

PAOLA ANGELINI, GIANCARLO BISTOCCHI, ANDREA ARCANGELI,
ANDREA RUBINI, ROBERTO VENANZONI

LA DIVERSITÀ DEI FUNGHI ASCOMICETI
NELLA FORESTA DI COLLESTRADA (UMBRIA-ITALIA)

Riassunto

La foresta di Collestrada (PG, Umbria, Italy) è situata sul versante settentrionale di una piccola collina, (Colle del Monte) e ricopre un'area di 68 ha (250-306 m s.l.m.) all'interno del Sito di Interesse Comunitario (SIC) denominato "Boschi a Farnetto di Collestrada". Il particolare interesse per gli ascomiceti della foresta di Collestrada è dovuto all'elevata importanza del sito sotto l'aspetto naturalistico ed al fatto che fino ad ora gli studi sulle comunità di macromiceti hanno scarsamente preso in considerazione questa importante componente della biodiversità fungina. Lo scopo di questo studio è descrivere la diversità e la distribuzione della comunità degli ascomiceti all'interno di 7 tipologie di bosco presenti nella foresta di Collestrada. Nel corso di un monitoraggio durato circa tre anni sono state identificate 24 specie. La diversità degli ascomiceti varia da 0-8,54 (Shannon J' index), 1-13,49 (Simpson index) e 0,84-8,12 (Fisher's α) in funzione del tipo di bosco. La comunità fungina del bosco a Q. frainetto ha evidenziato il numero di specie e gli indici di diversità più elevati.

Abstract

The Collestrada forest (PG, Umbria, Italy) is located on the northern slope of a slight hill, (Colle del Monte), covering an area of approximately 168 acres (820-1003 ft a. s. l.). It is part of a Site of Community Importance (SCI) denominated "Italian Oak woodlands of Collestrada". The forest ecosystem has an exceptionally rich flora and fauna, but systematic studies on ascomycetes are few and small. This paper attempts to assess diversity and distribution of ascomycetes in seven Collestrada woodland types characterized by a prevalent plant species. A total of 24 species were identified from the Collestrada forest over the three years sampling. The diversity of macrofungi ranged from, 0-8.54 (Shannon J' index), 1-13.49 (Simpson index) and 0.84-8.12 (Fisher's α) depending on woodland types. The macrofungal community at Q. frainetto woodland, displayed the highest richness and diversity.

Key words: Cryptic species, Fungus conservation, *Sarcoscypha coccinea*, *Sarcosphaera coronaria*.

Introduzione

La foresta di Collestrada (Perugia, Umbria-Italia), rappresenta un'area di notevole interesse botanico e naturalistico in cui sono ancora conservati boschi naturali relitti e boschi semi-naturali (ANGELINI ET AL., 2014). È situata sul versante settentrionale di una collina (Colle del Monte, 205-306 m s.l.m.) a E-SE di Perugia e ricopre un'area di circa 68 ha all'interno del Sito di Importanza Comunitaria (IT5210077) denominato "Boschi a Farnetto di Collestrada". L'elevata biodiversità di questa foresta è ben documentata per le piante vascolari, per gli insetti e per alcune specie di vertebrati, mentre sono ancora pochi gli studi riguardanti altri gruppi di organismi, come ad esempio i funghi e più specificamente gli ascomiceti (ANGELINI ET AL., 2012a).

Gli *Ascomycota* sono il più grande *phylum* di funghi con circa 64.000 specie conosciute (KIRK ET AL., 2008), presenti in numerose nicchie ecologiche e in tutti gli ecosistemi terrestri e acquatici; sono coinvolti nel degrado dei substrati organici (ad esempio legno, lettiera fogliare, etc.) e possono agire come mutualisti, parassiti e patogeni di animali, piante e altri funghi.

Questo lavoro rappresenta un contributo allo studio delle specie di *Ascomycota* all'interno delle differenti tipologie di bosco presenti nella foresta di Collestrada, caratterizzate da diverse specie arboree dominanti: impianti seminaturali di conifere (*Pinus pinea* L., *P. pinaster* Aiton) e *Quercus* spp. (*Q. ilex* L., *Q. pubescens* Willd.), boschi relitti di latifoglie decidue [*Carpinus betulus* L., *Quercus cerris* L., *Q. frainetto* Ten., *Q. petraea* (Mt.) Liebl.] e sempreverdi (*Q. ilex* L.).

Materiale e metodi

L'indagine micologica è stata condotta rilevando e contando periodicamente tutti i carpofori di macromiceti presenti nell'area in esame. Per macromiceti si intendono i funghi formanti corpi fruttiferi individuabili ad occhio nudo, le cui dimensioni superano la misura di 1 mm (ARNOLDS, 1981). I sopralluoghi sono stati effettuati ogni 1-2 settimane, da gennaio 2011 a luglio 2013. Particolare attenzione è stata prestata ai grandi tronchi in fase avanzata di decomposizione caratterizzati da legno tenero e umido. Sono stati esaminati anche altri tipi di legno morto, compresi i ceppi di alberi caduti, ramoscelli, rami, pezzi di legno marcio giacenti nella lettiera e corteccia staccata. I campioni raccolti sono stati essiccati ed esaminati in laboratorio per l'identificazione delle specie mediante analisi macro e micromorfologiche. Un campione per ogni specie è stato depositato nell'erbario micologico del Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologia, Università degli Studi di Perugia (Italia). La determinazione delle specie è stata effettuata sulla base della corrente letteratura (BREITENBACH & KRÄNZLIN, 1984; DENNIS, 1978; DISSING, 2000). Per le specie critiche (ad esempio *Sarcoscypha* spp.) l'esame morfologico è stato integrato con le analisi molecolari della regione ITS (Internal Transcribed Spacer) secondo le modalità descritte da ANGELINI ET AL. (2012b). Le sequenze sono state allineate utilizzando il software ClustalW e l'analisi filogenetica è stata eseguita utilizzando il software MEGA V.5.2. Le sequenze sono state depositate in GenBank con i seguenti numeri di accessione: KP326375 (SC1), KP326376 (SC2), KP326377 (SC3), KP326378 (SC4), KP326379 (SC5). Ciascuna specie è stata attribuita ad un gruppo trofico con riferimento ad ARNOLDS ET AL. (1995). Per la nomenclatura delle specie fungine sono stati seguiti il Dizionario dei funghi (KIRK ET AL., 2008) e l'Index Fungorum (www.indexfungorum.org/names/Names.asp). La ricchezza (S) e gli indici di diversità (Fisher's α , Shannon J', Simpson 1/D) sono stati valutati utilizzando il software Estimates 8.2 (COLWELL R.K., <http://purl.oclc.org/estimates>).

Risultati

Lo studio micologico effettuato nella foresta di Collestrada (PG, Umbria) ha portato all'identificazione di 24 specie di *Ascomycota*, di cui 1 (4,17%) ectomicorrizica, 1 (4,17%) ectomicorrizica o forse saprotrofa-lignicola, 9 (37,5%) saprotrofe-lignicole, 5 (20,83%) saprotrofo-omicole, 2 (8,33%) saprotrofe della lettiera e 6 (25%) specie fungine dalla forma trofica sconosciuta. La classe più rappresentata è stata quella delle *Pezizomycetes* (41,67%, 10 specie) e l'ordine *Pezizales* il più rappresentativo.

Le famiglie dominanti nel subphylum *Pezizomycotina* sono state le *Xylariaceae* (4 specie) e le *Pezizaceae* (3 specie). Le specie più abbondanti sono state: *Dasyscyphella nivea* (R. Hedw.) Raitv., *Hypoxylon fuscum* (Pers.) Fr. e *Sarcoscypha coccinea* (Gray) Boud.

Dall'elaborazione statistica dei dati si è evidenziato che la diversità nell'ambito del subphylum *Pezizomycotina* variava tra 0,84-8,12 (Fisher's α), 0-8,54 (Shannon J') e 1-13,49 (Simpson) a seconda del tipo di bosco (Tabella 1). La comunità macrofungina relativa al bosco di *Q. frainetto* è risultata essere la più ricca in specie e biodiversità.

Gli ascocarpi raccolti di *Sarcoscypha* sp. sono stati attribuiti in primo luogo alla specie *S. coccinea* (Figura 1-3). Un accurato esame microscopico (Figure 4 e 6) ha tuttavia mostrato



Figura 1. *Sarcoschypha coccinea*

Foto di Giancarlo Bistocchi



Figura 2. Ascocarpi di *S. coccinea*. A sinistra la forma tipica con colorazione rossa, a destra la forma albina (l'analisi molecolare di questo campione non ha evidenziato differenze rispetto alla forma tipica per quanto riguarda la regione ITS 1 e 2). Foto di Giancarlo Bistocchi



Figura 3. *S. coccinea*.

Foto di Giancarlo Bistocchi

per qualche ascarp (SC1, SC2 e SC3) che alcuni caratteri morfologici (es: la dimensione delle ascospore) non corrispondevano alle descrizioni riportate in letteratura, pertanto, al fine di analizzare più in dettaglio l'attribuzione della specie di questi campioni è stata eseguita l'analisi molecolare della regione ITS 1 e 2. I campioni sequenziati sono stati i tre campioni divergenti (SC1, SC2 e SC3) e due campioni (SC4, raccolti nel sito di Collestrada;

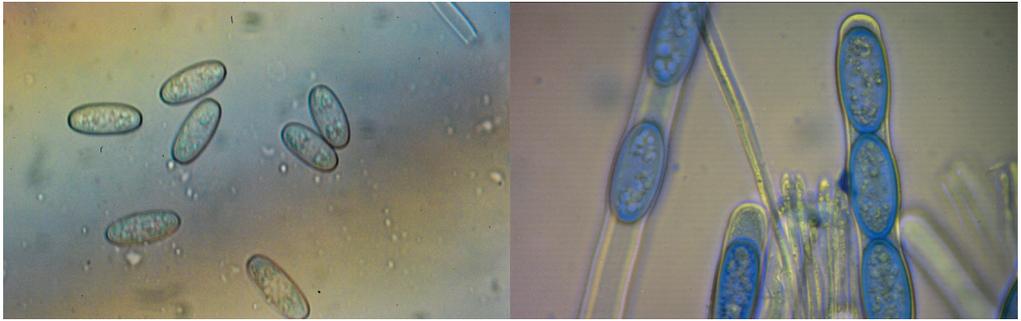


Figura 4. *S. coccinea*. Spore 25-40 × 9-14 μm, cilindriche o lungamente ellissoidali, lisce, non avvolte da glutine, con all'interno tante piccole guttule, le estremità sono ottuse ma non tronche.
Foto di Giancarlo Bistocchi

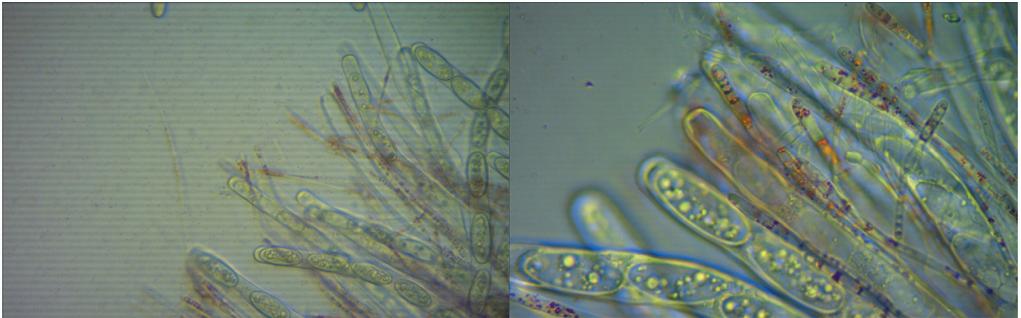


Figura 5. *S. coccinea*. Insieme delle parafisi cilindriche, strette, settate, contenenti un pigmento interno rossastro. Imenoforo costituito da aschi cilindrici, ottoporici, non amiloidi 370 - 470 × 13 - 15 μm.
Foto di Giancarlo Bistocchi

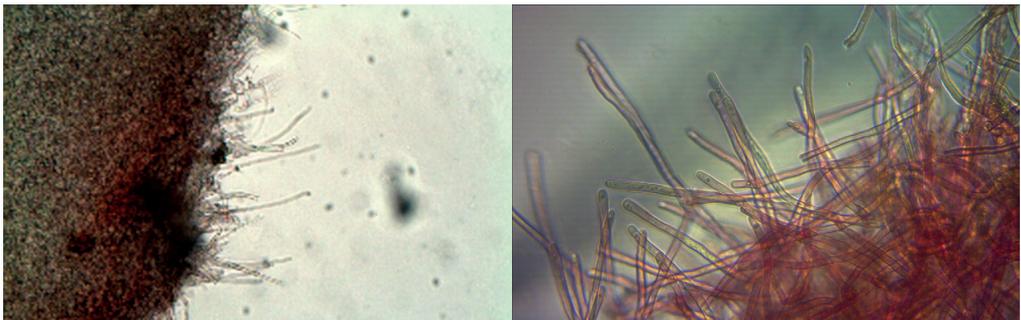


Figura 6. *S. coccinea*. Peli che ricoprono l'excipulum. A destra un particolare.
Foto di Giancarlo Bistocchi

SC5, raccolto in un altro sito del centro Italia) che hanno mostrato i tratti tipici macro e microscopici di *S. coccinea*. Tutti questi campioni hanno mostrato sequenze ITS 1 e 2 molto simili (con il 99% di identità di sequenza) e l'analisi Blast ha mostrato la migliore corrispondenza con i campioni U66015, DQ491486 classificati come *S. coccinea* nel database GenBank. Le sequenze ottenute sono state allineate con quelle di *S. coccinea* e di altre specie filogeneticamente correlate [ad esempio *S. austriaca* (O. Beck ex Sacc.) Boud. e *S. macaronesica* Baral & Korf] in accordo con HARRINGTON e POTTER (1997) ed è stato costruito un albero filogenetico. L'analisi filogenetica ha confermato che i nostri campioni appartengono al clade di *S. coccinea*, tuttavia essi formano un distinto e ben supportato sub-clade rispetto agli altri campioni (Figura 7).

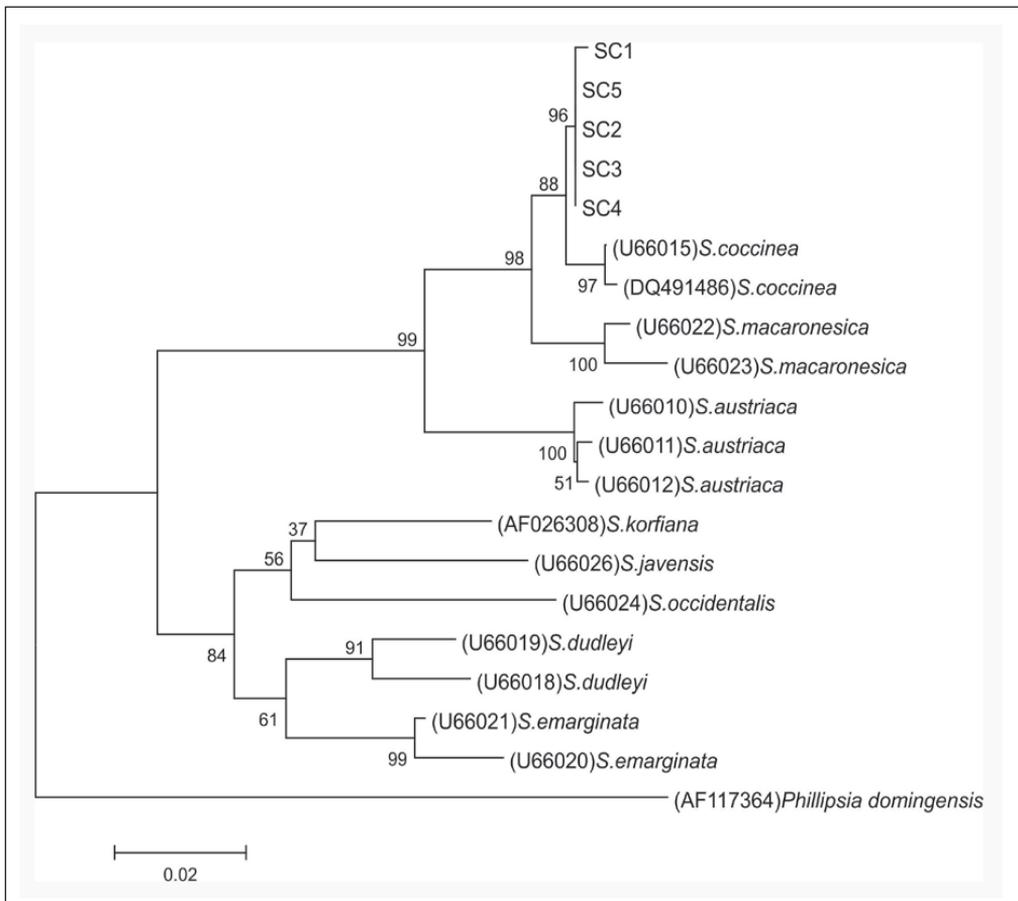


Figura 7. Dendrogramma che evidenzia i rapporti filogenetici tra i campioni di *S. coccinea* raccolti nella foresta di Collestrada (SC1, SC2, SC3, SC4) e in altre località della Regione Umbria (SC5) con i campioni di *Sarcoscypha* presenti nel database di GenBank.

Discussione

Questo studio fornisce un'analisi completa della richness (24 specie) e della diversità della comunità dei macrofunghi appartenenti al subphylum *Pezizomycotina* nella foresta di Collestrada. I risultati indicano differenze nella richness e nella diversità fungina tra le varie tipologie di boschi presenti all'interno della foresta. Gli indici di diversità (Fisher's α , Shannon J', Simpson) hanno mostrato chiaramente che la comunità di ascomiceti presenti nel bosco di *Q. frainetto* è la più ricca e diversificata rispetto agli altri tipi, nel seguente ordine decrescente: *Q. ilex* > *C. betulus* > *Q. cerris* > *Pinus* spp. > *Q. petraea* (Tab. 1).

La grande variabilità delle caratteristiche dei detriti di legno morto rappresenta un importante fattore per la biodiversità fungina in quanto può contribuire a dare origine a un'ampia gamma di nicchie (HEILMANN-CLAUSEN & CHRISTENSEN, 2005). Inoltre, la comunità di macrofunghi, appartenente al subphylum *Pezizomycotina*, sembra dipendere principalmente dalle piante ospiti, tra cui le conifere (*Pinus pinea* e *P. pinaster*), le latifoglie decidue (*Carpinus betulus*, *Quercus cerris*, *Q. frainetto*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*) e le latifoglie sempreverdi (*Q. ilex*). Questi rappresentano gli aspetti vegetazionali più

Tabella 1. Diversità dei funghi ascomiceti presenti nelle foresta di Collestrada

Boschi Indici di diversità	<i>Carpinus betulus</i>	<i>Pinus spp.</i>	<i>Quercus cerris</i>	<i>Quercus frainetto</i>	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus ilex</i>	<i>Quercus spp.</i>	Collestrada forest
Shannon J'	1	0,6	0,9	8,53	0	1,24	1,48	2,81
Simpson (1/D)	2,08	1,69	2	6,43	1	2,82	3,4	13,49
Fisher's α	2,76	0,94	1,03	4,97	0,8	2,14	2,3	8,12
Richness (S)	4	2	3	13	1	5	6	24

rilevanti relativi alla macro categoria “foreste, boschi e macchie” della direttiva habitat (92/43/CEE) e il suo manuale di interpretazione per l'Italia (BIONDI ET AL., 2009; BIONDI ET AL., 2012).

Delle 24 specie segnalate in questo studio, 10 appaiono nelle Red List (o proposte per le Red List) di altri paesi europei (www.wsl.ch/eccf), come *Sarcosphaera coronaria* (Jacq.) J. Schrot. e *Sarcoscypha coccinea* (Gray) Boud., probabilmente a causa della perdita di specifici habitat. *Sarcosphaera coronaria* è anche una delle 33 specie fungine minacciate a livello europeo presente nell'allegato 1 della Convenzione di Berna (www.wsl.ch/eccf). Per quanto riguarda *S. coccinea*, le analisi molecolari hanno dimostrato che le sequenze ITS 1 e 2 dei campioni provenienti dall'Italia centrale sono diverse da quelle depositate in GenBank per questa specie. Se queste differenze sono dovute alla variabilità intraspecifica dei campioni di *S. coccinea* provenienti da diverse località geografiche (le sequenze di *S. coccinea* depositate in GenBank sono relative a campioni americani) o alla esistenza di specie criptiche non descritte resta ancora da chiarire con ulteriori studi.

In Italia studi sistematici riguardanti le specie di *Ascomycota* presenti in diversi ambienti sono piuttosto limitati, quindi la compilazione di checklist a livello regionale e nazionale, le quali consentano la caratterizzazione di specie in declino, specie rare e minacciate, è ancora largamente da implementare.

Questo studio può essere considerato un piccolo contributo per una futura checklist di *Ascomycota* della Regione Umbria ed una integrazione all'elenco della lista degli *Ascomycota* presenti in Italia (SAITTA ET AL., 2011).

Indirizzi degli Autori

PAOLA ANGELINI, GIANCARLO BISTOCCHI, ANDREA ARCANGELI, ROBERTO VENANZONI

Università di Perugia, Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologia,

Borgo XX Giugno, 74, 06121 Perugia.

E-mail: paola.angelini@unipg.it, bistocchi@hotmail.it, arcazico@libero.it, roberto.venanzoni@unipg.it

ANDREA RUBINI

CNR - Istituto di Bioscienze e Biorisorse, Divisione Perugia,

Via Madonna Alta 130, 06128 Perugia.

E-mail: andrea.rubini@ibbr.cnr.it

Bibliografia

- ANGELINI P., BISTOCCHI G., ARCANGELI A. & VENANZONI R. – 2012a: *Preliminary check-list of the macromycetes from Collestrada forest ecosystems in Perugia (Italy)*. Micotaxon linkJ' page 120: 505.
- ANGELINI P., DE ANGELIS M.C., GUERZONI R.P., GIGANTE D., RUBINI A., PROPERZI A. & VENANZONI, R. – 2014: *Wood identification of pile dwellings from the Bronze Age San Savino site (Lake Trasimeno, central Italy)*. Plant Biosyst. DOI: 10.1080/11263504.2013.814604 (in press).
- ANGELINI P., RUBINI A., GIGANTE D., REALE L., PAGOIOTTI R. & VENANZONI R. – 2012b: *The endophytic fungal communities associated with the leaves and roots of the common reed (Phragmites australis) in Lake Trasimeno (Perugia, Italy) in declining and healthy stands*. Fungal Ecol. 5: 683-693.
- ARNOLDS E. – 1981: *Ecology and coenology of macrofungi in grasslands and moist heathlands in Drenthe, the Netherlands. Part 1. Introduction and Synecology*. Biblioth. Mycol. 83: 1- 410.
- ARNOLD E., KUYPER T.W. & NOORDELOOS E.M. – 1995: *Overzicht van de paddestoelen in Nederland*. Nederlandse Mycologische Vereniging, Wijster, Nederland, pp. 872.
- BIONDI E., BLASI C., BURRASCANO S., CASAVECCHIA S., COPIZ R., DEL VICO E., GALDENZI D., GIGANTE D., LASEN C., SPAMPINATO G., VENANZONI R. & ZIVKOVIC L. – 2009: *Manuale Italiano di interpretazione degli habitat della Direttiva 92/43/CEE*. Società Botanica Italiana. Ministero dell'Ambiente e della tutela del territorio e del mare, D.P.N. (<http://vnr.unipg.it/habitat/>).
- BIONDI E., BURRASCANO S., CASAVECCHIA S., COPIZ R., DEL VICO E., GALDENZI D., GIGANTE D., LASEN C., SPAMPINATO G., VENANZONI R., ZIVKOVIC L. & BLASI C. – 2012: *Diagnosis and syntaxonomic interpretation of Annex I Habitats (Dir. 92/43/ EEC) in Italy at the alliance level*. Plant Sociol. 49: 5-37.
- BREITENBACH J. & KRANZLIN F. – 1984: *Champignons de Suisse, tome 1. Les Ascomycètes*. Luzern.
- Dennis R.W.G. – 1978: *British Ascomycetes*. J. Cramer, Vaduz.
- DISSING H. – 2000: *Pezizales, Leotiomyceta* p.p (and p.p. with Vesterholt J.) and *Sordariomycetes* p.p. (and p.p. with Læssøe T.). In: HANSEN L. & KNUDSEN H. (eds). *Nordic macromycetes* 1: 55-128, 130-141, 145, 151-152, 157-160, 213-215, 218-226, 229, 231-236 and 250-252.
- HARRINGTON F.A. & POTTER D. – 1997: *Phylogenetic relationships within Sarcoscypha based upon nucleotide sequences of the internal transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA*. Mycologia, 89: 258-267.
- HEILMANN-CLAUSEN J. & CHRISTENSEN M. – 2005: *Wood-inhabiting fungi in Danish beech-forests – conflicting diversity patterns and their implications in a conservation perspective*. Biol. Conserv. 122: 633-642.
- KIRK P.M., CANNON P.F., MINTER D.W. & STALPERS J.A. – 2008: *Dictionary of the Fungi*. CABI Publishing, Wallingford (UK).
- SAITTA A., BERNICCHIA A., GORJÓN S.P., ALTABELLI E., GRANITO V.M., LOSI C., LUNGHINI D., MAGGI O., MEDARDI G., PADOVAN F., PECORARO L., VIZZINI A. & PERSIANI A.M. – 2011: *Biodiversity of wood-decay fungi in Italy*. Plant Biosyst. 145: 958-968.