

Heliocybe sulcata (Berkeley) Redhead & Ginns, una rara especie con un nuevo hábitat en la Península Ibérica.

(1) MARIANO ROMERA MUÑOZ

C/ Santa Cecilia, 8. 11130-Chiclana de la Fra. (Cádiz)

Email: maromu4@gmail.com

(2) MIGUEL OLIVERA AMAYA

Avda. Sombrero Tres Picos Blq 3º, Portal 6, 1ºE 11630-Arcos de la Frontera (Cádiz)

Email: setas.olivera@hotmail.com

(3) JOSÉ PEREIRA LOZANO

C/ Málaga, 4. 11630- Arcos de la Frontera (Cádiz)

Email: pepesetas63@gmail.com

RESUMEN: *Heliocybe sulcata* (Berkeley) Redhead & Ginns, primera cita para la península ibérica y resto del territorio español. Se estudian los ejemplares de una recolecta encontrada en la provincia de Cádiz (España). La descripción de los ejemplares se acompaña de fotografías macro y microscópicas de los caracteres singulares de la especie. Se ofrecen datos ecológicos y se exponen sus características morfológicas más importantes. Se confirma la determinación con análisis molecular.

Palabras clave: *Agaricomycetes*, *Acebuche*, *Basidiomycota*, Cádiz, *Fungi*, *Heliocybe*,

ABSTRACT. *Heliocybe sulcata* (Berkeley) Redhead & Ginns, first appointment for the Iberian Peninsula and rest of the Spanish territory. The specimens from the collections of the province of Cádiz (Spain) are studied. The description of the specimens is accompanied by macro and microscopic photographs of the unique characters of the species. Corological and ecological data are offered and their morphological characteristics are compared with those of the most similar species. The determination is confirmed with molecular analysis.

Key words: *Agaricomycetes*, *Acebuche*, *Basidiomycota*, Cádiz, *Fungi*, *Heliocybe*,

INTRODUCCIÓN

En el mes de Enero de 2018, en una salida a un bosque mixto de *Olea europaea* var. *sylvestris* (Acebuche), *Quercus suber* (Alcornoque) y diverso sotobosque mediterráneo, los autores de este artículo se encontraron varios ejemplares de la especie que se describe, sobre los postes decorticados de *Olea europaea* var. *sylvestris* (Acebuche) de una alambrada. En este trabajo se describe dicha recolecta y se cita por primera vez este taxón en la Península Ibérica y resto del territorio español. Posteriormente se han realizado nuevas recolectas de la misma especie en otros lugares cercanos y en el mismo hábitat.

La especie fue descrita en 1845 por el micólogo inglés Miles Joseph Berkeley (1803-1889) en las páginas del London Journal of Biology. Berkeley lo llamó *Lentinus sulcatus*. El

nombre de la especie dentro del género *Lentinus* Fr. viene dado por el autor por el sombrero surcado-estriado que puede advertirse claramente en las imágenes macro que se adjuntan en el artículo (FIG 1, A-B). En 1891, el alemán Otto Kunze (1843-1907), en su intento de reformar radicalmente la nomenclatura botánica, transfirió este taxón al nuevo género *Pocillaria* P. Browne como *Pocillaria sulcata* (Berk.) Kuntze. Este cambio de nombre, como otras permutaciones, no encontró entendimiento entre los científicos. Así en 1898 el micólogo italiano Bresadola (1847-1929) describe con recolectas del norte de Italia en *Fungi Tridentini II* a esta especie como *Panus fulvidus* Bres.

Más tarde, los límites del género *Lentinus* Fr se revisaron repetidamente teniendo en cuenta el tipo de podredumbre formado en el sustrato, la estructura de las hifas de la pellis, la presencia de fíbulas y otros parámetros. La especie fue transferida al género *Pleurotus* Fr. en 1975 como *Pleurotus sulcatus* (Berk.) DA Reid, y luego al nuevo género *Neolentinus* Redhead & Ginns. en 1994 como *Neolentinus sulcatus* (Berk.) F. Rune. Esta especie siempre se destacó como una anomalía, y en 1985 Redhead y Ginns la aislaron en su género separado *Heliocybe* Redhead & Ginns. cuyo nombre alude al pileo radialmente simétrico con escamas radiantes. Desde entonces y tras su estudio en el artículo "A reappraisal of agaric genera associated with brown rots of wood" la especie ha quedado como *Heliocybe sulcata* (Berk.) Redhead & Ginns.

MATERIAL Y MÉTODO

Todas las mediciones del estudio microscópico se hicieron sobre preparaciones en agua de material fresco, utilizando el software libre Piximetre 5.8 diseñado por Alain Heriot y Jean-Louis Cheype (<http://ach.log.free.fr/Piximetre>, versión 5.9 nov.2017). Se utilizó reactivo de Melzer para observar la amiloicidad de las esporas y Rojo Congo SDS para observar elementos de cutícula e himenio. Las macrofotografías fueron tomadas *in situ* con una cámara Nikon D750 con objetivo macro AF-S Micro-Nikkor 105mm f/2,8G IF-ED (2), con una Panasonic Lumix DMC-FZ100 con lente macro Raynox DCR-250 (1) y una Nikon 3100 (3). Las microfotografías se hicieron con una cámara Opticam B5 montada sobre el triocular del microscopio Optika B353 PLi, utilizando el software Optika Vision Lite 2.1 para controlar la cámara a través del ordenador (1). El material (JACUSSTA8565) se depositó en el herbario del Plan CUSSTA perteneciente a la Junta de Andalucía localizado en el Jardín Micológico La Trufa, en La Zagrilla (Córdoba). También se guarda material en el herbario personal de uno de los autores (1).

Todas las fotografías han sido realizadas por los autores del presente trabajo.

TAXONOMÍA

MATERIAL ESTUDIADO

CÁDIZ. Parque Natural de Los Alcornocales. Alcalá de los Gazules, 30 S 254756 4040902, 118m, varios ejemplares sobre postes decorticados de *Olea europaea* var. *sylvestris*, en lindero de bosque con *Quercus suber*, *Olea europaea* var. *sylvestris*, *Cistus ladanifer* y diverso sotobosque, 21/1/2018, Leg. Mariano Romera Muñoz, Miguel Olivera Amaya y José Pereira Lozano,

La especie de este artículo pertenece al Reino *Fungi*, División *Basidiomycota*, Subdivisión *Agaricomycotina*, Clase *Agaricomycetes*, Orden *Polyporales*, Familia *Polyporaceae*, Género *Heliocybe*, Especie *sulcata*.

Heliocybe sulcata (Berk.) Redhead & Ginns, *Transactions of the Mycological Society of Japan* 26: 359 (1985)

- =*Lentinus sulcatus* Berk., London *Journal of Botany* 4: 301 (1845)
- =*Pocillaria sulcata* (Berk.) Kuntze, *Revisio generum plantarum* 2: 866 (1891)
- =*Pleurotus sulcatus* (Berk.) D.A. Reid, *Contributions from the Bolus Herbarium* 7: 125 (1975)
- =*Neolentinus sulcatus* (Berk.) F. Rune, *Mycological Research* 98 (5): 543 (1994)
- =*Lentinus miserculus* Kalchbr., *Grevillea* 9 (52): 136 (1881)
- =*Lentinus pholiotoides* Ellis & H.W. Anderson, *Botanical Gazette Crawfordsville* 16 (2): 45 (1891)
- =*Panus fulvidus* Bres., *Fungi Tridentini* 2 (11-13): 56, t. 165 (1898)

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA.

Píleo De 10 a 30 mm de diámetro, inicialmente hemisférico, luego plano convexo, en ocasiones mamelonado. Cutícula surcada radialmente con escamas pardo/ocráceas, mucho más abundantes en la zona central. La cutícula se resquebraja radialmente dando aspecto de rayos solares (Fig 1).

Láminas laminillas y lamélulas presentes, blanquecinas, distantes, ventradas, moderadamente anchas, anexionadas a adnatas, con bordes dentados al llegar a la madurez y claramente granulosa bajo lente de 30 X.

Estípite: Cilíndrico, central, de 10-30 mm de largo x 2-5 mm de ancho, macizo, pardo/ocráceo como la cutícula, escamoso cerca de la base.

Carne blanca, muy firme, olor y sabor poco destacable.

Esporada en masa blanca

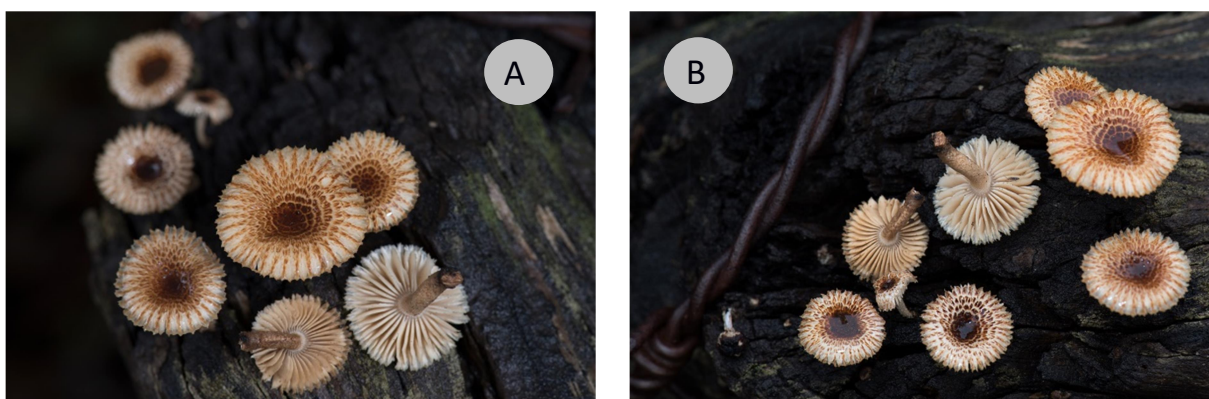


FIGURA 1. Basidiomas *in situ*



FIGURA 2. Habitat

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA

Esporas de (14,9) 15,8 – 18,3 (19,4) x (6,3) 6,5 – 7,8 (8,3) μm , cilíndrico/elípticas con leve depresión apicular, faseoliformes (con forma de frijol en perfil), lisas, hialinas, inamiloides

Basidios tetraspóricos, subclaviformes, de (33.5) 44.1 - 51.8 (52.3) x (8.1) 9.2 - 11.1 (11.4) μm , con esterigmas de 3 – 10 μm de largo.

Queilocistidios dispersos, de cilíndricos a fusoides de 60-100 x 7-10 μm .

Pleurocistidios numerosos, similares a los queilocistidios.

Trama laminar con hifas cilíndricas de paredes delgadas, septadas, x 6 μm

Pileipellis compuesta de hifas aseptadas de pared delgada x 6 μm y otras de paredes gruesas x 8 μm

Hifas fibulíferas no observadas.

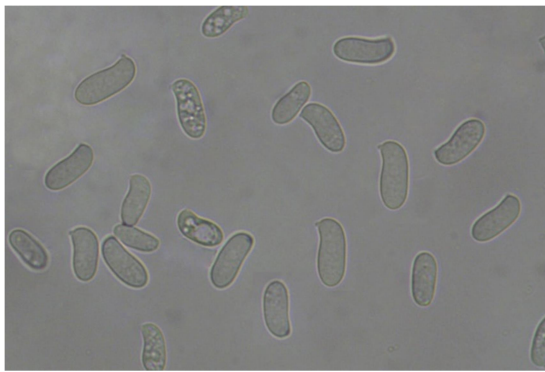


FIGURA 3. Esporas al agua 400X

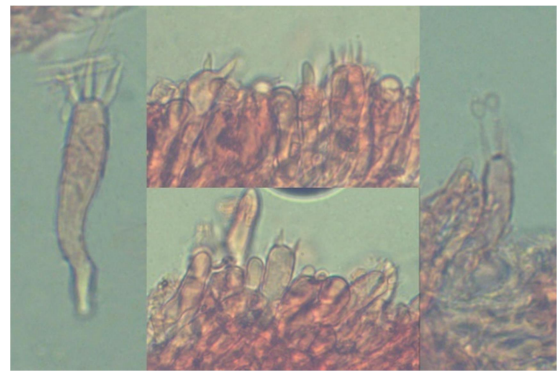


FIGURA 4. Basidios RCSDS 400X

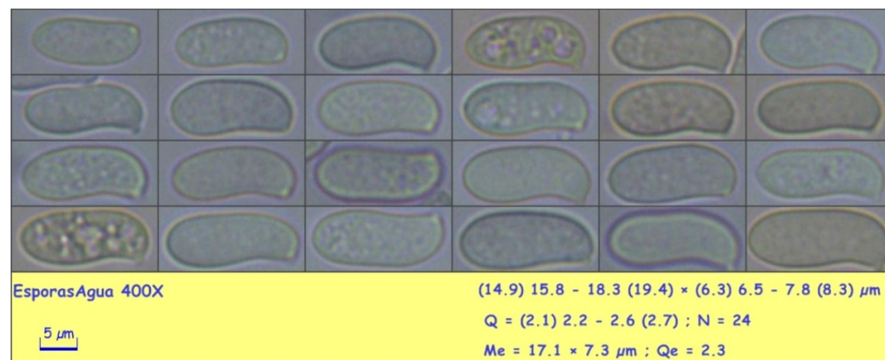


FIGURA 5. Esporas Agua 400X

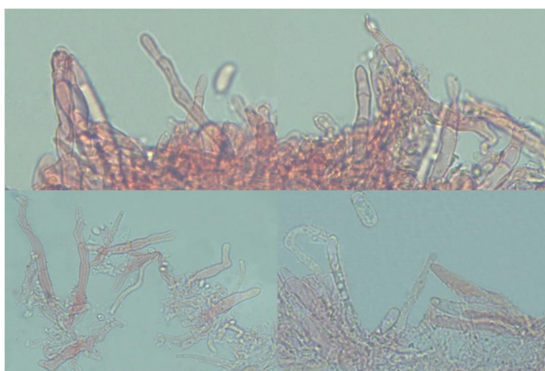


FIGURA 6. Cistidios RCSDS 400X

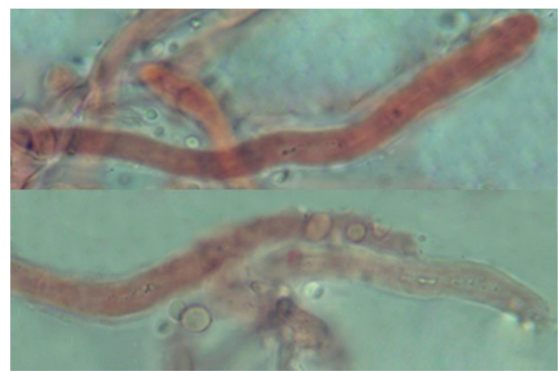


FIGURA 7. Pileipellis RCSDS 1000X

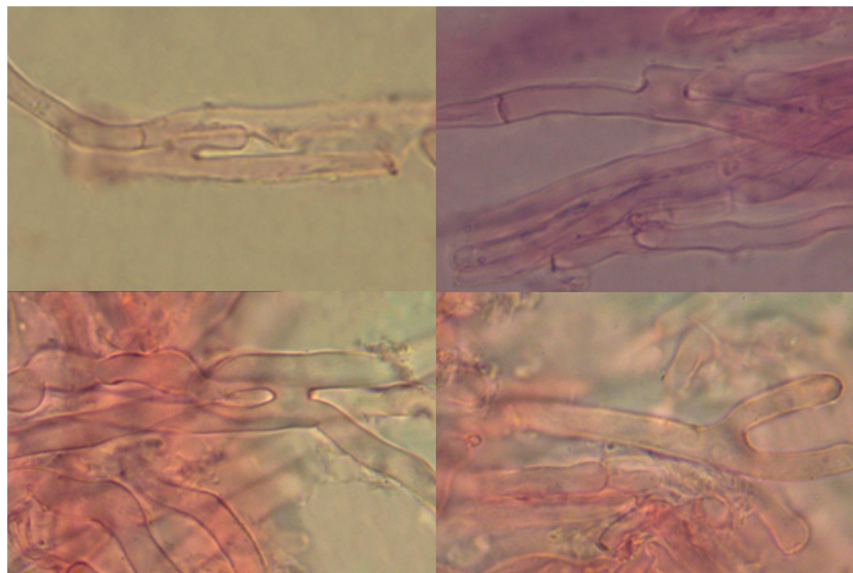


FIGURA 8. Trama laminar RCSDS 1000X

HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN

Heliocybe sulcata crece sobre madera dura tratada, principalmente de *Populus tremula* (álamo temblón) y con mucha menos frecuencia, en maderas blandas. A menudo se encuentra en postes de cercas, en el bosque, en los árboles caídos secos y agrietados, a veces brotando de profundas grietas. Distribuido en Europa (Rusia y norte de Italia), Asia, América del Norte, África, principalmente en áreas montañosas. En todas partes es raro. En Rusia se conoce tanto en la parte europea como en Siberia (Igor A. Chereshev). Mucho más a menudo y en una variedad de sustratos se encuentra en los lugares de salida de agua termal. Causa pudrición marrón.

Históricamente, en las zonas mediterráneas del sur de la Península Ibérica, se han usado los postes (llamados "jincos" en muchas zonas) de *Olea europaea var. sylvestris* (acebuche) para delimitar fincas rusticas.

Tal como se observa en las Figura 9-10 las ramas más gruesas del *Olea europaea var. sylvestris* (acebuche) se talaban en invierno a una longitud aproximada de dos metros. Los brotes tiernos de esas ramas se usaban como alimento para el ganado bovino y ovino (vacas, cabras, ovejas, etc) y una vez limpios, los troncos eran apilados para que se secaran. Pasado un año y una vez secos, eran usados como postes que sostenían las líneas de alambre de espino para formar la alambrada.

En la recolecta de este artículo este ha sido el hábitat, troncos de *Olea europaea var. sylvestris* (acebuche) de una alambrada.



FIGURA 9. Apilado de troncos de *Olea europaea var. sylvestris* (Acebuches)



FIGURA 10. Alambrada



FIGURA 11. Pequeño bosque de Acebuches

ANÁLISIS FILOGENÉTICO

Para el análisis filogenético se ha utilizado la región ITS (rDNA). Las secuencias han sido descargadas de Genbank (Fig.12) salvo la correspondiente *Heliocybe sulcata* – Cádiz, cuya extracción se ha realizado a partir de *exsiccata* (JACUSSTA8565). La amplificación por PCR se realizó empleando una modificación del protocolo de MURRAY & THOMPSON (1980), utilizándose los primers ITS1F e ITS4 (WHITE *et al.* 1990, GARDES & BRUNS 1993) para la región ITS. La secuencia obtenida fue comparada con el cromatograma original para detectar y corregir posibles errores de lectura.

El ajuste de las secuencias se ha llevado a cabo con BioEdit v. 7.0 (HALL, 2005) y posteriormente se han alineado con Mafft v. 7 (KATO, K. *et al.* 2013). El análisis de Inferencia Bayesiana (BI) ha sido realizado con MrBayes 3.2 (RONQUIST, F. *et al.* 2012) con el modelo evolutivo GTR+G calculado con Jmodeltest v.2.1.3 (DARRIBA *et al.* 2012) usando Akaike Information Criterio (AIC). Se han hecho correr dos análisis con cuatro Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) con 4M gen descartándose un 25% inicial de los árboles. La convergencia de los parámetros fue posteriormente comprobada con Tracer v. 1.5 (RAMBAUT & DRUMMOND, 2013).

Se ha realizado también un segundo análisis de Máxima Verosimilitud (ML) con RaxML (STAMATAKIS, 2006) implementado en RaxmlGUI v 1.3 (SILVESTRO & MICHALAK, 2012)

aplicando el modelo evolutivo GTRGAMMA y 1000 réplicas de bootstrap con el algoritmo ML+ through bootstrap. Los árboles resultantes se han visualizado con FigTree 1.4.0 (RAMBAUT, 2013). (Fig.13).

Secuencia	Origen	Gen Bank
Ganoderma australe	China	AY884184
Gloeophyllum sepiarium	USA	HM536091
Gloeophyllum striatum	USA	HM536092
Gloeophyllum trabeum	USA	HM536094
Heliocybe sulcata	USA	HM536095
Heliocybe sulcata_Cádiz	España	MH248774
Neolentinus adhaerens	USA	HM536096
Neolentinus kauffmanii	USA	HM536097
Neolentinus lepideus	USA	HM536098
Neolentinus lepideus	Rusia	KY433984
Veluticeps abietina	USA	KP814229
Veluticeps fasciculata	China	KJ010077
Veluticeps fimbriata	USA	HM536100

FIGURA 12. Secuencias utilizadas para los análisis filogenéticos

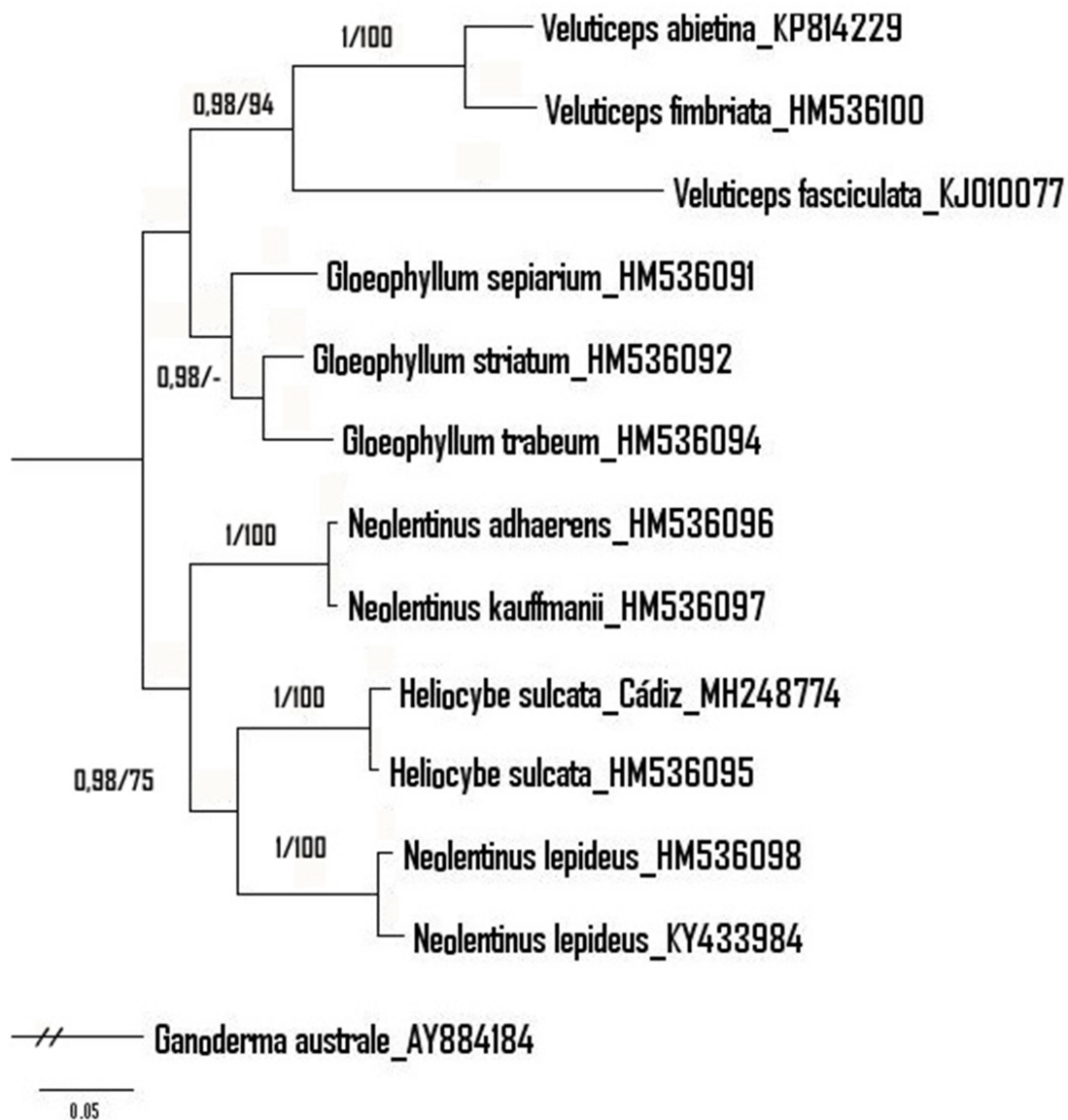


FIGURA 13. Árbol bayesiano con los valores de probabilidad posterior bayesiana (PP-BI) y bootstrap (ML-BS) respectivamente en las ramas. Se han considerado significativos valores PP-BI $\geq 95\%$ y ML-bs $\geq 70\%$.

OBSERVACIONES

Heliocybe sulcata es la única especie del Genero *Heliocybe*. Macroscópicamente puede parecerse a *Crinipellis zonata* pero la simple observación de las esporas al microscopio óptico descarta esta posibilidad. *Crinipellis* tiene esporas más o menos amigdaliformes en sus especies M. BON (1999) mientras que las de nuestra recolecta son cilíndrico-elípticas en forma de frijol. La recolecta de este artículo encaja con la descripción original de *Lentinus sulcatus* Berk, London Journal of Botany 4: 301 (1845) Una vez constatado esto, hizo falta el pertinente estudio genético que determinó al 100% la especie. El estudio microscópico completo no hizo sino confirmar el resultado obtenido con el análisis molecular. Consultada la bibliografía existente de la especie en referencia al hábitat, nos abre una nueva puerta en referencia al sustrato en el cual se puede encontrar esta especie bastante rara en Europa. No encontramos ninguna referencia de colecciones encontradas en madera de *Olea europaea* var. *sylvestris* (olivo silvestre) aunque si es común el hecho de encontrarla en postes de alambradas.

En la Península Ibérica y en general en ningún lugar del territorio de España no hemos encontrado otras citas anteriores de *Heliocybe sulcata*.

AGRADECIMIENTOS

A Manuel Plaza Canales por su inestimable y desinteresada ayuda en realizar el estudio filogenético de la especie. A Leandro Sánchez por su ayuda en la revisión de este artículo. A Alain Henriot por el desarrollo y las constantes mejoras del programa Piximetre. Al foro micológico Micolist (<http://www.grn.es/amjc/ESP/micolist.htm>) puesto que fueron varios miembros del mismo los que nos pusieron sobre la pista de la especie *Heliocybe sulcata*. A Antonio Ruíz Mateo por proporcionarnos bibliografía esencial.

BIBLIOGRAFÍA

- DARRIBA, D., G.L.TABOADA, R. DOALLO, D. POSADA (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8), 772.
- GARDES, M & T.D. BRUNS (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2:113-118.
- HALL, T.A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp. Ser.* 41: 95-98.
- KATOH, K. & D. STANDLEY (2013). Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*. Apr. 30(4): 772–780.
- MURRAY, M.G. & W.F.THOMPSON (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8 (19):4321-4325.
- RAMBAUT, A. (2013). FigTree, version 1.4. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> (accessed: 1 Oct 2012).
- RAMBAUT, A. & A.J.DRUMMOND (2013). Tracer, version 1.5. <http://www.tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/> (accessed: 1 Nov 2012).
- RONQUIST, F., M. TESLENKO, P. VAN DER MARK, L.D. AYRES, A. DARLING, HÖHNA, S., LARGET, B., LIU, L., SUCHARD & M.A., J.P.HUELSENBECK (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology*, Vol. 61, Issue 3: 539–
- SILVESTRO, D.& I. MICHALAK (2012). RaxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity and Evolution* 12: 335-337. DOI:10.1007/s13127-011-00560.
- STAMATAKIS, A. (2006). RaxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, Volume 22, Issue 21, Pages 2688–2690, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl446>.
- WHITE, T.J., T.D.BRUNS, S. LEE, J.W.TAYLOR (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis

- BERKELEY, M.J. (1845). Decades of fungi. Decades VIII-X. Australian and North American fungi. London Journal of Botany. 4:298-315
- REDHEAD & GINNS (1985), Transactions of the Mycological Society of Japan 26: 359
- F. RUNE (1994), Mycological Research 98 (5): 543.
- D.A. REID (1975), Contributions from the Bolus Herbarium 7: 125.
- KUNTZE (1891), Revisio generum plantarum 2: 866
- KALCHBRENNER (1881), Grevillea 9 (52): 136
- BRESADOLA (1898), Fungi Tridentini 2 (11-13): 56, t. 165.
- ELLIS & H.W. ANDERSON (1891), Botanical Gazette Crawfordsville 16 (2): 45
- R. GARCÍA SANDOVAL, ZHENG WANG, MANFRED BINDER & DAVID S. HIBBETT (2011), Molecular phylogenetics of the Gloeophyllales and relative ages of clades of Agaricomycotina producing a brown rot, Mycologia, 103(3)
- MILLE ET UN CHAMPIGNONS (2006), Pierre Roux - Édition Roux
- FLORE MYCOLOGIQUE D'EUROPE – 5 (1999), Marcel Bon - Documents Mycologiques
- IGOR A. CHERESHNEV (2008), El libro rojo de la región de Magadan. Especies y especies de plantas y animales raros y en peligro de extinción, Región de Magadan, Departamento de Recursos Naturales; Instituto de Problemas Biológicos del Norte FEB RAS./ Ans.Ed.- Magadan: "La Ciudad Vieja". - 429 p.- P. 399.
- Web Consultada: <http://mycology.su/heliocybe-sulcata.html>