

ENZO MUSUMECI

UNA RARA *PSATHYRELLA* FIMICOLA DAL TERRITORIO FRANCESE:
PSATHYRELLA SCATOPHILA ÖRSTADIUS & E. LARSS.

Riassunto

Viene segnalata la presenza di *Psathyrella scatophila* nel territorio francese di Saint Louis (Alsazia). La documentazione viene completata da una descrizione dettagliata del microclima di crescita e relativo substrato, da illustrazioni e tavola di microscopia. Nel processo di determinazione accanto alle chiavi dicotomiche classiche consultate (VAN WAVEREN, 1985; FOUCHIER, 1995) e altre di recente pubblicazione (LUDWIG, 2007; ÖRSTADIUS-LARSSON, 2008-2015; MELZER, 2015, web-online), si è reso necessario far ricorso anche al supporto molecolare (ALVARADO-Alvalab, 2015).

Abstract

The presence of *Psathyrella scatophila* is reported from French territory of Saint Louis (Alsace). The documentation is integrated by a detailed description of the microclimate of growth and its substrate, by illustrations and a table of microscopy. In the process of identification in addition to dichotomous keys classic consulted (VAN WAVEREN, 1985; FOUCHIER, 1995) and other recently published (LUDWIG, 2007; ÖRSTADIUS-LARSSON, 2008-2015; MELZER, 2015, web-online), it was necessary to resort to the molecular support (ALVARADO-Alvalab, 2015).

Key words: *Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricomycetidae, Agaricales, Psathyrellaceae, Psathyrella, scatophila.*

Materiali e metodi

La specie in habitat è stata fotografata con un dispositivo digitale Nikon 7600 della serie Coolpix, per le immagini di laboratorio e microscopia è stata utilizzata una Nikon Coolpix 4100. In microscopia è stato utilizzato un microscopio binoculare Leica DME con obiettivi acromatici; per specifiche ispezioni di dettaglio è stato utilizzato un obiettivo ad immersione planapocromatico.

Il materiale fresco è stato osservato in soluzione acquosa, KOH 3% o colorato con Rosso Congo, Blu cresile per verificare la reazione metacromatica nelle spore e nei tessuti imeniali. Il Blu di toluidina è stato utilizzato per evidenziare la presenza di strati gelificati nel rivestimento pileico.

Procedimento per l'analisi molecolare

Supporto molecolare di Pablo Alvarado – Laboratori Alvalab Santander (Spagna)

Extracción del DNA, amplificación y secuenciación: El DNA total fue extraído a partir de especímenes secos de herbario homogeneizando una porción de los mismos con ayuda de un micropistilo en 600 µL de buffer CTAB (CTAB 2%, NaCl 1.4 M, EDTA pH 8.0 20 mM, Tris-HCl pH 8.0 100 mM). La mezcla fue incubada durante 30 minutos a 65 °C. Un volumen equivalente de cloroformo: isoamilalcohol (24:1) fue añadido y mezclado con la muestra hasta su emulsión. Tras centrifugar la mezcla durante 10 min a 10000 g, el DNA en el sobrenadante fue precipitado con un volumen de isopropanol. Tras 15 minutos de centrifugación a la misma velocidad, el pellet fue lavado en etanol 70% frío, centrifugado de nuevo 2 minutos y secado. Finalmente, fue resuspendido en 100-300 µL de ddH₂O. La amplificación por PCR fue llevada a cabo con los primers ITS1F e ITS4 (WHITE ET AL., 1990;



Psathyrella scatophila in habitat.

Foto di Enzo Musumeci



Psathyrella scatophila in habitat.

Foto di Enzo Musumeci

GARDES & BRUNS, 1993) para la región ITS, y los primers B36f psa y B12r psa (NAGY ET AL., 2011), para el gen de la beta-tubulina. El programa de amplificación consistió en un hot start a 95 °C durante 5 min, seguido de 35 ciclos de 45, 30 y 45 seg a 94 °C, 54 °C y 72 °C, respectivamente, con una fase final de elongación a 72 °C durante 10 min. Los resultados fueron chequeados en un gel de agarosa al 1%, y las reacciones positivas fueron purificadas y secuenciadas con los mismos primers. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con los cromatogramas originales para detectar y corregir posibles errores de lectura.

Collezioni studiate:

3350-14 Saint Louis (Francia) - 1 Novembre 2014 - 8 esemplari
3227-14 Saint Louis (Francia) - 12 Novembre 2014 - 25 esemplari
3788-14 Saint Louis (Francia) - 12 Novembre 2014 - 5 esemplari
4235-14 Saint Louis (Francia) - 8 Dicembre 2014 - 10 esemplari

Ecologia-Habitat

Saint Louis (Francia), Dipartimento Haut Rhin (Alsazia), 1 novembre 2014. Temperatura: 8 °C-14 °C, Umidità: 88-72%. Zona collinare pianeggiante 245 m s.l.m.

Areale aperto, per lungo tempo esposto alla luce solare, nei pressi di impianti sportivi (campi di calcio e rugby), in tratto con aiuole su terreno sassoso-argilloso alluvionale, substrato a tratti finemente sabbioso ricco di carbonati, superficie ricca di piante arbustive ricoperta da detriti legnosi in decomposizione. Rinvenuti 8 esemplari (il totale delle 4 raccolte corrisponde a 50 esemplari), a contatto con residui legnosi di *Populus nigra* L. e terriccio ricco di humus degradato (probabilmente concimato).

Altre specie rinvenute nelle vicinanze: *Pholiotina mairei* Kühner ex Watling, *Pholiotina nemoralis* Harmaja, *Cyathus stercoreus* (Schwein.) De Toni, *Psilocybe flocculosa* Bas & Noordel., *Psilocybe xeroderma* Huijsman.

TASSONOMIA

Psathyrella scatophila Örstadius & E. Larss., *Mycol. Res.* 112(10): 1176 (2008)

Diagnosi originale

Pileus 5-20 mm *latus*, *primo semiglobatus*, *deinde convexus*, *brunneus*, *hygrophanus*, *striatus*, *in sicco pallide brunneus*; *velum squamuloso-floccosus paene usque ad medium*. *Lamellae adnatae vel anguste adnatae, distantes vel subconfertae, rufo-griseae*. *Stipes* 20-60 × 1-2.5 mm, *pallidus, apice pruinosis, deorsum squamulosus*. *Sporae* 8.5-10.5 × 4.5-5.5 μm, *oblongae, subcylindricae, ovoideae, interdum amygdaliformes, in aqua observatae ferrugineae; poro germinativo distincto*. *Basidia* 4-sporifera. *Pleurocystidia* 30-60 × 7-16 μm, *anguste fusiformia, lageniformia, numerosa*. *Cheilocystidia* 20-45 × 7-16 μm. *Cellulae veli* 30-300 × 5-35 μm. *Fibulae adsunt*. *Coprobria*.

Descrizione

Caratteri morfocromatici

Cappello 0,5-1,5 cm, subconico-campanulato indi campanulato-espanso, nella massima apertura mai disteso completamente, umbone assente o molto brevemente accennato. Cuticola in superficie igrofana, striata fino al disco, rivestita da rilevanti residui fioccoso-cotonosi biancastri, che al margine formano dei veri e propri festoni, poi gradualmente evanescenti negli esemplari maturi. Colore bruno-chiaro, bruno-nocciola, in una raccolta si evidenziavano dei toni decisamente più accentuati, bruno-scuro o perfino bruno-nerastro.

Lamelle mediamente fitte, mediamente consistenti, inizialmente pallide, bruno-crema poi bruno-nocciola. talvolta con leggere tonalità rosate, infine bruno-scure (bruno-nerastre in una raccolta). Filo biancastro.

Gambo 1,2- 4 × 0,1,5-0,2 cm, cilindrico, longilineo, a volte leggermente sinuoso, regolare o leggermente ingrossato in basso, rivestito interamente da rilevanti residui fioccoso-cotonosi biancastri più evidenti e voluminosi nel tratto medio-basso dove è anche visibile una zona subannulata abbastanza appariscente anche se non sempre bene evidenziata. Caulocute concolore al cappello o con tonalità decisamente più scure, bruno-nerastro (una raccolta).

Carne insignificante, odore nullo, sapore mite.

Polvere sporale bruno-scura, nerastra in massa

Caratteri microscopici

Spore 9-11(12) × 4-5(5,5) μm , lisce, bruno-ocra scure in KOH 3%, lungamente ellittico-ogivaliformi, con parete spessa, poro germinativo largo 1-1,2 μm , apicolo poco visibile molto brevemente accennato.

Basidi 17-27 × 8-11 μm , tetrasporici, raramente bisporici, subpiriformi a volte anche quasi sfropedunculati.

Trama imenoforale subregolare, ife larghe 5-28 μm , filamentose, subfisoloidi a tratti distintamente rigonfie, leggermente pigmentate, non incrostate.

Cheilocistidi 22-40 × 9-15 μm , numerosi sul filo lamellare dove formano una palizzata, prevalentemente subfusiformi ma anche sublageniformi, raramente anche subampulliformi con apice a volte sinuoso o rastremato e perfino mucronato, sovente rivestiti da una massa cristallina all'apice. Paracistidi, 15-22 × 10-17 μm , anch'essi numerosi, grandi, subpiriformi, claviformi, fino a sferopedunculati.

Pleurocistidi 35-53 × 8-12 μm , poco numerosi sulla faccia delle lamelle, prevalentemente subfusiformi, sublageniformi.

Epicute con rivestimento pileico non gelificato a struttura subimemiforme molto compatta, estremamente difficile da frammentare, composta da cellule di diversa tipologia, da subglobose, subpiriformi, largamente ellittiche fino a subfusiformi (20-60 × 12-35 μm). Ife di raccordo parzialmente incrostate.

Caulocute con caulocistidi, 35-70 × 10-30 μm , estremamente variabili nella forma, fusiformi, lageniformi, claviformi, sferopedunculati o di altra tipologia.

Velo con ife ialine non incrostate, larghe 6-25 μm .

Unioni a fibbia presenti.

Osservazioni

Con l'avvento delle analisi molecolari la ricerca scientifica ha ricevuto un ulteriore impulso mediante l'utilizzo di strumenti in grado di valutare con correttezza il processo evolutivo di determinazione, supportato dalla rapidità del processo di sequenziamento che permette di integrare con queste informazioni le osservazioni morfocromatiche e microscopiche. In campo micologico non di meno questo tipo di ricerca ha preso via via sempre più piede e il genere *Psathyrella* (Fr.) Quél. è stato in particolar modo studiato da questo punto di vista (MONCALVO ET AL., 2002; VELLINGA, 2004; MATHENY ET AL., 2006; PADAMSEE ET AL., 2008; VAŠUTOVÁ ET AL., 2008; NAGY ET AL., 2010).

Mentre nel loro ultimo contributo "*Molecular phylogenetics and taxonomy in Psathyrellaceae (Agaricales) with focus on psathyrelloid species: introduction of three new genera and 18 new species*"



Psathyrella scatophila. Particolari delle lamelle e del velo.

Foto di Enzo Musumeci



P. scatophila in habitat.

Foto di Enzo Musumeci



P. scatophila in habitat.

Foto di Enzo Musumeci



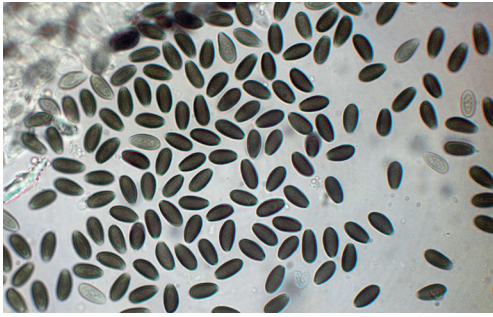
P. scatophila in habitat.

Foto di Enzo Musumeci



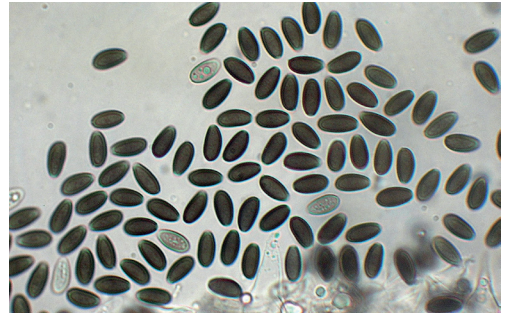
P. scatophila. Tipologia specie.

Foto di Enzo Musumeci



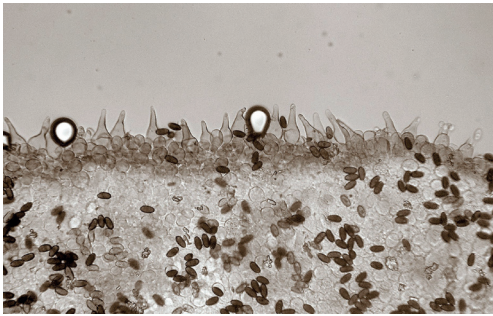
P. scatophila. Spore.

Foto di Enzo Musumeci



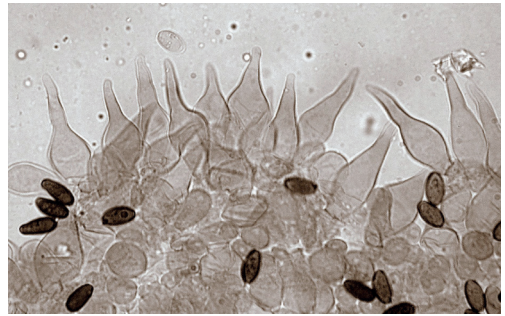
P. scatophila. Spore.

Foto di Enzo Musumeci



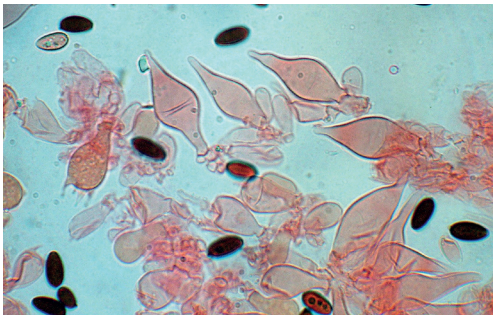
P. scatophila. Cheilocistidi.

Foto di Enzo Musumeci



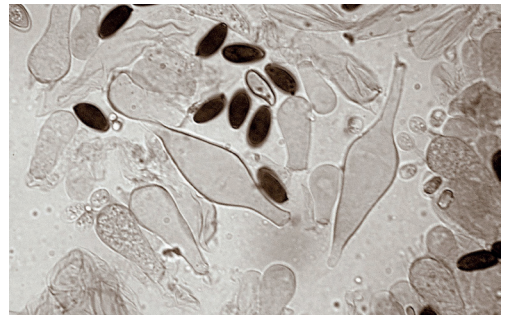
P. scatophila. Cheilocistidi.

Foto di Enzo Musumeci



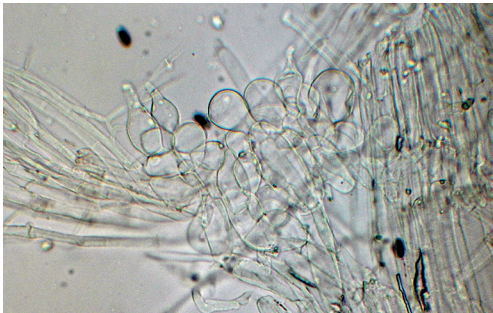
P. scatophila. Pleurocistidi.

Foto di Enzo Musumeci



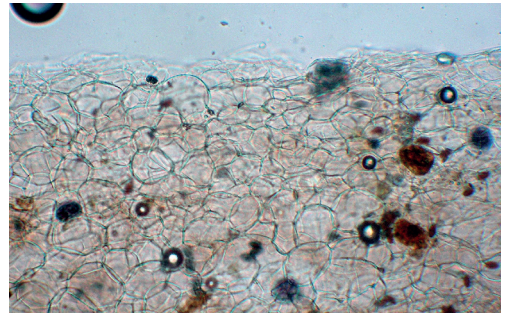
P. scatophila. Pleurocistidi.

Foto di Enzo Musumeci



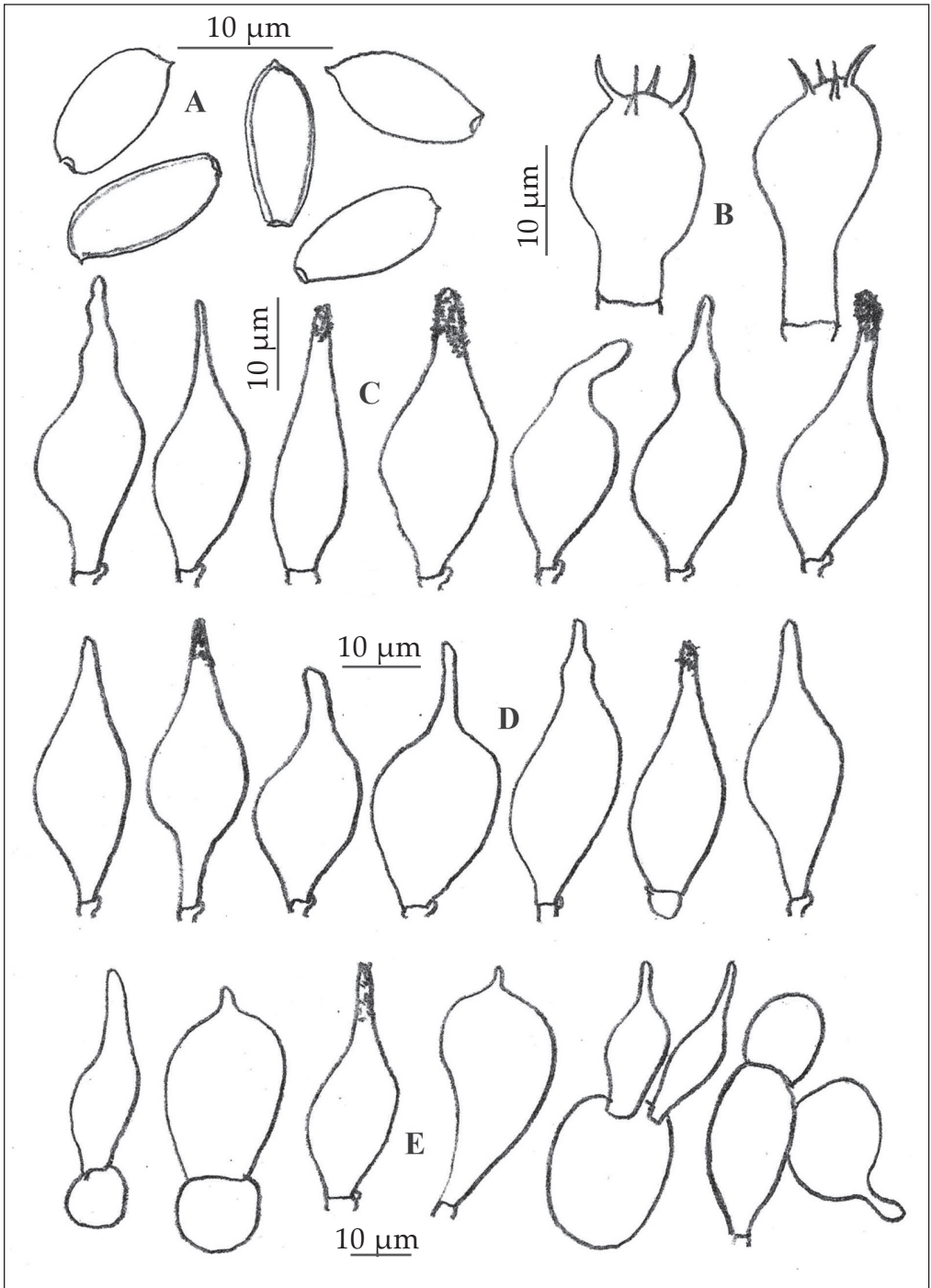
P. scatophila. Caulocistidi.

Foto di Enzo Musumeci



P. scatophila. Rivestimento pileico.

Foto di Enzo Musumeci



P. scatophila. A. Spore. B. Basidia. C. Cheilocistidi. D. Pleurocistidi. E. Caulocistidi.

Disegno di Enzo Musumeci

gli autori svedesi (ÖRSTADIUS, RYBERG & LARSSON, 2015) hanno per così dire rivoluzionato l'intero cluster di raggruppamenti. Essi, infatti, hanno introdotto alcuni nuovi generi o diviso in modo omogeneo, nel loro interno, altre specie la cui tipologia molecolare consentiva una assimilazione ad altri generi già esistenti, come per esempio *Psathyrella spadicea* (P. Kumm.) Singer ricombinata in *Homophron spadiceum* (P. Kumm.) Örstadius & E. Larss., *Psathyrella larga* (Kauffman) A.H. Sm. in *Kauffmania larga* (Kauffman) Örstadius & E. Larss., *Psathyrella gossypina* (Bull.) A. Pearson & Dennis in *Typhrasa gossypina* (Bull.) Örstadius & E. Larss., *Psathyrella hirtosquamulosa* (Peck) A.H. Sm. in *Cystoagaricus hirtosquamulosus* (Peck) Örstadius & E. Larss., *Psathyrella marcescibilis* (Britzelm.) Singer in *Coprinopsis marcescibilis* (Britzelm.) Örstadius & E. Larss.

Nonostante queste ricombinazioni, che potrebbero far pensare a uno smembramento epocale, il genere *Psathyrella* rimane invece saldamente ancorato ai suoi caratteri macro- e micromorfologici e per il ricercatore, come sempre, vale la regola di fare una buona descrizione dei caratteri microscopici al fine di un corretto inquadramento sistematico. Quindi per chi intendesse studiare a fondo il genere valgono alcune semplici regole a cui attenersi:

1. acquisire varie immagini fotografiche dei corpi fruttiferi nei vari stadi di maturazione (macrofotografie) in modo tale da poterle successivamente analizzare nel dettaglio al computer e rilevare tutte le peculiarità della specie che non erano percepibili dall'occhio umano sul luogo del ritrovamento;
2. verificare la presenza del velo nei giovani esemplari (molto importante!);
3. controllare se il filo delle lamelle è omomorfo o eteromorfo;
4. osservare la presenza o meno di una pseudoriza (tratto terminale del gambo affusolato-filiforme);
5. nella morfologia sporale verificare se la parete è subfaseoliforme (depressa lateralmente) o arrotondata;
6. controllare se il poro germinativo è evidente o meno e misurarne il diametro;
7. verificare la presenza o meno di cheilocistidi e pleurocistidi (evidenziarne con precisione le diverse tipologie con disegni al tratto);
8. verificare la presenza di una eventuale struttura cristallina all'apice dei cistidi (dovrebbe essere dapprima verificata in soluzione acquosa);
9. verificare la presenza di unioni a fibbia;
10. nel tratto della caulocute verificare la presenza di eventuali caulocistidi sull'intera superficie.

Psathyrella scatophila è una entità di recente classificazione (ÖRSTADIUS & LARSSON, 2008), rinvenuta dagli autori in alcune località della Finlandia e della Svezia sempre su escrementi animali, quali tasso, cavallo, mucca e alce, quindi una specie che predilige substrati fimicolo-coprofilo in ambienti nitrofilo ricchi di azoto ovvero che prospera su substrati ricchi di sali di azoto assimilabili. Nel corso dello studio dei ritrovamenti francesi delle 4 collezioni sui luoghi del ritrovamento ho avuto modo di verificare la totale assenza di escrementi animali in superficie o nelle vicinanze, quindi in generale si può affermare che la specie, pur prediligendo la crescita su escrementi animali, può prosperare, come nel caso delle raccolte francesi, anche su terreni ricchi di sostanze vegetali e residui legnosi in decomposizione. Probabilmente si può supporre che le aiuole ricche di terriccio, dove sono avvenute le raccolte, siano state precedentemente concimate da un miscuglio formato da letame animale e liquami e che con l'azione delle piogge abbiano invaso larghi strati del terreno amalgamandosi al substrato di crescita. Oltre alla sostanziale differenza di substrato

la specie evidenziava altre incongruenze con la diagnosi originale, quali la presenza di una zona subanulare, a volte ben definita, e i cheilocistidi distintamente più ingrossati. I dubbi sulla reale identità della specie imponevano allora una ricerca più accurata e alla fine ho preso la decisione di fare ricorso alle analisi di biologia molecolare per avere più certezze al riguardo.

Nel primo superficiale esame effettuato da Pablo Alvarado è apparsa evidente già una netta similitudine (99%) con *Psathyrella scatophila*, ma i presupposti (tenendo conto delle differenze riscontrate) consigliavano l'utilizzo di altri marcatori molecolari, come in effetti è stato fatto. Le ulteriori analisi hanno messo in rilievo una netta convergenza con la specie in esame, confermando in pieno l'analisi preliminare.

Ringraziamenti

Desidero esprimere i miei ringraziamenti a Francis Fouchier (Francia) e Marco Contu (Italia) per l'invio di letteratura, a Pablo Alvarado (Spagna) per le analisi di Biologia molecolare e ad Andreas Melzer (Germania) per la collaborazione.

Indirizzo dell'autore

ENZO MUSUMECI

5 Rue de la Pepinière - F 68300 Saint Louis (Francia).

E-mail: enzomusumeci@gmail.com

Bibliografia

- CONTU M. – 1991: *Psathyrella bivelata spec. nov., une nouvelle espèce sarde de la section Cystopsathyra*. In BSMF 107: 85-89.
- CONTU M & PACIONI G. – 1998: *Amanita cistetorum and Psathyrella liciosae*, two new Mediterranean species. In: Mycotaxon 69: 442.
- GARDES M & BRUNS T.D. – 1993: *ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts*. Molec. Ecol. 2: 113-118.
- ENDERLE M. – 1985: 8. *Beitrag zur Kenntnis der Ulmer Pilzflora: Bemerkenswerte Agaricales-Funde I*. Z. Mykol. 51(1): 5-42.
- ENDERLE M. – 1998: *Studien in der Gattung Psathyrella, VII*. Z. Mykol. 64(2): 217-231.
- ENDERLE M. – 2000: *Studien in der Gattung Psathyrella, VIII*. Z. Mykol. 66(1): 3-26.
- ENDERLE M. – 2004: *Die Pilzflora des Ulmer Raumes*. Ulm: Südd. Verlagsgesellschaft.
- FOUCHIER F. – 1995: *Le Genre Psathyrella (Fr.) QuéL. Flore des espèces européennes et méditerranéennes (avec clé dichotomique d'après Kits van Waveren)*. FAMM Monogr. Mycol. 1: 6-97.
- KITS VAN WAVEREN E. – 1985: *The Dutch, French and British species of Psathyrella*. Persoonia Suppl 2:1-300.
- LARSSON E & ÖRSTADIUS L. – 2008: *Fourteen coprophilous species of Psathyrella identified in the Nordic countries using morphology and nuclear rDNA sequence data*. Mycol. Res. 112:1165-1185.
- LUDWIG E. – 2007: *Pilzkompandium. Band 2*. Fungikon. Berlin.
- MATHENY P.B., CURTIS J.M., HOFSTETTER V., AIME M.C., MONCALVO J.M., GE Z.W., YANG Z.L., SLOT J.C., AMMIRATI J.F., BARONI T.J., BOUGHER N.L., HUGHES K.W., LODGE D.J., KERRIGAN R.W., SEIDL M.T., AANEN D.K., DENITIS M., DANIELE G.M., DESJARDIN D.E., KROPP B.R., NORVELL L.L., PARKER A., VELLINGA E.C., VILGALYS R. & HIBBETT D.S. – 2006: *Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview*. Mycol. 98: 982-995.
- MELZER A. – 2015: *Provisorischer Schlüssel: Psathyrelloide Arten* - <http://www.vielepilze.de/>.

- NAGY L.G., URBAN A., ÖRSTADIUS L., PAPP T., LARSSON E. & VÁGVÖLGYI C. – 2010: *The evolution of autodigestion in the mushroom family Psathyrellaceae (Agaricales) inferred from Maximum Likelihood and bayesian methods.* Mol. Phylogenet Evol. 57:1037–1048.
- NAGY L.G., WALTHER G., HÁZI J., VÁGVÖLGYI C. & PAPP T. – 2011: *Understanding the Evolutionary Processes of Fungal Fruiting Bodies: Correlated Evolution and Divergence Times in the Psathyrellaceae.* System. Biol. 60(3): 303-317.
- ÖRSTADIUS L. & KNUDSEN H. – 2012 : *Psathyrella (Fr.) Qué.* In: KNUDSEN H. & VESTERHOLT J. (eds), *Funga Nordica. Agaricoid, boletoid, cyphelloid and gasteroid genera.* Nordsvamp, Copenhagen, pp. 692–728.
- ÖRSTADIUS L., RYBERG M. & LARSSON E. – 2015: *Molecular phylogenetics and taxonomy in Psathyrellaceae (Agaricales) with focus on psathyrelloid species: introduction of three new genera and 18 new species.* Mycol. Progr. 14:25:1-42.
- VÁŠUTOVÁ M., ANTONIN V. & URBAN A. – 2008: *Phylogenetic studies in Psathyrella focusing on section Pennatae and Spadiceae—new evidence for the paraphyly of the genus.* Mycol. Res. 112:1153–1164.
- VELLINGA E.C. – 2004: *Generainthe Agaricaceae—evidencefromnr ITS and nr LSU sequences.* Mycol. Res. 108:354–377.
- WHITE T.J., BRUNS T., LEE S. & TAYLOR J.W. – 1990: *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetic,* pp. 315–322, in *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (INNIS M.A., GELFAND D.H., SNINSKY J.J., WHITE T.J., eds.). Academic Press Inc., New York.