

LUISA RITA ATZEI

RITROVAMENTO DI *RUSSULA PURPUREOFUSCA*,
UNA INTERESSANTE SPECIE RINVENUTA SULLO STELVIO

Riassunto

Si considera la possibile sinonimia tra Russula purpureofusca e Russula cupreola, a seguito di un ritrovamento effettuato sullo Stelvio.

Abstract

The possible synonymy between Russula purpureofusca and Russula cupreola is considered, following a finding at Passo Stelvio (SO), Italy.

Key word *Russulales, Russulaceae, Russula purpureofusca, Stelvio.*

Introduzione

Durante il "Comitato Scientifico dedicato ai funghi alpini", organizzato da Walter Tomasi allo Stelvio in località Franzenshöhe, ad agosto 2022 è stata raccolta una russula alpina che il gruppo di studio non aveva mai avuto modo di osservare e la cui determinazione ha condotto a *Russula purpureofusca* Kühner 1975.

Materiali e metodi

Le descrizioni morfologiche sono state effettuate su materiale fresco. Le fotografie in ambiente sono state scattate con fotocamera Sony IMX650 del telefono Huawei Smart Pro P30.

Lo studio microscopico è stato effettuato su esemplari freschi e su *exsiccata* utilizzando i seguenti coloranti e reagenti: rosso Congo 2% per lo studio dei dermatocistidi, il reagente di Melzer (MELZER 1924) per lo studio delle decorazioni sporiali. Le misure sporiali sono state effettuate su sporata da materiale fresco.

I preparati sono stati osservati con microscopio Olympus CX31, dotati di obiettivi Olympus Plan acromatici 10×, 40× e 100×, con video camera Motic C-B5. Gli *exsiccata* sono conservati nell'erbario del Gruppo Micologico di Agrate Brianza con i numeri identificativi 2066, 2080 e 2166. I dati relativi alle dimensioni sporiali, lunghezza e larghezza, sono stati rilevati con il programma Mycomètre 2.07.

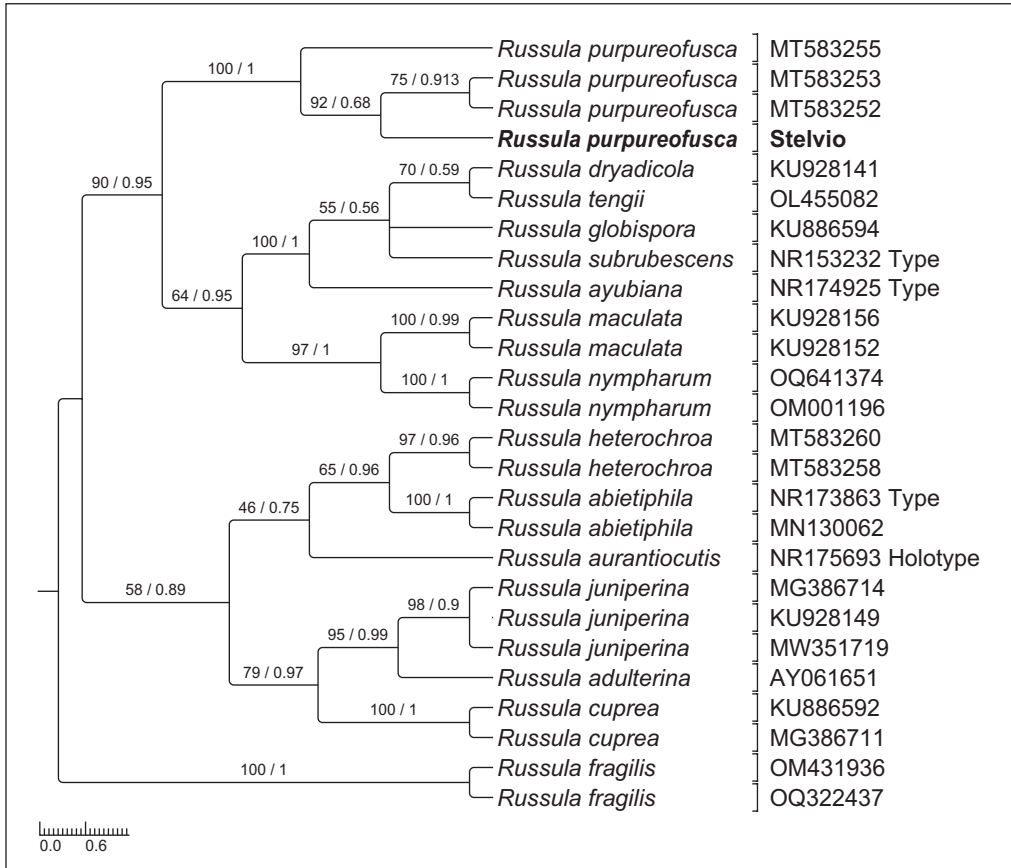
Analisi filogenetica

Il lavoro di sequenziamento genetico è stato effettuato dalla ditta Alvalab (alvalab.es). Il DNA è stato estratto da materiale secco, impiegando un protocollo modificato basato su MURRAY & THOMPSON (1980). Le reazioni PCR (MULLIS & FALOONA 1987) hanno incluso 35 cicli ad una temperatura di 54 °C. Per l'amplificazione della regione ITS rDNA sono stati impiegati i primer ITS1F, ITS4 e ITS4B (WHITE *et al.* 1990, GARDES & BRUNS 1993). I prodotti della PCR sono stati trattati in gel di agarosio all'1% e le reazioni positive sono state sequenziate con uno e entrambi i primer PCR. I cromatogrammi sono stati controllati alla ricerca di eventuali errori di lettura e corretti.

L'albero filogenetico, radicato con due sequenze di *Russula fragilis* (Pers.: Fr.) Fr. (GenBank OM431936, OQ322437 include, oltre alla sequenza in oggetto, alcune sequenze selezionate mediante l'algoritmo BLASTn (ALTSCHUL *et al.* 1990 - <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) ed alcune sequenze estratte dall'articolo di NOSSFINGER & CRIPPS 2021. Le sequenze ITS sono state scaricate da GenBank (<http://www.Genbank.org>).

Le sequenze sono state allineate con il software MegaX (KUMAR *et al.* 2018) con l'utilizzo dell'algoritmo Muscle utilizzando i parametri preimpostati del software.

L'analisi filogenetica è stata eseguita con il software RaxML GUI 2.0 (EDLER *et al.* 2020), con l'algoritmo di ricerca standard e 1.000 repliche di bootstrap (FELENSTEIN 1985) usando il modello GTR+GAMMA. Il filogramma risultante è stato editato con il software TreeGraph 2 (Stöver *et al.*).



Filogramma di sequenze di *Russula* sez. *Urentes*, stirpe *Maculatinae* e *Cupreinae* (SARNARI 1998), basato sull'analisi della massima verosimiglianza (raxML) relativa alle regioni geniche ITS1 e ITS2. Sui nodi sono riportati i valori di MLB. La raccolta italiana è in carattere grassetto.

Descrizione

Russula purpureofusca Kühner, *Bulletin de la Société Mycologique de France* 91: 389 (1975)
 = *Russula cupreola* Sarnari, *Bollettino dell'Associazione Micologica ed Ecologica Romana*, Anno VII, 20-21 (2-3): 64 (1990)

Caratteri macroscopici

Cappello diametro da 2 a 4 cm cuticola umida e brillante, color molto variabile: malva, melanzana, rosso porpora, granata, alcuni esemplari con il centro molto scuro. In molti carpofori maturi si presentavano decolorazioni dovute all'irradiazione solare. Margine pettinato.

Lamelle bianche negli esemplari giovani progressivamente passanti all'ocra, poi al giallo con la maturazione, leggermente adnate. Non sono state riscontrate lamellule. Filo lamellare intero.

Gambo 20-30 × 5-10 mm bianco, tuberculato, clavato, ingrossato alla base ed all'apice, cedevole, con interno bambagioso.

Carne bianca, odore gradevole molto lieve, sapore piccante. Al guaiaco positiva.

Sporata IVb-IVc del codice Romagnesi.

Caratteri microscopici

Spore 8,37 ($\sigma = 0,68$) × 7,50 ($\sigma = 0,81$) μm , Qm = 1,13 $\sigma = 0,12$, obovoidi, con verruche ottuse leggermente crestate, plaga amiloide.

Basidi 14 × 36 μm , clavati, tetrasporici.

Cistidi 14 × 55 μm , con evidente appendice acuminata.

Pileipellis leggermente gelificata, costituita da peli larghi 2-4 μm , con qualche diverticolo; dermatocistidi plurisetati con qualche diverticolo.

Habitat in microselva alpina, sopra i 2500 m s.l.m., in presenza di *Salix retusa* L.

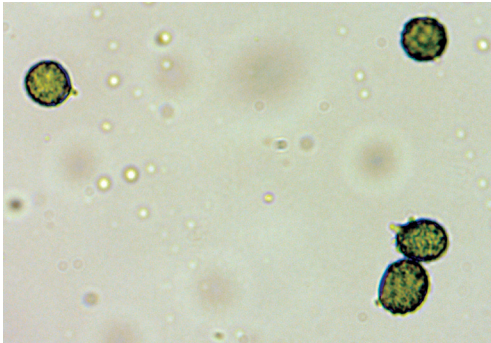
Raccolte studiate: le cinque raccolte sono state effettuate al Passo dello Stelvio, Bormio (SO) sul versante lombardo, in zona alpina, con presenza di *Salix retusa* e *Cirsium spinosissimum* (L.) Scop. nelle date 13/08/2022, 14/08/22, 16/08/22 (*exciccatum* n. 2066), 17/08/22 (*exciccatum* n. 2166) e 26/08/22 (*exciccatum* n. 2080), leg. L.R. Atzei. Le raccolte sono conservate nell'Erbario AMB del gruppo Ercole Cantù di Agrate Brianza (MB).

La raccolta del 17/08/2022, identificata con numero di erbario 2166, è stata utilizzata per lo studio microscopico e per il sequenziamento genetico della regione ITS ed è stata depositata in GenBank con il numero PP198287.

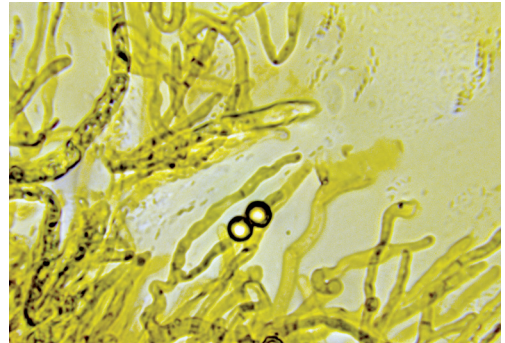


Russula purpureofusca in habitat.

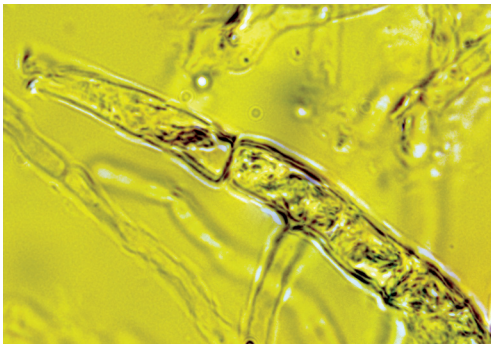
Foto di Luisa Rita Atzei



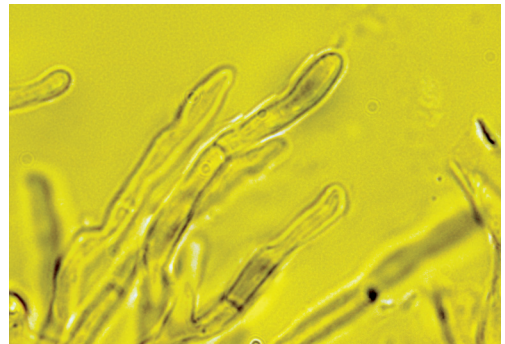
R. purpureofusca. Spore (1000×). Foto di Luisa Rita Atzei



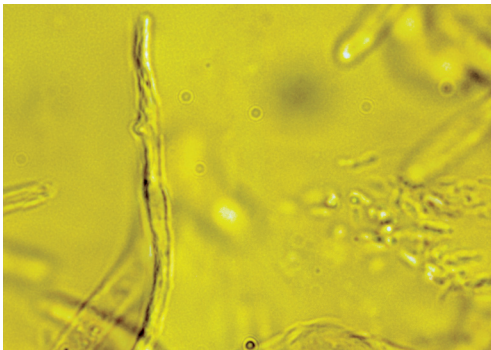
R. purpureofusca. Epicutis (400×). Foto di Luisa Rita Atzei



R. purpureofusca. Dermatocistidio dell'epicutis (400×). Foto di Luisa Rita Atzei



R. purpureofusca. Peli dell'epicutis (1000×). Foto di Luisa Rita Atzei



R. purpureofusca. Peli dell'epicutis con diverticolo (1000×). Foto di Luisa Rita Atzei

Osservazioni

Russula purpureofusca è una specie non molto comune, descritta da KÜHNER (1975) nel *Bulletin de la Société Mycologique de France*, a seguito di un ritrovamento nelle Alpi Francesi.

Kühner, però, durante la descrizione della russula in questione osservò una singola raccolta e probabilmente degli esemplari molto giovani, difatti indicò come colore della sporata "crème moyen" e non come è attualmente conosciuta in zona nordica *R. purpureofusca* con sporata carica verso il IVb-IVc.

Nel 1990 Mauro Sarnari, a seguito di raccolte del 1990 effettuate da G. Lucchini in Val Corno, Canton Ticino, Svizzera, scrisse un articolo sul *Bollettino dell'Associazione Micologica ed Ecologica Romana*, dal titolo "*Una nuova specie di Russula propria delle microsilve alpine*", in cui presentò la nuova specie *Russula cupreola*.

Successivamente a tale pubblicazione RUOTSALAINEN & HUHTINEN (2015, 2016) misero a confronto microscopicamente gli holotypus di *R. cupreola* e di *R. purpureofusca* e giunsero alla conclusione che le due specie appartenevano ad un'unica specie. Di conseguenza le due entità sarebbero da sinonimizzare a favore di *R. purpureofusca* che in questo caso sarebbe nome prioritario. *Russula cupreola* ne diventerebbe quindi un sinonimo, essendo stata descritta 15 anni dopo.

Lo stesso concetto di sinonimia è ribadito ed accettato da NOFFSINGER (2020), pagg. 156-161, nel suo lavoro dedicato alle *Russula* alpine.

Come affermato da RUOTSALAINEN & HUHTINEN, ritengo che Sarnari nella descrizione di *R. cupreola* (SARNARI 1990) non abbia pensato di compararla a *R. purpureofusca*, essendo le due specie molto diverse in termini di colore sporale.

SARNARI (1998), infatti, non menziona *Russula purpureofusca* nelle note tassonomiche di *Russula cupreola*, bensì la prende in considerazione nelle "Note tassonomiche" di *Russula laccata* Huijsman, nella parte dedicata a *Russula norvegica*, dicendo che esisterebbe una entità di confine, descritta da Kühner per la zona oloartica, ma diversa per via della sporata "crème moyen" in confronto alla sporata bianca della *Russula laccata*.

La specie è di piccola taglia come quasi tutte le *Russula* alpine, riconoscibile per la colorazione color melanzana, le lamelle bianche con un alone crema nei giovani esemplari, via via più gialle a maturità, il sapore piccante, la sporata carica, una cuticola filamentosa con la presenza di peli ottusi diverticolati e numerosi dermatocistidi plurisetati, anch'essi diverticolati.

Alcune specie simili con le quali può essere confusa *R. purpureofusca* sono:

Russula saliceticola (Singer) Knudsen & T. Borgen, che si differenzia per il sapore mite, il colore ocraceo delle lamelle nei carpofori maturi e i dermatocistidi con 0-1 setti;

Russula laccata Huijsman (= *R. norvegica* Reid, nome invalido), che si può trovare nello stesso habitat di *R. purpureofusca*, dai colori simili, carne piccante ma con sporata bianca e lamelle candide anche a maturità del carpoforo, nonché un quadro microscopico caratterizzato da dermatocistidi raramente settati e spore reticolate.

Il campione con numero di erbario 2166, sul quale è stato effettuato il sequenziamento della regione ITS, è stato confrontato tramite il software Blast ed ha trovato corrispondenza sul sito GenBank con *Russula purpureofusca* Kühner. Il campione numero 2166 è anche stato controllato sul sito Unite dove è stata trovata corrispondenza sia con *Russula purpureofusca* che con l'holotypus di *Russula cupreola*.

Sfortunatamente la sequenza dell'holotypus di *Russula cupreola* risulta bloccata e la sequenza ITS non può essere utilizzata per l'analisi filogenetica anche se Unite propone una corrispondenza del 98,2% come anche citato da NOFFSINGER (2020) alle pagine 156-161.

Posizione tassonomica: *R. cupreola*, secondo la sistematica di SARNARI (1998), si inserisce nel sottogenere *Russula*, sezione *Russula* subsezione *Urentes*, serie *Cuprea*.

Sia nell'albero filogenetico esposto nel presente lavoro, sia in quello proposto da NOFFSINGER (2021), si evidenzia che *R. purpureofusca* appartiene alla subsez. *Urentes* Maire, serie *Maculata* Sarnari e non alla serie *Cuprea* Sarnari.

Per quanto riguarda i livelli tassonomici superiori, la sez. *Russula* e il sottogenere *Russula* sono frammentati in: crown clade e core clade; le specie appartenenti alla serie *Maculata* trovano luogo nel crown clade. (ADAMČÍK *et al.* 2019, NOFFSINGER 2021).

Ringraziamenti

Ringrazio Alberto Mua per avere accettato di revisionare e correggere questo articolo. Werner Jurkeit, parte del gruppo di studio a Franzenshöhe, che mi ha guidato nella determinazione della specie, Raffaello Jon, compagno di escursione durante il primo ritrovamento. Walter Tomasi organizzatore del "Comitato scientifico dedicato ai funghi alpini", senza il quale probabilmente non avrei mai dedicato le mie ricerche alla zona del Passo dello Stelvio. Ringrazio, inoltre, Tomaso Lezzi per i preziosi consigli relativi alla stesura del presente articolo.

Indirizzo dell'autore

LUISA RITA ATZEI

Via de Castillia, 7, 20871 Vimercate (MB) (A.M.B. gruppo Ercole Cantù).

E-mail: luisa.atzei@yahoo.com

Bibliografia

- ADAMČÍK E. *et al.* – 2019: The quest for a globally comprehensible *Russula* language. *Fungal Diversity* 99 (3): 369-449. (doi.org/10.1007/s13225-019-00437-2)
- EDLER D. *et al.* – 2020. RaxmlGUI 2.0: A graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML. *Methods in Ecology and Evolution*. (doi.org/10.1111/2041-210X.13512)
- FELENSTEIN J. – 1985: Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39 (4): 783-791.
- KÜHNER R. – 1975: *Agaricales* de la zone alpine. Genre *Russula* Pers. ex S.F. Gray. *Bulletin de la Société Mycologique de France* 91: 313-390.
- KUMAR S. *et al.* – 2018: MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution* 1; 35 (6): 1547-1549.
- GARDES M. & BRUNS T.D. – 1993: ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113-118.
- MELZER V. – 1924: L'ornamentation des spores des Russules. *Bulletin de la Société Mycologique de France* 40: 78-81.
- MULLIS K. & FALOONA F.A. – 1987: Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* 155: 335-350.
- MURRAY M.G. & THOMPSON W.F. – 1980: Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8 (19): 4321-4325.
- NOFFSINGER C. – 2020: Systematic analysis of *Russula* in the North American Rocky Mountain alpine zone [MS thesis]. Bozeman, Montana: Montana State University. 277 p. [cited 2020 Jul 15]. Available from: <https://scholarworks.montana.edu/xmlui/handle/1/15902>.
- NOFFSINGER C.R. – 2021: Systematic analysis of *Russula* in the North American rocky mountain alpine zone PG22. *Mycologia*, Vol. 113: 1278-1318. (doi.org/10.1080/00275514.2021.1947695)
- RUOTSALAINEN, J., & HUHTINEN, S. – 2015 [2016]: Type studies in *Russula* 1: on two species described by Kühner. *Karstenia* 55 (1/2): 61-68.
- SARNARI M. – 1990. Una nuova specie di *Russula* propria delle microsilve alpine. *Bollettino dell'Associazione Micologica ed Ecologica Romana*, Anno VII, 20-21 (2-3): 60-65.
- SARNARI M. – 1998: *Monografia illustrata del genere Russula in Europa tomo 1*. A.M.B. Fondazione Centro Studi Micologici. Trento.
- STÖVER B.C., & MÜLLER K.F. – 2010: TreeGraph 2: combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. *BMC bioinformatics* 11: 1-9.
- WHITE T.J., BRUNS T.D., LEE S. & TAYLOR J.W. – 1990: *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: INNIS M.A., GELFAND D.H., SNINSKY J. & WHITE T.J. (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, London: 482 pp.