IRIS AperTO

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO

AperTO - Archivio Istituzionale Open Access dell'Università di Torino

Pholiotina atrocyanea e P. aeruginosa (Agaricales, Bolbitiaceae), due facce della stessa medaglia

This is the author's manuscript

Original Citation:

Availability:

This version is available http://hdl.handle.net/2318/151923 since 2016-08-10T11:20:41Z

Terms of use:

Open Access

Anyone can freely access the full text of works made available as "Open Access". Works made available under a Creative Commons license can be used according to the terms and conditions of said license. Use of all other works requires consent of the right holder (author or publisher) if not exempted from copyright protection by the applicable law.

(Article begins on next page)

12 October 2024

This is the author's final version of the contribution published as:

Alfredo Vizzini; Luigi Perrone; Pierluigi Angeli; Matteo Gelardi; Enrico Ercole. Pholiotina atrocyanea e P. aeruginosa (Agaricales, Bolbitiaceae), due facce della stessa medaglia. BOLLETTINO DELLA ASSOCIAZIONE MICOLOGICA ED ECOLOGICA ROMANA. 89 (2) pp: 3-18.

When citing, please refer to the published version.

Link to this full text:
http://hdl.handle.net/2318/151923

This full text was downloaded from iris - AperTO: https://iris.unito.it/

iris - AperTO

University of Turin's Institutional Research Information System and Open Access Institutional Repository

Boll. AMER 89, Anno XXIX, 2013 (2): 3-18
ALFREDO VIZZINI, LUIGI PERRONE, PIERLUIGI ANGELI, MATTEO GELARDI, ENRICO ERCOLE

PHOLIOTINA ATROCYANEA E *P. AERUGINOSA* (*AGARICALES, BOLBITIACEAE*), DUE FACCE DELLA STESSA MEDAGLIA

Riassunto
In seguito ad analisi morfologiche e molecolari condotte su recenti raccolte italiane, Pholiotina atrocyanea *viene considerata una forma bisporica di* P. aeruginosa *senza alcuna rilevanza tassonomica.*

Abstract
Based on morphological and molecular analyses performed upon recent Italian collections, Pholiotina atrocyanea *is considered a bisporic variant of* P. aeruginosa *without taxonomic relevance.*

Key words *Basidiomycota*, *Agaricomycetes*, *Conocybe*, *Pholiotina* sezione *Cyanopodae*.

Introduzione

Le specie del genere *Pholiotina* Fayod che presentano colorazioni verdi-bluastre a livello dei basidiomi sono entità estremamente rare che pochi micologi hanno avuto la fortuna di poter studiare su materiale fresco; alcune, ad es. *P. aeruginosa*, sono state inserite nelle red list di paesi europei (vedi Svizzera, Senn-Irlet *et al.* 2007). Sono tutte specie sospettate di contenere composti psilocibinici, anche se, ad oggi, tali metaboliti sono stati isolati solamente da *P. cyanopus* e *P. smithii* (Benedict *et al.*, 1962, 1967; Beug & Bigwood, 1982; Christiansen *et al.*, 1984; Gartz, 1985, 1992, 1993, 1996; Ohenoja *et al.*, 1987; Repke *et al.*, 1977; Guzmán *et al.*, 2000). Una *Conocybe* sp., consumata da alcune popolazioni della Costa d'Avorio a scopo allucinatorio (Soubrillard, 1992; Samorini, 1995), potrebbe appartenere a questo gruppo.
Secondo l' ordinamento sistematico di Hausknecht & Krisai-Greilhuber (2007), ripreso successivamente da Hausknecht (2009) nel lavoro monografico sulle specie europee di *Conocybe* Fayod e *Pholiotina*, i taxa in questione fanno parte della sezione *Cyanopodae* Singer [= sottosezione *Cyanopodinae* (Singer) Arnolds], specie tipo *P. cyanopus* (G.F. Atk.) Singer, che comprende le specie con pileo o stipite blu-verdi, velo parziale fugace o assente, cheilocistidi da lageniformi a fusiformi e pileipellis con o senza pileocistidi. Questa sezione è articolata in due serie: 1) serie *Cyanopus* (= stirpe *Cyanopus* Watling) con specie dotate di colorazioni bluastre solo alla base dello stipite, velo assente o presente (ma fugace), con o senza pileocistidi e che include *P. cyanopus*, presente in Asia, Europa e Nord America (Atkinson, 1918; Kühner, 1935; Benedict *et al.*, 1967; Watling, 1982; Azbukina *et al.*, 1984; Bon, 1992; Guzmán *et al.*, 2000; Kasparek, 2000; Arnolds, 2005; Prydiuk, 2006; Hausknecht & Krisai-Greilhuber, 2007; Ludwig, 2007; Hausknecht, 2009; Hausknecht *et al.*, 2004, 2009; Hausknecht & Vesterholt, 2012) e le nordamericane *P. smithii* (Watling) Enderle e *P. sulcatipes* (Peck) Bon (Benedict *et al.*, 1967; Bon, 1992; Guzmán *et al.*, 2000; Horak & Hausknecht, 2002; Arnolds, 2005; Hausknecht & Krisai- Greilhuber, 2007; Hausknecht, 2009; Hausknecht *et al.*, 2004); 2) serie *Aeruginosa* Hauskn. & Krisai, per le specie con colorazioni blu-verdi nel pileo, assenti nello stipite, velo assente, pileocistidi presenti, che comprende *P. aeruginosa* (Romagn.) M.M. Moser (Europa), *P. aeruginosa* var. *caeruleopallida* Hauskn. (Europa) e *P. atrocyanea* Esteve-Rav., Hauskn. & Rejos (Europa) (Hausknecht, 2009; per ulteriori riferimenti bibliografici vedi "Discussione"). Mentre nei lavori di filogenesi molecolare basati sul campionamento di poche specie il genere *Pholiotina* appare come monofiletico (Moncalvo *et al.*, 2002; Gulden *et al.*, 2005; Walther *et al.*, 2005; Matheny *et al.*, 2006), nella recente analisi di Tóth *et al.* (2013), focalizzata sulle

Foto 1. *Pholiotina aeruginosa*. Esemplari della raccolta romana dell'11.11.2011 (LP190/11a). Foto di Matteo Gelardi

Foto 2. *Pholiotina aeruginosa*. Esemplari della raccolta romana del 20.11.2011 (LP190/11b). Foto di Luigi Perrone

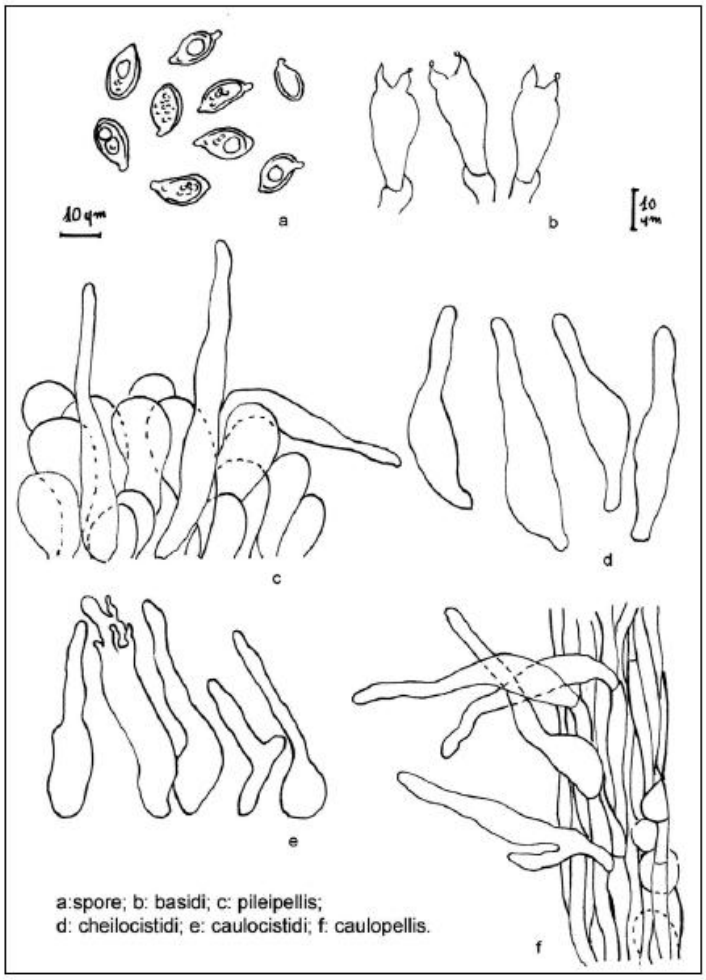
Bolbitiaceae Singer (123 sequenze utilizzate corrispondenti a 116 specie), *Pholiotina* sembra essere un gruppo filogeneticamente eterogeneo e diviso, secondo l'analisi Bayesiana, in tre cladi; inoltre *P. cyanopus* e *P. aeruginosa* non sono strettamente correlate. Scopo del presente lavoro è quello di fornire una descrizione completa di due raccolte italiane, una, plurima, (LP190/11 a, b, c, d - v. foto 1 e 2), effettuata, a più riprese in giorni diversi, nello stesso habitat di un giardino privato di Roma, località Tor Carbone (Lazio-Italia) e l'altra (970111127AP - foto 4), effettuata in località Torre Astura, in Provincia di Roma (Lazio-Italia), riconducibili a *P. atrocyanea* (specie finora conosciuta solo per un'unica raccolta monobasidiomica dalla Spagna) e su base morfologica e molecolare (analisi sequenze ITS) di discutere criticamente la sua posizione nei confronti di *P. aeruginosa*.

Foto 3. *Pholiotina aeruginosa*. Esemplari della raccolta romana del 31.12.2011 (970111231AP). Foto di Maria Tullii

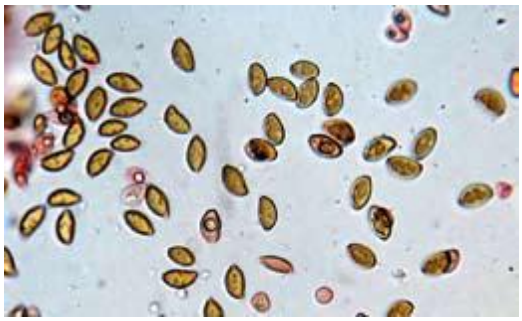
Bolbitiaceae Singer (123 sequenze utilizzate corrispondenti a 116 specie), *Pholiotina* sembra essere un gruppo filogeneticamente eterogeneo e diviso, secondo l'analisi Bayesiana, in tre cladi; inoltre *P. cyanopus* e *P. aeruginosa* non sono strettamente correlate. Scopo del presente lavoro è quello di fornire una descrizione completa di due raccolte italiane, una, plurima, (LP190/11 a, b, c, d - v. foto 1 e 2), effettuata, a più riprese in giorni diversi, nello stesso habitat di un giardino privato di Roma, località Tor Carbone (Lazio-Italia) e l'altra (970111127AP - foto 4), effettuata in località Torre Astura, in Provincia di Roma (Lazio-Italia), riconducibili a *P. atrocyanea* (specie finora conosciuta solo per un'unica raccolta monobasidiomica dalla Spagna) e su base morfologica e molecolare (analisi sequenze ITS) di discutere criticamente la sua posizione nei confronti di *P. aeruginosa*.

Materiali e metodi

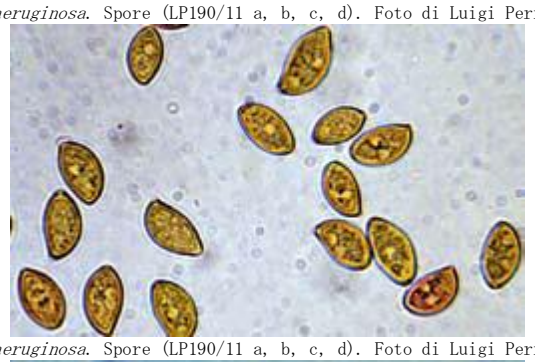
La descrizione macroscopica, le caratteristiche ecologiche e le piante associate alla collezione sono basate, in ambedue le raccolte, sia quella romana che quella di Torre Astura, sulle note di campo stilate su materiale fresco, mentre per la descrizione dei colori viene utilizzata una terminologia generica (senza fare ricorso ad un codice colori). Le caratteristiche micromorfologiche sono state osservate su materiale fresco ed essiccato e le relative sezioni sono state ottenute manualmente. Il materiale essiccato della raccolta romana (LP190/11 a, b, c, d) è stato reidratato con Idrossido di potassio (KOH) al 5% e Ammoniaca (NH_3), mentre l'osservazione delle strutture e la misura degli elementi anatomici sono state effettuate montando il preparato in Rosso Congo ammoniacale e anche in Floxina all'1%. Per l'osservazione dei pigmenti nelle exsiccata è stata utilizzata Acqua distillata, mentre per l'evidenziazione delle ife oleifere si è fatto ricorso al Blu di Toluidina. Le misure sono state eseguite a 1000 ingrandimenti con un obiettivo dotato di micrometro tarato. I caratteri microscopici sono stati osservati con un microscopio ottico Zeiss



a:spore; b: basidi; c: pileipellis;
d: cheilocistidi; e: caulocistidi; f: caulopellis.

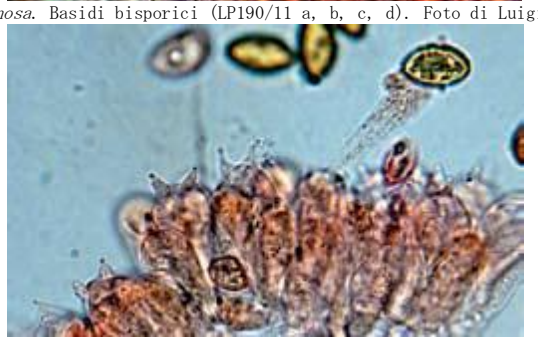


P. aeruginosa. Spore (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone

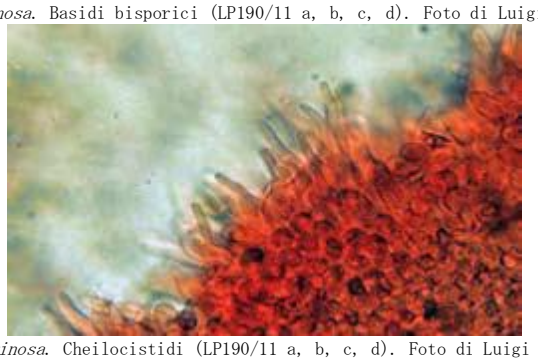


P. aeruginosa. Spore (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone

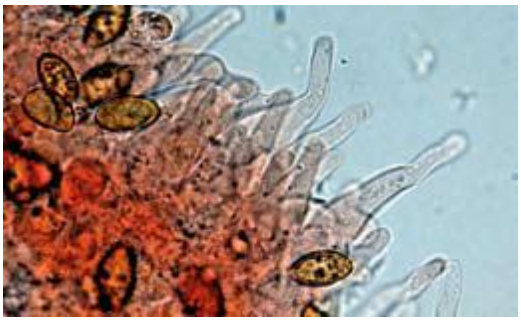
P. aeruginosa. Basidi bisporici (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



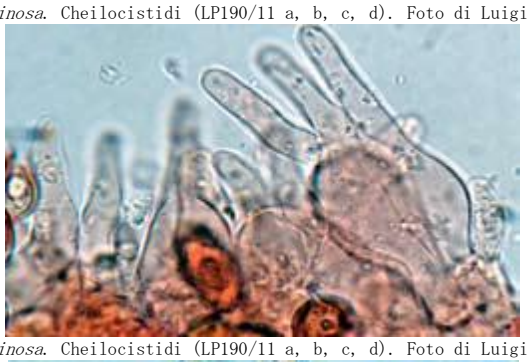
P. aeruginosa. Basidi bisporici (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



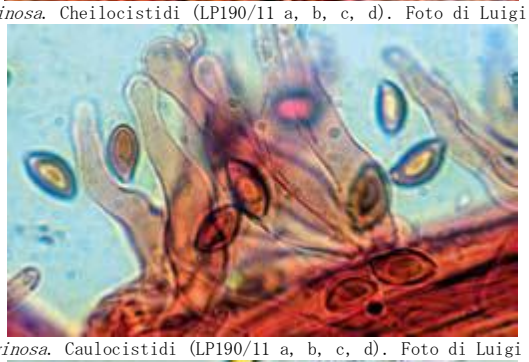
P. aeruginosa. Cheilocistidi (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



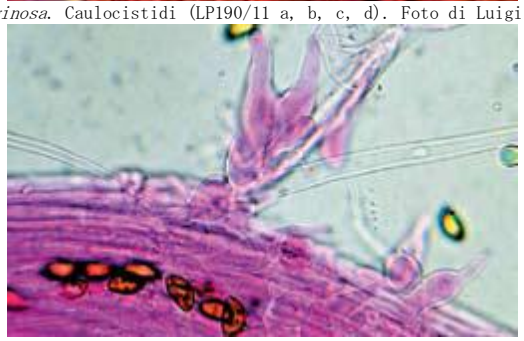
P. aeruginosa. Cheilocistidi (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



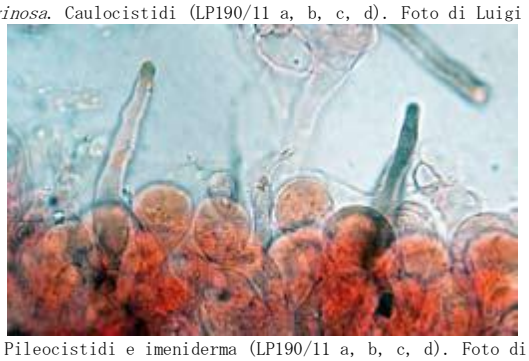
P. aeruginosa. Cheilocistidi (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



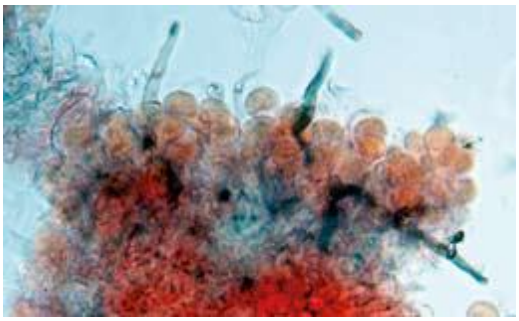
P. aeruginosa. Caulocistidi (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



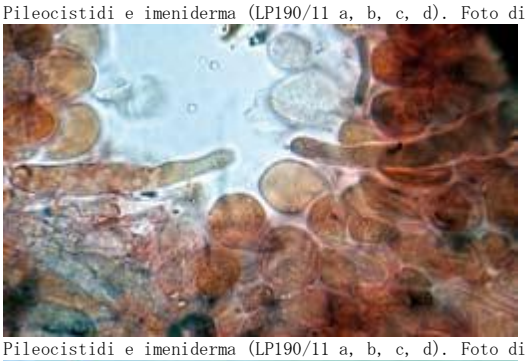
P. aeruginosa. Caulocistidi (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



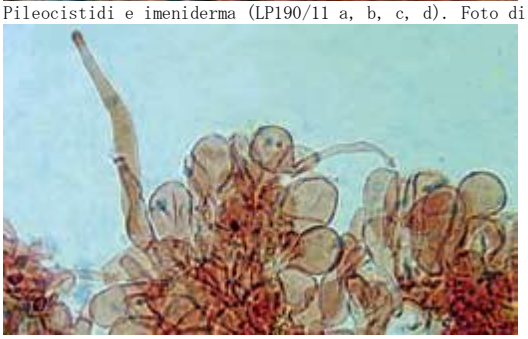
P. aeruginosa. Pileocistidi e imeniderma (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



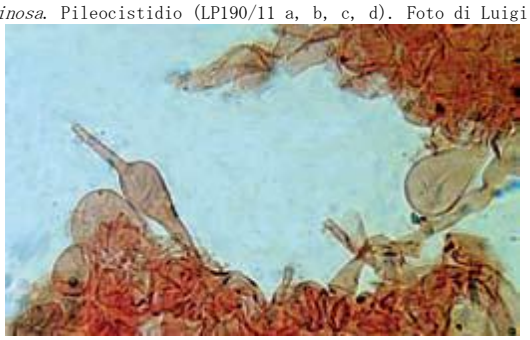
P. aeruginosa. Pileocistidi e imeniderma (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



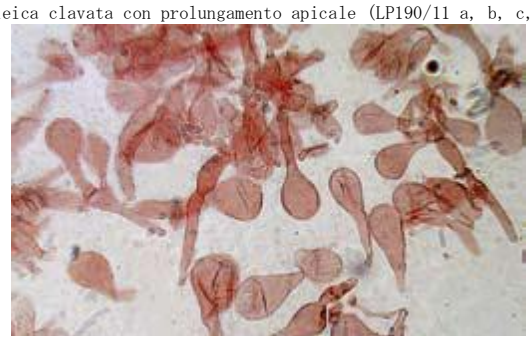
P. aeruginosa. Pileocistidi e imeniderma (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



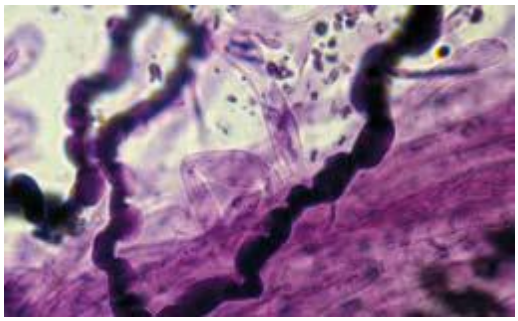
P. aeruginosa. Pileocistidio (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



P. aeruginosa. Cellula pileica clavata con prolungamento apicale (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



P. aeruginosa. Cellule clavato-piriformi (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone



P. aeruginosa. Ifa oleifera pileica (LP190/11 a, b, c, d). Foto di Luigi Perrone

Universal R con obiettivi Leitz Wetzlar e PL Fluotar. Il materiale essiccato della raccolta di Torre Astura (970111127AP) è stato reidratato con Ammonica (NH_3) al 6% e KOH al 2%, mentre per l'osservazione e le misurazioni si è fatto ricorso ad Acqua, L4, Rosso Congo anionico e Floxina 1%. Il Nero clorazolo L4C è stato usato per evidenziare i setti e le pareti ifali e il Blu Toluidina per evidenziare le ife oleifere. Per preparare i vetrini si è fatto ricorso ad uno stereo microscopio Optech, mentre i caratteri microscopici sono stati lavorati e studiati utilizzando un microscopio Optech con obiettivi 10×, 25×, 40×, 60× e 100× a immersione. Le dimensioni sporali, in ambedue i casi, sono state rilevate da spore (n = 32) dell'imenoforo di esemplari maturi freschi ed essiccati e da sporata. Viene indicato, inoltre, sia per la misura minima che per la misura massima, il valore di deviazione standard medio, il Q = quoziente minimo/massimo (rapporto lunghezza/larghezza) e il Qm = quoziente medio. Tutti i disegni delle strutture microscopiche (Fig. 2), realizzati a mano, sono stati desunti da materiale reidratato della raccolta di Torre Astura. Le citazioni degli Autori seguono "Index Fungorum-Authors of Fungal Names (http://www.indexfungorum.org/ authorsoffungalnames.htm)".

Estrazione del DNA, amplificazione PCR e sequenziamento

Il DNA genomico è stato estratto da un frammento di ca. 1 mg di 1 campione d'erbario (LP190/11c), utilizzando il DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Milan Italy). Per l'amplificazione della regione ITS sono stati utilizzati i primers universali ITS1F/ITS4 (White *et al.*, 1990; Gardes & Bruns, 1993). Le reazioni di amplificazione sono state condotte nel termociclatore PE9700 (Perkin-Elmer, Applied Biosystems) secondo il protocollo usato in Vizzini *et al.* (2013). I prodotti PCR sono stati purificati con il kit AMPure XP (Beckman) e sequenziati dalla ditta MACROGEN Inc. (Seoul, Repubblica di Corea). La sequenza è stata depositata in GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) ed il suo numero identificativo (accession number) è riportato in Fig. 1.

Campionamento, allineamento ed analisi filogenetica

Le sequenze ITS per le analisi filogenetiche sono state scelte sulla base del lavoro di Toth *et al.* (2013) e ricavate dai database pubblici GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) e UNITE (http://unite.ut.ee/). L'allineamento di tali sequenze è stato effettuato con il software MAFFT v6.814b (Katoh *et al.*, 2002), ed editato manualmente con MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011). L'analisi filogenetica è stata svolta tramite i metodi di Inferenza Bayesiana (BI) e Maximum Likelihood (ML). *Galerella floriformis* Hauskn. (JX968254) è stata utilizzata come outgroup per le analisi. L'analisi Bayesiana è stata condotta con l'utilizzo del software MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001), impostando 4 catene simultanee di ricerca (Monte Carlo Markov Chains) e 10 milioni di generazioni. Sono stati salvati 10.001 alberi (frequenza di campionamento ogni 1.000 generazioni); i primi 2.500 sono stati scartati come "burn-in" e con i rimanenti è stato costruito un albero di consenso con il criterio di "majority rule". L'analisi di Maximum Likelihood è stata condotta con l'utilizzo del software RAxML v.7.0.4 (Stamatakis, 2006); è stato utilizzato il parametro GTRGAMMA ed è stata eseguita l'analisi di bootstrap con 1000 repliche (Felsenstein, 1985) per la validazione statistica dei nodi dell'albero. I valori di supporto dei nodi (Bayesian Posterior Probabilities -BPP- e bootstrap -MLB-) sono visualizzati sull'albero (Fig. 1). Sono stati riportati solo i valori di BPP superiori a 0,7 e quelli di MLB superiori a 50. I valori di identità delle sequenze (pairwise % identity values) sono stati calcolati con MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011).

Risultati

Analisi molecolare

La topologia degli alberi filogenetici ottenuti con l'Inferenza Bayesiana si è mostrata sovrapponibile a quella degli alberi derivati dall'analisi Maximum Likelihood; pertanto viene riportato in Fig. 1 solo l'albero (dendrogramma) Bayesiano con i valori di BPP e MLB. Il dataset ITS analizzato consta di 47 sequenze (di cui 46 da GenBank-UNITE). Secondo l'analisi *Conocybe* Fayod e *Bolbitius* Fr. sono generi monofiletici, come già dimostrato da Toth *et al.* (2013), mentre *Pholiotina* è polifiletico e suddivisibile in almeno tre cladi. *P. atrocyanea* clusterizza con *P. aeruginosa* formando un clade fortemente supportato

(BPP = 1; MLB = 100); le due sequenze presentano una identità del 99.8. Queste due specie sono sister ad un clade costituito da *P. pygmaeoaffinis* (Fr.) Singer, *P. striaepes* (Cooke) M.M. Moser e *P. sulcata* Arnolds & Hauskn.

TASSONOMIA

Pholiotina aeruginosa (Romagn.) M.M. Moser, in Gams, *Kl. Krypt.-Fl.*, Bd **II** b/2, ed. 4 (Stuttgart) **2b/2**: 283 (1978) ≡ *Conocybe aeruginosa* Romagn., *Bull. trimest. Soc. mycol. Fr.* 84: 368 (1969) [1968] = *Pholiotina atrocyanea* Esteve-Rav., Hauskn. & Rejos, *Österr. Z. Pilzk.* 16: 118 (2007)

Descrizione della raccolta romana (LP190/11 a, b, c, d - Foto 1 e 2)

Pileo fino a 2,7 cm, da convesso-campanulato a completamente spianato con umbone ottuso, margine nel giovane con leggera striatura per trasparenza, poi a maturità con striatura variabile da un terzo fino a metà del raggio, superficie liscia, colore nel giovane blu quasi nerastro (in un solo caso verde mare) uniforme, poi con l'età su toni bluastro-indaco, anche con sfumature rugginose nella parte centrale, fino a sbiadire verso toni caffellatte nella parte interessata dalla striatura.

Lamelle adnato-arrotondate, alte, ventricose, con filo crenulato, mediamente distanziate con intercalate lamellule di varia lunghezza, color caffellatte, poi decisamente rugginose.

Stipite 4,5 × 0,3, cilindrico, gracile, pruinoso in alto, biancastro; in un caso due esemplari fascicolati.

Carne concolore a ridosso della corteccia, quasi nulla nel pileo, odore nullo.

Habitat in un giardino privato lungo la Via Appia antica, località Tor Carbone (Roma-Italia), nell'erba a ridosso di un cespuglio di pittosforo (*Pittosporum* sp.).

Raccolte studiate 11.11.2011 (2 esemplari), in giardino privato lungo la Via Appia antica, loc. Tor Carbone (RM-I), *leg.* M. Gelardi (Foto 1); 20.11.2011 (6 esemplari), *ibidem*, *leg.* M. Gelardi e L. Perrone (Foto 2); 9.12.2011 (3 esemplari), *ibidem*, *leg.* M. Gelardi; 13.12.2011 (2 esemplari), *ibidem*, *leg.* M. Gelardi, *det.* A. Vizzini e L. Perrone, in erbario privato LP190/11 a, b, c, d; 31.12.2011 (7 esemplari), *ibidem*, *leg.* M. Tullii e M. Gelardi, *det.* A. Vizzini e P. Angeli, in erbario privato 970111231AP (Foto 3).

Spore (9)11,9±1,3(14,8) × (5)6,6±0,5(7,4) μm (n = 32), Q = 1,6-2,1, Qm = 1,8, da subamigdaliformi ad amigdaliformi, spesso con papilla apicale, lisce, a contenuto granuloso e parete interna congofila, giallo-ocra con KOH, con una guttula centrale e poro germinativo evidente.

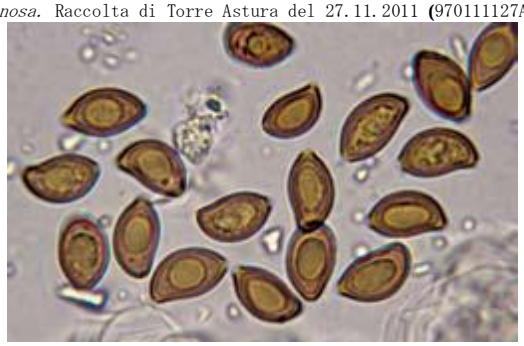
Basidi 28,7-20 × 9,6-7,8 μm (sterigmi fino a 5,2 μm), clavati, prevalentemente bisporici, ma anche monosporici in discreta quantità, con giunti a fibbia.

Pleurocistidi non osservati.

Cheilocistidi 64,4-31,3 × 10,4-7,4 μm, numerosi, lageniformi, sublageniformi, anche a collo molto allungato e con apice arrotondato, non capitulato.

Pileipellis formata da un imeniderma a palizzata di cellule clavato-piriformi, 56,5-32,2 × 20-9,6 μm, con peduncolo lungo anche fino a 30 μm, che presentano sporadicamente nella parte apicale un prolungamento di tipo cilindrico arrotondato-lanceolato; fra di esse emergono dal substrato ife (pileocistidi) di dimensioni 113-78,3 × 5,2-4,3 μm, cilindriche, con pigmento parietale di colore blu-verdastro osservabile con Acqua distillata e Rosso Congo ammoniacale nel materiale fresco e solo con Acqua distillata nel materiale essiccato; sono presenti anche ife a morfologia variabile tra il pileocistidio e la cellula clavata con prolungamento apicale aventi parte basale più o meno rigonfia ad ampolla (fino a × 8,7 μm); immerse nel substrato si notano anche ife oleifere non settate, ad andamento sinusoidale e tortuoso, ramificate, aventi diametro che va da 5,2 fino a 9,6 μm nei punti di giunzione.

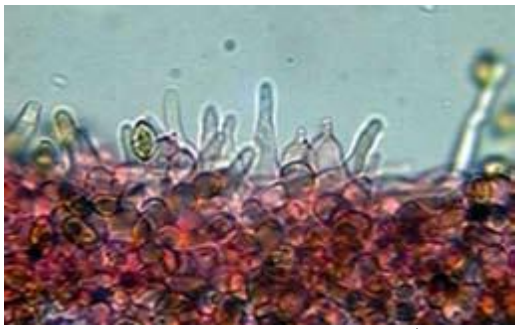
Foto 4. *Pholiotina aeruginosa.* Raccolta di Torre Astura del 27.11.2011 (970111127AP). Foto di Maria Tullii



P. aeruginosa. Spore (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli

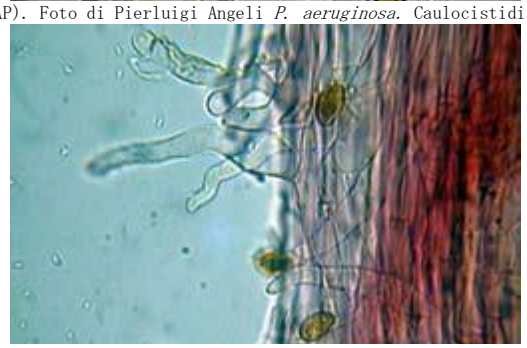
P. aeruginosa. Basidi bisporici (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli

P. aeruginosa. Pileocistidio e ife piriformi (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli



P. aeruginosa. Basidi bisporici e cheilocistidi (970111127AP).Foto di Pierluigi Angeli

P. aeruginosa. Cheilocistidi (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli *P. aeruginosa.* Caulocistidi (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli



P. aeruginosa. Caulocistidi (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli

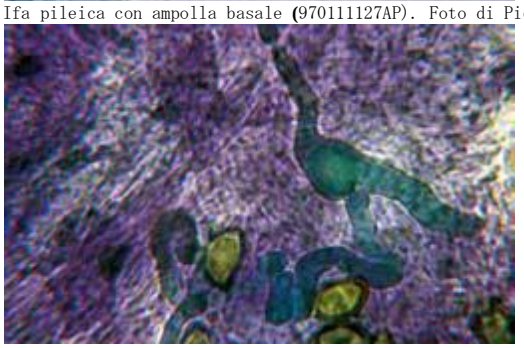
P. aeruginosa. Caulocistidi (970111127AP).Foto di Pierluigi Angeli

P. aeruginosa. Pileocistidio e imeniderma (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli

P. aeruginosa. Pileocistidio e imeniderma (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli

P. aeruginosa. Pileocistidio (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli

P. aeruginosa. Ifa pileica con ampolla basale (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli



P. aeruginosa. Ifa oleifera pileica (970111127AP). Foto di Pierluigi Angeli

Caulipellis formata da ife parallele, cilindriche, settate; sono presenti caulocistidi, 60-47,8 × 20-8,7 μm, discretamente numerosi, simili ai cheilocistidi, ma a collo più corto, con apice arrotondato o capitulato e base talvolta ingrossata.

Trama lamellare ± regolare.

Descrizione della raccolta di Torre Astura (970111127AP - Foto 4)

Pileo diametro 4 cm; colorazioni verde-azzurro ± uniforme, più intenso al centro e con presenza di zone ocraceo pallido al disco e verso il margine; finemente fibrillato radialmente, margine più o meno fessurato e striato in trasparenza.

Lamelle rade, larghe, ventricose, smarginate, con numerose lamellule, giallo-ocra carico.

Stipite 6,5 × 0,4 cm, cilindroide, fistoloso, lievemente bulboso e pelosetto alla base, biancastro o leggermente ocraceo, più chiaro alla base, fibrillato longitudinalmente, ricoperto da minuscole squamette ocracee su tutta la superficie.

Carne esigua, bianca con riflessi bluastri verso la cuticola, odore nullo, sapore mite.

Habitat su uno stradello al margine di un bosco di cerro (*Quercus cerris* L.), con presenza di cisto, olivastro, evonimo, ginepro (macchia mediterranea a livello del mare).

Raccolte studiate 27.11.2011 (1 esemplare), località Torre Astura, Comune di Nettuno, Provincia di Roma (Lazio-Italia), *leg.* M. Tullii, *det.* A. Vizzini e P. Angeli (Foto 4). In erbario privato n. 970111127AP.
Spore (9,6)10,8±0,65(12,1) × (6,6)6,0±0,4(4,9) μm (n = 32), Q = 1,7-1,9, Qm = 1,8, subamigdaliformi, largamente ellissoidali, lisce, con parete interna congofila, giallo-ocra con KOH, con una guttula centrale, poro germinativo molto pronunciato.
Basidi 26,4-23,1 × 10-9 μm, clavati, bisporici, alcuni anche monosporici, con giunti a fibbia.
Pleurocistidi non osservati.
Cheilocistidi 60,5-39,6 × 12,1-5,5 μm, numerosi, lageniformi, sublageniformi, con apice arrotondato, non capitulato, qualcuno anche bifido.
Pileipellis formata da un imeniderma di cellule clavate, sfero-peduncolate, piriformi, 44-38,5 × 16-6 μm; alcune di queste cellule presentano all'apice un prolungamento cilindrico con terminale più o meno arrotondato; dal substrato emergono peli lunghi ad apice arrotondato (pileocistidi), cilindrici, qualcuno con la base più o meno ingrossata ad ampolla, 80,3-38,5 × 8,8-6,6 μm; pigmento parietale verde-blu; immerse nel substrato si notano delle ife oleifere, ad andamento sinuoso, ramificate e senza giunti a fibbia.
Caulipellis formata da ife parallele, cilindriche, settate, con caulocistidi, 57,2-51,7 × 9,9-7,7 μm, ad apice arrotondato e base talvolta ingrossata, simili ai cheilocistidi, qualcuno con escrescenze appena abbozzate.
Trama lamellare più o meno regolare.
Nota
Si è ritenuto di descrivere separatamente la raccolta romana, costituita da più ritrovamenti, sempre nello stesso habitat, in giorni successivi, da quella di Torre Astura, affinché fossero palesi, pur trattandosi della stessa entità, le differenze riscontrate nella rilevazione di alcuni caratteri macro e microscopici, tali da evidenziare una certa variabilità morfocromatica del taxon in questione. Queste differenze si manifestano macroscopicamente nella presenza, nei primi esemplari della raccolta romana osservati l'11.11.2011 (Foto 1), di colorazioni pileiche più tendenti al verde mare per poi passare a colorazioni turchesi nella raccolta di Torre Astura del 27.11.2011 (Foto 4) e poi arrivare al blu indaco riscontrato negli esemplari romani del 20.11.2011 (Foto 2), del 9.12.2011 e del 13.12.2011 o addirittura al blu intenso in quelli del 31.12.2011 (Foto 3).

Dal punto di vista microscopico, invece, tali differenze sono rilevabili in una maggiore dimensione sporale in tutti i campioni della raccolta romana rispetto a quello di Torre Astura, maggiore dimensione giustificata dalla presenza nei primi di un numero più elevato di basidi monosporici.

Discussione
La specie più rappresentativa (*typus*) della serie *Aeruginosa*, *Pholiotina aeruginosa,* è stata stabilita da Romagnesi (1969) su materiale francese (come *Conocybe*), ricombinata da Moser (1978) in *Pholiotina* e poi segnalata per Germania, Svizzera, Francia, Italia, Olanda, Liechtenstein, Lussemburgo, Inghilterra, Finlandia e Croazia (Breitenbach & Kränzlin, 1995; Enderle, 1996, 2004; Tholl, 1996; Chrispijn & Douwes, 2004; Prongué *et al.*, 2004; Hausknecht, 2007, 2009; Arnolds, 2005; Watling, 2005; Hausknecht & Vesterholt, 2012) e recentemente in Spagna (es. Rubio *et al.*, 2005, sito internet). Essa è caratterizzata macroscopicamente da un pileo (1-2 cm) inizialmente tutto blu-verde anche scuro, poi impallidente verso il margine al grigio olivastro fino ad ocraceo incarnato, igrofano, striato fino a ¾ del raggio, stipite striato in lunghezza, pruinoso all'apice. Dal punto di vista microscopico è caratterizzato da spore 7-11,5 × 4-6.5 μm, in media 8-9,6 × 4,6-5,7 μm, Q = 1,6-2, da ellissoidali a leggermente amigdaliformi, con parete spessa, poro piccolo ma presente, assenza di papilla apicale, basidi tetrasporici, unioni a fibbia presenti, cheilocisitidi (20-50 × 5-10 μm) da allungato lageniformi a fusiformi ad apice non capitolato, stipitipellis con all'apice caulocistidi (20-80 × 5-12 μm) simili ai cheilo, pileipellis imeniforme con elementi sferopeduncolati (30-65 × 10-30 μm) e sparsi pileocistidi lageniformi (fino a 75 × 12 μm). La specie finora segnalata solo per l'Europa, cresce in zone erbose, in foreste di latifoglie umide di tipo euro-siberiano (Hausknecht, 2009). L'*Holotypus* (Herb. Romagnesi, Mus. nat. d'Hist. Nat. Paris, n° 67.121) sembrerebbe essere mancante secondo Hausknecht (2009), ma la descrizione originale e la tavola di Romagnesi (Tav. LXXXIV; 1969) sono esemplificative. Noi siamo recentemente riusciti a rintracciare online (http://coldb.mnhn. fr/ScientificName/pholiotina/aeruginosa) la potenziale presenza del materiale originale di Romagnesi nell' Herbarium Musei Parisiensis (PC, numéro d'inventaire FUSION189993); non siamo però mai riusciti ad ottenere una risposta conclusiva dai curatori francesi. *P. aeruginosa* var. *caeruleopallida* differisce (Hausknecht, 2007, 2009) per il pileo di dimensioni leggermente inferiori (0,4-1,2 cm) con colorazioni grigio verdastre pallide, le spore a parete sottile con poro germinativo papillato. *P. atrocyanea* fu istituita da Esteve-Raventós *et al.* (2007) sulla base di una sola raccolta consistente di unico esemplare: differirebbe da *P. aeruginosa* per il pileo mai impallidente e mai striato con colorazioni verdi blu-scure omogenee; basidi bisporici, spore (9-13 × 5-7, 10.8 × 6.4 μm in media, Q = 1,6-1,8) più

nettamente amigdaliformi, con apice subpapillato; crescita in foreste mediterranee, *Quercus faginea* Lam., tra muschi, in suolo sabbioso-acido (Esteve-Raventós *et al.*, 2007; Hausknecht, 2009). Non è stata più segnalata da allora, ma una raccolta spagnola corredata da foto di microscopia e dei basidiomi (Demetrio Merino, 2008) ed indicata come "*Conocybe aeruginosa* (¿nueva forma?)" è chiaramente riconducibile a questo taxon. Non è stato possibile eseguire l'analisi molecolare sul *typus* di *P. atrocyanea* (AH 30895, *Holotypus*; WU 27866, *Isotypus*) perchè consistente in un unico ed esiguo esemplare, ma le nostre due raccolte sono perfettamente sovrapponibili al protologo, anche se presentano accanto ad una maggioranza di basidi bisporici anche un discreto numero di elementi monosporici. L'analisi filogenetica mostra che una delle nostre due raccolte determinate come *P. atrocyanea* mostra una identità di sequenza del 99.8 con una raccolta di *P. aeruginosa* depositata in GenBank, valore che indica conspecificità. Questa raccolta di *P. aeruginosa* (WU 27104 ed erbario privato Hausknecht Anton S3578, GenBank acc. n. JX968247) era stata effettuata da Manfred Enderle (Deutschland, Bayern, Günzburg, Leipheim, Umgebung, 23.08.1995, *Fagus sylvatica* L. e *Fraxinus excelsior* L.) ed è quella fotografata e minuziosamente descritta dall'autore tedesco in un articolo apparso su *Z. Mykol.* (Enderle, 1996); tali campioni sono stati anche studiati da Hausknecht (2009) e poi sequenziati da Tóth *et al.* (2013). In caso di effetiva mancanza dell'*holotypus*, questa raccolta potrebbe costituire un eccellente *neotypus* di *P. aeruginosa.* La conspecificità fra *P. atrocyanea* e *P. aeruginosa* implica che i caratteri invocati da Esteve-Raventós *et al.* (2007) per separare la prima specie dalla seconda, vale a dire colorazioni pileiche, non striatura del pileo, crescita in ambienti mediterranei e soprattutto presenza di basidi bisporici, non sono tassonomicamente informativi; *P. atrocyanea* dovrebbe essere quindi considerata solo una forma, una variante bisporica di *P. aeruginosa* non tassonomicamente rilevante. Il fatto che la forma bisporica presenti unioni a fibbia come quella tetrasporica indicherebbe per "*P. atrocyanea*" un comportamento pseudo-omotallico (omotallismo secondario), tipicamente presente in *Agaricus bisporus* (Kamzolkina *et al.*, 2006), vale a dire la formazione sui basidi bisporici di spore binucleate (due nuclei di sessualità opposta) in grado di germinare e di produrre quindi direttamente un micelio secondario dicariotico che presenta unioni a fibbia e che in condizioni ottimali può organizzarsi in basidiomi.

Ringraziamenti
Si ringrazia l'amica micologa Maria Tullii per aver portato alla nostra attenzione la raccolta effettuata a Torre Astura, Nettuno (RM) e per aver ottimamente disegnato la tavola di microscopia.

Indirizzi degli Autori
Alfredo Vizzini, Enrico Ercole
Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino, Viale P.A. Mattioli 25, I-10125 Torino, Italy.
E-mail: alfredo.vizzini@unito.it

Luigi Perrone
Via Mosca 71, I-00142 Roma, Italy.
E-mail: perrone40@libero.it

Pierluigi Angeli
Via Cupa, 7, 47923, Corpolò di Rimini (RN -Italy).
E-mail: pierangeli1@alice.it

Matteo Gelardi
Via Traversa della Selciatella 2B, I-00062 Bracciano (RM-Italy).
E-mail: timal80@yahoo.it

Bibliografia

Arnolds E. - 2005: Pholiotina *Fayod.* In: Noordeloos M.E., Kuyper, T.W. & Vellinga E.C. (eds.): *Flora Agaricina Neerlandica 6.* Taylor & Francis, Boca Raton, London, New York, Singapore, pp. 180-203.
Atkinson G.G. - 1918: *The genus* Galerula *in North America.* Proc. Amer. Phil. Soc. 57: 357-374.
Azbukina Z.M., Parmasto E.H., Bulakh E.M., Egorova L.N., Bunkina I.A., Khazkina O.K. & Oksenyuk G.I. - 1984: *Griby.* In: Azbukina, Z.M. & Kharkevich S.S. (eds). *Flora Verkhneussurijskogo statsionara.* Vladivostok, pp. 23-64.
Benedict R.G., Brady R., Smith A.H. & Tyler V.E. - 1962: *Occurrence of psilocybin and psilocin in certain* Conocybe *and* Psilocybe *species.* Lloydia 25: 156-159.
Benedict R.G., Tyler Jr. V.E. & Watling R. - 1967: Blueing in Conocybe, Psilocybe *and a* Stropharia *species and the detection of psilocybin.* Lloydia 30: 150-157.
Beug M.W. & Bigwood J. - 1982. *Psilocybin and psilocin levels in twenty species from 7 genera of wild mushrooms in the Pacific Northwest U.S.A.* J. Ethnopharmacol. 5(3): 271-285.
Bon M. - 1992: *Clé monographique des espèces galero-naucoroides.* Doc. Mycol. 21(84): 1-89.

Breitenbach J. & Kränzlin F. – 1995: *Pilze der Schweiz 4. Blätterpilze 2.* Mykologia Teil. Luzern.
Chrispijn R. & Douwes R. – 2004: *Van ach en wee tot ah en O.* Coolia 47: 65-71.
Christiansen A., Rasmussen K.E. & Hoiland K. – 1984: *Detection of psilocybin and psilocin in Norwegian species of* Pluteus *and* Conocybe. Planta Med. 45: 341-343.
Demetrio Merino A. – 2008: *Micobotánica-Jaén 3(3)*: 14. http://www.micobotanicajaen.com/Revista/Hemeroteca/PDF/A03N3.pdf
Enderle M. – 1996: Conocybe-Pholiolina-*Studien* 6. Z. Mykol. 62: 19-36.
Enderle M. – 2004: *Die Pilzflora des Ulmer Raumes*, Ulm.
Esteve-Raventós F., Hausknecht A. & Rejos F.J. – 2007: Pholiotina atrocyanea, *spec. nova, and three other rare* Pholiotina *species (*Bolbitiaceae, Agaricales*) from Spain.* Österr. Z. Pilzk. 16: 117-126.
Felsenstein J. – 1985: *Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap.* Evolution 39: 783-791.
Gardes M. & Bruns T.D. – 1993: *ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts.* Mol. Ecol. 2: 113-118.
Gartz J. – 1985: *Zur Analytik der Inhaltsstoffe zweier Pilzarten der Gattung* Conocybe. Pharmazie 40 (5): 366.
Gartz J. – 1992: *Further investigations on psychoactive mushrooms of the genera* Psilocybe, Gymnopilus *and* Conocybe. Ann. Mus. civ. Rovereto 7 (1991): 265-274.
Gartz J. – 1993: *Narrenschwämme: Psychotrope Pilze in Europa. Herausforderung an Forschung und Wertsystem.* Editions Heuwinkel, Carouge.
Gartz J. – 1996: *Magic Mushrooms Around the World: A Scientific Journey Across Cultures and Time. The Case for Challenging Research and Value Systems.* Lis Publications. Los Angeles, California. Translated by Claudia Taake. 120 p.
Gulden G., Stensrud O., Shalchian-Tabrizi K. & Kauserud H. – 2005: Galerina *Earle: A polyphyletic genus in the consortium of dark-spored agarics.* Mycologia 97: 823-837.
Guzmán G., Allen J.W. & Gartz J. – 2000: *A worldwide geographical distribution of the neurotropic fungi, an analysis and discussion.* Ann. Mus. civ. Rovereto 14 (1998): 189-280.
Hausknecht A. – 2007: *Beiträge zur Kenntnis der Bolbitiaceae 11. Unberingte Arten der Gattung* Pholiotina. Österr. Z. Pilzk. 16: 35-116.
Hausknecht A. – 2009: Bolbitiaceae. *A monograph of the genera* Conocybe *Fayod and* Pholiotina *Fayod in Europe.* Fungi Europaei 11. Ed. Candusso, Alassio.
Hausknecht A. & Krisai-Greilhuber I. – 2007: *Infrageneric division of the genus* Pholiotina. *A classical approach.* Österr. Z. Pilzk. 16: 133-145.
Hausknecht A. & Vesterholt J. – 2012: Pholiotina *Fayod.* In: Knudsen H. & Vesterholt J. (eds). *Funga Nordica, 2nd edition (2-volume set). Agaricoid, boletoid, clavarioid, cyphelloid and gastroid genera.* Nordsvamp, Copenhagen, pp 755-762 (Vol. 2).
Hausknecht A., Krisai-Greilhuber I. & Voglmayr H. – 2004: T*ype studies in North American species of Bolbitiaceae belonging to the genera* Conocybe *and* Pholiotina. Österr. Z. Pilzk. 13: 153-235.
Hausknecht A., Kalamees K., Knudsen H. & Mukhin V. – 2009: *The genera* Conocybe *and* Pholiotina (Agaricomycotina, Bolbitiaceae) *in temperate Asia.* Folia Cryptog. Estonica 45: 23-47.
Horak E. & Hausknecht A. – 2002: *Notes on extra-European taxa of* Bolbitiaceae *(*Agaricales. Basidiomycota*).* Österr Z. Pilzk. 11: 213-264.
Huelsenbeck J.P. & Ronquist F. – 2001: *MrBayes: Bayesian inference of phylogeny.* Bioinformatics 17: 754-755.
Kamzolkina O.V., Volkova V.N., Kozlova M.V., Pancheva E.V., Dyakov Y.T. & Callac P. – 2006: *Karyological evidence for meiosis in the three different types of life cycles existing in* Agaricus bisporus. Mycologia 98: 763-770.
Kasparek F. – 2000: *Porträt Nr. 30.* Blaufuß-Samthäubchen. Tintling 22: 1-2.
Katoh K., Misawa K., Kuma K. & Miyata T. – 2002: *MAFFT: a novelmethod for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform.* Nucl. Acids Res. 30: 3059-3066.
Kühner R. – 1935: *Le genre* Galera *(Fries) Quélet.* Lechevalier, Paris. Ludwig E. – 2007: *Pilzkompendium.* Fungicon, Berlin.
Matheny P.B., Curtis J.M., Hofstetter V., Aime M.C. & Moncalvo J.M. *et al.* – 2006: *Major clades of* Agaricales: *a multilocus phylogenetic overview.* Mycologia 98: 982-995.
Moncalvo J.M, Vilgalys R., Redhead S.A., Johnson J.E. & James T.Y. *et al.* – 2002: *One hundred and seventeen clades of euagarics.* Mol. Phylogenet Evol. 23: 357-400.
Moser M.M. – 1978: *Kleine Kryptogamenflora – Die Röhrlinge und Blätterpilze* (Agaricales), *IIb/2.* Fischer, Stuttgart.
Ohenoja E., Jokiranta J., Makinen T., Kaikkonen A. & Airaksinen M.M. – 1987: *Occurrence of psilocybin and psilocin in Finnish fungi.* J. Nat. Prod. (Lloydia) 50(4): 741-744.
Prongué J.-P., Wiederin R. & Wolf B. – 2004: *Die Pilze des Fürstentums Liechtenstein.* Amtlicher Lehrmittelverlag, Vaduz (Naturkundliche Forschung im Fürstentum Liechtenstein; Bd. 21).
Prydiuk M. – 2006: *New records of* Pholiotina *species in Ukraine.* Czech Mycol. 58: 273-285.
Repke D.B., David B., Dale T.L. & Guzmán G. – 1977: *Baeocystin in* Psilocybe, Conocybe *and* Panaeolus. Lloydia 40 (6): 566-578.
Romagnesi H. – 1969 („1968”): *Un nouveau* Conocybe *de la section des* Piliferae *Kühner*: Conocybe aeruginosa *nov. sp.* Bull. trimest. Soc. mycol. Fr. 84: 365-368.
Rubio E., Suárez A., Miranda A. & Linde J. – 2005: *Catálogo provisional de los macromicetos (setas) de Asturias.* http://www.asturnatura.com/articulos/revista/catalogohongosast.pdf
Samorini G. – 1995: *Traditional use of psychoactive mushrooms in Ivory Coast?* Eleusis 1: 22-27.
Senn-Irlet B., Bieri G. & Egli S. – 2007: *Lista Rossa dei macromiceti minacciati in Svizzera. Serie Pratica ambientale n. 0718.* Editore Ufficio federale dell’ambiente, Berna e WSL, Birmensdorf. 93 p.
Soubrillard I. – 1992: *Souleymane le guériseur ou le pouvoir des plantes.* L’Harmattan, Paris.
Stamatakis A. – 2006: *RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models.* Bioinformatics 22: 2688-2690.

Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. & Kumar S. – 2011: *MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods*. Mol. Biol. Evol. 28: 2731-2739.
Tholl M.T. – 1996: *Notes mycologiques (1986-1995)*. Bull. Soc. Nat. luxemb. 97: 119-134.
Tóth A., Hausknecht A., Krisai-Greilhuber I., Papp T. & Vágvölgyi C. *et al.* – 2013: *Iteratively Refined Guide Trees Help Improving Alignment and Phylogenetic Inference in the Mushroom Family* Bolbitiaceae. PLOS ONE 8(2): e56143. doi:10.1371/journal.pone.0056143.
Vizzini A., Simonini G., Ercole E. & Voyron S. – 2013: Boletus mendax, *a new species of* Boletus *sect.* Luridi *from Italy and insights on the* B. luridus *complex*. Mycol Progr, published online, DOI 10.1007/s11557-013-0896-4.
Walther G., Garnica S. & Weiss M. – 2005: *The systematic relevance of conidiogenesis modes in the gilled* Agaricales. Mycol. Res. 109: 525-544.
Watling R. – 1982: *Bolbitiaceae: Agrocybe, Bolbitius* & *Conocybe.* – In: Henderson D.M., Orton P.M. & Watling R. (eds.): *British fungus flora Agarics and Boleti 3*. Her Majesty's Stationery Office, Edinburgh.
Watling R. – 2005: *Deux Agarics „galeroides" de couleur verte*. Bull. Soc. Mycol. France 120: 133-140.
White T.J., Bruns T.D., Lee S. & Taylor J. – 1990: *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: Innis M.A., Gelfand D., Sninsky J. & White T. (eds.) *PCR Protocols, a guide to methods and applications*. Academic, Orlando, pp. 315-322