

***Psathyrella magnispora* (Heykoop & G. Moreno) - 2001 - Z. Mykol. 67(1): 56**

Fiche provisoire en attendant davantage de récoltes et de photo in situ

D. Deschuyteneer, J. Guinberteau & Dieter Wächter

Synonyme important : *Psathyrella mesobromionis*

Etymologie : liée à ses larges spores



Photo J. Guinberteau, Hautes-Alpes, 15-11-2018.

Forêt de FAYE, *Quercion pubescenti* clairié, *Mesobromion* au sein d'une prairie enclavée en présence de nombreux cortinaires.

Récolte séquencée 2019-1204-ALV19371- DD-MA-JG dont l'ITS correspond à 99,85% *Psathyrella magnispora* (KC992863)

Photos et dessins extraits de l'article d'Andreas Melzer : *Psathyrella magnispora* in Deutschland, dans Boletus Band 33 (2011).



Abb. 1: *Psathyrella magnispora*, Kollektion AM 1444 (Foto: A. MELZER).

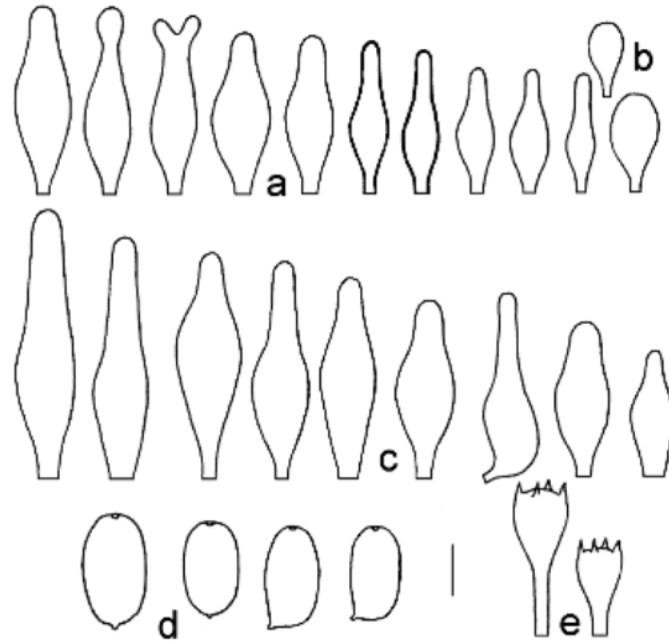


Abb. 3: Mikromerkmale von *Psathyrella magnispora* - a: Cheilozystiden, b: clavate Marginalzellen, c: Pleurozystiden, d: Sporen, e: Basidien. Maßstab: 5 μm für Sporen, 10 μm für sonstiges (Zeichnung: A. MELZER).



Abb. 2: *Psathyrella magnispora*, Kollektion AM 1455 (Foto: H. SCHUBERT).



Ecologie : espèce se développant de manière typique en prairie sèche calcaire.

Distribution : outre cette récolte en France, l'espèce a également été récoltée en Autriche, Allemagne, Hongrie et Espagne.

Description macroscopique

Chapeau de 5-25(30) mm de diamètre, initialement convexe, devenant plan convexe, pourvu d'un large umbon obtus, de coloration initiale brun grisâtre avec une très légère touche de porphyre violeté (teintes froides), devenant au disque plus bai-rougeâtre à marron à maturité par détersion d'un véлум finement aranéeux, et subsistant de façon marginale ou antémarginale. Hygrophane, il décolore en crème beige le centre restant initialement plus coloré. La marge piléique est typiquement festonnée-crênelée à maturité, voire un peu plissée par empreinte des lames sous-jacentes.

Lames larges de 5-7 mm, remarquablement ventruées et espacées, débordant la marge du chapeau, alternant avec lamelles et lamellules, largement adnées et décurrentes par une dent, arête discrètement fimbriée blanche.

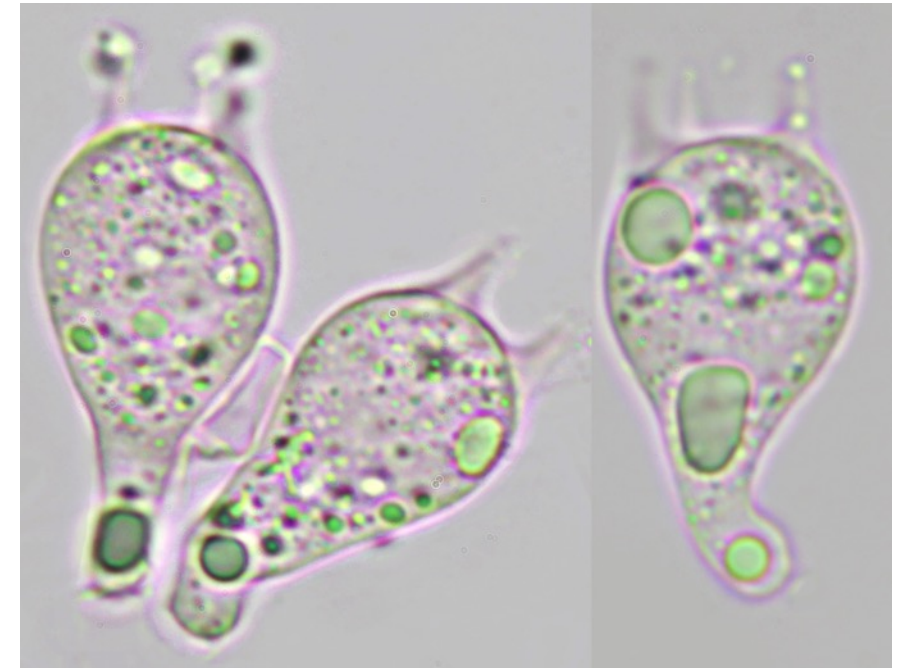
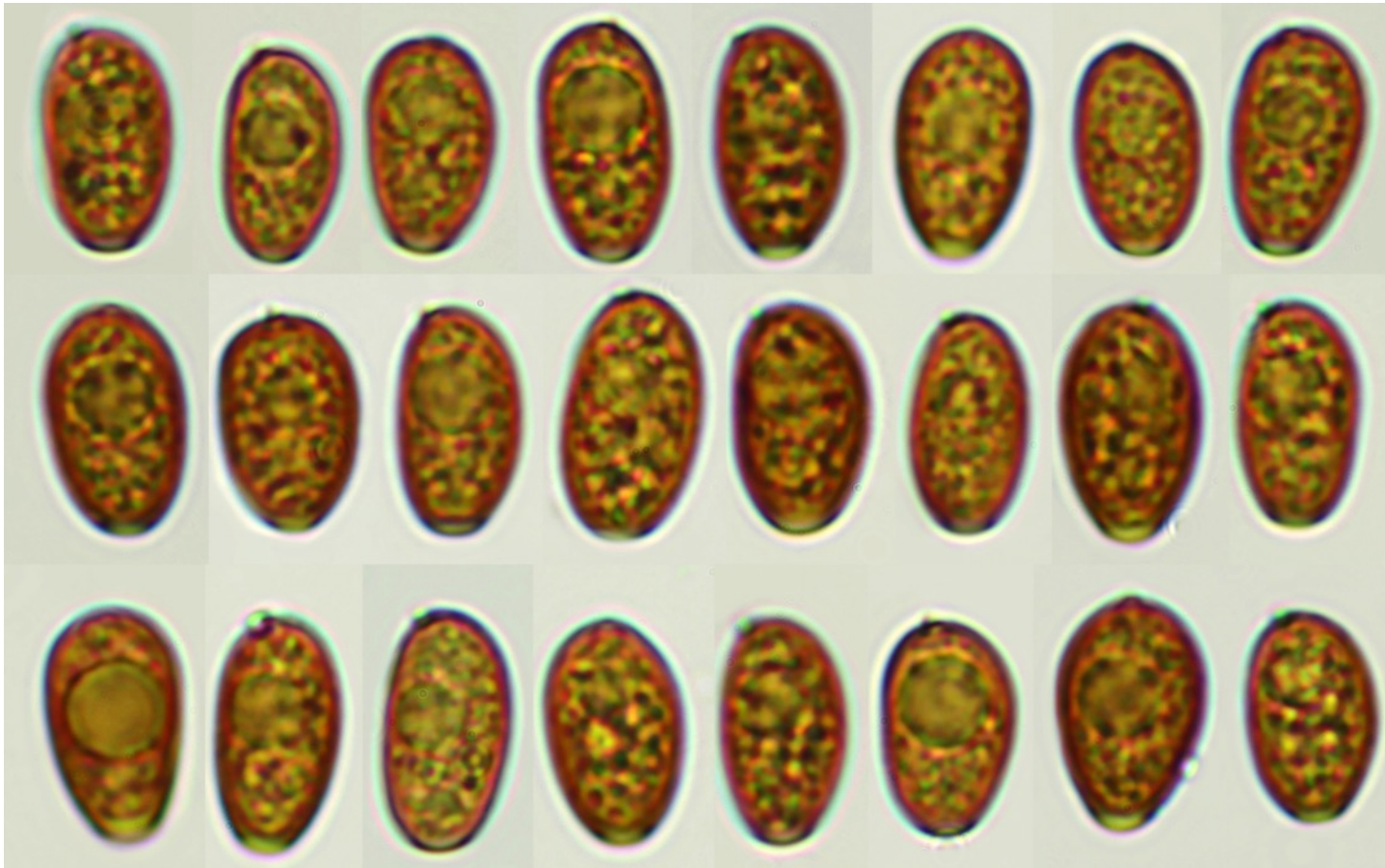
Stipe : 20-45 x 2-4 mm, blanchâtre à ocracé dans sa moitié inférieure, prumineux au sommet, **finement fibrilleux** (restes de voile), cylindrique, creux, à base légèrement élargie.

Chair blanchâtre à beige, odeur et saveur sans particularité.

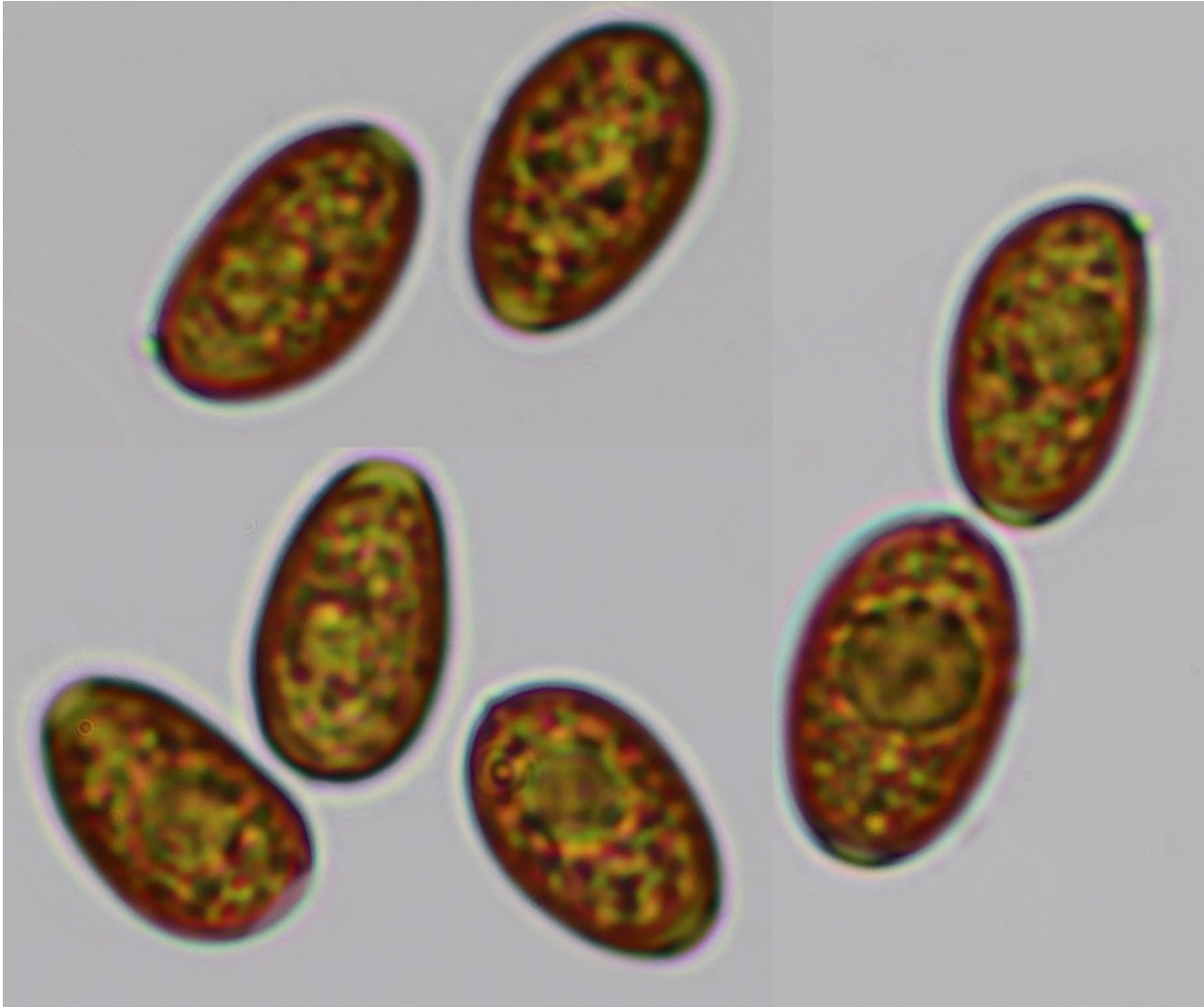
Description microscopique réalisée sur exsiccata de la récolte de J. Guinberteau – Photos D. Deschuyteneer

Basides mesurant (N = 10) $(36,4)37,9-42,7(44,5) \times (18,9)20,2-22,6(22,9) \mu\text{m}$; Me = $40,1 \times 21,1 \mu\text{m}$ tétrasporiques, clavées, densément guttulées dans cette récolte, un aspect que nous n'avons pas relevé dans la littérature et qui mérite d'être précisé lors de prochaines observations sur du frais.

Spores lisses, brunes dans NH_4OH , non opaques, ellipsoïdes, ovoïdes, oblongues de face, asymétriques et amygdaliformes de profil, souvent **guttulées**, au **contenu intensément granulaire**, à pore germinatif conique, apparaissant large (comme le décrit E. Arnolds), distinct et faisant parfois protrusion, alors qu'il est décrit comme peu distinct, correspondant à un simple callus et n'est pas observé en microscopie électronique (SEM) par Heykoop et Moreno (op. cit.).



Les sporées épaisses de 2 x 2 basidiomes ont été examinées et 203 mesures ont été effectuées à l'aide du logiciel Piximètre.



Les mesures ci-après sont parfaitement cohérentes et similaires aux dimensions reprises dans la littérature.

Piximètre: (9,3)10,2-11,1(11,7) × (5,6)-6,8(7,1) μm

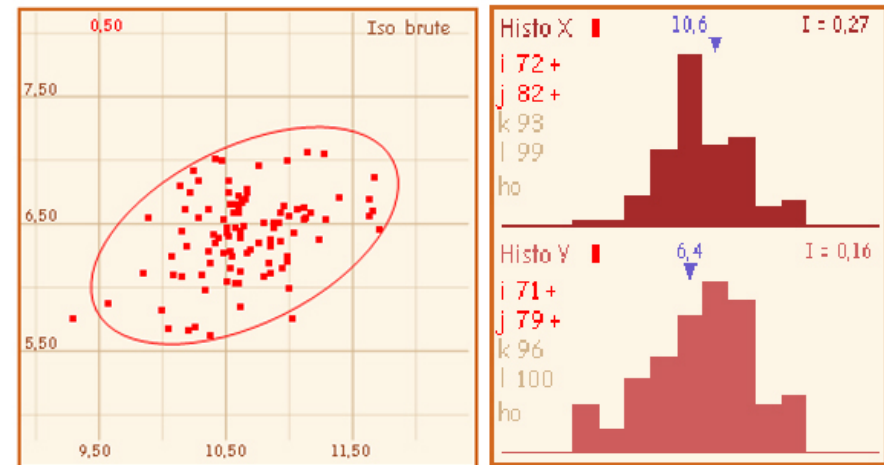
Q = (1,5)1,6 - 1,8(1,9) ; **N = 100**

Me = 10,6 × 6,4 μm ; Qe = 1,7

Piximètre: (9,4)9,9-11,3(12) × (5,1)5,9-6,9(7,7) μm

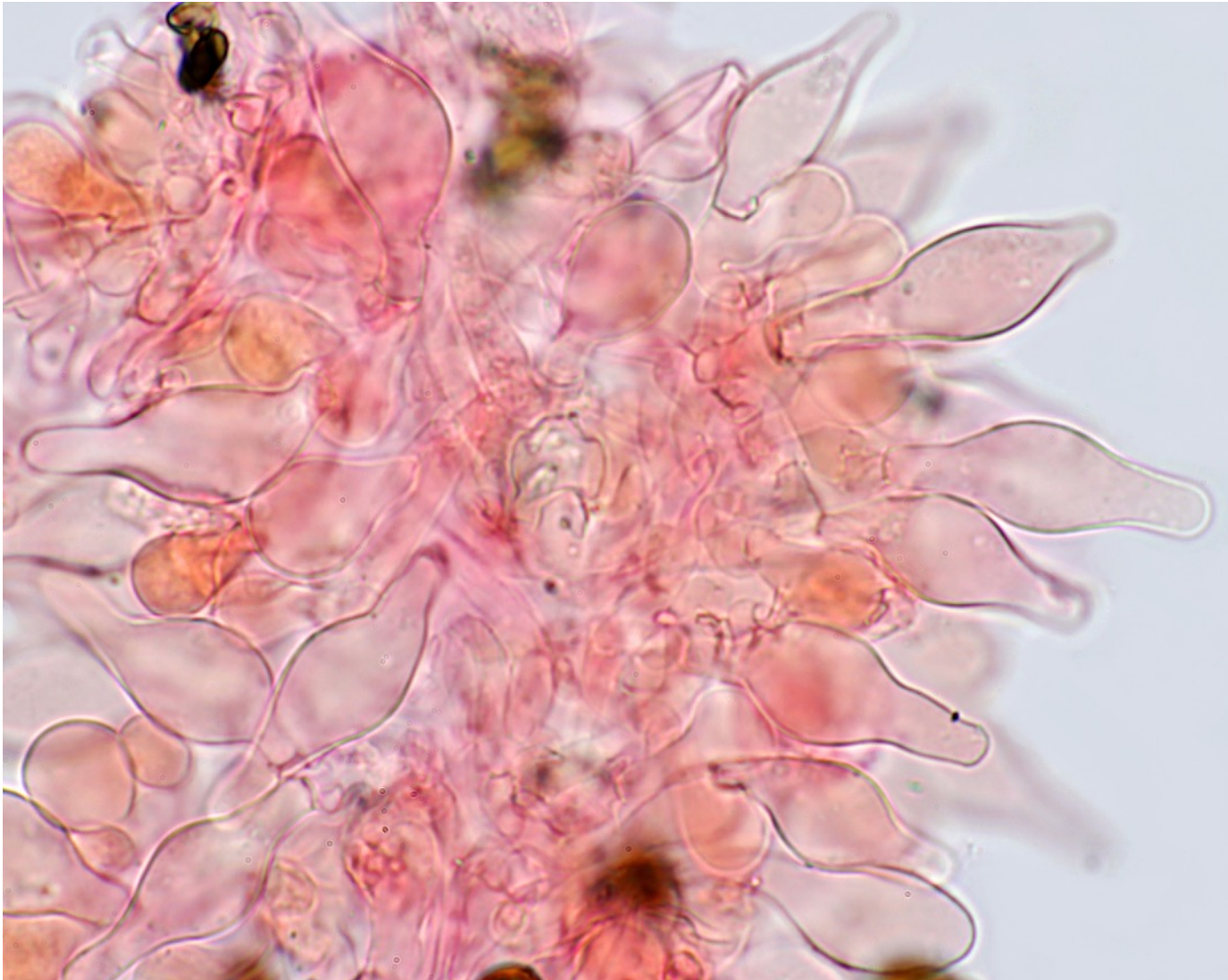
Q = (1,4)1,5 - 1,8(2,1) ; **N = 103**

Me = 10,6 × 6,4 μm ; Qe = 1,7

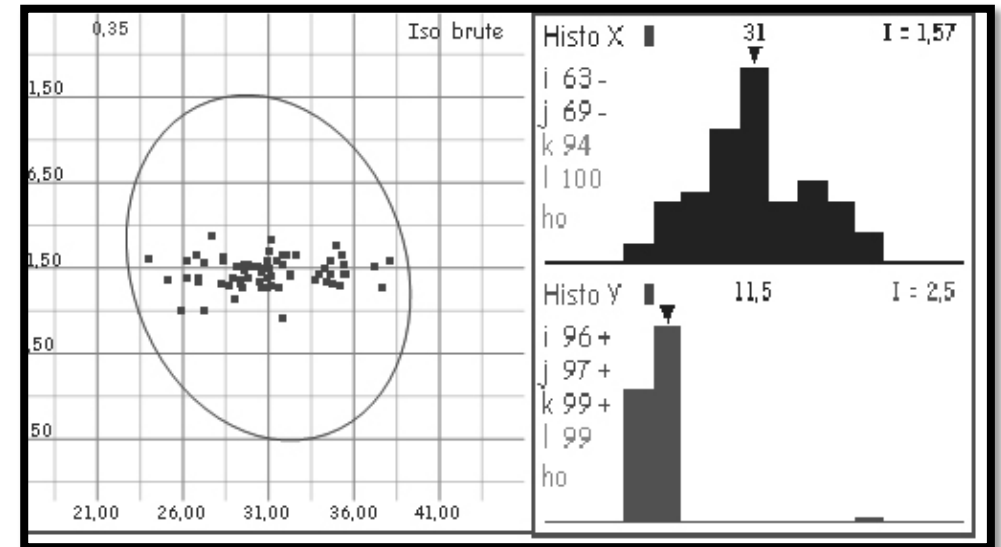


Cheilocystides abondantes, sublagéniformes à plus courtement utriformes, à col généralement court, large et progressif, à sommet obtus, parfois subcapité, rarement fourchu, à base peu ou pas pédicellée.

Paracystides clavées et sphéropédunculées, peu nombreuses, masquées par les cheilocystides, plus fréquentes à proximité de la marge du cha-peau.



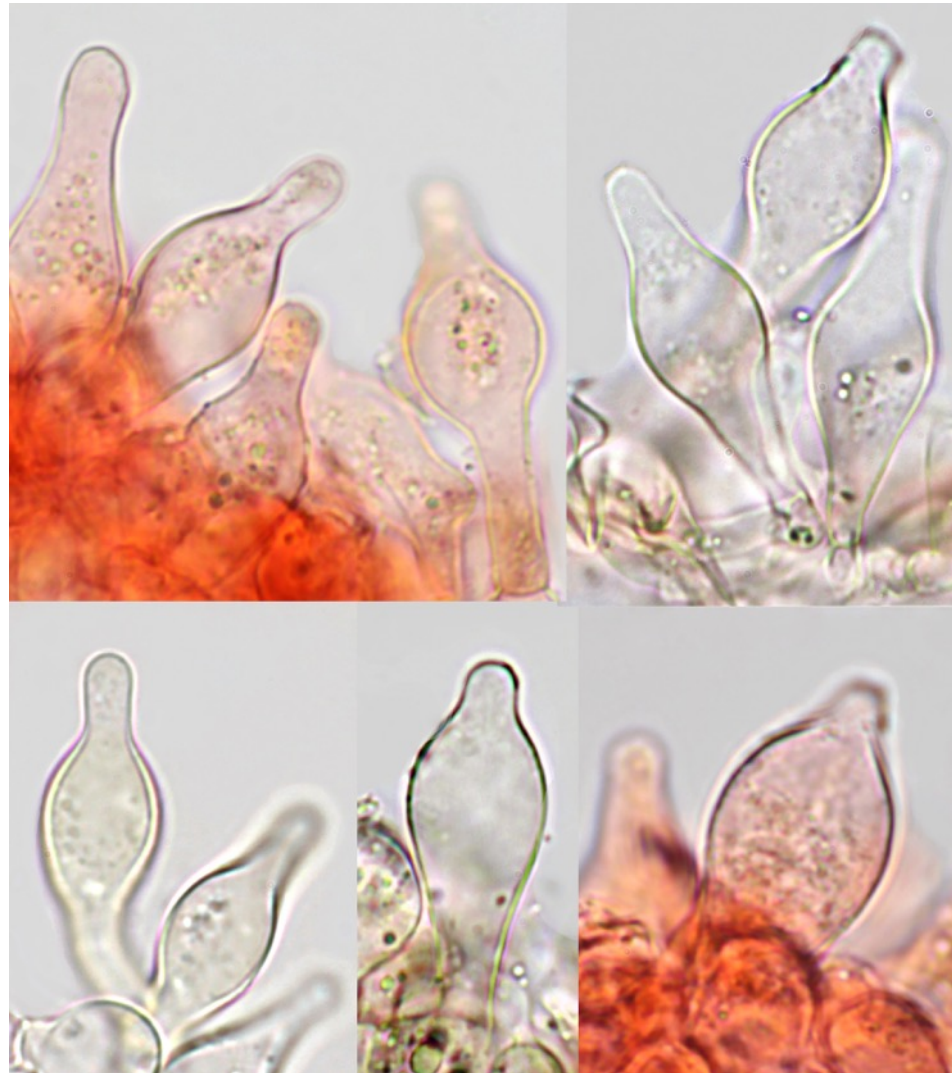
Cheilocystides mesurées avec Piximètre : **N = 70**
(24)26,9-35,2(38,1) × (8,5)10,4-12,3(31) μm
Me = 31 × 11,5 μm .



Typiquement pour cette espèce, certaines cheilocystides présentent une **paroi épaisse** (jusque 2 μm), **colorée**, et **sont teintées de beige verdâtre dans le NH_4OH à 10 %**.

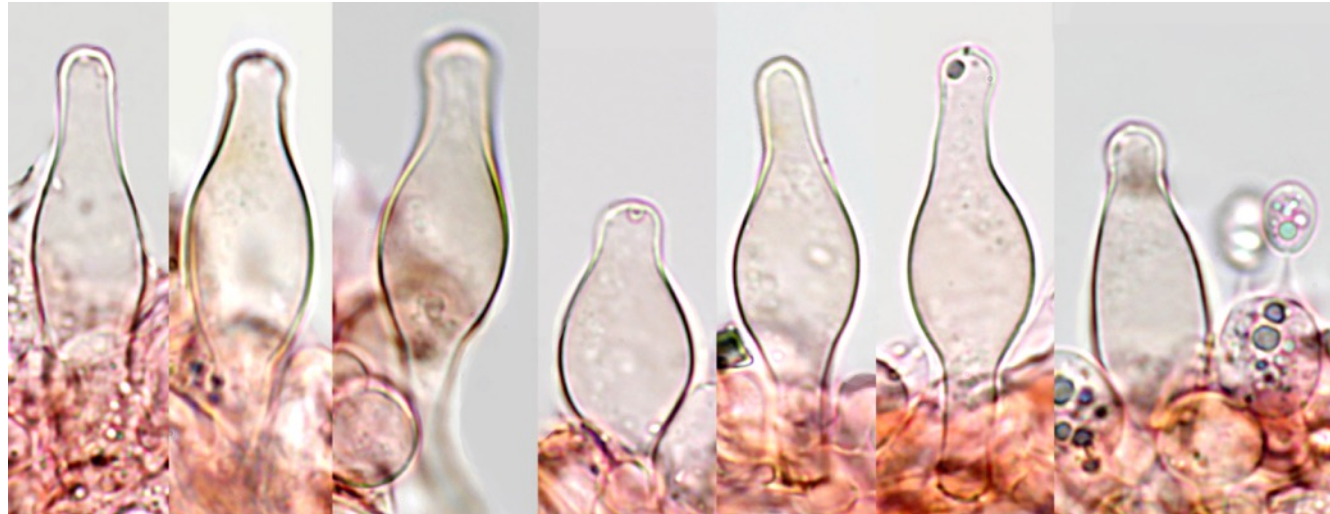
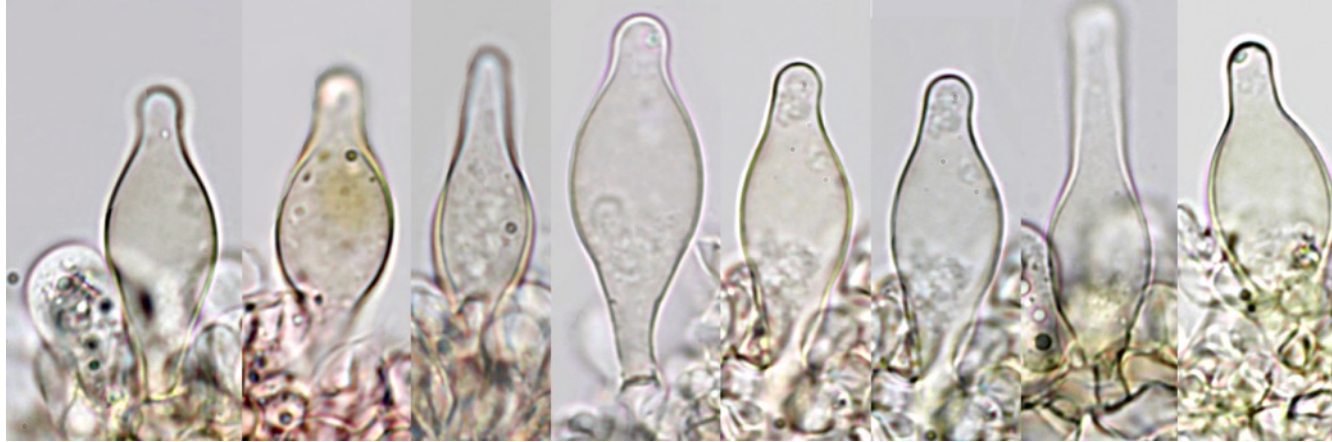
L'épaississement pariétal étant modéré, il peut échapper à un examen trop rapide et doit être activement recherché.

La coloration intracellulaire par contre est assez facile à observer. Toutefois, selon A. Melzer, ces caractères n'apparaîtraient que sur les exemplaires arrivés à maturité.

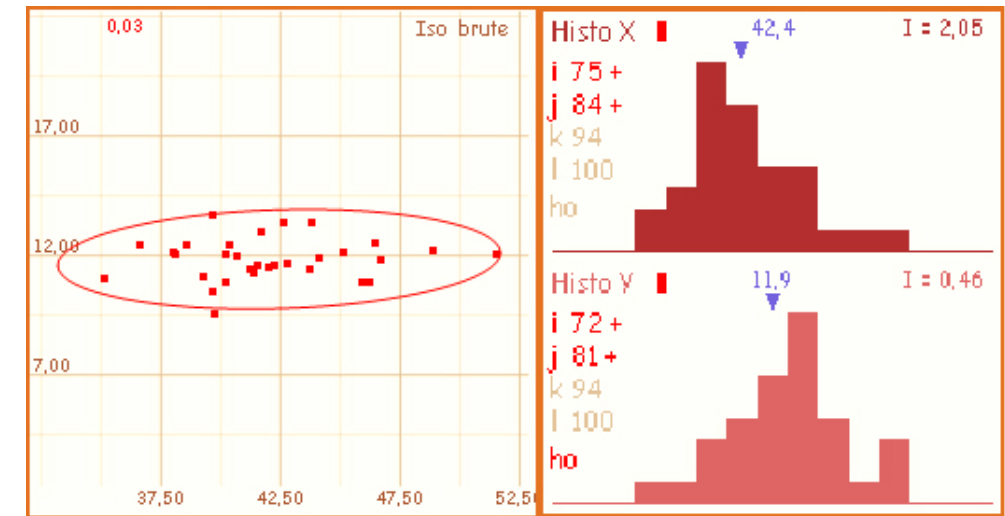


Pleurocystides nombreuses, sublagéniformes à plus souvent utriformes, à col court et large ou parfois plus allongé et cylindrique et à sommet obtus, rarement fourchu, peu ou pas pédicellées.

On est frappé par l'**aspect beige verdâtre du cytoplasme** (difficile à traduire en photo et il faut être attentif pour le percevoir) de pratiquement toutes les pleurocystides des deux exemplaires matures que nous avons observés, ainsi que par l'**épaississement pariétal coloré**.



Pleurocystides mesurées avec Piximètre : N = 32
(35,2)38,1-46,7(53,7) × (9,6)10,9-13(13,7) μm
Me = 42,4 × 11,9 μm



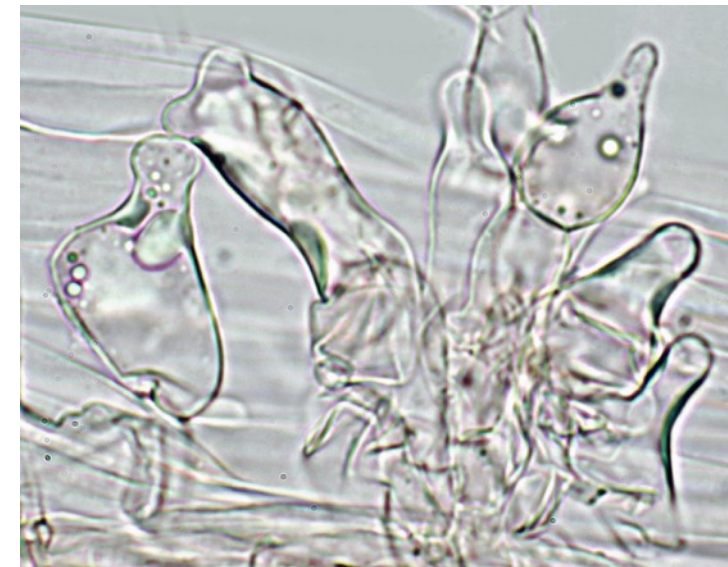
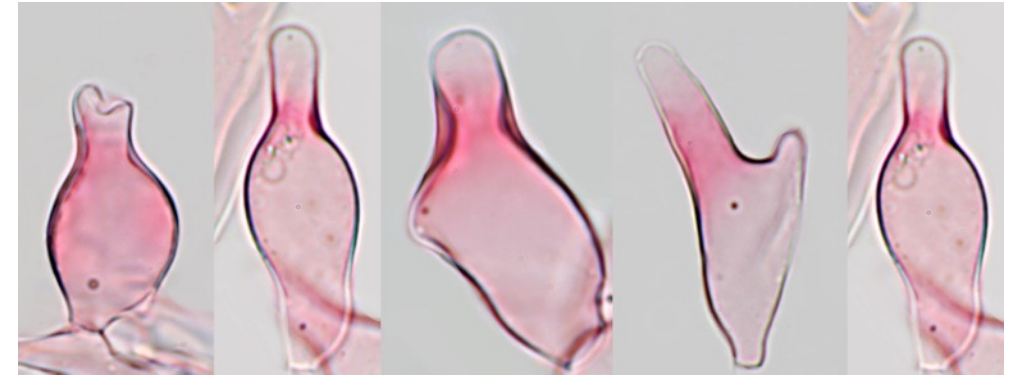
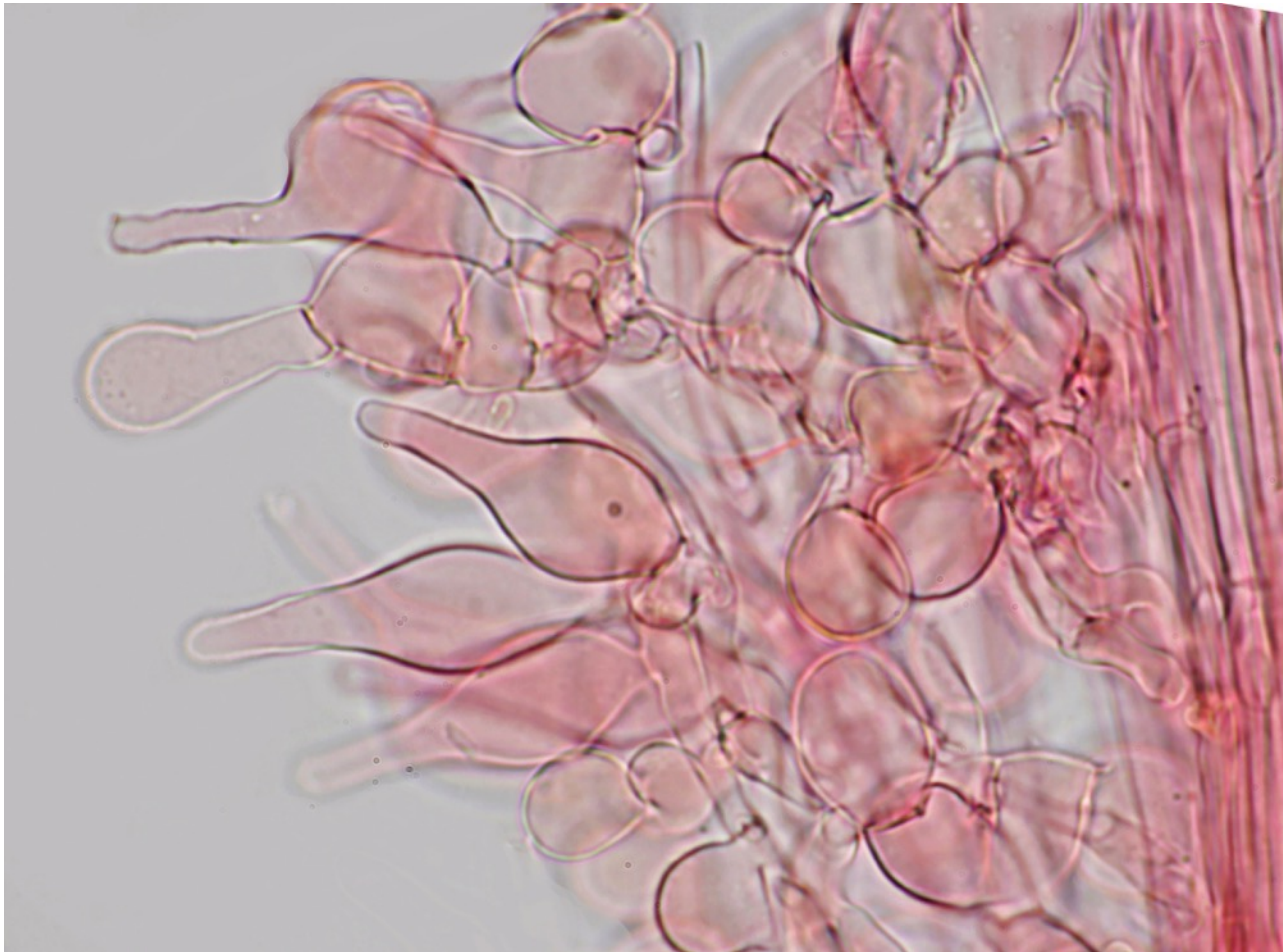
Caulocystides nombreuses à l'apex du stipe, analogues aux pleuros et cheilocystides ou clavées, parfois fourchues, souvent teintées de beige verdâtre, et à paroi parfois nettement épaissie.

Autres caractères micro non illustrés :

Médiostrate nettement pigmentée de beige-brun.

Pileipellis : un hyménoderme constitué de +/- 2 couches de cellules globuleuses **hyalines** (à contrôler sur du frais), banales pour le genre.

Boucles présentes à tous les niveaux.

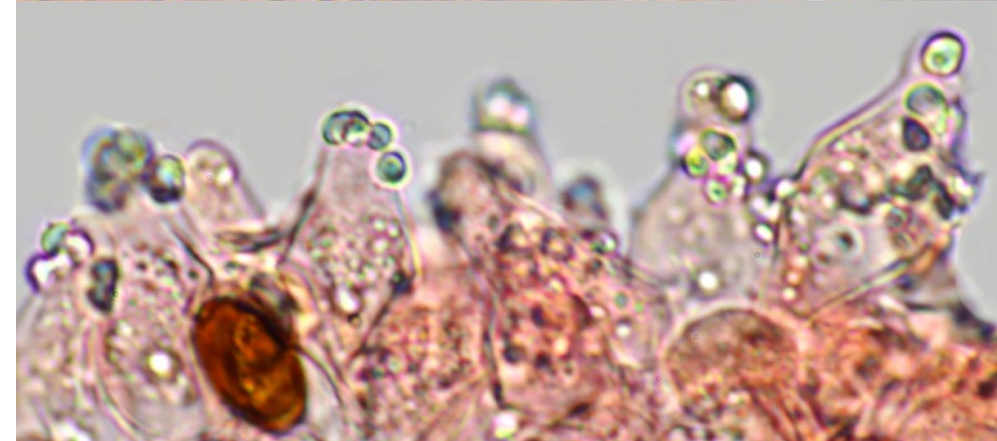
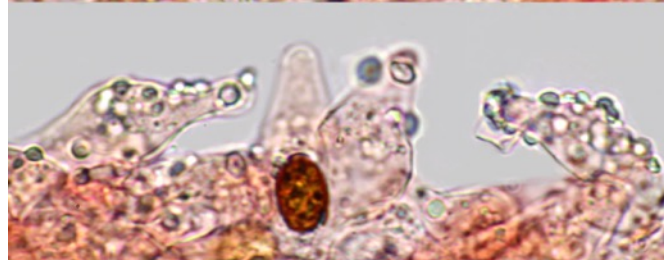
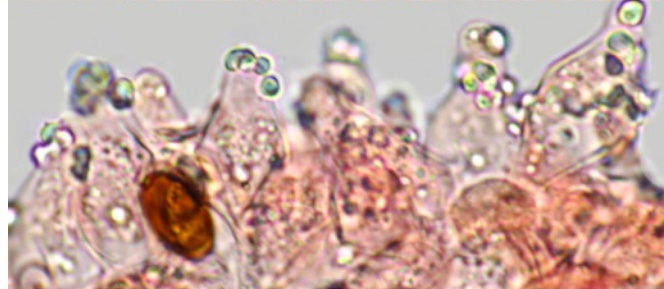
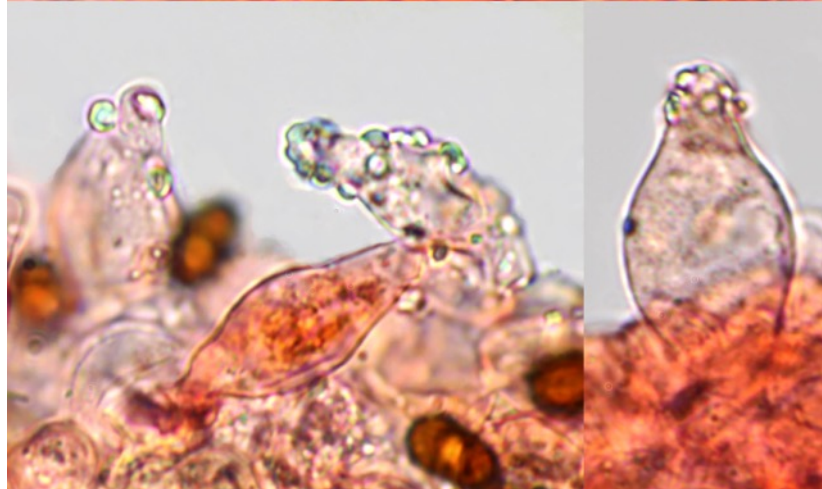
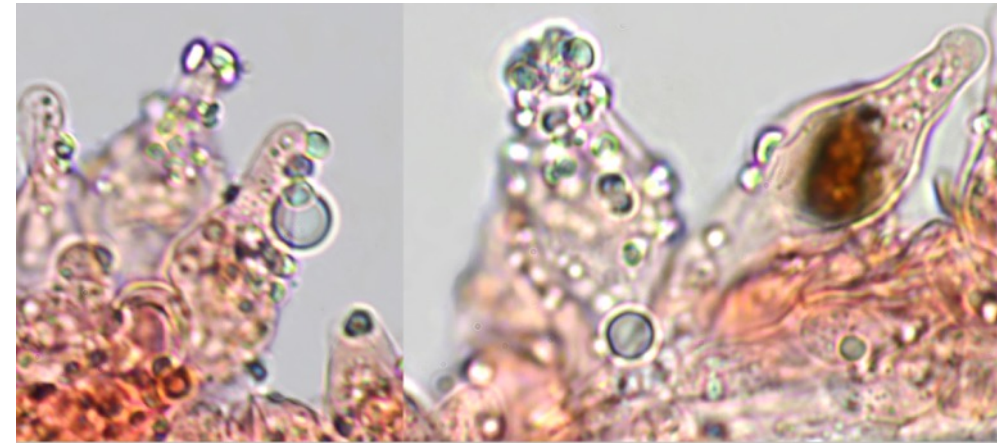
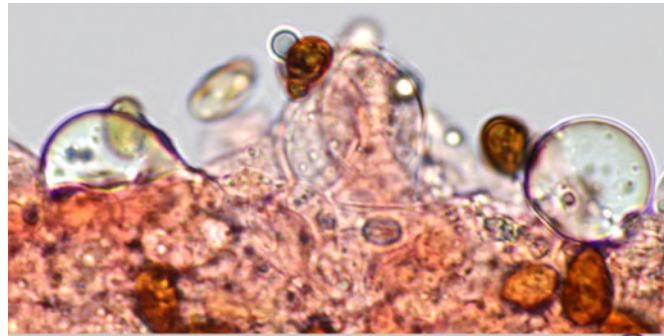
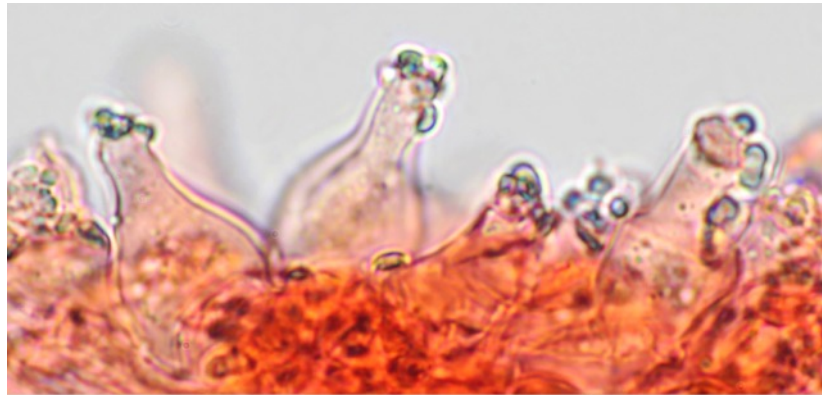


Discussion :

Je n'ai pas arrêté de pester sur mes préparations qui étaient systématiquement **envahies de très nombreuses gouttes mucoïdes lipidiques** empêchant de faire une photo convenable et gênant l'observation. J'ai même remplacé mon ammoniacque pensant qu'il était défectueux ... mais rien n'y faisait.

En désespoir de cause, j'ai examiné plusieurs lames provenant de deux exemplaires différents dans l'eau, et j'ai été stupéfait de constater **l'abondance des gouttes mucoïdes tapissant les cheilocystides**.

Arnolds ainsi que Heykoop & Moreno entre autres, mentionnent leur présence erratique au sommet des cheilocystides, sans insister sur ce caractère qui est peut-être occulté, car ces gouttes semblent bien solubles et ne plus être adhérentes aux cheilocystides dans le NH_4OH , liquide d'observation habituel, et échappent donc à un examen moins poussé. Il conviendra donc de préciser ce caractère lors de l'observation de spécimens frais.



Sequencing and phylogenetic analysis

DNA extraction, amplification and sequencing of the fungus was performed by Alvalab (Oviedo, Spain). The phylogenetic analysis was done by Dieter Wächter (Thiersheim, Germany). The genomic DNA was extracted from dried fruiting bodies. Amplification of the ITS region was performed with the ITS4 primer [1]. The initial base calling was done with FinchTV [2]. The nucleotide sequences were checked manually for errors, as well as the base calling at unsafe regions (trails, low confidence scores, stutters and polymorphs) on the basis of existing sequences of the *Pseudostropharia* section by divergence matrix and corrected if necessary. The following molecular phylogenetic markers were used for the phylogenetic analysis: ITS1 (Internal Transcribed Spacer 1), 5.8S (5.8S rRNA Gene), ITS2 (Internal Transcribed Spacer 2), LSU (Large Subunit 28S rRNA Gen), β -tub (exons of the β -tubulin gene), ef-1 α (exons of the ef-1 α gene). The nucleotide sequences for the tree inference were taken from NCBI [3] and Unite [4] (essential ones of the *Pseudostropharia* and *lutensis* clade see Table 1). Region boundaries for the ITS- and LSU-region were carried out with ITSx [5] and HMMER [6] including the databases. As outgroup, the sequence sets of the most closely related clade of the ingroup were used, i.e. the */corrugis* s.l. clade. Due to the rapidly evolving, indel-rich areas of the ITS region, it can only be aligned veridical by using an iterative multigene-guide tree. The initial alignment of the ITS region was performed with Mafft [7] using the FFT-NS-2 method. The initial alignments of the LSU-, β -tub and ef-1 α genes was carried out using E-INS-i method. The indel matrices for the ITS and LSU regions were each coded with SeqState [8] using the SIC = “Simple Indel coding” [9] method. After each alignment step, an ML analysis with RAxML [10] (model: GTRCAT, refining under GTR+G for DNA, GTR2+G with acquisition bias correction according to Lewis [11] for indel partitions) was carried out and the resulting best tree was used as a guide tree for the refinement of the ITS1 and ITS2 MSA. The iterative alignments were done with Prank [12], whereby the switches -once and -uselogs were set. Tracing values were recorded, evaluated statistically and thus the end of the iteration loop of the alignment was determined. The partitioning of all alignments and the indel matrices as well as the model selection for the DNA alignments was done with Partitionfinder [13]. For the final partitioning, the guide tree of the last iteration step was used. As information criterion the Bayesian Information Criterion (BIC) [14] used was after comparison with the Corrected Akaike Information Criterion (AICc) [15] and evaluation with respect to over- or under-partitioning. The partitioning scheme of the final phylogeny was:

- DNA-partition 1: ITS1 + ITS2
- DNA-partition 2: 5.8S
- DNA-partition 3: LSU + β -tub-Codon 1
- DNA-partition 4: β -tub Codon 2 + ef-1 α Codon 2
- DNA-partition 5: β -tub Codon 3 + ef-1 α Codon 3
- DNA-partition 6: ef-1 α Codon 1
- Binary partition (gap matrices): ITS1 + ITS2 + LSU

The final maximum likelihood analysis was done with RAxML 8.2.10 [10]. For all DNA partitions, the GTR substitution matrix [16] under the CAT model [10] was used. The final optimization took place under gamma distribution [10]. For the binary partitions, the “Two State Time-Reversible Model” with acquisition bias correction [11] was used. 1000 ML bootstrap inferences were calculated. Of these, 1000 trees were sampled and the best tree was labeled with the ML bootstrap support values and collapsed to the ML bootstrap value of 50%. The phylogram in Fig. 1 was edited with Treegraph [17].

The Outgroup and the upper *Psathyrella* clades have been collapsed for a better view.

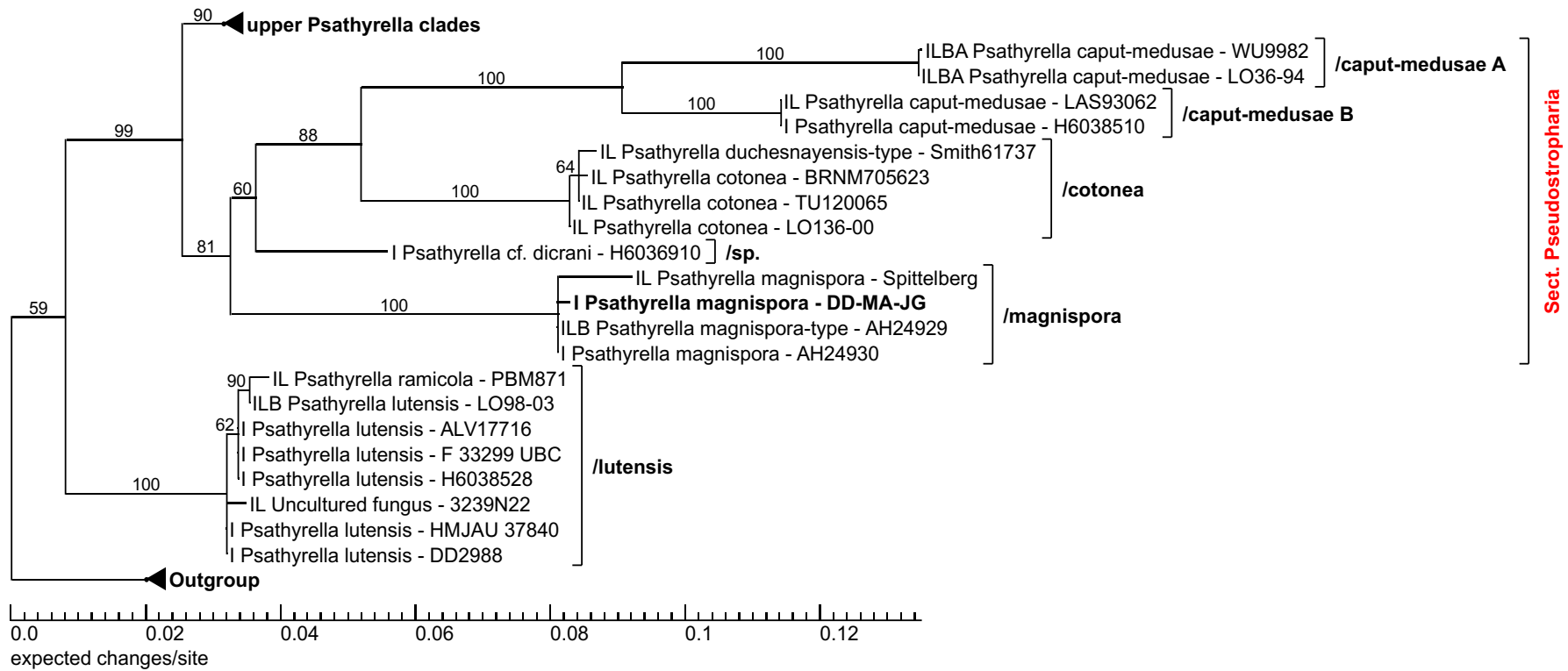


Fig. 1 50% collapsed maximum likelihood consensus phylogram. The values on the branches are ML bootstrap values. Abbreviations: I: ITS region, L: LSU region, B: β -tubulin region, A: ef-1 α region

Table 1 List of relevant sequences used in this publication

Species	Ref.-ID	ITS	LSU	β -Tub	ef-1 α
<i>Psathyrella caput-medusae</i>	LAS93062	KM030174.1	KM030174.1		
<i>Psathyrella caput-medusae</i>	H6038510	UDB021190			
<i>Psathyrella caput-medusae</i>	LO36-94	KC992927.1	KC992927.1	KJ664904.1	KJ732814.1
<i>Psathyrella caput-medusae</i>	WU9982	HQ872016.1	HQ847136.1	HQ847200.1	HQ847207.1
<i>Psathyrella cotonea</i>	TU120065	UDB023603	UDB023603		
<i>Psathyrella cotonea</i>	BRNM705623	AM712283.1	AM712283.1		
<i>Psathyrella duchesnayensis</i>	Smith61737	KC992869.1	KC992869.1		
<i>Psathyrella cotonea</i>	LO136-00	KC992870.1	KC992870.1		
<i>Psathyrella</i> cf. <i>dicrani</i>	H6036910	UDB021173			
<i>Psathyrella magnispora</i>	AH24930	MF966487.1			
<i>Psathyrella magnispora</i>	AH24929	KC992863.1	KC992863.1	KJ664846.1	
<i>Psathyrella magnispora</i>	DD-MA-JG	follows			
<i>Psathyrella magnispora</i>	Spittelberg	KC992864.1	KC992864.1		
<i>Psathyrella ramicola</i>	PBM871	FJ899620.1	DQ986258.1		
<i>Psathyrella lutensis</i>	LO98-03	DQ389685.1	DQ389685.1	KJ664869.1	
<i>Psathyrella lutensis</i>	H6038528	UDB021207			
<i>Psathyrella lutensis</i>	ALV17716	follows			
<i>Psathyrella lutensis</i>	F_33299_UBC	MH752461.1			
<i>Psathyrella lutensis</i>	DD2988	MK156343.1			
<i>Psathyrella lutensis</i>	HMJAU 37840	MG734748.1			
Uncultured fungus	3239N22	KF617285.1	KF617285.1		

References

- [1] White TJ, Bruns T, Lee L, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: [InnisMA, GelfandDH, Sininski JJ, White TJ \(eds\) PCR protocols, a guide to methods and applications](#). Academic Press, New York, pp 315–322
- [2] [FinchTV 1.4.0: Geospiza, Inc.](#); Seattle, WA, USA; <http://www.geospiza.com>
- [3] [NCBI: National Center for Biotechnology Information](#), U.S. National Library of Medicine 8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [4] [Unite: Kõljalg U, Nilsson RH, Abarenkov K, Tedersoo L, Taylor AFS, Bahram M, Bates ST, Bruns TD, Bengtsson-Palme J, Callaghan TM, Douglas B, Drenkhan T, Eberhardt U, Dueñas M, Grebenc T, Griffith GW, Hartmann M, Kirk PM, Kohout P, Larsson E, Lindahl BD, Lücking R, Martín MP, Matheny PB, Nguyen NH, Niskanen T, Oja J, Peay KG, Peintner U, Peterson M, Põldmaa K, Saag L, Saar I, Schübler A, Scott JA, Senés C, Smith ME, Suija A, Taylor DL, Telleria MT, Weiß M, Larsson K-H](#). 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of Fungi. *Molecular Ecology*, DOI: 10.1111/mec.12481
- [5] [ITSx 1.1b: JOHAN BENGSSON-PALME 2012-2017; Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for use in environmental sequencing. JOHAN BENGSSON-PALME, VILMAR VELDRE, MARTIN RYBERG, MARTIN HARTMANN, SARA BRANCO, ZHENG WANG, ANNA GODHE, YANN BERTRAND, PIERRE DE WIT, MARISOL SANCHEZ, INGO EBERSBERGER, KEMAL SANLI, FILIPE DE SOUZA, ERIK KRISTIANSSON, KESSY ABARENKOV, K. MARTIN ERIKSSON, R. HENRIK NILSSON: Methods in Ecology and Evolution](#), 4: 914-919, 2013 - (DOI: 10.1111/2041-210X.12073)
- [6] [HMMER 3.1b2](#) (February 2015): <http://hmmer.org/> - Copyright (C) 2015 Howard Hughes Medical Institute. Freely distributed under the GNU General Public License (GPLv3)
- [7] [Mafft 7.372](#) (used over mafft.ebrc.jp)
- [NAKAMURA, YAMADA, TOMII, KATOH 2018](#) (Bioinformatics 34:2490–2492) - Parallelization of MAFFT for large-scale multiple sequence alignments.
 - [KATOH, ROZEWICKI, YAMADA 2017](#) (Briefings in Bioinformatics, in press) - MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization.
 - [YAMADA, TOMII, KATOH 2016](#) (Bioinformatics 32:3246-3251) additional information - Application of the MAFFT sequence alignment program to large data-[reexamination](#) of the usefulness of chained guide trees.
 - [KATOH, STANDLEY 2016](#) (Bioinformatics 32:1933-1942) - A simple method to control over-alignment in the MAFFT multiple sequence alignment program.
 - [KATOH, STANDLEY 2013](#) (Molecular Biology and Evolution 30:772-780) - MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability.
 - [KURAKU, ZMASEK, NISHIMURA, KATOH 2013](#) (Nucleic Acids Research 41:W22-W28) - [aLeaves](#) facilitates on-demand exploration of metazoan gene family trees on MAFFT sequence alignment server with enhanced interactivity.
 - [KATOH, FRITH 2012](#) (Bioinformatics 28:3144-3146) - Adding unaligned sequences into an existing alignment using MAFFT and LAST.
 - [KATOH, TOH 2010](#) (Bioinformatics 26:1899-1900) - Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program.
 - [KATOH, ASIMENOS, TOH 2009](#) (Methods in Molecular Biology 537:39-64) - Multiple Alignment of DNA Sequences with MAFFT. In *Bioinformatics for DNA Sequence Analysis* edited by D. Posada
 - [KATOH, TOH 2008](#) (BMC Bioinformatics 9:212) - Improved accuracy of multiple ncRNA alignment by incorporating structural information into a MAFFT-based framework.
 - [KATOH, TOH 2008](#) (Briefings in Bioinformatics 9:286-298) - Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program.
 - [KATOH, TOH 2007](#) (Bioinformatics 23:372-374) Errata - [PartTree](#): an algorithm to build an approximate tree from a large number of unaligned sequences.
 - [KATOH, KUMA, TOH, MIYATA 2005](#) (Nucleic Acids Res. 33:511-518) - MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment.
 - [KATOH, MISAWA, KUMA, MIYATA 2002](#) (Nucleic Acids Res. 30:3059-3066) - MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform.
- [8] [SeqState 1.4.1: MÜLLER, K \(2005\), SeqState - primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA data sets](#). *Applied Bioinformatics*, 4, 65-69
- [9] [SIC \(Simple Indel Coding\): SIMMONS MP and OCHOTERENA H \(2000\): Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses](#). *Syst Biol* 49: 369–381
- [10] [RAXML, Version 8.2.10: A. STAMATAKIS: "RAXML, Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies"](#). In *Bioinformatics*, 2014, open access link: <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/early/2014/01/21/bioinformatics.btu033.abstract?keytype=ref&ijkey=VTEqUJYCDcf0kP>
- [11] [Two parameter model & Acquisition Bias Correction: PAUL O. LEWIS: A Likelihood Approach to Estimating Phylogeny from Discrete Morphological Character Data - Systematic Biology](#), Volume 50, Issue 6, 1 November 2001, Pages 913–925
- [12] [Prank 140603:](#)
- [LÖYTYNOJA A, GOLDMAN N: AN ALGORITHM FOR PROGRESSIVE MULTIPLE ALIGNMENT OF SEQUENCES WITH INSERTIONS. PROC NATL ACAD SCI USA 2005, 102: 10557–10562. 10.1073/pnas.0409137102](#)
 - [LÖYTYNOJA A, GOLDMAN N: A MODEL OF EVOLUTION AND STRUCTURE FOR MULTIPLE SEQUENCE ALIGNMENT. PHILLOS TRANS R SOC LOND B BIOL SCI 2008, 363: 3913–3919. 10.1098/rstb.2008.0170](#)
 - [PHYLOGENY-AWARE ALIGNMENT WITH PRANK \(ARI LÖYTYNOJA\), METHODS MOL BIOL. 2014;1079:155-70](#)
 - [Prank -F Option: LÖYTYNOJA A, GOLDMAN N: Phylogeny-aware gap placement prevents errors in sequence alignment and evolutionary analysis. Science 2008, 320: 1632–1635. 10.1126/science.1158395](#)
- [13] [Partitionfinder 2.1.1:](#)
- [LANFEAR, R., FRANSEN, P. B., WRIGHT, A. M., SENFELD, T., CALCOTT, B. \(2016\) PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution formolecular and morphological phylogenetic analyses. Molecular biology and evolution. DOI: dx.doi.org/10.1093/molbev/msw260](#)
 - [greedy algorithm used with Partitionfinder: LANFEAR, R., CALCOTT, B., HO, S. Y., & GUNDON, S. \(2012\). PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. Molecular biology and evolution, 29\(6\), 1695-1701](#)
- [14] [Bayesian Information Criterion \(BIC\): SCHWARZ, G. \(1978\). Estimating the dimension of a model. The Annals of Statistics, 6, 461–464](#)
- [15] [Corrected Akaike Information Criterion \(AICc\):](#)
- [AKAIKE, H. \(1974\). A new look at the statistical model identification. IEEE Transactions on Automatic Control, 19, 716–723](#)
 - [HURVICH, C. AND TSAI, C. \(1989\). Regression and time series model selection in small samples. Biometrika, 76, 297–307](#)
 - [SUGIURA, N. \(1978\). Further analysis of the data by akaike's information criterion and the finite corrections. Communications in StatisticsTheory and Methods, A7,13–26](#)
 - [MARK J. BREWER, ADAM BUTLER, SUSAN L. COOKSLEY 2016- The relative performance of AIC, AICC and BIC in the presence of unobserved heterogeneity](#)
 - [BROWN, J.M., LEMMON, A.R. 2007 - The importance of data partitioning and the utilityof Bayes factors in Bayesian phylogenetics. Syst. Biol. 56, 643–655](#)
- [16] [GTR-Model: TAVARÉ S. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences, Lectures on mathematics in the life sciences, vol. Volume 17 Providence \(RI\) American Mathematical Society](#)
- [17] [Treecograph 2.14.0-771 beta: STÖVER B C, MÜLLER K F: TreecGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. BMC Bioinformatics 2010, 11:7 - DOI: 10.1186/1471-2105-11-7](#)

Littérature et iconographie

ARNOLDS E., 2003 - *Rare and interesting species of Psathyrella*. Fungi non Delineati XXVI : 66-68 (sous *P. mesobromionis*)

HEYKOOP M. & MORENO G., 2001 - *Studies in the genus Psathyrella in Spain. III. Psathyrella magnispora a new species in subsection Lutenses*. Z. Mykol. 67(1): 55-62.

LUDWIG E., 2007 - Pilzkompodium. Band 2, Abbildungen: Tafel 385 - fig 98-60 – (sous *P. mesobromionis*).

MELZER A., 2008 - *Neue Funde seltener Psathyrella-Arten.* – Boletus, Band 30(2): 92-93 (sous *P. romagnesiana*)

MELZER A., 2011 - *Psathyrella magnispora in Deutschland*; - Boletus, Band 33 (1): 3-6