



Inocybe ochrogaleata sp. nov., un nouvel *Inocybe* récolté dans la péninsule Ibérique

François ARMADA* Fernando ESTEVE-RAVENTOS**

Isaac GARRIDO-BENAVENT***

Résumé

Les auteurs décrivent *Inocybe ochrogaleata*, un nouvel *Inocybe* récolté sous *Quercus ilex* et *Pinus halepensis* accompagnés de cistes (entre autres *Cistus albidus*), dans les parcs naturels de Huétor Santillán et des Sierras de Tejada, Almirajara et Alhama (Andalousie), ainsi qu'à Quatretonda, dans la région de Valencia (Espagne). Une discussion sur les taxons génétiquement proches et morphologiquement ressemblants est proposée.

Abstract

The authors describe *Inocybe ochrogaleata*, a new *Inocybe* collected under *Quercus ilex* and *Pinus halepensis* accompanied by *Cistus* (among others *Cistus albidus*) in the Huétor Santillán natural park, the Sierras Tejada, Almirajara and Alhama (Andalusia) and Quatretonda in the Valencia region (Spain). A discussion on genetically and morphologically similar taxa is proposed.

Resumen

Los autores presentan *Inocybe ochrogaleata*, un nuevo *Inocybe* recolectado bajo *Quercus ilex* y *Pinus halepensis* acompañado de Cistes (entre otros *Cistus albidus*) en los parques naturales de Huétor Santillán y de las Sierras de Tejada, Almirajara y Alhama (Andalucía) así como en Quatretonda en la región de Valencia (España). Se propone una discusión sobre los taxones genéticamente y morfológicamente parecidos.

Mots-clés

Basidiomycota, *Agaricales*, *Inocybaceae*, Parc naturel de Huétor Santillán, Sierras de Tejada, Almirajara et Alhama, Andalousie, Valencia, Espagne, taxinomie.

Introduction

La ville espagnole de Quatretonda est située dans la vallée de l'Albaida, une comarque (division territoriale, culturelle, économique ou administrative, dans plusieurs pays de cul-

ture Ibérique) densément peuplée et cultivée de la région valencienne. Elle est traversée du nord au sud par une grande combe (ou faille) dans laquelle subsiste une végéta-

* 203, montée Saint-Mamert-le-Haut, F-38138 Les Côtes-d'Arey – paco38@wanadoo.fr

** Departamento de Ciencias de la Vida (Botánica), Facultad de Ciencias, Universidad de Alcalá, E-28805 Alcalá de Henares – fernando.esteve@uah.es

*** Departamento de Botànica i Geologia, Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València, C/ Doctor Moliner 50, E-46100 Burjassot, València – Isaac.Garrido@uv.es

tion abritant une fonge variée comme *Inocybe ochrogaleata*, nouvelle espèce présentée dans cet article et récoltée pour la première fois par l'un d'entre nous (IGB) durant l'automne 2011. Les deux autres récoltes de ce champignon ont été réalisées dans la province de Grenade (Andalousie), dans les parcs naturels des Sierras de Tejeda, Almijara et Alhama (ARMADA, 2021, p. 5-15) et dans celui de Huétor Santillán. Ce dernier parc, en partie remanié par l'homme, situé au centre de la province, abrite une flore et une faune remarquables, avec de grandes plantations de pins (*Pinus halepensis*, *P. pinaster*, *P. nigra*), de cyprès (*Cupressus* sp.) et de cèdres (*Cedrus* sp.). Heureusement, le chêne vert (*Quercus ilex*), le chêne faginé (*Q. faginea*), ainsi que le maquis naturel ont subsisté et permettent d'offrir une plus grande diversité naturelle, notamment pour les champignons.

Cette nouvelle espèce pour la science a été comparée notamment avec celles décrites par Malençon et Bertault dans leur magistrale *Flore des champignons supérieurs du Maroc* (MALENÇON & BERTAULT, 1970). On sait que bon nombre d'espèces présentées dans cette flore sont susceptibles d'être retrouvées dans la péninsule

Ibérique, voire en France, mais malheureusement, nous nous heurtons à un mauvais état de conservation de l'herbier Malençon conservé à l'université de Montpellier (MPU), entraînant généralement une impossibilité d'obtenir une séquence génétique des récoltes marocaines.

Matériel et méthodes

Les photos des champignons ont été réalisées *in situ* le jour de la récolte. Les couleurs ont été codées sur le frais d'après le code CAILLEUX (1981, abrégé en « Caill. ») pour les récoltes FA 4674 et FA 4745.

Les observations microscopiques ont été pratiquées à l'immersion (grossissement × 1000), soit dans l'eau (matériel frais), soit dans la potasse (KOH à 5 %) ou dans le rouge Congo SDS (exsiccata). Les mesures de tous les éléments microscopiques ont été faites avec un microscope Olympus CH2 (FA) ou URA Technic 107 (IGB) avec en complément le logiciel gratuit Piximètre version 5.10 (HENRIOT & CHEYPE, 2020, <http://piximetre.fr>). Les photos des caractères microscopiques ont été réalisées avec un microscope Optika B383PLI équipé d'un appareil reflex Canon EOS600D (FA) ou OCULAR CCD ZUZI (IGB)



Lieu de récolte de l'holotype d'*Inocybe ochrogaleata* (FA 4674) en lisière de *Quercus ilex* avec *Cistaceae* ; Huétor de Santillán (Grenade) Photo F. Armada

et ont été assemblées à l'aide de Piximètre. Les mesures des spores ont été réalisées sur sporée.

Extraction, amplification et séquençage de l'ADN

Pour les récoltes FA 4674 et FA 4745, l'extraction et l'amplification de la région ITS de l'ADN ribosomique nucléaire ont été réalisées sur exsiccatum dans le cadre du projet MycoSeq (CEFE-CNRS/Société mycologique de France), avec le kit REDExtract-N-Amp™ Plant PCR Kit (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, États-Unis), suivant les instructions du fournisseur et à l'aide du couple d'amorces ITS-1F/ITS-4 (WHITE *et al.*, 1990 ; GARDES & BRUNS, 1993). Le séquençage des amplicons a été réalisé dans les deux sens par la société Eurofins Genomics (Ebersberg, Allemagne). Les séquences ont été ensuite éditées et assemblées sous Codon Code Aligner v.4.1.1 (CodonCode Corp., Centerville, États-Unis).

Pour la récolte IGB267 l'extraction de l'ADN génomique a été réalisée sur exsiccatum, avec une version modifiée du protocole utilisant du bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB ; DOYLE & DOYLE, 1987). Brièvement, les lysats organiques ont été suspendus en tampon CTAB et incubés durant 30 min à 65 °C. Plus tard, il a été ajouté un volume égal de chloroforme-isoamyl alcool (24 : 1) le tout mélangé jusqu'à émulsion. Centrifugé pendant 10 min à 10000 g, le surnageant a été précipité grâce à l'isopropanol à froid. Après 15 min de centrifugeuse, le sédiment a été lavé à l'éthanol à 70 % à froid, puis centrifugé durant 2 min puis séché. Finalement, il a été ajouté 100-300 µL d'eau au précipité. L'amplification de l'ITS a été réalisée à l'aide du couple d'amorces ITS-1F/ITS-4. L'amplification par PCR a été réalisée de la manière suivante : premièrement une dénaturation par démarrage à chaud à 95 °C durant 5 min, suivie de 35 cycles respectivement de 45 s, 30 s et 45 s à 94 °C, 54 °C et 72 °C, avec une étape finale à 72 °C durant 10 min. Les produits de PCR ont été vérifiés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1 % teinté avec GelRed (Biotium). Les réactions positives ont été purifiées et séquencées en utilisant la même paire d'amorces MACROGEN EUROPE (Madrid, España). Les électrophéro-

grammes ont été vérifiés, assemblés et édités sous SEQMANII v.5.07© (DNASTAR Inc.).

Analyse phylogénétique

Nous avons recherché avec l'algorithme *blastn*, dans les bases de données de séquences nucléotidiques GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), UNITE (NILSSON *et al.*, 2018) et BOLD (RATNASINGHAM & HEBERT, 2007), afin de vérifier l'identité des nouvelles séquences ITS générées dans cette étude. Ensuite, un jeu de données moléculaires a été construit en combinant les séquences obtenues de la nouvelle espèce et celles obtenues par *blastn*, ainsi que des séquences d'autres espèces d'*Inocybe* qui pourraient être apparentées morphologiquement. Nous avons priorisé les séquences obtenues à partir de matériaux correspondant à l'holotype sur les autres collections. *Pseudosperma spurium* (Jacobsson & E. Larss.) Matheny & Esteve-Rav. a été désigné comme espèce « *outgroup* » dans le but d'enraciner la phylogénie. Le jeu de données complet s'élève à 40 séquences (figure 1).

Les séquences ont ensuite été alignées avec Geneious® Prime, à l'aide du logiciel MAFFT v.7.490 (KATO & STANLEY, 2013) et en utilisant l'algorithme FFT-NS-I x1000, la matrice de ponctuation 200PAM / k=2 et une valeur offset de 0.123. Ces paramètres particuliers ont été sélectionnés pour maximiser l'homologation dans un alignement incluant des séquences d'ITS très divergentes. L'alignement obtenu a été édité manuellement, notamment pour enlever les extrémités des séquences contenant des parties des régions SSU et LSU ; en outre, les extrémités courtes avec des intervalles ont été remplies en ajoutant la lettre « N ».

L'analyse phylogénétique a d'abord utilisé la méthode du maximum de vraisemblance en tenant compte des deux partitions que comprend l'ITS (ITS1+2, 5.8S), grâce à IQ-TREE v. 2.1.2 (NGUYEN *et al.*, 2015), disponible sur le portail CIPRES Science Gateway (MILLER *et al.*, 2010). L'outil ModelFinder a été utilisé en IQ-TREE (KALYANAMOORTHY *et al.*, 2017) pour déduire les modèles d'évolution nucléotidique optimaux pour chaque partition, en particulier

avec l'option TESTMERGE. Les modèles évolutifs choisis étaient TPM2+I (ITS1+2) et K2P (5.8S). Un total de 1000 répliques de *bootstrap* (ufb) a été exécuté pour évaluer le support des nœuds. Une analyse bayésienne a également été effectuée grâce à MrBayes v.3.2.6 (RONQUIST *et al.*, 2012). Pour cette dernière, deux analyses parallèles avec quatre chaînes ont été effec-

tuées sur 5×10^7 générations, en utilisant un arbre initial aléatoire, la température par défaut étant de 0,2 et échantillonné à toutes les 50000 étapes. Les modèles d'évolution nucléotidique utilisés étaient le GTR+I (ITS1+2) et le K2P (5.8S). Les 25 % des données initiales collectées ont été écartés et l'arbre phylogénétique consensuel, avec les probabilités ultérieures cor-

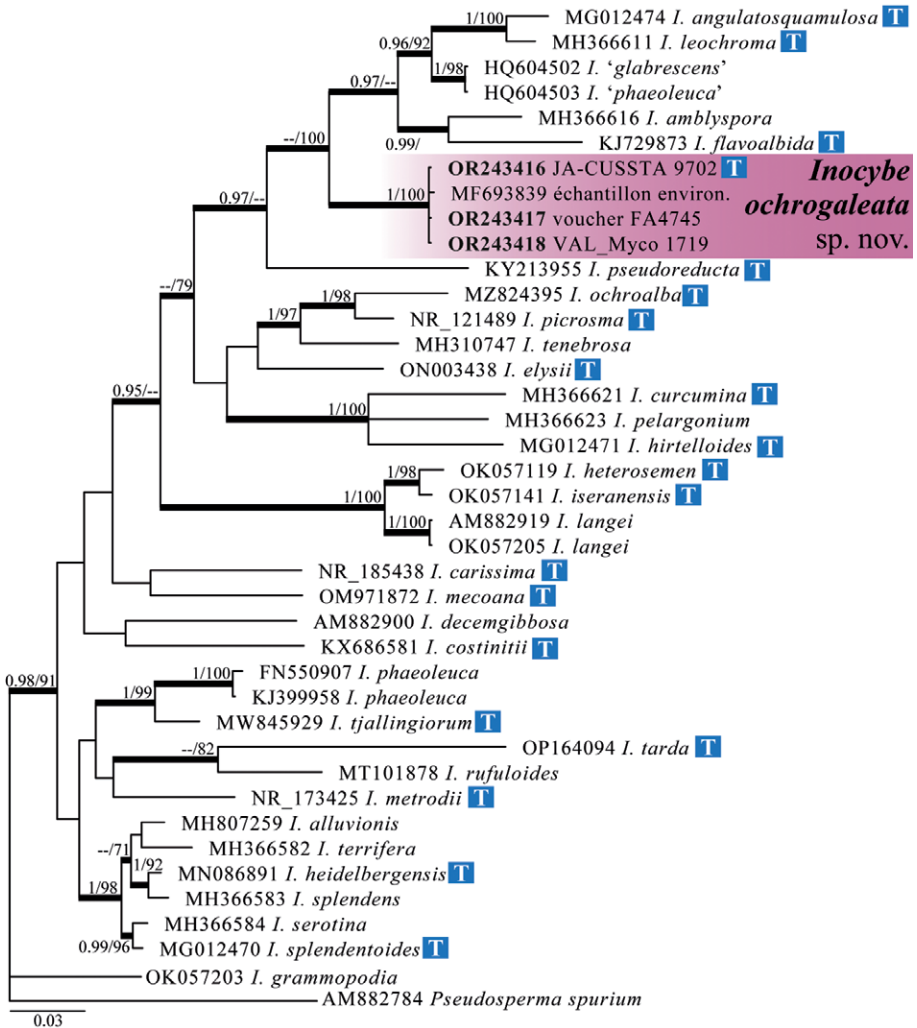


Figure 1 : Phylogramme obtenu par MrBayes v.3.2.6, sur la base de 40 séquences ITS d'*Inocybe*. Les branches qui affichent des valeurs de support élevées (probabilité postérieure ≥ 0.95 et/ou *bootstrap* $\geq 70\%$) sont en gras. Les extrémités de l'arbre sont identifiées par le numéro d'accès de la séquence ITS GenBank, l'identité taxinomique et, le cas échéant, le code de récolte ou d'herbier. La lettre « T » encadrée en bleu indique que la séquence a été obtenue à partir de la collection type.

respondantes (PP), a été calculé à partir des 75 % de données restantes. Les arbres phylogénétiques inférés ont été dessinés dans le programme FigTree v.1.4 (disponible sur <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Les arbres ML et bayésiens ont été comparés pour détecter d'éventuelles incohérences. Les valeurs de support de *bootstrap* supérieures ou égales à 70 % et les probabilités ultérieures (PP), supérieures ou égales à 0,95 (MrBayes), ont été considérées comme significatives. Les numéros d'accès à GenBank, correspondants aux nouvelles séquences générées dans cette étude, sont reportés dans la figure 1.

Résultats

Ensemble de données de séquences et interprétation phylogénétique

Pour cette étude, trois nouvelles séquences ITS ont été générées à partir de nos échantillons (figure 1). En outre, 37 séquences issues de GenBank ont été sélectionnées et téléchargées, dont 19 provenant de collections types. L'alignement comprenait 800 caractères, dont 393 variables et 307 déterminants pour la parçimonie.

La topologie estimée place les trois échantillons espagnols de la nouvelle espèce *I. ochrogaleata* dans un clade fortement supporté (PP = 1 ; 100 % *bootstrap*). Ces trois séquences sont accompagnées d'une autre séquence, avec le code (GenBank MF693839), qui correspond à un échantillon environnemental obtenu à partir de racines de plantes herbacées en France (SCHNEIDER-MAUNOURY *et al.*, 2018). Cette nouvelle espèce est proche de *I. angulatosquamulosa* Stangl, *I. leochroma* Bandini, Vauras & B. Oertel, *I. amblyospora* Kühner et *I. flavoalbida* Matheny & Bougher, avec lesquelles elle forme un clade supporté uniquement par l'approche phylogénétique en maximum de vraisemblance (100 % *bootstrap*). Ce clade, avec la séquence type de *I. pseudoreducta*, forme également un clade supporté selon une PP de 0,97.

Au niveau des différences génétiques, les trois séquences de la nouvelle espèce diffèrent par la présence d'une base ambiguë dans la séquence de la collection FA 4745

(R, position 241) et l'existence d'une insertion (T) à la position 657 dans la collection FA 4674. La séquence type d'*I. ochrogaleata* (échantillon FA 4674) diffère de la séquence type d'*I. angulatosquamulosa* par 51 substitutions nucléotidiques en plus de 16 indels de longueur variable ; par rapport à *I. leochroma*, elle diffère par 59 substitutions nucléotidiques et 14 indels de longueur variable ; et pour *I. flavoalbida*, la séquence ITS de la nouvelle espèce diffère de 64 substitutions nucléotidiques et de 18 indels de longueur variable.

Taxinomie

Inocybe ochrogaleata Armada, Esteve-Rav. & Garrido-Benavent, *sp. nov.*
Mycobank: MB 849550

Description latine:

Pileus 15–50 mm *in diam.*, *conicus vel convexo-planus, umbone obtuso lato plus minusve exstanti; margo inflexa, valde fisso-horrída; cuticula fibrilloso-impexa, in zona antemarginali vulnerato-subsquamulosa, straminea, ochracea, fulvastra vel uniformiter flavido-brunnea, usque ad olivaceo-fuscum, leviter albide velata; marginella alba. Lamellae usque ad 6 mm latae, confertae, adnatae, filatim subdecurrentes, albae; acies erosa albide pulverulenta. Stipes* 14–56 × 4,5–13 mm, *basi aequali, clavata vel submarginata; superficies albide fibrilloso-striata super fundum flavidum vel pallide citrinum, usque ad dimidiatam altitudinem pulverulenta. Basis stipitis vetustate brunneo-nigrescens. Caro flavida vel albida, subimmutabilis. Odor valde mellitus (in basi stipitis) vel leviter spermaticus; sapor mitis. Sporae* (6,5) 7–9 (9,5) × (4,5) 5–6,5 μm, *laeves, late amygdaliformes vel ad formam ovoideam vergentes; apex ogivalis, subobtusius vel subogivalis.*

Habitatio et collectio: circiter quindecim basidiomata in ora Quercus ilicis, Alto de las Neguillas, Huétor de Santillán (Grenade), Hispania, alt. 1220 m, leg. F. Armada et María-Jesus Díaz de Haro, 24/11/2018.

Holotypus in herbario JA-CUSSTA 9702; isotypus in herbario FA 4674. GenBank OR243416.

Étymologie : du latin « à tête ou chapeau ocre ».

Position taxinomique : sous-genre *Inocybe* (Fr.) Trog. ; clade *Ochrogaleata*.

Description de la récolte IGB267

Chapeau atteignant 50 mm de diamètre, convexe à plan-convexe chez les adultes, à mamelon très marqué chez certains juvéniles ; revêtement à fibrilles plus ou moins radiales à la marge, brun ochracé, ochracé, jusqu'à brun obscur olivacé, fonçant au centre ; il tend à se rompre ou à se lacérer sous forme de petites squames adnées, surtout au centre et est légèrement visqueux à sec, à très visqueux dans la jeunesse ou par temps humide. **Marge** concolore, sans restes vélaire, légèrement lacérée. **Lames** (nombre 40–45 ; lamellules = 1 (2) entre chaque lame) adnées à subdécurrentes par une dent, serrées, sinueuses, irrégulières, blanchâtres puis brun clair ; arête concolore. Sporée brune. **Stipe** atteignant 45 × 10 mm, cylindracé, à petit bulbe basal marginé ; surface crème blanchâtre puis brun clair, fibrilleuse, pruinuse sur le tiers supérieur, à noircissement intense à la base de certains exemplaires, accentué au frottement ; cortine non observée. **Chair** fibreuse, blanchâtre ou noircissant dans la base du stipe. **Odeur** imperceptible ou légèrement spermatique.

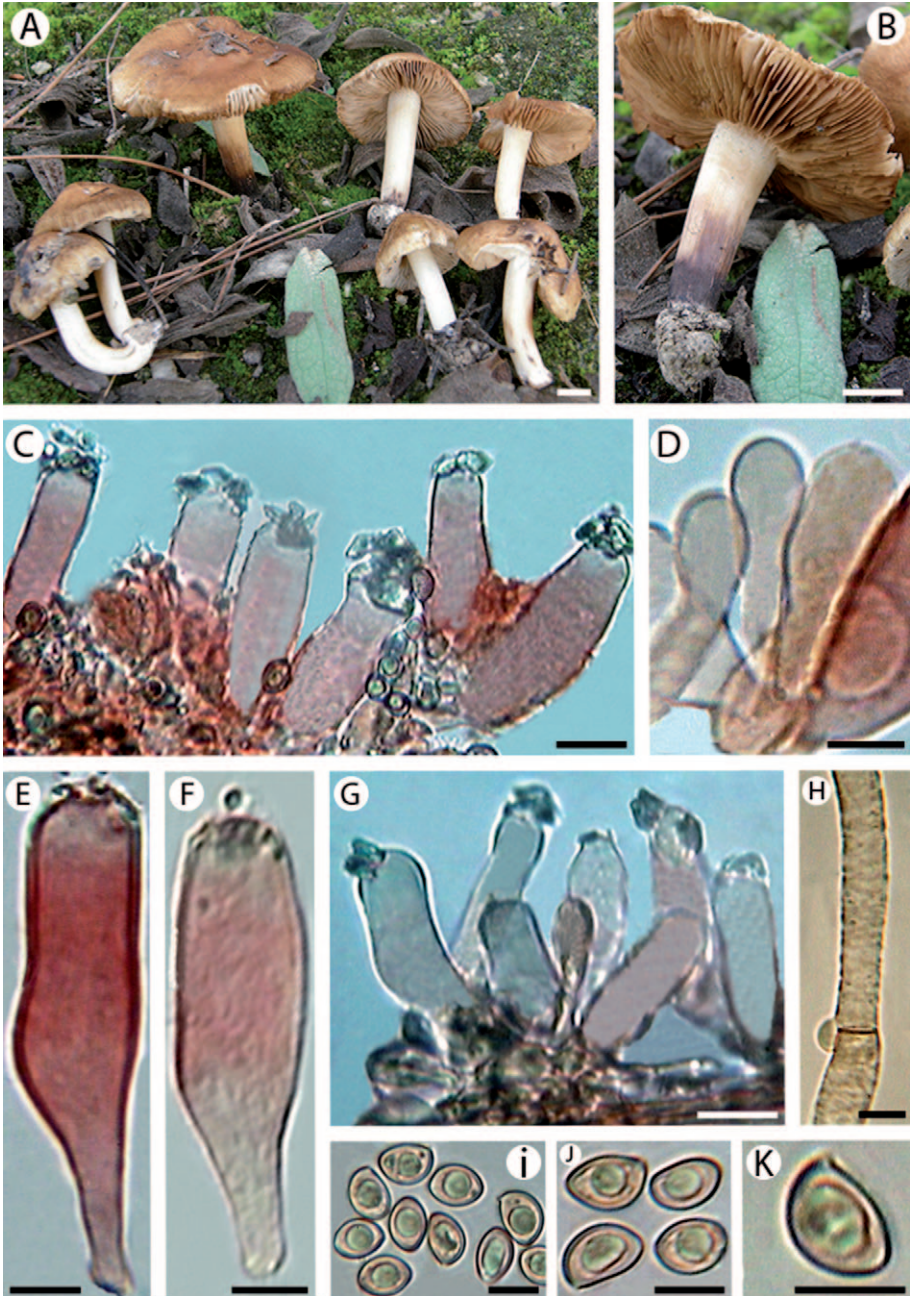
Spores (6,6) 7–8,6 (9,3) × (4,5) 5–6 (6,3) μm , Me = 7,8 × 5,3 μm , Q = (1,3) 1,4–1,6 ; Qm = 1,5 (n = 50), lisses, ovoïdes à subovoïdes, rarement ellipsoïdes, parfois plus largement amygdaliformes ou largement ellipsoïdes, à sommet obtus et à appendice hilaire peu marqué, pore non observé. **Basides** 26–35 × 7–9 μm (n = 10), clavées, tétrasporiques, à longs stérigmates. **Cheilocystides** 35–55 × 11–16 μm (n = 15) métuloïdes, en majorité cylindracées à étroitement utriformes, subcylindracées à sublagéniformes, parfois tortueuses, rarement piriformes ou sphéropédonculées, à sommet obtus, à paroi mince (\approx 1 μm). En général, toutes les cystides (cheilocystides, pleurocystides et caulocystides) ont une morphologie particulière et présentent une nette tendance à s'atténuer en allant vers la base qui est pédicellée. **Paracystides** 25–32 × 7–9 μm , variables, étroites à largement claviformes, parfois subcylindracées. **Pleurocystides** 45–58 (64) × 12–19 μm (n = 15) dans l'ammoniaque (NH₄OH), similaires aux cheilocystides, à

paroi peu marquée (< à 1 μm), jaunissant légèrement dans l'ammoniaque. **Caulocystides** 30–50 (87) μm de longueur (n = 9), subcylindracées à claviformes ou pyriformes, non ou peu étranglées, parfois tortueuses, sans cristaux apicaux pour la majorité ; abondantes du sommet jusqu'à la zone médiane, plus rares en dessous et jusqu'à la base, où elles sont en majorité plus claviformes ou en forme de poils (à paroi mince) et à sommet non cristallifère. La base noircie des stipes montre une plus grande concentration (intense) de pigments intracellulaire et pariétal brun orangé, bronze dans l'ammoniaque, caractère également observé chez *I. tenebrosa* (FER). **Revêtement piléique** composé en surface d'hyphes larges de × 5–12 μm (n = 11), allongées-cylindracées à subcylindracées, à extrémités un peu clavées, à pigmentation pariétale incrustante jaune, jaunissant dans l'ammoniaque. **Boucles** présentes.

Habitat et récolte : une unique population de divers exemplaires dispersés sous *Cistus albidus* et quelques *Pinus halepensis* solitaires, sur substrat marneux, Quatretonda, barranco de Les Fontetes (Valencia), Espagne, coordonnées 30SYJ2513 (UTM 1 × 1 km), alt. 219 m, leg. I. Garrido-Benavent, det. F. Esteve-Raventós & I. Garrido-Benavent, le 9 décembre 2011 ; herbier IGB267. La récolte a été déposée dans l'herbier de l'université de Valencia (n° VAL_Myc0 1719). GenBank OR243418.

Description des récoltes FA 4674 et FA 4745

Chapeau mesurant 15–43 mm de diamètre, conique à conico-convexe à plan-convexe, à mamelon obtus assez large et prononcé ou brusquement accusé sur les exemplaires plans, souvent muni d'une petite dépression péridiscale, parfois plus légèrement mamelonné, à marge souvent flexueuse-ondulée sur les adultes, infléchie, un peu obtuse et à marginelle enroulée sur les lames, incisée puis relevée, rapidement et fortement fendue-ébouriffée ; revêtement viscidule, fibrillo-feutré à tendance éraillée-subsquamuleuse dans la zone antémarginale, plus éraillé vers le bord, laissant apparaître la chair sous-cuticulaire blanchâtre, jaune paille à ochracé ou brun jaunâtre uniforme (Caill. R55 au



***Inocybe ochrogaleata* récolte IGB267 (VAL_Myco 1719)**

A et B – Basidiomes (échelle 1 cm) ; C – Arête de lame (échelle 20 µm) ; D – Paracystides (échelle 10 µm) ; E et F – Pleurocystides (échelle 10 µm) ; G – Caulocystides (échelle 20 µm) ; H – Épicutis (échelle 10 µm) ; I, J et K – Spores (échelle 10 µm). Photos I. Garido-Benavent

centre, N65/L60 vers la marge), légèrement et fugacement voilé de blanchâtre sur la marginelle. **Lames** atteignant 6 mm de largeur, serrées, adnées, moyennement épaisses à épaisses, blanches puis beiges puis beige sale ou grises ; arête érodée, plus pâle, poudrée de blanchâtre. **Stipe** 14–56 × 4,5–13 (au bulbe) mm, plein et le restant, assez dur dans la jeunesse, passablement élancé et enfoui dans le substrat ; base égale, souvent courbée ou clavée à submarginée ; surface fibrillo-rayée, blanchâtre sur fond jaunâtre ou citrin pâle, poudrée plus ou moins jusqu'à mi-hauteur, devenant un peu jaune ochracé en vieillissant, peu salissante, à reflet rosé douteux en vieillissant. **Chair** assez épaisse au niveau du mamelon du chapeau, mince au-dessus des lames, jaunâtre à blanchâtre, subimmuable. **Odeur** miellée forte, surtout à la coupe dans la base du stipe ; **savoir** douce.

Réactions macrochimiques : KOH jaunâtre à brun sur le revêtement piléique, jaune sur la chair du chapeau ; gaïac lentement positif (+) sur le stipe, nul sur la chair du chapeau ; TL4 nul de partout.

Spores 7–9 (9,5) × 5,25–6,5 µm, Qm = 1,42, (n = 42), lisses, largement amygdaliformes ou à tendance ovoïde, parfois un peu étranglées, à sommet parfois poré, ogival ou subobtus. Basides 26–42 × 8,5–10 µm, cylindro-clavées, tétrasporiques, bouclées.

Cheilocystides 33–94 × 12–27 µm, plutôt peu nombreuses, de forme variable, plus ou moins cylindracées ou de type « leptocystis », parfois plus lagéniformes ou contractées, parfois plus utrifformes ou clavées-obèses ; sommet subcapité ou capité, ou étranglé-ondulé, nettement cristallifère ; paroi mince de 0,5–2 µm (à l'apex), jaune dans l'ammoniaque. Nombreuses **paracystides** étroites, cylindracées à clavées (26 × 6 µm par exemple).

Pleurocystides moyennement nombreuses, similaires aux cheilocystides, souvent plus trapues. **Caulocystides** similaires aux cheilocystides, à sommet souvent capité, ou parfois en forme de poils ou à sommet non ou peu cristallifère, assez nombreuses au sommet, se raréfiant à mi-hauteur. **Hyphe du stipe** larges de 1–21 µm, à pigmentation pariétale jaune, lisse, en enduit ou finement incrustante ou à peine zébrée ; boucles présentes. **Revêtement piléique** com-

posé d'une épaisse couche d'hyphe larges de 1–12 µm, d'aspect un peu versiforme, puis devenant plus allantoides et un peu plus larges, jusqu'à 20 µm ; pigmentation pariétale en enduit ou incrustante, jaune à jaune foncé ; présence de **boucles**.

Habitat et récoltes : une quinzaine d'exemplaires en lisière de *Quercus ilex*, Alto de las Neguillas, Huétor de Santillán (Grenade) Espagne, alt. 1220 m, leg. F. Armada et María-Jesus Díaz de Haro, le 24 novembre 2018 ; herbier JA-CUSSTA 9702 (holotype) et FA 4674 (isotype). GenBank OR243416.

Une dizaine d'exemplaires le long d'un chemin sous *Quercus ilex* avec quelques *Q. faginea* proches et de nombreuses *Cistaceae*, Cortijo Barranco del Viejo, Alhama de Granada (Grenade), Espagne, alt. 1020 m, leg. F. Armada, le 30 novembre 2018 ; herbier FA 4745. GenBank OR243417.

Discussion

Au cours de l'automne 2018, l'un d'entre nous (FA) fit la découverte, à deux reprises, en Andalousie, d'un inocybe très bien isolé par l'analyse moléculaire, mais pour lequel il n'existait aucune séquence comparable dans les bases GenBank et UNITE. L'identification initiale « *grammocephala* » n'a pas pu être confirmée moléculairement, aucune séquence du type de l'espèce de Georges Malençon n'étant présente dans les bases de données.

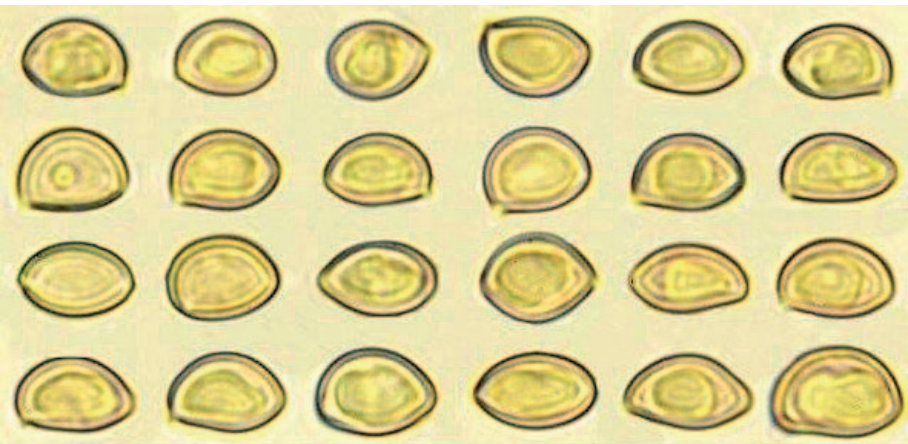
En partageant ces données avec l'un de nous (FER), quelle ne fut pas la surprise de constater que ce dernier était arrivé aux mêmes conclusions avec une récolte d'IGB, faite en 2011 et provenant de la région de Valencia.

Avec ses teintes piléiques jaune ochracé, ses spores lisses et la présence de cystides sur toute la longueur du stipe, il est vrai souvent rares (mais bien présentes), *Inocybe ochrogaleata* a été naturellement rapproché des espèces de la section *Splendentes*. Mais morphologiquement, c'est à proximité d'*I. grammocephala* Malençon *ad int.* (MALENÇON & BERTAULT, 1970, p. 366), qu'il semblait convenir le



Inocybe ochrogaleata récolte JA-CUSSTA 9702 (holotype)

Photo : F. Armada

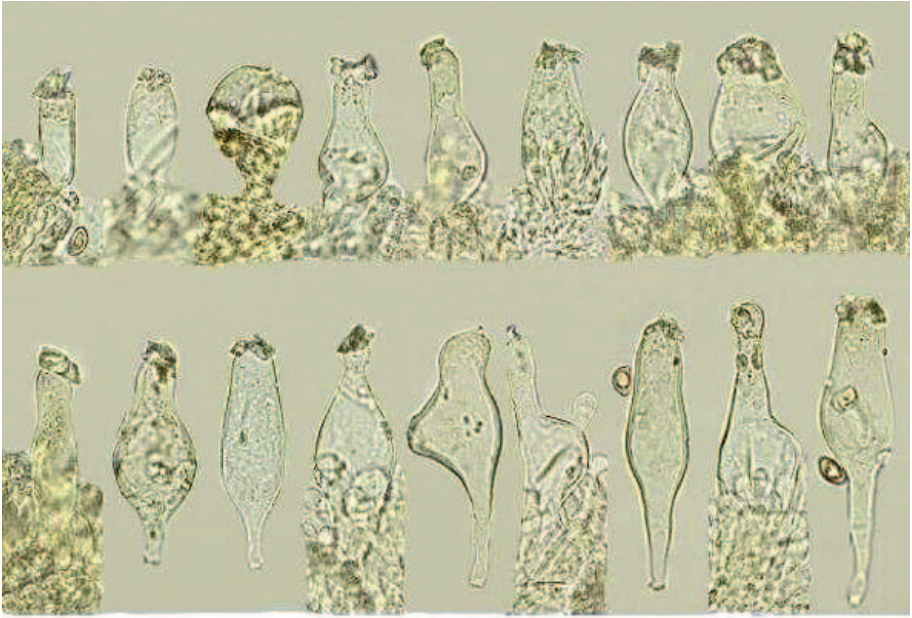


Spores (7,5) 8-9 (9,5) × 5,25-6 (6,5) μm

10 μm

Inocybe ochrogaleata sporogramme de la récolte FA 4674

Photo : F. Armada



Cheilocystides 33-94 × 12,5-27 μm

50 μm



Inocybe ochrogaleata cheilocystides de la récolte FA 4674

Photo : F. Armada



Inocybe ochrogaleata caulocystides de la récolte FA 4674

Photo : F. Armada



Cheilocystides 49-94 × 12,5-27 μm

50 μm

Inocybe ochrogaleata cheilocystides de la récolte FA 4674

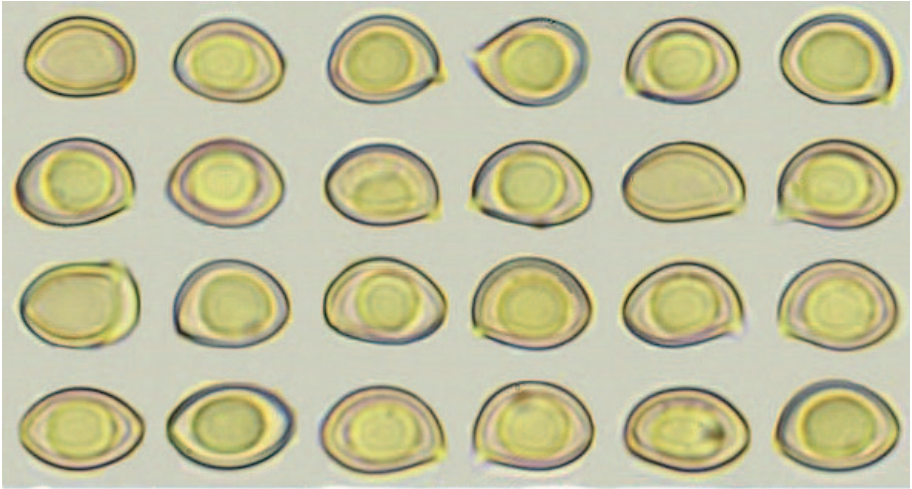
Photo : F. Armada

mieux¹. Décrite du Moyen Atlas marocain, sous chênes verts, en automne 1944, elle paraissait être le candidat idéal pour nos récoltes valenciennes et andalouses. L'occasion de valider cette espèce publiée « *ad int.* » (et de conserver ainsi cette épithète) était tentante, mais après une étude minutieuse, plusieurs points ont fini par nous convaincre de ne pas assimiler nos récoltes à ce champignon et de le proposer comme espèce nouvelle, recensée jusqu'à présent uniquement dans la péninsule Ibérique.

Suite à la première récolte valencienne, l'un d'entre nous (FER) ayant révisé le type d'*I. grammacephala*, suggérait déjà quelques points de discordance avec l'espèce de Malençon, discordances qui se confirmèrent par la suite avec les récoltes effectuées en Andalousie.

Premièrement, comme montre l'aquarelle du type de MALENÇON (1970, pl. 79, p. 367, *op. cit.* ; photo n° 14-1930), l'épithète *grammocephala* signifie « tête rayée », ce qui ne correspondait pas tout à fait avec les spécimens de la récolte de Quatretonda qui montrait des chapeaux fibrilleux plus ou moins radialement uniquement à la marge. Les exemplaires andalous renforcent cette discordance avec, cette fois-ci, des chapeaux franchement subsquamuleux ou à squames apprimées dans la zone antémarginale. L'odeur notée « à peu près inodore (spermatique ?) » pour les spécimens de la récolte marocaine diffère pour le moins avec les exemplaires des récoltes de la région de Grenade, qui offrent une forte odeur miellée à la coupe. L'odeur est très légèrement spermatique pour la récolte de Quatretonda (plus proche de celle de l'espèce de Malençon).

¹ Cette espèce, étonnamment située au sein des *Tardinae* par BON (1997, p. 108), montre pourtant et clairement d'abondantes cystides jusqu'à la base du stipe (FER ayant étudié le type).

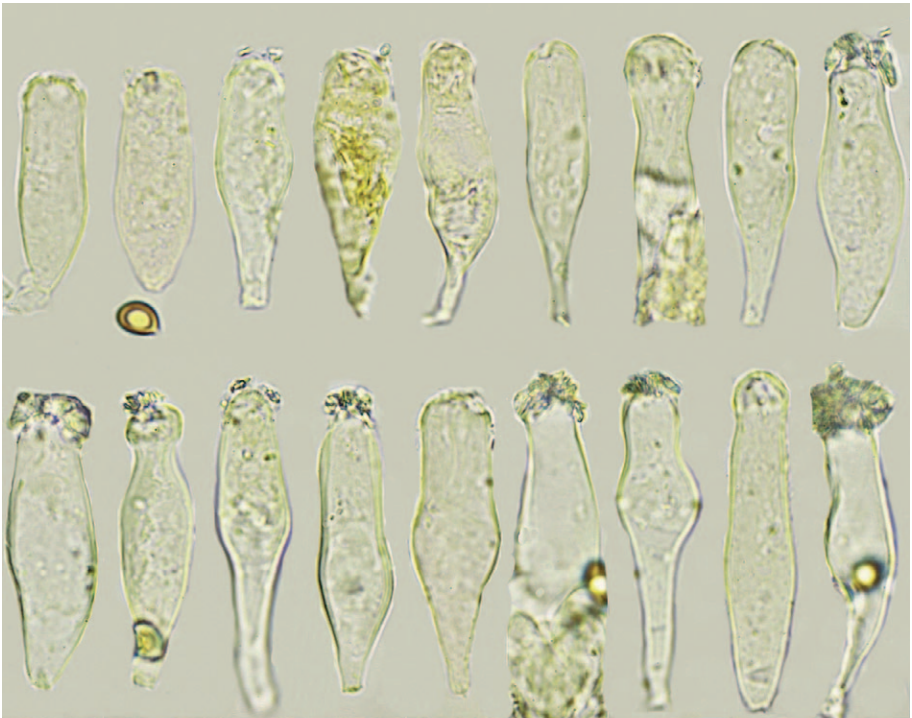


Spores 7-8,5 (9) × 5,25-6,5 μm

10 μm

Inocybe ochrogaleata sporogramme de la récolte FA 4745

Photo : F. Armada



Cheilocystides 39-65 × 12-18 μm

20 μm

Inocybe ochrogaleata cheilocystides de la récolte FA 4745

Photo : F. Armada



Inocybe ochrogaleata caulocystides de la récolte FA 4745

Photo : F. Armada

Il est à noter que la récolte montre des exemplaires un peu moins frais que ceux de la région de Grenade, ce qui pourrait expliquer la différence olfactive. La différence de fraîcheur des exemplaires peut aussi expliquer le brunissement ou noircissement observé à la base du stipe, bien visible sur les photos, qui résulte sûrement d'exemplaires plus avancés, phénomène n'ayant pas été observé sur les récoltes andalouses. Ce caractère reste néanmoins assez distinctif et ne paraît pas accidentel.

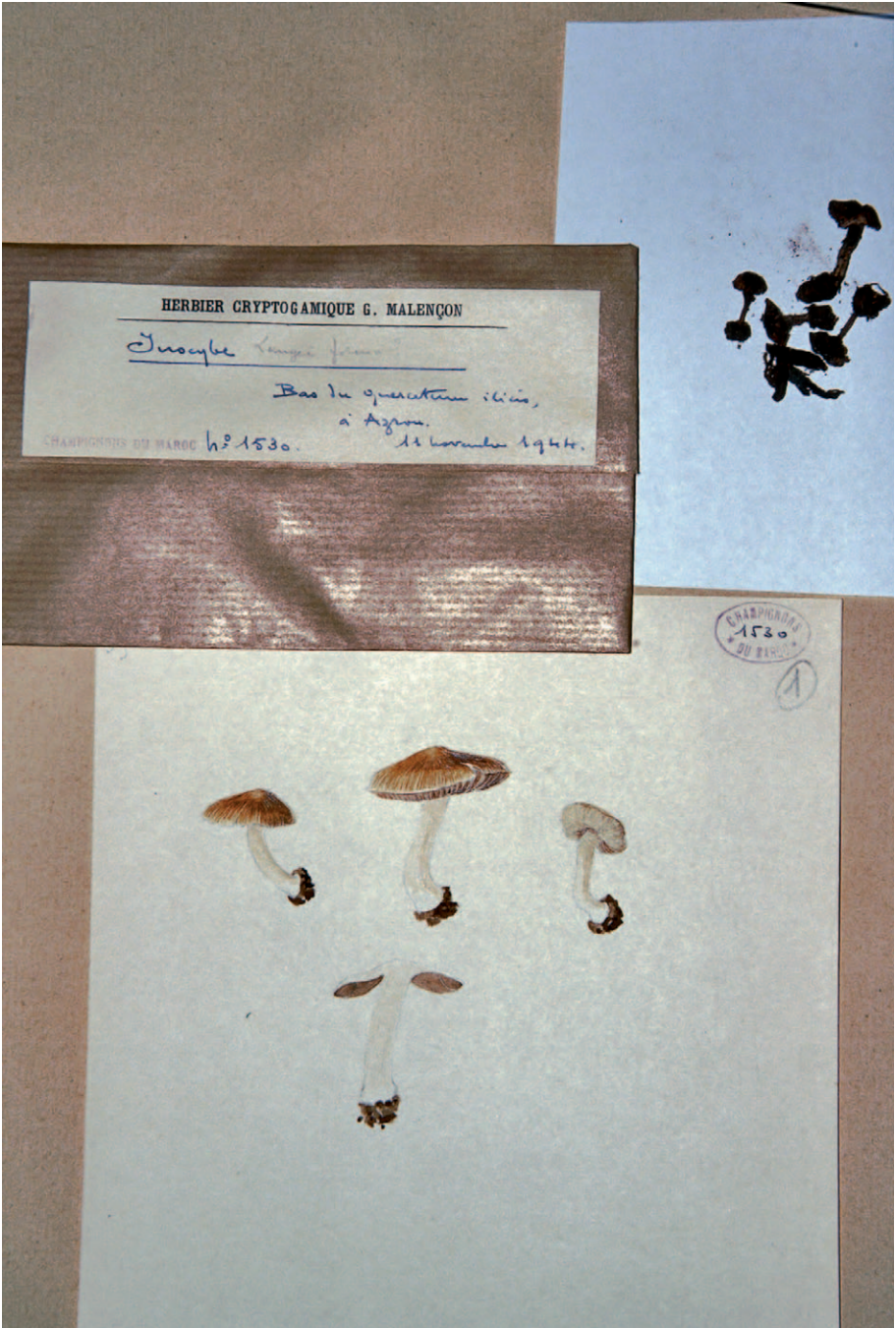
Les dimensions des champignons marocains — chapeaux de 20–30 mm, contre 43–50 mm pour les récoltes espagnoles, ainsi que des stipes plus étroits — tendent à indiquer un champignon bien moins charnu que le nôtre, même si ce caractère n'est pas le plus fiable, les conditions climatiques pouvant influencer sur cet aspect. Deuxièmement, les caractères microscopiques montrent quelques différences notables. Les spores des spécimens de nos récoltes sont en moyenne plus courtes que celles des exemplaires marocains, tout comme les cheilocystides qui présentent une paroi en moyenne plus mince, tout au plus large de 2 µm dans la partie apicale. Les hyphes du revêtement pileux atteignent 12 µm puis 20 µm dans

l'hypoderme, contre 5 µm pour la récolte d'Azrou ; elles ont tendance à se nécro-pigmenter fortement en vieillissant, tout comme les hyphes de la base du stipe.

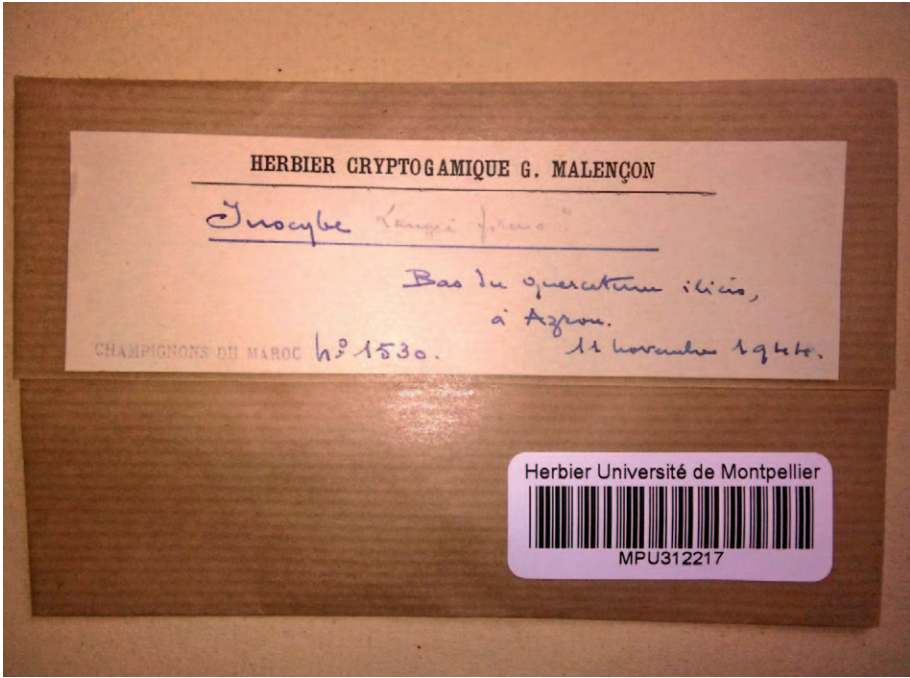
Troisièmement, G. Malençon, dans ses notes, assimile son *grammocephala* au groupe d'*I. langei* R. Heim et d'*I. pelargonium* Kühner, probablement en raison des flocons du stipe, notés seulement au sommet de ce dernier. On ne peut toutefois écarter totalement l'assimilation d'*I. ochrogaleata* à ces deux dernières espèces, les types n'ayant, apparemment, toujours pas été séquencés. Mais l'odeur nettement spermatique et les spores plus étroites d'*I. langei* (HEIM, 1931, p. 335–336 ; MAIRE *et al.*, 2009, p. 276), ainsi que les spores plus longues et l'odeur pelargoninée d'*I. pelargonium* (KÜHNER, 1955, p. 38), nous ont empêché d'identifier nos récoltes espagnoles à ces deux taxons.

Par ailleurs, les résultats des analyses moléculaires éloignent encore ce rapprochement, diverses séquences de collections déterminées *I. langei* et *I. pelargonium* étant différentes des séquences de nos champignons (BANDINI *et al.*, 2022a).

En conclusion, le nom *I. grammocephala* publié « *ad int.* » est, de ce fait, invalide et les craintes sont grandes quant à l'éventuelle possibilité d'obtenir une séquence



Inocybe grammocephala ad int.
Aquarelle de la récolte type n° 14-1530 (herbier Malençon, MPU)

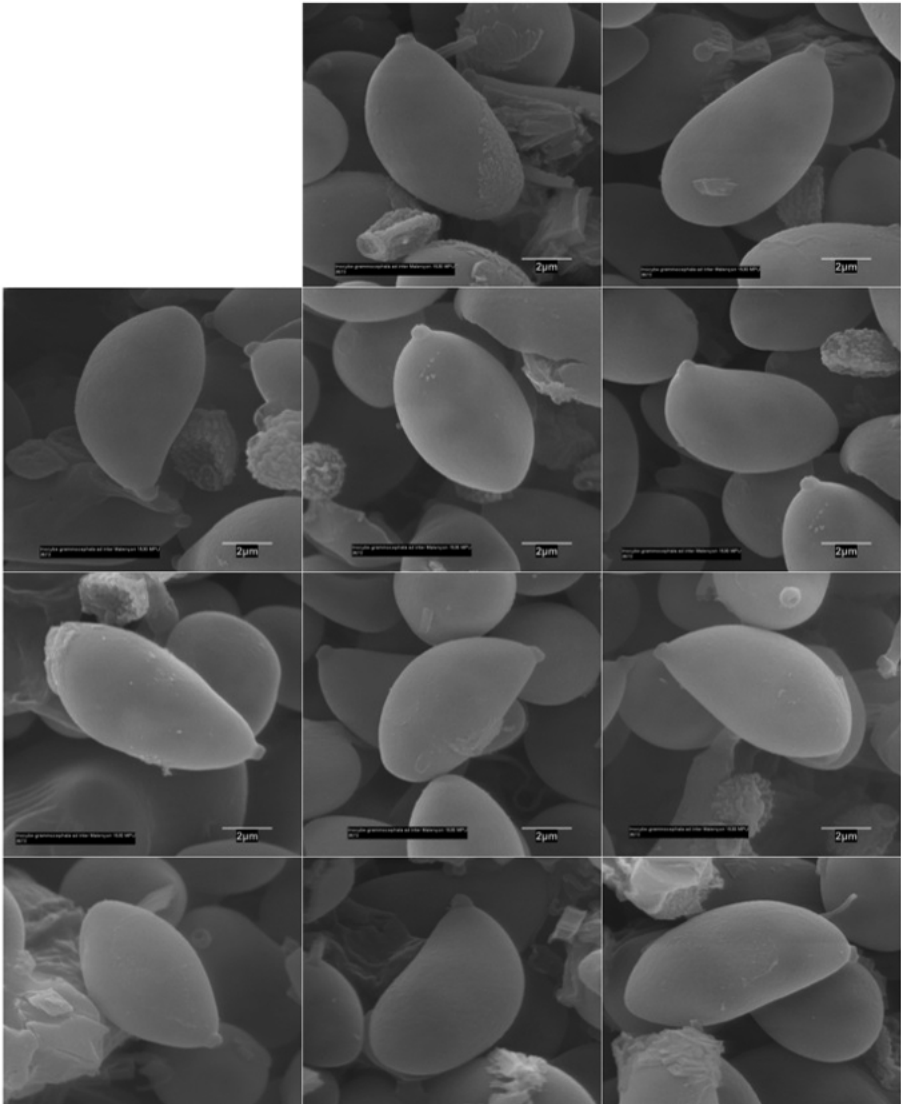


Inocybe grammocephala ad int.
Exsiccata de la récolte type n° 14-1530 (herbier Malençon, MPU)

ADN des exemplaires déposés à l'herbier de Montpellier, étant donné l'état déplorable des *exsiccata* qui, en outre, ont été conservés dans des vapeurs de chlorure de mercure (HgCl₂), qui a pour effet de détruire l'ADN (du moins pour l'herbier Malençon).

Du point de vue phylogénétique, *Inocybe ochrogaleata* fait partie d'un clade réunissant diverses espèces européennes d'aspect similaire, comme *I. angulatosquamulosa*

Stangl, *I. leochroma* Bandini, Vauras & B. Oertel et *I. lucis* Bandini & U. Eberh. (fig. 1). Toutes ces espèces ont en commun des basidiomes d'aspect robuste et de taille moyenne à assez grande, la présence d'un bulbe évident à la base du stipe (parfois submarginé), un stipe initialement pâle, blanchâtre à crème jaunâtre évoluant en brun jaunâtre, avec une pruine évidente au moins dans sa moitié supérieure. En outre, toutes possèdent un revêtement pi-



Inocybe grammacephala ad int.

Spores vues au MEB de la récolte type n° 14-1530 (herbier Malençon, MPU)

léique ochracé, jaunâtre ou orangé, qui montre souvent une tendance à se dissocier en squames apprimées, dans certains cas d'une manière très évidente (par exemple chez *I. angulatosquamulosa*).

Inocybe ochrogaleata est une espèce des terrains calcaires, propre aux forêts thermo-méditerranéennes à *Quercus* (*Q. ilex*, *Q. faginea*), mais aussi probablement associée à diverses *Cistaceae*. Le revêtement piléique tend à se rompre par le centre en fines squames (aspect « tes-selé »), le stipe blanchâtre devient jaunâ-

tre, jaune paille ou brun ochracé avec l'âge (se tachant de brun obscur sur certains exemplaires). Microscopiquement, il est caractérisé par des cystides très particulières, assez variables d'aspect, souvent largement pédicellées à la base et subcapitées au sommet, avec une paroi uniformément mince (< 1 µm) même dans la zone supérieure. En herbier, les exemplaires prennent un aspect brunâtre cuivré, avec la présence nette d'un nécropigment jaune dans les hyphes du revêtement piléique et de la chair du stipe.

Tableau de comparaison des espèces proches d'*I. ochrogaleata*

	Odeur	Spores (µm)	Cystides (µm)
<i>I. ochrogaleata</i>	Miellée, forte à la coupe à imperceptible à légèrement spermatique	(6,5) 7-9 (9,5) × (4,5) 5-6,5	33-94 × 11-27
<i>I. grammocephala</i>	À peu près inodore (spermatique ?)	7,5-8,6 × 4,5-5,7	60-80 × 12-15
<i>I. langei</i>	Nettement spermatique	7-8 × 4-5	40-50 × 13-17
<i>I. pelargonium</i>	Pélargoniée	6,5-7-9-11 × (3,7) 4-5,5 (6,2)	43-66 × 9-18
<i>I. curcumina</i>	Subspermatique à la coupe à fruitée	7,4-10,4 × 4,1-5,8	40-70 × 12-21
<i>I. leochroma</i>	Subnulle à subspermatique	6,6-9,5 × 4,1-5,9	35-74 × 10-22
<i>I. splendens</i>	Légère de terre	9,5-11,2 × 5,5-6,2	55-75 × 17-20
<i>I. angulatosquamulosa</i>	Faiblement spermatique	7,5-10 × (4,5) 5-5,5 (6)	45-70 × 15-20 (23)
<i>I. hirtelloides</i>	Terreuse à pélargoniée	(7) 8,5-10,2 (12) × (4) 5,1-5,5 (7)	40-70 × 13-20
<i>I. heterosemen</i>	Non spermatique	(5,5) 6-7,5 (8) × (3,8) 4-5	35-50 (55) × 12,5-18
<i>I. rupestris</i>	Spermatique	9,5-11 × 5,5-6 (8)	(49) 55-62 × (66) × 14-18
<i>I. rupestris</i> - révision du type par KUYPER (1986, p. 128-129)		8,5-10 (11) × 5-6	-
<i>I. lucis</i>	Faible, non spermatique	7,2-9,4 × 3,9-5,1	38-69 × 10-13
<i>I. amblyospora</i>	Spermatique	7-10 × 4,2-5	50-65 × 12-19 (23)
<i>I. flavoalbida</i>	Absente	6,5-8,5 × 4-5	45-75 × 13-17

BANDINI *et al.* (2019) ont séquencé et donné une description détaillée de l'holotype d'*Inocybe angulosquamulosa* Stangl, décrit d'Allemagne (STANGL, 1984). C'est une espèce peu fréquente d'Europe centrale (climat continental), souvent nitrophile, venant dans les milieux humides doux que l'on rencontre régulièrement dans les zones urbaines en association avec différents feuillus. Elle diffère d'*I. ochrogaleata* par son habitat, sa répartition géographique, la pruine abondante jusqu'à la base du stipe et la teinte du revêtement pileïque plus brunâtre ochracé à noisette contrastant avec des squames plus sombres au centre du chapeau.

BANDINI *et al.* (2019) ont décrit également *Inocybe leochroma*, phylogénétiquement proche et d'aspect similaire à *I. angulosquamulosa*. Il diffère de ce dernier par ses teintes pileïques plus jaune paille (fauve), à squames moins contrastées, un stipe à pruine caractéristique plus floconneuse et épaisse (définie par Bandini comme « rugueuse »), des spores plus grandes et un habitat dans les bois de conifères (*Picea abies*, *Pinus sylvestris*), en climat continental (Autriche, Estonie et Finlande).

Inocybe lucis Bandini & U. Eberh. (BANDINI *et al.*, 2022b), aussi très proche, est connu seulement d'Allemagne avec deux récoltes. Il diffère génétiquement au niveau de l'ITS, et morphologiquement par son revêtement fibrillo-squamuleux orangé vif et brillant, un stipe à pruine éparse dans la moitié inférieure, des spores typiquement étroites ($8,4 \times 4,5 \mu\text{m}$, $Q_m = 1,86$) et a un habitat similaire à celui d'*I. leochroma*, c'est-à-dire constitué de conifères (*Picea abies*), en milieu très humide.

Dans notre étude phylogénétique, les taxons commentés font partie d'un clade incluant également *I. amblyospora* Kühner, *I. pseudoreducta* Stangl & Glowinski et l'espèce australienne *I. flavoalbida* Matheny & Bougher (MATHENY & BOUGHER, 2017). *I. amblyospora*, tout comme *I. pseudoreducta*, montrent une absence de tons jaunâtres et possèdent un bulbe basal nettement marginé.

Il existe d'autres taxons aux teintes similaires et génétiquement proches d'*I. ochrogaleata*. *I. valida* s. Malençon, diffère par de plus grandes spores malgré une morphologie similaire ; nous laisserons les lecteurs se remémorer les problèmes déjà

soulevés par ce champignon (MAIRE *et al.*, 2009, p. 285-287).

Inocybe curcumina Bandini, B. Oertel & U. Eberh., décrit d'Allemagne sous hêtres et épicéas, diffère par son écologie, ses plus grandes spores, plus amygdaliformes, et son odeur subspermatique à fruitée (BANDINI *et al.*, 2018, p. 265).

Inocybe hirtelloides Stangl & J. Veselský décrit d'Allemagne, sous chênes, hêtres et tilleuls, diffère par des spores légèrement plus grandes et plus étirées, ainsi que par une odeur terreuse pélargoninée (STANGL & VESELSKÝ, 1974, p. 211-214).

Inocybe heterosemen Carteret & Reumaux a au contraire des spores et des cheilocystides plus petites, à l'instar d'*I. langei*. En outre, la taille des carpophores de ce champignon ne dépasse pas 16 mm de diamètre (REUMAUX & CARTERET, 2012, p. 48). Quant à *I. rupestris* J. Favre, qui a des dimensions sporales chevauchant celles d'*I. ochrogaleata*, il offre des teintes pileïques allant du brun châtain au roux orangé (récolte FA 4304 du col de l'Iseran, ARMADA *et al.*, à paraître) et des spores plus longues (FAVRE, 1955, p. 107-108).

Plus éloigné génétiquement, *I. phaeoleuca* Kühner possède de bien plus grandes spores et un chapeau également beaucoup plus sombre, brun-fauve ou châtain (KÜHNER, 1955, p. 45).

Inocybe splendens R. Heim diffère tout autant par ses dimensions sporales, mais aussi par les spores légèrement citriformes ou à sommet mamelonné. De plus, l'odeur est indiquée comme légère de terre (HEIM, 1931, p. 328). Ces deux dernières espèces n'ont pas de revêtement pileïque se rompant sous forme de squames.

Remerciements.....

Nous tenons à remercier tout particulièrement Alain Favre pour la rédaction de la description latine, toute l'équipe du projet MycoSeq (Société mycologique de France/CEFE) pour les analyses moléculaires réalisées ici pour les récoltes FA 4674 et FA 4745. Nos remerciements vont aussi à l'ensemble du comité de lecture de ce bulletin pour les corrections apportées à cet article, ainsi qu'à Francisco Javier Donaire Sánchez, responsable de l'herbier JACUSSTA (Grenade) et à A. Alberto Altés

(Unité de botanique de l'université de Alcalá de Henares) pour son aide dans l'étude des collections d'*Inocybe* de l'herbier de G. Malençon (MPU) et pour les photographies générées.

Bibliographie

- ARMADA, F. 2021. — *Cortinarius iliceti* et *C. quercuum* spp. nov., deux nouveaux cortinaires de la section *Bovini* (sous-genre *Telamonia*). *Bulletin mycologique et botanique Dauphiné-Savoie*, 241, p. 5-15.
- BANDINI, D., OERTEL, B., PLOCH, S., ALI, T., VAURAS, J., SCHNEIDER, A., SCHOLLER, M., EBERHARDT, U. & THINES, M. 2018. — Revision of some central European species of *Inocybe* (Fr.: Fr.) Fr. subgenus *Inocybe*, with the description of five new species. *Mycological Progress*, 18 (1-2), p. 247-294. doi : 10.1007/s11557-018-1439-9
- BANDINI, D., OERTEL, B., PLOCH, S., ALI, T., VAURAS, J., SCHNEIDER, A., SCHOLLER, M., EBERHARDT, U. & THINES, M. 2019. — Revision of some central European species of *Inocybe* (Fr.: Fr.) Fr. subgenus *Inocybe*, with the description of five new species. *Mycological Progress*, 18, p. 247-294. doi : 10.1007/s11557-018-1439-9
- BANDINI, D., OERTEL, B. & EBERHARDT, U. 2022a. — More smooth-spored species of *Inocybe* (*Agaricales*, *Basidiomycota*) : type studies and 12 new species from Europe. *Persoonia*, 48, p. 91-149. doi : 10.3767/persoonia.2022.48.03
- BANDINI, D., OERTEL, B. & EBERHARDT, U. 2022b. — Noch mehr Risspilze (3) : Einundzwanzig neue Arten der Familie *Inocybaceae*. *Mycologia Bavarica*, 22, p. 31-138.
- BON, M. 1997. — Clé monographique du genre *Inocybe* (Fr.) Fr., 2^{ème} partie. *Documents mycologiques*, XXVII (108), p. 1-77.
- CAILLEUX, A. 1981. — *Code des couleurs des sols*. Paris, Boubée, 16 p.
- CARTERET, X. & REUMAUX, P. 2012 [2011]. — Miettes sur les *Inocybes* (6^e série). Étude de quelques nains des feuillus de la plaine, accompagnée d'une clé de détermination des taxons de la section *Lilacinae* R. Heim *Bulletin de la Société mycologique de France*, 127 (1-2), p. 1-53.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J. L. 1987. — A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, p. 11-15.
- FAVRE, J. 1955. — Les champignons supérieurs de la zone alpine du Parc National Suisse. *Ergebnisse der Wissenschaftlichen Untersu-*
- chungen des Schweizerischen Nationalparks*, 5, 212 p.
- GARDES, M. & BRUNS, T. D. 1993. — ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2, p. 113-118. doi : 10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x
- HEIM, R. 1931. — *Le genre Inocybe*. Encyclopédie Mycologique I. Paris, Éditions Paul Lechevalier & Fils, 429 p.
- HENRIOT, A. & CHEYPE, J.-L. 2023. — <http://piximetre.fr>
- KALYAANAMOORTHY, S., MINH, B. Q., WONG, T. F. K., VON HAESELER, A., JERMIIN, L. S. 2017. — ModelFinder : Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14, p. 587-589. doi : 10.1038/nmeth.4285
- KATOH, K. & STANDLEY, D. M. 2013. — MAFFT: Iterative refinement and additional methods. *Methods in Molecular Biology*, 1079, p. 131-146. doi : 10.1007/978-1-62703-646-7_8
- KÜHNER, R. 1955. — Compléments à la « Flore analytique » V) *Inocybes* léiosporés cystidiés. Espèces nouvelles ou critiques. *Bulletin de la Société des naturalistes d'Oyonnax*, 9 (suppl.), p. 3-95.
- KUYPER, T. W. 1986. — A revision of the genus *Inocybe* in Europe. I. Subgenus *Inosperma* and the smooth-spored species of subgenus *Inocybe*. I. *Persoonia*, suppl. 3, p. 1-247.
- MAIRE, J.-C., MOREAU, P.-A., ROBICH, G. (eds.) 2009. — *Compléments à la Flore des champignons supérieurs du Maroc de G. Malençon et R. Bertault*. Nice, Confédération Européenne de Mycologie Méditerranéenne, 775 p.
- MALENÇON, G. & BERTAULT, R. 1970. — *Flore des champignons supérieurs du Maroc*. Tome I. Rabat, Faculté des Sciences, 601 p.
- MATHENY, P. B. & BOUGHER, N. L. 2017. — *Fungi of Australia. Inocybaceae*. Melbourne, Australian Biological Resources Study/CSIRO Publishing, 582 p.
- MILLER, M. A., PFEIFFER, W., SCHWARTZ, T. 2010. — Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, p. 1-8. New Orleans. doi : 10.1109/GCE.2010.5676129
- NGUYEN, L. T., SCHMIDT, H. A., VON HAESELER, A. & MINH, B. Q. 2015. — IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32 (1), p. 268-274. doi : 10.1093/molbev/msu300

-
- NILSSON, R. H., LARSSON, K. H., TAYLOR, A.F.S., BENGTSSON-PALME, J., JEPPESEN, T. S., SCHIGEL, D., KENNEDY, P., PICARD, K., GLÖCKNER, F. O., TEDERSSO, L., SAAR, I., KÖLJALG, U. & ABARENKOV, K. 2018. — The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, 47, p. D259–D264. doi : 10.1093/nar/gky1022
- RATNASINGHAM, S. & HEBERT, P. D. 2007. — BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology*, notes 7, p. 355–364. doi : 10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x
- RONQUIST, F., TESLENKO, M., VAN DER MARK, P., AYRES, D. L., DARLING, A., HÖHNA, S., LARGET, B., LIU, L., SUCHARD, M. A. & HUELSENBECK, J. P. 2012. — Mr Bayes 3.2 : Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61, p. 539–542. doi : 10.1093/sysbio/sys029
- SCHNEIDER-MAUNOURY, L., LECLERCQ, S., CLÉMENT, C., COVÈS, H., LAMBOURDIERE, J., SAUVE, M., RICHARD, F., SELOSSE, M.-A. & TASCHEN, E. 2018. — Is *Tuber melanosporum* colonizing the roots of herbaceous, non-ectomycorrhizal plants? *Fungal Ecology*, 31, p. 59–68. doi : 10.1016/j.funeco.2017.10.004
- STANGL, J. & VESELSKÝ, J. 1974. — Fünfter Beitrag zur Kenntnis der selteneren *Inocybe*-Arten (Farbtafel n° 86). *Česká Mykologie*, 28 (4), p. 195–218.
- STANGL, J. 1984. — *Inocybe angulato-squamulosa* nov. spec., *Inocybe langei* Heim und *Inocybe insignissima* Romagnesi – drei seltene Rißpilzarten. *Beiträge zur Kenntnis der Pilze Mitteleuropas*, 1, p. 95–102.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. & TAYLOR, J. 1990. — Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A., GELFAND, D. H., SNINSKY, J. J. & WHITE, T. J. (eds). *PCR protocols: a guide to methods and applications*, p. 315–322. Academic Press, San Diego.

