

## CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA MICOFLORA DEL PARC DE LA SERRALADA LITORAL

F. CABALLERO<sup>1</sup>, P. ALVARADO<sup>2</sup> i S. FERNÁNDEZ-BRIME<sup>3</sup>

1. Avda. Catalunya, 113, E. 08195 St. Fost de Campsentelles, Barcelona E-mail caballermartinez@hotmail.com

2. c/ La Rochela, 47. E.39012 Santander, Cantabria

3. Department of Botany, Swedish Museum of Natural History, P.O. Box 50007, SE-104 05 Stockholm, Sweden

**RESUMEN:** Contribución al conocimiento de la micoflora del Parc de la Serralada Litoral. Aportamos el examen de 6 especies correspondientes a 3 géneros distintos de basidiomicetes, *Entoloma*, *Leucoagaricus*, y *Trichocybe*, mediante la descripción de sus caracteres morfológicos, y en algún caso incluyendo análisis filogenéticos. También se incluye en este estudio una aportación a la iconografía de las especies en su hábitat natural, con imágenes de los caracteres microscópicos más relevantes. Se describen las siguientes especies: *Entoloma dysthales* f. *acystidiosum* Noordel., *E. scabiosum* (Fr) Quél., *E. speculum* (Fr) Quél. *Leucoagaricus crystallifer* Vellinga, *L. ionidicolor* Bellù & Lanzoni, y *Trichocybe puberula* (Kuyper) Vizzini.

**PALABRAS CLAVE:** Basidiomicetes, Serralada Litoral, Martorelles, Barcelona, Cataluña, España

**ABSTRACT:** Contribution to the knowledge of the micoflora of the Serralada Litoral Park (N of Barcelona, Catalonia). We provide the examination of 6 species corresponding to 3 different genera of basidiomycetes, *Entoloma*, *Leucoagaricus*, and *Trichocybe*, describing their morphological characters, and, in some instances, including phylogenetic analysis. Also included in this study is a contribution to the iconography of the species in their natural habitat, with images of the most relevant microscopic characters. The following species are described: *Entoloma dysthales* f. *acystidiosum* Noordel., *E. scabiosum* (Fr) Quél., *E. speculum* (Fr) Quél. *Leucoagaricus crystallifer* Vellinga, *L. ionidicolor* Bellù & Lanzoni, and *Trichocybe puberula* (Kuyper) Vizzini.

**KEY WORDS:** Basidiomycetes, Serralada Litoral, Martorelles, Barcelona, Catalonia, Spain

**RESUM:** Contribució al coneixement de la micoflora del Parc de la Serralada Litoral. Aportem l'examen de 6 espècies, corresponents a 3 gèneres diferents de basidiomicets, *Entoloma*, *Leucoagaricus*, i *Trichocybe*, mitjançant la descripció dels seus caràcters morfològics, i en algun cas, també amb anàlisis filogenètiques. També hi afegim una contribució a la iconografia de les espècies en el seu hàbitat natural, amb imatges dels caràcters microscòpics més rellevants. Es descriuen les següents espècies: *Entoloma dysthales* f. *acystidiosum*, *Entoloma scabiosum*, *Entoloma speculum*, *Leucoagaricus crystallifer*, *Leucoagaricus ionidicolor*, i *Trichocybe puberula*.

**PARAULES CLAU:** Basidiomicets, Serralada Litoral, Martorelles, Barcelona, Catalunya, Espanya

### INTRODUCCIÓN

Ha pasado algo más de una década desde que iniciamos los primeros estudios micológicos en el parque de la Serralada Litoral y, transcurrido todo este tiempo, nos sigue sorprendiendo la riqueza fúngica que este pequeño enclave de tan solo 4.042 ha (Pla especial) nos continúa ofreciendo. Este espacio natural está situado en la franja prelitoral del Maresme catalán a escasos 10 km al NE de Barcelona, ubicado en la región biogeográfica mediterránea. La geomorfología del parque está condicionada por la prolongada erosión de la superficie meteorizada del batolito granítico sobre el que se asienta el suelo. Esta erosión continuada ha producido multitud de torrentes estrechos y profundos, que constituyen una importante red de conectores biológicos entre las diferentes zonas del parque, especialmente en su parte umbría. En sus márgenes encontramos pequeñas comunidades de ribera donde destaca la presencia de

alisos (*Alnus glutinosa*), avellanos (*Corylus avellana*) y chopos (*Populus alba*, *P. nigra*). El sotobosque lo componen mayoritariamente musgos, hepáticas, helechos, y una gran variedad de pequeñas y medianas plantas como la vidalba (*Clematis vitalba*), el arrayán (*Myrtus communi*), la hiedra (*Hedera helix*), la zarzamora (*Rubus ulmifolius*), el rusco (*Ruscus aculeatus*), y algunas interesantes por su rareza en esta zona como el arce de Montpellier (*Acer monspessulanum*), y el acebo (*Ilex aquifolium*). El resto del parque está constituido por una densa y extensa masa forestal compuesta, especialmente, por encinas, robles, madroños, brezos y pinos (*Quercus ilex*, *Q. pubescens*, *Arbutus unedo*, *E. scoparia*, *Pinus pinea*, *P. halepensis*). La riqueza arbórea y arbustiva de estos lugares permite la acumulación de abundante cantidad de materia orgánica y la presencia de un número importante de hongos saprófitos, algunos de ellos de gran interés por su rareza. La importancia de estos enclaves lo confirma el hecho de que en los últimos años se han descrito nuevas especies del género *Clitopilus*, *Rhodocybe* y *Entoloma*, entre los que destacan, *Clitopilus marinaensis* Vila, Contu & Caballero, *C. griseonigrellus* Vila, Contu, Caballero & Ribes, *Rhodocybe formosa* Vila, Contu, Caballero & Ortega, *R. catalonica* Vila, Contu, Caballero & Ortega, *Entoloma squamosipes* Caballero & Vila, *E. graphitipes* f. *cystidiatum* Caballero, Vila & Català, o *E. phaeodiscum* Vila & Caballero (VILA & CABALLERO, 2007; VILA *et al.*, 2007, 2008, 2009, 2013 y 2014). Estos hallazgos demuestran la importancia que reviste la conservación y protección de este espacio natural, ya que estas pequeñas localidades están sometidas a un equilibrio ecológico muy frágil que podría verse alterado por la acción humana imprudente.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**ESTUDIO MORFOLÓGICO.** Todos los caracteres macroscópicos de las especies citadas se han descrito a partir de material fresco. En la mayoría de los casos la descripción macroscópica y organoléptica se realizó con basidiomas en diferentes estadios de madurez. Los diferentes caracteres microscópicos generalmente se analizaron a partir de material fresco, y en algún caso de ejemplares deshidratados de herbario. También se obtuvieron masas esporales a partir de material fresco con el fin de disponer de un número adecuado de esporas maduras que permitiera obtener mediciones fiables. El material seco fue rehidratado en KOH al 3%. Para la observación de los caracteres microscópicos mediante reacciones colorimétricas hemos utilizado Rojo Congo amoniacal, Azul algodón (reacción cianófila), y Melzer (reacciones amiloide o dextrinoide). Para los diferentes tipos de pigmentos se ha utilizado agua corriente. En la observación y fotografía de los diferentes elementos microscópicos se ha utilizado un microscopio Motic BA 300 y una cámara digital acoplada Motican 2300.

**ESTUDIO FILOGENÉTICO.** Extracción de ADN, amplificación PCR y secuenciación. El ADN total de muestras de *Leucoagaricus ionidicolor* y *Trichocybe puberula* fue extraído a partir de especímenes secos de herbario empleando una modificación del protocolo de MURRAY & THOMPSON (1980). La amplificación de la región ITS por PCR fue llevada a cabo con los primers ITS1F e ITS4 (WHITE *et al.*, 1990). El programa de amplificación consistió en un *hot start* a 95°C 5', seguido de 35 ciclos de 94°C 45'', 54°C 30'' y 72°C 45'', y una fase final a 72°C durante 10'. Los resultados fueron chequeados en un gel de agarosa al 1%, y las reacciones positivas fueron purificadas y secuenciadas con el primer ITS4. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con los cromatogramas originales para detectar y corregir posibles errores de lectura. Realizamos análisis filogenéticos a partir de las secuencias del ITS con el fin de confirmar la identificación de las especies secuenciadas, comparándolas con las secuencias de los holotipos que figuran en GenBank. El material utilizado y citado para este estudio se encuentra depositado en los herbarios SCM (material de préstamo), y el herbario particular del primer autor (indicado SFC al citar la recolección). Las secuencias fueron alineadas manualmente con Aliview (LARSSON, 2014) y las regiones alineadas ambiguamente fueron delimitadas con GBlocks (CASTRESANA, 2000). Estas regiones no

pueden incluirse directamente en los análisis, pero para recuperar la información filogenética que contienen, fueron recodificadas con el programa PICS-Ord (LÜCKING *et al.*, 2011). Todos los alineamientos fueron sujetos a análisis de máxima verosimilitud, siguiendo el programa RAxML (STAMATAKIS, 2014), utilizando 1000 pseudoréplicas de *bootstrap* para calcular el soporte estadístico de los internodos.

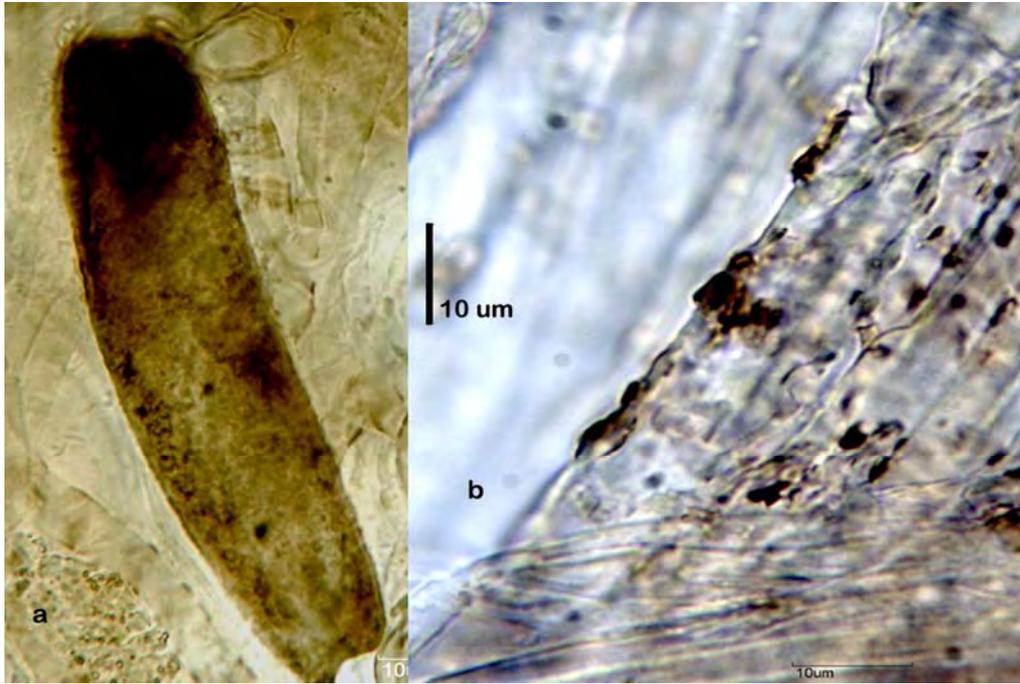
***Entoloma dysthales* f. *acystidiosum* Noordel., *Persoonia* 10 (2): 219. (1979)**

≡ *Pouzarella dysthales* var. *acystidiosa* (Noordel.) Karstedt & Capelari

Píleo de hasta 9 mm de diámetro, de cónico-convexo a convexo, después más aplanado, conservando ocasionalmente una discreta papila central; de color pardo-grisáceo, e intensamente más oscuro en la zona central. Superficie fibrillosa-escamosa, hirta, no higrófana, sí algo estriada por transparencia hasta la mitad del radio en ejemplares bien hidratados, con el margen recto o algo crenado. Láminas de adnatas a uncinadas por un pequeño diente decurrente, espaciadas, gruesas, anchas, tendiendo a ventradas, de color crema a beige cuando los ejemplares son jóvenes, y de color pardo oscuro (pardo sombra natural) con matices rosáceos en los ejemplares maduros. Lamélulas y lamelas presentes. Estípite de 50 × 1-3 mm, central, cilíndrico, recto o sinuoso de color pardo-grisáceo, de igual color que el píleo. Superficie fibrillosa, y salpicada de pequeñas escamas. Carne muy delgada, escasa, de color gris-parduzco. Olor desagradable, rancio, detectable al frote. Sabor amargo. Esporas heterodiamétricas, alargadas y con apículo marcado, de 15.5-21.2 × 7.6-10.2 μm,  $\bar{X}_m = 18.2 \times 9.2$  μm,  $Q = 1.68-2.23$ ,  $Q_m = 1.99$ , multiangulosas (6-9), con ángulos nodulosos, pared gruesa y gútula lipídica evidente en la mayoría de los casos. Basidios de gran tamaño, mayoritariamente tetraspóricos, ocasionalmente bispóricos, de sub-claviformes a claviformes, en ocasiones subglobosos, de 40-66 × 12-15.4 μm (sin esterigmas), no fibulíferos. Con frecuencia muestran un contenido intracelular de color pardo oscuro, el mismo contenido observado en la subpelis. Queilocistidios ausentes. Pileipelis formada por una estructura de hifas que evoluciona hacia una tricodermis con células superficiales de hasta 26 μm. Se observa pigmento incrustante grueso y fino, prácticamente en todos los tejidos analizados. La presencia de pigmento intracelular fluido o denso de color verde oliváceo a pardo oscuro (Fig. 1 a,b), está concentrado especialmente entre la trama himenial y la subpelis. Ausencia de fíbulas.

MATERIAL ESTUDIADO. BARCELONA: 1ª recolección, Parc de la Serralada Litoral, Font de la Sunyera, Martorelles (Vallès Oriental), alt. 350 m. En un bosque mixto de coníferas y planifolios, *Quercus ilex*, *Q. sp.*, *Pinus pinea*, *Arbutus unedo*, en los márgenes y centro de un camino forestal, entre hiedra (*Hedera helix*) y zarzas (*Rubus ulmifolius*), y otras plantas de mediana y pequeña altura, sobre suelo arenoso ácido, 08-06-2008. 2ª recolección, leg. F. Caballero, SFC 080608-01. En la misma zona que la 1ª, a unos 30 m, en el fondo de un torrente, alrededor de un *Populus nigra* muerto, cerca de *Corylus avellana*, entre restos vegetales, 08-12-2015, leg. F. Caballero SFC 151208-02.

Observaciones. *Entoloma dysthales* f. *acystidiosum* es una especie muy rara y poco conocida. La especie tipo se diferencia por la presencia de queilocistidios, y puede presentar la arista heterogénea con queilocistidios disgregados de forma irregular entre los basidios, o puede presentarla completamente estéril (NOORDELOOS, 1979). Nuestro material encaja bien con la descripción general de *E. dysthales* f. *acystidiosum*, ya que no hemos observado queilocistidios, carácter determinante de esta forma. El resto de caracteres son idénticos a la especie tipo, con una pequeña diferencia en el tamaño de las esporas. La medida otorgada para *E. dysthales* f. *acystidiosum* es de 13.9-17.4-(18.0) × (7.6) 8.1-9.3-(10) μm,  $Q_{pm} = 1.6-1.9$  (NOORDELOOS, 1979). Sin embargo, en el material de nuestra primera recolección, obtuvimos una medida de 15.5-21.2 × 7.6-10.2 μm,  $\bar{X}_m = 18.2 \times 9.2$  μm,  $Q = 1.68-2.23$ ,  $Q_m = 1.99$ , y una medida para la segunda recolección de 14.0-20.9 × 8.3-11.4 μm,  $\bar{X}_m = 17.4 \times 9.5$  μm,  $Q = 1.54-2.21$ ,  $Q_m = 1.84$ . Ambas mediciones están más cerca de la medida otorgada para



**Fig. 1.-** *Entoloma dysthales* f. *acystidiosum* (SFC 080608-01); a) pigmento intracelular; b) pigmento incrustante.



**Fig. 2.-** *Entoloma scabiosum* (SFC 160410-01); pigmento intracelular.

*E. dysthales* (Peck) Sacc. (13.5)-14-19.5-(21.5) × (7.4)-7.9-10.3-(11) μm, Q = (1.5)-1.6-1.8-2.1. (NOORDELOOS, 1992 ; MOSER, 1973 y 1980).

***Entoloma scabiosum*** (Fr.) Quél., *Comptes Rendus de l'Association Française pour l'Avancement des Sciences* 14 (2): 445 (1886)

≡ *Rhodophyllus scabiosus* (Fr.) Quél.; ≡ *Trichopilus scabiosus* (Fr.) P.D. Orton

Píleo de hasta 45 mm de diámetro, ligeramente cónico cuando es joven, con tendencia a aplanarse en la madurez, conservando algún ejemplar un suave umbón central; de color grisáceo oscuro con una sutil veladura violácea y abundantes escamas que, en la mayoría de ejemplares, forman un disco central compacto y oscuro, de color pardo o negruzco. Superficie ni higrófana ni estriada por transparencia, con el margen algo involuto en los ejemplares jóvenes, más aplanado en la madurez. Láminas escotadas, espaciadas de joven, y algo más densas en la madurez, gruesas, anchas, sin llegar a ser ventrudas, ocasionalmente bifurcadas o discretamente anastomosadas, de color blanco en los ejemplares poco desarrollados, tendiendo a rosa pálido asalmonado al madurar las esporas. Arista entera, concolor y ligeramente erosionada. Lamélulas y lamelas abundantes. Estípite hasta 40 × 3-6 mm, macizo, central, recto, curvado o sinuoso, en ocasiones algo engrosado en la base; de color gris-parduzco, o gris-violáceo, con abundante tomento blanquecino en la base. Superficie muy fibrillosa de color parduzco. Carne delgada, escasa, compacta y fibrosa, de color pardo-grisáceo claro. Olor muy suave, más bien agradable, perceptible al frote. Sabor no destacable. Esporas heterodiamétricas, multiangulosas, con 5-6-(7) ángulos, de 7.2-8.6 × 6.1-7.3 μm, X<sub>m</sub> = 8.0 × 6.7 μm, Q = 1.03-1.34, Q<sub>m</sub> = 1.18. Basidios de cilíndricos a estrechamente claviformes, tetraspóricos, de 30.4-38.8 × 9.7-11 μm, no fibulíferos. Arista laminar heterogénea, con queilocistidios lecitiformes, tibiiformes, generalmente capitados y ocasionalmente mucronados, con el cuello cilíndrico, recto u ondulado, de 25-50 × 7-11.2 (base) × 1.8-2.4 (cuello) × 3.9-6.4 (capítulo) μm; en su mayoría hialinos, y ocasionalmente con pigmento vacuolar granular. Pileipellis formada por una estructura de hifas cilíndricas de hasta 70 × 11-15 μm, de ápice claramente atenuado, evolucionando hacia una tricodermis con pigmento intracelular abundante, de color pardo oscuro (Fig. 2). Fíbulas ausentes.

MATERIAL ESTUDIADO. BARCELONA: Santa María de Matorelles (Vallès Oriental), alt. 350 m; sobre restos vegetales en descomposición, en un bosque de *Alnus glutinosa*, *Corylus avellana* y *Platanus hispanica*, *Quercus pubescens*, bajo zarzas, *Rubus ulmifolius*, entre abundante hojarasca y pequeñas ramas muertas, 10-04-2016, leg. F. Caballero, SFC 160410-01.

OBSERVACIONES. Aunque *Entoloma scabiosum* es considerada una especie rara, su presencia en el centro y norte de Europa está bien documentada, especialmente en Alemania, Suiza, Suecia y Holanda, donde en alguna localidad puede ser abundante (NOORDELOOS, 1992). Sólo nos consta una primera cita documentada para la Península Ibérica, de VILA & CABALLERO (2009). Sin embargo, es posible que su presencia haya sido pasada por alto en otras localidades de nuestro territorio. Nuestras recolecciones fueron encontradas en zonas de difícil acceso, bajo zarzas (*Rubus ulmifolius*), y los colores oscuros del píleo, que se confunden con la hojarasca negruzca en descomposición, hace que esta especie sea difícil de detectar. El hábitat, típicamente de ribera, está formado por pequeños grupos de arboledas mixtas de planifolios, generalmente de *Alnus glutinosa*, *Corylus avellana*, *Populus alba*, *P. nigra*, y *Platanus hispanica*, mezclados en las zonas más periféricas con *Arbutus unedo*, *Pinus pinea*, *Quercus pubescens*, y *Q. ilex*. La presencia de *Quercus* en torno a *E. scabiosum* es comentada por NOORDELOOS (1992). Es probable que *E. scabiosum* tenga una mayor difusión en la Península Ibérica de la conocida actualmente, ya que este tipo de hábitat suele ser frecuente en muchos territorios de nuestro país, especialmente en el área boreomediterránea. Sin embargo, ello no significa que su presencia esté supeditada a las mismas características ecológicas y de temporada que hemos descrito para nuestras recolecciones, ya que según NOORDELOOS (1992), *E. scabiosum* es una especie que fructifica desde finales de agosto

hasta finales otoño; en cambio, en nuestro caso siempre la hemos hallado en primavera (VILA & CABALLERO, 2009). La especie se caracteriza por su píleo hirsuto, muy escamoso y oscuro, los tonos violáceos del estípite, y por la presencia de queilocistidios polimórficos. Los queilocistidios son muy similares a los de *Entoloma porphyrophaeum* (Fr.) P. Karst., una especie que, junto a *E. scabiosum* se incluye en el subgénero *Trichopilus*. *E. porphyrophaeum* se diferencia por tener la superficie pileica más clara, sin las escamas de color negro que presenta *E. scabiosum*, por tener esporas de mayor tamaño, y por presentar fíbulas.

***Entoloma speculum* (Fr.) Quél. Mémoires de la Société d'Émulation de Montbéliard 5: 119 (1872)**

≡ *Rhodophyllus speculum* (Fr.) Quél.

Píleo de hasta 30 mm de diámetro, inicialmente convexo con tendencia a ir aplanándose en la madurez, manteniendo un discreto umbón central; de color blanco puro al principio, con veladuras amarillentas que aparecen al rato de la recolección. Superficie de aspecto satinado, discretamente estriada por transparencia, y con el margen algo irregular. Láminas adnatas, espaciadas, finas, anchas, y algo ventrudas, de color blanco con tonos rosáceos al madurar las esporas. Estípite de 60×5 mm, central, cilíndrico, compacto y algo sinuoso, con suave engrosamiento apical o basal según ejemplar; de color blanco puro con tenues veladuras amarillentas al ser manipulado. Superficie ligeramente fibrillosa, de aspecto satinado, similar al píleo. Carne delgada, de color blanco, y olor indefinido, tal vez algo afrutado. Sabor no probado. Esporas heterodiamétricas, de 7.7-12.5 × 6.8-10.4 μm, Xm = 9.3 × 7.9 μm, Q = 1.03-1.34, Qm = 1.18, con 5-7 ángulos poco marcados en general. Basidios tetraspóricos, de subclaviformes a claviformes, ocasionalmente subcilíndricos, o algo ventrudos, de hasta 30.4-41 × 9.7-11 μm. (sin esterigmas), fibulíferos. Se observa una gran cantidad de basidios curvados en su base. Cistidios ausentes. Pileipelis en cutis, formada por una estructura de hifas delgadas, de pared gruesa hialina, de 2-7.5 μm, dispuestas en paralelo, con una subcutis (suprapelis) diferenciada, formada por hifas de hasta 31 μm, septadas y constrictas, en muchos casos, al nivel del septo. Pigmento ausente, dado que las células se observan con un contenido citoplasmático hialino. Fíbulas presentes.

MATERIAL ESTUDIADO. BARCELONA: Parc de la Serralada Litoral, cerca de la Font de la Sunyera, Martorelles (Vallès Oriental), alt. 250 m. en un bosque mixto de coníferas, arbustos y planifolios (*Quercus ilex*, *Quercus sp.*, *Pinus pinea*, *Arbutus unedo*, *Erica scoparia*), en el margen de un camino forestal, sobre un talud de 1,50 m de altitud, entre restos vegetales en descomposición, sobre todo de hojas de madroño, brezo y jaras, en suelo arenoso (sablón), ácido, 21-12-2002, leg. F. Caballero SFC 021221-01.

OBSERVACIONES. *Entoloma speculum* es una especie rara en nuestras latitudes, con una difusión amplia en el norte de Europa donde está bien documentada. No tenemos constancia de ningún hallazgo publicado de esta especie en la Península Ibérica, salvo la cita con motivo de una exposición micológica celebrada en Barcelona en el año 1961, por parte el micólogo francés A. BERTAUX (1964). En el catálogo de todas las especies registradas cita dos especies del género *Entoloma*, *E. lividum* y *E. speculum*. Es interesante el hecho de que la localidad de la recolección de *E. speculum* citada por Bertaux, La Roca del Vallès, esté a escasos 13.5 km del lugar de nuestra recolección. Nuestro material encaja bien con los caracteres generales que describen *E. speculum*. Llama la atención sobre todo, su aspecto grácil, y el color blanco satinado y uniforme de los basidiomas (NOORDELOOS, icon. 2004), que la diferencia del resto de especies que conforman la stirpe *Rhodopolium*, cuyas especies suelen tener un aspecto más robusto y presentan tonos grises y pardos, raramente blanco (KOKKONEN, 2015). Ya en la diagnosis original de *Agaricus speculum* se destaca el aspecto delicado de esta especie (FRIES, 1836). Es probable que la rareza de su presencia en nuestros hábitats sea debida a que las condiciones climáticas que se requieren para su desarrollo en nuestras latitudes son irregulares y esporádicas en el tiempo. En relación a la pluviometría, el 2002, año de nuestro hallazgo, se contabilizaron un total de 818.9 mm, algo más del doble que los acumulados en años anteriores, con 84 días alternos con lluvia desde agosto hasta

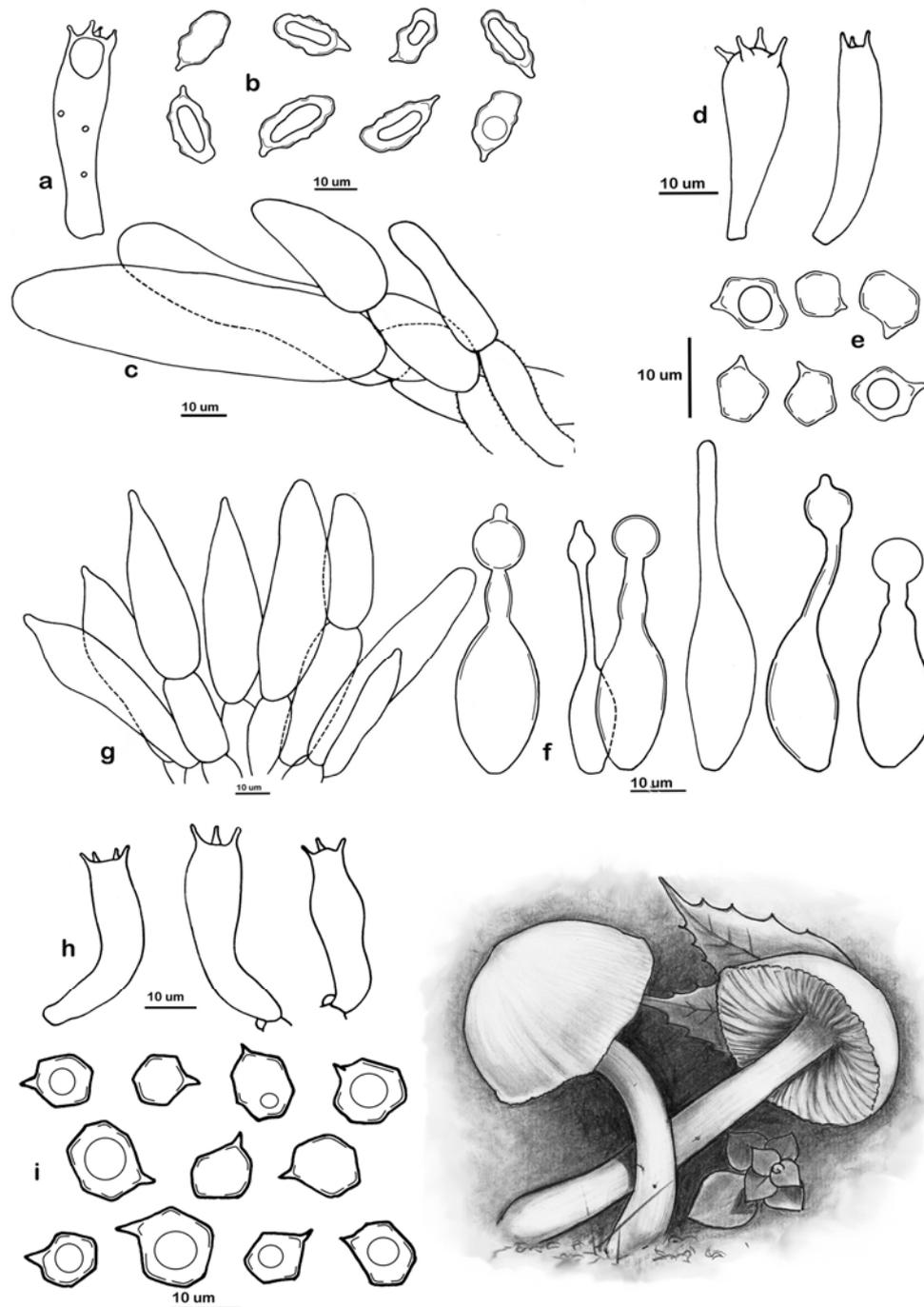
diciembre (fecha de la recolección), lo que significa una frecuencia y volumen de precipitaciones anormalmente alto para esa zona. El agua caída con regularidad permitió que el período de aparición de especies se alargara hasta bien entrado el año 2003; las temperaturas durante esa época rondaron los 14.4 °C de media. En este sentido es interesante anotar que, aunque el hallazgo de *E. speculum* de octubre de 1961 por Bertaux corresponde a un año escaso en pluviometría, en los 2 meses previos a su recolección se recogieron cerca de 180 mm en esa zona, cantidad significativa y muy parecida a la que precedió a nuestra recolección. Aunque estos datos no son concluyentes para interpretar la presencia de *E. speculum* en nuestras latitudes, pueden ayudar a explicar el por qué en épocas de escasas precipitaciones y altas temperaturas algunas especies que acostumbramos a recolectar en esta zona, casi desaparezcán por completo (fases de eclipse). La recolección que forma parte de nuestro estudio es la única que hemos podido obtener a lo largo de este tiempo.

Dentro del género *Entoloma* hay varias especies que también pueden presentar basidiomas uniformemente blancos, por lo que podrían ser confundidos con *E. speculum*. Destacan en este sentido, *E. niphoides* (Romagn.) Noordel., *E. leucocarpum* Noordel., *E. sericellum* (Fr.) P. Kumm., y *E. albogranulosum* Noordel. & Hauskn. Sin embargo, *E. niphoides* se diferencia, por ser una especie primaveral (ROMAGNÈSI, 1951), probablemente micorrizógena, asociada a diferentes tipos de rosáceas a *Prunus* o *Crataegus* (NOORDELOOS, 1992), de aspecto más robusto y mayor tamaño, y con esporas algo más pequeñas; *E. leucocarpum* se distingue por presentar queilocistidios bien diferenciados, y por tener la base del estípite bulbosa, un carácter raro en *Entoloma*, quedando por confirmar si esta especie podría corresponder a una variedad con cistidios de *E. speculum*, según NOORDELOOS (1992); *E. sericellum* se diferencia por tener queilocistidios, y puede presentar la pileipelis en tricodermis; *E. albogranulosum* se diferencia por ser de menor tamaño, tener queilocistidios, y no presentar fíbulas.

***Leucoagaricus crystallifer* Vellinga, *Persoonia* 17 (3): 475 (2000)**

≡ *Sericeomyces crystallifer* (Vellinga) Bon

Píleo de hasta 30 mm de diámetro, variando de convexo cuando es joven, a plano con un suave umbón central en los ejemplares más maduros; de color blanco puro, y el disco central teñido de un color crema-ocráceo muy suave. Superficie lisa, de aspecto satinado, ni higrófana ni estriada por transparencia, cubierta por fibrillas muy finas que cubren longitudinalmente la totalidad del píleo. En los ejemplares más maduros se observan (sólo con lupa) alrededor del margen pequeñas escamas repartidas de forma uniforme. Margen incurvado, excedente, formado por los restos blanquecinos del velo parcial. Láminas muy densas, libres, finas, anchas y suavemente curvadas, sin llegar a ser ventradas; de color blanco con la arista del mismo color y finamente erosionada. Lamélulas y lamelas abundantes. Estípite hasta 75 mm de largo × 3-5 mm, de color blanco puro, central, cilíndrico, con un suave engrosamiento que va desde el ápice hasta la base, donde destaca un bulbo de hasta 0.9 mm de diámetro. Cerca del ápice (1/4 del estípite) se observa un anillo ascendente membranoso de color blanco puro; Superficie lisa y de aspecto satinado, similar al píleo. Carne de color blanco, tanto en el píleo como en el estípite. Olor y sabor no destacables. Esporas amigdaliformes, subcilíndricas, o citrifórmes, de 6.1-9.9 × 3.9-5.2 μm, Xm = 7.5 × 4.4 μm, Q = 1.47-2.14, Qm = 1.69, apiculadas, metacromáticas, dextrinoides, poro germinativo no observado. Basidios tetraspóricos, de subclaviformes a claviformes, de hasta 22.4 × 7.7 μm (sin esterigmas). Arista laminar estéril, queilocistidios abundantes, mayoritariamente claviformes, menos abundantes subclaviformes y subcilíndricos, de hasta 47.5 × 0.7-12.3 μm, con abundantes incrustaciones cristaloides en el ápice. No se observan pleurocistidios. Pileipelis en cutis, con elementos esporádicos a modo de tricodermis, formada por una estructura de hifas cilíndricas, septadas, ocasionalmente bifurcadas, de 85 × 2-9 μm, subclaviformes o con el ápice agudo, con contenido citoplasmático hialino, salvo en la zona central, donde se aprecian hifas con pigmento parietal de color ocráceo claro. Fíbulas ausentes en todos los tejidos analizados.



**Fig. 3.-** *Entoloma dysthales* f. *acystidiosum*; a) basidio; b) esporas; c) pileipellis. *Entoloma scabiosum*; d) basidios; e) esporas; f) queilocistidios; g) pileipellis. *Entoloma speculum*; h) basidios; i) esporas.

MATERIAL ESTUDIADO. BARCELONA: Parc de la Serralada Litoral, cerca de Can Romagosa, Martorelles (Vallès Oriental, Barcelona), alt. 140 m, en un pequeño torrente, sobre restos vegetales en descomposición, en un bosque mixto; por un lado arboleda típica de bosque de ribera, *Alnus glutinosa*, *Corylus avellana*, y por otro, compuesto por *Pinus pinea*, *Quercus ilex*, *Arbutus unedo*, *Erica* sp, en suelo ácido, granito meteorizado, 3-10-2010, leg. F. Caballero, SFC101003-02.

OBSERVACIONES. *Leucoagaricus crystallifer* forma parte de un grupo de especies con caracteres morfológicos muy homogéneos, por lo que resulta difícil su identificación a simple vista en el campo. Destacan por su aspecto grácil, generalmente de color blanco puro y satinado, pudiendo presentar matices o veladuras ocráceas, crema, o gris-ocráceo en el centro del píleo en ejemplares ya maduros. Los caracteres microscópicos también son muy similares dentro del grupo. Entre las especie más afines está *L. serenus* (Fr.) Bon & Boifard, que se diferencia por carecer de cristales en el ápice de los cistidios (MALENÇON & BERTAULT, 1970; VELLINGA, 2000), con queilocistidios claviformes, y algo más largos y gruesos ( $20-65 \times 8.5-16 \mu\text{m}$ ) que los de *L. crystallifer*, que suelen ser cilíndrico-fusiformes, raramente claviformes, o ligeramente utriformes, y algo más cortos y estrechos ( $23-51 \times 5.5-13 \mu\text{m}$ ). En cuanto a la morfología y tamaño de los queilocistidios hemos observado alguna pequeña diferencia, ya que en su mayoría tienden a ser claviformes o subclaviformes con tendencia a utriformes, mientras que, la presencia de queilocistidios subcilíndricos es irregular. Salvo esta pequeña diferencia, nuestro material encaja bien con la descripción de la especie. También hemos observado que la disposición de la pileipelis puede presentar en la zona periférica del píleo células apicales disociadas y erectas, a modo de tricodermis. La mención ocasional de esta disposición de la pileipelis como fibriloso-escamosa, con fibrillas disociadas, o como células apicales libres no es rara y también es comentada por diferentes autores (VELLINGA, 2000; CANDUSSO & LANZONI, 1990; BON, 1993). La presencia de incrustaciones cristaloides en los ápices de los queilocistidios se da también en otras especies afines, como *L. viscidulus* (Heinem) Consiglio & Contu, *L. menieri* (Sacc.) Singer, *L. subvolvatus* (Malençon & Bertault) Bon, y *L. volvatus* Bon & Caballero, especies similares con las que podría confundirse. Sin embargo, *L. viscidulus* se caracteriza y diferencia por tener la superficie del píleo algo viscosa, queilocistidios de diferente morfología, en algunos casos subfusiformes algo mucronados, o apendiculados, y por presentar la pileipelis en ixotricodermis. *L. menieri* se diferencia por presentar la base del estípite con bulbo más robusto y restos de la volva frecuentemente presentes, anillo generalmente fugaz (en el caso de nuestros ejemplares, todos los basidios presentaban un anillo membranoso evidente), los colores del píleo pueden presentar colores ocráceos, incluso algo rosados, y por tener esporas de mayor tamaño. *L. subvolvatus* se diferencia por presentar un porte general más robusto, con un bulbo en la base del estípite de hasta 1.5 cm de diámetro, por presentar un color diferente en el disco central del píleo, generalmente grisáceo, queilocistidios de morfología diferente, y esporas más ovoideas, en ocasiones trapezoidales, y de mayor tamaño (BON, 1993). *L. volvatus* también tiene un porte más robusto, con un bulbo basal más prominente, de hasta 1,8 cm, con la zona central del píleo gelificada, presentando la suprapelis en ixotricodermis (BON & CABALLERO, 1995; CABALLERO, 2006). Aunque la presencia de incrustaciones en nuestro material fresco era muy regular, hacemos constar que en las preparaciones que se efectuaron sobre el mismo material seco de herbario años más tarde, se pudo observar como una gran parte de las incrustaciones antes observadas en el ápice de los queilocistidios habían desaparecido o quedaban disgregadas a modo de residuos.

***Leucoagaricus ionidicolor*** Bellù & Lanzoni, *Rivista de Micologia*, 31 (3-4): 107 (1988).  
= *Leucocoprinus caeruleoviolaceus* D.A. Reid (1989)

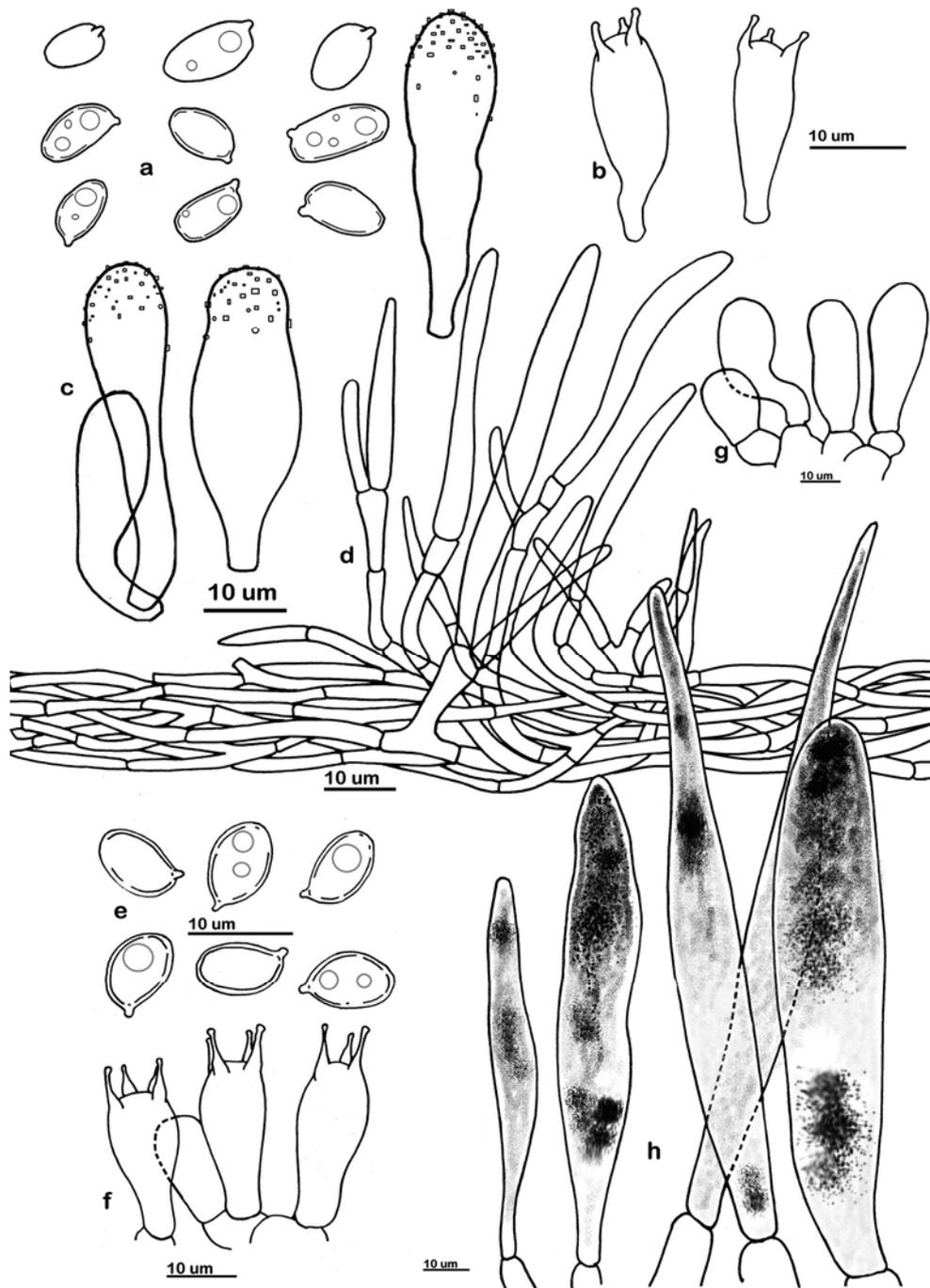
Píleo de hasta 45 mm de diámetro, inicialmente convexo o cónico-convexo, aplanándose al madurar pero manteniendo ocasionalmente un discreto umbón central. Destacan unas pequeñas escamas de color violeta, sobre todo en la zona central, donde las escamas están más densas y toman un tono púrpureo más oscuro, que contrastan sobre un fondo violáceo claro, lila o blanquecino. Superficie mate, ni higrófana ni estriada por transparencia, con el margen

recto, algo estriado y ligeramente excedente a causa de los restos del velo parcial. Láminas de anexas a libres, densas, abundantes, finas, estrechas y suavemente curvadas, de color blanco a crema pálido con la arista del mismo color y finamente erosionada. Lamélulas y lamelas presentes. Estípite de hasta  $85 \times 3-8$  mm, recto, curvado o algo sinuoso, con un suave y gradual engrosamiento desde el ápice hasta la base, de color de fondo similar al píleo, violeta claro o lila, aclarándose en la zona central y tomando un tono crema sobre el que destacan fibrillas y pequeñas escamas de color púrpura o violeta, con abundante pruina blanquecina en la zona apical y zona media del estípite, sobre todo en los ejemplares más maduros. Anillo membranoso, ascendente, de color violáceo, con tonos púrpura en el margen superior. Carne escasa, delgada, de color blanquecino en la parte interna, algo más oscura en el córtex, tanto del píleo como del estípite. Olor y sabor suaves, no destacables. Esporas de elípticas a amigdaliformes, de  $5.8-7.6-(8.4) \times 3.7-4.9-$  (5.4)  $\mu\text{m}$ ,  $X_m = 6.6 \times 4.3$   $\mu\text{m}$ ,  $Q = 1.26-1.70$ ,  $Q_m = 1.55$ , congófilas, dextrinoides y metacromáticas. Basidios de subclaviformes a claviformes, tetraspóricos, de hasta  $20-25 \times 0.8-11$   $\mu\text{m}$  (sin esterigmas), no fibulíferos. Trama laminar compuesta de células gruesas, de hasta  $10-22$   $\mu\text{m}$ . Arista laminar estéril, con abundantes queilocistidios, mayoritariamente claviformes, de hasta  $30-40 \times 8-13$   $\mu\text{m}$ . Pileipelis tipo tricodemis, formada por una estructura de células largas con ápices en ocasiones alargados y mayoritariamente agudos, más raramente con terminación apical redondeada, de hasta  $160 \times 13.9-19.7$   $\mu\text{m}$ , con pigmento intracelular vacuolar dominante, o difuso, de color púrpura a pardo-púrpura. Fibulas ausentes en todos los tejidos analizados.

MATERIAL ESTUDIADO. BARCELONA: Parc de la Serralada Litoral, Font de la Dinamita, y Torrent Font de la Sunyera, Martorelles (Vallès Oriental), alt. 140 m, en un bosque mixto de coníferas y planifolios (*Quercus* sp., *Q. ilex*, *Pinus pinea*, *Arbutus unedo*, *Erica scoparia*), sobre restos vegetales en descomposición, especialmente de hojas de roble y brezo, en suelo arenoso (sablón), ácido, 19-11-2008, leg. F. Caballero SFC 081119-01. *Ibid.*, 05-11-2016, leg. F. Caballero SFC 161105-01. *Ibid.*, 06-11-2016, leg. F. Caballero SFC 161106-01. GIRONA: Masjoan, Espinelves, alt. 740 m, en una plantación de *Sequoiadendrum giganteum*, *Sequoia sempervirens* y *Picea* sp., 11-10-1996, leg. M. Tabarés, SCM 3200B. (Topotypus).

RESULTADOS FILOGENÉTICOS. Utilizamos la herramienta BLAST-N (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) para comparar las secuencias de ITS de nuestro material de Martorelles, ALV1502 (nº herbario SFC.081120-01), el material del topotipo asignado de Sant Hilari Sacalm, ALV7147 (nº herbario SCM 3200B), y la muestra de *L. ionidicolor* de Stokhem, Limburg (Países Bajos) AY176415 depositada en GenBank por Vellinga. En ambos casos obtuvimos unos valores del 99% de similitud con la secuencia AY176415 (645/650 y 662/667 bases para ALV1502 y ALV7147V respectivamente) y un *E* value igual a 0. Los resultados del BLAST sugieren la identidad de nuestro material como *L. ionidicolor*.

ECOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN. El topotipo estudiado fue recolectado exactamente en el mismo lugar del holotipo, en el arboreto de Masjoan, en el término municipal de Espinelves, Girona. Este *arboretum* está compuesto por diversas especies de coníferas, en su mayoría de origen foráneo y entre las que destacan por su interés, *Sequoiadendrum giganteum*, *Sequoia sempervirens*, *Pseudotsuga menziesii*, o *Abies pinsapo*, especie bajo la que se recolectó el holotipo, y posteriormente el topotipo (ROCABRUNA & TABARÉS, 2004). Debido al hábitat artificial del *arboretum*, inicialmente se creyó que *L. ionidicolor* podría corresponder con alguna especie exótica (comunicación personal). Sin embargo, citas posteriores sugieren que la especie, aunque es poco común, está ampliamente distribuida en el continente europeo. Aparentemente prefiere climas templados, como los que se dan en el arco mediterráneo (España, Sur de Francia e Italia), pero también ha sido recolectada en zonas templadas de Bélgica, Holanda, Suecia, Austria, Gran Bretaña, Hungría, o la República Checa, país donde es probable que la mayor difusión de la especie se deba a los cambios climáticos producidos en los últimos 15 años, con temperaturas más templadas (HOLEC, 2009). Tampoco muestra una predilección por ningún tipo de sustrato y se ha recolectado en hábitats diversos, bajo diferentes tipos de arboleda: *Fagus*, *Fraxinus*, *Quercus*, *Picea*, *Pinus*, *Ulmus*. En nuestro caso se desarrollaban entre materia orgánica y la abundante hojarasca procedente de robles, brezos, y madroños, con la cercanía de pinos y encinas, vegetación



**Fig. 4.-** *Leucoagaricus crystallifer*; a) esporas; b) basidios; c) queilocistidios; d) pileipelis; *Leucoagaricus ionidicolor*; e) esporas ; f) basidios; g) queilocistidios; h) pileipelis.

típicamente mediterránea. La época de fructificación, el mes de noviembre, es muy similar a la descrita para el holotipo y el topotipo, (BELLÙ & LANZONI, 1988, VILA *et al.*, 1997).

TAXONOMÍA. *Leucoagaricus ionidicolor* presenta una notable variabilidad intraespecífica en el tamaño de las esporas y de las células de la suprapelis, como demuestran las distintas medidas publicadas por diversos autores, recogidas en la Tabla 1. Dada la diversidad de ecosistemas en los que ha sido recolectada, creemos que las pequeñas diferencias morfológicas comentadas podrían deberse exclusivamente a la adaptación a dichos ecosistemas y formarían parte de la plasticidad fenotípica que la especie puede presentar. Descartamos, pues, la sugerencia hecha en VILA *et al.* (1997) de interpretar este material (topotipo) como correspondiente a una probable forma de *L. ionidicolor* con esporas de mayor tamaño. Nuestro análisis muestra, que si bien se observan esporas que en algún caso superan las 8 µm, el promedio final está muy cerca de la media dada por BELLÙ & LANZONI (1988), lo que no justificaría la descripción de una forma independiente, sobre todo si se tiene en cuenta que esta recolección se realizó exactamente en el mismo lugar que el holotipo.

Autores	Esporas	Células de la suprapelis
BELLÙ & LANZONI (1988)	5.5-6,5 × 3.3-3.7 µm	11-16 µm
BON (1993)	6-7-(7.5) × 3.5-4 (4.5) µm	6-12-(15) µm
CABALLERO (material topotipo)	5.8-7.1-(8.1) × 3.7-4.5 9) µm, Xm = 6.4 × 4.1 µm	11,5-18,3-(22) µm
CABALLERO (Martorelles 2008)	5.8-7.6 × 3.7-4.9 µm, Xm = 6,6 × 4,3 µm	13.9-19.7 µm
HOLEC (2009)	(5.2)-5.5-6.0-(6.5) × 3.2-3.5-(4.0) µm	15-20 µm
VELLINGA (2001)	6.0-7.0 × 4.0-4.5 µm	8-12 µm
VILA <i>et al</i> (1997)	6-7 (9) × 4-4.5 µm	No consta

**Tabla 1.-** Medidas de las esporas y de las células apicales de la suprapelis, de acuerdo con diversos autores.

Entre las especies afines con las que podría ser confundida, destacamos *L. ianthinosquamulosus* Guinb., *L. marriagei* (Reid) Bon, y *L. ianthinophaeus* Locq. Sin embargo, *L. ianthinosquamulosus* se diferencia por presentar esporas de mayor tamaño (6.5-10-(12.5 µm), y por la presencia de pigmento incrustante en las células de la pileipelis (VELLINGA, 2001; BON, 1993); *L. marriagei* se diferencia por presentar basidiomas de menor tamaño, esporas que pueden presentar una morfología diferente, y pigmento mixto, intracelular e incrustante, (HOLEC, 2009; VELLINGA, 2001; BON, 1993); *L. ianthinophaeus* se diferencia por presentar esporas de menor tamaño (VELLINGA, 2001), ausencia de anillo, pigmento incrustante, y células apicales de pileipelis más cortas (HOLEC, 2009, BON 1993).

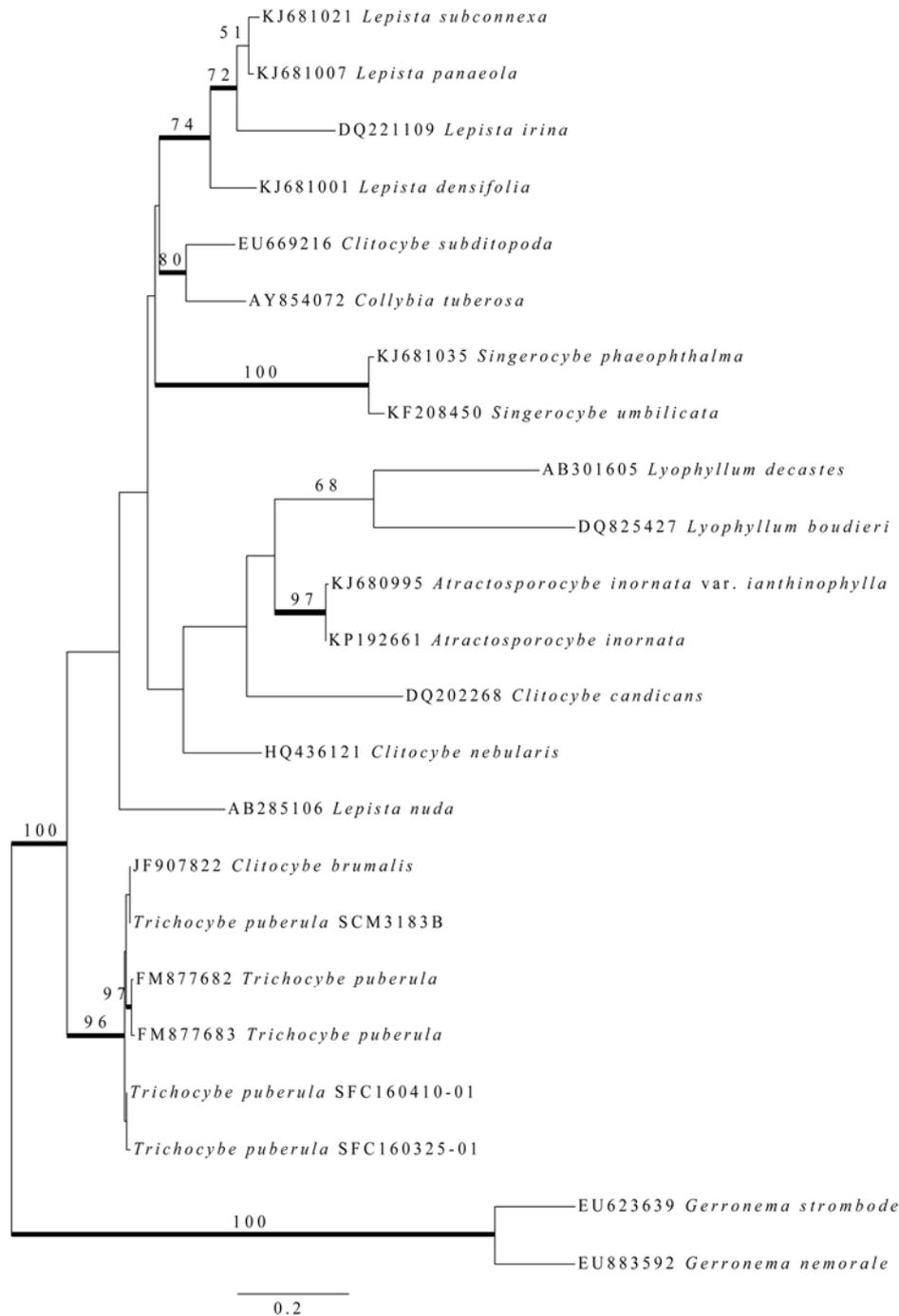
### ***Trichocybe puberula* (Kuyper) Vizzini, *Fungal Diversity* 42: 97-105 (2010)**

≡ *Clitocybe puberula* Kuyper

Píleo de hasta 40 mm de diámetro, de cónico-convexo a convexo al principio, adquiriendo forma plana, umbilicada, o profundamente embudada, infundibuliforme, al madurar. Superficie inicialmente pruinosa-pubescente, con presencia de multitud de fibrillas que, compactadas, forman pequeñas escamas esparcidas por toda la superficie de forma regular o irregular. Estas escamas en algún caso pueden permanecer, o desaparecer casi por completo a medida que los basidiomas maduran. También se observan ejemplares bien hidratados con la superficie del píleo completamente lisa, higrófana y algo estriada por transparencia. De color variable, crema claro, crema-rosáceo, violáceo, o pardo-rojizo con los márgenes algo más claros. Láminas adnatas, uncinadas, o muy decurrentes, algo densas y gruesas, de color blanco, crema, o gris muy pálido,

difuminado con tonos violáceos al principio, y mezclados con tonos parduzcos al madurar. Lamélulas y lamelas abundantes. Arista generalmente entera, aunque en algún ejemplar se observa algo erosionada, del mismo color, o algo más oscura al madurar. Estípites de hasta 20-30-(35) × 2-3-5 mm, macizo o hueco, central o excéntrico, recto o sinuoso, en ocasiones curvado y vertical debido a que en algún caso los grupos más numerosos crecían de forma cespitosa y se desarrollaban lateralmente sobre un tronco caído. Se observan ejemplares con un engrosamiento gradual suave, que va desde la base del estípite al ápice del mismo. Al principio de color blanco-grisáceo pálido, crema, o crema-amarillento, aunque algunos ejemplares maduros también pueden presentar el estípite parcial o totalmente de color pardo, generalmente más claros que el píleo. Superficie inicialmente de aspecto pubescente, similar al píleo, con fibrillas blanquecinas que cubren gran parte de la superficie, y forman pequeñas escamas que, por lo general, se torna lisa al madurar. Carne sutil, muy delgada, de color crema, ocre, u ocre-parduzco según la hidratación. Olor a harina intenso, subespermático al frotar. Sabor amargo evidente. Esporas de 4.7-7.5 × 2.6-4.9,  $\mu\text{m}$ ,  $X_m = 6.0 \times 4.0 \mu\text{m}$ ,  $Q = 1.23-1.86$ ,  $Q_m = 1.52$ , (151 mediciones), elípticas, ocasionalmente subglobosas, con apículo corto, no amiloides, reacción cianófila dudosa. Basidios tetraspóricos, cortos y con esterigmas pequeños, de sub-claviformes a claviformes, de hasta 17.5-20 × 5.5-6.2  $\mu\text{m}$ , (sin esterigmas), fibulíferos. Tanto en el interior de los basidios, basidiolos y cistidios, se observa un contenido intracelular granular muy fino, de color amarillo verdoso. Arista laminar heterogénea, con queilocistidios (gloeocistidios) rectos o sinuosos, en muchos casos bifurcados (recuerdan en algún caso a alguna especie del género *Alnicola*), esparcidos en grupos de forma irregular por la arista laminar, ocasionalmente abundantes, de hasta 25-30-55.8 × 2.5-3.9  $\mu\text{m}$ , con contenido citoplasmático granular muy fino, de color pardo-amarillento (Rojo Congo), a verde-oliváceo claro (en agua). Pleurocistidios (gloeocistidios) idénticos en forma y medidas a los queilocistidios, pero más abundantes en algunos ejemplares y con una disposición más regular en ambas caras de la lámina. También se observan con regularidad pequeñas secreciones esféricas adheridas a la superficie de los cistidios (queilocistidios y pleurocistidios) con contenido de aspecto oleoso, o resinoso. Trama laminar irregular formada por un entramado de hifas delgadas de entre 1-2-4  $\mu\text{m}$ , junto a otras más gruesas de hasta 5.4-14.5  $\mu\text{m}$ , entremezcladas con abundantes hifas oleíferas de 3-15.8  $\mu\text{m}$ . Pileipelis en cutis, con agrupaciones de hifas en transición a una tricodermis, distribuidas de forma irregular por la superficie pileica; por un lado se observan grupos de hifas aisladas, en posición oblicua o vertical, o bien formando agrupaciones de hifas multiseptadas y muy compactadas que adquieren una forma piramidal. También se observan basidiomas, especialmente ejemplares maduros y bien hidratados, con la superficie pileica completamente en cutis, compuesta por una estructura de hifas cilíndricas y delgadas de 130 × 4-7  $\mu\text{m}$ , a veces con hifas multi-septadas y diverticuladas, de 113 × 6-8.8  $\mu\text{m}$ , con excrescencias laterales de hasta 3.6-5.3-12.9  $\mu\text{m}$ , con pigmento parietal, de color amarillo a verde-oliváceo, y contenido intracelular generalmente hialino, en ocasiones granular vacuolar muy fino de color verdoso (observado en agua). La subpelis está formada por una estructura de células subesféricas, esféricas, claviformes o esferopedunculadas, con contenido intracelular de color verde-oliváceo claro, con gránulos de pequeño tamaño (observado en agua). En medio de estos tejidos también se observan multitud de hifas oleíferas con contenido intracelular uniforme de color verde oliváceo pálido. Estipitipelis generalmente en cutis, formada por un entramado de hifas de hasta 2-3  $\mu\text{m}$ , junto a otras de mayor diámetro, de hasta 13.8-16-(-24)  $\mu\text{m}$ . Trama del tejido interno no diferenciada, compuesto de hifas generativas delgadas, e hifas gruesas constrictas al nivel de septo. Aunque esporádicas, también se observan hifas diverticuladas con excrescencias laterales, parecidas a las observadas en la pileipelis. Fíbulas presentes en todos los tejidos observados.

MATERIAL ESTUDIADO. BARCELONA: Parc de la Serralada Litoral, Torrent Font de la Sunyera, Martorelles (Vallès Oriental), alt. 350 m. En un bosque mixto de planifólios, *Alnus glutinosa*, *Corylus* y *Populus nigra* sobre un tronco caído en descomposición de *P. nigra*, cubierto parcialmente de musgo. Suelo del lugar arenoso, ácido, 15-04-2007, leg. F. Caballero, SFC 070415-25. *Ibid.*, 13-04-2009, leg. F. Caballero, SFC 090413-01. *Ibid.*, 25-03-2016, leg. A. Caballero, SFC 160325-01. *Ibid.*, 28-03-2016, leg. F. Caballero, SFC 160328-01. *Ibid.*, 02-04-2016, leg. P. Caballero, SFC 160402-01. *Ibid.*,



**Fig. 5.-** Árbol filogenético de mayor verosimilitud obtenido con RAxML basado en secuencias de ITS. Sobre los internodos se encuentran los valores de soporte estadístico obtenidos con 1000 pseudoréplicas de bootsatrap. Valores significativos (= 70%) se indican con los internodos engrosados.

10-04-2016, leg. F. Caballero, SFC 160410-01. GIRONA: Márgenes de la riera de Breda, Riells de Montseny, alt. 755 m, sobre un tronco muy descompuesto de *Populus* sp., 16-03-1996, leg. A. Rocabrúna, J. Vila y M. Tabarés, SCM 3181B. *Ibid.*, 23-03-1996, ejemplares maduros, leg. A. Rocabrúna, SCM 3183B.

#### RESULTADOS FILOGENÉTICOS

Los resultados del análisis BLAST-N sugieren una identidad total (100%) de las secuencias ITS de las muestras SFC 160325-01 (idéntica a SFC 160410-01) y SCM 3183B con las de *Trichocybe puberula* almacenadas en GenBank (FM877682 y KY350218, respectivamente). En los resultados filogenéticos (Fig. 5), todas nuestras recolecciones de *T. puberula* se agrupan en el mismo clado con el resto de secuencias de *T. puberula* depositadas en GenBank, con un valor estadístico de *bootstrap* significativo (96%). Este clado incluye también un espécimen de *Clitocybe brumalis* (MCVE 9552), que interpretamos como un error de identificación del mismo, ya que su ITS es prácticamente idéntico al del resto de muestras de *T. puberula*. Sin embargo, no hemos podido revisar este ejemplar para confirmarlo. La posición filogenética de *T. puberula* dentro del clado tricolomatoide permanece aún sin resolver debido a la falta de un análisis multigénico apropiado, aunque los datos preliminares (ALVARADO, no publicado), indican un parentesco significativo con la familia *Lyophyllaceae*.

#### ECOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN

Se han examinado y descrito varios caracteres morfológicos en base a ocho recolecciones de dos localidades de Cataluña. Las dos primeras se hallaron en la localidad de Riells (Girona) en la primavera de 1996, ambas fueron recolectadas sobre el mismo tronco en descomposición de *Populus* sp. Las seis restantes pertenecen a la localidad de Martorelles (Barcelona). La primera fue hallada en la primavera de 2007 sobre un tronco en descomposición de *P. nigra*, la segunda fue recolectada en la primavera de 2009 sobre el mismo tronco, y las cuatro últimas se hallaron en la primavera de 2016, en el mismo lugar, pero sobre otro tronco en descomposición de *P. nigra*. Las dos localidades comentadas distan 44 km la una de la otra, compartiendo ambas un hábitat similar, con una ecología marcadamente mediterránea, muy diferente al hábitat descrito para *Trichocybe puberula* (VIZZINI *et al.*, 2010) donde se citan muestras procedentes de Suiza, Francia, Alemania y Noruega. (POULAIN, 1990; CHEYPE, 2005; LOHMEYER *et al.*, 1993; BON, 1997).

#### TAXONOMÍA

De la comparación de nuestras recolecciones con la descripción de *Trichocybe puberula* (sensu VIZZINI *et al.*, 2010), destacamos algunas diferencias fenotípicas que tienen que ver, especialmente, con la estructura macroscópica de la superficie del píleo, la medida de las esporas, la presencia de abundantes pleurocistidios, la tipología de la pileipielis, la presencia de abundantes hifas oleíferas, y las secreciones de tipo oleoso-resinoso que hemos observado en las paredes y ápices de un gran número de cistidios. Con ello pretendemos añadir a la descripción original nuevos datos que podrían describir mejor la variabilidad intraespecífica de esta especie. Con el fin de describir las diferencias que hemos observado entre algunos caracteres de *T. puberula* sensu VIZZINI *et al.*, 2010 y nuestro material, exponemos por orden alfabético las más destacables.

**Píleo.** Superficie pruinoso-pubescente, con presencia de pequeñas escamas repartidas por toda la superficie pileica, persistentes sobre todo en los primeros estadios de su desarrollo, manteniéndose en cualquier caso esa pubescencia en los márgenes del píleo (VIZZINI *et al.*, 2010). Las diferencias observadas en las recolecciones de Riells (Girona) se refieren a que la mayoría de ejemplares analizados presentaban una pubescencia abundante, similar a la descrita por Vizzini. Sin embargo, las recolecciones de Martorelles presentaban escasa pubescencia. En la primera recolección de 2007 las escamas eran muy poco abundantes, y estaban esparcidas y dispuestas de forma muy irregular, especialmente en los márgenes del píleo. En la recolección de 2009, la mayoría de los basidiomas, primordios y ejemplares maduros, presentaban una superficie pileica casi lisa en todos los casos, tan solo con alguna reminiscencia apenas destacable de pubescencia. En las cuatro recolecciones restantes de 2016, sólo algún primordio



*Entoloma dysthales* f. *acystidiosum* (SFC 080608-01); Fotos F. Caballero.



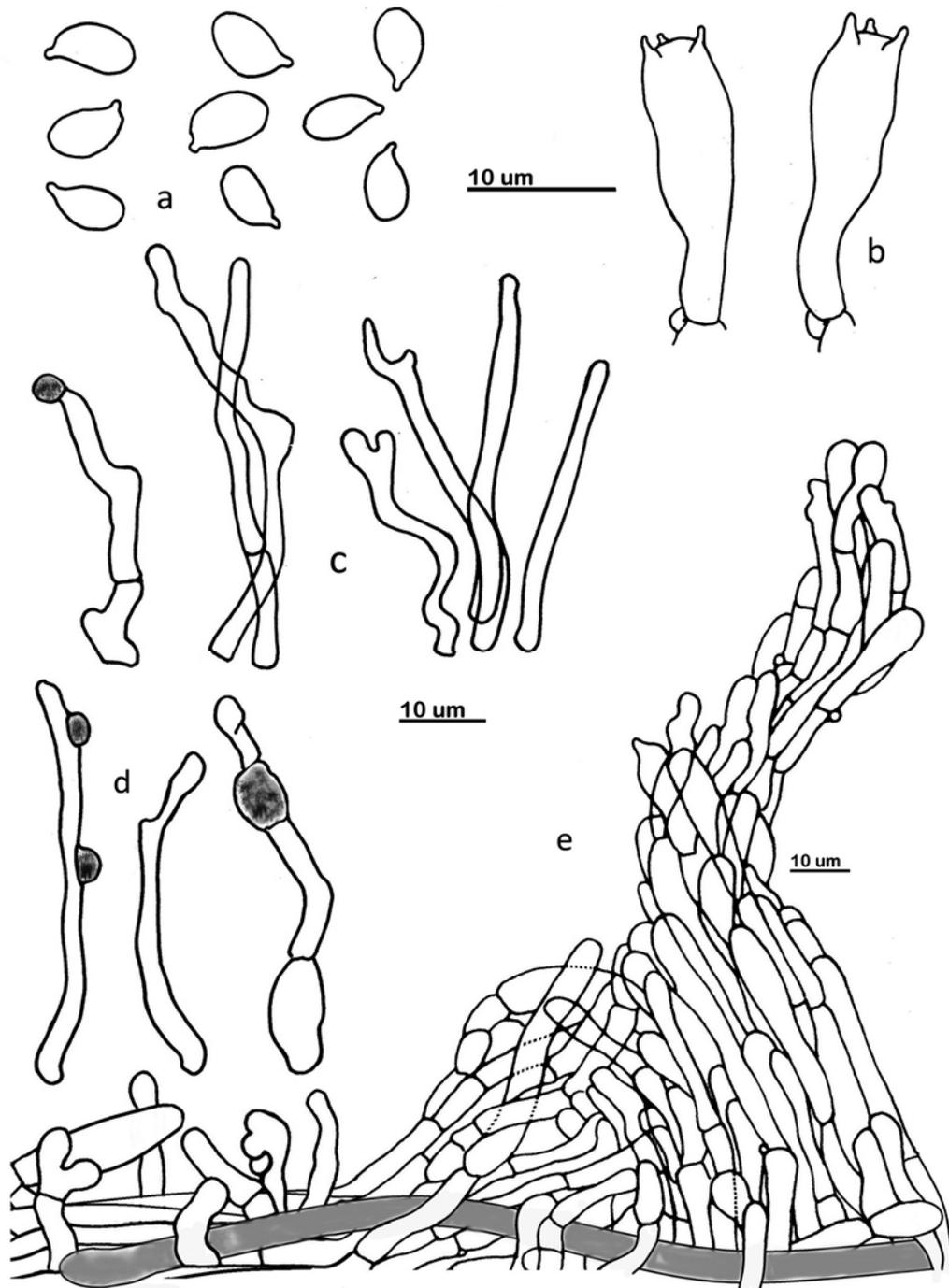
*Entoloma scabiosum* (SFC 160410-01); Foto F. Caballero.



*Entoloma speculum* (SFC 021221-01); Foto M. Tabarés.



*Leucoagaricus crystallifer* (SFC 101003-02); Foto F. Caballero.



**Fig. 6.-** *Trichocybe puberula*; a) esporas, b) basidios; c) pleurocistidios; d) queilocistidios; e) grupo de hifas con forma piramidal (trichodermis).

aislado y muy incipiente, de no más 5-12 mm de diámetro, presentaba una pubescencia destacable, el resto de basidiomas presentaban la superficie pileica prácticamente lisa. Esas diferencias son importantes, dado que el tipo de superficie del píleo es un carácter morfológico que define el género *Trichocybe*.

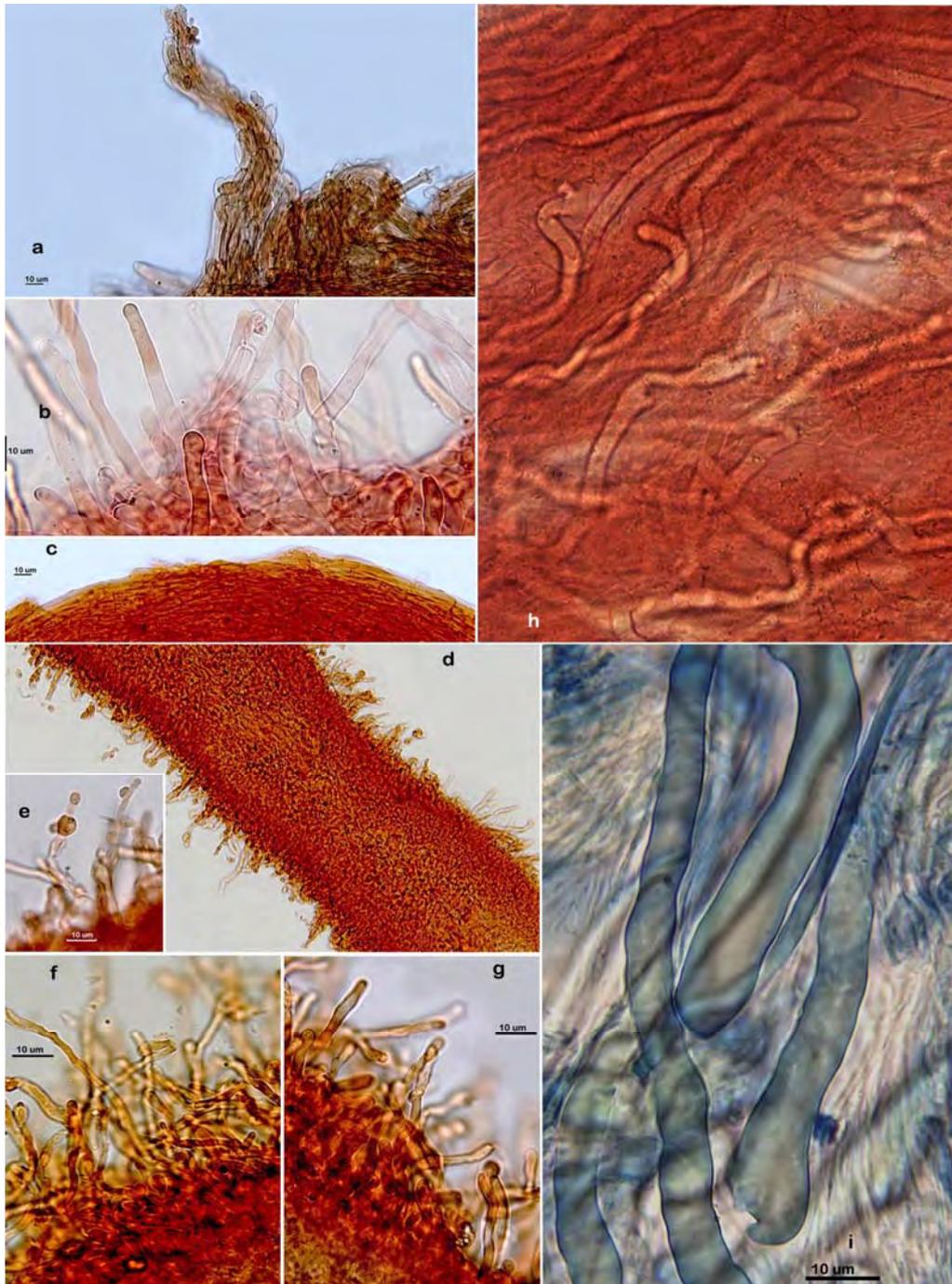
Esporas. La medida está en torno a (5.0) 6.5-8.5-(9.0) × (3.0) 3.5-4.8-(5.5) μm,  $X_m = 7.5 \times 4.2$  μm,  $Q = (1.3) 1.6-1.9-(2.0)$ ,  $Q_m = 1.75$  (VIZZINI et al., 2010). En nuestras recolecciones de Martorelles se mantiene de manera constante el mismo promedio en todas las mediciones efectuadas: esporas de 4.7-7.5 × 2.6-4.9, μm,  $X_m = 6.0 \times 4.0$  μm,  $Q = 1.23-1.86$ ,  $Q_m = 1.52$ , claramente inferiores a las mediciones de VIZZINI et al. (2010), pero cercanas a las mediciones para *Clitocybe puberula* por LOHMEYER et al. (1993). En las recolecciones de Riells se da una medida de 6.0-8.0 × 4.0-5.4 μm,  $X_m = 6.8 \times 4.5$  μm,  $Q = 1.29-1.76$ ,  $Q_m = 1.53$ , también algo inferior a las mediciones de VIZZINI et al. (2010). Ello significaría que la especie se mueve dentro de un rango con una tolerancia de entre 1-1.5 μm para el largo, y apenas con diferencias en cuanto al ancho.

Cistidios. La presencia de queilocistidios es irregular y dispersa. Sin embargo, la presencia de pleurocistidios es muy rara (VIZZINI et al., 2010). Incluso en la descripción de *Clitocybe puberula* por KUYPER (1983) no se mencionan. Por lo que se refiere a los cistidios (gleocistidios), en las recolecciones de Riells y Martorelles la presencia de queilocistidios también es irregular, y un mismo basidioma pueden presentar láminas sin apenas presencia de queilocistidios, o de forma ocasional puede presentarlos diseminados, formando grupos densos. Sin embargo, la presencia de pleurocistidios es más abundante y más regular que la presencia de los queilocistidios, especialmente en el material de Martorelles (Fig. 7: a, b, c). Este hecho contrasta con la descripción dada para *T. puberula*, donde se destaca que la presencia de pleurocistidios es muy rara (VIZZINI et al., 2010).

Pileipelis. La disposición de la suprapelis es una cutis en transición a tricodermis, con agrupaciones celulares a modo de racimos oblicuos, o de aspecto piramidal, que irrumpen verticalmente entre la cutis a modo de tricodermis (VIZZINI et al., 2010). En nuestras muestras, la disposición de la suprapelis puede variar: (i) una cutis con agrupaciones de hifas aisladas en forma de racimos oblicuos, o de aspecto piramidal a modo de tricodermis. (ii) Grupos de hifas individuales más o menos densos que irrumpen de forma vertical a modo de tricodermis en medio de la cutis. Esta disposición de la pileipelis está bien representada en la iconografía de la descripción de *Clitocybe puberula* dada por KUYPER (1983). (iii) En algunos casos, también se observa una cutis típica formada por hifas acostadas en paralelo, sin evidencias de hifas en tricodermis en toda la superficie pileica (Fig. 7: d, f, g).

#### OTRAS OBSERVACIONES

Hifas oleíferas. Se observan gran cantidad de este tipo de hifas gleopleurogenas, con contenido intracelular homogéneo en la mayoría de recolecciones (Fig. 7: h, i). Aunque la presencia de hifas oleíferas es un carácter habitual en otros géneros, por ejemplo *Entoloma*, en el caso de *Trichocybe* merece ser destacado por su evidente abundancia, observadas en la mayoría de preparaciones microscópicas. En la descripción del holotipo de *Clitocybe puberula* no se mencionan (KUYPER, 1983), ni tampoco en la descripción de *T. puberula* (VIZZINI et al., 2010). Probablemente la presencia de este tipo de hifas esté directamente relacionada con el tipo de substrato donde fructifican. En nuestro caso fructificaban sobre *Populus nigra*, en suelo arenoso meteorizado ácido, mientras que las recolecciones suizas fructificaban sobre restos de madera de coníferas (*Abies alba*, *Picea abies*) en suelo calcáreo básico (VIZZINI et al., 2010). En el caso del holotipo de *C. puberula*, tan solo se comenta el serrín como substrato (KUYPER, 1983). La abundante presencia de este tipo de hifas podría explicar el sabor claramente amargo que pudimos experimentar en las recolecciones de Martorelles, diferente



**Fig. 7.-** *Trichocybe puberula*; (SFC 090413-01); a) células de la pileipelis de aspecto piramidal; b) pileipelis en trichodermis; c) pileipelis en cutis; d) corte trasversal de la lámina; e) cistidios con secreciones; f) pleurocistidios; g) queilocistidios; h, i) hifas oleíferas.



*Trichocybe puberula* (SCM3181B); Foto M. Tabarés. (SFC 160410-01); (SFC 160325-01); (SFC 160325-01); (SFC070415-25) Fotos F. Caballero.

a la descripción organoléptica de *T. puberula*, descrita como suave o algo rancio por VIZZINI et al., (2010), o rancio para *Clitocybe puberula* (KUYPER, 1983). En el caso de las dos recolecciones de Riells solo se describe con sabor nulo (VILA et al., 1997).

Secreciones abundantes de contenido oleoso o resinoso adherido a las paredes y ápices de los cistidios (gleocistidios) en forma de pequeñas esferas. La gran cantidad de hifas oleíferas antes comentadas podrían explicar la presencia de abundantes cistidios con secreciones, probablemente, al actuar éstos como células secretoras (Fig. 7: e). Estas secreciones tampoco son comentadas en la descripción de *T. puberula* (VIZZINI et al., 2010), ni en la descripción de *Clitocybe puberula* por KUYPER (1983).

Contenido intracelular citoplasmático hialino en un gran número de hifas de los diferentes tejidos analizados; (iv) pigmento intracelular denso de color amarillo-verdoso, en ocasiones junto a pigmento granular muy fino de color verde oscuro, formado por gránulos compactados y dispuestos de forma irregular en todos los tejidos (suprapelís, subpelís, basidios, cistidios y esporas); y (v) pigmento parietal de color verde, observado en un gran número de hifas de paredes gruesas. No hemos observado en ninguna de las diferentes preparaciones microscópicas el pigmento incrustante citado por VIZZINI et al. (2010).

#### CONCLUSIONES

Entre los factores medioambientales que pueden haber influido en estas diferencias, proponemos los siguientes: (i) diferencia en el tipo de substrato; en nuestro caso, madera de *Populus* (planifolio), y coníferas en el caso de las recolecciones suizas (VIZZINI et al., 2010), (ii) suelo ácido tipo sablón (procedente de granito meteorizado) en nuestro caso, diferente al tipo de suelo calcáreo básico descrito por Vizzini, (iii) una pluviometría media anual muy por debajo de las que se suelen recoger en los países del centro y norte de Europa, y (iv) una temperatura y exposición lumínica media, también superior a la de esos países. El tipo de hábitat donde nosotros hemos hallado *T. puberula* es un hábitat común en muchos lugares de la Península Ibérica, especialmente en arco mediterráneo. Es probable que la especie tenga una difusión más amplia que la representada por las localidades comentadas. Incluso es posible que haya sido confundida en más de una ocasión con otras especies. Destacamos en este sentido que las dos recolecciones de Riells que hemos adoptado como topotipo, fueron determinadas erróneamente como *Gerronema incarnatum* Cléménçon, en base a un análisis y descripción muy superficial de los caracteres macroscópicos y microscópicos (VILA et al., 1997), cuando el carácter fundamental para la identificación de especies del género *Gerronema* Singer es la presencia de tejido estructural sarcodimítico (NORVELL, 1994). *Trichocybe puberula* = *Clitocybe puberula* no lo presenta (KUYPER, 1983). Además, en el protólogo de *Clitocybe incarnata* se la describe como una especie sin cistidios, recolectada entre musgos en el margen de un camino (MÉTROD, 1951). Teniendo en cuenta que *T. puberula* es una especie típicamente lignícola, estaríamos ante una diferencia importante en el tipo de hábitat y substrato que ambas especies necesitan para su desarrollo, además de una diferencia microscópica importante como es la presencia de cistidios en esta especie. Quedaría por confirmar si *G. incarnatum* corresponde realmente al género *Gerronema* Singer, teniendo en cuenta, sobre todo, que la combinación dada por Cléménçon se basa únicamente en una transcripción literal de la descripción de Métrod sin un análisis microscópico previo del material del holotipo, debido a lo cual, no se describe la presencia de tejido sarcodimítico para esta especie CLÉMENÇON (1982).

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. X. Llimona (Dpto. Biología Vegetal, Univ. de Barcelona) la revisión del presente artículo y su intermediación para la obtención de recursos económicos a través de los "Fons de Recerca Salvador Llimona". Nuestro agradecimiento al Dr. J. Llistosella (Dpto. Biología Vegetal, Univ. de Barcelona) por poner a nuestra disposición material del herbario BCN-SCM. Al

Dr. J. Girbal (Dpto. Biología Vegetal, Univ. Autónoma de Barcelona) el tiempo dedicado en la identificación de algunas de las especies vegetales que conforman algunas comunidades de ribera, localidades de interés para nuestro estudio. Agradecemos a M. Tabarés su amabilidad en la cesión de imágenes de *Entoloma speculum*, *Leucoagaricus ionidicolor*, y *Trichocybe puberula*. Al amigo J. Rius por su paciencia ante cualquiera de las consultas en la elaboración de este artículo. Al amigo G. Muñoz sus consejos y sugerencias. Y al compañero J. Fernández por el tiempo dedicado a la búsqueda y préstamo de la bibliografía que se ha consultado.

## BIBLIOGRAFÍA

- BELLÙ, F. & G. LANZONI (1988).- *Leucoagaricus ionidicolor* sp. nov. *Rivista de Micologia*. Boll. Gruppo Micol. G. Bresadola. 31 (3-4): 107-110.
- BERTAUX, A. (1964).- *Collectanea Botánica*. Vol. IV. Fasc. III, nº 16
- BON, M. (1993).- *Flore Micologique d'Europe*, 3- Les Lépiotes, 96-99. Doc. Mycol. Mémoires hors série nº 3. Lepiotaceae Roze.
- BON, M. (1997).- *Flore Micologique d'Europe*, 4- Les Clitocybes, Omphales et ressemblants, 46,47-142,143
- BON, M. & CABALLERO (1995) .- Une nouvelle espèce amanitoïde de *Lepiotaceae*. *Leucoagaricus volvatus*. *Doc. Mycol.* XXIV, 96: 9-10.
- CABALLERO, A. (2006).- *Flora micológica de la Rioja*: dos raras e interesantes especies. *Kalakorikos*, 11. 2006, pp.: 247-256.
- CASTRESANA, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular biology and evolution*, 17(4), 540-552.
- CANDUSSO, M. & G. LANZONI(1990).- *Lepiota* s.l. *Fungi Europaei* 4. G. Biella, Saronno, 743 pp.
- CHEYPE J. L. (2005).- Contribución à la connaissance del champignons de la haute vallée de L'arve (Haute-Savoie). *Bulletin Mycologique et Botanique Dauphiné-Savoie*, 177: 33-44.
- CLÉMENÇON, H. (1982).- Kompendium der Blätterpilze Europäische omphalinoide Tricholomataceae. (*Zeitschrift für Mykologie* 48 (2):223.
- FRIES, E. M. (1836).- *Spicilegium Plantarum neglectarum*: 4. Upsaliae.
- HOLEC, J. (2009). Remarks on taxonomy and ecology of *leucoagaricus ionidicolor* based on a find from Central Bohemia (Czech Republic). *Mycotaxon* 109: 329-336
- KOKKONEN, K. (2015).- A survey of boreal *Entoloma* with emphasis on the subgenus *Rhodopolia*. *Mycol Progress*, 14:116.
- KUYPER, T.W. (1983).- A new species of *Clitocybe*. *Sydowia* 36: 173-175.
- LARSSON, A. (2014).- AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30: 3276-3278.
- LOHMEYER, T. R., J. CHRISTAN & O. GRUBER (1993).- *Clitocybe puberula* Kuyper, *Lentaria albovinacea* Pilat und andere Pilze auf Sägemehlagerungen bei Burghausen/ Oberbayern. *Z. Mykol.* 59:193-214.
- LÜCKING, R., B. P. HODKINSON, A. ASTAMATAKIS & R. A. CARTWRIGHT (2011).- PICS-Ord: unlimited coding of ambiguous regions by pairwise identity and cost scores ordination. *BMC Bioinformatics*, 12: 1.
- MALENÇON, G. & R. BERTAULT, R. (1970).- *Flore des Champignons Supérieurs du Maroc I*. Rabat.
- METROD, G. (1951).- Révision des Clitocybes, *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 67:398,399.
- MOSER, M.M. (1973).- Die arten um *Rhodophyllus dysthales* (Peck) Romagn. *Persoonia* 7 (2):281-288.
- MOSER, M.M. (1980).- *Guida alla determinazione dei funghi. Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales*. Vol. 1: 222. Saturnia. Trento, 565pp.
- NOORDELOOS, M. E. (1979).- *Entoloma* subg. *Pouzaromyces* emend in Europe. *Persoonia* 10(2):207-243.
- NOORDELOOS, M. E. (1992).- *Entoloma* s.l. *Fungi Europaei* 5, Libreria editrice G. Biella, Saronno. 760 pp.
- NORVELL, L.L., S .A. REDHEAD & J. F. AMMIRATI (1994).- *Omphalina* sensu lato in North America 1-2. 1: *Omphalina wynniae* and the genus *Chrysomphalina*, 2 : *Omphalina* sensu Bigelow. *Mycotaxon* 50:379-407.
- POULAIN, M. (1990).- *Clitocybe puberula* Kuyper. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 106: 1-3, pl.258.
- ROCABRUNA, A. & M. TABARÉS (2004).- *Leucoagaricus ionidicolor* Bellù & Lanzoni. *Bolets de Catalunya* XXIII: pl. 1132 [sub « 1032 »].
- ROMAGNÈSI, H. (1951).- Les entolomes printaniers du groupe *Clypeatum*. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 67: 214-215.
- STAMATAKIS, A. (2014).- RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics* 30 (9): 1312-1313.
- VELLINGA, E.C. (2000).- *Leucoagaricus* subgenus *Sericeomyces*, *Persoonia* 17: 475
- VELLINGA, E.C. (2001).- 6. *Leucoagaricus* (Locq. ex) Sing. In: ME Noordeloos, TW Kuyper, EC Vellinga (eds.), *Flora agaricina neerlandica*, vol. 5, p. 85-108. Lisse etc., A.A. Balkema.



*Leucoagaricus ionidicolor* (topotipus) (SCM 3200B); Foto M. Tabarés.

- VILA, J. & F. CABALLERO (2007).- *Entoloma* nuevos o interesantes de la Península Ibérica. II. *Fungi non Delineati* XXXVIII. 64 pp. Ed. Candusso, Alassio.
- VILA, J. & F. CABALLERO (2009).- *Entoloma* nuevos o interesantes de la Península Ibérica. II. *Fungi non Delineati* XLV. 100 pp. Ed. Candusso, Alassio.
- VILA, J., F. CABALLERO, F. J. CARBÓ, P. ALVARADOS, CATALÀ, M. A. HIGELMO & X. LLIMONA (2014).- Preliminary morphologic and molecular study of the *Entoloma rusticoides* group. *Revista catalana Micol.* 35: 65-99.
- VILA, J., J. CARBÓ, F. S. CABALLERO, S. CATALÀ X. LLIMONA & M. E. NOORDELOOS (2013).- A first approach to the study of the genus *Entoloma* subgenus *Nolanea* s.l. using molecular and morphological data. *Fungi non Delineati* LXVI (*Studies on Entoloma*): 3-62, 93-135 (iconography).- Edizione Candusso, Alassio.
- VILA, J., M. CONTU, CABALLERO, & A. ORTEGA (2007).- Sinopsis del género *Rhodocybe* (secc. *Rhodocybe*) en Europa y descripción de *Rhodocybe formosa* sp. nov. *Bol. Soc. Micol. Madrid* 31: 77-84.
- VILA, J., M. CONTU, F. CABALLERO & A. ORTEGA (2008).- A new species of *Rhodocybe* (*Agaricales, Entolomataceae*) from Catalonia (Iberian Peninsula). *Osterr. Z. Pilzk.* 17: 75-79.
- VILA, J., M. CONTU, F. CABALLERO & M. A. RIBES (2009) Nuevos datos sobre el género *Clitopilus* (incl. *Rhodocybe*) en la península Ibérica e Islas Canarias. *Boll. Assoc. Micol. Ecol. Romana* 25:3-14.
- VILA J., A. ROCABRUNA, M. TABARÉS & X. LLIMONA (1997).- Algunos hongos nuevos o interesantes de la Península Ibérica. *Revista catalana Micol.* 20: 169-176.
- VIZZINI, A., E. MUSUMECI & C. MURAT (2010).- *Trichocybe* a new genus for *Clitocybe puberula* (*Agaricomycetes, Agaricales*), *Fungal Diversity*: 42:97-105
- WHITE, T. J., T. S. J. T. BRUNS S. LEE & J. W. TAYLOR (1990).- Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18: 315-322.