

PEZIZA MARTINI sp. nov.

DE LA SECTION VIOLACEAE sect. nov. DU SOUS-GENRE GALACTINIA (COOKE) DONAD.

par J.C. DONADINI *

MOTS-CLES (ŝlosilvortoj / key words)

Microscopie électronique à balayage (porsupraĵa elektrona mikroskopio / scanning electronic microscopy), cytologie (citologio / cytology), taxonomie (taksonomio / taxonomy), écologie (ekologio / ecology), phylogénie (filogenio / phylogeny), Ascomycètes, Discomycètes, *Peziza*, étude des asques (studo de askoj / ascus study).

RESUME

Un *Peziza* nouveau, *Peziza martini*, proche de *Peziza subviolacea*, est décrit et comparé aux *Peziza* de la section *violaceae*, section nouvelle du sous-genre *Galactinia*. Une nouvelle technique de scanning est utilisée.

SUMMARY

A new *Peziza*, *Peziza martini* sp. nov. is here described and compared with the other *Peziza* belonging to section *violaceae* sect. nov. of the subgenus *Galactinia*; i.e. *P. lobulata*, *P. subviolacea*, *P. sublilacina*, ... A new technique for scanning and ascus study is used.

RESUMO

Nova *Peziza*, *P. martini*, afina al *P. subviolacea*, estas priskribita kaj komparita kun la aliaj *Peziza* de la sekcio *Violacea* sect. nov. el la subgenro *Galactinia*. Nova studmetodo de la askoj per porsupraĵa elektrona mikroskopio estis uzata.

1 - INTRODUCTION

En décembre 1983, nous découvriions à la Penne-sur-Huveaune (Bouches-du-Rhône, Marseille, France) un *Peziza* nouveau que nous baptisions *Peziza martini* en hommage à notre ami Paul MARTIN, et dont nous parlions déjà dans notre dernier article qui a paru dans ce bulletin (Etude des Discomycètes, I). Nous n'avions pas publié cette espèce car la description n'aurait pas été digne de notre ami. Aujourd'hui, nous le pouvons. Bien qu'imparfaite, nous estimons la description de cette espèce meilleure que toutes celles que nous avons faites jusqu'à présent sur le genre *Peziza*.

* Laboratoire de Chimie générale, Université de Provence, Centre Saint-Charles, Place V. Hugo, 13331 Marseille Cedex 3.

Le "terrible hiver" que nous venons de subir nous a empêché d'améliorer la description de cette espèce car elle n'a pas repoussé au moment où nous écrivons cet article. Notre étude cytologique - dont nous décrivons les techniques par ailleurs - n'a été au point que trois mois après la découverte de ce nouveau champignon. Néanmoins, nous avons commencé avec cette espèce à utiliser des techniques jamais employées tant en cytologie qu'en microscopie à balayage (scanning).

2 - HABITAT - ECOLOGIE

Peziza martini pousse sur terre nue argilo-calcaire (pH = 7,5 environ) en compagnie de *Peziza subviolacea*, *Helvella leucomelaena* (à ses débuts), *Sepultaria arenicola*, *Sepultaria arenosa*, *Geopora clausa*, *Genea verrucosa*, *Greletia ovalispora*, ... de décembre à février. La station est située à l'ombre, dans une clairière d'une garrigue clairsemée typique de la région : *Quercus ilex*, *Q. coccifera*, *Pinus halepensis*, *Cistus albidus*, ... L'altitude est d'environ 50 m (lieu-dit Les Arcades); le terrain un peu pentu permet aux eaux de pluie d'inonder la station (ruissellement).

3 - DESCRIPTION MACROSCOPIQUE

Petite espèce ne dépassant pas 8 mm de diamètre. Subpatelliforme au début ou déjà convexe-pachyelloïde. Très rapidement pulvinée (fig. 2 et 8). Hyménium de couleur très voisine de celle de *Peziza subviolacea* : violet sombre à violet clair passant lentement à l'ochracé. Excipulum blanc grisâtre, très souvent mâculé de terre sauf à la marge. Les cinquante exemplaires récoltés sont macroscopiquement presque identiques.

4 - DESCRIPTION MICROSCOPIQUE

- Hyménium d'environ 230 µm.
- Spores 14-16 x 8-10, moyenne 15 x 9 µm, biguttulées (guttules de 3 µm environ), uninucléées, à ornementation cyanophile, visible en coupe optique ; verrues régulières de 1 µm environ, équiréparties ou non, pouvant composer deux systèmes verruqueux imbriqués (verrues "grosses" et petites : voir fig.5 et pl. 23-24).
- Paraphyses relativement épaisses, 3 µm de diamètre, un peu fortouliennes à la base, 5 µm; élargies jusqu'à 11 µm à l'apex, le plus souvent 5 à 7 µm; divisées une ou deux fois. Un pigment brun violacé cyanophile est présent sous forme de guttules essentiellement à l'apex. La cytologie (fig.7) montre que le dernier article contient de 6 à 12 noyaux suivant sa taille (bleu de méthylène), apparemment plus que pour les mêmes articles chez *P. subviolacea*. Nous avons retrouvé des résultats comparables avec Giemsa-HCl; les paraphyses étaient trop colorées et les noyaux mal visibles car les champignons ont été conservés secs ou dans le fixateur de Bouin-Hollande. Nous reprendrons cette étude plus tard.
- Asques : environ 220 (175-250) x 14-16 µm, cylindriques, amincis à la base. Mode de formation pleurorhynque sans lumière, classique chez les *Peziza*. Spores juvéniles souvent présentes.
- Chair : description assez difficile correspondant au type (fig.1 et planches photographiques phototoniques) car très variable du fait du fortoulisme de chair évident. Un autre type est décrit par

les figures 3 et 4.

- Sous-hyménium : *textura globulosa angularis*, voire *intricata*, à cellules 15-20 μm au maximum ou 20 x 10, le plus souvent 8-10 μm .
- Excipulum médullaire : d'apparence générale *globulosa*, mais en fait deux textures se superposent : *globulosa* et *intricata*. Les cellules globuleuses du haut ont de l'ordre de 40 μm de diamètre; elles dépassent 60 μm au centre où l'on trouve également des cellules atteignant 110 x 90 μm ; d'orientation d'abord quelconque, parallèle à l'hyménium ou non, puis nettement orientées vers le bas, elles sont séparées par des faisceaux d'hyphes cylindriques à articles plus ou moins renflés (allantoïdes quelquefois, boudinés), ce qui fait penser à une *textura intricata*. Exemple d'article : 45 x 17 μm . Souvent, les "globules" font partie des faisceaux. Vers le bas, les articles sont beaucoup plus tortueux et plus longs, 40-160 x 4-6 μm ; ils composent toujours des *texturae intricatae* très localisées orientées vers le bas comme les cellules. Enfin, vers le "stipe enterré" (plus ou moins présent au sens propre du terme : *subiculum*), on trouve encore des articles plus courts, 40-70 x 6-7 μm boudinés, mais surtout une *textura angularis*, articles 10-25 x 6-8 μm plus ou moins *globulosa*, avec cellules de 12 à 20 μm .
- Marge : *angularis* vers le haut; articles terminaux analogues à ceux des paraphyses, mais plus courts et plus larges. Un exemple : article de 22 x 16 suivi d'un article 16 x 11 et terminé par un article "en massue" 10 x 8 μm (article terminal); ce dernier article peut être plus mince (fig. 4) ou plus épais 11 x 10 μm . Ceci implique que les articles du bas tendent vers une texture globuleuse - cellules de 15 à 25 μm) - globale.

5 - DISCUSSION TAXONOMIQUE - LA SECTION *VIOLACEAE* sect.nov.

Cette espèce est voisine de *Peziza subviolacea* Svrček (= *P. praetervisa* Bres. ss. Dennis = *P. violacea* Pers. ss. nostro) par son pigment et surtout par ses spores verruqueuses, biguttulées. La chair de *P. subviolacea* est tristratifiée (*globulosa angularis*-*intricata*-*globulosa angularis*) et elle ne présente pas de fortoulisme. Nous rappelons que ces deux espèces poussent au même endroit dans les mêmes conditions. Elle est aussi voisine de *P. lobulata* Vel. (= *Aleuria violacea* Boud.) qui a des spores lisses mais deux guttules dans la jeunesse ainsi que de *P. howsei* à spores plus allongées mais verruqueuses et biguttulées. Toutes ces caractéristiques en commun nous ont incité à créer une nouvelle section du sous-genre *galactinia*, la section *Violaceae* sect.nov. qui comprendra, pour le moment, les cinq espèces : *P. martini*, *P. lobulata*, *P. subviolacea*, *P. sublilacina* et *P. howsei*. Nous avons gardé la "racine" *violacea* en hommage à PERSON.

6 - ONTOGENESE DE L'APPAREIL APICAL

Matériel frais

Lumière polarisée

La paroi de l'asque se montre double : l'exoascus plus réfringent et l'endoascus plus épais. A l'extérieur, le gélin ascéal se continue au sommet par le périascus. Chez le jeune asque, l'épaisseur est uniforme tout au long de l'asque. Dès que le noyau diploïde a migré vers le sommet où se produira la sporogénèse, la partie apicale s'épaissit notablement et il apparaît une indentation (flèche), premier signe de l'élaboration de l'opercule dont la partie centrale est épaisse et au moins bistratifiée. L'étude de l'indentation et de la zone qui l'entoure montre une discontinuité qui sera

la zone de fracture (fig. 6).

Rouge congo

Il met en évidence la couche externe (exoascus) qu'il colore en rouge, ce qui confirme les observations précédentes. Avec l'aide de la lumière polarisée, on peut voir, au début de la sporogénèse, un plissement de la paroi interne (endoascus) (fig. 6-1).

Iode Melzer

Le périascus ne se colore en bleu que lorsque le noyau diploïde est "au sommet". On peut remarquer que, chez le jeune asque, il apparaît une discontinuité de coloration au centre du sommet de l'asque; un "bouchon" apical est coloré en brun (fig. 6-1 et 6-3) qui disparaît ensuite. A maturité, le périascus a gonflé et le bleuissement, très intense à l'apex, s'étend sur 5 à 8 μm de hauteur. D'autre part, il y a un bleuissement diffus tout au long de l'asque et la paroi double voit sa strate infère colorée en bleu clair (fig. 6-4).

Rouge congo ammoniacal

Il permet de gonfler le périascus (fig. 6-5). A maturité, l'apex pourrait être tristratifié avec une couche intermédiaire très mince. Il apparaît une discontinuité de coloration.

Eosine, eau (fig. 6-6)

Le périascus est incolore, peu gonflé à maturité; l'exoascus est coloré en jaune fluorescent. L'observation en lumière polarisée à l'extinction montre une discontinuité très nette au-dessus de l'indentation, pratiquement comme si on avait posé un couvercle (opercule) sur l'ascostome.

Matériel fixé dans Bouin-Hollande, traité par HCl 2N (24 h), puis coloré par Giemsa

Nous avons étudié les asques avec cette technique afin de comprendre nos observations de l'hyménium au scanning. Il n'y a plus de réaction au melzer car "l'amidon" (polysaccharides) a été hydrolysé. Une "tunique" interne est colorée en bleu par le Giemsa; il se peut également que ce soit la membrane séparant la paroi s.s. de l'asque de l'ascoplasme (plasmalemme + film interne au sens de BELLEMERE - CHADEF AUD). Chez les jeunes asques (fig. 6-7), cette membrane est continue et forme une "chambre sous-apicale". Chez certains asques, on peut repérer (fig. 6-8) : soit cette paroi qui s'effiloche mais est épaissie à l'apex; une "excroissance" de la "tunique externe" au centre de l'apex constitué d'au moins deux strates : la strate inférieure est bleu clair et les spores non ornées; soit un apex bistratifié avec indentation bien visible; un film interne continu qui rompt par endroit et qui entoure un "corps" réfringent lié au film. Continuité de la membrane autour de ce corps (un rapport avec l'entonnoir et le tractus de CHADEF AUD ?). On remarque alors que la zone de fracture F est nettement colorée en bleu de l'intérieur vers l'extérieur et que l'opercule est ainsi nettement délimité. La fig (6-10) montre un asque mûr : le film interne subsiste en pointillé et finit par disparaître (on ne le voit plus dans les asques vides); l'opercule, nettement délimité, est épaissi au centre mais sa tunique interne est dentelée.

Comparaison avec le microscope électronique à transmission

A notre connaissance, seuls SCHRANTZ (1970) dont nous n'avons pas la publication "bien" commentée par SAMUELSON (1978), autre "spécialiste du M.E.T.", et BRUMMELEN (1978-1981) ont étudié l'appareil apical des *Peziza* : *P. plebeia* (SCHRANTZ), *P. succosa* (SAMUELSON), *P. ammophila* et *P. succosella* (BRUMMELEN, qui dit en avoir étudié d'autres).

Nous constatons, en étudiant leurs photos et dessins, que l'accord est loin d'être parfait, surtout entre BRUMMELEN et SAMUELSON sur *Peziza succosa - succosella* (par exemple, pas d'anneau cytoplasmique sur l'indentation du *P. succosella* de BRUMMELEN); les schémas de BRUMMELEN pour *P. ammophila* et *P. succosella* sont très différents. Un seul vrai *Peziza* est étudié : *P. ammophila* (le type du genre *Peziza* est *Peziza vesiculosa*, extrêmement commun partout).

En microscopie photonique, avec des colorants, nous trouvons des résultats semblables (et peut-être meilleurs ?), plus proches du *P. succosa* de SAMUELSON. Dans la recherche des auteurs précédents, nous regrettons que la microscopie électronique ne soit pas accompagnée d'une étude chimique en microscopie photonique.

De plus, le genre *Peziza*, qui doit comprendre au moins un millier d'espèces actuellement, est très hétérogène. Il est probable, par exemple, que *P. apiculata* et ses semblables, *P. gerardi*, *P. subisabellina* doivent en être exclus.

Le scanning de l'hyménium

Nous avons balayé l'hyménium d'un exsiccatum de *P. martini* vieux d'un an, sans résultat probant. Par contre, l'étude d'un "fixatum" Bouin-Hollande lavé à l'alcool nous a donné quelques résultats que nous ne pouvons comparer à nul autre car ce genre d'étude n'a jamais été fait par d'autres que nous-même. Nous n'avons jamais étudié d'autre *Peziza* que *P. martini*; par contre, nous avons "balayé" des Operculés ou réputés tels, comme *Sepultaria arenosa*, *Geopora cooperi*, *Geopora clausa*, des pseudo-operculés comme *Sarcoscypha coccinea*, *Pseudopythiella minuscula*, *Pythia cupressina*.

Dans la littérature, on affirme que la partie apicale est rigide; c'est ce qu'on peut vérifier sur les photos M.E.B. (17-22). De plus, les asques immatures présentent ici, à l'apex, une petite dépression circulaire (fig.19) que ne présentent pas *Geopora clausa* ou *G. cooperi*. La forme même de l'apex montre qu'il y a un anneau apical rigide qui empêche l'asque de se rétracter pour épouser la forme ellipsoïdale de la spore immature comme chez les *Geopora*. Il en est de même pour les asques mûrs ou vides. Par dessiccation, un anneau apical se montre présent partout (fig.18-21-22); cet anneau n'est pas sans rappeler celui que l'on observe chez les *Pythia* et les *Sarcoscypha* au microscope photonique et au scanning (observations non publiées). De plus, la paroi des asques mûrs est nettement plus épaisse que chez les "inoperculés" hypogés tels les *Geopora*, les *Hydnocystis* ou les *Genea*. Nous avons déjà remarqué ceci chez *Peziza applanata* où l'ornementation des spores est "oblitérée" par la paroi des asques (résultats non publiés). Il est souhaitable que d'autres recherches soient entreprises dans le même sens, et nous nous y employons.

Au cours de nos investigations, en colorant par le bleu de méthylène ammoniacal, avec l'éosine ammoniacale comme contre-colorant (on peut prendre l'éosine acétique, ce qui entraîne un gradient de pH fort utile et donne de fort belles colorations), nous avons coloré les chromosomes d'un noyau diploïde (asque) que nous avons photographié (diapos); ils paraissent bleu-violet foncé. Nous avons compté $2n = 15$ (prophase méiomitotique), nous avons opté pour $n = 8$ (1984).

DIAGNOSES LATINES

Peziza martini Donadini sp.nov.

Carposomata 4-8 mm lata primum subpatelliforma deinde pulvinata. *Hymenium* violaceum vel fuscoviolaceum deinde ochraceum. *Caro* albida non succosa.

Asci 220 x 14-16 μ m cylindrati, pleurorynchi, octospori, jodo caerulescentes. *Paraphyses*, septatae, ramosae ad apices incrassatae usque ad 11 μ m, paulum incurvatae, intus granulosae plurinucleataeque.

Sporae ellipsoideae, verrucosae, biguttulatae, uninucleatae, 14-16 x 8-10 µm; verrucae cyanophilae. Caro a cellulis globulosis et hyphis intricatis composita.

In terra humida.

Typus in herbario nostro sub n° MARS-JCD 102 83 (La Penne sur Huveaune, Les Arcades, Bouches-du-Rhône, France, déc. 83).

Sectio Violaceae Donadini sect. nov.

Pezizae - Peziza subviolacea Svrček similae.

Lectotypus : Galactinia praetervisa (Bres.) Boud. in herb. Boud. (PC) = Peziza praetervisa Bres. ss. Dennis (échantillons en provenance de Fontainebleau, planche 292 des Icones Mycologicae).

L'espèce *Peziza martini* est dédiée à notre ami Paul MARTIN, président honoraire de la Société Linnéenne de Provence et membre de la Société Botanique de France. Il en fût un animateur (*ex anima*) irremplaçable. Il fût aussi le botaniste en titre de la Sainte-Baume organisée pour le Congrès Européen de Mycologie en 1975 en Avignon.

(à Madame Paul Martin et à ses amis)

Quand HUGO écrit : "Car le mot, c'est le Verbe, et le Verbe c'est Dieu", il a tort et raison à la fois, et ses discours l'ont prouvé; il parlait beaucoup avec ses mains, preuve que les mots étaient insuffisants ...

Pour parler de Paul MARTIN, il faudrait être poète et nous ne le sommes point. Le langage scientifique que nous avons employé ne peut pas décrire l'espèce *Peziza martini*, pas plus qu'un autre champignon. La vanité des mots, l'aridité et la sécheresse de la description ne peuvent que nous laisser insatisfait; il y manque le Verbe et le geste, la Geste ... la vie ! Paul MARTIN était un homme de verbe et de geste, un troubadour de la botanique. Il faisait vivre les plantes; il les créait. Ceux qui l'ont vraiment connu savent le charisme qu'il dégageait, ce que les mots ne peuvent exprimer. Si on essaie de parler de lui : "MARTIN était ...; MARTIN disait ...; MARTIN faisait ...", les mots manquent. Il y avait surtout ce regard pétillant et malicieux, et ces mains qui s'animaient si naturellement. Vous étiez subitement pris par son discours qui allait à l'essence même des plantes et des êtres. Vous étiez transportés. C'est pourquoi Paul MARTIN n'est pas mort; il est ailleurs, il est en nous. Si, par quelque belle journée, vous partez en ballade, arrêtez-vous quelques instants et tendez l'oreille : vous entendrez le vent et les herbes folles chuchoter : "Martin ... Paul ... Paul Martin ... nous sommes son coeur mais vous êtes son âme..." Non, Madame, Paul n'est pas mort.

Légende des figures : *Peziza martini*

1 et 2 - Section droite d'ascosmata (H = hyménium, de l'ordre de 200 µm).

3 - Partie de 2; grossie.

4 - Marge et excipulum; détail de 3. On remarquera les poils non signalés dans la description parce qu'ils sont souvent oblitérés.

5 - Spores dans Giemsa : 2 systèmes de verrues cyanophiles à l'extérieur, 2 guttules et le noyau haploïde en coupe optique.

6 - Apex des asques :

1. Jeune asque. En noir, l'exoascus coloré par le rouge Congo; en pointillé, le gélin interascal et le périascus.

2. Dans Melzer; début de sporogenèse; en noir, le périascus coloré en bleu par l'iode.
 3. Idem, coupe optique : centre coloré en brun.
 4. Apex à maturité dans Melzer; indentation indiquée par flèche; périascus fortement développé coloré en bleu; apex bistratifié.
 5. Rouge congo ammoniacal; périascus gonflé; l'endoascus est ici indiqué en noir, mais il est incolore; un coussinet, hachuré, est coloré en rouge comme l'exoascus figuré en blanc; indentation (flèche) bien visible.
 6. Eosine eau; opercule nettement visible délimité par les flèches (indentation).
 7. 8. 9. 10. Asques après fixation, traitement par l'acide chlorhydrique et coloration par le Giemsa. On notera que la "membrane" interne s'effiloche avec la maturité 7 -- 8 -- 9 -- 10, que l'indentation est très visible et même la fracture imminente (flèche). En 8, un prolongement conique de l'exoascus à l'intérieur de l'asque, au sommet.
- 7 - Paraphyses dans Giemsa; toutes les paraphyses sont très colorées. Les paraphyses trop colorées pour compter les noyaux sont figurées telles qu'elles apparaissent.
- 8 - Un ascoma (x 3) et son évolution dans le temps (de gauche à droite).

Légende des planches photographiques

(Scanning réalisé par DONADINI et NOTONIER à l'U.E.R. de Sciences Naturelles de l'Université de Provence)

- 1 - Ascomata
- 2 - Asque immature et asque vide dans le Melzer
- 3 - Asque mûr dans le rouge congo ammoniacal; noter que le périascus est dilaté
- 4 - Asque et paraphyse dans le bleu lactique : les spores sont verruqueuses; noter la dépression sommitale de l'asque
- 5 - Paraphyses colorées par le Giemsa; l'hydrolyse de la paroi des spores mures n'est pas réalisée. Pour les photos 1-2-3-4-5 : 10 d = 11 µm environ
- 6 - Coupe épaisse de la marge. 10 d = 50 µm
- 7 - Détail de 6. Intérieur de la marge. H -- indique la position de l'hyménium. 10 d = 25 µm
- 8 - Idem, autre section
- 9 - Sous hyménium (SH), base de l'hyménium (H) très coloré et début de l'excipulum : cellules globuleuses entourées d'hyphes (sub)cylindriques. 10 d = 25 µm
- 10 - Excipulum proche de l'excipulum ectal (E) : textura globulosa angularis. 10 d = 25 µm
- 11 - Textura intricata localisée vers le milieu de l'ascoma. 10 d = 25 µm
- 12 - Textura globulosa angularis au-dessous de la marge (autre exemplaire). Lire H = hyménium et non II. 10 d = 25 µm
- 13 - Les enchaînements tels qu'ils sont réellement : hyphes boudinées intriquées devenant de temps en temps ou assez souvent globuleuses ou "angulaires". 10 d = 11 µm
- 14 - Photo MEB (scanning d'un exsiccatum) x 40
- 15 - Idem x 100
- 16 - Hyménium x 400
- 17 - Idem x 1000
- 18 - Idem x 1600. On voit les "anneaux" apicaux des asques et l'ouverture circulaire (ascostome) d'un asque caractéristique d'un discomycète operculé; l'opercule s'est affaissé
- 19 - Sommet d'un asque immature : noter qu'il n'épouse pas la forme de l'ascospore (ellipsoïdale) et la présence d'un disque au sommet (opercule ?) x 2400
- 20 - Idem x 2600, plus ou moins englué; le bombardement électronique a d'abord provoqué une fracture circulaire.

- 21 - Deux asques vides (?) accolés : remplis de liquide ascéal ou de fixateur; anneau apical et paroi plus épaisse qu'en 20. x 2400
- 22 - Idem (détail de 18, asque "plein" de spores) x 4000
- 23 - Ensemble de spores x 2000
- 24 - Détail de 23 x 3000.

B I B L I O G R A P H I E

- BELLEMERE A., 1975 - Etude ultrastructurale des asques de la paroi, l'appareil apical ... *Physiol. Veg.*, 13 (3) : 393-406.
- DONADINI J.C., 1983 - Etude des Discomycètes (I). Critères taxonomiques des Pézizales et Tubé-
rales. *Bull. Soc. Linn. Prov.*, 35 : 53-73.
- SAMUELSON D.A., 1978 - Asci of Pezizales. 1 - The apical apparatus of iodine-positive species.
Can. J. Bot., 56 : 1860-1875.

Les autres références se trouvent dans l'article précité (DONADINI).





