

VON HIMALAYA ZUM ZENTRALMASSIF: REDISCOVERY VON CRUSTODERMA FIBULIGERUM IN FRANKREICH

Gérard Trichies, Bernard DURAND, Karen K. NAKASONE et Pierre-Arthur MOREAU

Zusammenfassung

Crustoderma fibuligerum ist bisher von seinem einzigen ursprünglichen Standort in Indien bekannt kürzlich in Frankreich wiederentdeckt, an zwei verschiedenen Orten des Departements Creuse. Die entsprechenden Exemplare werden beschrieben, illustriert und kommentiert. Fotografien des Isotyps im Herbarium der University of Tennessee (USA), Knoxville (TENN), aufbewahrt werden unter der Voraussetzung. Eine phylogenetische Analyse der Gattungen *Crustoderma* und *Pycnoporellus* (*Pycnoporellaceae*) basierend auf der ITS-Region der ribosomalen DNA wird der Monophyletismus der Gattung *Crustoderma* vorgestellt wird auch diskutiert. Schließlich wird eine k rztliche Ernte der seltenen *Sad Crustoderma* dargestellt und ein Schlüssel Aktualisierung der Gattung *Crustoderma* wird vorgeschlagen. Schlüsselwörter: Basidiomycota, Polyporales, *Pycnoporellaceae*, *Pycnoporellus*, Phylogenie.

Abstrakt

Crustoderma fibuligerum, bisher nur aus Indien bekannt, wurde kürzlich in zwei F llen gesammelt Ortschaften im Departement Creuse, Frankreich. Die Proben werden beschrieben, illustriert und kommentiert. Fotos des Isotyps am Herbarium der Universität von Tennessee (TENN) sind ebenfalls unter der Voraussetzung.   phylogenetische Analyse der Gattungen *Crustoderma* und *Pycnoporellus* (*Pycnoporellaceae*) basierend auf der ITS-Region der ribosomalen DNA wird vorgestellt. Die monophyletische Gattung *Crustoderma* ist diskutiert. Schließlich wird eine aktuelle Sammlung der seltenen *Crustoderma*-Triste und ein aktualisierter Schlüssel dargestellt von *Crustoderma* zur Verfügung gestellt.

EINFÜHRUNG

Präsentieren Sie auf einem italienischen Forum mit einer mykologischen Berufung („Natura Mediterraneo“, Privater Zugang), einer von uns, Bernard Durand, ausführlich vorgestellt, Vor einigen Jahren sammelte sich ein ihm unbekannter Cortici  mehrmals, den er zu identifizieren suchte. Eine anschließende Überprüfung dieses Materials durch Gérard Trichies bestätigte die anfängliche Hypothese, nämlich die Zugehörigkeit zu diesen Exemplaren zur Gattung *Crustoderma* Parmasto. Allerdings nach Rücksprache mit der Literatur angemessen, insbesondere NAKASONE (1984, 1985) und GILBERTSON & NAKASONE (2003) schien keine Art dieser Gattung für die Rezeption dieser geeignet zu sein. Exemplare, hauptsächlich aufgrund der einzigartigen Kleinheit ihrer Sporen. Die Idee, mit einem zuvor unbeschriebenen Pilz umzugehen, blieb bestehen ziemlich lange, bis zu dem Tag, an dem uns nach sorgfältiger Lektüre eines schönen Werkes von DUUHEM (2009), das hauptsächlich *Crustoderma Sad* (Litsch. und S. Lundell) Duhem gewidmet war, eine kurze Notiz zum Abschluss dieses Artikels seine wahre Identität vorschlug nämlich *C. fibuligerum* (KS Thind und SS Rattan) Duhem. Dieses wurde zuerst durch Rückgriff auf die *Princeps*-Beschreibung dieser Art unter dem Namen *Peniophorafibuligera* (Tip & RATTAN, 1973), dann durch vergleichende morphologische Untersuchung französischer Proben und des Unisotyps des ursprünglichen Materials von *P. fibuligera* (Nr.   5341 TENN), Vergleich von Karen K. Nakasone, der mit der Spezifität dieser Materialien endet. Um unser Wissen über diese Art zu vervollständigen, haben wir eine Sequenzierung unserer verschiedenen Ernten durchgeführt. Wir präsentieren hier die Ergebnisse dieser Analysen, die es uns ermöglichen, diese Art innerhalb der Gattung zu positionieren, aber auch die Phylogenie der Gattung *Crustoderma* und der eng verwandten Gattung *Pycnoporellus* zu diskutieren, die in jüngsten Veröffentlichungen zu Polyporales (GARCIA-SANDOVAL) mit Unsicherheit positioniert wurden et al., 2011; Orriz-SANTANA et al., 2013; HAN et al., 2016; Jusro et al., 2017) und erst kürzlich in der Familie der *Pycnoporellaceae* Audet (AUDET, 2018a) versammelt.

1. 5, impasse des écoles, F-57700 Neufchef, France. trichies gerard@sfr.fr
2. Marcillat, F-23270 Jalesches, France. bernard.durand325@orange.fr
3. CenterforForest Mycology Research, Northern ResearchStation, U.S. Forest Service, One Gifford Pinchot Drive, Madison, WI 53726-2398, USA. knakasone@fs.fed.us
4. Faculté de pharmacie, EA 4483 IMPECS, universit  de Lille, BP 83, F-59006Lille cedex (France). pierre-arthur.moreau@univ-lille.fr

MATERIAL UND METHODEN

Morphologische und mikroskopische Untersuchungen

Die frischen Proben wurden mit einer Digitalkamera entweder vor Ort von Bernard Durand (Nikon Coolpix S8000) oder nach der Entnahme von Gérard Trichies (Nikon D70 S) fotografiert. Das Aussehen, die Struktur und die Farbe der Proben wurden in demselben Zustand sowie auf trockenem Material mit bloßem Auge oder unter Verwendung eines Stereomikroskops (Optika SZM-2) bei Vergrößerungen zwischen beobachtet 7 und 45 mal. Die Untersuchung der mikroskopischen Morphologie wurde von Bernard Durand mit einem Perfect Science Pro 5.5-Mikroskop und von Gérard Trichies mit einem Standard 20 Zeiss-Mikroskop durchgeführt, das mit einem A-Plan Ph2 x 40-Objektiv mit numerischer Apertur 0 ausgestattet war 65 und ein planapochromatisches Objektiv Ph3 x 100, numerische Apertur 1,3, bei 100-, 400- und 1000-facher Vergrößerung bei normalem Durchlicht oder im Phasenkontrast.

Die feinen Schnitte wurden unter einer Freihandlupe mit einer Rasierklinge gemacht. Das so gesammelte Material wurde in verschiedenen Umgebungen beobachtet:

- in Wasser, um die tatsächliche Farbe der verschiedenen Elemente zu bestimmen;
- in Baumwollblau, um mögliche Cyanophilie festzustellen;
- im Melzer, um eine mögliche Amyloidie oder einen Dextrinoidismus festzustellen.

Die Farbe der Sporen wurde an Sporen bewertet, die auf Glas- oder Plastikobjektträgern gesammelt wurden. Die Sporen wurden 1000-fach vergrößert und entweder in Wasser oder im Melzer unter Verwendung der Piximeter-Messsoftware (Version 5.9 R 1520, HENRIOT & CHEYPE, 2016) gemessen. Ihre Abmessungen werden in der üblichen prägnanten Form ausgedrückt: (mini) d, -m-dy (maxi) wobei [d; -dy] das verwendete Variationsintervall darstellt (jeweils die insgesamt festgelegten 1° - und 9° -Dezile von Messungen), m das arithmetische Mittel der Messungen und die Werte in Klammern die gemessenen Extrema; Der Quotient der Länge durch die Breite (Q) wird nach den gleichen Regeln notiert. Jede Sporenmessung wurde, sofern nicht anders angegeben, an einer Probe von 100 Sporen durchgeführt, die sich größtenteils im Profil befanden.

Molekulare Analysen

Die Extraktion und Amplifikation der ITS- und 28S-Regionen der ribosomalen Kern-DNA wurde von K. Draeger an der Universität von Wisconsin im Madison Biotechnology Center an vier *C. fibuligerum*-Ernten gemäß der bereits beschriebenen Technik durchgeführt. von LINDER & BANIK (2008) unter Verwendung von Primerpaaren ITS-IF / ITS-4 und LROR / LR7, dann ausgerichtet und auf der Sequencher 4.9-Software (GeneCodes Corporation) bearbeitet.

Ein Alignment von 43 ITS-Sequenzen, einschließlich der vier bereits erwähnten, und 39 weiteren, die von den Sequenzbanken GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) und UNITE (unite.ut.ee) heruntergeladen wurden, sowie die phylogenetische Analyse in Die maximale Wahrscheinlichkeit (ML, Abb. 1) dieser Ausrichtung wurde auf dem Portal www.phylogeny.lirmm.fr (DErEErER et al., 2008) unter PhyML 3.0 aLRT (Zwicki, 2006) unter Verwendung eines Modells von durchgeführt 'evolution GTR + I + [optimiert für den Datensatz. Zweigstützen wurden unter Verwendung des SH-aLRT-Tests geschätzt, der als signifikant angesehen wurde, wenn er größer als 0,8 war (Anisimova & GascuEL, 2006, AnisIMovA et al., 2011). Die übereinstimmende Analyse der 28S-Sequenzen wird hier nicht detailliert beschrieben.

Alle für diese Studie generierten Sequenzen sind in der GenBank hinterlegt (siehe Tabelle I unten).

Herbier de G. Trichies	Herb. CFMR	Lieu	Date	ITS	28S
GT14016		Chénérailles	22-1-2014	MK694735	MK694739
GTI5038	CFMR 57981	Chénérailles	4-5-2015	MK694734	
GT15040	CFMR 57982	Ajain	21-1-2015	MK694736	MK694740
GTI6019	CFMR 57983	Chénérailles	14-12-2016	MK694737	MK694741

Tabl. I. — Références et codes GenBank des séquences ITS et 28S générées pour cette étude.

G. TRICHIES, B. DURAND, K. K. NAKASONE et P.-A. MOREAU TAXINOMIE

Crustoderma fibuligerum (K. S.Thind et S. S. Rattan) Duhem,
Bull. Soc. mycol. France, 125 (3-4), p. 181 (2009, publié en 2010)

Basionyme : *Peniophora fibuligera* K. S. Thind et S. S. Rattan, *Mycologia*, 65 (6), p. 1253 (1973 ; publ. 1974).

Synonymes nomenclaturaux : *Ceraceomyces fibuliger* (« *fibuligerum* ») (K. S.Thind et S.S. Rattan) S.S. Rattan, *Bibl. mycol.*, 60, p. 248 (1977). *Phlebia fibuligera* (K.S. Thindet S. S. Rattan) Hjortstam, *Mycotaxon*, 54, p. 190 (1995).

Synonyme taxinomique possible : *Phlebia singularisa* Dhingra. *J. Indian Bot. Soc.* 84, p. 114 (2005).

Makromorphologie

Membranöses Basidiom (Taf. I, A bis E), weit verbreitet, selbst am wenig anhaftend das frische, daher leicht vom Träger trennbar. Während es trocknet, kommt es von woanders ab spontan, besonders in Richtung des Randes, der sich dann zusammenrollt; dieses Phänomen akzentuiert stark im Herbarium. Seine Oberfläche ist glatt, wellig oder schwach und unregelmäßig holprig, samtig unter einer starken Lupe aufgrund der scharfen Entstehung von Zystiden; seine Farbe ist zuerst weißlich, dann ein Erme gelblich mehr oder weniger akzentuiert, bis stellenweise cremig orange.

Verhältnismäßig dick, misst 0,5 bis 1,5 mm dick und verjüngt sich stark in Richtung Rand, der ein kurzes fibrilläres weißes Subiculum zeigt. Auf die Gebühr ist es fleischig und cerate in der Konsistenz, wird aber deutlich knorpelig, wenn es kommt von der Unterstützung. Während es trocknet, schrumpft es allmählich und härtet aus.

Die sofortige Reaktion, rot oder lila, wurde durch eine wässrige Lösung verursacht 10% Kali (KOH) auf der Oberfläche einiger frischer Proben.

Mikromorphologie

Monomitische Struktur, die zwei verschiedene Schichten bildet. Die subikuläre Grundlage, relativ dünn, besteht aus losen Hyphen, die parallel ausgerichtet sind auf das Substrat oder verheddert (Abb. 1, E), das sich plötzlich schräg aufrichtet gerade, wodurch ein sehr kompaktes Subhymenium gewundener Hyphen erzeugt wird, knotig, stark verwickelt, sogar agglutiniert und daher sehr wenig dissoziierbar. Die mäßig verzweigten Basalhyphen haben lange Artikel und regelmäßig kalibriert, mit fester Wand oder merklich auf 1 µm verdickt. Durch die Wirkung von Kali können sie sich lokal ausdehnen und kleine Hernien bilden (Abb. 1, F). Sie haben normalerweise einen Durchmesser von 3 bis 5 µm, aber das ist zuletzt erreicht und manchmal über 6 µm morgens. Der Großteil des Schnitts ist jedoch bestehend aus einer vertikalen Palisade aus verzweigten subhymenialen Hyphen, extrem kohärent und daher schwer zu trennen. Diese haben eine dünnwandig und merklich dünner als ihre subikulären Gegenstücke:

Sie haben einen Durchmesser von (1,1) 1,5 bis 3 (3,3) µm. Alle Hyphen sind hyalin glatte Wand mehr oder weniger geliert und mit konstanten Locken.

Melzers Reagenz bewirkt eine intensive und sofortige violette Farbe auf der Ebene der oberen subhymenialen Schicht (Taf. I, G). Diese Reaktion ist offensichtlich auf frischem Material, aber es bleibt bemerkenswert, wenn auch mit geringere Intensität bei Material, das bei Raumtemperatur auf natürliche Weise trocknet (Beobachtung in dieser Richtung für zehn Tage durchgeführt); die Farbe von betroffene Gewebe variieren von blau-violett über frisch bis violett danach. Jedoch, es lässt mit der Zeit allmählich nach und verschwindet schließlich weiter altes Material in Herbarium erhalten. Getestet unter dem gleichen Gesichtspunkt (K. K. N.),

Der Isotyp von *Peniophora fibuligera* (SSRattan Nr. 5341) zeigte nur eine vage dunkelgraues Pigment in einigen Abschnitten des subhymenialen Sitzes.

Sehr enge Basidien, ziemlich schwer einzeln zu isolieren, dicht claviform, tetrasporisch und mit einem lockigen Basalseptum; Sie messen 18-30 x 4,4-5,6 µm.

Sporen (Abb. 1, To und B; Tab. I) hyalin, dünnwandig und glatt, zylindrisch bis fest ellipsoid im Profil, manchmal leicht konkav auf der adaxialen Seite,

Nicht-Amyloid, Messung von (4) 4,2-5-5,8 (6) x (1,8) 2-2,5-2,8 (3) µm im Melzer (von vorne gesehen sehr etwas breiter), mit Q = (1,6) 1,8-7,9-2,8 (3).

G. TRICHIES, B. DURAND, K. K. NAKASONE et P-A. MOREAU

Mäßig häufige Cystidien (Abb. 1, C und D) (ca. ein Dutzend pro linearer Millimeter), deutlich erkennbar (von (30) 35 bis 60 (67) μm) und daraus Tatsache, bereits unter der Lupe bei 45-facher Vergrößerung aufgrund des Aussehens erkennbar samtig, dass sie mit der hymenialen Oberfläche kommunizieren. Sie messen (60) 85-100 (110) \times (3,5) 3,9-5,8 (6,7) μm . Fest und glatt, besonders in Richtung Basis sind sie unregelmäßig zylindrisch, manchmal nur geringfügig breiter in Richtung die Oberseite, die abgerundet ist. Nicht partitioniert, präsentieren sie gelegentlich eine Rückzugsteilung.

Untersuchtes Material

Die entsprechenden Exemplare stammen alle aus zwei Orten der Abteilung de la Creuse (Frankreich), Ajain und Chénéraillles, ungefähr zwanzig Kilometer. Sie wurden von liegenden Stümpfen gesammelt, geschält oder nicht,

Pseudotsuga menziesii (und möglicherweise *Abies alba*) eher stellenweise klar (Wegkante, Lichtung). Das Sternchen (*) kennzeichnet die Proben sequenziert.

1. Ajain (Le Grand Bois), ein einziger Ferienort auf 560 m Höhe. Sechs Ernten aufeinanderfolgend: 14. März 2012, 30. März 2013, 14. Februar 2014 (GT 14014), 21. Januar 2015 (GT 15040 * = CFMR 57982) und 12. Dezember 2016 (GT 16018).

2. Chénéraillles (Gemeindewald), vier benachbarte Stationen, durch einige getrennt Hunderte von Metern und zwischen 540 und 550 m Höhe gelegen. Vier Ernten: 8. Januar 2014 (GT 14015), 22. Januar 2014 (GT 14016 * = CFMR 57981 und GT 14017), 4. Mai 2015 (GT 15038 *; GT 15039) und 14. Dezember 2016 (GT 16019 * = CEMR 57983).

Die Erscheinungsdaten dieses Pilzes scheinen daher seinen Appetit widerzuspiegeln markiert für die Winterperiode.

3. Isotyp von?. *Fibuligera*: Indien, Himachal Pradesh, Mahasu, Khadralla, in *Ligno Cedri Deodarae*, 10. Oktober 1967, S. S. Rattan 5341 (TENN 38673).

DISKUSSION

Singularität von *Crustoderma fibuligerum*

Ursprünglich definiert, um nur *Corticium dryinum* Berk aufzunehmen. und mein.

Curtis, die Gattung *Crustoderma* Parmasto, lang monotypisch (PARMASTO, 1968) wurde sukzessive direkt oder durch Neuklassifizierung von Arten angereichert ursprünglich in anderen Gattungen beschrieben (*Corticium*, *Peniophora*, *Hyphoderma*, *Gloeocystidium*), das derzeit 19 Arten und eine Sorte erreicht

(INDEX FunGoRuM, 2018). Verursacht eine Braunfäule in ihrem Wirt,

Vertreter dieser Gattung zeichnen sich unter anderem durch ihre Dichte aus subhymeniale Struktur, die sie insbesondere von Arten ihrer unterscheidet morphologisch nächster Nachbar, die alte Gattung *Hyphoderma* s. lat., jetzt als heterogen angesehen, weil polyphyletisch (Larsson, 2007). Dazu Betreff ist anzumerken, dass *Peniophora fibuligera* auch durch letztere ging

REDISCOVERY VON CRUSTODERMA FIBULIGERUM IN FRANKREICH 19

Gattung (Hortstam, 1995) vor der Umklassifizierung in die Gattung *Crustoderma* von DuxeM (2009), immer noch auf morphologischen Grundlagen.

In Bezug auf die bemerkenswerte Reaktion von Melzers Reagenz

Von den französischen Kulturen von *C. fibuligerum* ist es sehr wahrscheinlich, dass es darauf ankommt das Alter des fraglichen Materials: sehr spektakulär in Bezug auf die Kosten, könnte es allmählich abschwächen und schließlich auf alten Proben verschwinden

Herbarium. Diese Hypothese wurde auch für unsere persönliche Ausrüstung bestätigt

der älteste (GT14014) stammt aus zwei Jahren, wo dieser Farbeffekt bereits deutlich zu erkennen ist mehr reduziert. In gleicher Weise haben Boni et al. (1997) hatten erwähnt

ein ähnliches Phänomen betrifft diesmal die Sulfoaldehydreaktion

Gliocystiden bei *Glæocystidiellaceae*. Nach diesen Autoren sind die Substanzen

Betroffen sind in diesem Fall sehr instabile und flüchtige Ester, und die Reaktion in

Die Frage, ob positiv oder nicht, ist nur bei Proben von Bedeutung

frisch oder vor kurzem gepflanzt. Im Fall von *Crustoderma fibuligerum* ist die

beleidigende Substanz (vermutlich Amyloidpolysaccharide) könnte,

auf die gleiche Weise chemisch im Laufe der Zeit oder während des Trocknens ändern

2 Kation des Materials.

Folglich ist es ratsam, dieses *C. fibuligerum* in den Schlüssel der Gattung einzuführen

Crustoderma, etabliert von NAKASONE (1984, 1985), was wir unten tun.

Darüber hinaus sollte angemerkt werden, dass *Phlebia singularisa* Dingra vielleicht ist

Artgenosse von *C. fibuligerum*. Diese Art, beschrieben und bekannt aus a

die einzige Ernte in Bhutan auf verrottendem Gymnospermholz,

ist *C. fibuligerum* in all seinen morphologischen Eigenschaften ähnlich,

mit Ausnahme der etwas größeren Sporen (4,5-6 x 2-3,5 µm).

In Bezug darauf bemerkt DHINGRA (2005) zweckmäßigerweise die Nähe von *P. singularisa* und *P. cornea* (Bourdot und Galzin) Parmasto, der derzeit in der Gattung *Crustoderma*.

Phylogenetische Vergleiche

Die an den ITS-Sequenzen durchgeführte phylogenetische Analyse (Abb. 3) bestätigt dies

die Spezifität der vier erzeugten Sequenzen (100% Ähnlichkeit auf der

gemeinsame Teile). Es gibt keine ähnliche Sequenz in den Basen von

angesehene Sequenzen; Die nächstgelegene Art wird anhand des ITS identifiziert

'*Crustoderma corneum*', ähnlich 93,2% (paarweiser Vergleich am

eine Ausrichtung von 601 gemeinsamen Positionen), die die Hypothese von a ausschließt

Spezifität der beiden Taxa, allgemein betrachtet von 97% von

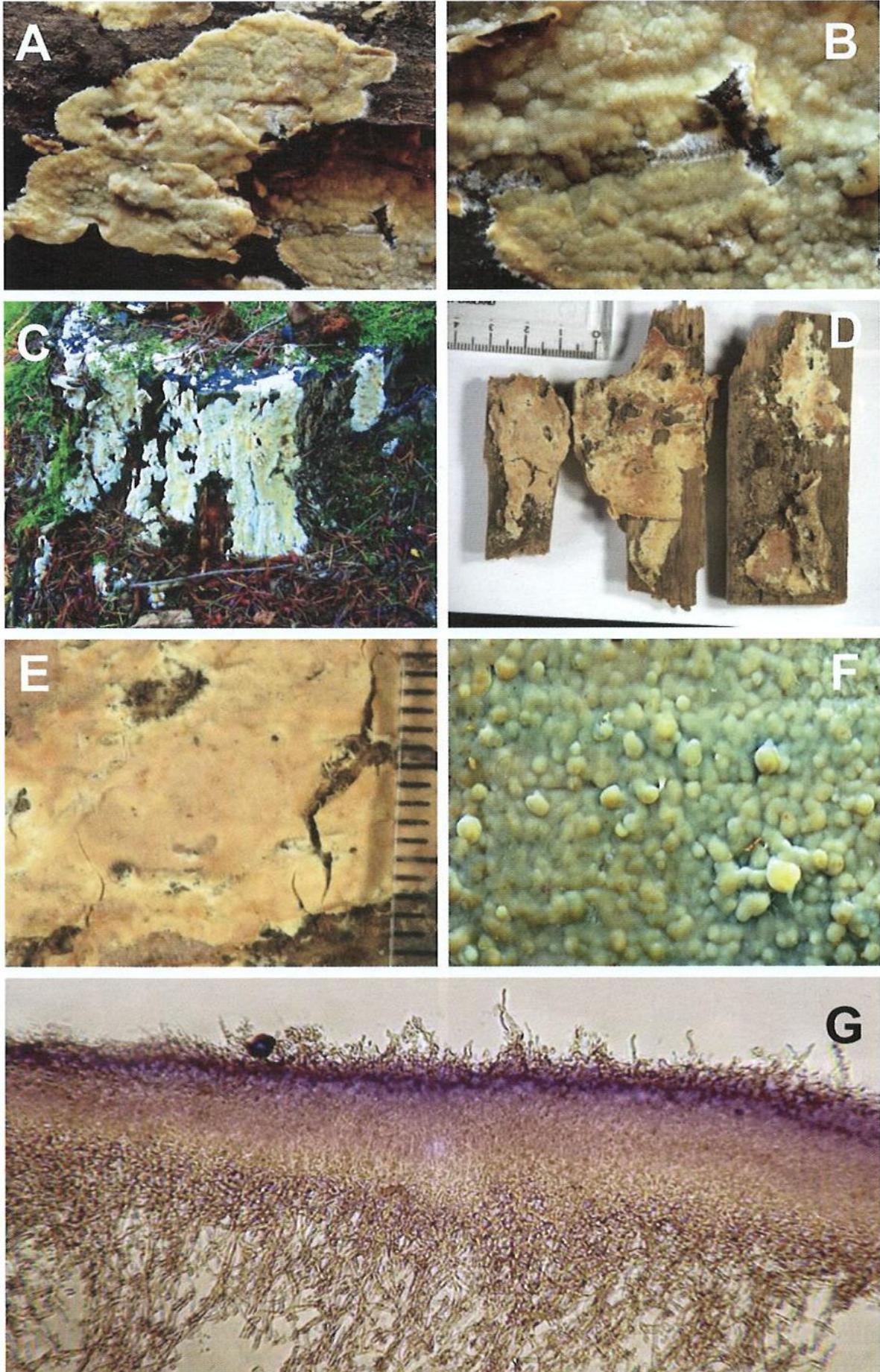
Ähnlichkeit auf ITS. Morphologisch ist *C. corneum* auch sehr

ähnlich wie *C. fibuligerum* in seiner völlig geilen Konsistenz (Hyphen

geliert) und alle seine Eigenschaften, außer Sporen, klar länger (9-12 x 5-6 µm) und Basidien,

ebenfalls doppelt so groß (40-60 x 18-9 µm) in *C. corneum*.

PLANCHE I



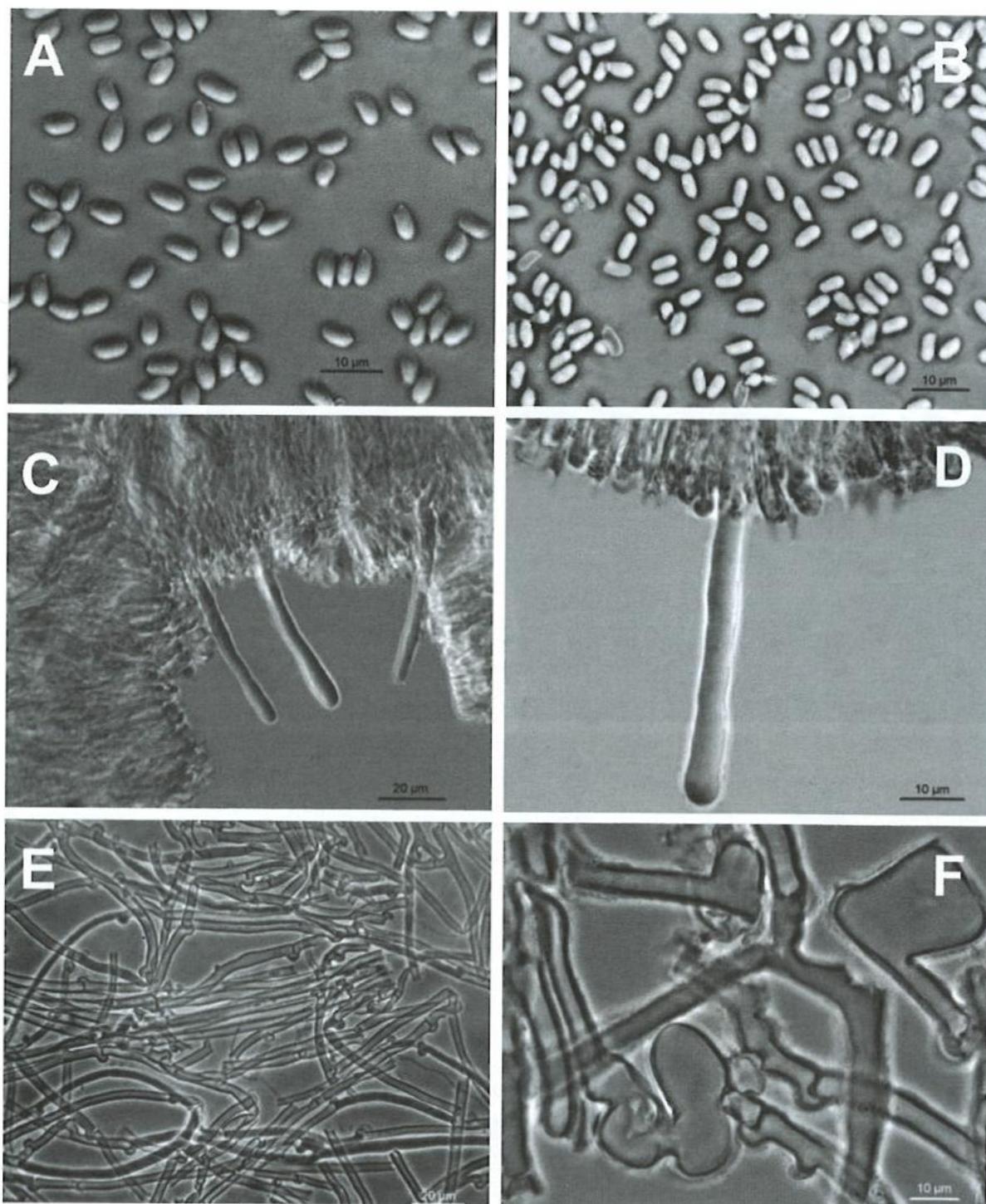


Fig. 1. — *Crustoderma fibuligerum*, coll. GT14015. **A** : basidiospores. **B** : basidiospores. **C, D** : cystides. **E** : hyphes basales. **F** : hyphes basales dilatées dans la potasse.

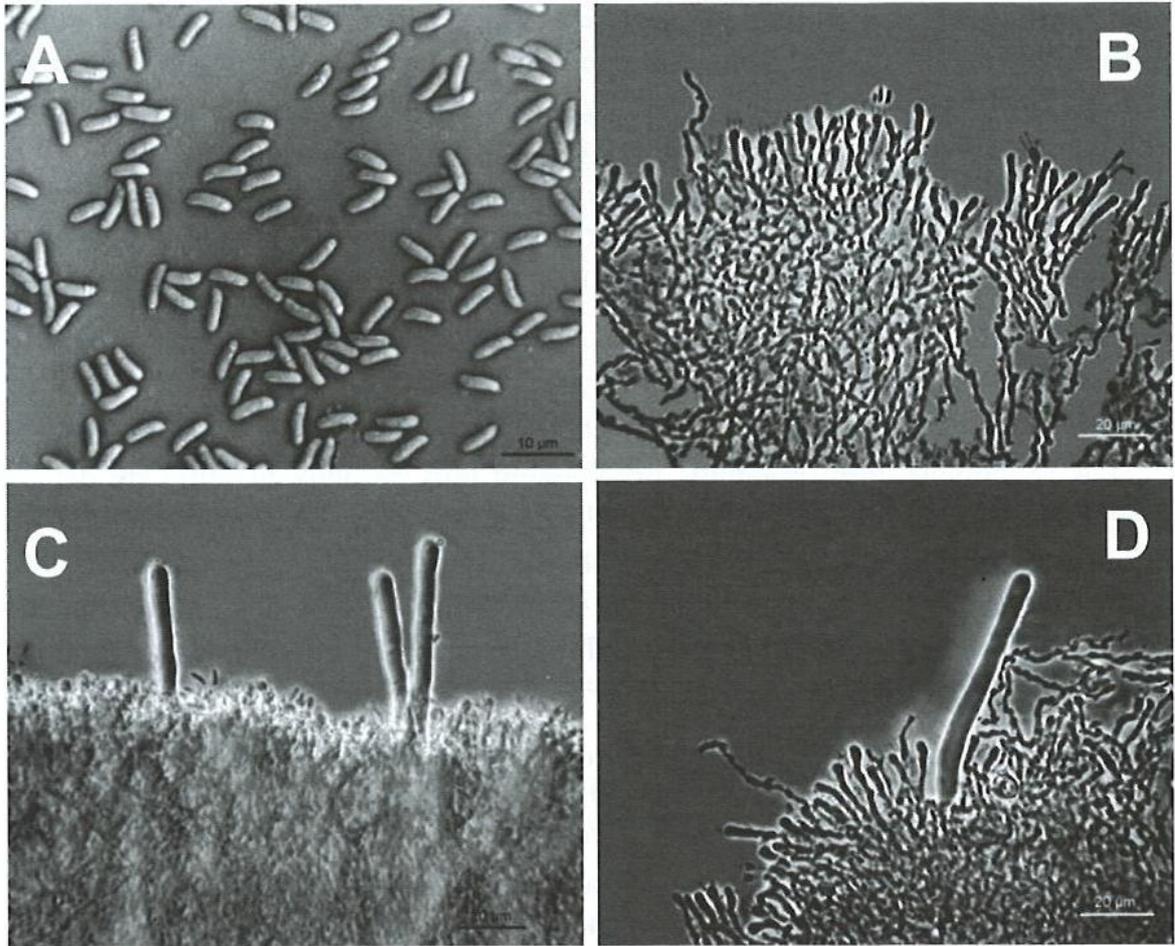


Fig. 2. — *Crustoderma triste*, coll. GT16002. **A** : basidiospores. **B** : hyménium et sous-hyménium. **C, D** : cystides.

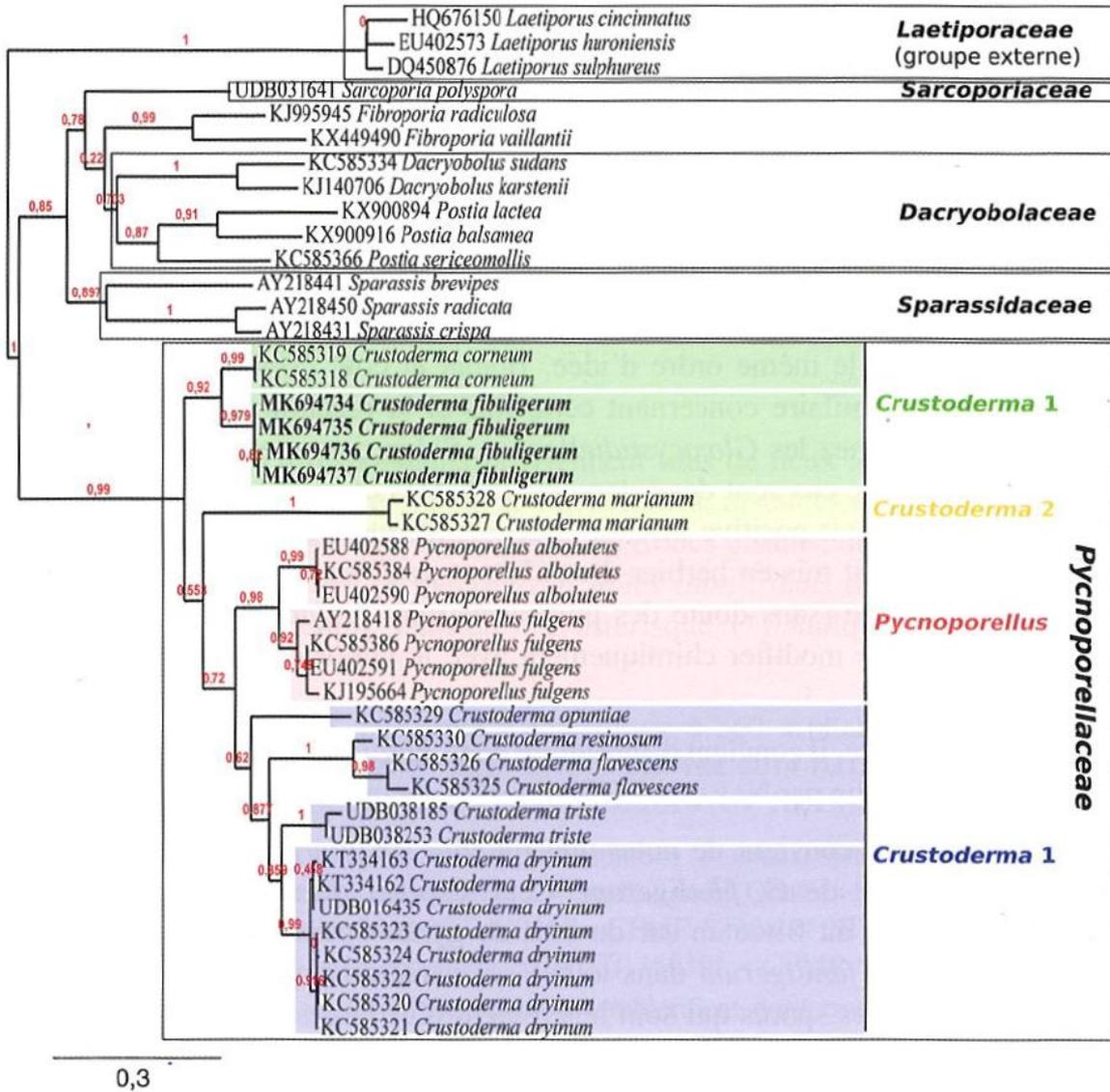


Fig. 3. — Reconstruction phylogénétique en maximum de vraisemblance (ML) de la région ITS de l'ADN ribosomal représentant la famille des *Pycnoporellaceae*, ainsi que les genres *Laetiporus* (*Laetiporaceae*, groupe externe), *Oligoporus* (*Dacrybolaceae*), *Sparassis* (*Sparassidaceae*), *Fibroporia* et *Sarcoporia* (*Sarcoporiaceae*), sélectionnés d'après Justo et coll. (2017).