

METODOLOGIA PER A LA CONSERVACIÓ D'ESPÈCIES DE FONGS. ELS HERBARIS DE FONGS.

per Josep Giné i Gavalda
c/. Sant Antoni, 35, 4.º. Barcelona 14

RESUM

Es fa un estudi dels mètodes de conservació de fongs (macromicets), en medi líquid i en sec; obtenció de mostres seques per diversos procediments, per liofilització, etc., la inclusió en plàstic, l'envasat en recipients hermètics; els seus avantatges i els seus inconvenients per a la formació d'una micoteca i per fer-ne estudis posteriors.

Introducció.

Els micòlegs, quan han recol·lectat uns exemplars d'una espècie, n'han feta una descripció i, per tal de fer-ne estudis posteriors, s'han vist en la necessitat de conservar-los de forma i manera que la seva estructura es mantingués de la forma més semblant possible a com era en el seu estat fresc, els ordenen en una *micoteca*, és a dir, un herbari de fongs.

És possible que un caràcter que avui és considerat secundari o que, fins i tot, és totalment ignorat, amb el temps passi a tenir importància i hagi d'ésser reestudiat.

Com tots sabem, els bolets amb el temps es van degradant. Pot ser que perdin el seu color, la seva textura; comencen a fer mala olor, es descomponen, es floreixen, perden aigua, s'arruguen, s'assequen, queden parasitats per larves, cucs, insectes, etc., i poden sofrir altres degradacions no perceptibles a primera vista. Podem dir que l'aigua que contenen els bolets n'és el principal responsable.

Amb l'eliminació de l'aigua dels exemplars, evitem en bona part que s'alterin amb el temps, ja que els enzims estan més o menys inactivats, evitem floridures, evitem contaminacions per microorganismes, etc. Tothom coneix els principals mètodes de conservació dels aliments. El que es fa és disminuir llur activitat eliminant-ne l'aigua, ja sigui deshidratant-los (prunes, panses), salant-los (pernil, bacallà), fumant-los (peix), addicionat-hi sucres (melmelada, confitura), etc...

Examinem alguns mètodes aplicables a la conservació dels bolets per a posterior estudi científic, per a verificació o, simplement, per a identificació de material que no s'ha tingut temps de passar pel microscopi quan era fresc.

FORMES DE CONSERVACIÓ

1. – En medi líquid.
2. – Per deshidratació.
3. – Per inclusió en plàstic.
4. – En recipients hermètics.

1. Conservació en medi líquid

L'exemplar fresc, un cop netejat de pedretes i fulles enganxades, es posa en un flascó de vidre transparent de boca ampla, amb tapa de rosca o del tipus Vac-Vem o Vacuum Proof, comunament utilitzats per a tot tipus de conserves. L'exemplar pot posar-se sencer, o en fragments si és molt gros. A continuació s'afegeix el líquid conservador fins a tancar el carpòfor, s'unta la boca del flascó amb parafina i es tapa. Cal etiquetar-ho convenientment. Si fos necessari, al cap d'uns dies pot canviar-se el líquid i afegir-ne del mateix o d'un altre.

Líquids conservadors més utilitzats:

I) Líquid conservador (Dr. Gillot)

Conserva la forma i els caràcters, però no els colors. És el més econòmic de tots. Correspon a sèrum fisiològic formolat. Conserva bé la forma però reinfla les hifes i dificulta l'observació dels caràcters microscòpics.

Formol 40 %	25 cc
Clorur sòdic	10 g
Aigua destil·lada	1000 cc

II) Líquid per a fongs amb colors insolubles o poc solubles en aigua.

Acetat mercuríic pur	1 g
Àcid acètic glacial	5 cc
Aigua destil·lada	1000 cc

III) Líquid per a fongs amb colors molt solubles en aigua.

1) Solució-mare alcohòlica:

Acetat mercuríic pur	1 g
Acetat de plom pur	10 g
Àcid acètic glacial	10 cc
Alcohol 90 %	1000 cc

2) Líquid conservador

Líquid conservador (Dr. Gillot)	a parts iguals
Solució-mare alcohòlica	

Si forma precipitat al cap de 24 hores, cal filtrar el líquid.

IV) Líquid conservador de Lutz.

Sulfat de zinc	25 g
Formol	10 g
Aigua destil·lada	1000 cc

V) Líquid conservador (Malençon).

És el més utilitzat quan hom vol assegurar-se d'una bona conservació dels caràcters microscòpics.

Alcohol 95 %	100 cc
Formol 40 %	10 cc
Àcid acètic glacial	5 cc
Aigua destil·lada	20 cc

Quan es vol utilitzar l'exemplar, es renta amb alcohol de 95 % i s'hi deixa durante 24 hores, es fa el tall a mà alçada, es posa successivament en alcohol de 70 %, de 35 % i finalment aigua. Es pot treballar amb glicerina, Roig Congo o amb Melzer.

Avantatges de la conservació en medi líquid: L'exemplar presenta una forma molt semblant a la que tenia en fresc. Es un mètode senzill, barat i ràpid.

Inconvenients: Els colors quasi sempre desapareixen. Molts cops presenta problemes d'isotonicitat: Pot haver-hi problemes de plasmòlisi o de turgència. Les cèl·lules, observades al microscopi, poden veure's alterades, més inflades, reventades, etc. La col·lecció de flascons aviat ocupa massa espai. El recipient és fràgil i poc apropiat per a consultes i intercanvis per correu entre micòlegs.

2. Conservació per deshidratació

L'asseccament consisteix en eliminar la major part de l'aigua que contenen, tot conservant-ne, sempre que sigui possible, l'estructura primitiva.

Preparació prèvia.

Els exemplars a conservar en forma seca (*exsiccata*), han d'ésser representatius de l'espècie. Cal rebutjar els exemplars anormals o teratològics. Han d'estar complets, en bon estat, tant vegetatiu com de conservació. Procurarem recollir-ne una bona esporada i guardar-la també dins un plàstic transparent (mida de portaobjectes) doblat i tancat amb «cel-lo».

Els exemplars que, verosímlment, han estat produïts per un mateix miceli, constitueixen una *collita*. Tot el material d'una collita és la unitat de base per a estudiar la variabilitat del fong, i s'ha de guardar en un mateix envoltori.

Abans d'assecar-lo, cal netejar bé els exemplars, traient-ne les fulles, la terra que porta incrustada, etc. Els exemplars poden ser assecats sencers o en petites porcions. Si són de mida petita o mitjana (*Mycena*, *Conocybe*, alguns *Inocybe*, *Clitocybe*, *Cortinarius*), poden ser assecats sencers. Si són de mida més gran, com ara *Amanita*, por ésser convenient tallar-los en sectors o grills longitudinals o tallar-los en dos, segons l'eix de simetria. Els talls radials han d'incloure tots els caràcters, els de la cutícula, la trama pileal (del barret) i de l'estip (del peu), la trama de l'himenòfor (làmines, tubs), de subhimeni, l'himeni (basidis, basidiols, cistidis), restes del vel, restes de cortina, volva, etc.; és a dir, totes les parts del carpòfor. El material és menys voluminós, i la deshidratació presenta menys problemes que en un carpòfor sencer. Si es tracta d'una *Lepiota* gran o d'una altra espècie grossa, se'n fan talls radials i aquests es fragmenten en funció de l'envoltori.

Eliminació de l'aigua.

L'eliminació ha d'ésser tan ràpida como sigui possible, per tal d'evitar l'alteració dels teixits, per putrefacció o per acció de les larves.

Poden assecar-se de diverses maneres:

- a) A l'aire lliure. Formen crostes i s'esquerden. Es poc útil.
- b) A l'ombra. És molt lent. Pot ser útil per a talls prims.
- c) A l'estufa. No hi ha circulació d'aire. Pot alterar estructures.
- d) A pressió. (aquest i els següents els veurem més en detall)
- e) Amb radiacions infraroges.
- f) Amb ones d'alta freqüència.
- g) Amb l'ajut de deshidratants.
- h) Amb circulació o corrent d'aire sec o calent.
- i) Per liofilització.

d) Assecament per pressió.

És aplicable a les espècies de les quals hem fet talls radials. Aquestes, deixades a l'aire es doblegarien i esdevindrien arrugades. És el mateix sistema que es fa servir amb les plantes superiors. En aquest cas, es preparen coixins de paper assecant de diversos fulls i s'embolica amb un full més gran. Pot resultar útil el paper d'estrassa o de diari no setinat. Amb els talls a dintre s'amunteguen un sobre l'altre i s'hi aplica una pressió constant i suau per a no malmetre l'estructura (l'autor ho fa amb un parell de guies telefòniques). Cal anar canviant cada dia els coixins, almenys al principi, deixar-los assecar a l'aire i posar-n'hi de secs. A l'estiu es canvien amb menys freqüència. A l'hivern i dies de pluja cal canviar-los més sovint. La freqüència del canvi i el pes són condicions que el propi preparador va coneixent sense necessitat de cap regla.

e) Assecament per infrarrojos.

Per a conservar l'arquitectura cal realitzar un assecat ràpid i a baixa temperatura. Això s'aconsegueix treballant amb bombetes de 250 W i de longitud d'ona entre 10.000 i 12.000 Å, situades a 40 cm de distància.

Resultats:

- 1) És un procediment ràpid. Només calen 1-3 hores en lloc de les 24 hores en el cas d'exposició solar.
- 2) És penetrant. Asseca en profunditat totes les parts del carpòfor.
- 3) Es realitza a baixes temperatures. És suficient entre 45-55 °C.
- 4) No cal cap tipus de corrent per convecció.
- 5) És esterilitzant. Impedeix l'arribada de paràsits i bacteris.

f) Assecament mitjançant deshidratants.

En aquest cas, el vapor d'aigua és captat per un producte químic àvid d'aigua, el deshidratant. Els deshidratants rebaixen la tensió de vapor de l'aigua i acceleren l'assecament. La següent taula dona alguns exemples i recull la quantitat d'aigua que pot arribar a captar de l'aire. Així, el pentòxid de fòsfor és el millor deshidratant i deixa l'atmosfera privada d'humitat. No s'utilitza per a assecar bolets, sinó per a evitar rehidratacions, com en el cas dels fongs liofilitzats o assecats en aire calent.

<i>Deshidratant</i>	<i>mg d'aigua residual per litre d'aire</i>
Ca Cl ₂	1,5
NaOH sòlid	0,8
H ₂ SO ₄ 75 %	0,3
silicagel	0,03
KOH	0,014
Al ₂ O ₃	0,005
CaSO ₄	0,005
H ₂ SO ₄ pur	0,003
Mg (ClO ₄) ₂	0,002
P ₂ O ₅	0.00002

Les principals característiques d'alguns d'ells són:

- El clorur de calci anhidre, Ca Cl₂, és barat. Té gran capacitat. Però no és gaire eficaç i és bastant lent.
- L'hidròxid sòdic, NaOH, l'hidròxid potàssic, KOH, i l'àcid sulfúric, H₂ SO₄, són també barats, però més eficaços que l'anterior.
- El silicagel o gel de sílice, Si O₂, és uns dels deshidratants d'ús més freqüent. Actua per adsorció, és a dir, superficialment. És eficaç i relativament econòmic. Es regenerable per escalfament. Els grànuls contenen una sal de cobalt, blava en la forma anhidra i rosada quan el silicagel està hidratat. Es regenera per simple escalfament a una temperatura de 120-130 °C.
- L'alúmina o sesquióxid d'alumini, Al₂ O₃, és també regenerable i eficaç.
- El sulfat de calci anhidre, Ca SO₄, és ràpid, però s'esgota aviat, té poca capacitat d'asseccament. És regenerable per escalfament.
- El perclorat de magnesi anhidre, Mg (Cl O₄)₂, és relativament car.
- El pentòxid de fòsfor, P₂ O₅, és el deshidratant més efectiu. És car. Només s'utilitza en cas de necessitat. Es renova quan s'hi forma una crosta superficial.

h) Assecament per corrent d'aire sec.

Un aparell produeix un corrent d'aire que pot ésser fred o calent. L'asseccament més ràpid s'aconsegueix amb aire calent. L'entrada d'aire està situada al nivell inferior, per a garantir un corrent ascendent. L'aire surt per dalt. Els exemplars es col·loquen en safates reixades, dins d'un recinte tancat. També poden assecar-se sobre una placa calefactora, sobre un radiador, etc. Una manera casolana (experiència de l'autor) és el següent: un sac de plàstic, per exemple d'adobs, 3 o 4 safates (tipus graella) d'una nevera, uns filferros per unir les safates i un assecador de cabells o un convector. Es col·loquen els exemplars sobre les safates, que estan prou separades entre elles, es posa el sac de dalt a baix, fins a cobrir totes les safates i el conjunt es penja. Per sota s'insufla l'aire calent i, a la part de dalt del sac es fa un forat, que pugui ésser tancat a voluntat. (Fig. 1). Hom pot imaginar diferents tipus d'armariets assecadors en corrent d'aire calent. Tots donen bons resultats, si l'aire no és massa calent.

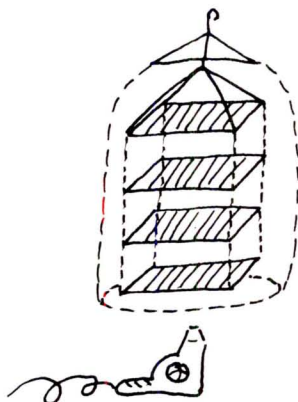


Figura 1

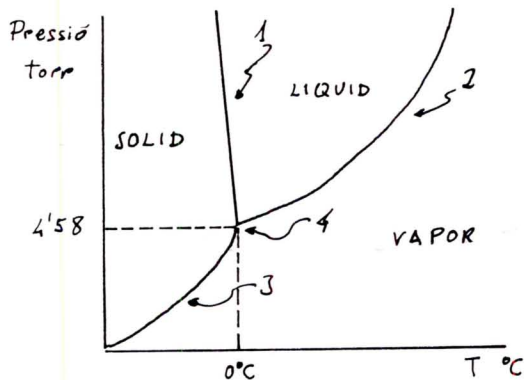
Avantatges i inconvenients dels exemplars deshidratats:

Avantatges: Permet l'estudi posterior, prèvia rehidratació, per tal d'obtenir l'estructura cel·lular al més similar possible al seu estat en fresc. No presenta massa problema per l'espai. És el medi més utilitzat pels micòlegs per a llurs intercanvis a nivell internacional.

Inconvenients: A simple vista no s'assembla gens al seu estat primitiu, és a dir, no és possible identificar-los externament un cop deshidratats. Cal anar amb molt de compte, també, amb l'atac per insectes, humitat del medi, floridures, etc.

i) Assecament per liofilització.

La liofilització és una tècnica de deshidratació per sublimació, prèvia congelació del material. És a dir, l'aigua a dessecar és transformada en glaç i es vaporitza directament, sense passar per l'estat líquid (veure diagrama d'estats, Fig. 2). El producte obtingut, sense perdre l'estructura primitiva, té una textura porosa, fràgil i té un caràcter marcadament hidròfil, és a dir, té afinitat per l'aigua. Per aixó, si no volem que, un cop liofilitzat, torni a absorbir humitat de l'aire, cal conservar-lo en recipients tancats, en companyia de deshidratants.



1. Línia del punt de fusió
2. Línia del punt d'ebullició
3. Línia del punt de sublimació
4. Punt triple. Coexisteixen els tres estats (sòlid-liquid-gas).

Fig. 2. Diagrama d'estats de l'aigua

Figura 2

Sense entrar massa en detalls, bàsicament un liofilitzador consta de dos parts principals: una cambra de liofilització o de sublimació, o evaporador, i una cambra de condensació, unides per un conducte. El producte a congelar es col·loca a la cambra de liofilització on la temperatura és superior a la del condensador. La tensió de vapor també hi és superior a la del condensador i el vapor tendeix a difondre's cap al condensador. També cal un grup frigorífic (compressor rotatiu d'alcohol, per ex.) perquè la sublimació és un procés endotèrmic, és a dir, requereix una certa quantitat d'energia i, en un moment donat, cal aportar calor per a substituir el calor de sublimació. Per això requereix un grup elèctric de calefacció. També calen unes bombes de pressió tipus Roots i una bomba auxiliar, que pot ser una difusora d'oli per a fer un buit més intens. Porten també aparells de control de pressió i de temperatura. Actualment, porten un programador electrònic capaç de regular sincronitzadament el fred, calor i buit i controlar també els dispositius necessaris en cas d'avaria.

La congelació del producte, cal que sigui ràpida. Si és lenta forma cristalls grans de glaç dins del producte i, en sublimar, l'eliminació del glaç es veu dificultada segons la constitució del material. A més, forma cristalls amb arestes vives que poden alterar les cèl·lules, la trama, etc. La congelació dura aproximadament dues hores.

Després, té lloc la sublimació. Es connecta el buit a través del condensador. Mantenim una diferència de temperatures al voltant de 15 °C superior en la cambra de liofilització. Pot durar una hora. La sublimació és un procés endotèrmic, la temperatura del producte baixa molt. Per tal de compensar el refredament cal aportar calor a la cambra de liofilització, a fi de mantenir la diferència de temperatures. Aproximadament, dura unes tres hores. Finalment s'acaba la deshidratació, es connecta la bomba de paletes o la de tipus Roots. Es produeix un buit de 0,001 torr. La duració és variable entre 3 i 8 hores. (veure Fig. 3).

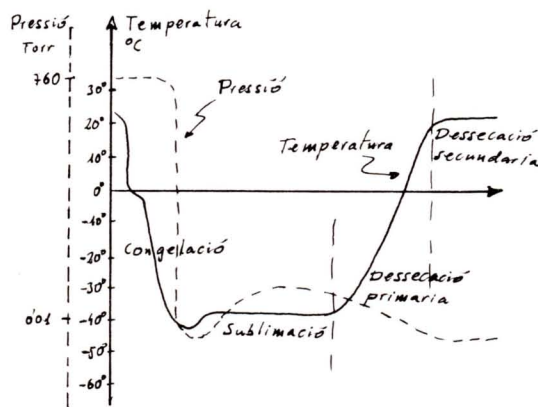


Fig. 3 Fases operatives de la liofilització. (Le Hin)

Figura 3

Avantatges: El fong conserva el color i al seva arquitectura molt similar al seu estat original, és a dir, és possible revisar en qualsevol moment els caràcters microscòpics. Permet fer-ne estudis posteriors, sempre que la congelació s'hagi fet ràpidament, per tal de no malmetre l'estructura cel·lular. Té interès didàctic. És útil per a classes pràctiques.

Inconvenients: La liofilització és una tècnica econòmicament cara. A més requereix personal especialitzat. Els exemplars obtinguts, cal tractar-los amb precaucions; son fràgils; requereixen deshidratants, ja que en el moment de rehidratar-se apareixen els problemes deguts a l'activitat de l'aigua ja comentats anteriorment. Requereix la utilització de flascons per a contenir-los, que ocupen un espai voluminos. Són fràgils durant el transport.

La protecció dels fong deshidratats contra els insectes

Molts insectes causen estralls als herbaris amb conseqüències irreparables. Les larves comencen per devorar l'himeni i d'altres parts, fins a convertir-los en pols. Cal, doncs, emmetzinar els exemplars secs per immersió en un líquid tòxic, abans d'introduir-los en els sobres. El més utilitzat és una solució alcohòlica de clorur mercúric, dit també sublimat corrosiu.

a) sublimat corrosiu	30 g
alcohol 90 %	1000 cc
b) sublimat corrosiu	25-30 g
clorur amònic	10-15 g
alcohol 90 %	1000 cc

La solució a) o la b) es posa en cubetes de ferro esmaltat i s'hi van immergint els exemplars secs mitjançant pinces. Un cop ben mullats es treuen amb les pinces i es deixen escórrer a damunt mateix. Com que el sublimat és altament corrosiu, no es poden tocar amb les mans. Després es col·loquen sobre fulls de paper assecant i s'exposa a l'aire perquè s'evapori l'alcohol i s'asseca com si es tractés d'un exemplar fresc. Les pinces i l'utilitatge utilitzat poden fer-se malbé degut a la corrosió.

Els exemplars secs es poden protegir amb naftalina en quantitat suficient. Té resultats prou acceptables, però cal repassar cada any tota la col·lecció per tal d'evitar sorpreses.

Un altre procediment utilitza Lindane (gammahexaclorociclohexà) en dissolució al 20 % en ortodichlorobenzè. Aleshores s'agafa una xeringa de les d'insulina i s'injecta una gota a l'extrem de cada plec sense mullar l'exemplar. També pot fer-se pulveritzant la capsa. Els vapors s'escamparan per tota la capsa. Aquests vapors no són tòxics per a l'home.

El procediment més pràctic i més ràpid és utilitzar un insecticida en «spray» que ens ofereix el mercat. Però cal repetir periòdicament l'aplicació.

Col·lecció dels exemplars secs.

Un cop secs, els bolets reabsorbeixen espontàniament un 2-3 % d'aigua a partir de la humitat ambiental, en algunes hores. Cal procedir a la utilització dels envoltoris. Poden ser plects o sobres de paper verjurat o en sobres de cel·lofana. En el cas de l'herbari de la Societat Catalana de Micologia, s'empra el sobre de cel·lofana-PVC, de 10 × 16 cm amb obertura lateral. Els sobres de cel·lofana es troben fàcilment al mercat. El fet d'ésser transparents permet veure l'exemplar sense necessitat d'obrir el sobre.

Juntament amb el sobre s'hi posa la fitxa on ha de constar el n.º de referència, el nom de l'espècie, el lloc de trobada (LOC.) i UTM en el cas que es conegui, l'hàbitat, el dia de la recol·lecció (DAT.), el nom del recol·lector (LEG.), el del qui ha fet la determinació (DET.) i si s'ha fet revisió (REV.) i d'altres detalls que facilitin la identificació de la mostra.

Utilització dels exemplars secs.

Si es volen observar les espores, es prenen de l' esporada. La resta dels caràcters microscòpics s'observa després de reinflar parts del material sec en amoníac (el més emprat), solució d'hidròxid potàssic al 5 % o hidrat de cloral. La tinció es pot fer amb Roig Congo amoniacal.

3. Conservació per inclusió en plàstic

La tècnica d'inclusió consisteix en introduir l'exemplar en un medi líquid, en aquest cas, plàstic, que, passat un temps, esdevé sòlid.

Els exemplars, prèviament liofilitzats, es pinten amb una capa de resina, o es pulveritzen, amb la resina o amb un vernís especial que faci d'emulgent o de tensioactiu, és a dir, que mulli tota la superfície de l'exemplar sense deixar bombolletes d'aire, sobretot entre les làmines de l'himenòfor. Aquestes substàncies disminueixen la tensió superficial.

Dins d'un motllo de silicona-PVC es vessa una capa prima, d'un dit de gruix d'una resina de les anomenades d'alta transparència, a la qual es va afegint un catalitzador de tipus peroxídic. Aquesta operació es fa en fred. Aleshores es col·loca el bolet de forma que el píleus (barret) toqui la resina i hi quedi enganxat per la part alta del barret. S'acaba d'afegir la resina i el catalitzador fins a cobrir-lo. Si el catalitzador ha estat insuficient, el material es trenca i es clivella.

L'última operació consisteix en polir la superfície de la resina d'inclusió fins que sigui plana i transparent com el vidre.

Els exemplars en estat fresc també poden ésser inclosos però presenten un problema, perquè es produeix el fenomen de la contracció de l'exemplar, la qual cosa no succeeix en els liofilitzats.

Avantatges: Conserva la seva arquitectura i el seu color quasi idèntic al que tenia en estat fresc, la qual cosa el fa molt útil per a classes pràctiques, pot conservar-se tota la vida perquè està aïllat totalment de l'exterior. No presenta problemes d'atac de paràsits, bacteries, flori-dures, humitat, etc. Per tant, a la llarga és una bona inversió.

Inconvenients: És car; a més, prèviament cal liofilitzar els fongs, per la qual cosa encara el a econòmicament més car. És relativament voluminós. A més, no permet de fer-hi comprovacions microscòpiques.

4. Conservació en recipients hermètics.

No hi ha dubte que el principal problema de qualsevol producte, principalment d'origen biològic és el de l'activitat de l'aigua, les rehidratacions indesitjables, les parasitacions, etc.: cal, doncs, buscar quelcom per evitar aquest problema.

Tots coneixem l'existència dels preparats farmacèutics continguts en vials amb tap de cautxú o en ampolles esfèriques de dues puntes o les que avui dia s'empren molt, que són les ampolles de coll estrangulat i fons pla.

Aquests flascons de fons pla de vidre transparent poden ser de gran utilitat per a conservar-hi petits exemplars de bolets; per una banda s'omplen unes etiquetes petites como si fos una fitxa d'una mida que càpiga dins l'ampolla; les etiquetes dins de les ampolles poden ser esterilitzades en autoclau a 115-120 °C i una atm de pressió, de 15 a 30 minuts; també es poden esterilitzar per radiació, amb productes químics, etc. per tal de destruir tot tipus de vida. Els exemplars prèviament dessecats, si els esterilitzem en l'autoclau, se'n pot destruir l'estructura cel·lular per la qual cosa és millor emprar els mètodes de protecció contra els paràsits ja mencionats. Els exemplars o fragments, la mida dels quals està condicionada per la capacitat i l'estrangulament de l'ampolla, s'introdueixen dins l'ampolla juntament amb l'etiqueta; acte seguit es procedeix al tancament del coll, en el nostre cas s'ha realitzat per fusió amb màquina bufadora amb ampolles de 18 mm de diàmetre del cos i 77 mm d'alçada un cop tancada. (veure Fig. 4).

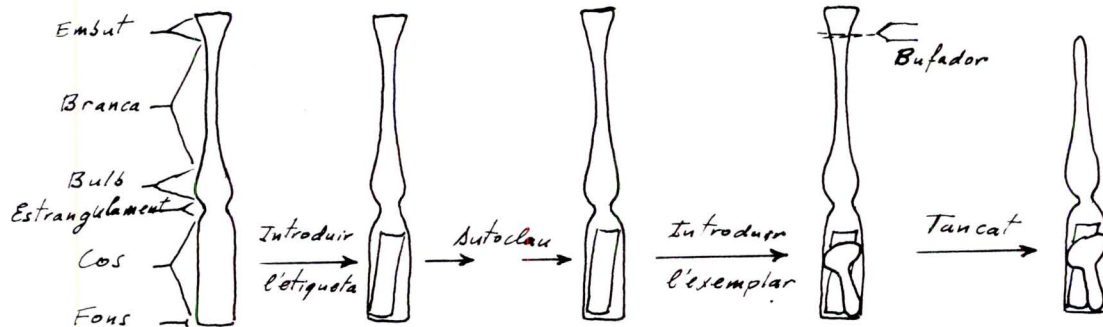


Fig. 4 Fases de l'operació.

Fig. 4 Fases de l'operació.

Avantatges: El contingut dessecat està totalment protegit de la humitat, dels paràsits, bacteris, contaminacions en general, canvis de temperatura, etc. per la qual cosa pot guardar-se tota la vida intacte. Permet de ser utilitzat per fer-ne determinacions posteriors; per ruptura de l'ampolla; un cop utilitzat pot condicionar-se novament en una nova ampolla amb les precaucions prèvies abans citades. Les ampolles poden protegir-se en els envasos corrents de condicionament.

Inconvenients: Cal la utilització d'un autoclau i d'una màquina bufadora especial per a tancar les ampolles. Degut al fet que les ampolles d'utilitat farmacèutica són petites, només és pràctic per a carpòfors petits o fraccionats.

Bibliografia

- CALMET FONTANÉ, J. GARCIA MONJO, J., 1979: *Manual práctico del laboratorio químico y farmacéutico*. Barcelona. 336 pp.
- HAWKSWORTH, D.L., 1974: *Mycologist's Handbook. An Introduction to the Principles of Taxonomy and Nomenclature in the Fungi and Lichens*. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surre. 231 pp.
- JOSSERAND, M. 1952: *La description des champignons supérieurs*. *Encyclopédie Mycologique XXI*. Paul Lechevalier, Edit. Paris. 338 pp.
- LE HIR, A., 1981: *Abrégé de Pharmacie Galénique. Formes Pharmaceutiques*. 3.^a Ed. Ed. Masson. Paris. 354 pp.
- LOCQUIN, M., 1944: *Le séchage des champignons par l'infrarouge*. *Bulletin de la Société Linnéenne de Lyon*. 1: 13-14.
- MALENÇON, G., BERTAULT, R., 1970: *Flore des champignons supérieurs du Maroc I*, Rabat. 601 pp.
- MÉTROD, G., 1937: *Les coupes microscopiques*. *Bulletin de la Société Mycologique de France*. 53 (1): 47-48.
- SACCARDO, P.A., 1915: *Flora Italica Cryptogama*. Pars I. Fungi Hymeniales. Rocca S. Casciano. 576 pp.
- WATLING, R., *How to Identify Mushrooms to Genus. V: Cultural and Developmental Features*. Mad River Press, Inc. Edimburg. 168 pp.