAR O., LABLOU H., BOMPEIX G., DUPONT J., EL MNIAI H. et BOU BEKRI C. — Les contaminants fongiques du raisin de table marocain conservé au froid.	327
Analyses bibliographiques.	337
Table de Table I-B.	342