

## BULLETIN MENSUEL

DE LA

**SOCIÉTÉ LINNÉENNE DE LYON**

FONDEE EN 1822

RECONNUE D'UTILITE PUBLIQUE PAR DECRET DU 9 AOUT 1937

des SOCIÉTÉS BOTANIQUE DE LYON, D'ANTHROPOLOGIE ET DE BIOLOGIE DE LYON  
REUNIES

et de leurs GROUPES REGIONAUX : ROANNE, VALENCE, etc

**Siège Social et Secrétariat Général : 33, rue Bossuet, Lyon (6<sup>me</sup>)**Trésorier : M. H. BONVALLET, 20, rue Molière, Lyon (6<sup>e</sup>).

---

<b>ABONNEMENT ANNUEL :</b>	France et Union .. . . . . .	10 F	— C.C.P. Lyon 101-98
	Etranger .. . . . . .	11 F	
	Scolaires .. . . . . .	5 F	

Frais d'inscription : 1 F.

N.B. — Les virements à notre C.C.P. doivent être adressés au nom  
de la SOCIÉTÉ LINNÉENNE DE LYONPour tout changement d'adresse envoyer la dernière bande et la somme de 1 F  
(les timbres sont acceptés).

- BOURDOT et GALZIN (1927). — Hyménomycètes de France. Paris, 761 p.
- DGMANSKI S. (1964). — Révision de certaines espèces de champignons de la famille *Polyporaceae*. Act. Soc. Bot. Poloniae, 33, 167-178.
- KOTLABA F. (1965). — *Lenzites betulina* (L. ex. Fr.) Fr. Lupenik brezovy. Ceska mykol., 79-82.
- LOWE J.L. (1942). — The *Polyporaceae* of New-York State. Bull. N.Y. State Coll. Forestry, 60, 128 p.
- NOBLES M.K. (1965). — Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycètes. Canadian J. Bot., 43, 1097, 1139.
- OVERHOLTS L.O. (1953). — The *Polyporaceae* of the United States, Alaska and Canada. Univ. Mich. Press, Ann Arbor, Mich., 541 p., 132 pl.
- PILAT A. (1936). — Atlas des champignons de l'Europe. Tome III, *Polyporaceae* I. Praha, 624 p.
- SACCARDO P.A. (1887). — Sylloge Fungorum omnium hucusque cognitorum. 5 (Agaricineae), 1046 p.
- TESTON D. (1953). — Etude de la différenciation des hyphes chez les polypores dimidiés de la flore française. Bull. Soc. Natur. Oyonnax, 7, 80-110, 10 pl.
- YEN H.C. (1950). — Contribution à l'étude de la sexualité et du mycélium des Basidiomycètes saprophytes. Ann. Univ. Lyon, Sci. sect. C, 1-131 (1949).

(Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de Lyon  
et Laboratoire de Mycologie associé au C.N.R.S.  
16, quai Claude-Bernard, Lyon-7<sup>e</sup>, Rhône).

---

## UNE NOUVELLE ESPECE DE LEVURE ISOLEE DE LARVES D'INSECTES : *PICHIA STIPITIS*

par Marie-Claire PIGNAL.

Summary - Description of a new species of yeast (Ascomycetes *Saccharomycetaceae*), isolated from beetles living in the decaying stump of a fruit-tree ; comparison with adjacent species.

\*  
\*\*

Cet organisme a été isolé en octobre 1965 de plus de vingt larves de *Cetonia* sp. et de *Dorcus parallelipedus* (Coléoptères Scarabéidés), ainsi que de larves de *Laphria* sp. (Diptères Asilidés) ; toutes ces larves avaient été prélevées dans une vieille souche d'arbre fruitier des environs de Lyon (Rhône) <sup>1</sup>. Notre étude a porté sur une quarantaine d'isolements présentant des caractères très voisins, et a été menée selon les techniques de BOLDIN et coll. (1964).

### DESCRIPTION

*Milieu liquide.* — Il se forme rapidement un anneau plus ou moins large, généralement accompagné d'îlots plus ou moins étendus, pouvant se rejoindre et constituer un voile fin et irrégulier (partiellement myco-dermique).

Les cellules bourgeonnent abondamment. Le type le plus répandu est de forme subsphérique à ovoïde-court, de petite taille : 2,5-5 (-5,5) × 2,2-4,5 μ ; on observe également des cellules plus allongées, souvent en

---

1. Nous sommes heureuse de remercier ici MM. les Professeurs E. ROMAN et J. DAVID qui ont bien voulu déterminer ces larves, ainsi que M. G. ANDRÉ qui nous les a procurées.

saucisse, et de longs éléments, parfois sinueux et irréguliers, qui doivent être des fragments de pseudomycélium.

*Milieu gélosé.* — Les colonies sont lisses, plus ou moins brillantes, blanc-crème ; la marge est droite ou finement lobée, localement frangée de pseudomycélium. Le développement peut être bon en anaérobiose ; on a alors des filaments rayonnants de pseudomycélium, porteurs de blastospores régulièrement groupées en petits massifs.

*Culture sur lame.* — Plus ou moins développé suivant les souches, le pseudomycélium est généralement plus abondant en aérobiose. Les filaments sont formés d'articles allongés, environ dix fois plus longs que larges,  $8-30 \times 1-1,5 (-2) \mu$ , fréquemment sinueux ou même tordus, plus ou moins lâchement rattachés les uns aux autres. En outre, en aérobiose, les filaments sont souvent plus longs que sous la lamelle, plus grêles

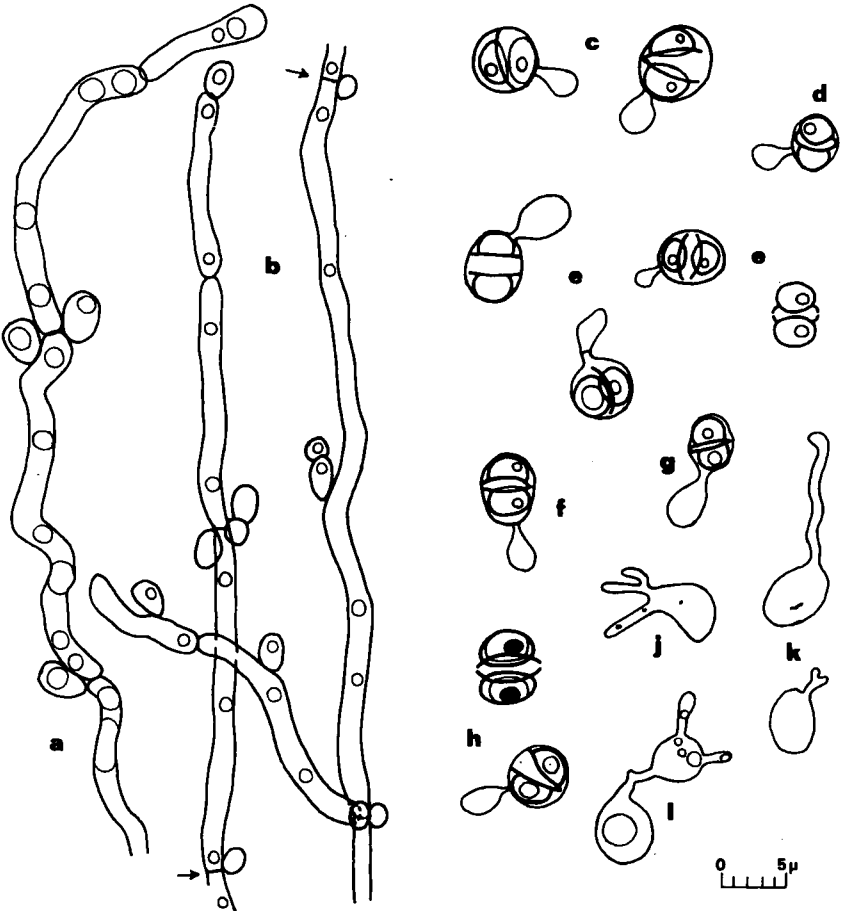


PLANCHE I.

a et b) : Pseudomycélium formé après 3 semaines sur lame gélosée à la pomme de terre et au twen 80, en anaérobiose, par LY 449 (a) et LY 447 (b).

c - h) : Asques et spores de LY 447 (c), 448 (d), 449 (e), 1325 (f), 450 (g) et 1321 (type ; h).

j - l) : Cellules avec prolongements en forme de tube, sur carotte, par LY 1322 (j) et 1321 (type ; l), et sur touraillons par LY 449 (k).

et plus ramifiés, ou bien en grande partie cachés par les blastospores subsphériques groupées en importants amas au niveau des « nœuds ». (Pl. I, fig. a-b).

*Sporulation.* — La formation de l'asque semble toujours immédiatement précédée d'une fécondation, soit par un petit bourgeon, soit par un élément de taille plus importante souvent relié à l'asque par un tube court. Les asques subsphériques contiennent deux spores, en chapeau à large rebord bien marqué et parfois situé assez haut. La hauteur des spores varie de 1,5 à 2  $\mu$ , leur largeur de 2,5 à 3  $\mu$  (3-4,5  $\mu$  rebord compris). On observe toujours de nombreuses spores libérées, accolées deux par deux. (Pl. I, fig. c-h ; pl. II, fig. a-d).

Souvent on remarque des cellules isolées munies d'un ou plusieurs prolongements en forme de tube, parfois très allongés, sinueux ou même ramifiés. (Pl. I, fig. j-l ; pl. II, fig. c-e).

Les spores ont été observées sur les milieux de sporulation (fréquemment sur carotte), mais aussi sur le milieu d'entretien (aux tou-railions) et sur divers milieux d'assimilation, ainsi que sur lame gélosée ; dans ce cas, on peut souvent voir, sous la lamelle, de la périphérie au centre, des spores libérées, puis des asques fermés à deux spores, puis des zygotes à contenu grossièrement granuleux et à gros élément fécondant avec un canal net, et enfin, des cellules à tubes.

*Fermentations :*

Glucose : + un peu tardive, parfois faible ou lente.	Saccharose : —.
Galactose : + assez tardive, parfois lente ou faible.	Lactose : —.
Maltose : + assez tardive, parfois lente ou faible.	Raffinose : —.

Il se forme à la surface du milieu un voile plus ou moins régulier, en partie mycodermique.

*Assimilations :*

D-ribose : + souvent lent.	Succinate : +.
D-arabinose : + très lent.	Citrate : +.
L-arabinose : + souvent lent.	Gluconate : + très lent parfois faible.
D-xylose : +.	$\alpha$ -méthylglucoside : +.
L-rhamnose : +.	Arbutine : +.
D-glucose : +.	Salicine : +.
D-galactose : +.	Maltose : +.
L-sorbose : + souvent très lent.	Tréhalose : +.
Ethanol : +.	Saccharose : +.
Glycérol : + parfois lent.	Cellobiose : +.
Erythritol : + rarement lent.	Lactose : + souvent lent ou très lent.
Adonitol : +.	Mélibiose : —.
Dulcitol : + très lent ou —.	Raffinose : —.
D-mannitol : +.	Mélézitose : +.
D-sorbitol : +.	
Pyruvate : +.	
DL-lactate : + lent souvent faible.	

*Assimilation du nitrate de potassium.* — Négative.

*Besoins vitaminiques.* — L'emploi d'un milieu de WICKERHAM dé-

pourvu de toute vitamine donne des résultats assez variables : l'étude plus détaillée montre que seule la biotine doit être fournie.

*Croissance à 37° C.* — Bonne.

#### DISCUSSION

Par ses asques à deux spores en chapeau, cette levure, qui n'est pas capable d'utiliser le nitrate comme source d'azote, doit être placée dans le genre *Pichia* sensu stricto, tel qu'il a été amendé par BOLDIN et coll. (1965). Par l'ensemble de ses caractères, elle appartient au premier groupe de ces auteurs (groupe « *guilliermondii-fibuligera* »).

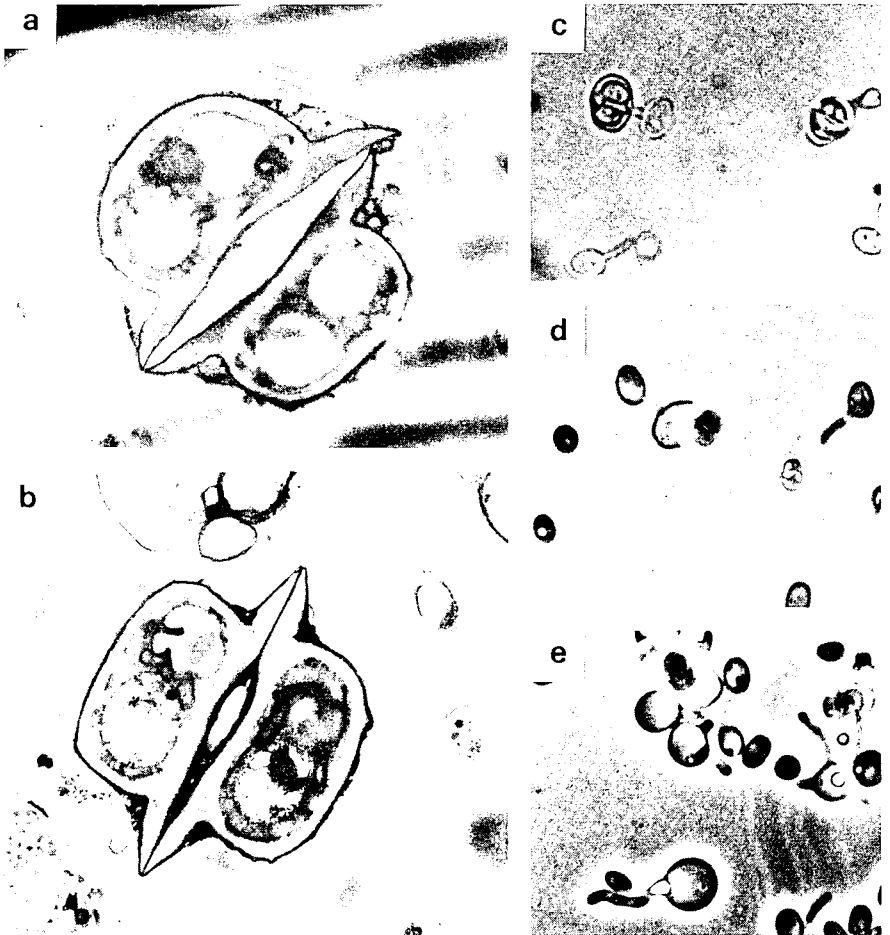


PLANCHE II. — Souche-type LY 1321 :

- a et b) : Asques au microscope électronique ( $\times 15\,000$  environ).
- c) : Asques formés après conjugaison et contenant deux spores ( $\times 1\,500$  environ).
- d) : Asque ouvert libérant un groupe de deux spores ( $\times 1\,500$  environ).
- e) : Quelques cellules munies d'un ou de plusieurs prolongements tubulaires ( $\times 1\,500$  environ).

— La clé qu'ils proposent conduit à *P. strasburgensis*. Mais nos souches présentent d'importantes différences avec cette espèce : assimilation du sorbose et de l'érythritol ; assimilation tardive du lactose ; non-utilisation du raffinose ; fermentation du maltose (assez tardive et faible) mais non du saccharose, alors que c'est l'inverse chez *P. strasburgensis*. Ces différences suffisent à nous empêcher d'identifier nos souches à *P. strasburgensis*.

— Pour les mêmes raisons, nous écartons *P. onychis*, espèce récemment décrite (YARROW 1965) qui semble assez proche de *P. strasburgensis* : nos souches en diffèrent par les fermentations et diverses assimilations (ribose, rhamnose, galactose, érythritol, adonitol...).

— L'examen du tableau des assimilations peut conduire à un rapprochement avec *P. media*, que tend à confirmer la similitude des exigences vitaminiques (FIOL, non publié). Mais outre des différences morphologiques notables (aspect des asques, des spores, du pseudo-mycélium...), nos souches se distinguent de *P. media* par l'aptitude à fermenter un certain nombre de sucres, par l'assimilation du rhamnose et celle (généralement lente) du lactose, tandis que le raffinose n'est pas utilisé. Il est donc difficile d'envisager autre chose qu'un simple rapprochement.

— Par l'emploi de la clé proposée par KREGER-VAN RIJ (1964), nous arrivons à *P. scolyti*, et les affinités avec cette espèce sont sans doute importantes.

On est frappé par certaines ressemblances : une assez grande similitude des pouvoirs assimilateurs, la présence de cellules munies de tubes plus ou moins nombreux, plus ou moins longs (la photo de gauche de la figure 1 de PHAFF et YONEYAMA rappelle tout à fait la figure « e » de notre planche II). Les exigences vitaminiques sont à peu près les mêmes : dans les deux cas, la biotine est indispensable, et si, selon PHAFF et YONEYAMA, la thiamine aussi est nécessaire à *P. scolyti*, selon FIOL qui a repris cette étude (résultats non publiés), la croissance est possible, bien qu'assez lente, même sans cette vitamine.

Cependant il existe des différences assez importantes. Malgré des examens attentifs d'un grand nombre de nos souches, il ne nous a pas été possible de déceler la formation de vrai mycélium, alors qu'il est facile à voir chez *P. scolyti*. Selon PHAFF et YONEYAMA, les asques de *P. scolyti* contiennent une à quatre spores en chapeau ou, parfois, en saturne, tandis que les nombreux asques observés dans nos souches ne contenaient toujours que deux spores, en chapeau à rebord bien marqué. L'isolement d'ascospores par micromanipulation a permis de montrer que notre levure est homothalle, alors que *P. scolyti* est hétérothalle. Les fermentations, enfin, ne concordent pas parfaitement ; mais pour *P. scolyti* déjà, on note des résultats si variables suivant les auteurs et suivant les souches étudiées qu'on n'ose guère accorder d'importance à ce caractère. La différence essentielle concerne l'assimilation du mélibiose et celle du raffinose, positives chez *P. scolyti*, négatives chez notre levure. Dans ces conditions, il nous semble difficile d'identifier nos isollements à *P. scolyti*.

— Par ailleurs, l'application au genre *Pichia* de la méthode mathématique d'analyse factorielle (PONCET 1967) montre que, si notre

microrganisme est assez proche de *P. scolyti*, il l'est tout autant de *P. media*, et ce sont pourtant deux espèces relativement éloignées à l'intérieur du premier groupe de BODIN et coll. Si l'on calcule, sur les six premiers facteurs déterminés par cette méthode, la distance séparant deux à deux les différentes espèces du genre *Pichia*, la distance de nos isolements à *P. scolyti* ou à *P. media* est supérieure à celle qui sépare deux espèces aussi distinctes que *P. quercuum* et *P. silvestris*, ou encore *P. pastoris* et *P. saitoi*.

C'est pourquoi nous proposons d'en faire une nouvelle espèce, que nous appelons *Pichia stipitis* puisque c'est dans une souche d'arbre que vivaient les diverses larves dans lesquelles cette levure fut trouvée. La souche-type porte le numéro LY 1 321, et elle est déposée au Centraal-bureau voor Schimmelcultures (Delft, Pays-Bas), ainsi que les souches LY 1 322, 1 323 et 1 324.

#### DIAGNOSE LATINE

*Pichia stipitis* nov. sp. — In liquido medio, anulus et fractum velum formantur; subsphaeroideae cellulae in diversas partes gemmant; cellulae cylindricae, aut in lucanicam, et pseudomycelii fragmenta quoque adessent. Typicum pseudomycelium est, cum multis sphaeroideis blastosporis. Geniti post heterogamam conjugationem, subsphaeroidei ascis continent duas sporas in speciem petasi cum apertissimo labro qui ex ascis celeriter liberantur.

Glucosum fermentat et galactosum maltosumque (sero, interdum tarde aut leviter), at non saccharosum, lactosum raffinsumque. Assimilat multa corpora: xylosum, rhamnosum, galactosum, erythritolum, adonitolum, maltosum, trehalosum, saccharosum, cellobiosum melezitolumque, et ribosum L-arabinosumque (tarde) et D-arabinosum, sorbosum lactosumque (maxime tarde); non assimilat melibiosum raffinsumque. Cum nitrato non crescit. Sine vitaminis non crescit optime.

Differt a *Pichia strasburgensi* fermentationibus et sorbosi, erythritoli lactosique at non raffinosi concoctione; a *P. onychis* fermentationibus et ribosi, rhamnosi galactosique concoctione; a *P. media* fermentatione et rhamnosi lactosique at non raffinosi concoctione; a *P. scolyti* melibiosi raffinosisque non-concoctione.

Ex lignicolis insectis isolata est.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BODIN (J.), PIGNAL (M.-C.) et BESSON (M.). 1965. — Le genre *Pichia* sensu lato. (Quatrième Contribution). Bull. Soc. Mycol. France, 81 (4) : 566-606.
- BODIN (J.), PIGNAL (M.-C.), LEHODEY (Y.), VEY (A.) et ABADIE (F.), 1964. — Le genre *Pichia* sensu lato. (Première Contribution). Bull. Soc. Mycol. France, 80 (4) : 396-438.
- KREGER-VAN RIJ (N.J.W.), 1964. — A taxonomic study of the yeast genera *Endomycopsis*, *Pichia* and *Debaryomyces*. Thèse, Leiden, septembre 1964, 1-194.
- PHAFF (H.J.) et YONEYAMA (M.), 1961. — *Endomycopsis scolyti*, a new heterothallic species of yeast. Antonie van Leeuwenhoek, 27 (2) : 196-202.
- PONCET (S.), 1967. — Etude taxométrique du genre *Pichia* Hansen. C.R. Acad. Sc. Paris, série D, 264 (1) : 43-46.
- YARROW (D.), 1965. — *Pichia onychis* sp. n. Antonie van Leeuwenhoek, 31 (4) : 465-467.

(Laboratoire de Mycologie associé au C.N.R.S. - Section Levures, Faculté des Sciences de Lyon, 43 bd du 11-Novembre, Villeurbanne, Rh.).