

## Du novaj specioj de *Verrucariaceae* el Pyrénées–Orientales (Francio) : *Placocarpus melanophthalmosus* sp. nov. kaj *Placopyrenium breussii* sp. nov.

Deux espèces nouvelles de *Verrucariaceae* des Pyrénées–Orientales  
(France) : *Placocarpus melanophthalmosus* sp. nov.  
et *Placopyrenium breussii* sp. nov.

far Claude ROUX\* kaj Cécile GUEIDAN\*\*

\* Chemin des Vignes vieilles, F—84120 MIRABEAU. Courriel : claude.roux21@wanadoo.fr

\*\* Botany Department, The Natural History Museum, Cromwell road, UK—LONDON SW7 5BD, United Kingdom. Courriel : c.gueidan@nhm.ac.uk

**Resumo:** Priskribo de du novaj likenspecioj el la familio Verrucariaceae, *Placocarpus melanophthamatus* Cl. Roux et Gueidan sp. nov., parazita al *Rhizoplaca melanophthalma*, kaj *Placopyrenium breussii* Cl. Roux et Gueidan sp. nov., parazita al *Aspicilia calcitrapa*.

**Abstract:** Description of two new species of the lichen family Verrucariaceae, *Placocarpus melanophthamatus* Cl. Roux et Gueidan sp. nov., parasite of *Rhizoplaca melanophthalma*, and *Placopyrenium breussii* Cl. Roux et Gueidan sp. nov., parasite of *Aspicilia calcitrapa*.

Okaze de inventaro de la likenoj de la naturerezervejo de Jujols, Nohèdes kaj Nyer (Roux k al., 2011), departemento Pyrénées–Orientales, unu el ni (C.R.) malkovris du novajn speciojn de *Verrucariaceae*, studiatajn morfologie kaj anatomie far C.R., kemie (DNA) kaj kladike far C.G. Tiu ĉi artikolo celas priskribi la du speciojn, *Placocarpus melanophthalmosus* kaj *Placopyrenium breussii*.

### Metodoj

#### *Mikroskopaj kaj statistikaj metodoj*

Mikroskopaj sekcajoj mane faritaj, observitaj en akvo, akva solvajo de kalia hidroksido (je 5 %), duobla lugolo (J) kaj laktofeno-nola kotonbluo, per fotona mikroskopo (maksimuma pligrandigo

**Resumé:** Description de deux espèces nouvelles de lichens de la famille des Verrucariaceae, *Placocarpus melanophthamatus* Cl. Roux et Gueidan sp. nov., parasite de *Rhizoplaca melanophthalma*, et *Placopyrenium breussii* Cl. Roux et Gueidan sp. nov., parasite de *Aspicilia calcitrapa*.

Lors d'un inventaire des lichens de la réserve naturelle de Jujols, Nohèdes et Nyer (Roux et al., 2011) département des Pyrénées–Orientales, l'un de nous (C. R.) a découvert deux espèces nouvelles de Verrucariaceae, étudiées morphologiquement et anatomiquement par C.R., chimiquement (ADN) et phylogénétiquement par C.G. Le présent article a pour objet la description de ces deux espèces, *Placocarpus melanophthalmosus* kaj *Placopyrenium breussii*.

### Méthodes

#### *Méthodes microscopiques et statistiques*

Les coupes et préparations microscopiques ont été réalisées à main levée et observées dans l'eau, une solution de potasse à 5 %, du lugol double ou le bleu coton au lactophénol, avec un microscope photonique

de  $\times 1500$ ). Desegnoj faritaj per desegnotubo. Mezurado de morta materialo (kolektita antaŭ unu jaro) enakve observita. Koncerne la dimensiojn de la sporoj kaj konidioj, averaĝo indikita kursive, absolute ekstremaj valoroj interkrampe, ekstremaj valoroj post forigo de 10 % de la plej grandaj kaj de la plej malgrandaj valoroj kuŝas inter la averaĝa kaj la absolute ekstremaj valoroj.

### Molekularaj donitajoj kaj kladikaj analizoj

Metodoj de ekstrakto identaj al tiuj priskribitaj de GUEIDAN et al. (2007). Amplifo de la regiono ITS (ITS1–5.8S–ITS2) per la prajmoj ITS1F (GARDES k BRUNS, 1993) kaj ITS4 (WHITE et al., 1990). Aldono de unu mikrolitro da dekona aŭ centona diluado de genara DNA al la jena miksaĵo: 2,5 µl da reacia bufro 10x NH4 (*Bioline*, London, UK), 0,5 µl da dNTP (100 mM), 1,5 µl da MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 1 µl da prajmoj (10 µM), 0,5 µl de DNA-polymerazo *Bioline BioTaq* (5 U µl<sup>-1</sup>) kaj akvo ĝis totala volumeno de 25 µl. Amplifa reakcio farita per PCR-mašino *GeneAmp® PCR System 9700* (Applied Biosystem, Carlsbad, CA, USA). Post komenca ciklo de 5 min je 94 °C sekvas 35 cikloj de la tri jenaj etapoj: 1 min je 94 °C, 1 min je 53 °C kaj 2 min je 72 °C. La amplifoj finiĝas per fina ciklo de 7 mn je 72 °C. Por la PCR-produktoj havantaj multajn bendojn, klonado farita per la klonadilo *Topo TA* (*Invitrogen*, Carlsbad, CA, USA). Sekvencad-reakcioj faritaj en la Naturhistoria Muzeo de Londono per uzo de la fluoreska markilo *Big Dye* kaj per la DNA-sekvencilo *ABI 3730xl* (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA). Sekvencoj kunmetitaj kaj eldonitaj per la programo *Sequencher 4.8* (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI). Vicigoj mane faritaj per la programo *MacClade 4.08* (MADDISON k MADDISON, 2003).

Du sekvenco de ITS ricevitaj, unu de *Placocarpus melanophthalmos* (holotipo), la alia de *Placopyrenium breussii* (izotipo). La sekvenco-numeroj de GenBank kuŝas sur la kladogramoj (fig-oj 8 k 16).

Kunmeto de du donitajoj: la unua, por *Placocarpus*, ampleksanta la du speciojn de ĉi tiu genro, naŭ specimenojn de la frat-grupo *Verrucula* kaj du speciojn de *Staurothele* (*S. areolata* kaj *S. frustulenta*), uzatajn kiel ekstera grupo; la dua, por *Placopyrenium*, ampleksanta 16 specimenojn el ĉi tiu genro kaj du speciojn de *Verruculopsis* (*V. lecideoides* kaj *V. poeltiana*), uzatajn kiel ekstera grupo. Ŝparegmetoda analizo de la respondaj matricoj (589 karakteroj por *Placocarpus*, el kiuj 134 informivaj kaj 430 konstantaj; 576 karakteroj por *Placopyrenium*, el kiuj 101 informivaj kaj 428 konstantaj) per la programo PAUP 4.0b10 (SWOFFORD, 1999). En la analizoj, uzo de heŭristika metodo kun 1000 replikoj el aleatoraj adicioj de sekvenco, viciĝ-mankoj koditaj kiel 5a karaktero kaj implicita valoro por la aliaj parametraj. Taksado de la butstrap-valoroj per 1000 ripetoj de buctrapoj, ĉiu el ili kun du aleatoraj adicioj da sekvenco. Por *Placocarpus* la plej ŝpara arbo havas 219 ŝangiĝojn (fig. 8), por *Placopyrenium* 223 ŝangiĝojn.

### Nomenklaturo

La nomenklaturo sekvas la liston de Roux (2011).

(grandissement maximal de  $\times 1500$ ). Les dessins ont été réalisés avec l'aide d'un tube à dessin. Les mesures ont été effectuées sur du matériel mort monté dans l'eau (récolté un an plus tôt). Dans l'expression des dimensions des spores et des conidies, la moyenne est indiquée en italique, encadrée par les valeurs extrêmes après élimination des 10 % des valeurs les plus élevées et des 10 % des valeurs les plus faibles, tandis que les valeurs extrêmes absolues sont placées entre parenthèses.

### Données moléculaires et analyses phylogénétiques

Les méthodes d'extraction sont identiques à celles décrites par GUEIDAN et al. (2007). La région ITS (ITS1–5.8S–ITS2) ont été amplifiées au moyen d'amorces ITS1F (GARDES et BRUNS, 1993) et ITS4 (WHITE et al., 1990). Un microlitre d'une dilution de 1/10<sup>e</sup> ou 1/100<sup>e</sup> d'ADN génomique a été ajouté au mélange suivant : 2,5 µl du tampon de réaction 10x NH4 (*Bioline*, London, UK), 0,5 µl de dNTP (100 mM), 1,5 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 1 µl d'amorces (10 µM), 0,5 µl d'ADN polymerase *Bioline BioTaq* (5 U µl<sup>-1</sup>) et de l'eau pour un volume total de 25 µl. La réaction d'amplification a été effectuée sur une machine PCR *GeneAmp® PCR System 9700* (Applied Biosystem, Carlsbad, CA, USA). Après un cycle initial de 5 min à 94 °C suivent 35 cycles des trois étapes suivantes : 1 min à 94 °C, 1 min à 53 °C et 2 min à 72 °C. Les amplifications se sont terminées par un cycle final de 7 min à 72 °C. Un clonage a été effectué pour les produits de PCR présentant des bandes multiples en utilisant le kit de clonage *Topo TA* (*Invitrogen*, Carlsbad, CA, USA). Les réactions de séquençage ont été faites au Musée d'histoire naturelle de Londres en utilisant le marqueur fluorescent *Big Dye* et un séquenceur d'ADN *ABI 3730xl* (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA). Les séquences ont été assemblées et éditées avec le programme *Sequencher 4.8* (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI). Les alignements ont été fait manuellement avec le programme *MacClade 4.08* (MADDISON et MADDISON, 2003).

Deux séquences d'ITS ont été obtenues, l'une de *Placocarpus melanophthalmos* (holotype), l'autre de *Placopyrenium breussii* (isotype). Les numéros des séquences de GenBank se trouvent sur les cladogrammes (fig. 8 et 16).

Deux jeux de données ont été assemblés : un premier, pour *Placocarpus*, avec les deux espèces de ce genre, neuf spécimens du groupe frère *Verrucula* et deux espèces de *Staurothele* (*S. areolata* et *S. frustulenta*) utilisées comme groupe externe; le deuxième, pour *Placopyrenium*, avec 16 spécimens de ce genre et deux espèces de *Verruculopsis* (*V. lecideoides* et *V. poeltiana*) utilisées comme groupe externe. Les matrices correspondantes (589 caractères pour *Placocarpus*, dont 134 informatifs et 430 constants; 576 caractères pour *Placopyrenium*, dont 101 informatifs et 428 constants) ont été analysées par la méthode de parcimonie avec le programme PAUP 4.0b10 (SWOFFORD, 1999). Les analyses ont employé une recherche heuristique avec 1000 réplicats d'addition aléatoire de séquences, les gaps d'alignement codés comme 5<sup>e</sup> caractère, et des valeurs de défaut pour les autres paramètres. Les valeurs de support bootstrap ont été estimées en utilisant 1000 répétitions de bootstrap, chacune avec 2 réplicats d'addition aléatoire de séquences. Pour *Placocarpus*, l'arbre le plus parcimonieux a une longueur de 219 pas (fig. 8), pour *Placopyrenium* 223 pas (fig. 16).

### Nomenclature

La nomenclature suit la liste de ROUX (2011).

**Placocarpus melanophthalmosus**  
Cl. Roux et Gueidan sp. nov.

**Diagnozo**

En Esperanto : Diferencas de *Placocarpus schaeereri* (Fr.) Breuss precipe pro paraziteco al *Rhizoplaca melanophthalma* (DC.) Leuckert et Poelt, skvametoj pli malgrandaj (0,5–5 mm), kun medolo notinde malpli dikaj (95–200 µm), sporoj malpli grandaj [(15,5)17,5–19,6–22,5(25) × (7,5)8–9,3–11(11,5) µm] kun malpli dikaj halo (0,5–1 µm).

En latino : *Differt a Placocarpus schaeereri (Fr.) Breuss praecipue parasitazione in Rhizoplaca melanophthalma (DC.) Leuckert et Poelt, squamulis minoribus (0,5–5 mm), cum multo tenuiore medulla (95–200 µm crassitudine), sporis minoribus [(15,5)17,5–19,6–22,5(25) × (7,5)8–9,3–11(11,5) µm] cum tenuiore corona (0,5–1 µm).*

**Tipoj :** Francio, Languedoc–Roussillon, Pyrénées–Orientales, Nyer, réserve naturelle de Nyer, immédiatement à l'ESE de Coll del Pal, dans une pelouse, sur la crête, latitude : 42,4669 °N, longitude : 2,2586 °E, sur les sommets d'un groupe de gros rocher de granite porphyroïde, orient. gen. S, orient. lok. diversa, deklivo diversa. Alt. 2315 m. Dato: 2007/07/19. **Holotipo** (kun peritecioj kaj piknidioj) MARSSJ, herbario C. Roux, n. 24617; **izotipoj** (kun piknidioj) : MARSSJ, herbario C. Roux, n-oj 24612, 24615, 24616.

**Priskribo**

**Talo** (fig. 1) de interne invandanta la skvamojn kaj apoteciojn de *Rhizoplaca melanophthalma*, unue konservanta ilian formon, poste sendependiganta kaj alprenanta propran formon, maturstadio konsistanta el skvametoj (de 0,5–5 × 0,5–4,3 mm; 0,2–1,3 mm dikaj) cindre grizaj, prujnumaj (helete ĝis malhelete brunaj sub la prujnumo), subdividiĝintaj en 2–20 erojn konveksajn, de 0,3–1,6 × 0,25–1,6 mm. Ĉiuj talpartoj ne reakcias per la kutimaj reakciiloj.

**Talstrukturo** (fig. 2, parte) : **Supra kortiko** konsistanta de supre malsupren el epinekra tavolo 0–25 µm dikaj, lokloke tre maldika sed malofte nula, kaj el pigmenta tavolo 10–15 µm dikaj, malhelete bruna, el 1–2(4) ĉeltavoloj, inter paraplektenkima kaj skleroplektenkima (ĉeloj proksimume rondaj, kun kamero de 2–7,5 × 1,5–5 µm kaj parieto 1–2,5 µm dikaj). **Alga tavolo** 50–170 µm dikaj, inter paraplektenkima kaj preskaŭ prozoplektenkima; algo trebuksieca, kun ĉeloj de 8,5–16,5 × 7,5–15 µm. **Medolo** 95–

**Placocarpus melanophthalmosus**  
Cl. Roux et Gueidan sp. nov.

**Diagnose**

En Français : Diffère de *Placocarpus schaeereri* (Fr.) Breuss surtout par son parasitisme sur *Rhizoplaca melanophthalma* (DC.) Leuckert et Poelt, ses squamules plus petites (0,5–5 mm), à médulle notablement plus mince (95–200 µm d'épaisseur), ses sporoj plus petites [(15,5)17,5–19,6–22,5(25) × (7,5)8–9,3–11(11,5) µm] à halo plus mince (0,5–1 µm).

En latin : *Differt a Placocarpus schaeereri (Fr.) Breuss praecipue parasitazione in Rhizoplaca melanophthalma (DC.) Leuckert et Poelt, squamulis minoribus (0,5–5 mm), cum multo tenuiore medulla (95–200 µm crassitudine), sporis minoribus [(15,5)17,5–19,6–22,5(25) × (7,5)8–9,3–11(11,5) µm] cum tenuiore corona (0,5–1 µm).*

Types : France, Languedoc–Roussillon, Pyrénées–Orientales, Nyer, réserve naturelle de Nyer, immédiatement à l'ESE de Coll del Pal, dans une pelouse, sur la crête, latitude : 42,4669 °N, longitude : 2,2586 °E, sur les sommets d'un groupe de gros rocher de granite porphyroïde, orient. gén. S, orient. loc. variable, pente variable. Alt. 2315 m. Date : 2007/07/19. Holotype (à périthèces et pycnides) MARSSJ, herbario C. Roux, n. 24617; isotypes (avec pycnides) : MARSSJ, herbario C. Roux, n° 24612, 24615, 24616.

**Description**

**Thalle** (fig. 1) envahissant par l'intérieur les squames et apothécies de *Rhizoplaca melanophthalma*, d'abord conservant leur forme puis devenant indépendant et prenant sa forme propre, à maturité constitué par des squames (de 0,5–5 × 0,5–4,3 mm; de 0,2–1,3 mm d'épaisseur) gris cendré, pruineuses (d'un brun assez clair à assez sombre sous la pruinitosité), subdivisées en 2–20 éléments convexes de 0,3–1,6 × 0,25–1,6 mm. Toutes les parties du thalle sont insensibles réactifs usuels.

**Structure du thalle** (fig. 2, p.p.) : **Cortex supérieur** constitué, du haut vers le bas, par une couche épincrée de 0–25 µm d'épaisseur, ça et là très mince mais rarement nulle, et d'une couche pigmentaire de 10–15 µm d'épaisseur, d'un brun assez sombre, formée de 1–2(4) couches de cellules, intermédiaire entre paraplectenchymateuse et scléroplectenchymateuse (cellules à peu près rondes, à lumière de de 2–7,5 × 1,5–5 µm et paroi de 1–2,5 µm d'épaisseur). **Couche algale** de 70–170 µm d'épaisseur, de paraplectenchymateuse à presque prosoplectenchymateuse; algue trébouxioïde à cellules de 8,5–16,5 × 7,5–15 µm. **Médulle** de 95–200 µm

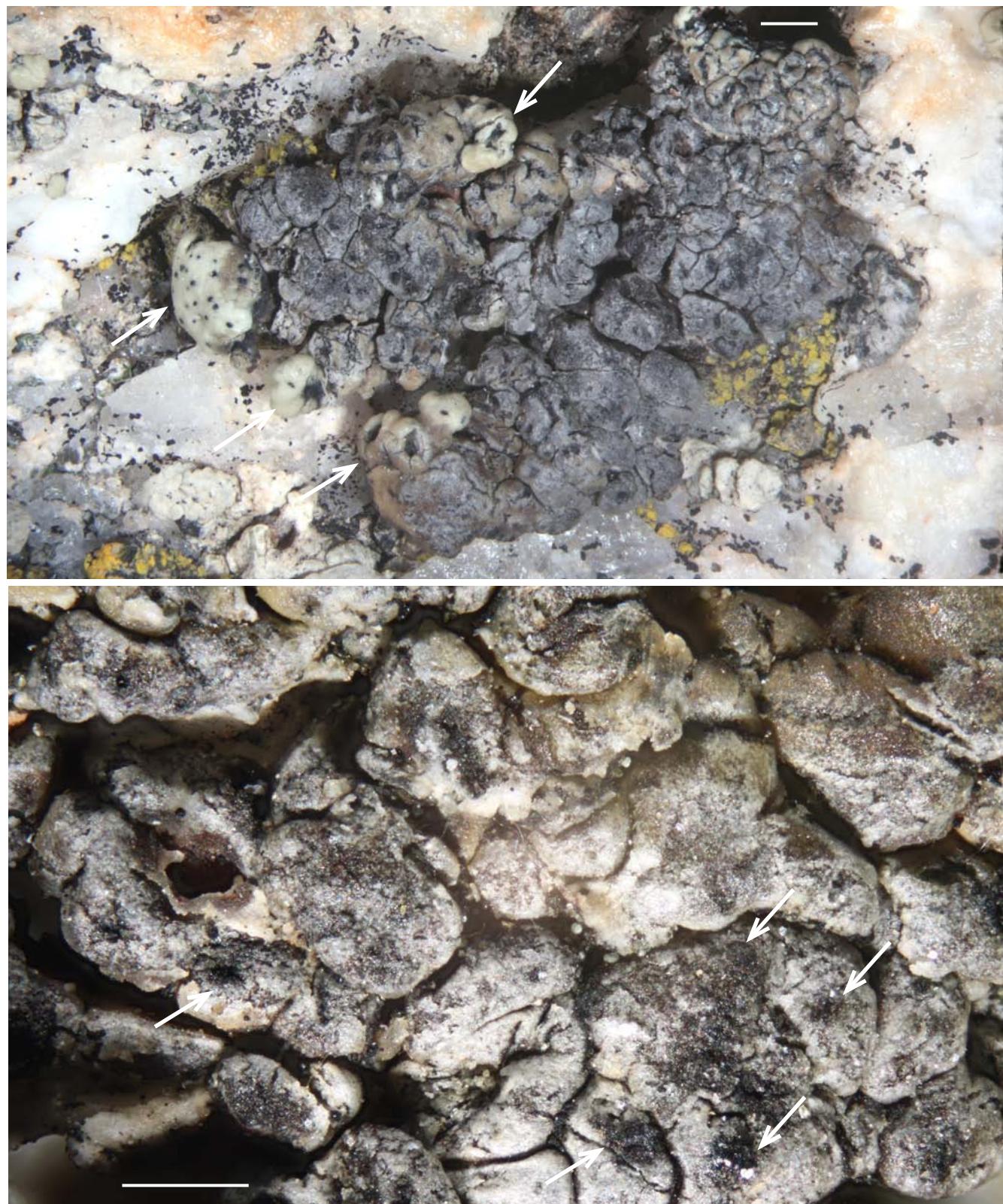


Fig. 1. Fotoj de *Placocarpus melanophthalmus* (holotipo). **Supre**: fruktohava talo (malhela) de interne preskaŭ tute anstataŭinta talon kaj apoteciojn de *Rhizoplaca melanophthalma* (helaj partoj: sagoj); skalo: 1 mm. **Malsupre**: detalo de la talo kun kelkaj askujoj (sagoj); skalo 0,5 mm.

Fig. 1. Photos de *Placocarpus melanophthalmus* (holotype). **En haut**: thalle fertile (sombre) ayant presque complètement remplacé par l'intérieur un thalle et des apothécies de *Rhizoplaca melanophthalma* (flêches); échelle : 1 mm. **En bas** : détail du thalle avec quelques ascomes (flêches); échelle : 0,5 mm.

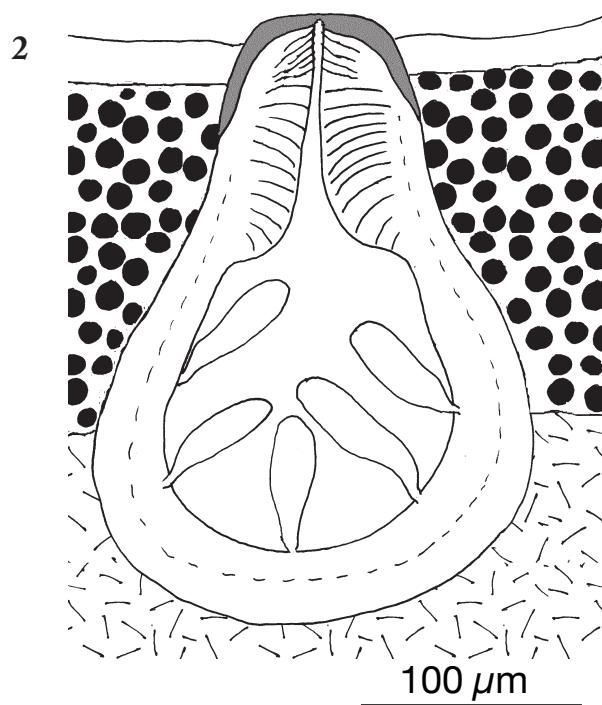
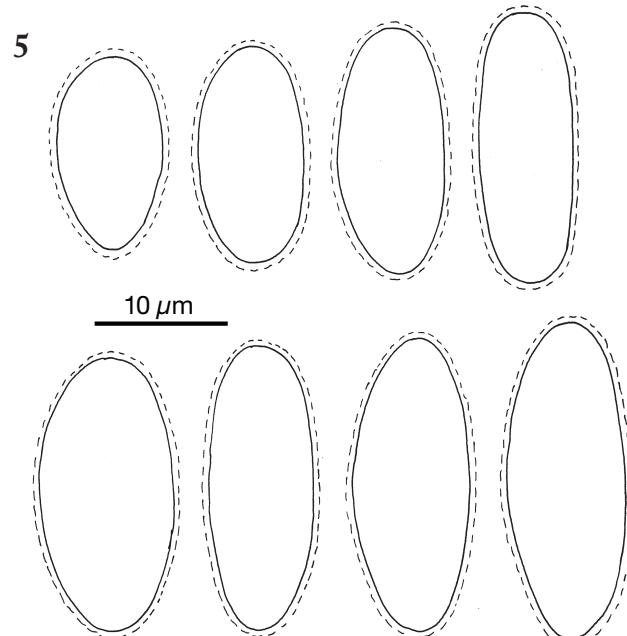


Fig. 2. Strukturo de askujo de *Placocarpus melanophthalmosus*, entala, laŭ vertikala sekcajo enakve observita (duonskeme). De supre malsupren kaj de ekstere internen : pigmenta apekso; ostiole; perifizoj (alsupraj); mallongaj pseŭdoparafizoj (desupraj); eksciplo kaj subhimenio. Talpartoj (de supre malsupren) : supra kortiko; alga tavolo (nigraj rondoj : algoĉeloj); medolo. Holotipo.

Fig. 2. Structure d'un ascme de *Placocarpus melanophthalmosus*, enfonce dans le thalle, d'après une coupe transversale observée dans l'eau (semi-schématique). De haut en bas et de l'extérieur vers l'intérieur : apex pigmenté; ostiole; périphyses (ascendantes); pseudoparaphyses courtes (descendantes); excipulum et subhyménium; médulle. Parties du thalle entourant le périthèle (de haut en bas): cortex supérieur; couche algale (ronds noirs : cellules algales); médulle. Holotype.



Bull. Soc. linn. Provence, n° spécial 14 (2011)

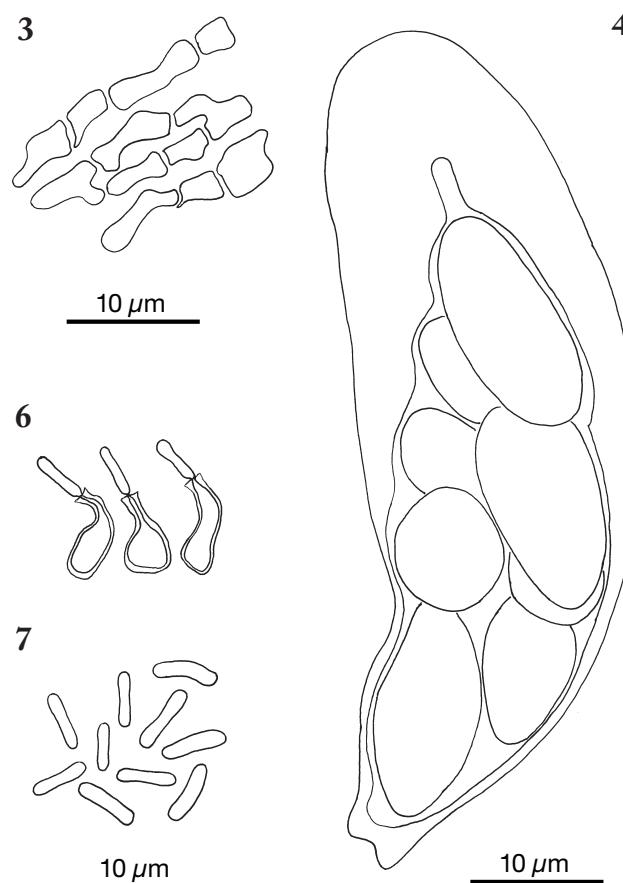


Fig. 3. Mallongaj pseŭdoparafizoj de *Placocarpus melanophthalmosus* laŭ vertikala traostiola sekcajo de askujo observita en laktofenola bluo. Holotipo.

Fig. 3. Pseudoparaphyses courtes de *Placocarpus melanophthalmosus* d'après une coupe d'ascme vertical passant par l'ostiole observée dans le bleu au lactophénol. Holotype.

Fig. 4. Asko de *Placocarpus melanophthalmosus* enakve observita. Holotipo.

Fig. 4. Asque de *Placocarpus melanophthalmosus* observé dans l'eau. Holotype.

Fig. 5. Sporoj de *Placocarpus melanophthalmosus* enakve observitaj. Holotipo.

Fig. 5. Spores de *Placocarpus melanophthalmosus* observées dans l'eau. Holotype.

Fig. 6. Konididonaj ĉeloj de *Placocarpus melanophthalmosus*, portantaj konidiojn po 1, enakve observitaj. Izotipo.

Fig. 6. Cellules conidiogènes de *Placocarpus melanophthalmosus*, portant chacune une conidie, observées dans l'eau. Isotype.

Fig. 6. Konidioj de *Placocarpus melanophthalmosus* enakve observitaj. Izotipo.

Fig. 6. Conidies de *Placocarpus melanophthalmosus*, observées dans l'eau. Isotype.

200 µm dika, J+ (de hele ĝis malhelete indiga; reakcio pli intensa sur freša materialo), de dense araneaĝa ĝis subprozoplektenkima (hifoj ne interparalelaj, diversdirektaj, senkristala aŭ preskaŭ senkristala, enhavanta mortajn partojn de la logato, precipice restaĵojn de la malsupra kortiko kaj de la pedunklo, ruĝete brunajn.

**Askujoj** (fig. 2) periteciformaj, 2–3(5)–opaj, desupre viditaj nigrat, 0,1–0,25 mm diametraj, tute entalaj. **Eksciplo** (280–380 × 200–250 µm), piroforma, senkolora escepte de la ĉirkaŭostio nigreta, kun parieto 20–30 µm dika, paraplektenkima, J–. **Himenio** senkolora, kun jeleajo J+ (ruĝeta); subhimenio senkolora. **Perifizo** malfacile videblaj, de 15–20 × 1,5–2 µm, lokiĝintaj en la mallonga ostiola kanalo, la plej supraj (de la ekstera formacio) kun apeksa ĉelo pli dika (3–4 µm) kaj brunparieta. **Pseŭdoparafizoj** (fig. 3) klare videblaj en la supra parto de la askujo, perifiz-aspektaj, de 16–23 × 2–4 µm, konstantaj el 2–4 longformaj ĉeloj (pseŭdoparafizoj de la tipo b laŭ Roux kaj TRIEBEL, 1994), lokloke branĉaj kaŭ anastomozaj. **Askoj** (fig. 4) klaboformaj, de c. 65–70 × 20–22 µm, 8-sporaj, dutunikaj, kun supra parto (toluso) dika, kun okulusa ĉambro, J– escepte de la epiplasmo J+ (ruĝeta); dehisko ne diabet-el-skatola, okazanta pro ne abrupta rompiĝo (vidu Roux k TRIEBEL, 1994 : 465). **Askosporoj** (fig. 5) senkoloraj, longete elipsoidaj, de (15,5)17,5–19,6–22,5(25) × (7,5)8–9,3–11(11,5) µm, kun rilatumo longo/larĝo (L/l) de (1,6)1,8–2,12–2,6(2,9) µm (39 sporoj mezuritaj), 0-septaj, ĉirkaŭitaj de maldika haloo [0,5–(1) µm], vivastate plenaj de etaj oleeroj, kiuj mortastate iom post iom kuniĝas en 1 aŭ 2 grandajn oleerojn, kiuj fine malaperas.

**Konidiujoj (piknidioj)** desupre viditaj nigrat aŭ nigretaj, c. 0,1 mm diametraj, 3–10–opaj, tute entalaj, laŭ sekcajo mallonge piroformaj (subglobaj), de 105–220 × 90–195 µm, plurkameraj (de la tipo *Dermatocarpon*, sed kun kameroj notinde malpli multaj), kun parieto 5–12 µm dika, senkolora, escepte de la ĉirkaŭostio nigreta aŭ eĉ nigra, paraplektenkima, kun plej ekstera, taldevena parto J+ (hele indiga). **Konidionoj** (fig. 6) senkoloraj, ampoloformaj, de 6,5–8 × 2–4 µm. **Konidioj** (fig. 7) senkoloraj, 0-septaj, mallonge baciloformaj, rektaj, pli malofte kurbataj, de (3,5)4,5–5,5 × (0,5)1–1,5 µm, kun rilatumo longo/larĝo (L/l) de (3,5)4–4,7–5,5 × 1–1,1–1,5 µm (31 konidioj mezuritaj).

### *Ekologio kaj disvastiĝo*

*Placocarpus melanophthalmosus*, specife paraiza al *Rhizoplaca melanophthalma* (talo kaj apo-

d'epaisseur, J+ (de indigo clair à assez sombre; réaction plus intense sur du matériel frais), de densément arachnoïde à subprosoplectenchymateuse (hyphes non parallèles, diversement orientés, dépourvue de ou presque de cristaux, contenant des parties mortes de l'hôte, principalement des restes du cortex inférieur et du pédoncule, brun rouges.

**Ascomes** (fig. 2) en forme de périthèces, par 2-3(5), vus par dessus noirs, de 0,1-0,25 mm de diamètre, entièrement enfouis dans le thalle. **Excipulum** (280–380 × 200–250 µm), pyriforme, incolore excepté le pourtour de l'ostiole noirâtre, à paroi de 20-30 µm d'épaisseur, paraplectenchymateux, I–. **Hyménium** incolore, à gelée I+ (rougeâtre); subhyménium incolore. **Péryphyses** d'observation difficile, de 15–20 × 1,5–2 µm, localisées dans le court canal ostiolaire, les plus supérieures (de la formation externe) à cellule apicale plus large (3–4 µm) et à paroi brune. **Pseudoparaphyses** (fig. 3) nettement visibles dans la partie supérieure de l'ascome, à aspect de péryphyses, de 16–23 × 2–4 µm, formées de 2–4 cellules allongées (pseudoparaphyses du type b selon ROUX et TRIEBEL, 1994), ça et là ramifiées et/ou anastomosées. **Asques** (fig. 4) claviformes, d'environ 65–70 × 20–22 µm, octospores, bituniqués, à partie supérieure (tholus) épaisse, creusée d'une chambre oculaire, I– excepté l'épiplasme I+ (rougeâtre); déhiscence se produisant par rupture progressive et non pas du type *Jack-in-the-box* (voir ROUX et TRIEBEL, 1994 : 465). **Ascospores** (fig. 5) incolores, assez longuement ellipsoïdales, de (15,5)17,5–19,6–22,5(25) × (7,5)8–9,3–11(11,5) µm, à rapport longueur/largeur (L/l) de (1,6)1,8–2,12–2,6(2,9) µm (39 spores mesurées), simples, entourées d'un mince halo [0,5–(1) µm], lorsque vivantes remplies de petites gouttes qui fusionnent progressivement en 1 ou 2 grandes gouttes qui disparaissent à la fin lors de la mort des spores.

**Conidiomes** (pycnides) vus par dessus noirs ou noirâtres, d'environ 0,1 mm de diamètre, par 3-10, entièrement enfouis dans le thalle, en coupe courtement pyriformes (subglobuleux), de 105–220 × 90–195 µm, pluriloculaires (du type *Dermatocarpon*, mais à locules notablement moins nombreuses), à paroi de 5–12 µm d'épaisseur, incolore excepté le pourtour de l'ostiole noirâtre ou même noir, paraplectenchymateuse, à paroi la plus externe, d'origine thalline, I+ (indigo clair). **Cellules conidiogènes** (fig. 6) incolores, lagéniformes, de 6,5–8 × 2–4 µm. **Conidies** (fig. 7) incolores, simples, courtement bacilliformes, droites, plus rarement un peu coubes, de (3,5)4,5–5,5 × (0,5)1–1,5 µm, à rapport longueur/largeur (L/l) de (3,5)4–4,7–5,5 × 1–1,1–1,5 µm (31 conidies mesurées).

### *Écologie et répartition*

*Placocarpus melanophthalmosus*, parasite spécifique de *Rhizoplaca melanophthalma* (thalle et apothécies) est connu

tecioj), estas ĝis nun konata en la tiploko: Francio, Orientaj Pireneoj, Nyer, ESE de *Coll del Pal*, en la supra subalpa etaĝo, en la asocio *Umbilicarietum cylindricaे*,

jusqu'ici seulement dans la station type : France, Pyrénées-Orientales, Nyer, ESE de *Coll del Pal*, à l'étage subalpin supérieur, dans l'association *Umbilicarietum cylindrica*e.

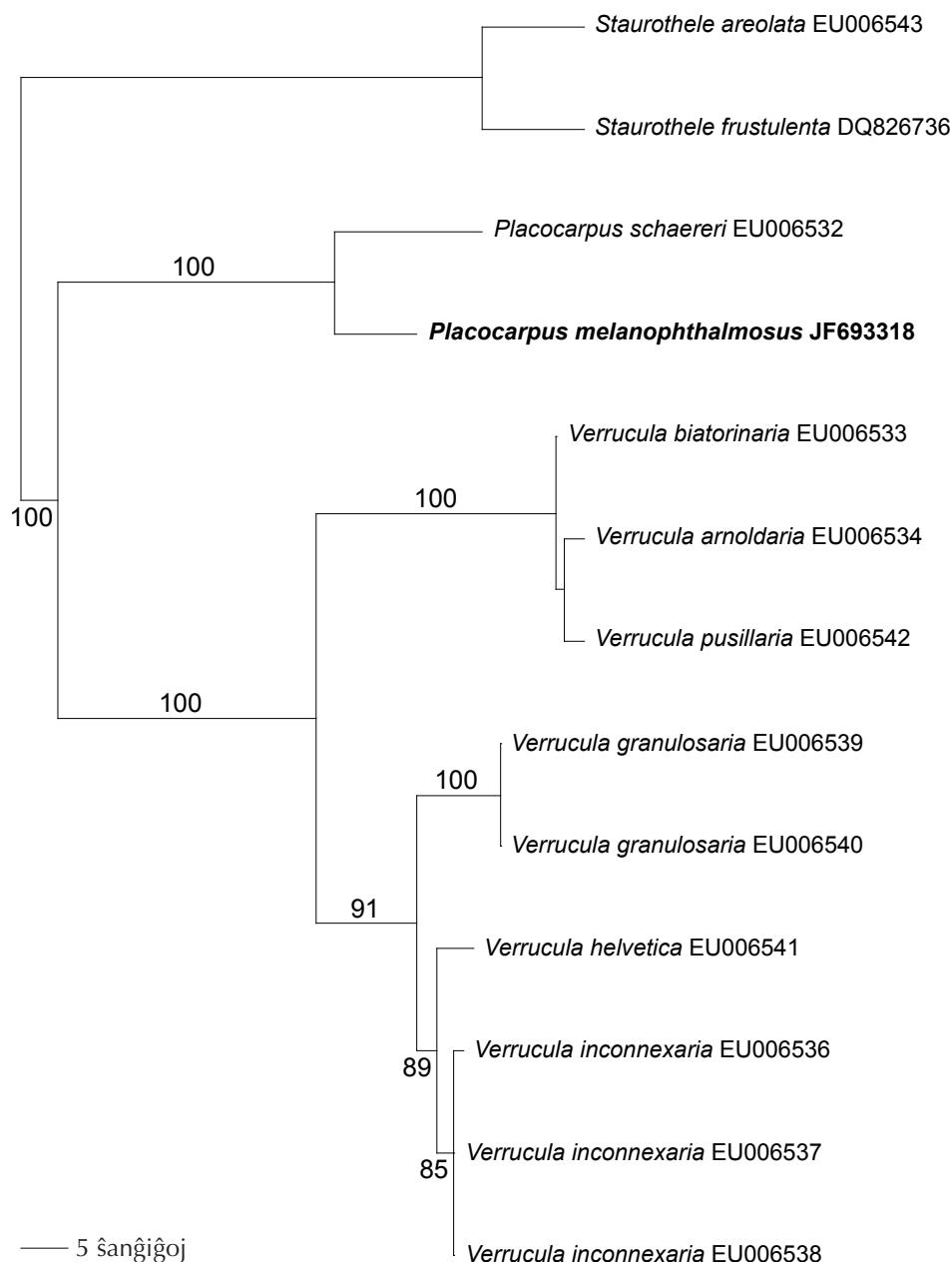


Fig. 8. Kladogenezaj rilatoj inter 11 specimenoj (el 8 taksonoj, el kiuj *Placocarpus melanophthalmosus*) de la grupo de *Verrucula* (vidu NAVARRO-ROSINÉS k al., 2007), ricevitaj per la šparega metodo. La buctrap-valoroj estas precizigitaj. La sekvenco-numeroj de la specimenoj en GenBank estas indikitaj post la taksonomoj.

Fig. 8. Relations phylogénétiques entre 11 spécimens (appartenant à 8 taxons, dont *Placocarpus melanophthalmosus*) du groupe de *Verrucula* (voir NAVARRO-ROSINÉS et al., 2007), obtenues par la méthode de parcimonie. Les valeurs de bootstrap sont précisées. Les numéros de séquences des spécimens dans *GenBank* sont indiqués après les noms de taxons.

## Diskuto

*Placocarpus melanophthalmosus*, kiu supraje similas al specio de *Verrucula* (vidu NAVARRO–ROSINÉS k al., 2007), fakte apartenas al la genro *Placocarpus*:

- ĝi parazitas al *Rhizoplaca melanophthalma* (*Lecanoraceae*), sufice parenca al *Lecanora muralis*, kiu estas la specifa logato de *Placocarpus schaeereri*, la sole alia konata specio de *Placocarpus*, dum ĉiuj specioj de *Verrucula* parazitas al *Caloplaca* kaj al *Xanthoria elegans* (*Teloschistaceae*);

- ĝiaj sporoj estas grandaj kaj ĉirkaŭitaj de halo, same kiel tiuj de *Placocarpus schaeereri* (kies sporoj tamen pli grandaj kaj pli dikhaloaj), dum tiuj de *Verrucula* estas pli malgrandaj kaj senhaloaj;

- la sekenco de ĝia ITS estas tre parenca al tiu de *Placocarpus schaeereri* kaj laŭ kladogeneza analizo (fig. 8) ĝi gruipiĝas kun *P. schaeereri*, ne kun la specioj de *Verrucula*.

Tamen *P. schaeereri* notinde diferencas de *P. melanophthalmosus* ne nur pro specia paraziteco sed ankaŭ pro sporoj pli grandaj (18)20–28(32) × 8–10(12) µm, kun pli dikaj halo (1–2,5 µm), askoj pli grandaj (65–85 × 14–28 µm) kaj talmedolo notinde pli dikaj (ĉiuj pli ol 2000 µm), kompakta kaj riĉa je malgrandaj kristaloj (vidu NAVARRO–ROSINÉS k al., 2007).

## *Placopyrenium breussii* Cl. Roux et Gueidan sp. nov.

### Diagnozo

En Esperanto: Pro DNA tre afina al *Placopyrenium formosum* Orange sed diferenca de ĝi precipite pro paraziteco al *Aspicilia calcitrata* (nekalkeja, varmeja–sekeja specio), talĉirkaŭo sen hipotala linio kaj sporoj kun perisporo pli maldika (maks. 0,5 µm), ne aŭ malofte formantan distingeblan haloon.

En Latino: *Proximum ad Placopyrenium formosum* Orange ab ADN, sed ab eo differens parasitatione in *Aspicilia calcitrata* C. Roux et A. Nordin (*calcifuga specie, xerothermophili*), thalli circinatione nigrae lineae experti et sporis cum tenuiore perispora (maxime 0,5 µm), non aut rare distinctam coronam formantibus.

**Tipoj:** Jujols (extension), Francio, Languedoc–Roussillon, Pyrénées–Orientales, Jujols, réserve naturelle de Jujols (extension), début du sentier de la Garrigue, un peu au NO du point coté 998, latitude : 42,5725° N, longitude : 2,2879° E, sur des surfaces inclinées ou subverticales (10–80°) de schiste non calcaire sur le bord E du sentier, orient. gen. SSE, orient. lok. SSE.

## Discussion

*Placocarpus melanophthalmosus*, qui ressemble superficiellement à une espèce de *Verrucula* (voir NAVARRO–ROSINÉS et al., 2007), appartient en fait au genre *Placocarpus* :

- il parasite *Rhizoplaca melanophthalma* (*Lecanoraceae*), suffisamment proche de *Lecanora muralis* qui est l'hôte spécifique de *Placocarpus schaeereri*, la seule autre espèce connue de *Placocarpus*, tandis que toutes les espèces de *Verrucula* parasitent des *Caloplaca* ou *Xanthoria elegans* (*Teloschistaceae*);

- ses spores sont grandes et entourées d'un halo, comme celles de *Placocarpus schaeereri* (dont les spores sont toutefois plus grandes et à halo plus épais), tandis que celles des *Verrucula* sont plus petites et dépourvues de halo;

- la séquence de son ITS est très proche de celle de *Placocarpus schaeereri* et, selon l'analyse phylogénétique (fig. 8), il se groupe avec *P. schaeereri* et non avec les espèces de *Verrucula*.

Toutefois *P. schaeereri* diffère notablement de *P. melanophthalmosus* non seulement par sa spécificité parasitaire mais également par ses spores plus grandes (18)20–28(32) × 8–10(12) µm, ses asques plus grands (65–85 × 14–28 µm) et la médaille de son thalle notablement plus épaisse (jusqu'à plus de 2000 µm), compacte et riche en petits cristaux (voir NAVARRO–ROSINÉS et al., 2007).

## *Placopyrenium breussii* Cl. Roux et Gueidan sp. nov.

### Diagnozo

En Français : Très proche de *Placopyrenium formosum* Orange par son ADN, mais différent de cette espèce principalement par son parasitisme sur *Aspicilia calcitrata* (espèce calcifuge, xérothermophile), la périphérie de son thalle dépourvue de ligne noire et ses spores à périspore plus mince (au maximum 0,5 µm), ne formant pas ou formant rarement de halo distinct.

En latin : *Proximum ad Placopyrenium formosum* Orange ab ADN, sed ab eo differens parasitatione in *Aspicilia calcitrata* C. Roux et A. Nordin (*calcifuga specie, xerothermophili*), thalli circinatione nigrae lineae experti et sporis cum tenuiore perispora (maxime 0,5 µm), non aut rare distinctam coronam formantibus.

**Tipoj:** Jujols (extension), Francia, Languedoc–Roussillon, Pyrénées–Orientales, Jujols, réserve naturelle de Jujols (extension), début du sentier de la Garrigue, un peu au NO du point coté 998, latitude : 42,5725° N, longitude : 2,2879° E, sur des surfaces inclinées ou subverticales (10–80°) de schiste non calcaire sur le bord E du sentier, orient. gén. SSE, orient. lok. SSE.

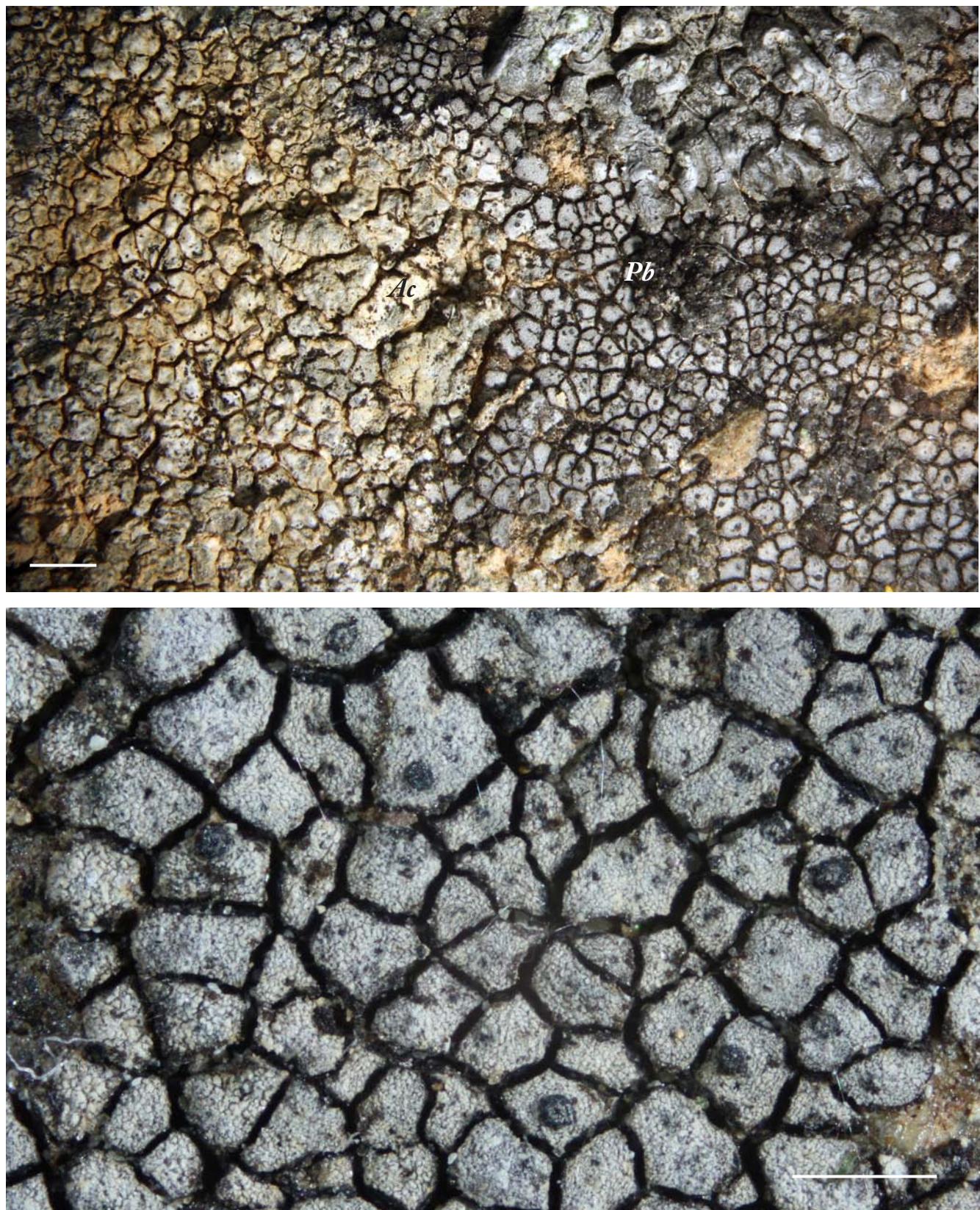


Fig. 9. Fotoj de *Placopyrenium breussii* (izotipo). **Supre**: fruktohava talo (*Pb*) parazita al *Aspicilia calcitrata* (*Ac*); skalo : 2 mm. Dekstre-supre, *Lobothallia parasitica* (B. de Lesd.). **Malsupre** : detalo de la talo kun askujoj; skalo 1 mm.

Fig. 9. Photos de *Placopyrenium breussii* (isotype). **En haut** : thalle fertile (*Pb*) parasite de *Aspicilia calcitrata* (*Ac*) ; échelle : 2 mm. En haut et à droite, *Lobothallia parasitica* (B. de Lesd.). **En bas** : détail du thalle avec des ascomes ; échelle : 0,5 mm.

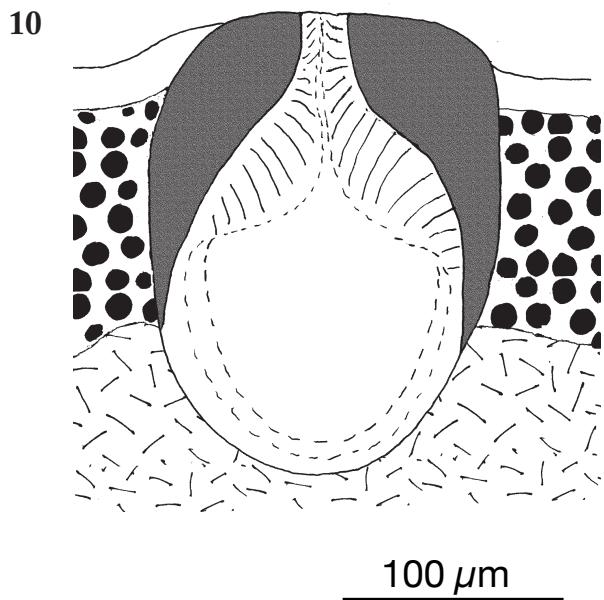


Fig. 10. Strukturo de askujo de *Placopyrenium breussii*, entala, laŭ vertikala sekcajo enakve observita (duonskeme). De supre malsupren kaj de ekstere internen : ostiole; pigmenta parto de eksciplo; perifizoj (alsupraj); mallongaj pseŭdoparafizoj (desupraj); eksciplo kaj subhimenio. Talpartoj (de supre malsupren) : supra kortiko; alga tavolo (nigraj rondoj : algoĉeloj); medolo. Holotipo.

Fig. 10. Structure d'un ascus de *Placocarpus melanophthalmosus*, enfoncé dans le thalle, d'après une coupe transversale observée dans l'eau (semi-schématique). De haut en bas et de l'extérieur vers l'intérieur : apex pigmenté; périphyses (ascendantes); pseudoparaphyses courtes (descendantes); excipulum et subhyménium ; médulle. Parties du thalle entourant le périthèce (de haut en bas) : cortex supérieur; couche algale (ronds noirs : cellules algales); médulle. Holotype.

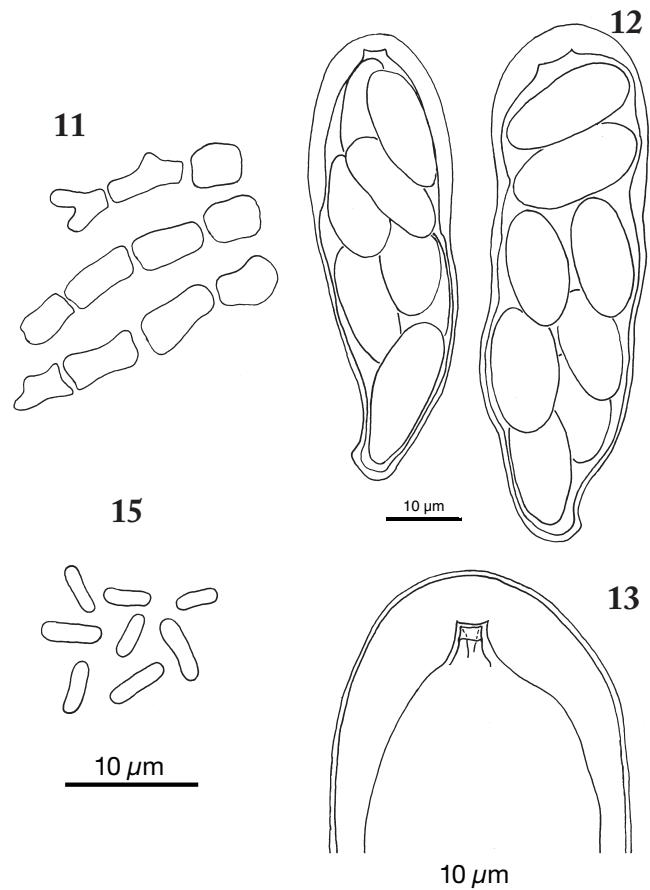


Fig. 11. Mallongaj pseŭdoparafizoj de *Placopyrenium breussii* laŭ vertikala traostiola sekcajo de askujo observita en laktofenola bluo. Holotipo.

Fig. 11. Pseudoparaphyses courtes de *Placopyrenium breussii* d'après une coupe d'ascus, transversale passant par l'ostiole, observée dans le bleu au lactophénol. Holotype.

Fig. 12. Du askoj de *Placopyrenium breussii* enakve observitaj. Nohèdes.

Fig. 12. Deux asques de *Placopyrenium breussii* observés dans l'eau. Nohèdes.

Fig. 13. Askosupro de *Placopyrenium breussii* enakve observita; de ekstere internen : ekzoasko (maldika), endoasko (dika), okulusa ĉambro enhavanta nason. Nohèdes, n. 25624.

Fig. 13. Sommet d'un asque de *Placopyrenium breussii* observé dans l'eau; de l'extérieur vers l'intérieur: exoascus (mince), endoascus (épais), chambre oculaire contenant une nasse. Nohèdes, n. 25624.

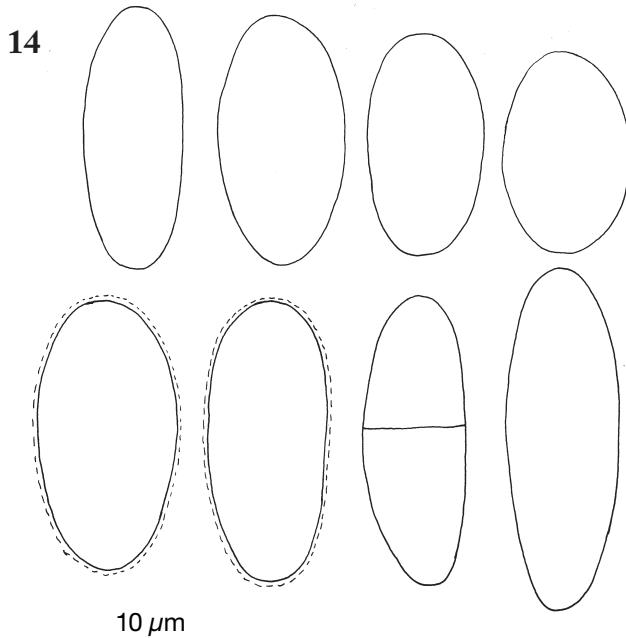


Fig. 14. Sporoj de *Placopyrenium breussii* enakve observitaj. Holotipo.

Fig. 14. Spores de *Placopyrenium breussii* observées dans l'eau. Holotype.

Fig. 15. Konidioj de *Placopyrenium breussii* enakve observitaj. Holotipo.

Fig. 15. Conidies de *Placopyrenium breussii*, observées dans l'eau. Holotype.

Alt. 1025 m. Dato : 2007/07/26. **Holotipo** MARSSJ, herbario C. Roux, n° 25155; **izotipo**, MARSSJ, herbario C. Roux, n° 25138).

Ni dediĉas ĉi tiun specion al nia kolego Othmar BREUSS (Vieno, Aŭstrio) pro lia grava kontribuo al la genro *Placopyrenium*.

### Priskribo

**Talo** (fig. 9) areola, blanketa (iomete grize aŭ brunetgrize), ne lobcirkaŭa, ne klarlima, parazita al *Aspicilia calcitrata* Cl. Roux et Nordin (Roux k al., 2011); areoloj de  $0,2\text{--}0,8(1,2) \times 0,2\text{--}0,7(0,85)$  mm,  $0,2\text{--}0,5$  mm dikaj, poligonaj, malofte subdividitaj de 1 aŭ 2 fendoj, supraflanke blanke prujnumaj, ebenaj aŭ preskaŭ ebenaj, ofte ŝagrinecaj (fakte supraje subdividitaj en angulajn erojn), malofte cirkaŭitaj de nigra rando ĝenerale nekompleta; randumo tre nigra. Ĉiu talparto ne reakcias per la kutimaj reakciiloj.

**Talstrukturo** (fig. 9, parte) tute subparaplektenkima; **Supra kortiko** ( $10\text{--}25 \mu\text{m}$  dika) konsistanta el **epinekra tavolo** ( $5\text{--}10 \mu\text{m}$ ) el mortaj ĉeloj ne tre rekoneblaj kaj kristaloj (ĉ.  $0,5\text{--}6 \mu\text{m}$  dikaj), kaj **pigmenta tavolo** ( $6\text{--}15 \mu\text{m}$  dika) konsistanta el vivaj ĉeloj pli-malpli rondaj aŭ iom longformaj (kameroj de  $3,5\text{--}7 \times 2,5\text{--}4,5 \mu\text{m}$ ; parieto  $2\text{--}3 \mu\text{m}$  dika). **Alga tavolo**  $65\text{--}120 \mu\text{m}$  dika, tute subparaplektenkima; algo trebuksieca, kun ĉeloj de  $7\text{--}17 \times 7\text{--}13,5 \mu\text{m}$ . **Medolo**  $65\text{--}400 \mu\text{m}$  dika, J-, supraparte senkolora ( $25\text{--}40 \mu\text{m}$  dika), malsupraparte malhele bruna ( $40\text{--}135 \mu\text{m}$  dika), el ĉeloj (kamero de  $3\text{--}7 \times 1,5\text{--}5 \mu\text{m}$ ; parieto  $0,5\text{--}1,5 \mu\text{m}$  dika), de proks. rondaj ĝis proks. rektangulaj; la supra parto de medolo estas lokloke interrompita de vertikalaj pilieroj malhele brunaj, devenantaj el la malsupra parto; la tuta medolo estas riĉa je grandaj kristaloj, de  $2\text{--}21 \times 1,5\text{--}12 \mu\text{m}$  almenaŭ parte devenantaj el la substrato.

**Askuoj** (fig. 10) periteciformaj ( $0,1\text{--}0,2 \text{ mm}$ ), nigraj, tute entalaj, 1–4-opaj, de subglobaj ĝis mallonge oblongaj, kun ostiolo ofte videbla ( $\times 40$ ) sub formo de punkto en la centro de la askuj-supro plata, pli malofte konvekseta, seninvolukrelaj. **Eksciplo** ( $130\text{--}220 \times 125\text{--}175 \mu\text{m}$ ) supraduone nigreta,  $25\text{--}40 \mu\text{m}$  dika, el ĉeloj pigmentaj (ĉeloparieto enhavanta nigrajn granulojn), ne aŭ ne tre longformaj (kameroj de  $5\text{--}7,5 \times 2\text{--}3 \mu\text{m}$ ) kaj diketparietaj ( $1\text{--}2 \mu\text{m}$ ), malsupraduone senkolora,  $15\text{--}30 \mu\text{m}$  dika, paraplektenkima, el ĉeloj senpigmentaj, longformaj (kamero de  $6\text{--}10 \times 1,5\text{--}2,5 \mu\text{m}$ ) kaj maldik-parietaj (ĉ.  $0,5 \mu\text{m}$ ). **Himenio** senkolora, kun jeleajo J+ (ruĝeta); subhimenio senkolora. **Perifizo** tre malfacile videblaj, lokiĝintaj en la mallonga ostiola

loc. SSE. Alt. 1025 m. Date : 2007/07/26. **Holotype** MARSSJ, herbier C. Roux, n° 25155; **isotype**, MARSSJ, herbier C. Roux, n° 25138.

Nous dédions cette espèce à notre collègue Othmar BREUSS (Vienne, Autriche) pour son importante contribution au genre *Placopyrenium*.

### Description

**Thalle** (fig. 9) aréolé, blanchâtre (légèrement grisâtre ou gris brunâtre), non lobé à la périphérie, parasite d'*Aspicilia calcitrata* Cl. Roux et Nordin (ROUX et al., 2011b); aréoles de  $0,2\text{--}0,8(1,2) \times 0,2\text{--}0,7(0,85)$  mm, de  $0,2\text{--}0,5$  mm d'épaisseur, polygonales, rarement subdivisées par une ou deux fentes, à face supérieure recouverte d'une pruinosité blanche, planes ou presque planes, souvent chagrénées (en fait superficiellement subdivisées en éléments anguleux), rarement entourées d'un bord noir généralement incomplet; tranche très noire. Toutes les parties du thalle sont insensibles réactifs usuels.

**Structure du thalle** (fig. 9 p.p.) entièrement subparaplectenchymateuse : **Cortex supérieur** ( $10\text{--}25 \mu\text{m}$  dika) constitué par une **couche épinecréale** ( $5\text{--}10 \mu\text{m}$  d'épaisseur) formée de cellules mortes peu reconnaissables et de cristaux (c.  $0,5\text{--}6 \mu\text{m}$  d'épaisseur), et d'une **couche pigmentaire** formée de cellules vivantes plus ou moins arrondies ou un peu allongées (lumière de  $3,5\text{--}7 \times 2,5\text{--}4,5 \mu\text{m}$ ; paroi de  $2\text{--}3 \mu\text{m}$  d'épaisseur). **Couche algale** de  $65\text{--}120 \mu\text{m}$  d'épaisseur) subparaplectenchymateuse; algue trébouxioidé, à cellules de  $7\text{--}17 \times 7\text{--}13,5 \mu\text{m}$ . **Médulle** de  $65\text{--}400 \mu\text{m}$  d'épaisseur, I-, à partie supérieure ( $25\text{--}40 \mu\text{m}$  d'épaisseur) incolore, à partie inférieure ( $40\text{--}135 \mu\text{m}$  d'épaisseur) brun sombre, formée de cellules (lumière de  $3\text{--}7 \times 1,5\text{--}5 \mu\text{m}$ ; paroi de  $0,5\text{--}1,5 \mu\text{m}$  d'épaisseur), de à peu près rondes jusque à peu près rectangulaires; la partie supérieure de la médulle est interrompue çà et là par des piliers verticaux brun sombres provenant de la partie inférieure; l'ensemble de la médulle est riche en grands cristaux de  $2\text{--}21 \times 1,5\text{--}12 \mu\text{m}$ , provenant au moins en partie du substrat.

**Ascomes** (fig. 10) en forme de périthèces ( $0,1\text{--}0,2 \text{ mm}$ ), noirs, entièrement enfoncés dans le thalle, de subglobuleux à courtement oblongs, à ostiole souvent visible ( $\times 40$ ) sous forme d'un point au centre du sommet de l'ascome, plat, plus rarement légèrement convexe, dépourvus d'involucellum.

**Excipulum** ( $130\text{--}220 \times 125\text{--}175 \mu\text{m}$ ) à moitié supérieure noire, de  $25\text{--}40 \mu\text{m}$  d'épaisseur, formé de cellules pigmentées (paroi cellulaire contenant des granules noirs), peu ou pas allongées (lumière de  $5\text{--}7,5 \times 2\text{--}3 \mu\text{m}$ ) et à paroi assez épaisse ( $1\text{--}2 \mu\text{m}$ ); moitié inférieure incolore, de  $15\text{--}30 \mu\text{m}$  d'épaisseur, paraplectenchymateuse, formée de cellules non pigmentées, allongées (lumière de  $6\text{--}10 \times 1,5\text{--}2,5 \mu\text{m}$ ) et à paroi

kanalo. **Pseŭdoparafizo** (fig. 11) ĝenerale klare videblaj en la supra duono de la askujo, perifiz-aspektaj sed pli dikaj, mallongaj ( $13,5\text{--}21 \times 2\text{--}4 \mu\text{m}$ ), konsistantaj el 2–4 longformaj celoj (pseŭdoparafizo) de la tipo *b* laŭ Roux kaj TRIEBEL, 1994), lokloke branĉaj kaŭ anastomozaj. **Askoj** (fig. 12) klaboformaj, de  $56\text{--}71 \times 19\text{--}23 \mu\text{m}$ , 8-sporaj, dutunikaj, kun supra parto (toluso) diketa, kun okulusa ĉambro angula, enhavanta nason (fig. 13), J– escepte de la epiplasmo J+ (ruĝeta); dehisko ne diablet-el-skatola, okazanta pro ne abrupta rompiĝo (vidu TRIEBEL k Roux, 1994 : 465). **Askosporoj** (fig. 14) senkoloraj (sed finfinevolue helege brunaj), longete elipsoidaj, de  $(15)16,5\text{--}19,4\text{--}22(27,5) \times (7)7,5\text{--}8,9\text{--}10,5(11,5) \mu\text{m}$ , kun rilatomo longo/largo (L/l) de  $(1,6)1,8\text{--}2,20\text{--}2,7(2,9)$  (54 sporoj mezuritaj), 0(1)-septaj, kun perisporo maldika ( $\hat{c} 0,5 \mu\text{m}$ ), malofte formanta distingeblan halo-on, vivastate plenaj de etaj oleeroj, kiuj mortastate iom post iom kuniĝas en 1 aŭ 2 grandajn oleerojn, kiuj fine malaperas.

**Konidiujoj (piknidioj)**: Nur unu piknidio observita, tute entala, senkolora escepte de la ĉirkauostio bruna,  $\hat{c} 0,05 \text{ mm}$  diametra. **Konidionoj** celoj mallonge ampoloformaj, de  $5,5\text{--}7 \times 3,5\text{--}4,5 \mu\text{m}$ . **Konidioj** (fig. 15) mallonge baciloformaj,  $3,5\text{--}5 \times 1\text{--}1,5 \mu\text{m}$ .

### *Ekologio kaj disvastiĝo*

*Placopyrenium breussii* specife parazitas al *Aspicilia calcitrappa*, ambaŭ karakterizaj de la asocio de *Aspicilia calcitrappa* kaj *Pertusaria chiodectonoides* Bagl. ex A. Massal., varm-sekeja, en la supra monteta etaĝo, kune kun ankaŭ i.a. *Aspicilia viridescens* (A. Massal.) Hue kaj *Caloplaca spotornonis* B. de Lesd. Ĝi estas ĝis nun konata en Orientaj Pireneoj (Francio), en la naturrezervejoj de Jujols (holotipo kaj izotipo : vidu diagnozon) kaj de Nohèdes :

Pyrénées-Orientales, Nohèdes, à proximité immédiate de la réserve naturelle de Nohèdes, 170 m à ONO de Cortal, en bordure d'une lande à *Cytisus purgans*, près de la piste, latitude :  $42,6304^\circ \text{N}$ , longitude :  $2,2696^\circ \text{E}$ , sur petites parois de schiste non calcaire, orient. gen. SU, orient. lok. SU, deklivo 45-90°. Alt. 1030 m. Dato : 2009/07/30. MARSSJ, herbario C. Roux, n-oj 25624 kaj 25657.

### *Diskuto*

Ni unue pensis, ke *P. breussii*, parazita al nekalkeja sekeja *Aspicilia*, probable estas subspecio de, aŭ tre afina specio al, *P. canellum* (Nyl.) Gueidan et Cl. Roux, parazita al *Aspicilia calcarea*, ankaŭ sekeja sed kalkeja. Fakte analizo de la DNA de la regiono ITS de *P. breussii* evidentigas, ke ĝi multe pli parencas al nekalkeja akveja specio freŝdate priskribita, *P. formosum* Orange, para-

mince ( $c. 0,5 \mu\text{m}$ ). **Hyménium** incolore, à gelée I+ (rougeâtre); subhyménium incolore. Périphyses très difficiles à observer, localisées dans le court canal ostiolaire. **Pseudoparaphyses** (fig. 11), en général bien visibles dans la moitié supérieure de l'ascome, à aspect de périphyses mais plus épaisses, courtes ( $13,5\text{--}21 \times 2\text{--}4 \mu\text{m}$ ), formées de 2–4 cellules (pseudoparaphyses du type *b* selon ROUX et TRIEBEL, 1994), ça et là ramifiées et/ou anstomosées. **Asques** (fig. 12) claviformes, de  $56\text{--}71 \times 19\text{--}23 \mu\text{m}$ , octosporés, bituniqués, à partie supérieure (tholus) assez épaisse, à chambre oculaire anguleuse contenant une nasse (fig. 13), I– excepté l'épiplasme I+ (rougeâtre); déhiscence se produisant par rupture progressive et non pas du type *Jack-in-the-box* (voir ROUX et TRIEBEL, 1994 : 465). **Ascospores** (fig. 14) incolores (mais devenant brun pâle tout à fait à la fin), assez longuement ellipsoïdales, de  $(15)16,5\text{--}19,4\text{--}22(27,5) \times (7)7,5\text{--}8,9\text{--}10,5(11,5) \mu\text{m}$ , à rapport longueur sur largeur (L/l) de  $(1,6)1,8\text{--}2,20\text{--}2,7(2,9)$  (54 spores mesurées), 0(1)-septées, à périspore mince ( $c. 0,5 \mu\text{m}$ ) formant rarement un halo distinct, lorsque vivantes remplies de petites gouttes fusionnant progressivement en 1 ou 2 grandes gouttes qui disparaissent à la fin lors de la mort des spores.

**Conidiomes (pycnides)** : Une seule pycnide observée, entièrement enfoncee dans le thalle, incolore excepté le pourtour de l'ostiole brun, d'environ  $0,05 \text{ mm}$  de diamètre.

**Cellules conidiogènes** courtement lagéniformes, de  $5,5\text{--}7 \times 3,5\text{--}4,5 \mu\text{m}$ . **Conidies** (fig. 15) courtement bacilliformes, de  $3,5\text{--}5 \times 1\text{--}1,5 \mu\text{m}$ .

### *Écologie et répartition*

*Placopyrenium breussii* parasite, comme son hôte *Aspicilia calcitrappa*, l'association à *Aspicilia calcitrappa* et *Pertusaria chiodectonoides* Bagl. ex A. Massal., xérothermophile, de l'étage collinéen supérieur, espèces accompagnées également, entre autres, d'*Aspicilia viridescens* (A. Massal.) Hue et de *Caloplaca spotornonis* B. de Lesd. Il est connu seulement dans les Pyrénées-Orientales (France), dans les réserves naturelles de Jujols (holotype et isotype : voir diagnose) et de Nohèdes :

Pyrénées-Orientales, Nohèdes, à proximité immédiate de la réserve naturelle de Nohèdes, 170 m à ONO de Cortal, en bordure d'une lande à *Cytisus purgans*, près de la piste, latitude :  $42,6304^\circ \text{N}$ , longitude :  $2,2696^\circ \text{E}$ , sur petites parois de schiste non calcaire, orient. gén. SO, orient. loc. SO, pente 45-90°. Alt. 1030 m. Date : 2009/07/30. MARSSJ, herbier C. Roux, n-oj 25624 kaj 25657.

### *Diskuto*

Nous avons tout d'abord pensé que *P. breussii*, parasite d'un *Aspicilia* calcifuge xérophile était probablement une sous-espèce ou une espèce très voisine de *P. canellum* (Nyl.) Gueidan et Cl. Roux, parasite de *Aspicilia calcarea*, également xérophile, mais calcicole. En réalité, l'analyse de l'ADN de la région ITS de *P. breussii* montre qu'il est beaucoup plus

zita al *Aspicilia aquatica* Körb. Efektive, la komparo de iliaj sekvencoj evidentigas, ke *P. breussii* havas 98% de sia DNA identa al tiu de *P. formosum*, dum nur 93% al tiu de *P. canellum*; la kladogeneza analizo (fig. 16) konfirmas la parencecon inter *P. breussii* kaj *P. formosum*. La naturo de la logato ŝajne ludis gravan rolon en la speciigo de *P. breussii*, tial ke *A. calcitrapa* tre parencas al *A. aquatica* (Roux k al., 2011).

proche d'une espèce calcifuge hydrophile récemment décrite, *P. formosum* Orange, parasite d'*Aspicilia aquatica* Körb. La comparaison des séquences, montre en effet que *P. breussii* a 98% de son ADN en commun avec *P. formosum* et seulement 93% avec *P. canellum*; l'analyse phylogénétique (fig. 16) confirme la parenté entre *P. breussii* et *P. formosum*. La nature de l'hôte semble avoir joué un rôle important dans la spéciation de *P. breussii* puisque *A. calcitrata* est très proche de *A. aquatica* (ROUX et al., 2011b).

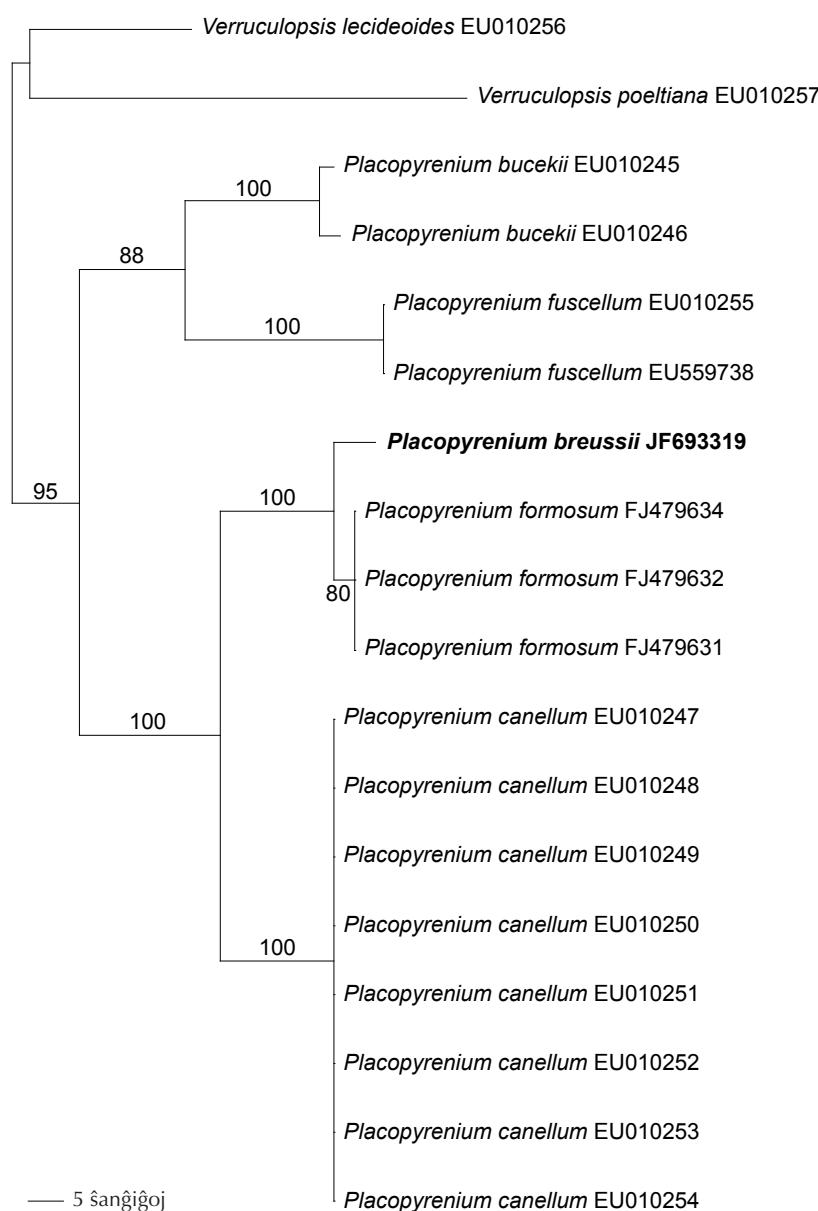


Fig. 16. Kladogenezaj rilatoj inter 18 specimenoj (el 7 taksonoj, el kiuj *Placopyrenium breussii*) de la grupo de *Placopyrenium* (vidu NAVARRO-ROSINÉS k al., 2007), ricevitaj per la sparega metodo. La buctrap-valoroj estas precizigitaj. La sekenco-numeroj de la specimenoj en GenBank estas indikitaj post la taksonomoj.

Fig. 16. Relation phylogénétiques entre 18 spécimens (appartenant à 7 taxons, parmi lesquels *Placopyrenium breussii*) du groupe de *Placopyrenium* (voir NAVARRO-ROSINÉS et al., 2007), obtenus par la méthode de parcimonie. Les valeurs de bootstrap sont précisées. Les numéros de séquences des spécimens dans *CeNBank* sont indiqués après les noms de taxons.

Pro la granda simileco inter iliaj sekvencoj, estintus eble taksi *P. breussii* subspecio de *P. formosum*, sed la du taksonoj tiel klare diferencas inter si pro ekologio (unu sekeja, la alia akveja) kaj du morfologiaj karakteroj (ĉeesto de ĉirkaŭtala hipotala linio bruna kaj sporoj kun distingebla halo 1–1,5 µm dikaj, karakteroj malestaj ĉe *P. breussii*), ke ŝajnas al ni preferinde apartigi ilin je la specia nivelo.

### DANKOJ

Ni dankas al Michel BERTRAND (Viens), Michel Duc GONINAZ (Aix-en-Provence) kaj Pere NAVARRO–ROSINÉS (Barcelona), kiuj kontrolis nian manuskripton.

En raison de la grande similitude de leurs séquences, il aurait été possible de considérer *P. breussii* comme une sous-espèce de *P. formosum*, mais ces deux taxons diffèrent si nettement l'un de l'autre par leur écologie (l'un xérophile, l'autre hydrophile) et par deux caractères morphologiques (présence d'une ligne hypothalline brune et spores munies d'un halo distinct de 1,5 µm d'épaisseur, caractères absents chez *P. breussii*) qu'il nous semble préférable de les séparer au niveau spécifique.

### REMERCIEMENTS

Nous remercions Michel BERTRAND (Viens), Michel Duc GONINAZ (Aix-en-Provence) et Pere NAVARRO–ROSINÉS (Barcelona) qui ont relu notre manuscrit.

## BIBLIOGRAFIO — BIBLIOGRAPHIE

- GARDES M. k T. D., 1993.— ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.*, 2: 113–118.
- GUEIDAN C., ROUX C. k LUTZONI F., 2007.— Using a multigene phylogenetic analysis to assess generic delineation and character evolution in *Verrucariaceae* (*Verrucariales*, *Ascomycota*). *Mycological Research*, 111: 1145–1168.
- MADDISON W. P. k MADDISON D. R., 2003.— *MacClade: Analysis of phylogeny and character evolution*, Version 4.6. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- NAVARRO–ROSINÉS P., ROUX C. k GUEIDAN C., 2007.— La genroj *Verrucula* kaj *Verruculopsis* (*Verrucariaceae*, *Verrucariales*). *Bull. Soc. linn. Provence*, 58: 133–180.
- ORANGE A., 2009.— Two parasitic species of *Placopyrenium* (*Verrucariaceae*) from freshwater habitats in north-west Europe. *Lichenologist*, 41(2): 131–139.
- ROUX C., 2011.— Liste des lichens et champignons lichénicoles non lichénisés de France. URL: <http://lichenologue.org/fr/>
- ROUX C. k TRIEBEL D., 1994.— Révision des espèces de *Stigmadium* et de *Sphaerellothecium* (champignons lichénicoles non lichénisés, *Ascomycetes*) correspondant à *Pharcidia epicymatia* sensu Keissler ou à *Stigmadium schaeferi* auct. *Bull. Soc. linn. Provence*, 45, Hommage scientifique à G. Clauzade: 451–542.
- ROUX C., MASSON M., BRICAUD O., COSTE C. et POUMARAT S., 2011a.— Flore et végétation des lichens et champignons lichénicoles de quatre réserves naturelles des Pyrénées–Orientales (France). *Bull. Soc. linn. Provence*, n° spéc. 14: 3–151.
- ROUX C., NORDIN A., TIBELL L. k SOHRABI M., 2011b.— Quelques espèces d'*Aspicilia* peu connues ou nouvelles des Pyrénées–Orientales. *Bull. Soc. linn. Provence*, n° spéc. 14: 177–227.
- SWOFFORD D. L., 2002.— *PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods)*. Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts..
- WHITE T. J., BRUNS T. D., LEE S., TAYLOR J. W., 1990.— Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: INNIS M.A., GELFAND D.H., SNINSKY J.J. k WHITE T.J. (kunord.), *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, Academic Press eld., San Diego (Usono), p. 315–322.