

Psathyrella montgriensis, une espèce nouvelle en provenance d'Espagne

Auteurs : Daniel Deschuyteneer, M. À. Pérez-De-Gregorio, Joaquim Carbó, C. Roqué & À. Torrent.

{MB# 829004}

Résumé : les caractères morphologiques ainsi que les données moléculaires et phylogénétiques suggèrent que *Psathyrella montgriensis* est une espèce nouvelle. La description de cette espèce est basée sur diverses récoltes réalisées au cours des cinq dernières années dans la province de Girona en Espagne. Elle est illustrée par des photographies de l'espèce in situ ainsi que des photos et des dessins de ses caractères microscopiques. Elle a également fait l'objet d'une étude de ses caractères moléculaires, et sa position dans un arbre phylogénétique a été précisée.

Abstract: Traditional morphology, sequence data, and phylogenetic analyses suggest that *Psathyrella montgriensis*, so far only known from Spain, is a new species to science. The description is supported by photographs of the basidiocarps and the microscopic features.

Synonymes : aucun

Famille : *Agaricales, Psathyrellaceae, Psathyrella*

Étymologie : le nom fait référence à la réserve naturelle de Torroella de Montgri, dans laquelle une des récoltes a été recensée.

Mots clés : *Psathyrella*, Girona, Rodors, Torroella de Montgri.

Holotype examiné : Récolte du 10/03/18 - Pinèdes de dunes fixées avec *Pinus pinea*, *P. pinaster*, *Quercus coccifera*, entre le Puig de la Reina et la Torre vella, réserve naturelle de Torroella de Montgri (Girona - Espagne). Coordonnées GPS : 42.068302 - N 3.137373 E ; deux exemplaires, leg J. Carbó & À. Torrent.

L'holotype (récolte du 10/03/18) a été séquencé (ITS) par le laboratoire Alvalab (Pablo Alvarado Garcia) et a révélé qu'il n'existait aucune correspondance avec les espèces connues recensées dans Genbank et Unite. GenBank accession number : **MK254969.1**

Autres récoltes examinées : Réserve naturelle de Torroella de Montgri et Rodors.

24/02/2018 : dans un tapis de mousses (*Pseudoscleropodium purum*) ; trois exemplaires, leg J. Carbó, M. À. Pérez-De-Gregorio, C. Roqué & À. Torrent.

03/03/2018 : un exemplaire, leg J. Carbó & À. Torrent.

(c) Miquel À. Pérez-De-Gregorio







Caractéristiques macroscopiques

Chapeau mesurant de 5 à 15 mm de diamètre, conico-paraboloïde, n'ayant pas tendance à s'étaler ; certains exemplaires présentent une petite papille obtuse peu développée mais totalement absente sur d'autres, de couleur brun-beige à beige grisâtre ; par temps humide, nettement strié par transparence, depuis la marge jusqu'à la calotte discale ; hygrophane, il décolore en crème ocracé et prend un aspect légèrement ridé radialement. Bien que non noté par les récolteurs, certaines photos suggèrent l'apparition de tonalités rosées au cours de la déshydratation.

Voile fibrilleux, blanchâtre, volatile, ne recouvrant le chapeau que sur les primordia et subsistant parfois, sous forme de fibrilles éparses disséminées.



Lames : 3-5 mm de large, peu serrées, largement adnées, beige très pâle devenant beige grisâtre ; arête fimbriée blanche non surlignée (même à l'examen microscopique).

Stipe : 40-70 x 1-2 mm, cylindrique, creux, isabelle, satiné, légèrement pruineux au sommet, présentant quelques fibrilles blanchâtres éparses (résidus du voile) au niveau des 2/3 inférieurs ; base non radicante.

Chair : 1-1,5 mm d'épaisseur, concolore au chapeau, odeur sans particularité, non goûtée.

Diagnose

Cap 5-15 mm, conico-paraboloid, sometimes with a small obtuse umbo, light brown later more sordid with a greyish brown tinge, fading isabelline (maybe with a pinkish hue), often striate almost towards the centre.

Veil white fibrillous covering the primordia but quickly fugacious.

Lamellae 3-5 mm broad, slightly distant, ochre grey to grey brown, edge fimbriate, white.

Stipe 40 x 1-2 mm, cylindric, hollow, apex white pruinose, lower part covered by inconspicuous fibrillous veil remnants.

Context fragile, odour- and tasteless.

Spores (7)7.5-9(10) × (4)5-5.5 μm; Q: (1.4)1.45-1.81(2); V: (59)95-131(158) μm³; smooth, ellipsoid, adaxially flattened, slightly amygdaliform or phaseoliform, dark brown, sub-opaque, often containing large drops, germ pore slightly distinct about 1 μm broad, conical, sometimes slightly protruding.

Basidia (15)16.2-29.4(32) × (7)8.2-12(12) μm, clavate, 4-spored.

Cheilocystidia (18)30-50(58) × (8)10.2-15(17) μm; scattered or packed in clusters, fusi-lageniform, lageniform, sometimes ventricose or clavate, apex obtuse, sub-capitate or capitate, walls sometimes spotted at top or on the edges by inhomogeneous intracellular mucoid drops.

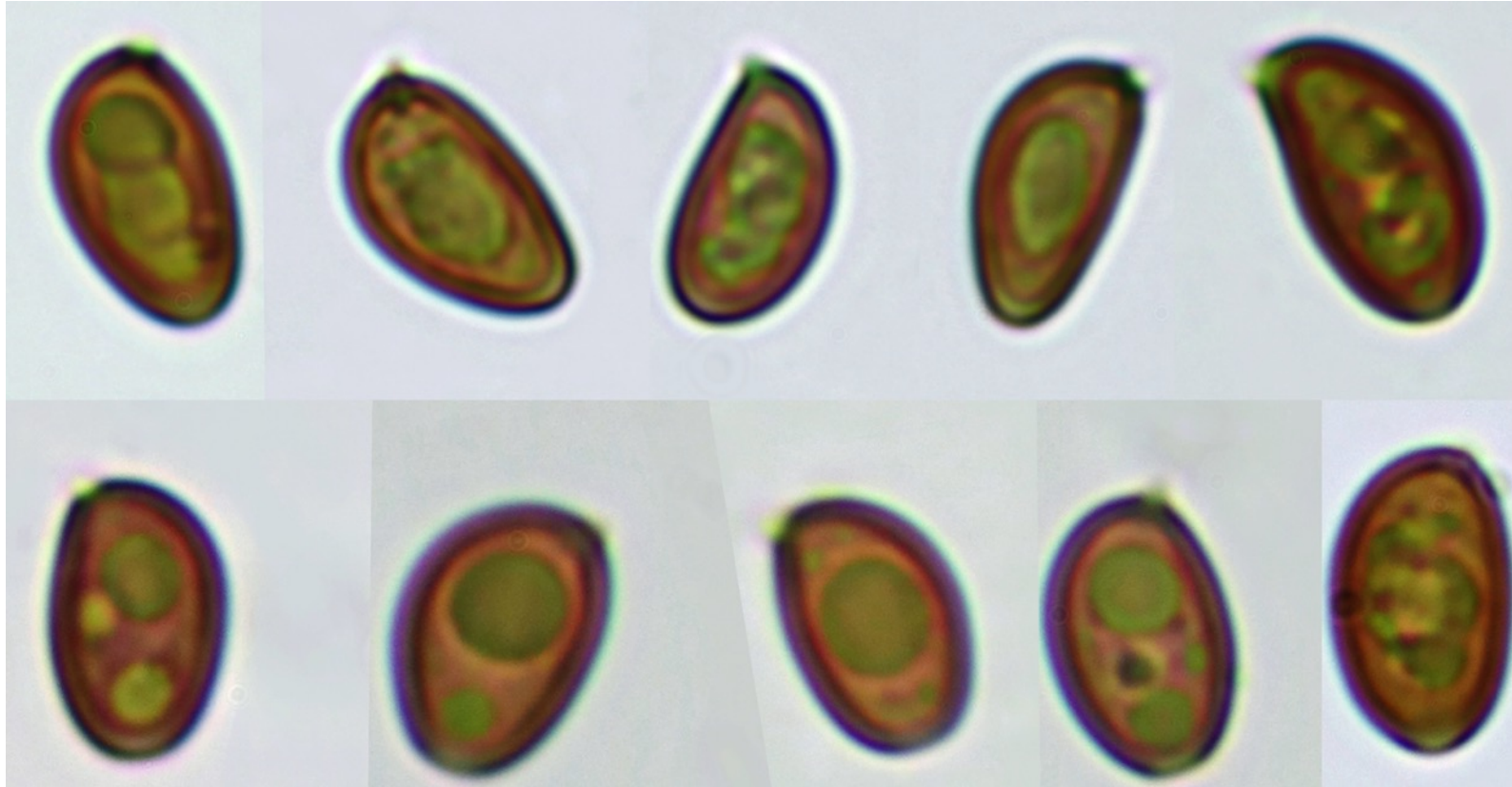
Marginal cells (paracystidia) numerous especially near the margin with often thicker pale brown walls.

Pleurocystidia (28)34-54.6(60) × (8)9.4-13(14) μm; thin walled, mostly lageniform, apex obtuse, sub-capitate or capitate, walls very often largely spotted at top or on the edges by inhomogeneous very congophilous intracellular mucoid drops.

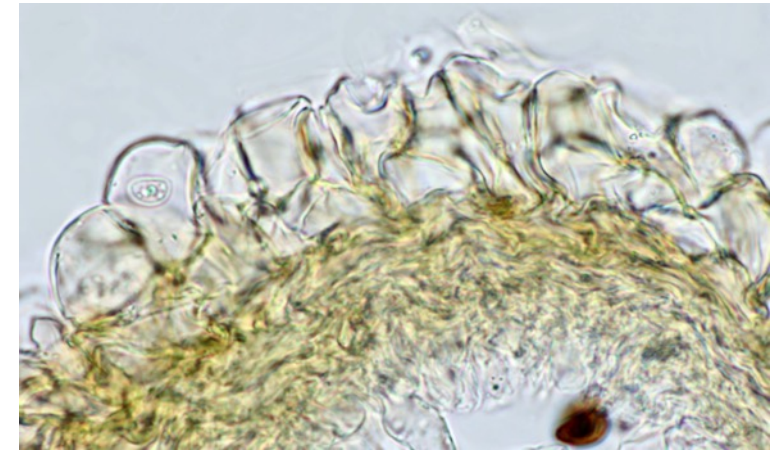
Pileipellis an hymenoderm of one layer of globose and clavate cells.

On sandy soil, in a dune pine forest near the sea, among mosses.

Holotype: Spain, Girona, Torroella de Montgri, récolte du 10/03/2018 leg J. Carbó, À. Torrent, in herbarium of the Botanic Garden Meise (formerly National Botanic Garden of Belgium), avec la référence : *Psathyrella montgriensis* – D. Deschuyteneer – DUN1 (BR)



Pileipellis



Spores

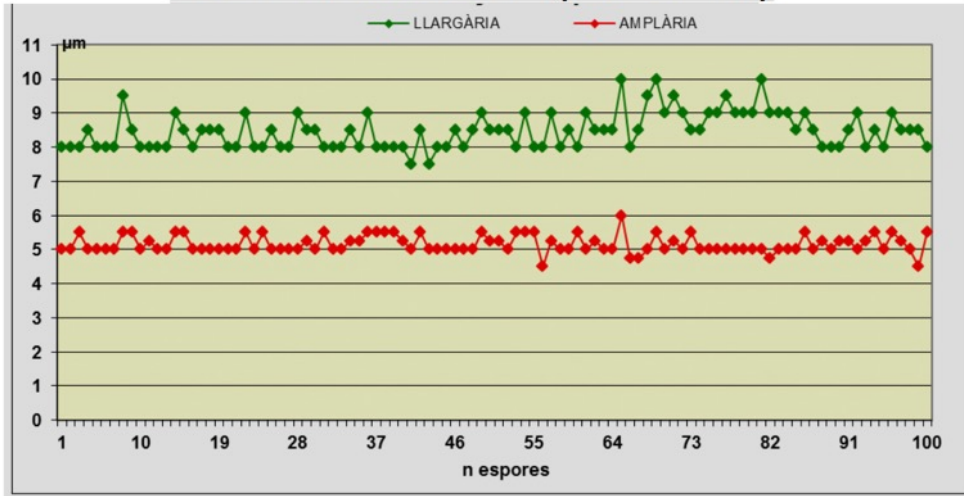
Arithmetic mean me of **L × W**: $8.26 \times 5.08 \mu\text{m}$; arithmetic mean me of **Q**: 1.63 ;

Dimensions computed by quantile method with 80% confidence interval: **L × W** for 80% CI: **(7)7.5 - 9(10) × (4) 5 - 5.5(5.5) μm** ; **Q** for 80% CI: **(1.4)1.45 - 1.81(2)** ; **V** for 80% CI: **(59)95 - 131(158) μm^3** .

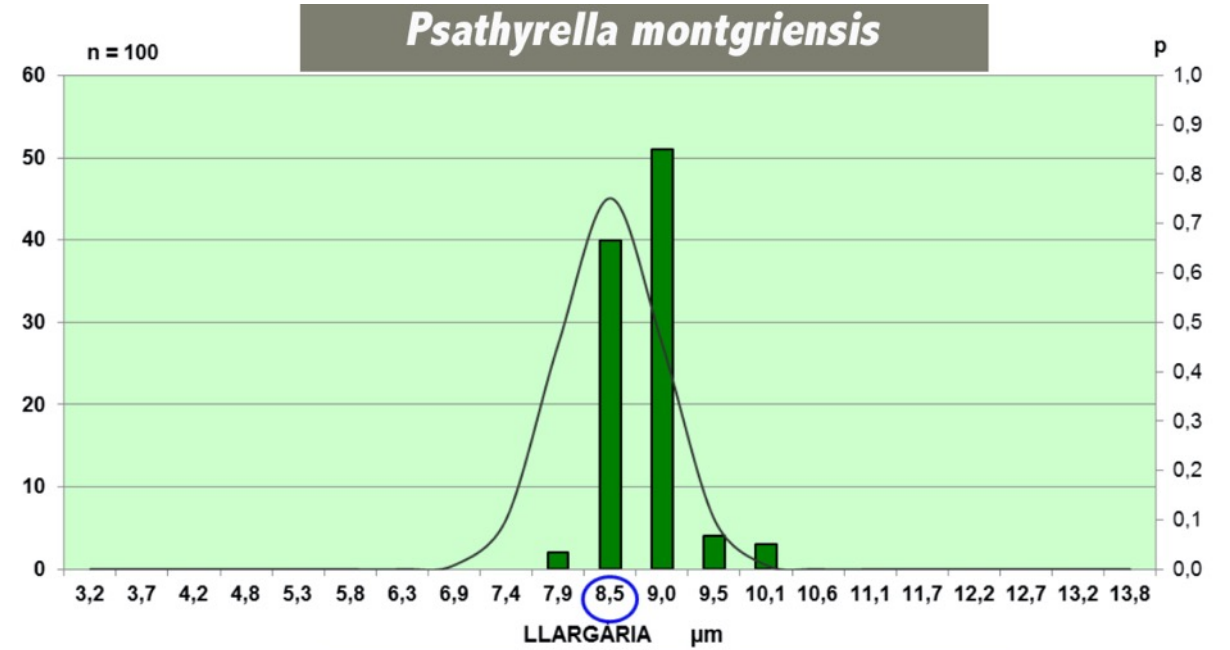
Lisses, ellipsoïdes de face, sub-amygdaliformes ou légèrement phaséoliformes de profil, brunes, sub-opaques, souvent guttulées, dont le pore germinatif central mesurant $1 \mu\text{m}$, est peu distinct, conique et parfois légèrement protubérant.

Psathyrella montgriensis

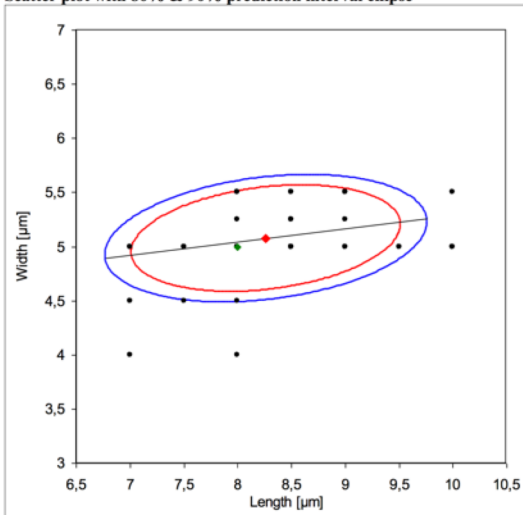
JC-20180303.1 (Ex-3247)



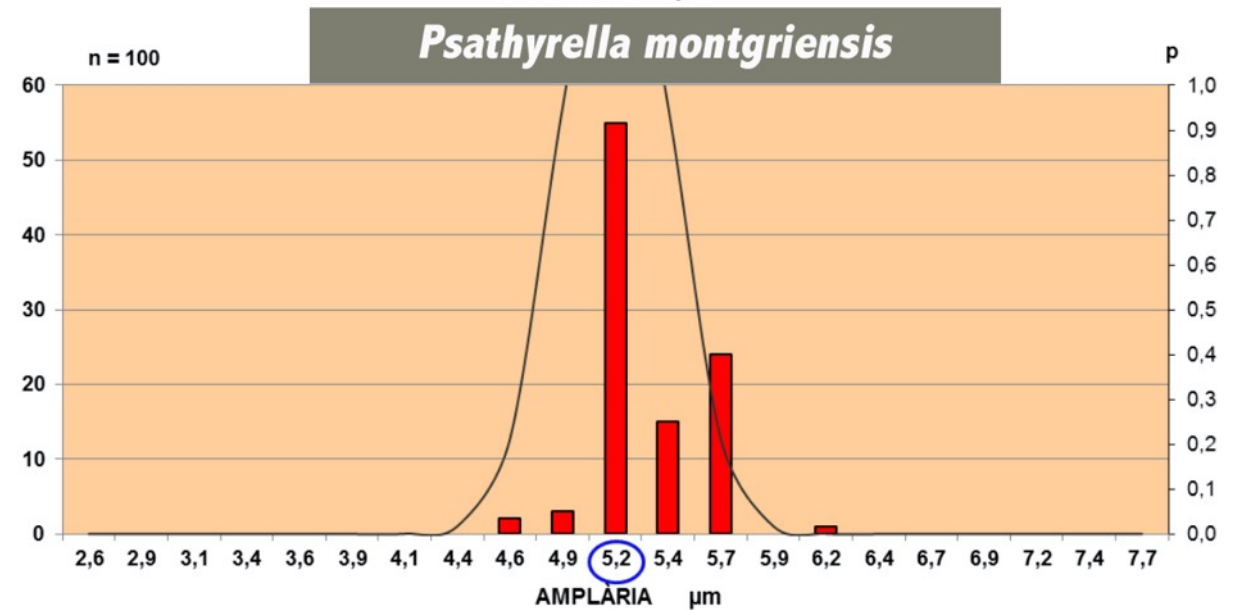
Spores

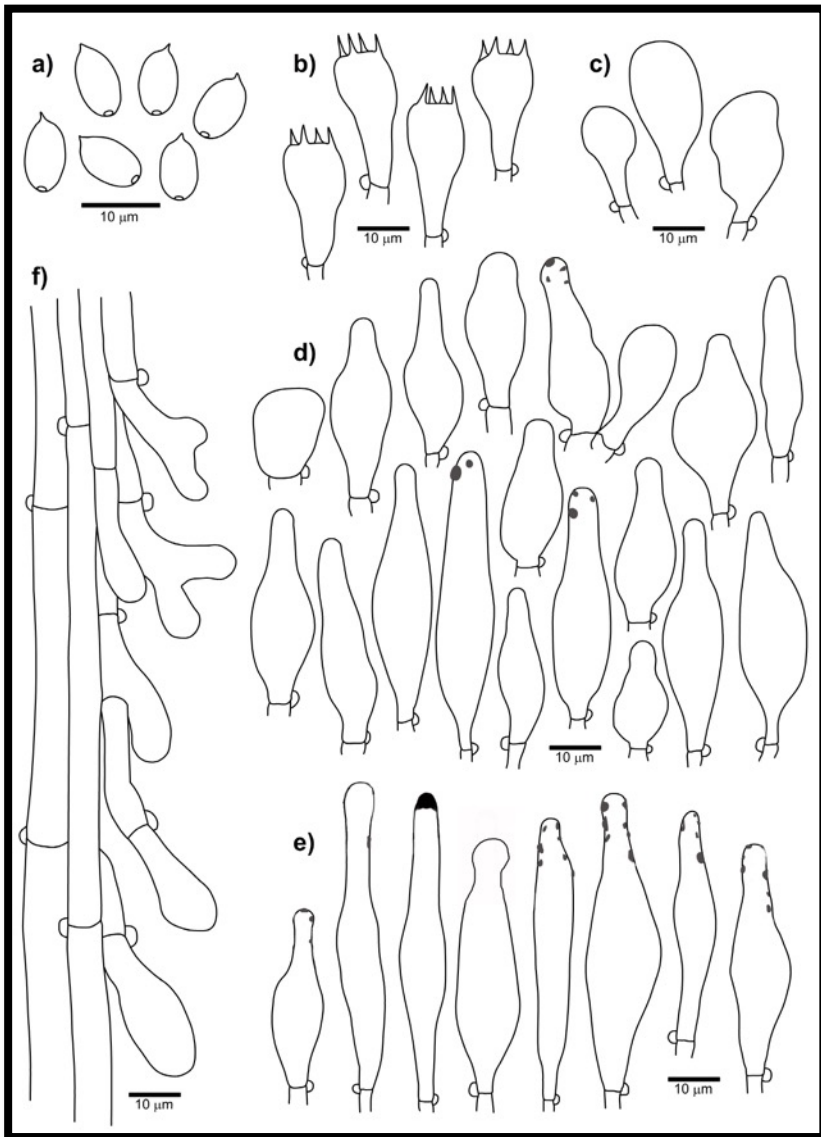


Scatter plot with 80% & 90% prediction interval ellipse



- = spores
- = arithmetic mean
- = median
- = 80% prediction interval ellipse
- = 90% prediction interval ellipse





Dessins Joaquim Carbó & Carles Roqué

(a) Spores (b) basides (c) cellules marginales

(d) cheilocystides (e) pleurocystides (f) caulocystides

Basides : (N=13), arithmetic mean Me of **L × W**: 21.7 × 10.3 µm.

Dimensions computed by quantile method with 80% confidence interval:

L × W for 80% CI: (15)16.2-29.4(32) × (7)8.2-12(12) µm; tétrasporiques, clavées.

Cheilocystides : (N=53), arithmetic mean me of **L - W**: **38.8 - 12.4 µm**; dimensions computed by quantile method with 80% confidence interval: **L - W for 80% CI: (18)30-50(58) × (8)10.2-15(17) µm** ; à paroi fine, nombreuses à peu nombreuses, clairsemées ou sous forme de petits clusters, très variables en nombre d'une lame à l'autre au sein du même taxon, généralement lagéniformes, mais parfois sub-ventrues à clavées. Le sommet obtus ou sub-capité, ainsi que la paroi sont parfois, mais peu souvent, tachetés par des dépôts mucoïdes non homogènes, intracellulaires.

Cellules marginales (paracystides) clavées et sphéropédonculées, de toutes tailles, abondantes, occupant une grande partie de l'arête, formant parfois plusieurs couches en particulier à proximité de la marge, à paroi souvent teintée de brun jaunâtre et très légèrement épaissie.

Pleurocystides : (N=45), arithmetic mean me of **L - W**: **43 - 11.1 µm**, dimensions computed by quantile method with 80% confidence interval **L - W for 80% CI: (28)34-54.6 (60) × (8)9.4-13(14) µm**; à paroi fine, nombreuses, fusilagéniformes et lagéniformes, souvent capitées ou subcapitées, rarement pédicellées, dont le sommet ainsi que la paroi sont très souvent tachetés par des dépôts mucoïdes non homogènes, essentiellement intracellulaires.

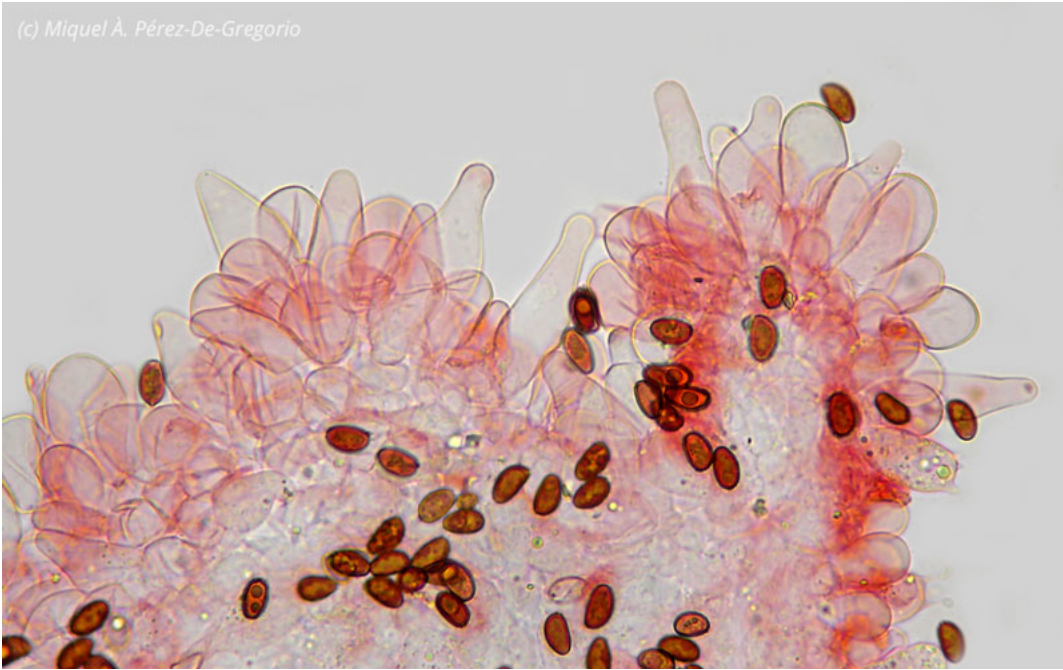
Les **dépôts mucoïdes** caractéristiques observés tant sur les pleurocystides que sur les cheilocystides, sont très congophiles, ne sont pas dissous par le NH₄OH à 10 %, et persistent sur exsiccatum.

Pileipellis : un hyménoderme constitué d'une seule assise de cellules globuleuses, clavées et sphéropédonculées.

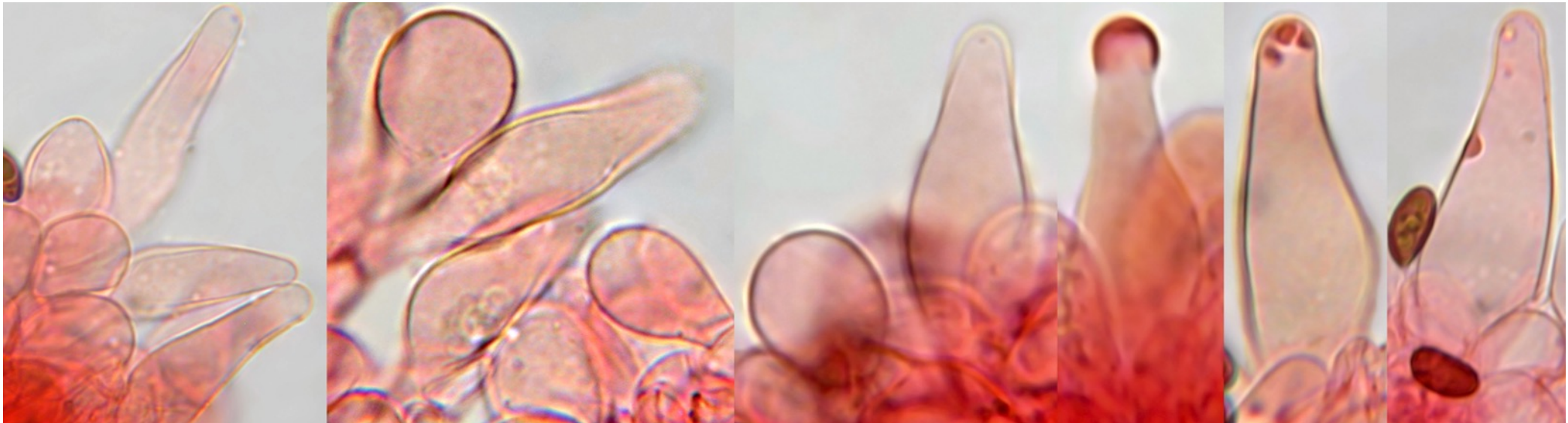
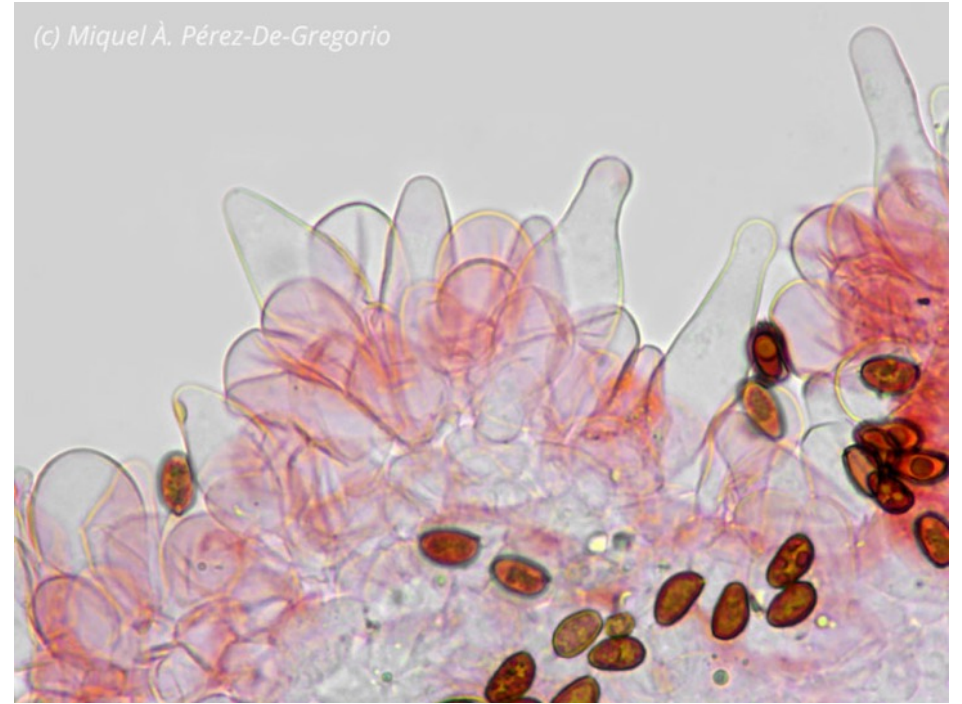
Boucles présentes.

Arête

(c) Miquel À. Pérez-De-Gregorio

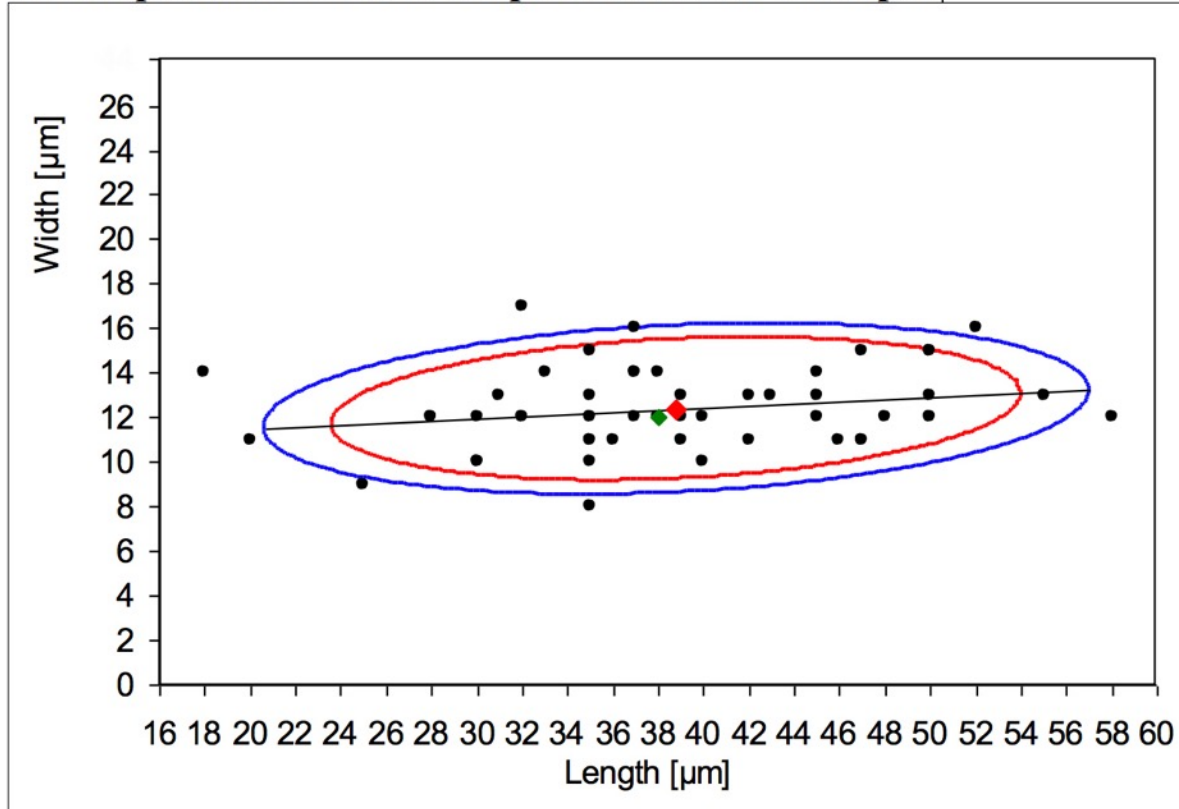


(c) Miquel À. Pérez-De-Gregorio



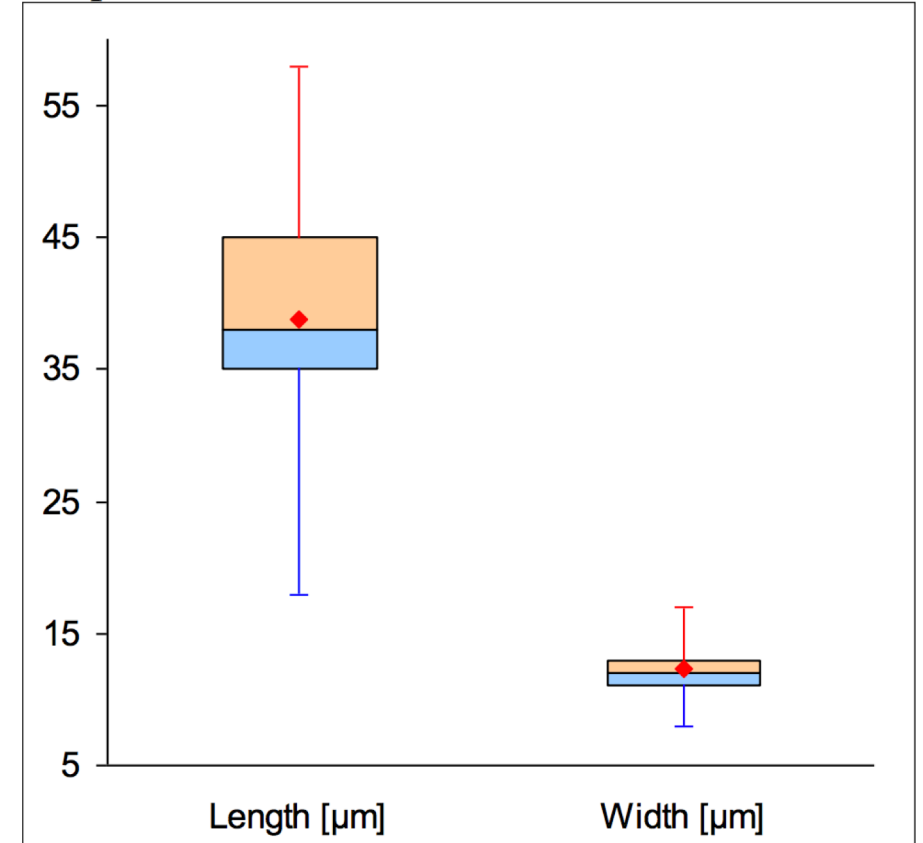
cheilocystides

Scatter plot with 80% & 90% prediction interval ellipse



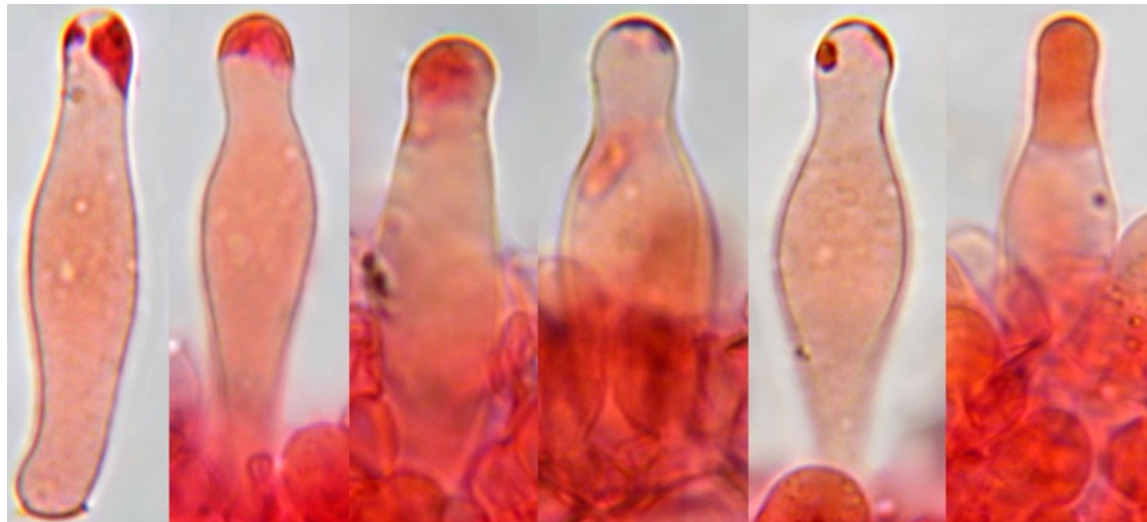
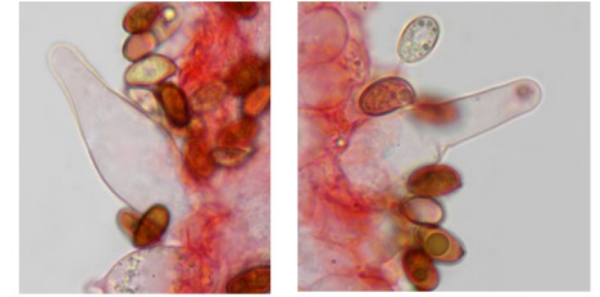
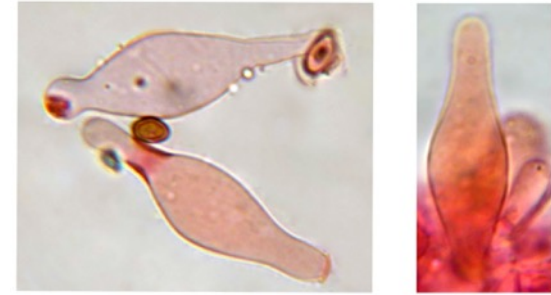
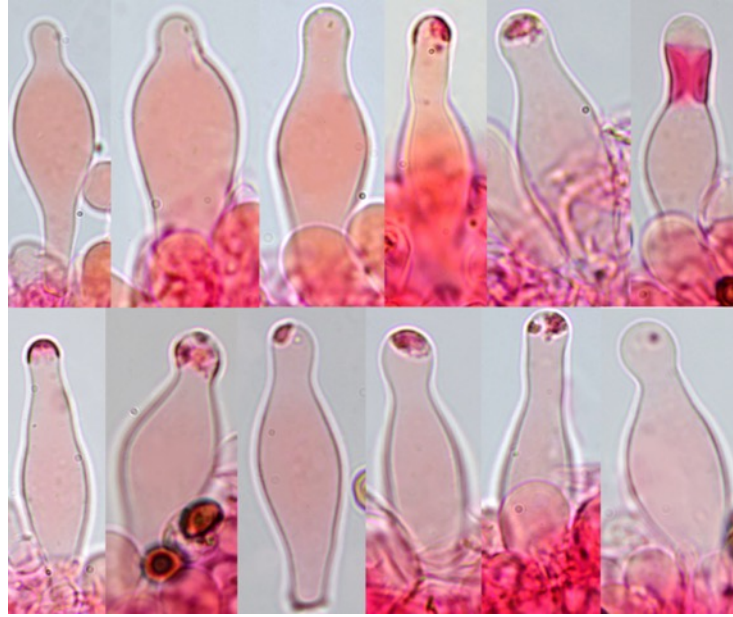
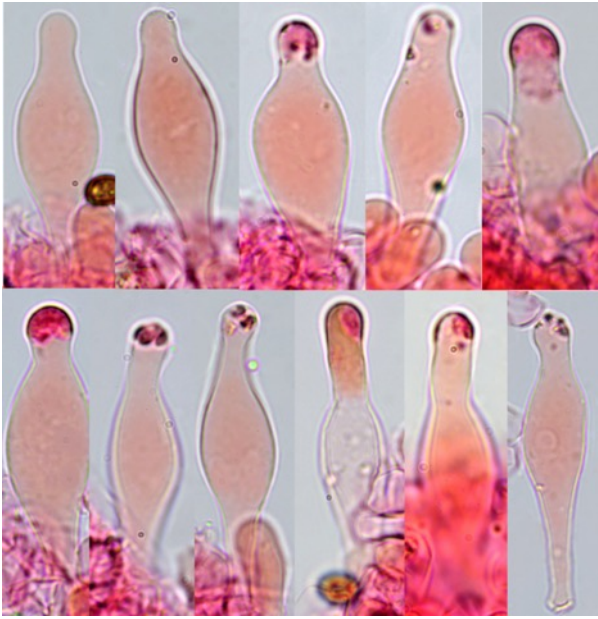
- = measured dimensions
- ▶ = arithmetic mean
- ▶ = median
- = 80% prediction interval ellipse
- = 90% prediction interval ellipse

Boxplot:



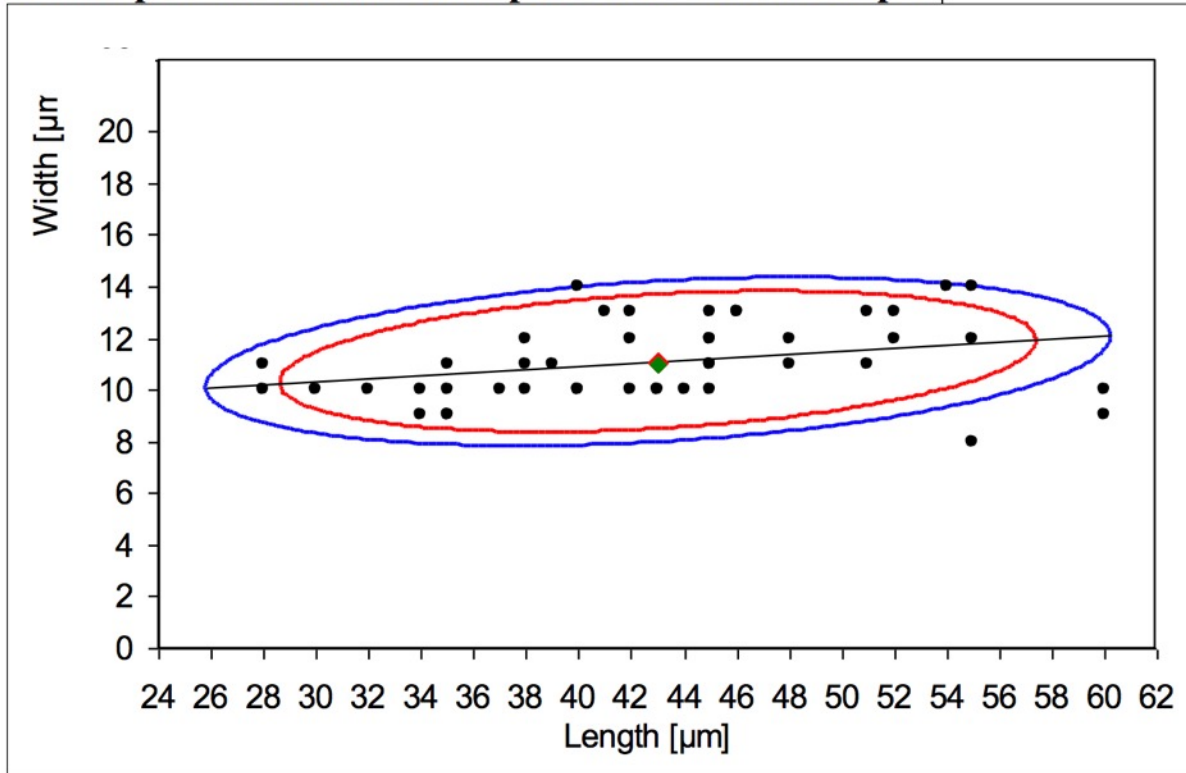
Boxes show the upper and lower quartile.
Whiskers show the absolute min to max. dimensions.
Red dot shows the arith. mean.

Pleurocystides



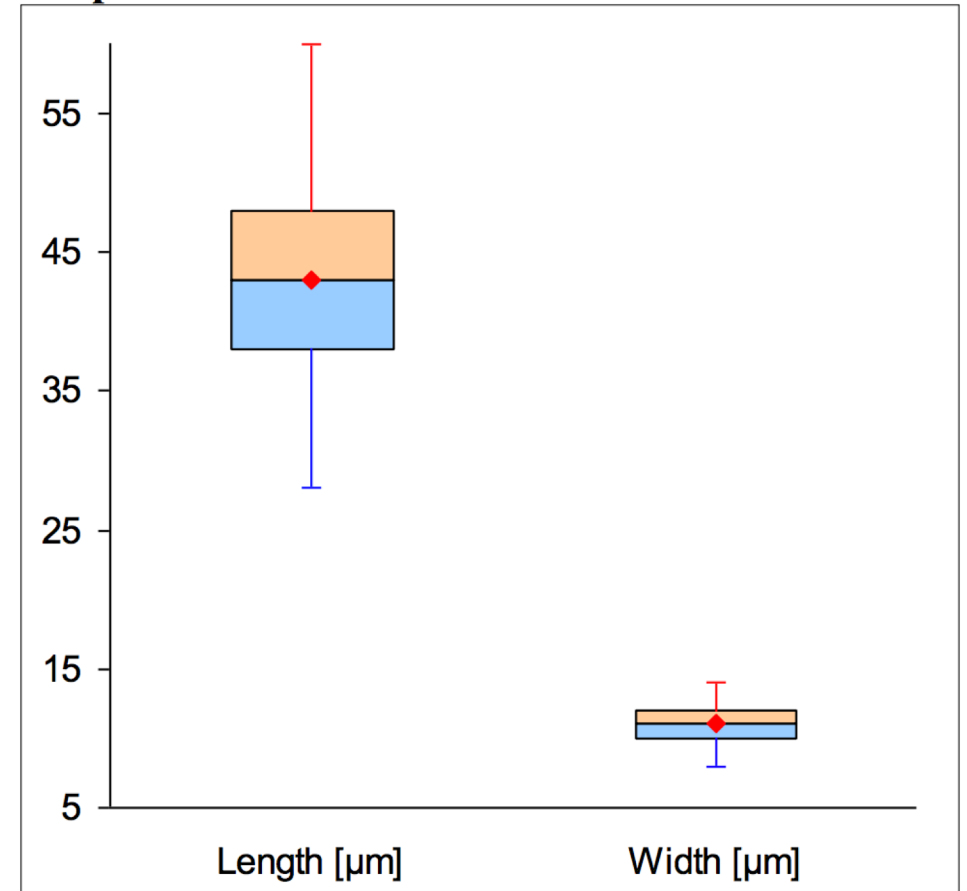
Pleurocystidia

Scatter plot with 80% & 90% prediction interval ellipse



- = measured dimensions
- ▶ = arithmetic mean
- ▶ = median
- = 80% prediction interval ellipse
- = 90% prediction interval ellipse

Boxplot:



Boxes show the upper and lower quartile.
Whiskers show the absolute min to max. dimensions.
Red dot shows the arith. mean.

Mesures *Psathyrella montgrinensis*

Spores daniel		Spores carbo1		Spores carbo2		Spores carbo3		Spores carbo4		cheilo carbo		cheilo daniel		Pleuro carbo		Pleuro Daniel		Basides daniel	
7	5	8	5	9	5,5	8,5	5	8	5	18	14	48	12	45	10	28	10	15	11
7	4	8	5	8	5	7,5	5	8	5	20	11	25	9	55	8	28	11	16	8
7	4,5	8	5,5	8	5	7,5	5	8	5	28	12	28	12	60	9	30	10	17	11
7	4,5	8	5	8	5	8	5,5	8	5,5	32	12	30	10	60	10	32	10	18	10
7	5	8	5	8	5	8	5	8	5,5	35	8	30	12			34	10	18	10
7	5	8	5	8	5,5	8	5	8	4,5	35	10	30	10			34	9	20	7
7	5	8	5	8	5	8	5,25	8	5	38	12	31	13			35	10	20	12
7	5	8	5,5	8	5	8	5,5	8	5,5	40	10	32	12			35	9	21	12
7,5	5	8	5	8,5	5	8	5,5	8	5	45	12	32	17			35	11	24	12
7,5	5	8	5	8,5	5	8	5,5	8	5	50	12	33	14			35	9	24	11
7,5	4,5	8,5	5	8,5	5	8	5,25	8	5	58	12	35	11			37	10	27	11
8	4	8,5	5,5	8,5	5	8	5	8	5			35	15			38	11	30	10
8	5	8,5	5,5	8,5	5	8	5	8	5			35	12			38	12	32	9
8	5			8,5	5,25	8	5	8	5			35	13			38	10		
8	5			9	5,5	8	5	8,5	5,25			35	11			39	11		
8	5			9	5	8	5	8,5	5,25			35	12			40	14		
8,5	5					8	5,5	8,5	5			36	11			40	10		
9	5					8	5	8,5	5			37	12			40	10		
9	5					8	5	8,5	5,25			37	14			41	13		
9,5	5					8,5	5,25	8,5	5			37	16			42	12		
9,5	5					8,5	5,5	8,5	5			37	14			42	13		
9,5	5					8,5	5	9	5,5			38	12			42	10		
10	5					8,5	5	9	5,25			38	14			43	10		
10	5					9	5,5	9	5			39	13			43	10		
10	5					9	5,5					39	12			44	10		
10	5											39	11			45	13		
10	5											40	12			45	11		
10	5,5											42	13			45	11		
10	5											42	11			45	12		
												43	13			45	12		
												45	13			46	13		
												45	14			46	13		
												46	11			48	12		
												47	15			48	11		
												47	11			49	11		
												47	11			51	13		
												50	13			51	11		
												50	15			52	12		
												50	12			52	13		
												50	15			54	14		
												52	16			55	12		
												55	13			55	14		

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-B primer [1], amplification of the LSU region was performed with the LR0R primer [2]. The initial base calling was done with FinchTV [3]. 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 */Pennatae*-clade by divergence matrix and corrected if necessary. In the present case only a trimming of the trails was necessary after linking the ITS and LSU region at the overlapping part. 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 [4] and Unite [5] (essential ones of the partial */Pennatae*-clade see Table 1). Region boundaries for the ITS- and LSU-region were carried out with ITSx [6] and HMMER [7] including the databases. As outgroup, the sequence sets of the most closely related clades of the Ingroup were used, i.e. the lower */Pennatae* down to the */gordonii* 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 [8] 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 [9] using the SIC = "Simple Indel coding" [10] method. After each alignment step, an ML analysis with RAxML [11] (model: GTRCAT, refining under GTR+G for DNA, GTR2+G with acquisition bias correction according to Lewis [12] 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 [13], 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 [14]. For the final partitioning, the guide tree of the last iteration step was used. As information criterion the Bayesian Information Criterion (BIC) [15] used was after comparison with the Corrected Akaike Information Criterion (AICc) [16] 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: LSU
- DNA-partition 3: 5.8S + β -tub-Codon 1 + β -tub-Codon 2
- DNA-partition 4: β -tub-Codon 3 + ef-1 α -Codon 3
- DNA-partition 5: ef-1 α -Codon 1
- DNA-partition 6: ef-1 α -Codon 2
- Binary partition (gap matrices): ITS1 + ITS2 + LSU

The final maximum likelihood analysis was done with RAxML 8.2.10 [11]. For all DNA partitions, the GTR substitution matrix [17] under the CAT model [11] was used. The final optimization took place under gamma distribution [11]. For the binary partitions, the "Two State Time-Reversible Model" with acquisition bias correction [12] 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 [18].

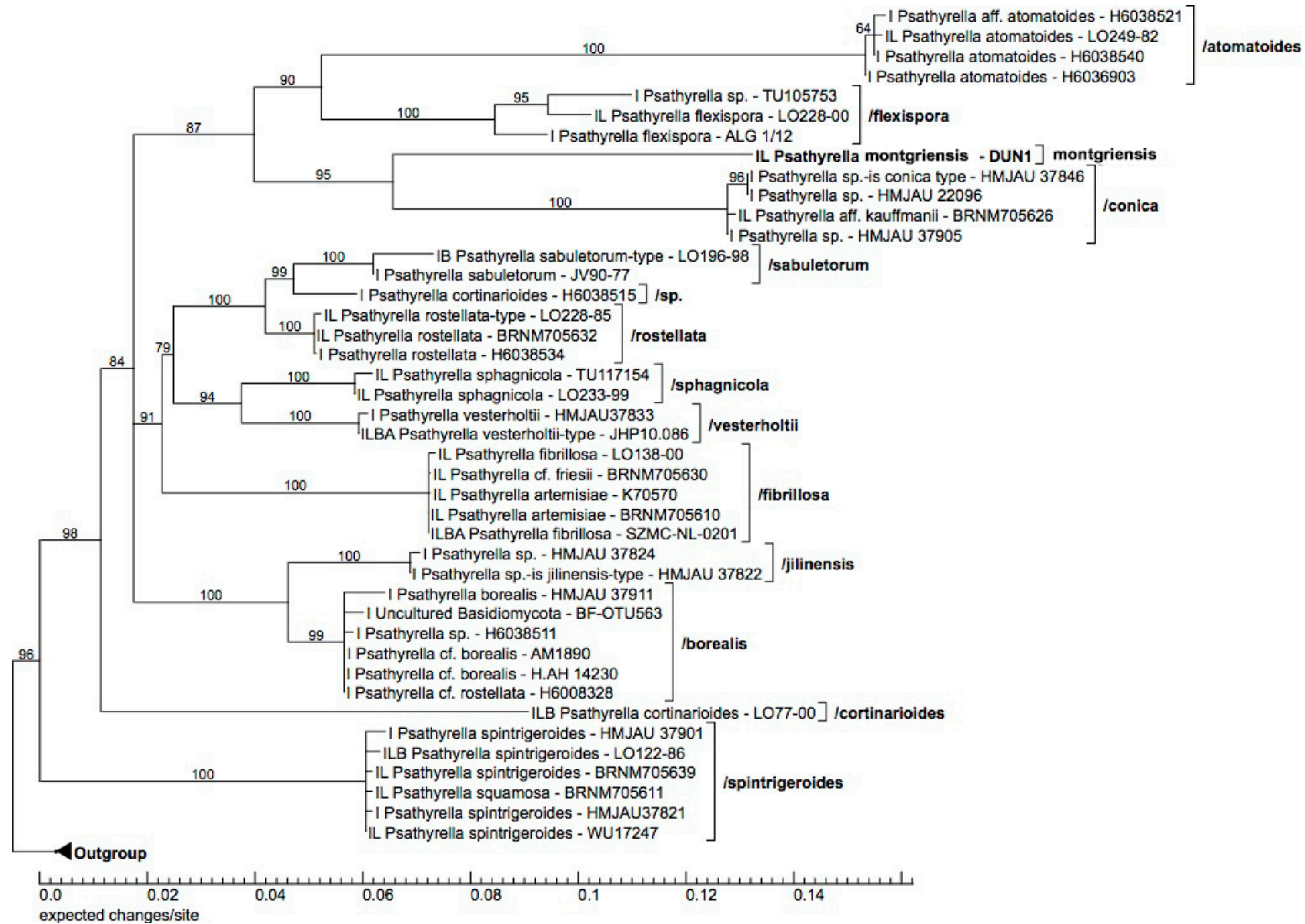


Fig 1: 50% collapsed maximum likelihood consensus phylogram. The values on the branches are ML bootstrap values. Abbreviations: I: ITS region, L: LSU region, B: β -tubulin region, A: ef-1 α region.

Table 1 List of relevant sequences used in this publication

Species	Voucher	ITS	LSU	β -Tub	ef-1 α
<i>Psathyrella</i> aff. <i>atomatoides</i>	H6038521	UDB021201			
<i>Psathyrella</i> aff. <i>kauffmanii</i>	BRNM705626	AM712260.1	AM712260.1		
<i>Psathyrella</i> <i>artemisiae</i>	K70570	AM712248.1	AM712248.1		
<i>Psathyrella</i> <i>artemisiae</i>	BRNM705610	AM712249.1	AM712249.1		
<i>Psathyrella</i> <i>atomatoides</i>	LO249-82	KC992930.1	KC992930.1		
<i>Psathyrella</i> <i>atomatoides</i>	H6038540	UDB021218			
<i>Psathyrella</i> <i>atomatoides</i>	H6036903	UDB021166			
<i>Psathyrella</i> <i>borealis</i>	HMJAU 37911	MG734746.1			
<i>Psathyrella</i> cf. <i>borealis</i>	AM1890	MG010483.1			
<i>Psathyrella</i> cf. <i>borealis</i>	H.AH 14230	MK045709.1			
<i>Psathyrella</i> cf. <i>friesii</i>	BRNM705630	AM712247.1	AM712247.1		
<i>Psathyrella</i> cf. <i>rostellata</i>	H6008328	UDB021152			
<i>Psathyrella</i> <i>cortinarioides</i>	H6038515	UDB021195			
<i>Psathyrella</i> <i>cortinarioides</i>	LO77-00	KC992936.1	KC992936.1	KJ664908.1	
<i>Psathyrella</i> <i>fibrillosa</i>	LO138-00	DQ389686.1	DQ389686.1		
<i>Psathyrella</i> <i>fibrillosa</i>	SZMC-NL-0201	FN396137.1	FN396181.1	FN396337.1	FN396232.1
<i>Psathyrella</i> <i>flexispora</i>	LO228-00	KC992929.1	KC992929.1		
<i>Psathyrella</i> <i>flexispora</i>	ALG 1/12	MK045306.1			
<i>Psathyrella</i> <i>rostellata</i>	LO228-85	DQ389693.1	DQ389693.1		
<i>Psathyrella</i> <i>rostellata</i>	BRNM705632	AM712246.1	AM712246.1		
<i>Psathyrella</i> <i>rostellata</i>	H6038534	UDB021213			
<i>Psathyrella</i> <i>sabuletorum</i>	LO196-98	KC992919.1		KJ664892.1	
<i>Psathyrella</i> <i>sabuletorum</i>	JV90-77	KC992918.1			
<i>Psathyrella</i> sp.	HMJAU 37846	MG734739.1			
<i>Psathyrella</i> sp.	HMJAU 22096	MG734713.1			
<i>Psathyrella</i> sp.	HMJAU 37905	MG734745.1			
<i>Psathyrella</i> sp.	TU105753	UDB034187			
<i>Psathyrella</i> sp.	HMJAU 37824	MG734721.1			
<i>Psathyrella</i> sp.	HMJAU 37822	MG734717.1			
<i>Psathyrella</i> sp.	H6038511	UDB021191			
<i>Psathyrella</i> <i>sphagnicola</i>	TU117154	UDB024323	UDB024323		
<i>Psathyrella</i> <i>sphagnicola</i>	LO233-99	KC992937.1	KC992937.1		
<i>Psathyrella</i> <i>spintrigeroides</i>	HMJAU 37901	MG734737.1			
<i>Psathyrella</i> <i>spintrigeroides</i>	LO122-86	DQ389696.1	DQ389696.1	KJ664891.1	
<i>Psathyrella</i> <i>spintrigeroides</i>	WU17247	AM712251.1	AM712251.1		
<i>Psathyrella</i> <i>spintrigeroides</i>	BRNM705639	AM712252.1	AM712252.1		
<i>Psathyrella</i> <i>spintrigeroides</i>	HMJAU37821	MG367204.1			
<i>Psathyrella</i> <i>squamosa</i>	BRNM705611	AM712250.1	AM712250.1		
<i>Psathyrella</i> <i>vesterholtii</i>	HMJAU37833	MG367202.1			
<i>Psathyrella</i> <i>vesterholtii</i>	JHP10.086	KC992938.1	KC992938.1	KJ664909.1	KJ732821.1
Uncultured Basidiomycota	BF-OTU563	FR682306.1			

References

- Gardes M, Bruns TD. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol.* 1993;2:113–118
- Rehner SA, Samuels GJ (1994) Taxonomy and phylogeny of *GlIOClaDIum* analysed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycological Research* 98: 625–634
- FinchTV 1.4.0:** Geospiza, Inc.; Seattle, WA, USA; <http://www.geospiza.com>
- 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/>
- 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, Schüßler 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
- ITSx 1.1b:** JOHAN BENGTTSSON-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 BENGTTSSON-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)
- HMMER 3.1b2** (February 2015): <http://hmmer.org/> - Copyright (C) 2015 Howard Hughes Medical Institute. Freely distributed under the GNU General Public License (GPLv3)
- Mafft 7.372** (used over mafft.cbrc.jp)
- NAKAMURA, YAMADA, TOMII, KATO H 2018 (Bioinformatics 34:2490–2492) - Parallelization of MAFFT for large-scale multiple sequence alignments.
 - KATO H, ROZEWICKI, YAMADA 2017 (Briefings in Bioinformatics, in press) - MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization.
 - YAMADA, TOMII, KATO H 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.
 - KATO H, STANDLEY 2016 (Bioinformatics 32:1933-1942) - A simple method to control over-alignment in the MAFFT multiple sequence alignment program.
 - KATO H, STANDLEY 2013 (Molecular Biology and Evolution 30:772-780) - MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability.
 - KURAKU, ZMASEK, NISHIMURA, KATO H 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.
 - KATO H, FRITH 2012 (Bioinformatics 28:3144-3146) - Adding unaligned sequences into an existing alignment using MAFFT and LAST.
 - KATO H, TOH 2010 (Bioinformatics 26:1899-1900) - Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program.
 - KATO H, 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
 - KATO H, TOH 2008 (BMC Bioinformatics 9:212) - Improved accuracy of multiple ncRNA alignment by incorporating structural information into a MAFFT-based framework.
 - KATO H, TOH 2008 (Briefings in Bioinformatics 9:286-298) - Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program.
 - KATO H, TOH 2007 (Bioinformatics 23:372-374) Errata - PartTree: an algorithm to build an approximate tree from a large number of unaligned sequences.
 - KATO H, KUMA, TOH, MIYATA 2005 (Nucleic Acids Res. 33:511-518) - MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment.
 - KATO H, MISAWA, KUMA, MIYATA 2002 (Nucleic Acids Res. 30:3059-3066) - MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform.
- SeqState 1.4.1:** MÜLLER, K (2005), SeqState - primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA data sets. *Applied Bioinformatics*, 4, 65-69
- SIC (Simple Indel Coding):** SIMMONS MP AND OCHOTERENA H (2000): Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Syst Biol* 49: 369–381
- 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=VTEqgUJYCDcf0kP>
- Zweiparameter Modell **& 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
- 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. *PHILOS 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
- Partitionfinder 2.1.1:**
- LANFEAR, R., FRANSDEN, 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](https://doi.org/10.1093/molbev/msw260)
 - greedy algorithm used with Partitionfinder: LANFEAR, R., CALCOTT, B., HO, S. Y., & GUINDON, S. (2012). PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution*, 29(6), 1695-1701
- Bayesian Information Criterion (BIC):** SCHWARZ, G. (1978). Estimating the dimension of a model. *The Annals of Statistics*, 6, 461–464
- korrigiertes Akaike Informationskriterium (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
- GTR-Modell:** 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
- Treegraph 2.14.0-771 beta:** STÖVER B C, MÜLLER K F: TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. *BMC Bioinformatics* 2010, 11:7 - DOI: 10.1186/1471-2105-11-7

L'holotype (récolte du 10/03/18) a été séquencé (ITS) par le laboratoire Alvalab (Pablo Alvarado Garcia) et a révélé qu'il n'existait aucune correspondance avec les espèces connues recensées dans Genbank et Unite.

GenBank accession number : **MK254969.1**

Final ITS-LSU sequence is:

>DUN1_Psathyrella_montgriensis

```
GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAATGAATAACTATGGCGTTGGTTGTAGCTGGCTTTTAGGAGCACTTGTGCACACCCCG
TCATTTTTATCTTTCCACCTGTGCACTTAATGTAGGCCTGGATAACTCTCACTCTTAATCAGAGTGGATAACAAGGATTGCTGAGCAGAAATGCTCAGCTCTCTTTGAATTTCCA
GGTCTATGTATCTTTACACACCCCAATTGTATAATGAAGAATGTATTCAAATGGGCTTTTATGCCTATAAACAATATACAACCTTTCAGCAACGGATCTTTGGCTCTCGCATCGA
TGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGA
GTGTCATTAAATTATCAACTTTATCAGCTTGCTGTATAAAGCTTGGATGTGGAGGTTTTTTTGCAGATAAGCTTCATGGCATTCTGCTCCTCTTAAATAAATTAGCGAGTTTAA
ACTAGGCTCTGTCTATTGGTGTGATAACTATCTACACCGTTGGATTGGGCTTAGACTTGCTTCTAACCGTCTGAAAAGACAATCTTTTGACAATTTGACCTCAAATCAGGTAGG
ACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGGAAAAGCTCAAATTTAAAATCTGGTGGTC
TTTGGCCATCCGAGTTGTAATCTAGAGAAGTGTTACCCGCGTYGGACCGTGTACAAGTCTCCTGGAATGGAGCGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTCTTTGACACGGACTAC
CGAGGCTTTGTGGTGCCTCTCAAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAATGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAA
GTACCGTGAGGGAAAGATGAAAAGAACTTTGGAAAGAGAGTTAAACAGTACGTGAAATTGCTGAAAGGGAAACGCTTGAAGTCAGTCGCGTTAGTCAGAAATCAGCCTT
GCTTTTTGCTGGGTGTATTTTCTGGTTGATGGGCCAGCATCAGTTTTGACCGGTGAAAAAGTCTAAAGGAATGTAGCATCCTTGGATGTGTTATAGCCTTTGGTTCGTATRCA
TCGATTGGGACTGAGGAACTCAGCACTTGTGCTTAGGATGCTGGCGTAATGGCTTTAATCGACCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATGCCTGCGAGTGTGTTG
GGTGGAAAACCCGGACGCGTAATGAAAGTGAAAGTTGAGATCCCTGTCATGGGGAGCATCGACGCCTGGACCAGAAGTTCTCTGACGGCCCTGCGGTAGAGCATGTATGT
TGGGACCCGAAAGATGGTGAATATGCCTGAATAGGGTGAAGCCAGAGGAACTCTGGTGGAGGCTCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCAAATTTGGGTATA
GGGCGAAAAGACTAATCGAACCATCTAGTAGCTGGTTCCTGCCG
```

Discussion

Psathyrella montgriensis est une petite espèce salbulicole récoltée parmi les mousses, dans les pinèdes de dunes fixées de la réserve naturelle de Torroella de Montgrí. Elle est macroscopiquement et microscopiquement très proche de *Psathyrella dunensis*. Cette dernière espèce en diffère cependant par un aspect moins fragile avec un chapeau pouvant atteindre 3 cm de diamètre, rosissant nettement par temps sec ainsi que par le fait que les lames sont surlignées. D'autre part, si les pleurocystides et les cheilocystides de *P. dunensis* présentent également des dépôts mucoïdes au sommet ou sur les parois, ceux-ci sont discrets et peu abondants, alors qu'ils sont nombreux et importants chez *Psathyrella montgriensis*.

Remerciements

Nous remercions vivement Andreas Melzer, pour ses commentaires et suggestions, André Fraiture, pour les corrections apportées à la diagnose, Marcel Lecomte, pour la relecture de cet article sur le plan de la forme, Pablo Alvarado Garcia, pour le séquençage de cette espèce et Dieter Wächter, pour l'étude de la séquence ADN et la création de l'arbre phylogénétique.

Bibliographie

HAUSKNECHT, A & KRISAI, I (1987). Notes on *Psathyrella dunensis* (Coprinaceae). Plant systematics and Evolution 158, 63-68.

HEYKOOP, M. & F. ESTEVE-RAVENTÓS (1994). El género *Psathyrella* (Fr.) Quél. en España. I. (Especies recolectadas en Guadalajara). *Bol. Soc. Micol. de Madrid*, vol. 19: 37-57.

KITS van WAVEREN (1985). The Dutch, French and British species of *Psathyrella*. Persoonia supplement vol. 2, 1-300, 254.

ÖRSTADIUS L. & KNUDSEN H., 2008 - *Psathyrella*. - In: KNUDSEN H. & VESTERHOLT J. (eds.): Funga Nordica: 586-623.

ÖRSTADIUS L., RYBERG M. & LARSSON E., 2015 - Molecular phylogenetics and taxonomie in *Psathyrellaceae* (Agaricales) with focus on psathyrelloïd species: introduction of three new genera and 18 new species. *Mycol. Progress* 14(5), Article 25, pages 1-42.

Auteurs

Daniel Deschuyteneer : Spreeuwenhoek 12, 1820 Perk, Belgium - danieldeschuyteneer@gmail.com

Miquel À. Pérez-De-Gregorio : Pau Casals, 6, 1^{er}, 1a, 17001 Girona, Spain - miquelpg@gmail.com

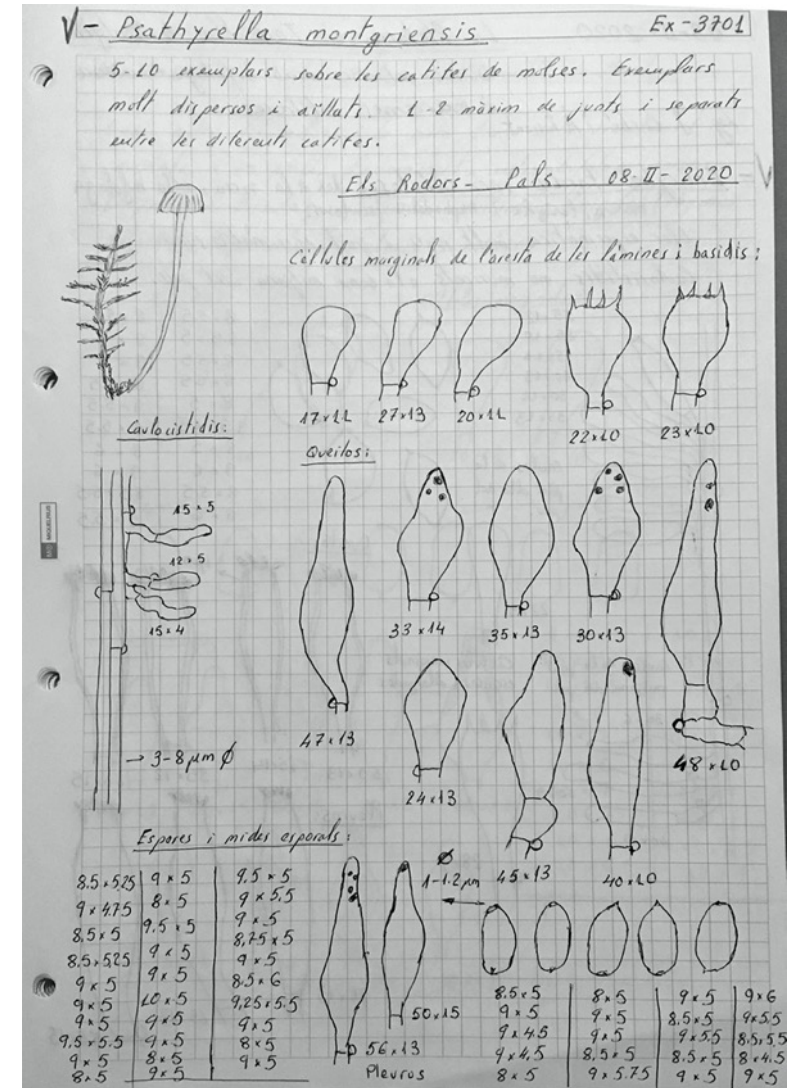
Joaquim Carbó : c/ Roser, 60. E-17257 Torroella de Montgrí (Girona). j_carbo@infonegocio.com

Àngel Torrent : Passeig Firal, 48. E-17170 Amer (Girona). squamanita@gmail.com

Carles Roqué : Departament de Ciències Ambientals, Facultat de Ciències, Universitat de Girona. Campus Montilivi s/n E-17071 Girona. carles.roque@udg.edu

***Psathyrella montgriensis* Deschuyteneer & all – upgrade.**

Auteurs : Daniel Deschuyteneer, M. À. Pérez-De-Gregorio, Joaquim Carbó, C. Roqué & À. Torrent.



New specimens collected 08 & 22/02/2020 at Pals - Els Rodors – Spain.

Legs and drawing J. Carbó. Voucher: EX 3701 & EX 3711 - Among moss in fixed dune with pine.

Deux nouvelles récoltes réalisées à Pals, en Espagne, nous permettent de préciser les caractères microscopiques de cette espèce dont l'holotype a été décrit par les mêmes auteurs dans le journal de l'AMFB 2019/12.

Il nous apparaît important de corriger une erreur qui s'est glissée dans notre description initiale des spores de cette espèce.

Celles-ci ne sont pas brunes foncées, subopaques mais bien d'un brun orangé pâle avec une ou deux grosses gouttes mucoïdes intracellulaires. Comme illustré dans ces deux récoltes l'aspect des spores peut légèrement différer d'une récolte à l'autre.

Tout comme dans l'holotype nous observons une récolte (3701) dont les spores ont un aspect pyriforme en vue de face, et larmiforme en vue de profil, suite à une importante dépression suprahilare.

Cet aspect est toutefois nettement moins marqué dans la seconde récolte (3711).

Les inclusions cytoplasmiques qui avaient été observées au sommet de quelques cheilocystides et pleurocystides lors de l'examen de l'holotype correspondent très vraisemblablement à du nécro-pigment. De même les incrustations qui avaient été également observées au sommet de quelques unes de ces cellules correspondent à des contaminations de la préparation qui contient de nombreux cristaux en relation avec son écologie sabulicole.

De nouvelles photos micro des spores, des cheilocystides et des pleurocystides ont été réalisées et les différentes mesures affinées.

Two new collections from Pals in Spain allow us to further refine the microscopic characteristics of this species, whose holotype was described by the same author's in the AMFB Journal 2019/12.

We feel it is important to correct an error that appeared in our initial description of the spores of this species.

The spores are not dark brown, and sub-opaque but pale orange brown with one or two large intracellular mucoid drops.

As illustrated in these two collections the appearance of the spores may differ slightly from one specimen to the other.

As in the holotype, we observe a collection (3701) whose spores have a pyriform appearance in face view and a larmiform appearance in profile, which is secondary to an important suprahilal depression.

However, this aspect is much less marked in the second collection (3711).

New micro photos of spores, cheilocystidia and pleurocystidia have been realised and the different measurements have been refined.

The cytoplasmic inclusions that were observed at the top of some cheilocystidia and pleurocystidia when the holotype was examined most likely correspond to necro pigment. Similarly, the incrustations that were also observed at the top of some of these cells correspond to a contamination of the preparation which contains numerous crystals related to its sabulicol ecology.

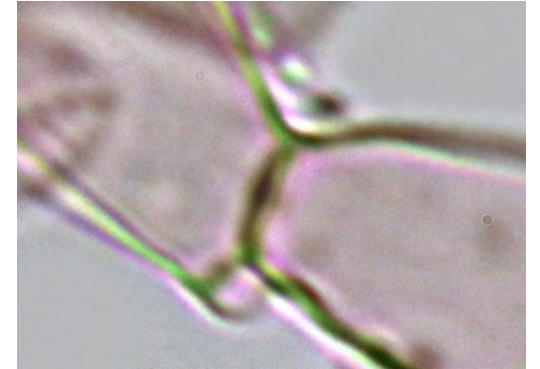
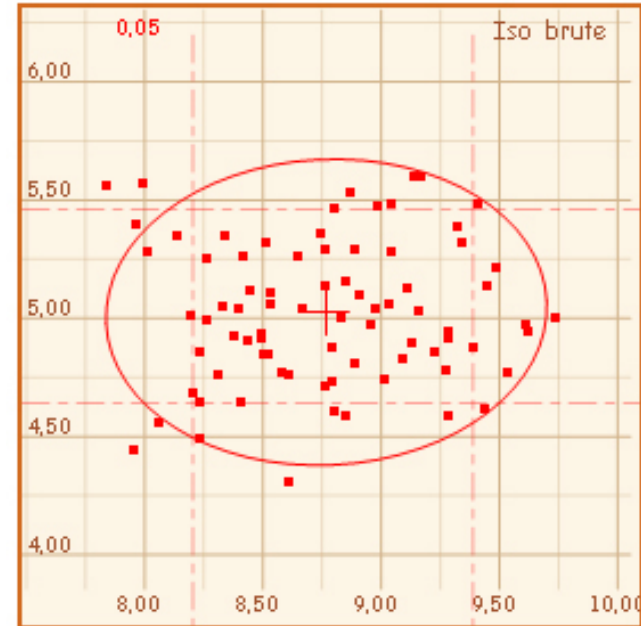
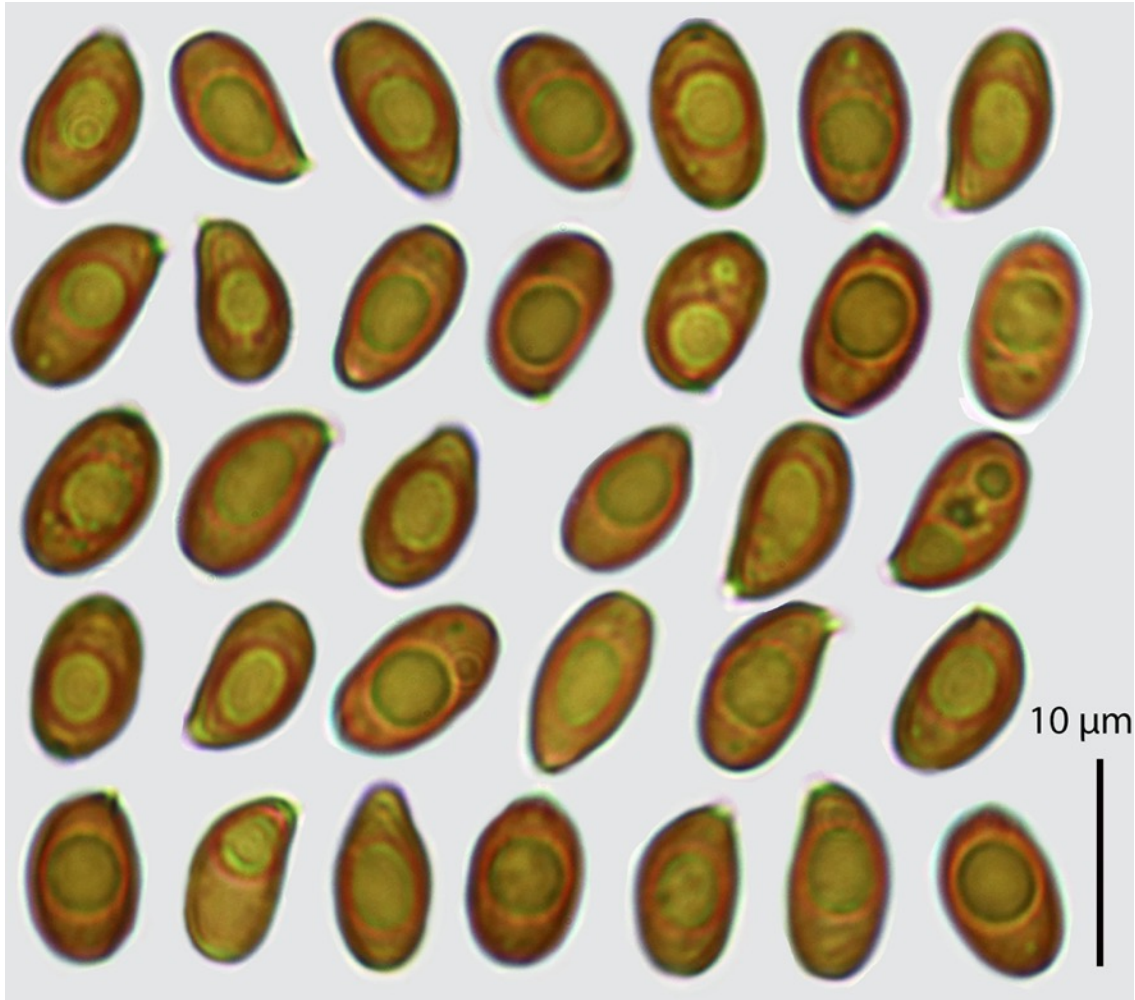
Etude de la récolte 3701 – Study of collection 3701

Basides tétrasporiques, clavées. **Boucles** présentes.

Spores brun orange pâle, non opaques, pyriformes de face et larmiformes de profil, suite à une importante dépression suprahilaire.

Basidia: 4 spored, clavate. **Clamps**: present

Spores: pale orange-brown, not opaque, pyriform in face view and larmiform in profile secondary to a strong suprahilar depression.



The spores measures were refined using Piximetre.

N = 80

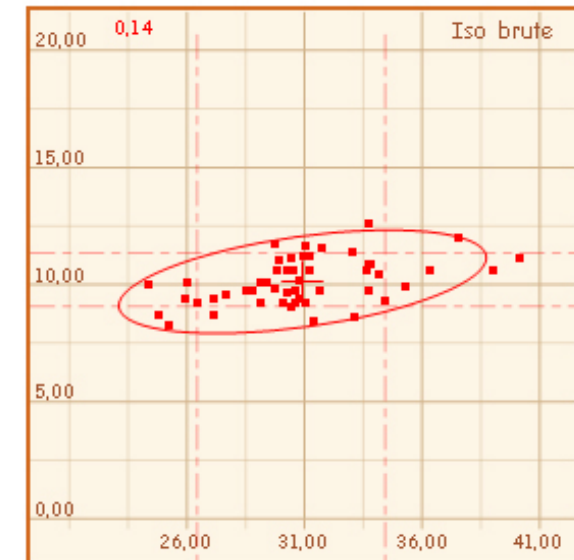
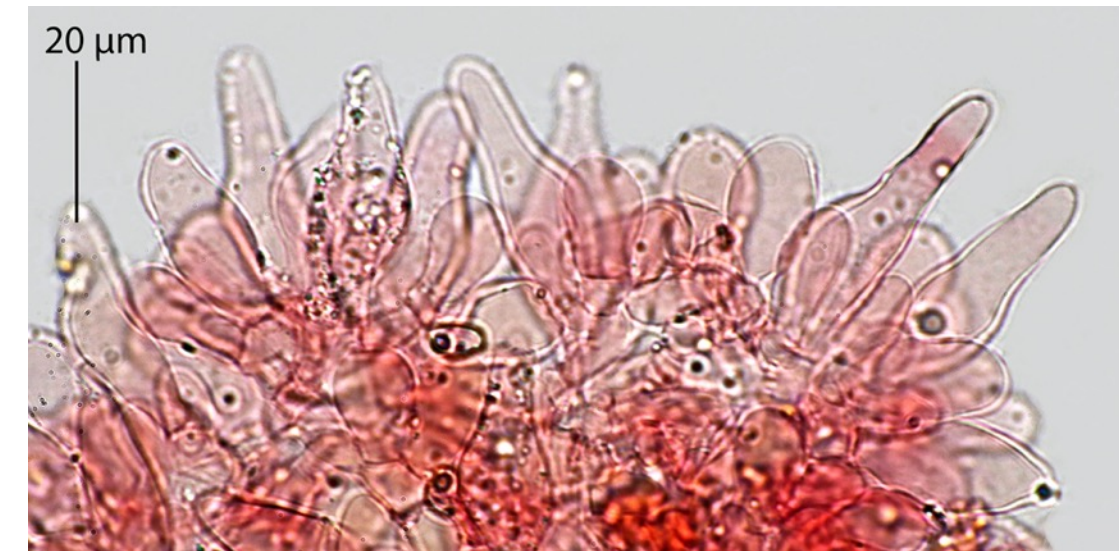
(7,8)8,2-9,4 9,7) × (4,3)4,6-5,5(5,6) µm ;

Me = 8,8 × 5 µm ;

Q = (1,4)1,6-1,9(2) ; Qe = 1,8.

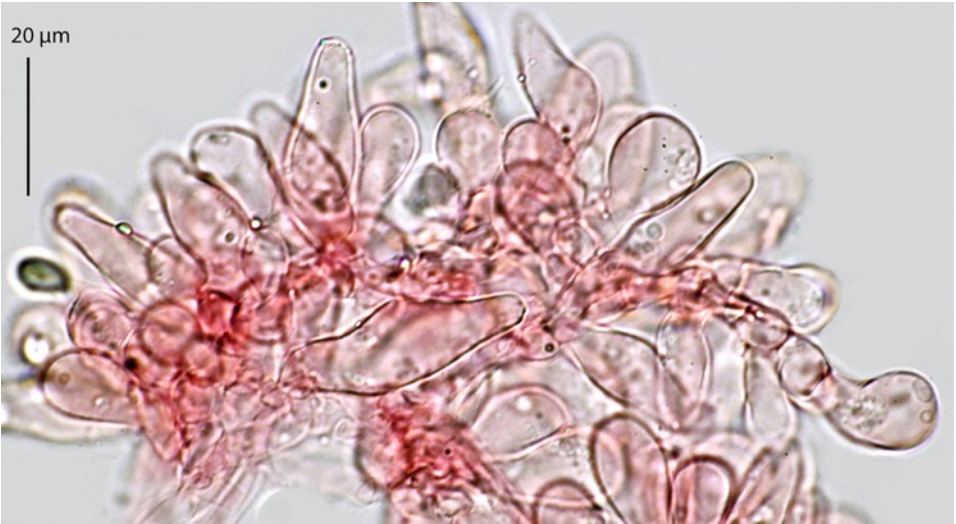
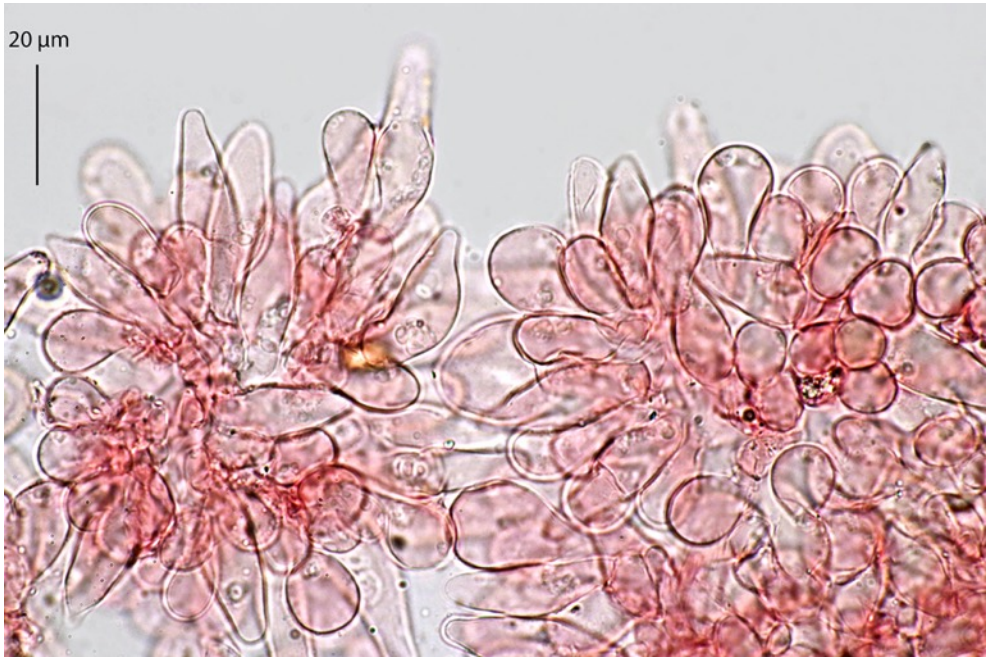
Cheilocystides nombreuses à paroi mince, sublagéniformes à utriformes, à long col et apex largement obtus, mélangées à un grand nombre de paracystides clavées ainsi qu'à des basides et des basidioles. A proximité de la marge du chapeau, les cheilocystides sont moins nombreuses et cèdent la place à de très nombreuses **paracystides**.

Cheilocystidia are numerous, thin-walled, sub-lageniform to utriform, with a long neck and a wide obtuse apex mixed with a large number of clavate paracystidia as well as basidia and basidioles. Near the margin of the cap, the cheilocystidia are less numerous and leave the place for a large number of **paracystidia**.



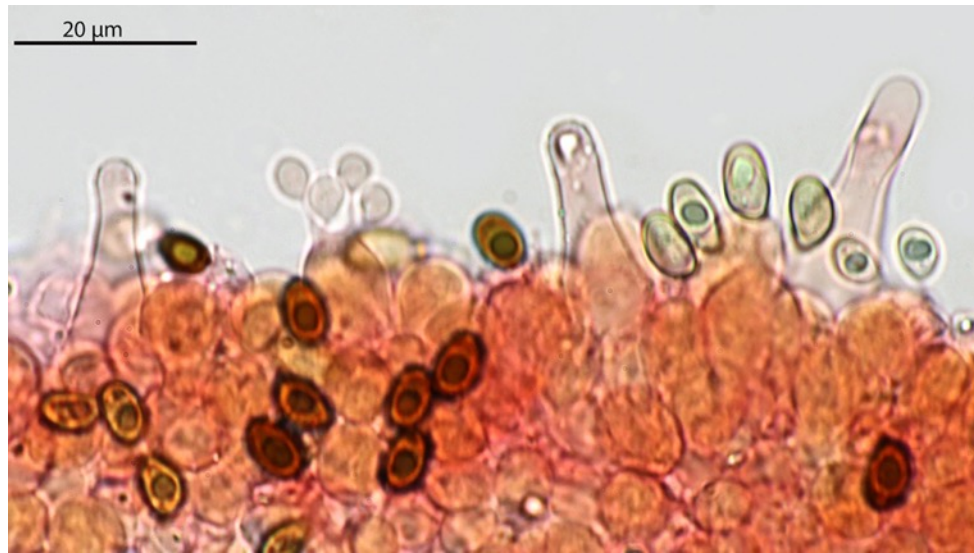
Cheilocystidia measures : (N = 50)
 (24,4)26,4-34,4(40,2) × (8,2)9,1-11,4(12,6) μm
Me = 30,9 × 10,1 μm ;
 Q = (2,4)2,7-3,6(3,9) ; Qe = 3,1.

Cheilocystidia and paracystidia

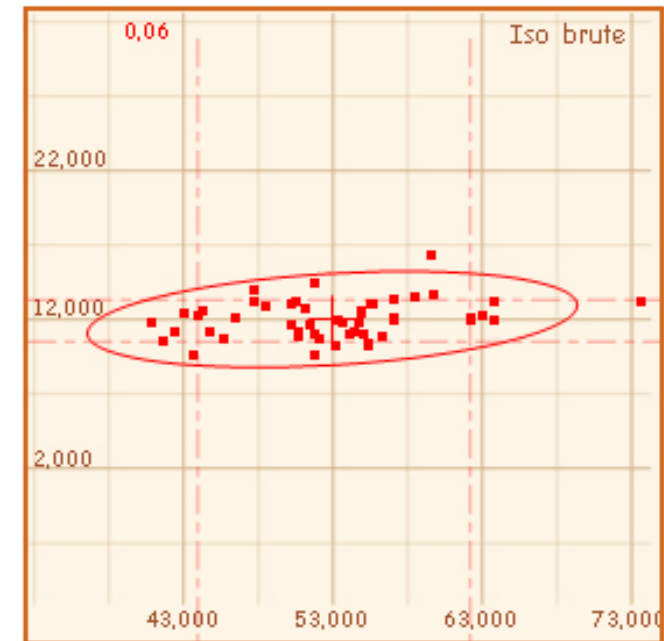


Pleurocystides très nombreuses, lagéniformes et fusi-lagéniformes, à long col et apex obtus, avec parfois un petit épaissement pariétal à proximité du sommet.

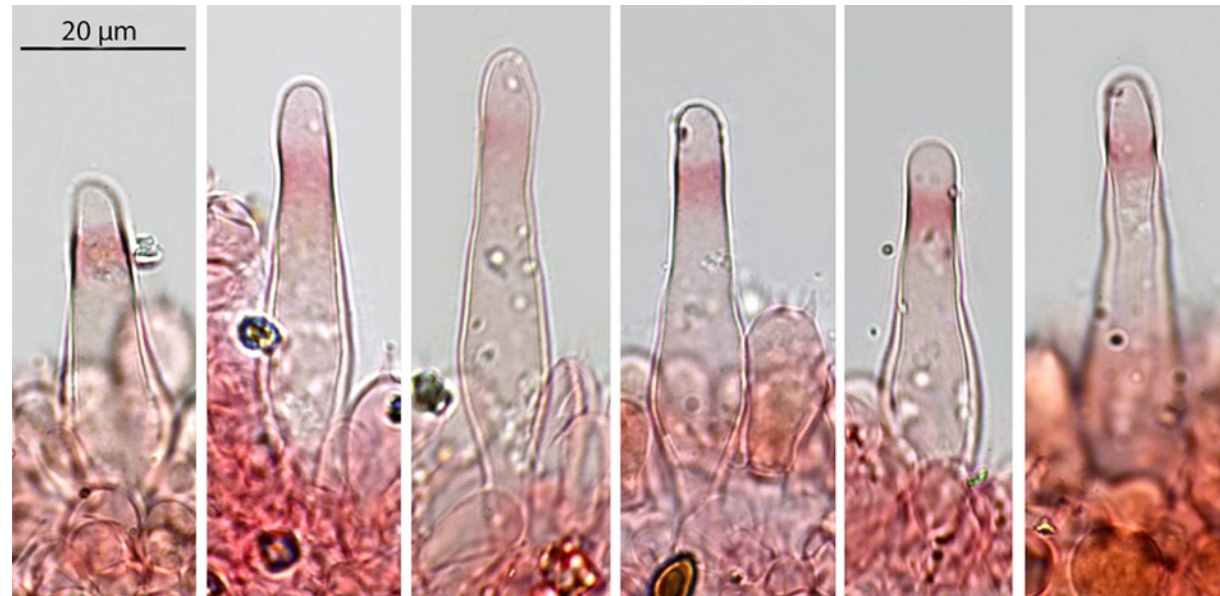
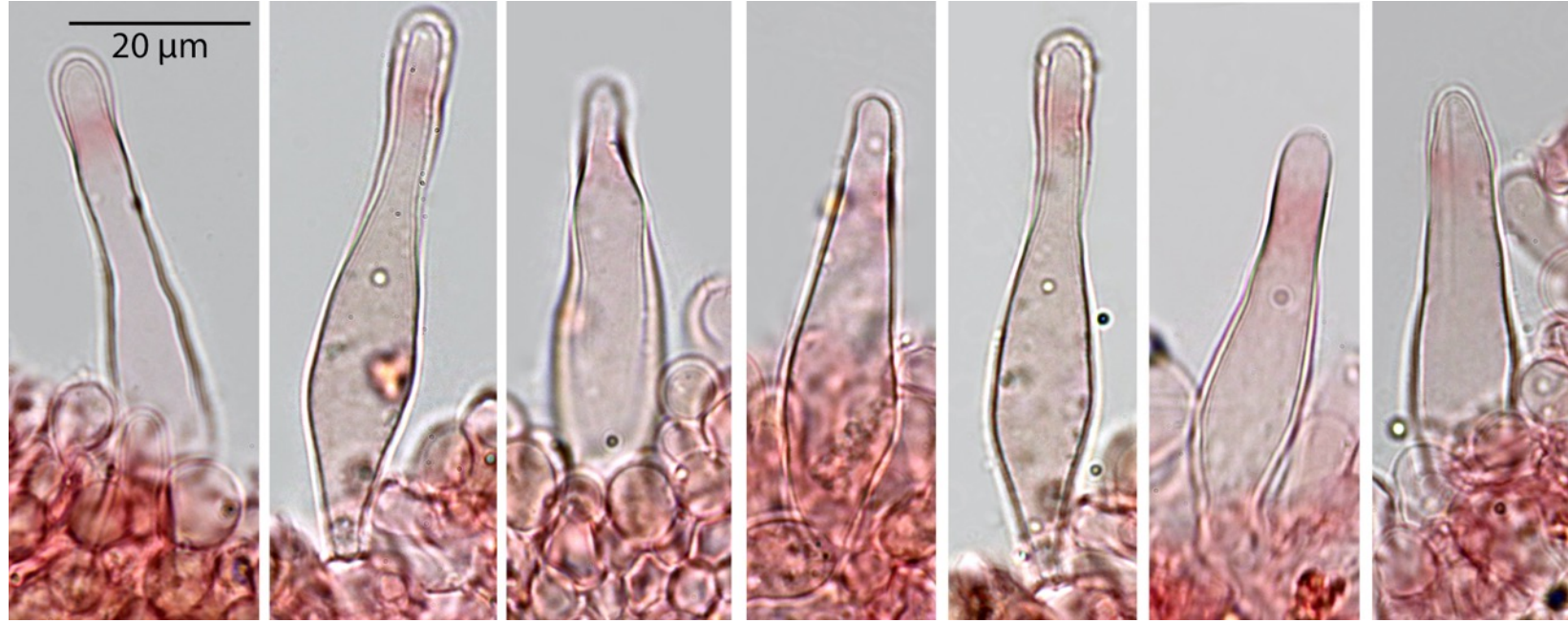
Pleurocystidia very numerous, lageniform and fusi-lageniform, apex obtuse, sometimes with a small parietal thickening, especially near the top



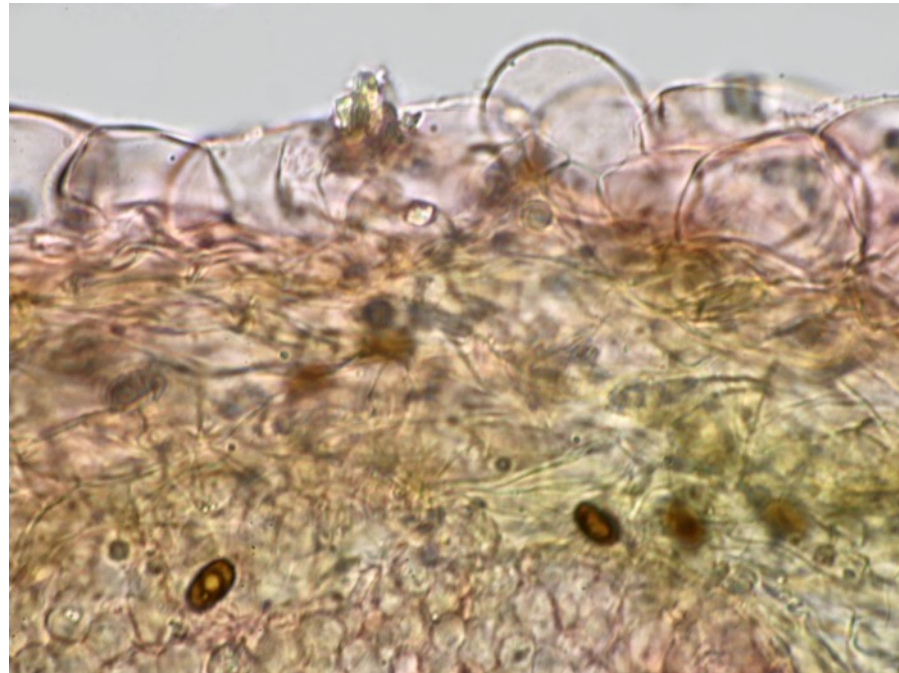
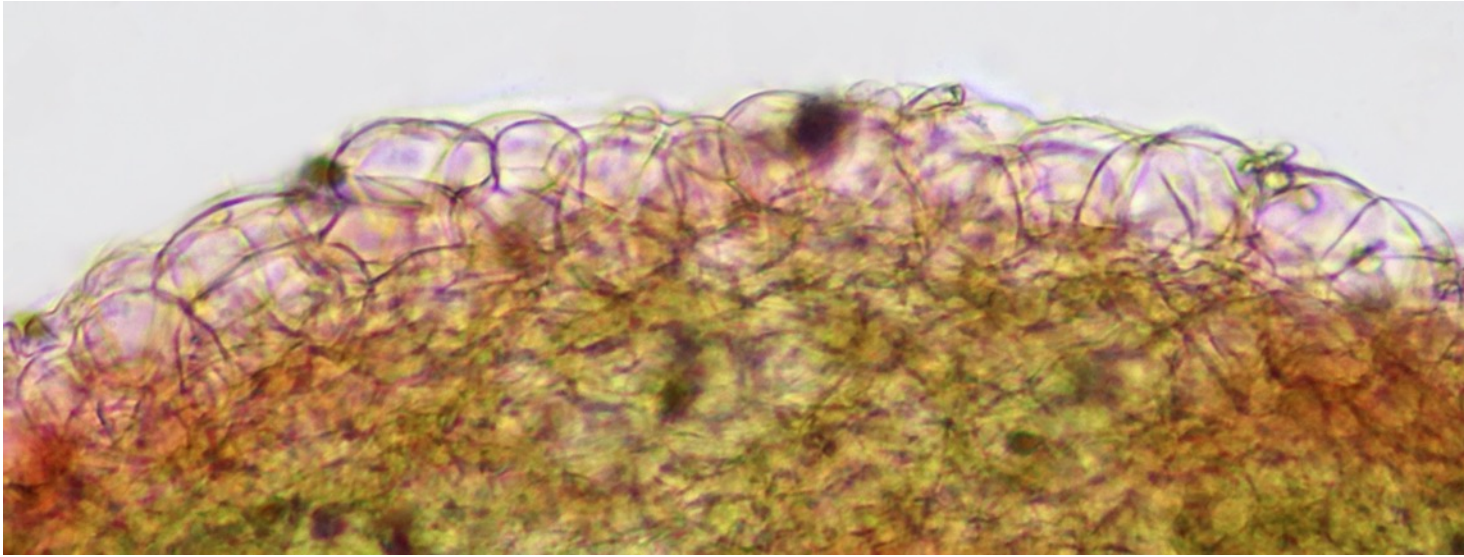
New measures done with Piximètre : (N = 50)
(40,8)44-62,2(73,7) × (9,7)10,5-13,3(16,3) µm ;
Me = 53 × 12 µm.



Pleurocystidia



Pileipellis: an hymenoderm of one layer of usual globose cells.



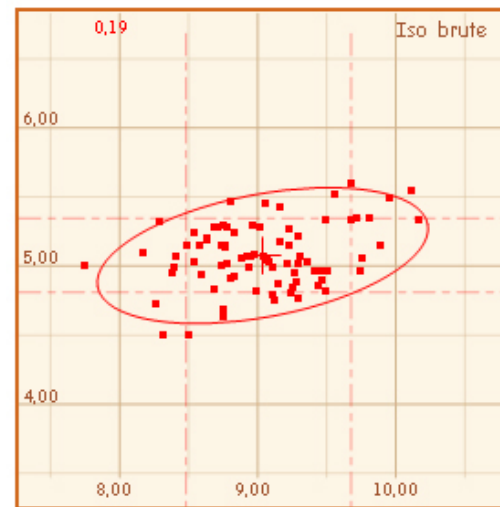
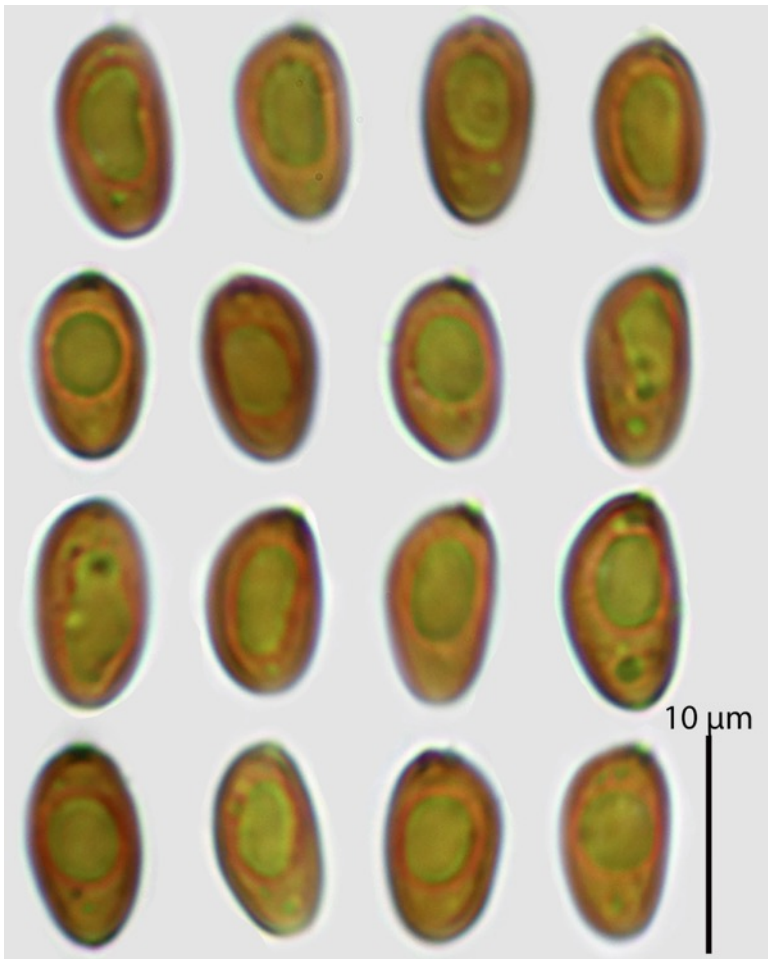
Etude de la récolte 3711 – Study of collection 3711

Dans cette récolte, les spores sont de coloration brun pâle orangé avec une ou deux grosses guttules intracellulaires, comme dans la récolte 3701 et l'holotype, mais on observe beaucoup moins de spores présentant une nette dépression suprahilare. De ce fait les spores apparaissent davantage oblongues de face et asymétriques et amygdaliformes de profil. Spores mesurées avec Piximètre (In this collection the spores are pale orange-brown and not opaque with one or two large intracellular drops as in the 3701 specimens and the holotype, but there are far fewer spores with a distinct suprahilary depression).

Spores 3711 : (N=80)

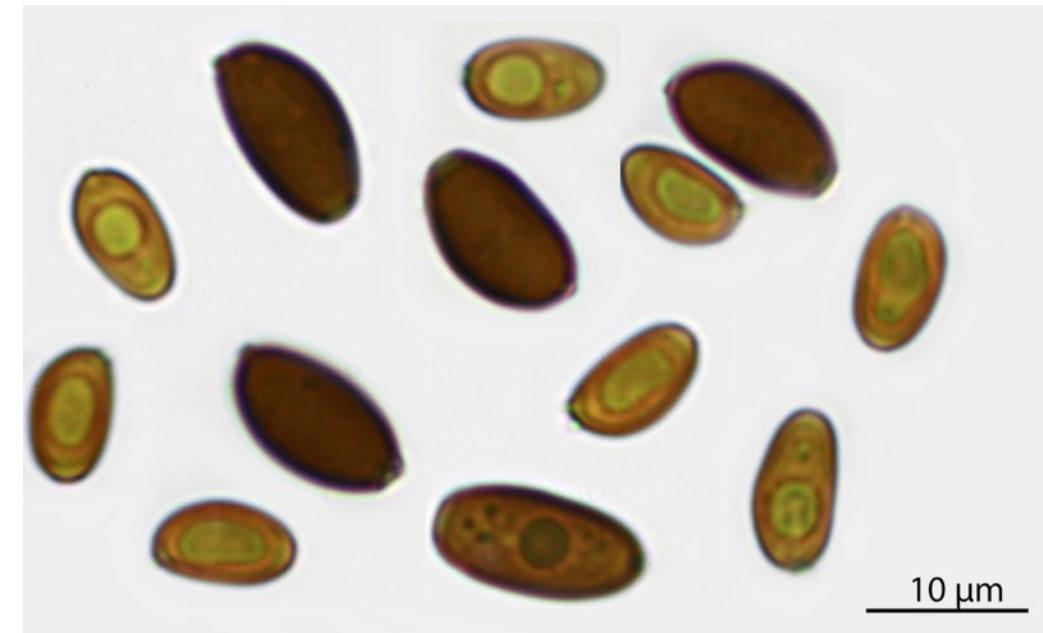
(7,7)8,5-9,7(10,2) × (4,5)4,8-5,3(5,6) μm ;

Me = 9 × 5,1 μm ; Q = (1,5)1,7-1,9(2) ; Qe = 1,8.



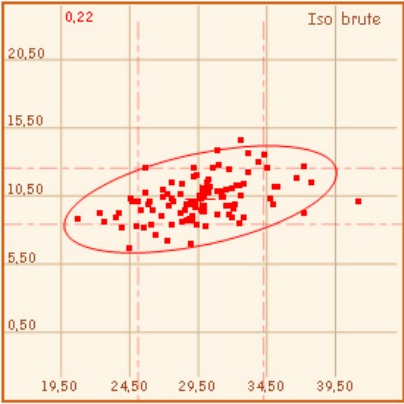
Comparaison des spores de *Psathyrella corrugis* & de *P. montgriensis* 3711.

Comparison of the spores from *Psathyrella corrugis* and *P. montgriensis* 3711

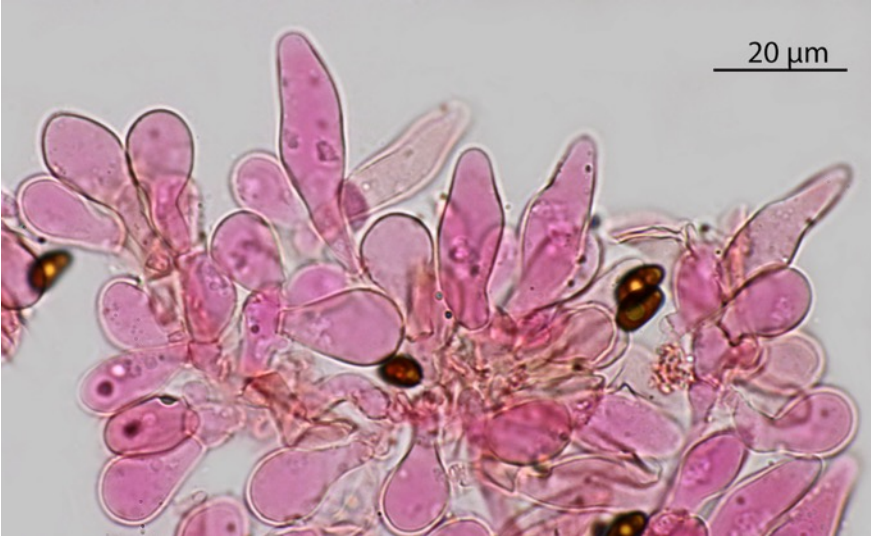


Cheilocystides 3711 mélangées avec de nombreuses paracystides clavées et quelques basides et basidioles.

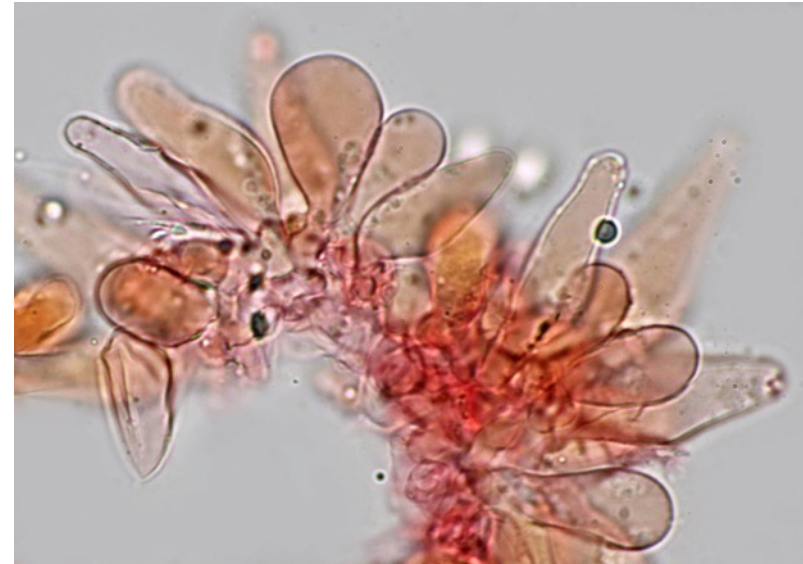
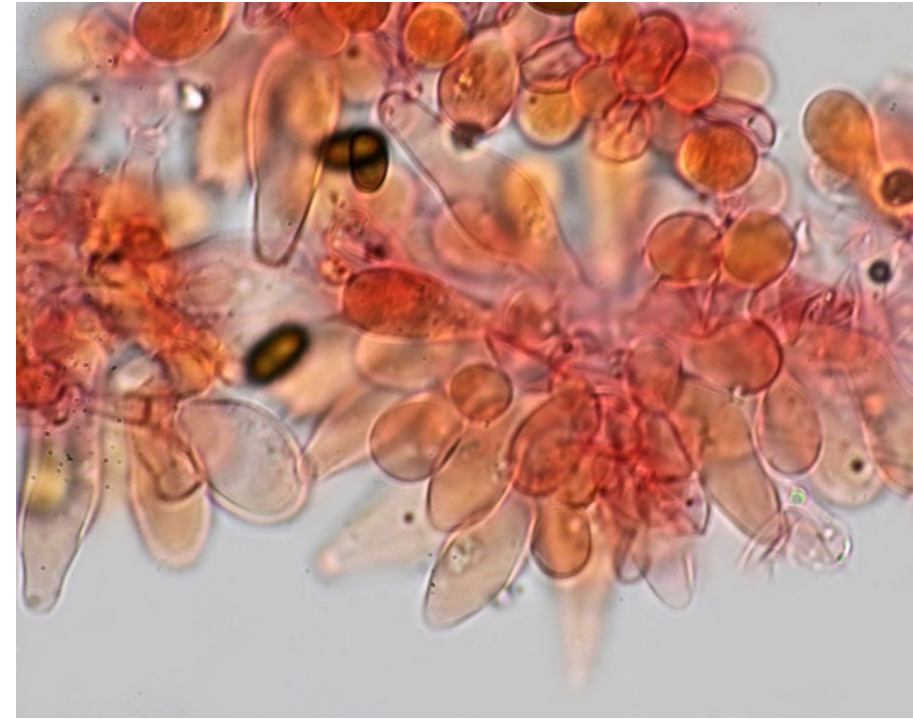
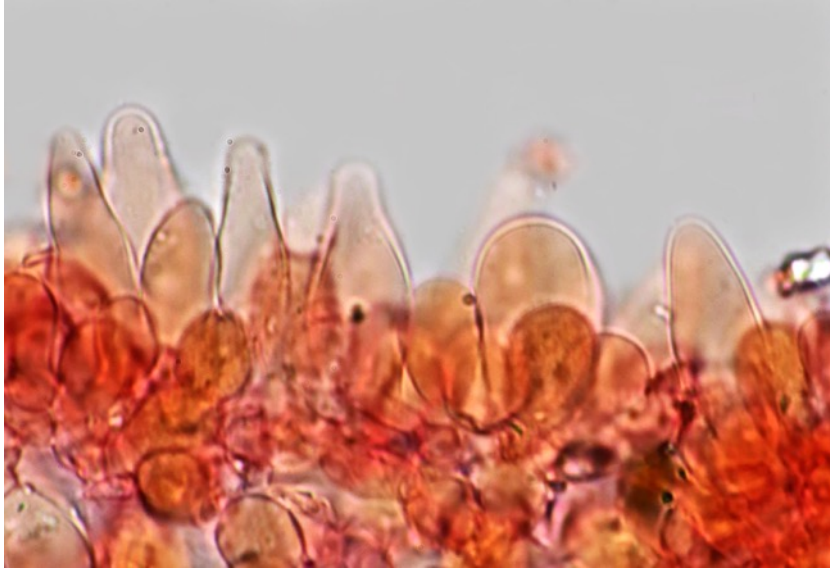
Cheilocystidia 3711 mixed with numerous clavate paracystidia and some basidia and basidioles.



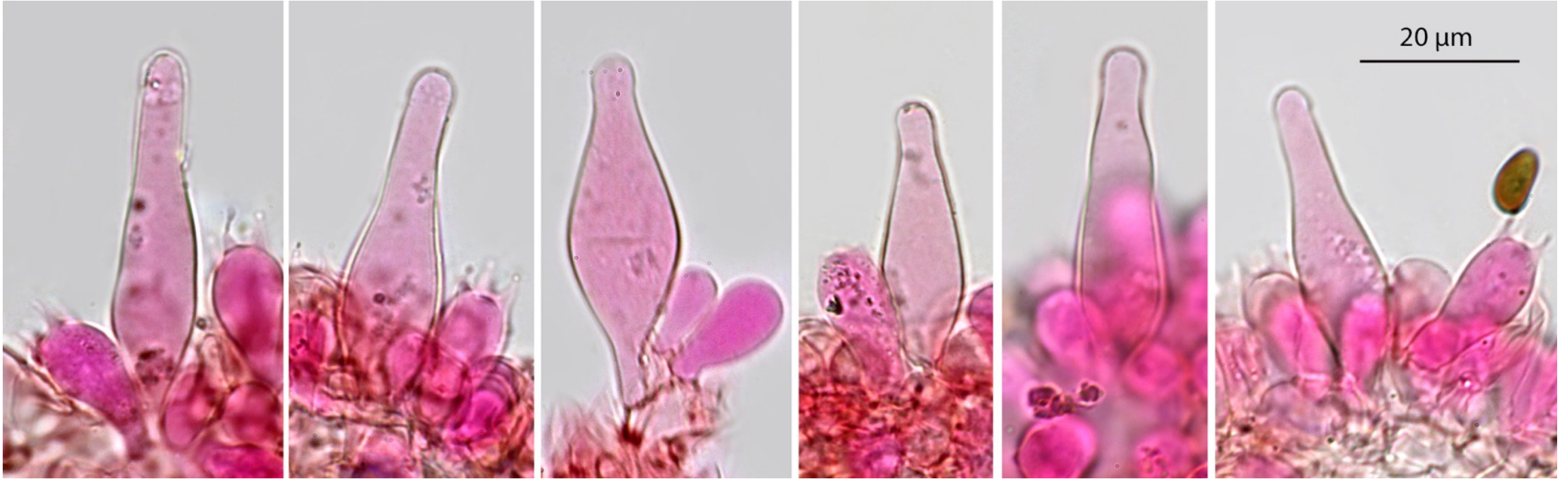
Piximètre (N = 100) :
(20,7)25,1-34,3(41,2) × (6,6)8,4-12,5(14,6) μm ;
Me = 29,7 × 10,3 μm



Cheilocystides 3711



Pleurocystides 3711 mesurées avec Piximètre (N=62) : $(37,3)42,9-53,3(55,6) \times (10,8)11,4-14,1(15,5) \mu\text{m}$; **Me = $48 \times 12,7 \mu\text{m}$** .



Toutes remarques ou suggestions constructives et correction d'erreurs éventuelles peuvent être adressées à

Daniel Deschuyteneer
danieldeschuyteneer@gmail.com