

ALESSANDRO FELLIN

## CORTINARIUS OSLOENSIS: UNA RARA SPECIE DEI BOSCHI DI TIGLIO RINVENUTA IN PROVINCIA DI TRENTO

### Riassunto

L'autore riporta le caratteristiche macroscopiche e microscopiche di *Cortinarius osloensis*, specie molto rara ritenuta endemica dei boschi vetusti di natura "relictuale" di *Tilia cordata* localizzati nella Norvegia sud-orientale. Il ritrovamento di questa specie in Trentino-Alto Adige costituisce la prima segnalazione, non solo in Italia, ma anche nei paesi dell'Europa meridionale e occidentale. Vengono fornite una descrizione morfologica corredata di foto dei basidiomi e dei caratteri microscopici e un'analisi filogenetica delle sequenze ITS per collocare correttamente la specie all'interno del clade *Humolentes*. Sono inoltre discusse e comparate le specie affini a *Cortinarius osloensis* sotto il profilo morfologico nonché genetico.

### Abstract

The author reports the macroscopic and microscopic characteristics of *Cortinarius osloensis*, a very rare species considered endemic to the ancient "relict" woods of *Tilia cordata* confined to south-eastern Norway. The discovery of this species in Trentino-Alto Adige constitutes the first report not only in Italy but also in the countries of southern and western Europe. A morphological description is provided accompanied by photos of the basidiomes and microscopic characters and a phylogenetic analysis of the ITS sequences is presented to correctly place the species within the *Humolentes* clade. The species similar to *Cortinarius osloensis* from a morphological as well as a genetic point of view are also discussed and compared.

**Keys words:** *Cortinarius*, *Phlegmacium*, *C. osloensis*, Masi di Vigo, provincia di Trento.

### Introduzione

Recenti studi molecolari mettono in risalto il fatto che le specie della sez. *Calochroi* M.M. Moser & E. Horak ("calochroid" taxa sensu FRØSLEV *et al.*, 2007, privi di pigmenti antrachinonici) e *Fulvi* M.M. Moser & E. Horak ("fulvoid taxa" sensu FRØSLEV *et al.*, 2007, dotati di pigmenti antrachinonici), con l'esclusione del complesso di *Cortinarius percomis* Fr., formano una linea genetica ben supportata definita *Calochroi* (GARNICA *et al.*, 2005; FRØSLEV *et al.*, 2007), *Calochroi* & *Fulvi* (LIIMATAINEN *et al.*, 2014), Phlegmacioid clade III (GARNICA *et al.*, 2016, Fig. S2), o sez. *Calochroi* s.l. (SOOP *et al.*, 2019). Secondo un approccio tassonomico più tradizionale, che sottende una delimitazione basata su criteri morfologici e chimici, i taxa dotati di pigmenti estraibili di natura antrachinonica della serie *flavomannina/phlegmacina* erano inseriti, secondo i micologi della scuola nordica, nella sez. *Fulvi*, da cui il nome di specie "fulvoidi" (BRANDRUD *et al.*, 1989-2018; MELOT, 1990). Filogeneticamente però la sez. *Fulvi* non costituisce un raggruppamento naturale monofiletico (GARNICA *et al.*, 2003; PEINTNER *et al.*, 2004) e, molecularmente, i taxa dotati di pigmenti antrachinonici risultano inseriti all'interno dei *Calochroi* su varie linee evolutive (LIIMATAINEN *et al.*, 2014; GARNICA *et al.*, 2016). All'interno della sez. *Calochroi* s.l. e seguendo BRANDRUD *et al.* (2019), *C. osloensis* Brandrud, T.S. Jeppesen & Frøslev appare inserito nel clade *Humolentes* (*Humolentes* s.l.), linea evolutiva meglio circoscritta dai micologi nordici, contraddistinta da taxa phlegmacioidi, dotati di colorazioni per lo più giallo/verdastre e da alcuni elementi che fungono da comune denominatore. In particolare: gambo con bulbo marginato, carne biancastra, reazioni al KOH negativa su tutte le superfici e odore terroso/rafanoide; le spore da amigdaliformi a citriformi, distintamente verrucose con dimensioni superiori ai 10 µm, completano il quadro del gruppo a livello microscopico (BRANDRUD *et al.*, 2019).

La differenziazione delle varie entità all'interno del clade *Humolentes* si basa sulla caratterizzazione ecologica delle varie specie ampiamente diffuse geograficamente in Europa, sia in ambienti di conifera che di latifolia, e su sottili scostamenti dei caratteri microscopici e morfologici. Il grado di omoplasia e la plasticità fenotipica intraspecifica, favorita in quei taxa fulvoidi da fenomeni ossidativi congeniti, rendono di fatto piuttosto aleatoria la determinazione in habitat dei vari taxa, i quali esibiscono una chiara identità genetica e posizioni filogenetiche nell'albero ben definite (BRANDRUD *et al.*, 2019; CROUS *et al.*, 2020). A livello filogenetico il clade *Humolentes* appare strutturato su tre distinti rami evolutivi rappresentati dalle linee filogenetiche di *C. humolens* Brandrud e *C. osloensis*, in seno alle quali troviamo taxa fulvoidi ben caratterizzati chimicamente, dato il contenuto di pigmenti antrachinonici estraibili, mentre, all'interno della linea *C. caroviolaceus* P.D. Orton / *C. saporatus* Britzelm., troviamo le specie non fulvoidi, prive di tonalità giallastre ma con colorazioni sovente più chiare (BRANDRUD *et al.*, 2019).

## Materiali e metodi

### Analisi morfometriche

I basidiomi sono stati fotografati in habitat tramite l'ausilio di una fotocamera Nikon D80, munita di obiettivo AF Micro nikkor 60 mm. La descrizione macroscopica è stata effettuata su esemplari freschi appena raccolti. Per l'analisi microscopica si è utilizzato un microscopio Leica modello DMLS binoculare con una dotazione standard di obiettivi planacromatici 10, 40, 63 e 100× ad immersione, equipaggiato con fotocamera Leica ICC50W. Le strutture microscopiche sono state osservate principalmente su campioni secchi precedentemente reidratati in acqua distillata. I liquidi di montaggio scelti per l'osservazione dei preparati sono Rosso Congo come colorante universale, acqua distillata per la localizzazione dei pigmenti, mentre la misurazione delle spore è stata condotta utilizzando come liquido di montaggio KOH al 2%. Per i rilievi sporiali si sono utilizzate le spore depositate nella parte alta del gambo o sulla cortina, tenendo conto ai fini statistici di un set minimo di spore pari a 30 unità e fotografando tutte le spore nel campo ottico del microscopio. Le dimensioni sporiali riportate, con esclusione dell'appendice ilare, sono espresse come (a-)b-c-d(-e), dove (a-) = valore minimo, b = (media - deviazione standard), c = media, d = (media + deviazione standard) e (-e) = valore massimo. Q è stato calcolato come rapporto lunghezza/larghezza sporale. I campioni secchi sono stati depositati presso l'erbario privato dell'autore (abbreviazione nel testo A.F.).

### Caratteristiche ecologiche della stazione di raccolta.

Contrariamente ad altri siti scoperti casualmente in passato nella fase di ricerca di nuovi ambienti micologicamente interessanti, la stazione di ritrovamento di *C. osloensis* a Masi di Vigo (TN) (Fig. 1) è apparsa essere, durante la prima perlustrazione dell'area, quella meno interessante e convincente sotto il profilo micologico. Negli anni a venire le particolari specie censite nell'area hanno in realtà smentito le erronee e fuorvianti impressioni iniziali. L'acclività del pendio, la presenza di roccia affiorante e l'instabilità del materiale sciolto in superficie, reso tale anche dagli interventi selvicolturali pregressi, rappresentavano inizialmente, a parere dello scrivente, fattori stazionali limitanti o poco favorevoli alla crescita dei miceti. Al contrario la freschezza, l'umidità e l'ombrosità del luogo, testimoniati dalla tipologia vegetazionale e favoriti dall'esposizione favorevole a nord-ovest del versante boscato, apparivano invece peculiarità di rilievo non trascurabili. Il soprassuolo risulta composto da formazioni arboree miste insistenti su un substrato di natura prettamente calcarea colonizzato da specie forestali piuttosto diversificate in funzione della morfologia del versante, le quali in ordine di rappresentatività risultano essere *Acer platanoides* L., *Tilia cordata* Mill., *Acer pseudoplatanus* L., *Corylus avellana* L. e *Fagus sylvatica* L.; tra la flora dello strato erbaceo-suffruticoso spiccano *Cardamine enneaphyllos* (L.) Crantz., *Galium odoratum* (L.) Scop. e *Anemone trifolia* (L.) Holub. (POZZATI, 1998). La connotazione geografica della stazione di raccolta in oggetto vede la stessa posizionarsi a circa 900 metri di quota all'interno delle

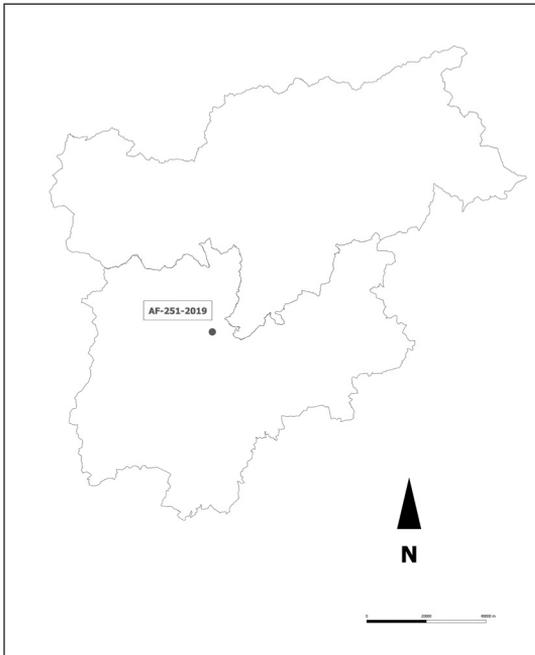


Fig. 1. La regione Trentino Alto Adige e la georeferenziazione del punto di raccolta di *Cortinarius osloensis* a Masi di Vigo in provincia di Trento. Foto di Alessandro Fellin

proprietà boscate di Masi di Vigo, piccolo centro abitato della bassa Val di Non in provincia di Trento.

### Estrazione del DNA, amplificazione PCR e sequenziamento.

Il DNA genomico è stato estratto utilizzando il DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Milan Italy). Per l'amplificazione della regione ITS è stata utilizzata la coppia di primers 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.* (2014). I prodotti PCR sono stati purificati con il kit AMPure XP (Beckman) e sequenziati dalla ditta MACROGEN Inc. (Seoul, Repubblica di Corea). Il cromatogramma è stato controllato per la ricerca e la correzione di errori di lettura putativi. La sequenza è stata depositata in GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)) e il numero di accesso è riportato in Fig. 7.

### Campionamento, allineamento e analisi filogenetica

La sequenza ITS ottenuta è stata controllata utilizzando Geneious Prime 2019 (<https://www.geneious.com>). Per il dataset delle analisi filogenetiche le sequenze sono state scelte in base ai risultati di BLAST (ALTSCHUL *et al.*, 1990) e quindi scaricate dal database pubblico GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)). Le sequenze selezionate e inserite nel dataset derivano principalmente dai lavori di BRANDRUD *et al.*, 2019, e GARNICA *et al.*, 2009. L'allineamento delle sequenze è stato condotto con il software online MAFFT v7.0 (KATHOT *et al.*, 2013) ed editato manualmente con MEGA 7.0 (KUMAR *et al.*, 2016). Nell'allineamento ITS la regione 18S è stata eliminata. L'analisi filogenetica sulle sequenze ITS è stata svolta tramite i metodi di Maximum Likelihood (ML). *Cortinarius sulfurinus* (EU056995) è stato utilizzato come outgroup seguendo BRANDRUD *et al.*, 2019. Il modello evolutivo GTR+G è stato scelto attraverso l'analisi con il software jModelTest2 (DARRIBA *et al.*, 2012). Gli indel della regione ITS con contenuto filogeneticamente informativo sono stati codificati con il software Fastgap (BORCHSENIUS, 2009) applicando l'algoritmo di codifica semplice (SIMMONS *et al.*, 2001). L'analisi di Maximum Likelihood è stata condotta con l'utilizzo del software RAxML GUI v.2.0 (EDLER *et al.*, 2020), andando a svolgere un'analisi partizionata applicando alla matrice di dati ITS il parametro GTRGAMMA e 1000 repliche di bootstrap (FELSENSTEIN, 1985) per la validazione statistica dei nodi dell'albero. Gli indel sono stati codificati come presenti/assenti, applicando alla matrice separata di dati binari come modello evolutivo le impostazioni di default del programma. Il concatenamento delle due matrici di dati (ITS+DATI BINARI) è stato condotto con il software Seawiew 4.7 (GOUY *et al.*, 2010) e il dataset finale risulta costituito da 23 sequenze per un totale di 638 caratteri. Il filogramma risultante è stato importato e visualizzato dal programma FigTree, versione 1.4.4. (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>) e successivamente editato con Inkscape 0.92 (<https://inkscape.org>). I valori di supporto dei nodi (bootstrap -MLB-) sono visualizzati sull'albero (Fig. 7).

*Cortinarius osloensis* Brandrud, T.S. Jeppesen & Frøslev (2006) (Fig. 2)

### Diagnosi originale

*Pileo 30-60 mm lato, hemisphaerico, dein plano-convexo, glutinoso, a centro ochraceobrunneo, ad marginem ochraceo-luteo, KOH ope sub-nullo. Velo universale sparso, pallido. Lamellis emarginatis, pallide luteis. Stipite in juventute albido-luteo dein albido, bulboso, bulbo distincte marginato. Facie externa mycelioque alba, KOH ope nullo. Velo parziale albido. Caro albida, odor ingratus, KOH ope nullo. Sporis limoniformibus, grosse verrucosis, 11-12.5 × 6.5-7.5 μm. Typus: NORWAY: Oslo: Bygdøy, Reinsdyrlia, TEB 559-04 (holotype O, isotype S).*

### Descrizione macroscopica della raccolta

**Capello** 3-7 cm, inizialmente convesso, poi piano-convesso, glabro o debolmente fibrilloso, contraddistinto da fibrille disposte radialmente; colorazioni di fondo giallastre, più sostenute verso il centro del cappello; zona periferica più chiara fino a biancastra caratterizzata da sporadici residui di velo biancastri e cortiniformi.

**Lamelle** adnato-smarginate, strette, con filo eroso-seghettato; colorazioni prevalentemente grigiastre con lieve sfumatura olivastro abbozzata verso il filo lamellare.

**Gambo** 4-8 × 1-1,5 cm, slanciato, per lo più cilindraceo o clavato verso il basso, dotato di bulbo nettamente marginato (×3-3,5 cm) e avente un aspetto di pseudovolva, biancastro, contraddistinto da abbondanti residui di cortina nel terzo superiore. Velo generale scarsamente sviluppato. Bulbipellis e rizoidi miceliari basali di colore biancastro.

**Carne** biancastra con lievi sfumature ocracee nel bulbo, odore terroso/rafanoide.

**Exsiccata** colorazioni ocrac-giallastre.

**Pigmenti estraibili** non oggetto di indagine.

**Reazioni macrochimiche** KOH al 30% reazione negativa (brunastro) su tutte le superfici.

**Habitat e raccolte studiate** 18/10/2019, provincia di Trento, Masi di Vigo, loc. "Portolo", quota 900 m s.l.m., coordinate geografiche N 46°14' 47"/ E 11° 05' 01"; bosco misto con *Fagus sylvatica*, *Tilia cordata*, *Acer pseudoplatanus* e *Corylus avellana*; leg & det A. Fellin (raccolte depositate presso l'erbario personale con il numero AF-501-2019).

### Descrizione microscopica della raccolta

**Spore** N = 30 (11,5-) 12,1-**12,8**-13,5 (-14,9) × (6,8-) 7,2-**7,5**-7,8 (-8,3) μm, Q = (1,61-) 1,64-**1,71**-1,78 (-1,91), bruno-ocraceo in KOH, da amigdaliformi a distintamente citriformi, fortemente verrucose; disegno ornamentale costituito da verruche sotto forma di placchette coalescenti o confluenti; plaga sopraillare ben differenziata (Fig. 3-4).

**Cuticola** pileipellis semplice (Fig. 5), costituita da un'epicute piuttosto spessa di ife immerse in un gel, larghe 2-7 μm, con andamento da subparallelo a sinuoso-intrecciato con elementi sovente emergenti o rialzati; terminali delle ife cilindracei o attenuati; ife ialine o dotate di pigmento intracellulare giallo-brunastro di tipo granulare o con contenuto oleifero rifrangente brunastro in KOH. Pigmentazione prevalentemente concentrata negli strati superficiali della epicute. Ipoderma non differenziato con ife ad andamento subparallelo, larghe 8-13 μm, dotate negli strati superiori di tenue pigmento intracellulare verdastro o brunastro. Presenza nell'ipoderma e nella trama di ife gloeoplere con contenuto rifrangente brunastro in KOH.

**Basidi** 33-40 × 10-14 μm, tetrasporici, clavati, con gaf basale; rilevata presenza di pigmento intracellulare sotto forma di granulazioni bruno-giallastre (Fig. 6).

**Cellule marginali** filo lamellare fertile con presenza accessoria di cellule marginali banali di forma cilindrico-clavata (15-20 × 4-7 μm), intercalate ai basidi (Fig. 6).



Fig. 2. *Cortinarius osloensis* in habitat.

Foto di Alessandro Fellin

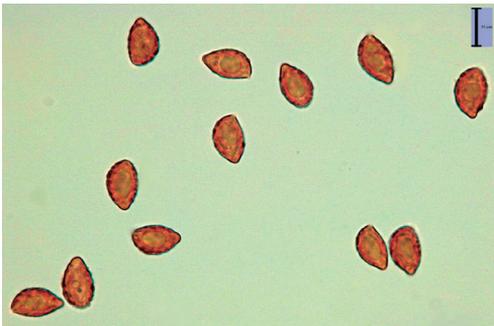


Fig. 3. *C. osloensis*. Profilo spore. Barra = 10  $\mu$ m.

Foto di Alessandro Fellin

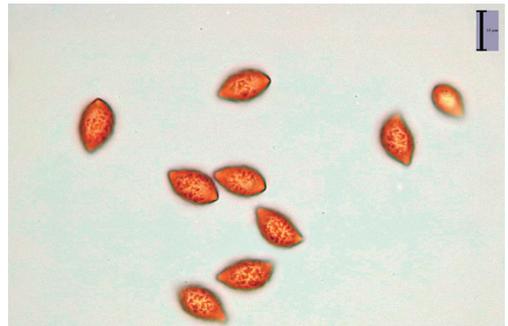


Fig. 4. *C. osloensis*. Ornamentazione sporale. Barra = 10  $\mu$ m.

Foto di Alessandro Fellin

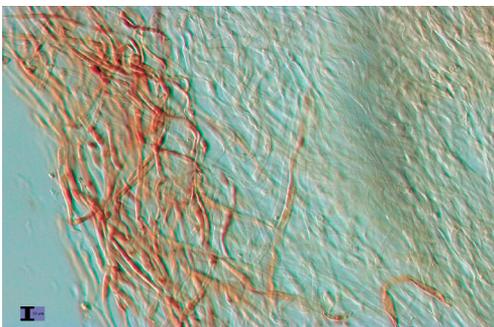


Fig. 5. *C. osloensis*. Pileipellis. Barra = 10  $\mu$ m.

Foto di Alessandro Fellin



Fig. 6. *C. osloensis*. Elementi del filo lamellare. Barra = 10  $\mu$ m.

Foto di Alessandro Fellin

**Trama lamellare** costituita da ife subparallele, larghe 3-18  $\mu\text{m}$ , ialine o con sporadico e localizzato pigmento intracellulare giallo-verdastro.

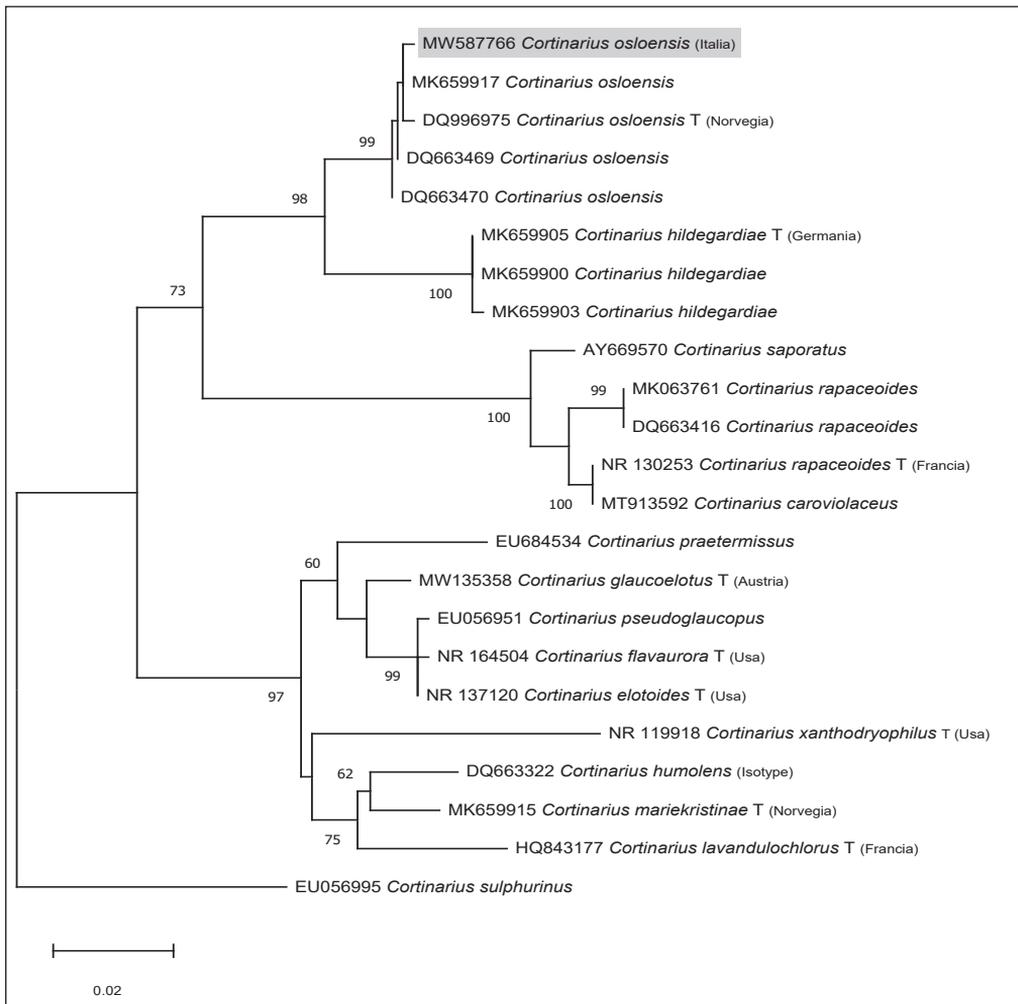
**Giunti a fibbia** presenti e abbondanti in tutti i tessuti.

## Risultati delle analisi molecolari

L'analisi filogenetica risulta sovrapponibile a quella massa in evidenza da BRANDRUD *et al.*, 2019, e CROUS *et al.*, 2020; la nuova sequenza forma con le altre quattro di *C. osloensis* un clade ben supportato statisticamente (MLB = 99) in posizione sister rispetto a quello di *C. hildegardiae* (Fig. 7) e, anche in questo caso, l'ipotesi appare sostenuta statisticamente (MLB = 98). All'interno del clade *osloensis* la variabilità intraspecifica della regione ITS (*Pairwise % Identity*) di 99,8% risulta piuttosto bassa e correlata prevalentemente alla presenza di alcuni polimorfismi a singolo nucleotide.

## Discussione

La distribuzione di *C. osloensis* in Europa segue quella di *Tilia cordata*, essenza arborea con la quale risulta legato in simbiosi micorrizica in via preferenziale (FRØSLEV *et al.*, 2006; BRANDRUD, 2015). Molto probabilmente la distribuzione delle cenosi a *Tilia cordata* nel periodo post-glaciazione in Europa era ben più estesa rispetto al periodo attuale e la regressione nel tempo di tali habitat fu conseguenza della progressiva espansione di *Fagus sylvatica* e *Carpinus betulus* L. (CHYTRÝ & SÁDLO, 1997; BRANDRUD, 2015). Attualmente le formazioni arboree a dominanza di *Tilia cordata* costituiscono un habitat frammentario e potenzialmente vulnerabile di natura "relictuale", confinato in quelle nicchie ecologiche residuali non occupate da altre piante più concorrenziali (BRANDRUD, 1999; BRANDRUD, 2015; BRANDRUD *et al.*, 2011, 2014, 2016). Anche in Italia, in particolare in Trentino-Alto Adige, l'associazione degli aceri-tiglieti costituisce un habitat minoritario e scarsamente rappresentato comprendente formazioni miste a latifoglie nobili caratterizzate da esigenze elevate sotto il profilo trofico-ambientale con espressioni più articolate da ricondurre alle stazioni calde, da mesiche ad umide dell'orizzonte collinare, di area meso-esalpica (ODASSO *et al.*, 2018). La presenza di *C. osloensis* appare documentata, ad oggi, in otto stazioni di crescita situate nella Norvegia sud-orientale (Oslofjord area), territorio contraddistinto da foreste vetuste di *Tilia cordata* sviluppate su affioramenti calcarei molto aridi e poco profondi (BRANDRUD, 1999; BRANDRUD, 2015; BRANDRUD *et al.*, 2011, 2014, 2016) e, solo recentemente, risulta accertato il rinvenimento di *C. osloensis* anche in Ungheria in condizioni stazionali similari (BRANDRUD *et al.*, 2019). Appare comunque innegabile la rarità di tale specie in Europa, palesata anche dal suo inserimento nella lista rossa norvegese 2015 come specie minacciata di estinzione a causa della perdita di habitat idoneo alla specie e della regressione attuale dei boschi scandinavi a tiglio (BRANDRUD *et al.*, 2011). Tale habitat, considerato vulnerabile, risulta anch'esso inserito nella lista rossa risultando al centro di azioni di tutela e conservazione nel territorio norvegese (BRANDRUD, 2015). Desta pertanto molto interesse il ritrovamento di *C. osloensis* sul nostro territorio nazionale, data la particolare caratterizzazione ecologica che contraddistingue tale entità considerata endemica del territorio norvegese, e altrettanto stupore suscita il fatto che nella stessa singolare stazione di ritrovamento, ubicata a Masi di Vigo (Fig. 1), sia stato rinvenuto curiosamente a distanza di pochi giorni anche *C. tiliae* Brandrud, specie altrettanto rara e con le stesse attitudini ecologiche (BRANDRUD, 1996). Già all'atto della raccolta le condizioni morfoanatomiche dei basidiomi, unitamente alla crescita in prossimità di piante di *Tilia cordata* in un bosco misto, lasciavano supporre che quella raccolta fosse una specie assai interessante; le buone condizioni di sviluppo dei basidiomi e le loro caratteristiche d'insieme, infatti, permettevano di collocare la raccolta nel clade *Humolentes* all'interno della linea evolutiva dei *Calochroi* indirizzando la determinazione, dati i connotati ecologici del sito,



**Fig. 7.** Filogramma basato sull'analisi di massima verosimiglianza (RAxML) di sequenze ITS di specie del clade *Humolentes*. Sull'albero sono riportati i valori di MLB  $\geq 60\%$  mentre la lettera T contrassegna la sequenza olotipica. La nuova sequenza di *C. osloensis* derivante dalla raccolta italiana è evidenziata in grigio con il relativo numero di accesso Genbank. La sequenza di *Cortinarius sulphurinus* è stata scelta come outgroup. Albero filogenetico di Alessandro Fellin

verso *C. osloensis* o *C. mariekristinae* Brandrud & Dima. Rispetto però ai valori sporiali riportati nella descrizione originale di *C. osloensis* si sono riscontrate spore con valori in lunghezza e larghezza superiori e (rare) macrospore con valori massimi in lunghezza fino a 15  $\mu\text{m}$ . Il quadro microscopico, nell'iniziale fase di studio, faceva pertanto indirizzare la determinazione della raccolta più verso *C. mariekristinae*, specie di recente istituzione, la quale esibisce la stessa ecologia ma dalla letteratura consultata si differenzerebbe proprio per le spore di taglia superiore (BRANDRUD *et al.* 2019). Sul piano macroscopico, però, si è notata una corrispondenza di caratteri più vicina alla descrizione di *C. osloensis*; qualche perplessità rimaneva legata all'assenza di colorazioni giallastre nelle lamelle contraddistinte piuttosto da tonalità grigiastre (Fig. 2).

Per tale ragione è dato che comunque i dati microscopici rilevati e le osservazioni macroscopiche condotte in habitat e sugli esemplari freschi non permettevano di sciogliere i dubbi sulla reale identità della specie rinvenuta, si è condotto uno studio genetico risultato fondamentale per confermare la specie oggetto della presente trattazione e che appare opportuno ora comparare, per un migliore inquadramento tassonomico, con i taxa più affini sotto il profilo morfologico, nonché molecolare.

Di seguito le varie entità affini a *C. osloensis*.

*Cortinarius mariekristinae* Brandrud & Dima: specie molto vicina a *C. osloensis*, data l'ecologia del tutto sovrapponibile; a livello morfologico la preponderanza di sfumature olivastre nei giovani esemplari, unitamente a toni lilla concentrati nella parte alta del gambo e nella carne dello stesso, rappresentano gli elementi discriminanti per la differenziazione delle due entità (BRANDRUD *et al.*, 2019). Microscopicamente *C. mariekristinae* esibisce spore più larghe con valori fino a 8 µm, mentre, geneticamente, la divergenza appare notevole. Infatti tale specie risulta collocata su una linea evolutiva parallela con a capo *C. humolens*.

*Cortinarius humolens* Brandrud (= *Cortinarius claroflavus* Rob. Henry *sensu* Moser): specie sicuramente simile per via delle colorazioni talvolta sovrapponibili dei basidiomi ma con una plasticità ecologica, morfologica e una variabilità genetica ben superiori, unitamente a una distribuzione geografica che vede tale taxon, seppur legato ai boschi di latifoglie (“...In silvis frondosis nemoralibus meridionalibusque...”), distribuito in Europa a partire dai boschi termofili a leccio dell'areale mediterraneo fino a quelli a dominanza di faggio dell'orizzonte montano (BRANDRUD *et al.*, 1998; DIMA & ALBERT, 2011; GARRIDO-BENAVENT *et al.*, 2015; TRENDEL, 2020). Lievi differenze nel quadro microscopico, chimico, nonché morfologico, sembrerebbero comunque differenziare *C. osloensis* da *C. humolens* (FRØSLEV *et al.*, 2006). A livello genetico invece le due specie appaiono ben distanti e collocate nell'albero filogenetico su due linee evolutive separate e indipendenti (Fig. 7), in seno alle quali troviamo quelle specie fulvoidi con colorazioni generalmente giallastre, le quali denotano la sottesa e comune presenza di pigmenti estraibili di natura antrachinonica (BRANDRUD *et al.*, 2019).

*Cortinarius hildegardiae* Schmidt-Stohn, Brandrud & Dima: nonostante le colorazioni generali simili dei basidiomi possano giustificare la difficoltà nella separazione macroscopica di *C. hildegardiae* da *C. osloensis*, la caratterizzazione ecologica specifica di quest'ultima specie rappresenta un elemento discriminante di rilievo ai fini tassonomici. Inoltre il diverso quadro microscopico con spore in *C. hildegardiae* in un range dimensionale differente (media = 10,5 × 6,1 µm), unitamente all'ecologia che vede *C. hildegardiae* distribuito nei boschi termofili di bassa quota, nonché nelle abetine su calcare di montagna, risultano elementi aggiuntivi che ben caratterizzano tale taxon (BRANDRUD *et al.*, 2019). A livello genetico risulta la specie più vicina a *C. osloensis*, ponendosi sulla stessa linea evolutiva in posizione sister (Fig. 7).

*Cortinarius lavandulochlorus* Eyssart: altra specie legata ai boschi di latifoglie decidue in ambiente termofilo; la presenza piuttosto caratteristica e costante di sfumature lilla nelle lamelle dei giovani e tipici esemplari rappresenta elemento discriminante rispetto alle entità più simili. (EYSSARTIER, 2011; ARMADA, 2018; BRANDRUD *et al.*, 2019; TRENDEL, 2020).

Per quanto riguarda le specie più distanti filogeneticamente e esterne al clade *Humolentes*, ma tuttavia comparabili a *C. osloensis* macroscopicamente, nonché microscopicamente, pare opportuno citare *C. langeorum* Frøslev & T.S. Jeppesen. Tale specie risulta comunque differente rispetto alle entità fulvoidi del clade *Humolentes* per via dell'assenza dell'odore rafanoide (“...odore subnullo.”), l'assenza di colorazioni giallastre a livello di lamelle (“...in juventute pallide eburneis, nec luteis...”) e gambo e la reazione positiva rosso-brunastra al KOH sul cappello e sul velo universale (FRØSLEV *et al.*, 2006; KNUDSEN & VESTERHOLT, 2012).

## Ringraziamenti

Desidero ringraziare il gruppo micologico “G. Bresadola” Val di Sole (Trentino-Alto Adige) per il supporto e la disponibilità a condurre le analisi genetiche sul campione italiano di *C. osloensis*. Un ringraziamento anche a Marco Bianchi (Cremona-Italia) per la preziosa fornitura di materiale bibliografico.

## Indirizzo dell'autore

ALESSANDRO FELLIN

Via G. Canestrini 10/b, 38028 Novella, fraz. Revò, Trento (IT).

E-mail: fellin6384@yahoo.it

## Bibliografia

- ALTSCHUL S.F., GISH W., MILLER W., MYERS E.W. & LIPMAN D.J. – 1990: *Basic local alignment search tool*. J Mol. Biol. 215 (3): 403-410. ([https://dx.doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://dx.doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2))
- ARMADA F. – 2018: *Quelques cortinaires calochroides et glaucopoides récoltés en France et en Espagne*. Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France 134: 55-86.
- BORCHSENIUS F. – 2009: *FastGap 1.2*. Department of Biosciences, Aarhus University, Denmark. ([http://www.aubot.dk/FastGap\\_home.htm](http://www.aubot.dk/FastGap_home.htm))
- BRANDRUD T.E. – 1996: *Cortinarius subgenus Phlegmacium Section Phlegmacium in Europe*. Descriptive part. Edinburgh Journal of Botany.
- BRANDRUD T.E., LINDSTRÖM H., MARKLUND H., MELOT J. & MUSKOS S. – 1989-2018: *Cortinarius, Flora Photographica. I-V*. Cortinarius HB, Sweden.
- BRANDRUD T.E., LINDSTRÖM H., MARKLUND H., MELOT J. & MUSKOS S. – 1998: *Cortinarius. Flora photographica, vol.4* (english). Cortinarius HB, Sweden.
- BRANDRUD T.E. – 1999: *Cortinarius subgenus Phlegmacium species associated with Tilia cordata (and Corylus avellana) in SE Norway: A relictual element?* J. Journées Européennes Cortinaire 1: 83-88.
- BRANDRUD T.E., HANSEN O., SVERDRUP-THYGESON A. & Ødegaard F. – 2011: *Kalklindeskog – et hotspot-habitat*. Sluttrapport under ARKO-prosjektets periode II. [English summary]. NINA Rapport 711. 50 s.
- BRANDRUD T.E., EVJU M. & SKARPAAS O. – 2014: *Nasjonal overvåking av kalklindeskog og kalklindeskogsopper. Beskrivelse av overvåkingsopplegg fra ARKO-prosjektet*. NINA Rapport 1057: 37 pp.
- BRANDRUD, T.E. – 2015: *Cortinarius osloensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T76196620A76196690. (<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T76196620A76196690.en>)
- BRANDRUD T.E., EVJU M., BLAALID R. & SKARPAAS O. – 2016: *Nasjonal overvåking av kalklindeskog og kalklindeskogsopper. Resultat fra første overvåkingsomløp 2013–2015*. NINA Rapport 1297: 128 pp.
- BRANDRUD T.E., SCHMIDT-STOHN G. & DIMA B. – 2019: *Cortinarius hildegardiae* and *C. mariekristinae* spp. nov., two new species in the phlegmacioid clade *Humolentes* (sect. *Calochroi* s. l.). Sydowia 71: 0115-0127. (<https://doi.org/10.12905/0380>). Sydowia 71-2019-0115)
- CHYTRÝ M. & SÁDLO J. – 1997: *Tilia dominated calcicolous forests in the Czech Republic from a Central European perspective*. Annali di Botanica 55: 105-126.
- CROUS P.W., COWAN D.A., MAGGS-KÖLLING G., YILMAZ N., LARSSON E., ANGELINI C., BRANDRUD T.E., DEARNALEY J.D.W., DIMA B., DOVANA F., FECHNER N., GARCÍA D., GENÉ J., HALLING R.E., HOUBRAKEN J., LEONARD P., LUANGSA-ARD J.J., NOISRIPOOM W., REA-IRELAND A.E., H., SMYTH C.W., VIZZINI A., ADAM J.D., ADAMS G.C., ALEXANDROVA A.V., ALIZADEH A., Álvarez, DUARTE E., ANDJIC V., ANTONÍN V., ARENAS F., ASSABGUI R., BALLARÀ J., BANWELL A., BERRAF-TEBBAL A., BHATT V.K., BONITO G., BOTHA W., BURGESS T.I., CABOŇ M., CALVERT J., CARVALHAIS L.C., COURTECUISSIE R., CULLINGTON P., DAVOODIAN N., DECOCK C.A., DIMITROV R., DI PIAZZA S., DRENTH A., DUMEZ S., EICHMEIER A., ETAYO J., FERNÁNDEZ I., FIARD J.P., FOURNIER J., FUENTES-APONTE S., GHANBARY M.A.T., GHORBANI G., GIRALDO A., GLUSHAKOVA A.M., GOULIAMOVA D.E., GUARRO J., HALLEEN F., HAMPE F., HERNÁNDEZ-RESTREPO M., ITURRIETA-GONZÁLEZ I., JEPSON M., KACHALKIN A.V., KARIMI O., KHALID A.N., KHONSANIT A., KIM J.I., KIM M., KIRAN K., KRISAI-GREILHUBER

- I., KUČERA V., KUŠAN I., LANGENHOVEN S.D., LABEL T., LEBEUF R., LIIMATAINEN K., LINDE C., LINDNER D.L., LOMBARD L., MAHAMED A.E., MATOČEC N., MAXWELL A., MAY T.W., McTAGGART A.R., MEIJER M., MEŠIĆ A., MILETO A.J., MILLER A.N., MOLIA A., MONGKOLSAMRIT S., MUÑOZ CORTÉS J., MUÑOZ-MOHEDANO C., MORTE A., MOROZOVA O.V., MOSTERT L., MOSTOWFIZADEH-GHALAMFARSA R., NAGY L.G., NAVARRO-RÓDENAS A., ÖRSTADIUS L., OVERTON B.E., PAPP V., PARA R., PEINTNER U., PHAM T.H.G., PORDEL A., POŠTA A., RODRÍGUEZ A., ROMBERG M., SANDOVAL-DENIS M., SEIFERT K.A., SEMWAL K.C., SEWALL B.J., SHIVAS R.G., SLOVÁK M., SMITH K., SPETIK M., SPIES C.F.J., SYME K., TASANATHAI K., THORN R.G., TKALČEC Z., TOMASHEVSKAYA M.A., TORRES-GARCIA D., ULLAH Z., VISAGIE C.M., VOITK A., WINTON L.M. & GROENEWALD J.Z. – 2020: *Fungal Planet description sheets*: 1112-1181. *Persoonia* 45: 251-409.
- DARRIBA, D., TABOADA, G.L., DOALLO, R. & POSADA, D. – 2012: *jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing*. *Nature Methods* 9(8): 772. (<https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>)
- DIMA B. & ALBERT L. – 2011: *A Cortinarius humolens* Magyarországon.-*Mikol. Kozelm, Clusiana* 50(2): 141-148.
- EDLER D., KLEIN J., ANTONELLI A. & SILVESTRO D. – 2020: *raxmlGUI 2.0: A graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML. v2.0.0*, Zenodo. (<https://doi.org/10.5281/zenodo.4065595>)
- EYSARTIER G. – 2011: *Cortinarius lavandulochlorus* sp. nov., un nouveau cortinaire proche de *C. olivellus* Rob. Henry. *Journal des J.E.C.* 13: 52-57.
- FELSENSTEIN J. – 1985: *Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap*. *Evolution* 39(4): 783-791. (<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>)
- FRØSLEV T.G., MATHENY P.B. & HIBBETT D.S. – 2005: *Lower level relationships in the mushroom genus Cortinarius (Basidiomycota, Agaricales): A comparison of RPB1, RPB2, and ITS phylogenies*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 602-618. (<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.06.016>)
- FRØSLEV T.G., BRANDRUD, T.E. & JEPPESEN T.S. – 2006: *New species and combinations in Cortinarius subgenus Phlegmacium section Calochroi*. *Mycotaxon* 97: 367-377.
- FRØSLEV T.G., JEPPESEN T.S., LÆSSØE T. & KJØLLER R. – 2007: *Molecular phylogenetics and delimitation of species in Cortinarius section Calochroi (Basidiomycota, Agaricales) in Europe*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 217-227. (<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.06.016>)
- GARDES, M. & BRUNS, T.D. – 1993: *ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts*. *Molecular Ecology* 2(2): 113-118. (<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x>)
- GARNICA S., WEISS M., OERTEL B. & OBERWINKLER F. – 2003: *Phylogenetic relationships of European Phlegmacium species (Cortinarius, Agaricales)*. *Mycologia* 95(6): 1155-1170. (<https://doi.org/10.1080/15572536.2004.11833025>)
- GARNICA S., WEISS, M., OERTEL B. & OBERWINKLER F. – 2005: *A framework for a phylogenetic classification in the genus Cortinarius (Basidiomycota, Agaricales) derived from morphological and molecular data*. *Canadian Journal of Botany* 83(11): 1457-1477. (<https://doi.org/10.1139/b05-107>).
- GARNICA S., WEISS M., OERTEL B., AMMIRATI J.F. & OBERWINKLER F. – 2009: *Phylogenetic relationships in Cortinarius, section Calochroi, inferred from nuclear DNA sequences*. *BMC Evolutionary Biology* 9: 1. (<https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-1>)
- GARNICA S., SCHÖN M.E., ABARENKOV K., RIESS K., LIIMATAINEN K., NISKANEN T., DIMA B., SOOP K., FRØSLEV T.G., JEPPESEN T.S., PEINTNER U., KÜHNERT-FINKERNAGEL R., BRANDRUD T.E., SAAR G., OERTEL B. & AMMIRATI J.F. – 2016: *Determining threshold values for barcoding fungi: lessons from Cortinarius (Basidiomycota), a highly diverse and widespread ectomycorrhizal genus*. *FEMS Microbiology Ecology* 92(4): fiw045. (<https://doi.org/10.1093/femsec/fiw045>)
- GARRIDO-BENAVENT I., BALLARÀ J. & MAHIQUES R. – 2015: *New insights into subg. Phlegmacium sect. Calochroi: adding morphological and molecular data from Mediterranean representatives, with special regard to Cortinarius prasinus, C. natalis and C. murellensis species complexes*. *The Journal of the Journées européennes du Cortinaire* 17: 38-78.
- GOUY M., GUINDON S. & GASCUEL O. – 2010: *SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building*. *Molecular Biology and Evolution* 27: 221-224. (<https://doi.org/10.1093/molbev/msp259>)

- KAZUTAKA KATOH & DARON M. STANDLEY – 2013: *MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability*. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): 772–780. (<https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>)
- KNUDSEN H. & VESTERHOLT J. – 2012: *Funga Nordica. Agaricoid, boletoid, clavarioid, cyphelloid and gastroid genera*. Nordsvamp, Copenhagen.
- KUMAR S., STECHER G. & TAMURA K. – 2016: *MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets*. *Molecular Biology and Evolution* 33 (7): 1870-1874.
- LIIMATAINEN K., NISKANEN T., DIMA B., KYTÖVUORI I., AMMIRATI J.F. & FRØSLEV T.G. – 2014: *The largest type study of Agaricales species to date: bringing identification and nomenclature of Phlegmacium (Cortinarius) into the DNA era*. *Persoonia* 33: 98-140. (<https://doi.org/10.3767/003158514X684681>)
- MÉLO J. – 1990: *Une classification du genre Cortinarius (Pers.) S.F.Gray*. *Documents Mycologiques* 20: 43-59.
- ODASSO M., MIORI M. & GANDOLFO C. – 2018: *I tipi forestali del Trentino: descrizione e aspetti dinamici*. Trento: Provincia autonoma di Trento. Servizio foreste e fauna: 138 pp.
- PEINTNER U., MONCALVO J.M. & VILGALYS R. – 2004: *Toward a better understanding of the infrageneric relationships in Cortinarius*. *Mycologia* 96(5): 1042-1058. (<https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832904>)
- POZZATI P. – 1998: *Piano di assestamento dei beni silvo-pastorali*. Asuc di Masi di Vigo. Validità 1998-2007.
- SIMMONS M.P., OCHOTERENA H. & CARR T.G. – 2001: *Incorporation, relative homoplasy, and effect of gap characters in sequence-based phylogenetic analysis*. *Systematic Biology* 50(3): 454-462. (<http://dx.doi.org/10.1080/106351501300318049>)
- SOOP K., DIMA B., COOPER J.A., DUCKCHUL P. & OERTEL B. – 2019: *A phylogenetic approach to a global supraspecific taxonomy of Cortinarius (Agaricales) with an emphasis on the southern mycota*. *Persoonia* 42: 261-290. (<https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.42.10>)
- TRENDEL J.M. – 2020: *Trois Cortinaires du clade Humolentes (section Calochroi s.l.) présent dans les forêts de feuillus du Nord de l'Alsace*. *Bulletin de la Société mycologique de Strasbourg* 119: 13-23.
- VIZZINI A., GELARDI M., PERRONE L., CONTU M., LI T.-H., ZHANG M. & W.-Y. XIA – 2014: *A new collection of Chlorophyllum hortense (Agaricaceae, Agaricales) from south-eastern China: molecular confirmation and morphological notes*. *Rivista Micologica Romana, Boll. AMER* 91 (1): 3-19.
- 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: 315-322.

## Siti consultati

[http://iucn.ekoo.se/iucn/species\\_view/510236/](http://iucn.ekoo.se/iucn/species_view/510236/)