

# *Trichophaea dougoudii* sp. nov. (Pezizales), un nouveau discomycète de l'étage alpin

Nicolas VAN VOOREN

*Ascomycete.org*, 8 (5) : 227-234.

Novembre 2016

Mise en ligne le 3/11/2016



**Résumé :** la récolte d'une espèce du genre *Trichophaea* en zone alpine, présentant des caractères proches de *T. woolhopeia*, offre l'occasion de confirmer, grâce à une étude morphologique et à l'analyse phylogénétique, que *T. woolhopeia* représente un complexe d'espèces mycorrhiziques qui semblent bien difficiles à séparer morphologiquement. Les différences morphologiques exprimées sur cette récolte, notamment la taille et la forme des ascospores, associées à son écologie alpine et une relation probable avec *Bistorta vivipara*, sont confirmées par les données moléculaires. Nous proposons celle-ci comme espèce nouvelle, sous le nom de *T. dougoudii*.

**Mots-clés :** Ascomycota, phylogénie, *Pyronemataceae*, taxinomie, zone alpine.

**Abstract:** A *Trichophaea* species collected in Alpine zone in France, with characters close to those of *T. woolhopeia*, offers the opportunity to confirm — after a morphological and phylogenetic analysis — that the latter represents a complex of mycorrhizal species difficult to split morphologically. The morphological differences seen on this collection, in particular the size and shape of the ascospores, associated to its alpine ecology, and a probable relationship with *Bistorta vivipara*, are confirmed by molecular data. We propose it as a new species under the name *T. dougoudii*.

**Keywords:** Alpine zone, Ascomycota, phylogeny, *Pyronemataceae*, taxonomy.

## Introduction

En 2015, à l'occasion de la session annuelle dite « Ascomycota Zone Alpine » organisée par *Ascomycete.org*, nous avons eu l'occasion de récolter dans le parc national de la Vanoise un discomycète du genre *Trichophaea* Boud. dont les caractères nous ont paru d'emblée inédits, malgré une certaine similitude avec *Trichophaea woolhopeia* (Cooke & W. Phillips) Arnould. Après une étude morphologique complète, des recherches bibliographiques et une analyse moléculaire, nous avons pu conclure qu'il s'agissait d'une espèce nouvelle, proposée sous le nom de *Trichophaea dougoudii*. Nous en donnons ici une description complète, des illustrations et discutons de sa position taxinomique.

## Matériel et méthodes

**Morphologie et cytologie.** — Les spécimens ont été étudiés sur le frais. Les caractères ont été observés et mesurés au microscope optique (Olympus CX-31), dans l'eau, à différents grossissements. Les mesures de spores sont données sur la base de 30 éléments issus d'une sporée et observés à l'immersion. La moyenne de ces dimensions est exprimée par le symbole X et Q représente le quotient longueur/largeur, Qm le quotient moyen. Du bleu coton au lactophénol a été utilisé pour mettre en évidence l'ornementation sporale. Les photographies ont été prises en laboratoire, à l'aide d'un appareil numérique. Les dessins au trait ont été réalisés à main levée. Le vocabulaire est conforme à celui présenté dans DOUGOUD (2013).

**Extraction ADN, amplification et séquençage.** — L'ADN a été extrait à partir d'un spécimen séché placé dans une solution CTAB (CTAB 2 %, NaCl 1.4 M, EDTA pH 8.0 20 mM, Tris-HCl pH 8.0 100 mM). Ce mélange a été incubé pendant 15 min à 65 °C, complété ensuite par un mélange chloroforme:alcool isoamylique (24:1), puis émulsifié. Il a ensuite été centrifugé pendant 10 min à 13 000 g, puis l'ADN a été précipité grâce à un volume équivalent d'isopropanol. Après une deuxième centrifugation de 15 min à la même vitesse, la graine d'ADN a été lavée dans de l'éthanol à 70 %, froid, et centrifugé encore 2 min, puis séché. Enfin, elle a été suspendue dans 200 µl d'eau doublement distillée. 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, LR0R et LR5 (VILGALYS & HESTER, 1990) pour celle

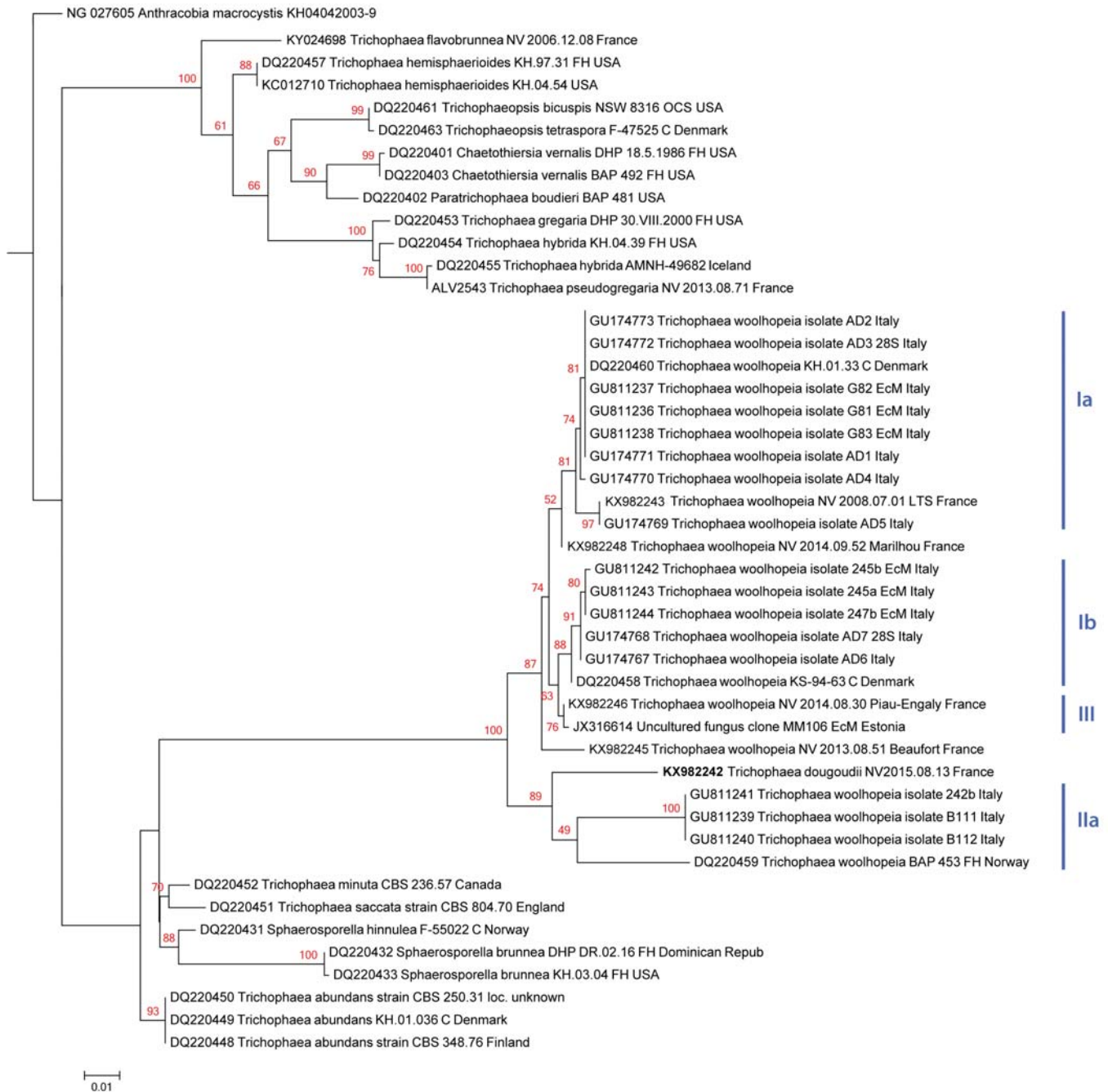
du 28S nLSU. Les réactions PCR ont été réalisées selon un programme consistant en un démarrage à chaud à 95 °C pendant 5 min, suivi par 35 cycles à 94 °C, 54 °C et 72 °C (45, 30 et 45 s respectivement) et une étape finale à 72 °C durant 10 min. Les produits PCR ont été vérifiés sur du gel d'agarose à 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 dans un laboratoire spécialisé.

**Analyses phylogénétiques.** — Le système BLAST® a été utilisé pour sélectionner, à partir des bases publiques de l'International Nucleotide Sequence Database Collaboration (INSDC), les séquences les plus proches de celles réalisées dans le cadre de cette étude. Les analyses ont été réalisées en ligne sur [www.phylogeny.lirmm.fr](http://www.phylogeny.lirmm.fr) (DEREEPER *et al.*, 2008). Les alignements de séquences ont été traités à l'aide de Muscle. Des analyses phylogénétiques en maximum de vraisemblance ont été générées avec PhyML 3.0 aLRT (ZWICKL, 2006), utilisant un modèle d'évolution GTR. Le support de branche a été évalué grâce à une version non paramétrée du test statistique aLRT (*approximate likelihood-ratio test*), implémenté dans PhyML SH-aLRT (ANISIMOVA & GASCUEL, 2006). Les séquences générées pendant cette étude ont été déposées dans la base de données GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) ; les numéros d'accession sont reportés dans le tableau 1.

## Résultats de l'analyse moléculaire et implications

L'analyse moléculaire est un puissant outil pour confirmer ou infirmer une hypothèse taxinomique élaborée grâce à la méthode descriptive et comparative. Nous avons donc voulu vérifier si notre espèce supposée inédite trouvait une confirmation avec les marqueurs génétiques couramment séquencés chez les champignons et en particulier chez les *Pezizales*. Nous avons donc procédé à l'extraction d'ADN sur un spécimen de notre récolte alpine, complétée par celles effectuées sur de précédentes récoltes de *T. woolhopeia* (voir tableau 1). Des séquences ITS (18S) et LSU (28S) de l'ADN ribosomal ont ainsi été obtenues et comparées avec d'autres séquences, notamment celles produites dans le cadre de l'étude de RUBINI *et al.* (2011)<sup>1</sup>, l'espèce étant considérée comme mycorrhizique (TEDERSOO *et al.*, 2006). Afin de rester cohérents avec les travaux de PERRY *et al.*

<sup>1</sup> Cette étude avait pour objectif d'isoler et d'identifier les séquences d'un champignon présent de manière importante dans les truffières et mycorrhizant les arbres au détriment des truffes.



**Fig. 1** – Phylogénie en maximum de vraisemblance de *Trichophaea dougoudii* (séquence en gras) basée sur des séquences LSU, enracinée avec *Anthracobia macrocystis*.

(2007) ou de RUBINI *et al.* (*op. cit.*), nous avons privilégié le gène LSU — offrant en général une moindre variabilité, mais également fiable au niveau spécifique dans certains groupes ; voir par exemple SCHOCH *et al.* (2012) — pour produire l'arbre présenté sur la figure 1. Il faut noter que nous obtenons une topologie similaire avec l'ITS (résultats non montrés).

Les résultats obtenus confirment que les séquences identifiées sous le nom de *T. woolhopeia*, issues d'ascomés ou extraites de mycorhizes (mention EcM) forment un ensemble monophylétique, mais divisé en plusieurs clades, confirmant l'hypothèse de RUBINI *et al.* (*op. cit.*) d'un complexe d'espèces. Le séquençage de quatre de nos propres récoltes, provenant de milieux et d'altitudes différents, confirment une diversité insoupçonnée au regard des caractères morphologiques (ou phénotypiques) exprimés, et dans laquelle

l'écologie joue sans doute un rôle prépondérant. Les arbres ou plantes hôtes avérés ou supposés sont listés dans le tableau 1. *Trichophaea dougoudii* ressort de manière isolée apportant une preuve supplémentaire de son caractère inédit. L'analyse produite sur l'ITS (non figurée) révèle une autre information : notre séquence apparaît extrêmement proche de séquences environnementales (KF000553, KF000554, KF000556, KF000562, KF000604 et KF000615)<sup>2</sup> provenant de mycorhizes sur *Bistorta vivipara* (L.) Delarbre (syn. *Polygonum viviparum* L.), une plante bien présente à l'étage alpin, courante dans le Parc national de la Vanoise (source PIFH Rhône-Alpes<sup>3</sup>), y compris dans le secteur où nous avons découvert *T. dougoudii* (T. DELAHAYE, comm. pers.).

La figure 1 illustre cinq groupes différents. En reprenant la codification de RUBINI *et al.* (*op. cit.*), on peut supposer que :

<sup>2</sup> Séquences produites pour une étude non publiée sur les mycobiontes mycorhiziques de *Bistorta vivipara*.

<sup>3</sup> PIFH Rhône-Alpes : base de données du Pôle Flore-Habitat en Rhône-Alpes (adresse web : <http://www.pifh.fr>)

**Tableau 1** – Liste des séquences (utilisées pour cette étude. Les numéros GenBank en gras correspondent aux séquences produites dans le cadre de cette étude. Les hôtes marqués d'une étoile sont avérés car issus de mycorhize.

Nom d'espèce	Hôte(s)	Localité	Collection ou référence	Numéro GenBank	
				ITS	LSU
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Quercus pubescens</i> *	Montemartano, Spoleto, Italie	EcM AD1	GU174760	GU174771
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Q. pubescens</i> *	Montemartano, Spoleto, Italie	EcM AD3	GU174761	GU174772
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Q. pubescens</i> *	Montemartano, Spoleto, Italie	EcM AD2	GU174762	GU174773
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Q. pubescens</i> *	Vallunga, Leonessa, Rieti, Italie	EcM AD5	GU174764	GU174769
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Q. pubescens</i> *	Villa Gizzi, Leonessa, Rieti, Italie	EcM AD4	GU174763	GU174770
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Q. pubescens</i> *	Plan inoculé avec <i>Tuber melanosporum</i>	EcM AD6	GU174765	GU174767
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Q. pubescens</i> *	Plan inoculé avec <i>T. melanosporum</i>	EcM AD7	GU174766	GU174768
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Ostrya carpinifolia</i> *	Fosso, Spoleto, Italie	EcM 245a	GU811252	GU811243
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>O. carpinifolia</i> *	Fosso, Spoleto, Italie	EcM 245b	GU811251	GU811242
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>O. carpinifolia</i> *	Borgo Cerreto, Spoleto, Italie	EcM 247b	GU811253	GU811244
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Q. pubescens</i> *	Borgo Cerreto, Spoleto, Italie	EcM 242b	GU811248	GU811241
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Corylus avellana</i> *	Torre Matigge, Trevi, Italie	EcM G81	GU811246	GU811236
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>C. avellana</i> *	Torre Matigge, Trevi, Italie	EcM G82	GU811245	GU811237
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>C. avellana</i> *	Torre Matigge, Trevi, Italie	EcM G83	GU811247	GU811238
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>C. avellana</i> *	Torre Matigge, Trevi, Italie	EcM B111	GU811249	GU811239
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>C. avellana</i> *	Torre Matigge, Trevi, Italie	EcM B112	GU811250	GU811240
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Salix caprea</i> *	Estonie	EcM MM106	JX316614	JX316614
Uncultured ectomycorrhizal fungus isolate	<i>C. avellana</i> , <i>Q. pubescens</i> *	Umbria, Italie	EcM m7	DQ402506	
Vouchered mycorrhizae	<i>Quercus ilex</i> subsp. <i>ballota</i> *	Espagne	EcM PAPM-Mycorrhiza 201	EU822506	
Vouchered mycorrhizae	<i>Q. ilex</i> subsp. <i>ballota</i> *	Espagne	EcM PAPM-Mycorrhiza 202	EU822507	
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	sous feuillus	Jydelejet, Danemark	KS-94-63 (C-F-55285)		DQ220458
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	?	Langesø, Funen, Danemark	KH.01.33 (C)	DQ200835	DQ220460
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Betula</i> sp.	Fredrikstad, Norvège	BAP 453 (FH)		DQ220459
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Betula pendula</i> *	Laelatu, Estonie	EcM La-L809		AJ968676
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Fraxinus excelsior</i> , <i>Quercus</i> sp.	La Tour-de-Salvagny, France	NV 2006.10.01	<b>KX982244</b>	<b>KX982243</b>
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Alnus incana</i>	La Tetraz, Beaufort, France	NV 2013.08.51		<b>KX982245</b>
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Betula</i> sp., <i>Salix</i> sp.	Piau-Engaly, Aragnouet, France	NV 2014.08.30	<b>KX982247</b>	<b>KX982246</b>
<i>Trichophaea woolhopeia</i>	<i>Fagus sylvatica</i>	Bois du Marilhou, Le Vaulmier, France	NV 2014.09.52	<b>KX982249</b>	<b>KX982248</b>
<i>Trichophaea dougoudii</i>	<i>Bistorta vivipara</i> ?	Pont de la Neige, Bonneval-sur-Arc, France	NV 2015.08.13	<b>KX982241</b>	<b>KX982242</b>
Uncultured Pezizales clone	<i>Bistorta vivipara</i>	Allemagne	EcM 12504	KF000553	
Uncultured Pezizales clone	<i>Bistorta vivipara</i>	Allemagne	EcM 12503	KF000554	
Uncultured Pezizales clone	<i>Bistorta vivipara</i>	Allemagne	EcM 12501	KF000556	
Uncultured Pezizales clone	<i>Bistorta vivipara</i>	Allemagne	EcM 12495	KF000562	
Uncultured Pezizales clone	<i>Bistorta vivipara</i>	Allemagne	EcM 12498	KF000604	
Uncultured Pezizales clone	<i>Bistorta vivipara</i>	Allemagne	EcM 12497	KF000615	
<i>Trichophaea minuta</i>		Canada	CBS 236.57		DQ220452
<i>Trichophaea abundans</i>		Finlande	CBS 348.76		DQ220448
<i>Trichophaea abundans</i>		Danemark	KH.01.036 (C)		DQ220449

Tableau 1 (suite)

Nom d'espèce	Hôte(s)	Localité	Collection ou référence	Numéro GenBank	
				ITS	LSU
<i>Trichophaea abundans</i>		?	CBS 250.31		DQ220450
<i>Trichophaea saccata</i>		Royaume-Uni	CBS 804.70		DQ220451
<i>Sphaerospora hinnulea</i>		Norvège	F-55022 (C)		DQ220431
<i>Sphaerospora brunnea</i>		République dominicaine	DHP DR.02.16 (FH)		DQ220432
<i>Sphaerospora brunnea</i>		USA	KH.03.04 (FH)		DQ220433
<i>Trichophaea hemisphaerioides</i>		USA	KH.04.54 (FH)		KC012710
<i>Trichophaea hemisphaerioides</i>		USA	KH.97.31 (FH)		DQ220457
<i>Trichophaea hybrida</i>		USA	KH.04.39 (FH)		DQ220454
<i>Trichophaea hybrida</i>		Islande	AMNH-49682		DQ220455
<i>Trichophaea cf. hybrida</i>		Colorado, USA	KH.04.39 (FH)	DQ200834	
<i>Trichophaea gregaria</i>		USA	DHP 30.VIII.2000 (FH)		DQ220453
<i>Trichophaeopsis tetraspora</i>		Danemark	F-47525 (C)		DQ220463
<i>Trichophaeopsis bicuspis</i>		USA	NSW 8316 (OCS)		DQ220461
<i>Paratrachophaea boudieri</i>		USA	BAP 481		DQ220402
<i>Trichophaea flavobrunnea</i>	<i>Cupressus</i> (rameaux morts)	Ile de Ré, France	NV 2006.12.08	KY024697	KY024698
<i>Trichophaea pseudogregaria</i>		France	NV 2013.08.71	Non enregistrés	
<i>Chaetothiersia vernalis</i>		USA	BAP 492 (FH)		DQ220403
<i>Chaetothiersia vernalis</i>		USA	DHP 18.5.1986 (FH)		DQ220401
<i>Anthracobia macrocystis</i>		USA	KH04042003-9		NG_027605

- le groupe Ia correspondrait à un taxon mycorhizant « exclusivement » avec le chêne pubescent (*Quercus pubescens*) ;
- le groupe Ib à un taxon mycorhizant « préférentiellement » avec le charme-houblon (*Ostrya carpinifolia*), accessoirement avec le chêne pubescent (*Q. pubescens*) ;
- le groupe IIa à un taxon mycorhizant « préférentiellement » avec le noisetier (*Corylus avellana*), accessoirement avec le chêne pubescent (*Q. pubescens*) ; la séquence DQ220459 d'après une récolte sous bouleau (*Betula* sp.) pourrait constituer un groupe distinct ou un sous-groupe IIc.
- le groupe IIb (non représenté sur la fig. 1 car basé uniquement sur des séquences ITS) à un taxon mycorhizant le chêne à feuille ronde (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) ;
- un groupe III se dessine, qui pourrait concerner un taxon lié aux saules (*Salix*).

On notera également la présence de trois branches isolées, l'une à proximité du groupe Ia, issue d'une récolte réalisée sous hêtre (*Fagus sylvatica*), une autre s'insérant après le groupe III, provenant d'une récolte sous aulne blanc (*Alnus incana*) et enfin une branche relative à *Trichophaea dougoudii*.

Pour l'essentiel il s'agit d'hypothèses de travail qui nécessiteraient un séquençage plus approfondi de récoltes identifiées sous le nom *T. woolhopeia* et pour lesquelles les données d'habitat seraient maîtrisées ou, pour le moins, connues. On ne peut pas exclure non plus une certaine plasticité de mycorhization de certains taxons (voir par exemple groupes Ib et IIa).

En tout état de cause, à ce stade, il n'est pas possible de déterminer quel clade représente le vrai « *T. woolhopeia* », car un travail de révision des récoltes doit être mené pour tenter de trouver des différences microscopiques mesurables et établir quel groupe représente le mieux l'espèce-type. À ce sujet, la collection-type de *T. woolhopeia* (conservée dans l'herbier des Royal Botanical Gardens, Kew, numéro K(M) 30471), compte tenu de son ancienneté et de son

état (B. AGUIRRE-HUDSON, comm. pers.), est probablement non utilisable pour une extraction d'ADN avec succès, ouvrant alors la question de désigner ou non un épitype pour disposer d'un matériel exploitable génétiquement. C'est d'autant plus critique, dans le cas présent, que la récolte-type provient d'une place brûlée et que, à notre connaissance, aucune récolte moderne sur ce substrat n'a été documentée. Nous estimons néanmoins peu probable que notre récolte alpine puisse être reliée à « *T. woolhopeia*-type », la récolte princeps ayant été réalisée à Downton (Wiltshire, sud de la Grande-Bretagne), dans une région planitiaire, et de surcroît sur charbonnière.

## Systématique

Le genre *Trichophaea* a été publié par BOUDIER (1885) pour intégrer des discomycètes operculés présentant des « poils du réceptacle longs et aigus, [à] spores le plus souvent garnies de gouttelettes intérieures, [à] hyménium blanchâtre ou glauque. » et classés, à son époque, dans la famille des Ciliariés, à côté notamment du genre *Ciliaria* Boud. (actuellement *Scutellinia* (Cooke) Lambotte). BOUDIER (1907: 60) précise les contours du genre, notamment sur la forme des apothécies (« réceptacles non cupuliformes mais épais et lenticulaires ») et y inclut 22 taxons. En application de l'article 9 du Code de nomenclature (McNEILL *et al.*, 2012), l'espèce-type est *Peziza woolhopeia* Cooke & W. Phillips, seul taxon cité explicitement par BOUDIER (1885) dans son nouveau genre *Trichophaea*. Il n'a fait l'objet d'aucune monographie, même si l'article de BRONCKERS (2003) peut constituer une référence utile pour aborder le genre.

Grâce aux travaux de phylogénie moléculaire conduits par PERRY *et al.* (2007), HANSEN *et al.* (2013), confirmés aussi par PERIĆ *et al.* (2015), le caractère paraphylétique du genre *Trichophaea* a été démontré. Les analyses conduites ici le confirment une nouvelle fois. Cela signifie que l'ensemble des espèces connues de *Trichophaea*



Fig. 2 – *Trichophaea dougoudii* - holotype. Photo : R. Dougoud

sont réparties de manière hétérogène sur plusieurs lignées évolutives. Dans ce contexte, seuls les taxons placés dans la même lignée que l'espèce type peuvent théoriquement se voir appliquer ce nom de genre. C'est le cas de l'espèce que nous présentons dans cette note, justifiant le nom de genre utilisé.

Sans entrer dans une discussion approfondie sur la position des autres espèces actuellement placées dans le genre *Trichophaea*, on peut noter que l'arbre représenté sur la figure 1 fait ressortir quelques éléments intéressants :

- les récoltes attribuées à *Trichophaea gregaria* ressortent de manière groupée, mais sur des branches distinctes, laissant supposer qu'il s'agit là encore d'un complexe d'espèces dans lequel devraient se trouver *T. gregaria* et ses différentes « formes », *T. pseudogregaria* (Rick) Boud. et *T. variornata* Korf & W.Y. Zhuang ;

- *Trichophaea hemisphaerioides* (Mouton) Graddon ressort également isolé, tout comme *T. flavobrunnea* (Richon) Priou, Perić, Van Vooren & Hairaud, sans que l'on puisse déterminer précisément quel traitement taxinomique leur apporter dans l'immédiat ;

- deux groupes se distinguent à la base de notre arbre, ayant en commun des taxons considérés comme pyrophiles, l'un contenant les espèces à ascospores sphériques, du genre *Sphaerospora* (Svrček) Svrček & Kubička, et celles dont le stade asexué est de type sphaerospora (*T. minuta* (Cain) Korf et *T. saccata* (H.C. Evans) Korf), l'autre groupe contenant des récoltes de *T. abundans* (P. Karst.) Boud. à spores fusoides. La robustesse de ce clade reste à éprouver en séquençant de nouvelles récoltes, notamment d'espèces jugées proches comme *T. contradicta* (Seaver) H.J. Larsen (DOUGOUD, 2004).

Il reste donc encore du travail à effectuer pour proposer une nouvelle systématique du genre *Trichophaea s. lato*, une des premières étapes étant de fixer une définition moderne de *T. woolhopeia* au plus près de celle M.C. Cooke et W. Phillips. Elle fera l'objet d'une prochaine note.

## Taxinomie

*Trichophaea dougoudii* Van Vooren, sp. nov. – MB 818592.

**Diagnose :** *A Trichophaea woolhopeia differt sporis minus latis et majoribus atque habitatione alpina. Holotypus NV 2015.08.13 in herbario LY conservatus.*

**Étymologie :** en hommage à notre collègue et ami suisse René Dougoud pour l'ensemble de sa contribution à l'étude des discomycètes.

**Apothécies** sessiles, discoïdes, mesurant 1,5–2,5 mm de diamètre, à hyménium grisâtre pâle, avec quelques reflets bleutés, à marge couverte de poils bruns, courts ; surface externe grisâtre, parsemée de petits poils.

**Excipulum médullaire** et **sous-hyménium** non différenciés, de *textura intricata*, à hyphes hyalines. **Excipulum ectal** de *textura angularis*, à cellules larges de 15–42 µm, à paroi plus ou moins colorée de brun, notamment dans la zone la plus externe. **Poils marginaux** 60–220 (330) × 7–23 µm, superficiels, de formes variées, certains très courts, clavés, d'autres plus élancés, mais à base généralement élargie, cloisonnés, à paroi épaisse de 1,5–3 µm, sinueuse. **Poils externes** identiques, généralement un peu plus courts. **Asques** cylindrés, 230–310 × 18–20 µm, courtement atténués à la base, avec crochets, operculés, octosporés, inamyloïdes. **Paraphyses** hyalines, non élargies au sommet, de 4–4,5 µm de diamètre, sans vacuole. **Ascospores** ellipsoïdes ou largement ellipsoïdes, (21,5) 23–26 (27) × (14) 16–19 µm, X = 25,2 × 17,3 µm, Q = 1,3–1,7 [Qm = 1,5], lisses, à paroi épaisse d'environ 1 µm, contenant une grosse guttule centrale ou un peu excentrée, parfois accompagnée d'autres plus petites, mais peu nombreuses.

**Habitat et récolte :** plusieurs spécimens, au sol, parmi des déchets de plantes, humides, en compagnie de *Scutellinia hyperborea* T. Schumach., à l'étage alpin, au lieu-dit « Pont de la Neige », Bonneval-sur-Arc (Savoie, France), alt. 2520 m, N 45,40652 E 7,02843, le 24 août 2015 ; herb. NV 2015.08.13 (LY, holotype). Très probablement associé à *Bistorta vivipara*.

**Autre matériel étudié :** *Trichophaea woolhopeia (s. lato)*. — FRANCE. Au sol, sur terrain sablonneux, dans le ruisseau de Vergetolle, à Châteauvieux-les-Fossés (Doubs), alt. 355 m, le 17 août 2005 ; herb. pers. NV 2005.08.11. Sur la terre nue, au bord d'un ruisseau, sous *Fraxinus excelsior*, avec chênes (*Quercus*) et charmes (*Carpinus betulus*) à proximité, Cerqueminal, La Tour-de-Salvagny (Rhône), alt. 525 m, le 5 octobre 2006 ; herb. pers. NV 2006.10.01. *Idem*, le 1<sup>er</sup> septembre 2007 ; herb. NV 2007.09.02. Au sol, sur terre nue à proximité d'un écoulement d'eau, sous *Picea abies* et *Betula sp.*, dans la tourbière du lac des Rousses, Les Rousses (Jura), alt. 1060 m, le 19 septembre 2007 ; herb. pers. NV 2007.09.29. Au sol, sur terrain calcaire, près d'un ruisseau, sous *Fraxinus excelsior* principalement, au Grand Bois, à Amancey (Doubs), près de la source Comboyer, alt. 550 m, le 17 août 2011 ; herb. pers. NV 2011.08.12. Au sol, dans une ornière de chemin agricole, à Sedzere (Pyrénées-Atlantiques), Carrère, leg. B. Jeannerot, le 20 août 2011 ; herb. pers. NV 2011.08.36. Au sol, sur terrain sablonneux, sous *Alnus incana*, à proximité d'une rivière, la Tétraz, Beaufort (Savoie), alt. 1000 m, le 28 août 2013 ; herb. pers. NV 2013.08.51. Au sol, sur un chemin forestier, à proximité d'épicéas (*Picea abies*), au col du Pré, Beaufort (Savoie), alt. 1635 m, le 29 août 2013 ; herb. pers. NV 2013.08.57. Au sol, dans un fourré humide, avec *Betula sp.* et *Salix sp.*, à Piau-Engaly, Aragnouet (Hautes-Pyrénées), alt. 1895 m, leg. B. Jeannerot & N. Van Vooren, le 28 août 2014 ; herb. pers. NV 2014.08.30. Au sol, sur terre nue, sous hêtre (*Fagus sylvatica*) dominant, dans le bois du Marilhou, secteur de Cotteughe, Le Vaulmier (Cantal), alt. 1145 m, le 26 septembre 2014 ; herb. pers. NV 2014.09.52. SUISSE. Au sol, près d'un cours d'eau, en forêt de Berley, Les Arbogues, Montagny, alt. 525 m, leg. R. Dougoud & N. Van Vooren, le 30 juin 2013 ; herb. pers. NV 2013.06.37.

**Commentaires :** le premier examen microscopique a tout de suite confirmé que cette récolte se rapportait au genre *Trichophaea*. Nous avons également noté une convergence des caractères microscopiques avec *T. woolhopeia*, espèce assez commune et connue depuis longtemps (COOKE, 1877). On trouvera des représentations ou descriptions de cette dernière dans COOKE (1879, fig. 404), BOUDIER

**Tableau 2** – Dimensions sporales de *Trichophaea woolhopeia* fournies par différents auteurs

Auteurs	Taille des spores (en µm)
COOKE (1879)	20–22 × 13–15
BOUDIER (1904-1910)	18–23 × 13–14
MAAS GEESTERANUS (1969)	18,7–22,6 × 13,8–15,5
DISSING & RAITVIIR (1973)	19,8–23,1 × 13,2–15,8
DENNIS (1978)	20–22 × 13–15
ENGEL & SVRČEK (1983)	18,3–21,2 × 15
BREITENBACH & KRÄNZLIN (1984)	21–22 × 13–15
CETTO (1993)	21–22 × 13–15
BALLARÀ (1995)	19,5–22 (24) × 15–17,5 (18,5)
YAO & SPOONER (1996)	20–23 × 13–16
DISSING (2000)	20–22,5 × 16–18
DOUGOUD (2001)	20–22 × 13–15
BRONCKERS (2003)	(18) 20–24 × 13–16 (17)
MEDARDI (2006)	18–21 × 13–14,5
<i>Nos récoltes</i>	(16) 18–21 × (12,5) 14–16

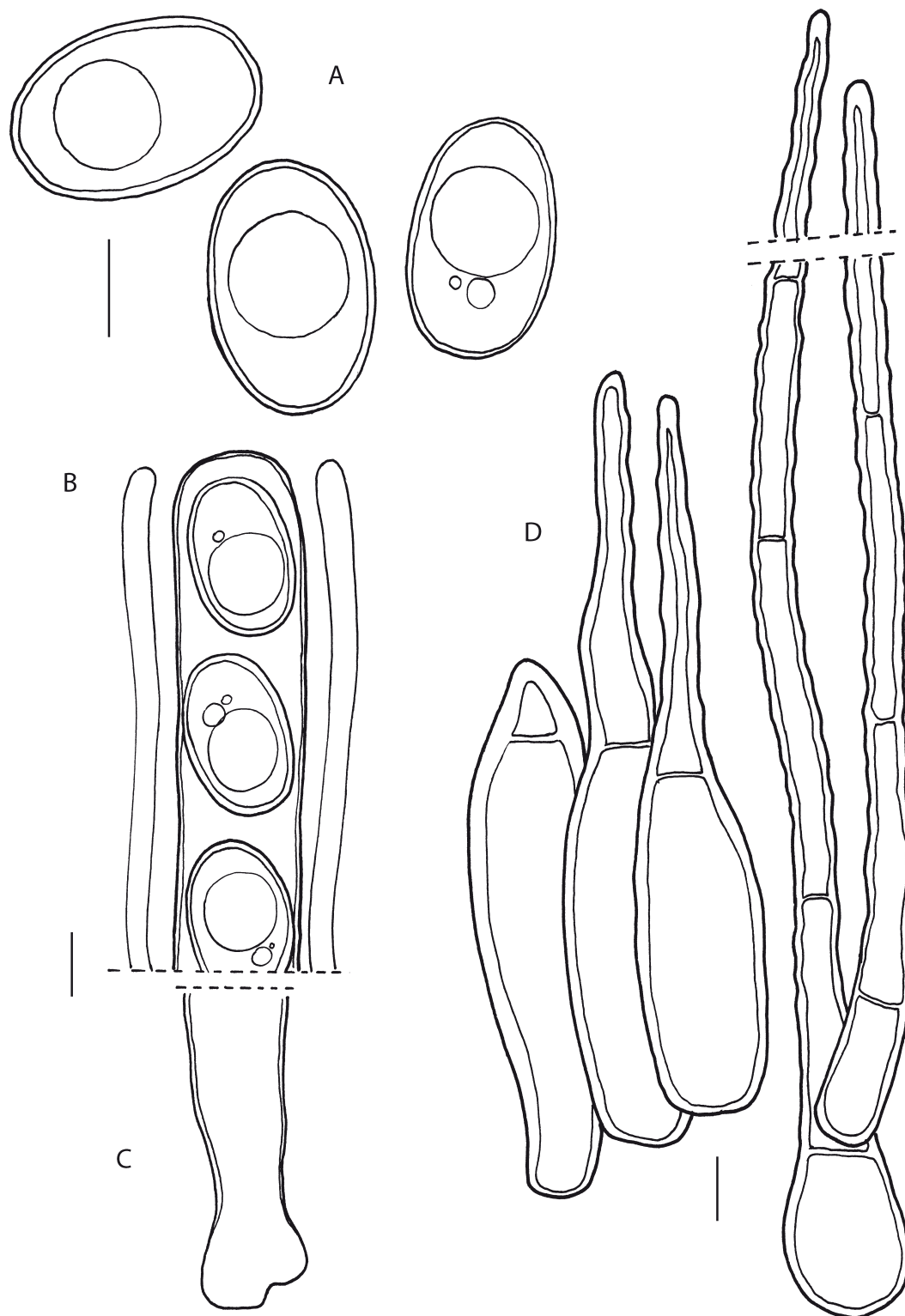
(1904-1910, pl. 365), MAAS GEESTERANUS (1969 : 47 et fig. 93-95), BREITENBACH & KRÄNZLIN (1984, n° 76), BALLARÀ (1995 : 3), BRONCKERS (2003 : 18), CETTO (1993, n° 2925), MEDARDI (2006 : 294) et VAN VOOREN (2006 : 16 ; 2014 : 106-107 et 168). Cependant, chez *T. woolhopeia* les spores sont plus petites, dépassant rarement les 21 µm de long d'après nos propres récoltes (22-23 µm selon la littérature), avec un rapport Q autour de 1,3 leur donnant un aspect plus arrondi par rapport à celles de notre récolte où ce rapport est de 1,5, voire de 1,7 sur certaines spores. Associés à une écologie alpine, ces caractères

nous paraissent suffisants pour isoler notre récolte par rapport à celles que nous avons étudiées jusqu'à présent.

Le tableau 2 donne un comparatif des tailles de spores indiquées par certains des auteurs cités.

## Remerciements

Je remercie en premier lieu les responsables du Parc national de la Vanoise, en particulier Thierry Delahaye, pour avoir autorisé nos



**Fig. 3 – *Trichophaea dougoudii* - caractères microscopiques.**

A. Ascospores. B. Sommet d'asque et de paraphyses. C. Base d'asque. D. Poils marginaux. Tous les caractères vus dans l'eau. Barres d'échelle = 10 µm. Dessin : N. Van Vooren.

prospections dans le parc et apporté leur concours financier dans l'organisation de la session mycologique « Ascomycota Zone Alpine » sous l'égide de la FMBDS. Le séquençage a été financé par l'association Ascomycete.org et réalisé par le laboratoire Alvalab. Merci ensuite à René Dougoud pour sa photographie réalisée pendant la session, à Begoña Aguirre-Hudson (herbier des Royal Botanical Gardens, Kew) pour les données relatives à l'holotype de *Trichophaea woolhopeia* et à Pierre-Arthur Moreau pour ses conseils avisés concernant nos données phylogénétiques et la relecture du manuscrit. Merci enfin à Alain Favre pour la traduction de la diagnose en latin.

## Bibliographie

- ANISIMOVA M. & GASCUEL O. 2006. — Approximate likelihood-ratio test for branches: A fast, accurate, and powerful alternative. *Systematic Biology*, 55 (4) : 539-552.
- BALLARÀ J. 1995. — Alguns ascomicets interessants dels Pirineus catalans. *Revista catalana de micologia*, 18 : 1-8.
- BOUDIER E. 1885. — Nouvelle classification naturelle des discomycètes charnus connus généralement sous le nom de Pézizes. *Bulletin de la Société mycologique de France*, 1 : 91-120.
- BOUDIER E. 1904-1910. — *Icones mycologicae*, ou Iconographie des champignons de France. Paris, Paul Klincksieck, 4 vol.
- BOUDIER E. 1907. — *Histoire et classification des discomycètes d'Europe*. Paris, Paul Klincksieck, 222 p.
- BREITENBACH J. & KRÄNZLIN F. 1984. — *Champignons de Suisse*. Tome 1. Les Ascomycètes. 2<sup>e</sup> édition. Lucerne, Mykologia, 310 p.
- BRONCKERS R.J.C. 2003. — Een sleutel tot de Europese soorten van de genera *Trichophaea*, *Trichophaeopsis*, en *Paratrachophaea*. *Sterbeekia*, 23 : 9-27.
- CETTO B. 1993. — *I funghi dal vero*. Vol. 7. Trento, Saturnia, 758 p.
- COOKE M.C. 1877. — New British fungi [cont.]. *Grevillea*, 6 (38) : 71-76.
- COOKE M.C. 1879. — *Mycographia, seu icones fungorum*. Figures of fungi from all parts of the world, drawn and illustrated: Discomycetes. Fasc. 6. London, Williams and Norgate.
- DENNIS R.W.G. 1978. — *British Ascomycetes*. Vaduz, J. Cramer.
- DEREEPER A., GUIGNON V., BLANC G., AUDIC S., BUFFET S., CHEVENET F., DUFAYARD J.-F., GUINDON S., LEFORT V., LESCOT M., CLAVERIE J.-M. & GASCUEL O. 2008. — Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Research*, 2008 Jul 1; 36 (Web Server issue) : W465-469.
- DISSING H. 2000. — *Pezizales*. In: HANSEN L. & KNUDSEN H. *Nordic Macro-mycetes*. Vol. 1. Ascomycetes. Copenhagen, Nordsvamp, 309 p.
- DISSING H. & RAITVIIR A. 1973. — Discomycetes of Middle-Asia. II. *Thelebolaceae*, *Ascobolaceae*, *Pyronemataceae* and *Pezizaceae* from the Tien-Shan Mountains. *Eesti NSV Teaduste Akadeemia Toimetised, Biologia*, 22 (2) : 124-131.
- DOUGOUD R. 2001. — Clé des espèces carbonicoles. *Documents mycologiques*, 30 (120) : 15-29.
- DOUGOUD R. 2004. — *Trichophaea contradicta* (Seaver) H.J. Larsen. *Documents mycologiques*, 33 (132) : 25-30.
- DOUGOUD R. 2013. — Contribution à l'étude des Discomycètes. Version 2013. *Ascomycete.org*, 5 (2) : 63-89.
- ENGEL H. & SVRČEK M. 1983. — Pilzneufunde in Nordwestoberfranken und seinen angrenzenden Gebieten 1982, II. Teil (Ascomycetes). *Die Pilzflora Nordwestoberfrankens*, 7 : 34-60.
- 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.
- HANSEN K., PERRY B.A., DRANGINIS A.W. & PFISTER D.H. 2013. — A phylogeny of the highly diverse cup-fungus family *Pyronemataceae* (Pezizomycetes, Ascomycota) clarifies relationships and evolution of selected life history traits. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67 (2) : 311-335.
- MAAS GEESTERANUS R.A. 1969. — De fungi van Nederland. 2b. *Pezizales – deel II (Ascobolaceae, Humariaceae, Pyronemataceae, Sarcoscyphaceae, Thelebolaceae)*. *Wetenschappelijke Mededelingen van de Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging*, 80 : 1-84.
- MCCNEILL J., BARRIE F.R., BUCK W.R., DEMOULIN V., GREUTER W., HAWKSWORTH D.L., HERENDEEN P.S., KNAPP S., MARHOLD K., PRADO J., PRUD'HOMME VAN REINE W.F., SMITH G.F., WIRSEMA J.H. & TURLAND N.J. 2012. — *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code)*. Regnum Vegetabile 154. Königstein, Koeltz Scientific Books, 208 p.
- MEDARDI G. 2006. — *Atlante fotografico degli Ascomiceti d'Italia*. Trento, A.M.B., Fondazione Centro Studi micologici, 454 p.
- PERIĆ B., VAN VOOREN N., HEALY R. & LAZAREVIĆ J. 2015 [2014]. — Une *Trichophaea* rare récoltée en France et au Monténégro : *T. flavobrunnea* comb. nov. (Pezizales). *Mycologia Montenegrina*, 17 : 65-87.
- PERRY B.A., HANSEN K. & PFISTER D.H. 2007. — A phylogenetic overview of the family *Pyronemataceae* (Ascomycota, Pezizales). *Mycological Research*, 111 (5) : 549-571.
- RUBINI A., BELFIORI B., PASSERI V., BACIARELLI FALINI L., ARCIONI S., RICCIONI C. & PAOLOCCI F. 2011. — The AD-type ectomycorrhizas, one of the most common morphotypes present in truffle fields, result from fungi belonging to the *Trichophaea woolhopeia* species complex. *Mycorrhiza*, 21 (1) : 17-25.
- SCHOCH C.L., SEIFERT K.A., HUHNDORF S., ROBERT V., SPOUGE J.L., LEVESQUE C.A., CHEN W. & Fungal Barcoding Consortium. 2012. — Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.*, 109 (16) : 6241-6246. doi: 10.1073/pnas.1117018109.
- TEDERSOO L., HANSEN K., PERRY B.A. & KJØLLER R. 2006. — Molecular and morphological diversity of pezizalean ectomycorrhiza. *New Phytologist*, 170 (3) : 581-596.
- VAN VOOREN N. 2006. — Ascomycètes, saison 2005. *Bulletin mycologique et botanique Dauphiné-Savoie*, 183 : 11-24.
- VAN VOOREN N. 2014. — Contribution à la connaissance des Pézizales (Ascomycota) de Rhône-Alpes – 2<sup>e</sup> partie. *Cahiers de la FMBDS*, 4 : 1-172.
- 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.
- 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*. New York, Academic Press : 315-322.
- YAO Y.J. & SPOONER B.M. 1996. — Notes on British species of *Trichophaea*. *Mycological Research*, 100 (7) : 798-800.
- ZWICKL D.J. 2006. — *Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion*. Ph. D. Thesis. Austin, The University of Texas.



**Nicolas Van Vooren**

36 rue de la Garde  
69005 Lyon  
France  
nicolas@vanvooren.info