# Découverte de *Phaeopezia polarispinosa* comb. nov. (*Pezizaceae*) en Suisse

René DOUGOUD Nicolas VAN VOOREN	<b>Résumé :</b> description, illustration et nouvel accommodement, dans le genre <i>Phaeopezia</i> , de <i>Peziza polarispinosa</i> J. Moravec, une espèce peu fréquente et particulière par ses ornementations sporales. <b>Mots-clés :</b> <i>Ascomycota, Pezizales</i> , pézize apiculée, phylogénie, taxinomie.
Ascomycete.org, 15 (5) : 177—181 Mise en ligne le 21/12/2023 10.25664/ART-0380	Discovery of Phaeopezia polarispinosa comb. nov. (Pezizaceae) in Switzerland Abstract: description, illustration, and new arrangement, in the genus Phaeopezia, of Peziza polarispinosa J. Moravec, an infrequent species, with a peculiar spore ornamentation. Keywords: Ascomycota, Pezizales, apiculate Peziza, phylogeny, taxonomy.
CG BY-NC-ND	

## Introduction

Les facteurs édaphiques, regroupant les propriétés chimiques, physiques et biologiques d'un substrat, conditionnent, avec la phénologie, la croissance des espèces fongiques. Ils sont innombrables et plus ou moins stricts et exigeants selon les espèces. L'espèce que nous présentons ici, récoltée la première fois en Angleterre en 1960, et seulement à deux reprises depuis, doit sans doute répondre aux plus fortes exigences de croissance. De par ses caractères microscopiques spectaculaires, il est peu vraisemblable qu'elle ait pu passer inaperçue.

## Matériel et méthodes

**Morphologie et cytologie.** — La description a été effectuée à partir d'un spécimen vivant. La couleur de l'hyménium a été codée selon KÜPPERS (1991). Les montages des coupes et d'autres éléments de la microscopie ont été réalisés dans l'eau distillée et observés à l'aide d'un microscope optique. Des réactifs et colorants, tels que le réactif de Melzer (MLZ) et la solution de Lugol (IKI), pour contrôler la réaction amyloïde des asques, et le bleu coton lactique (BCL), pour la mise en évidence les ornementations sporales, ont été utilisés dans un second temps. Les dimensions des ascospores et de leurs ornementations ont été mesurées dans le bleu coton lactique. Les valeurs statistiques ont été calculées sur une base de 30 ascospores

matures (sur sporée). Toutes les autres mesures ont été obtenues à partir de montages effectués dans l'eau. « Me » signifie « moyenne », « Q » le quotient longueur/largeur et « Qm » le quotient moyen. Les photographies du sporophore et des éléments de la microscopie ont été réalisées en laboratoire.

**Extraction ADN, amplification et séquençage.** — L'ADN a été extrait à partir d'un morceau sec issu de la récolte, placé dans une solution CTAB, selon une méthode modifiée provenant de MURRAY & THOMPSON (1980). Les réactions PCR (MULLIS & FALOONA, 1987) incluaient 35 cycles avec une température d'hybridation de 54° C dans tous les cas. L'amplification PCR a été réalisée avec les amorces ITS1F et ITS4 (WHITE *et al.*, 1990; GARDES & BRUNS, 1993) pour la région de l'ITS, LROR et LR5 (VILGALYS & HESTER, 1990) pour celle du 28S nLSU. Les produits PCR ont été vérifiés sur du gel d'agarose à 1 % (visualisé avec du colorant GelRed), et les réactions positives ont été séquencées avec les amorces correspondantes. L'ensemble de ce travail a été réalisé par le laboratoire ALVALAB (Espagne). Les séquences ont été déposées dans GenBank.

**Analyses phylogénétiques.** — Les séquences obtenues ont été complétées en utilisant BLASTn (ALTSCHUL *et al.*, 1990) pour récupérer les séquences les plus proches à partir de la base de données publiques International Nucleotide Sequence Database Collaboration (INSDC) (ARITA *et al.*, 2021). Les analyses phylogénétiques ont été réalisées à l'aide du logiciel MEGA X (KUMAR *et al.*, 2018). Les séquences ont été alignées à l'aide du logiciel MUSCLE (EDGAR, 2004) avec les paramètres d'exécution par défaut, puis corrigées manuellement.



<sup>0.01</sup> 

**Fig. 1** – Phylogramme des *Phaeopezia* déduite de l'analyse en maximum de vraisemblance (ML) de la région LSU, accompagnés d'un groupe d'espèces appartenant au genre *Elaiopezia*. *Ascobolus carbonarius* représente le groupe externe (*outgroup*). Les nœuds avec un support de bootstrap  $\geq$  70 % ML sont annotés avec leur valeur. Les séquences nouvellement générées apparaissent en gras.



Pl. 1 - Phaeopezia polarispinosa. Aspect macroscopique. Photo N. Van Vooren

Des analyses phylogénétiques en maximum de vraisemblance ont été générées avec PhyML 3.1 (GUINDON *et al.*, 2010), utilisant un modèle d'évolution GTR. Le support de branche a été évalué grâce à la méthode des *bootstraps* sur la base de 500 itérations. Pour l'analyse effectuée sur la région LSU, le jeu de données final comptait 13 séquences (dont 9 pour le seul genre *Phaeopezia*) et 900 positions. L'arbre ayant la plus grande vraisemblance (-2216,29) est représenté.

Le phylogramme présenté a été édité graphiquement à l'aide de l'outil en ligne iTOL v6 accessible à l'adresse https://itol.embl.de (LE-TUNIC & BORK, 2021).

#### Résultats phylogénétiques

L'analyse conduite sur la région LSU (28S) de l'ADN ribosomique (fig. 1) place notre récolte au sein du genre *Phaeopezia* (Vido) Vido tel que réhabilité par VAN VOOREN (2020). Elle se place de manière robuste (*bootstrap* 100 %) dans le clade contenant *Phaopezia apiculata* (Cooke) Vido, mais en modifiant un peu la topologie du phylogramme présenté par VAN VOOREN (2023, fig. 3).

Nous avons intégré dans ce phylogramme des séquences issues du genre *Elaiopezia* Van Vooren dont le type, *E. obtusapiculata* (J. Moravec) Van Vooren, possède également des ascospores apiculées. Il confirme que la présence de tels apicules n'est pas un caractère synapomorphique, comme l'avait déjà souligné VAN VOOREN (2020).

#### Taxinomie

Phaeopezia polarispinosa (J. Moravec) Dougoud & Van Vooren, comb. nov. – MB 851170

**Basionyme :** *Peziza polarispinosa* J. Moravec, *Agarica*, 6 (12): 59 (1985).

**Type :** « on log lying in water », 01/09/1958, Angleteterre, Midwest Yorkshire, Malham Tarn area, *leg*. W. D. Graddon, sous le nom *Aleuria apiculata*, conservé sous les numéros K(M)40921 et K(M)42801 aux Jardins botaniques royaux de Kew.

**Diagnose** (MORAVEC, 1985) : « Apothecia 10 mm diam., cupulata, thecio obscure olivaceo; parts exterior apothecii laete purpureobadia, subtiliter furfuracea. Excipulum externum textura globulosa e cellulis globosis vel subglobosis 8-35  $\mu$ m diam., hyalinis sed in margo excipulo olivaceo-fuscis et cum hyphis externis clavatis, septatis. Excipulum parte inferiore (medulla) e cellulis globosis et cum hyphis set un yum crassis constat. Asci 300-350 × 13.6-16.3  $\mu$ m, cylindracei, amyloidei, octospori. Paraphyses filiformes, 4-5  $\mu$ m, simplices, rectae, supra sensim incrassatae (6  $\mu$ m). Ascosporae elongato-ellipsoideae vel fusiformi-ellipsoideae, laete luteo-fuseae, 19-24.5-27.8 × 8-9.5-10  $\mu$ m (apiculi et spines exclusive), verrucosae ; verrucae irregulariter distributae, multiformes, sed etiam regulariter rotundatae et distributae, 0.2-1.5  $\mu$ m diam et altae, polis sporarum longiores usque saepe spinis fasciculatis, 1.5-3.5-4.5  $\mu$ m, longis, acutis vel apiculi instructae. (Oil. immers. 1575 × + CB et SEM × 5000-10000). »



**Pl. 2** – *Phaeopezia polarispinosa*. Caractères microscopiques. a. Section transversale d'une apothécie, dans l'eau. b. Asque et paraphyses. c. Sommets d'asques dans le Melzer. d. Bases d'asques. Barres d'échelle : a = 100 μ, b-d = 20 μm. Photos R. Dougoud.



Pl. 3 – Phaeopezia polarispinosa. Sporogramme (dans BCL). Barre d'échelle = 20 µm. Photos R. Dougoud.

**Apothécie** 17 mm de diamètre, sessile. **Réceptacle** faiblement cupulé, olive à brunâtre olivacé, lavé de purpurin, furfuracé, surtout vers la marge. **Marge** un peu relevée, furfuracée, nettement teintée de purpurin à maturité. **Hyménium** d'abord olive, puis brun olive sombre à maturité, S99, Y80 / M10- M20. **Chair** non succulente, gris olivâtre.

Hyménium épais de 370-385 µm, jaune olive. Asques 350-375  $\times$  16–19,5  $\mu$ m, operculés, cylindracés, octosporés, mais contenant souvent des ascospores avortées<sup>1</sup>, contenant un protoplasme vert olive, à paroi amyloïde dans IKI et MLZ (type W selon codification de VAN VOOREN, 2020), issus d'un crochet. Ascospores (17-) 18,5-22,5 (-23,4) × (9,1-) 9,5-10 (-10,6)  $\mu$ m (dans le BCL, sans les ornementations), Me =  $19,9 \times 9,7 \mu m$ , Q = 1,9-2,2, Qm = 2,1, unisériées, hétéromorphes par la forme et par les ornementations, ellipsoïdales, oblongues à extrémités arrondies, ou fusiformes, contenant initialement des granulations irrégulièrement réparties ou parfois plus denses aux pôles, puis biguttulées ou uniguttulées. Dans l'eau, à contenu jaune verdâtre pâle à subhyalin à maturité, franchement de cette couleur lorsque immature dans les asques. Parois recouvertes de verrues cyanophiles, plus ou moins serrées ou espacées, souvent brusquement moins nombreuses et proéminentes à l'approche des pôles, à sommet arrondi, parfois pointu, larges et hautes de 0,3-1,3 µm, isolées ou reliées et formant alors de courtes crêtes, parfois également ornées de pustules, hautes de 0,5-2 µm. Pôles ornementés ou non (parfois sur un seul), par 1-12 apicules cyanophiles, longs de (1-) 8-12 (-19) µm, filiformes, ou à base conique et alors plus ou moins longuement acuminés, droits ou flexueux, ou pôles parfois recouverts d'une large calotte polaire haute de 1-1,5 µm d'où partent les apicules, ou portant seulement un apicule conique, obtus, de 2 µm de diamètre à la base et 3 µm de hauteur, ou conique, aigu, de 3 µm à la base et 5,5 µm de hauteur. Paraphyses 6–7 (–10) µm de diamètre, cylindracées, septées, non fourchues, à protoplasme et paroi jaune verdâtre, olivâtre, parties sommitales souvent réunies et maintenues ensemble par des granulations ou par des amas pigmentés jaune verdâtre. Sous-hyménium indistinct. Excipulum médullaire supérieur épais de 175-250 µm, de textura intricata-globulosa, verdâtre pâle, formé de

cellules courtement cylindracées ou subsphériques, parfois ampullacées, avec connectifs, × 20–35–40 µm de diamètre. **Excipulum médullaire inférieur** épais de 125–200 µm, de *textura intricata*, olivâtre, contrastant avec les textures voisines, orientées perpendiculairement à l'hyménium, à hyphes cloisonnées, × 7,5–10–17 µm de diamètre, entremêlés de quelques cellules plus ou moins sphériques ou ampullacées, × 20–25 µm de diamètre. **Excipulum ectal** épais de 175–260 µm, de *textura intricata*, olivâtre, plus foncé dans la partie supérieure, tendant à s'orienter parallèlement à l'hyménium, formé d'hyphes cylindracées à subclavées, cloisonnées, × 13,5–20– 22,5 µm de diamètre, avec quelques rares articles subsphériques atteignant 37 µm de diamètre, à cellules externes plus ou moins recouvertes de granulations pigmentées de jaune verdâtre, se regroupant en petits amas émergents. **Zone marginale** de *textura globulosa*.

**Habitat et récolte :** SUISSE. Fribourg, Bulle, forêt de Bouleyres, 46,611389° N 7,076666° E, alt. 726 m, un spécimen, au sol, sur une petite brindille de bois, non identifiée, légèrement enfoncée dans une terre lourde et humide, en bordure d'un sentier forestier, sous *Picea abies, Abies alba, Fagus sylvatica* et *Acer pseudoplatanus*, le 7/08/2023, *leg*. N. Van Vooren, herb. pers. RD 34.31.259.23 ; GenBank ITS OR838693, LSU OR828577.

**Répartition :** décrite à partir d'une récolte anglaise, cette espèce n'a été signalée depuis que de Bosnie-Herzégovine (JUKIĆ & OMEROVIĆ, 2015). Sa découverte en Suisse étend donc son aire de répartition connue.

### Discussion

Cette espèce a été décrite pour la première fois par GRADDON (1960), sous le nom d'Aleuria apiculata (Cooke) Boud., à partir d'une récolte faite dans le nord-est de l'Angleterre. Ce n'est qu'en 1985, à partir de la récolte de Graddon, que MORAVEC l'a décrite de manière officielle sous l'épithète *polarispinosa*, en regard de la conformation

<sup>1</sup> Le sporophore était totalement immature à la récolte. Il a maturé au réfrigérateur, ce qui pourrait expliquer la présence d'ascospores avortées dans les asques. particulière des apicules ornant les pôles des ascospores. GRADDON (*op. cit.*) n'illustre pas sa récolte, indiquant simplement, s'agissant de l'ornementation : « with an apiculus, sometimes forked, about 2 µm long at each end; epispore finely warted, the warts giving a spinose appearance to the spore profile. » Les illustrations de l'ornementation sporale de ce taxon proposées par MORAVEC (1985, fig. 3) dressent parfaitement le profil des ascospores et permettent la comparaison avec *Phaeopezia apiculata*. Cette dernière montre des apicules le plus souvent simples, parfois accompagnés de verrues épineuses, mais jamais avec une longueur comparable à celle de *P. polarispinosa*. Par ailleurs, *P. apiculata* montre des verrues plus arrondies sur le reste de la surface sporale, alors qu'elles sont bien plus irrégulières sur *P. polarispinosa*, voire étirées et formant de petites crêtes basses.

*Phaeopezia vagneri* (J. Moravec) Van Vooren & Sammut possède des ascospores à apicules multifides, dont la longueur est moindre, entre 1,5 et 5 μm (MORAVEC, 1974 ; HÄFFNER, 1986), et elle diffère macroscopiquement par son aspect discoïde, à hyménium noir violacé.

Phaeopezia polarispinosa se distingue surtout microscopiquement par l'hétéromorphisme des ascospores, mais surtout de ses ornementations, par ses apicules polaires, variables par leur forme, leur nombre et leur longueur. De par ces éléments, elle se distingue de toutes les espèces à ascospores apiculées, notamment à celles traitées par MORAVEC (1985). Enfin, les données génétiques confirment son caractère spécifique et justifient son transfert dans le genre Phaeopezia.

## Remerciements

Nous remercions Gilbert Moyne pour la relecture préalable du manuscrit.

## **Bibliographie**

- ALTSCHUL S.F., GISH W., MILLER W., MYERS E.W. & LIPMAN D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403– 410.
- ARITA M., KARSCH-MIZRACHI I. & COCHRANE G. 2021. The international nucleotide sequence database collaboration. *Nucleic Acids Research*, 49 (D1): D121–D124. doi: 10.1093/nar/gkaa967
- EDGAR R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32 (5): 1792–1797. doi: 10.1093/nar/gkh340
- GARDES M. & BRUNS T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes — application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2 (2) : 113–118. doi: 10.1111/ j.1365-294x.1993.tb00005.x

- GUINDON S., DUFAYARD J.F., LEFORT V., ANISIMOVA M., HORDIJK W. & GASCUEL O. 2010. — New algorithms and methods to estimate Maximum-Likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59: 307–321. doi: 10.1093/sysbio/syq010
- GRADDON W.D. 1960. British records nos. 43–49. *Transactions of the British Mycological Society*, 43 : 689–691. doi: 10.1016/S0007-1536 (60)80061-7
- HÄFFNER J. 1986. Die apikulaten Becherlinge. Zeitschrift für Mykologie, 52 (1): 189–212.
- KÜPPERS H. 1991. *Dumont's Farben-Atlas*. Köln, DuMont Buchverlag, 165 p.
- LETUNIC I. & BORK P. 2021. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, 49 (W1): W293–W296. doi: 10.1093/nar/gkab301
- MORAVEC J. 1985. A taxonomic revision of species related to *Peziza* apiculata. Agarica, 6 (12): 56–66.
- JUKIĆ N. & OMEROVIĆ N. 2015. Some Pezizomycetes collected on the territory of the Sutjeska National park. Radovi Šumarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, 45 (2): 113–125. doi: 10.54652/rsf.2015.v45.i2.89
- KUMAR S., STECHER G., LI M., KNYAZ C. & TAMURA K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35 (6): 1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
- MORAVEC J. 1974. *Peziza vagneri* spec. nov. from Czechoslovakia (Discomycetes, *Pezizales*). Česká Mykologie, 28 (4): 223–226.
- MULLIS K. & FALOONA F.A. 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335–350.
- MURRAY M.G. & THOMPSON W.F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8: 4321–4325.
- VAN VOOREN N. 2020. Reinstatement of old taxa and publication of new genera for naming some lineages of the *Pezizaceae* (*Ascomycota*). *Ascomycete.org*, 12 (4): 179–192. doi: 10.25664/art-0305
- VAN VOOREN N. 2023. Nomenclatural novelties in *Pezizales*. Part 3. *Ascomycete.org*, 15 (2): 77–80. doi: 10.25664/art-0372
- VILGALYS R. & HESTER M. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*, 172 (8): 4238-4246. doi: 10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990
- WHITE T.J., BRUNS T., LEE S. & TAYLOR J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: INNIS M.A., GELFAND D.H., SNINSKY J.J. & WHITE T.J. (éd.). *PCR Protocols: A guide to methods and applications*. San Diego, Academic Press: 315–322. doi: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1





1: R. Dougoud – Rue des Auges 14, 1635 La Tour de Trême, Suisse – rene.dougoud@bluewin.ch 2: N. Van Vooren – 13 chemin du Bois Ponard, 69160 Tassin-la-Demi-Lune, France – nicolas@vanvooren.info