RMR Boll. AMER n. 124, Anno XLI, 2025 (1): 21-33
https://doi.org/10.57624/AMER.2025.2

MASSIMO BACCI, MARIA TERESA BASSO, GABRIELE CACIALLI, ADA D'ERCOLE

CALOCYBELLA PUDICA, UNA RACCOLTA DALLA PROVINCIA DI PISA

Riassunto

Gli autori segnalano un recente ritrovamento di Calocybella pudica, una non comune specie liofilloide raccolta in ambiente dunale. Vengono fornite una descrizione macro- e microscopica e le relative foto a colori. Viene inoltre riassunta la storia tassonomica della specie.

Abstract

A recent finding of Calocybella pudica, an uncommon lyophylloid species collected in dune environments, is reported. A macro- and microscopic description and colour photographs are provided. The taxonomic history of the species is also summarized.

Key words *Calocybella, Calocybella pudica, Lyophyllaceae, Rugosomyces, Basidiomycota,* fungal taxonomy, Mediterranean area.

Introduzione

Nello scorso mese di novembre, due di noi (G.C. e A. D'E.) hanno rinvenuto sulle dune del litorale pisano un'interessante specie. La raccolta è stata effettuata nel retroduna della spiaggia di Calambrone (PI), in ambiente molto antropizzato, sopra una ceppaia di *Pinus* sp. fortemente degradata, con presenza di ginepro coccolone [*Juniperus oxycedrus* ssp. *macrocarpa* (Sm.) Neilr.] e altre essenze tipiche di questo ambiente [*Ammophila arenaria* (L.) Link, *Eryngium maritimum* L., ecc.]. L'aspetto macroscopico e la crescita sulla ceppaia di pino, in seguito rivelatasi essere del tutto casuale, avevano fatto pensare ad una specie appartenente al genere *Callistosporium* Singer, in particolare *Callistosporium pinicola* Arnolds. Il successivo esame microscopico ha rivelato invece spore allungate, piatte e ornamentate, senza una guttula altamente rifrangente, caratteristiche queste non riferibili a *Callistosporium*. Inoltre i GAF erano presenti in tutti i tessuti, mentre risultano assenti in quest'ultimo genere. Un campione è stato quindi mandato ad analizzare molecolarmente. La sequenza genica della raccolta risulta essere compatibile al 100% con quella di un'altra raccolta depositata nell'erbario nazionale dell'AMB, sotto il nome di *Calocybella pudica*, e proveniente da Lido di Ostia (RM), in ambiente similare alla raccolta pisana, seppur non direttamente su una ceppaia di pino. Per quanto a nostra conoscenza si tratta della prima raccolta in territorio toscano di questa specie.

Materiali e metodi

Analisi macromorfologica

La descrizione dei basidiomi è stata effettuata su campioni di materiale fresco raccolti il giorno precedente, con esemplari sia maturi che immaturi. Per i fotocolor in ambiente è stata usata una macchina digitale Canon Power Shot SX170 IS, mentre per i fotocolor in studio è stata usata una macchina digitale Sony DSC-HX50.

Analisi microscopica

L'esame dei caratteri micromorfologici della raccolta è stato effettuato su esemplari freschi con un microscopio Nexcope, obiettivi Plan F S-Apo 20×, 40×, 100× ad immersione in olio e con

l'utilizzo di polarizzatore. Mezzi di osservazione: rosso Congo SDS, acqua. Le fotografie sono state effettuate con fotocamera digitale reflex Canon EOS 600D. La misurazione degli elementi microscopici e l'elaborazione dei dati sporali sono stati effettuati con il programma Piximètre 5.10. I dati delle misure sporali e il valore risultante del Q sporale (lunghezza/larghezza) sono espressi con la formula (MINI) min-max (MAXI). Vengono inoltre indicate le rispettive medie Me e Qe. Le misurazioni e i rilievi di forma e ornamentazioni sporali sono stati effettuati su spore in vista laterale.

Estrazione del DNA, amplificazione PCR e sequenziamento

Il DNA totale è stato estratto da esemplari secchi utilizzando un protocollo modificato basato su Murray & Thomson (1980). Le reazioni di PCR (Mullis & Faloona 1987) hanno compreso 35 cicli con una temperatura di "annealing" di 54 °C. I primer ITS1F e ITS4 (White *et al.* 1990; Gardes & Bruns 1993) sono stati utilizzati per amplificare le regioni rDNA ITS, i primer LR0R e LR5 (Vilgalys & Hester 1990; Cubeta *et al.* 1991) per la regione rDNA 28S e i primer LR0R/LR6 (Vilgalys & Hester 1990) per la regione rDNA LSU. I prodotti della PCR sono stati controllati in gel di agarosio all'1% e gli "ampliconi" sono stati sequenziati con uno o entrambi i primer PCR.

Analisi della sequenza

La sequenza della nostra raccolta è stata confrontata con altre depositate nel database di GenBank, tramite l'algoritmo BLASTn. (Altschul *et al.* 1990).

Altro

La sistematica indicata è quella riportata da Index Fungorum (IF 2024). I nomi degli autori sono stati abbreviati seguendo Kirk & Ansell (2003), mentre i codici di erbario seguono il database in rete aggiornato da Thiers (2019).

TASSONOMIA

Calocybella pudica (Bon & Contu) Vizzini, Consiglio & Setti, in Vizzini, Consiglio, Setti & Ercole, *IMA Fungus* 6 (1): 5 (2015).
MycoBank MB 811740

Basionimo *Rugosomyces pudicus* Bon & Contu, *Doc. Mycol.* 29 (116): 35 (2000).

Sinonimi omotipici *Lyophyllum pudicum* (Bon & Contu) Consiglio & Contu, *Micol. Veg. Medit.* 19: 159 (2005) ["2004"]. *Calocybe pudica* (Bon & Contu) Arnolds, *Acta Mycol.* 41: 38 (2006). *Gerhardtia pudica* (Bon & Contu) Vizzini, Consiglio & Setti, *Index Fungorum* 155: 1 (2014).

Nomi male applicati *Tricholoma chrysenteron* var. *juncicola* R. Heim, *Treb. Mus. Ciènc. Nat. Barcelona*, ser. Bot. 15: 101 (1934). *Calocybe juncicola* (R. Heim) Singer, *Ann. Mycol.* 41: 109 (1943); nom. inval. (Art. 35.1). *Calocybe juncicola* (R. Heim) Singer, *Sydowia* 15: 47 (1962) ["1961"]. *Calocybe chrysenteron* var. *juncicola* (R. Heim) G. Moreno, *Cryptog. Mycol*. 15: 240 (1994). *Lyophyllum juncicola* (R. Heim) Kühner & Romagn., *Fl. Champ. Sup.*: 162 (1953); nom. inval. (Art. 41.5). *Rugosomyces chrysenteron* var. *juncicola* (R. Heim) Bon, *Doc. Mycol.* 21 (82): 65 (1991).

Typus raccolta-tipo proveniente dalla Sardegna (28/10/1999, *leg.* Marco Contu), in una pioppeta a *Populus nigra* L. di impianto artificiale, all'interno del complesso sportivo "Fausto Noce" nei pressi di Olbia (SS). Holotypus depositato nell'erbario della Facoltà di Farmacia dell'Università di Lille (LIP), Francia, con numero di voucher 991028. Isotypus LIP-MB 991027.

Diagnosi originale di *Rugosomyces pudicus* Bon & Contu

Pileus 0,7-2 cm, parce carnosus, convexo-campanulatus dein planiusculus, discus versum obtuse mammosus, leviter rugulosus, haud hygrophanus, pallide flavobrunneus, saepe albopruinosus, postremo vel de sicco rubescens, numquam striatus. Lamellae crassiusculae, subdistantes, sinuato-adnatae, pallidae flavae, dein flavo-sulphurinae, postremo rubescentes. Stipes 2-4 × 0,2-0,5 cm, pileo confluens saepe excentricus, cylindricus, inferne attenuatus vel subradicans, superne conspicue flavopruinatus, aliunde

albopruinosus, postremo vel de sicco omnino rubescens. Caro parce conspicua, alba, tactu fractaque vivide rubescens, odor saporque farinaceis.

Sporarum pulvis alba. Sporae 5-6 × 3,5-4,5 µm, cyanophilae, late ellipsoideae vel obpyriformes, leves vel leviter angulosae, hyalinae. Basidia 20-30 × 7-8 µm, tetraspora, clavata, cum granulis siderophilis. Lamellarum trama regularis. Cystidia nulla. Pileipellis ex cellulis inflatis poligonalibus efformata, re ipsa in sectione Rugosomyces disponenda est. Pigmento intraparietali. Fibulae numerosae.

Habitatio parce gregaria in humidis locis, inter Populis (P. nigra), in humo acido. Autumno.

Holotypus n° 991028, in herb. LIP, *(in Sardinia, prov. Sassari, Olbia, Complesso Sportivo, «F. Noce», 28-10-1999, lectus) – Cotypus n° 271099, in herb. M. Bon.*

Caratteri macroscopici (Figg. 1-5)

Cappello fino a 2,5 cm di diametro, piano-convesso, talvolta con un umbone ottuso poco prominente; cuticola asciutta, non igrofana, di colore giallo-bruno, ricoperta non completamente da una leggera pruina biancastra (**Fig. 3**).

Lamelle non molto fitte, sinuate, adnate, bianche nei giovani esemplari ma presto di colore giallo-zolfo; filo più chiaro, biancastro (**Fig. 4**).

Gambo fino a 4,5 cm di lunghezza × 0,5 cm di diametro, pressoché cilindrico con base attenuata, striato con fibrille, talvolta leggermente eccentrico, farcito, in taluni esemplari confluente alla base, anch'esso ricoperto da una pruina come il cappello, più giallastra alla sommità, presenza di rizoidi giallastri.

Carne abbastanza soda, tenace, di colore giallastro, virante al rosso sangue al tocco e alla sezione; odore tenue, debolmente farinoso; sapore analogo, con una leggera acredine.

Reazioni macrochimiche velocemente al rosso rubino con KOH 5% e NH_4OH 10% in tutte le parti del basidioma; carne rapidamente al viola-ametista a contatto con KOH 5% e al verdastro pallido con $FeSO_4$ (**Fig. 5**).

Caratteri microscopici (Figg. 6-11)

Spore (4,9) 5,1-6,4 (6,9) × (2,8) 3,1-3,6 (4) µm; Q = (1,4) 1,5-2 (2,1); N = 32; Me = 5,6 × 3,3 µm; Qe = 1,7; di forma ellissoide-oblunga, anche larmiforme, con apicolo ben evidente, con contenuto mono o pluriguttulato; in maggior parte lisce (verosimilmente trattasi di quelle ancora poco o non mature), altre con verruche basse, più o meno evidenti, piuttosto rade; cianofile, non amiloidi (**Fig. 6**).

Basidi clavati, tetrasporici, talvolta bisporici, presenza di granulazioni siderofile di dimensioni contenute ma ben visibili con reazione carminofila (**Figg. 7-8**).

Trama lamellare composta da ife subcilindriche, disposte in maniera da regolare a subregolare, larghe 1,4-4 µm (**Fig. 9**).

Cistidi non osservata presenza di cheilo- e pleurocistidi.

GAF presenti alla base dei basidi ed in tutti i tessuti osservati.

Pileipellis suprapellis di tipo filamentoso, lievemente gelificata, con ife larghe 1-2,5 µm, disposte tipo cutis un po' intrecciata, con sporadici terminali emergenti, subcilindrici o appena ingrossati verso l'apice; subpellis composta da ife disposte anch'esse in maniera subregolare, ma di maggiore larghezza, fino a 6-10 µm; negli strati più profondi si evidenziano anche elementi più ingrossati, subisodiametrici; osservato pigmento parietale incrostante, sotto forma di ispessimenti della parete, e pigmento citoplasmatico (**Figg. 10-11**).

Habitat la nostra raccolta è stata effettuata in ambiente dunale, ma in letteratura sono riportati altri ritrovamenti sotto pioppo (*Populus nigra*) da impianto artificiale, sotto cisto e anche in prato retrodunale pascolato con substrato sabbioso, nonché in presenza di *Juncus* sp. A crescita gregaria, in piccoli gruppi, talvolta con esemplari fascicolati in numero di 2-3. Conosciuta



Fig. 1. *Calocybella pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Esemplari in habitat. Foto di Ada D'Ercole



Fig. 2 (in alto). *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Vista d'insieme.
Foto di Massimo Bacci



Fig. 3 (a destra). *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Particolare della pruina sulla cuticola.
Foto di Massimo Bacci



Fig. 4 (in alto). *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Vista dell'imenio. Foto di Massimo Bacci



Fig. 5 (a destra). *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Reazione al KOH. Foto di Maria Teresa Basso

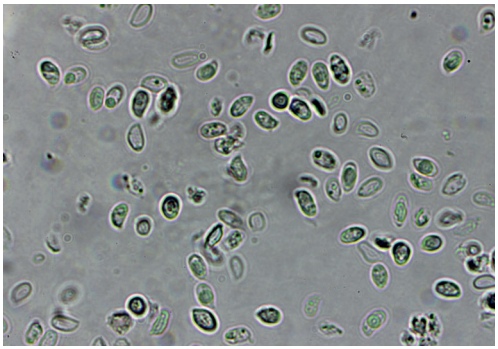


Fig. 6. *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Spore 100×. Foto di Maria Teresa Basso

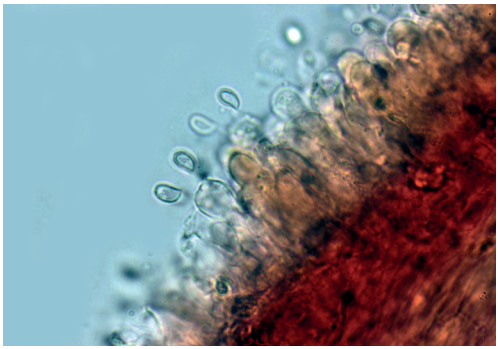


Fig. 7. *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Basidi 100×. Foto di Maria Teresa Basso

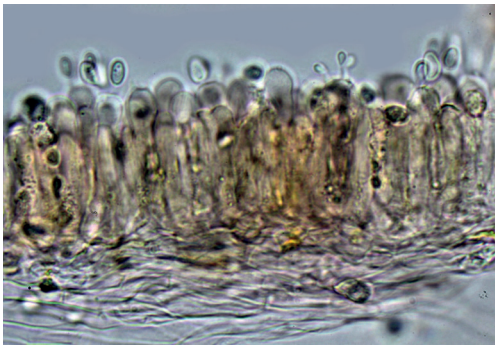


Fig. 8. *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Basidi e imenio 40×. Foto di Maria Teresa Basso

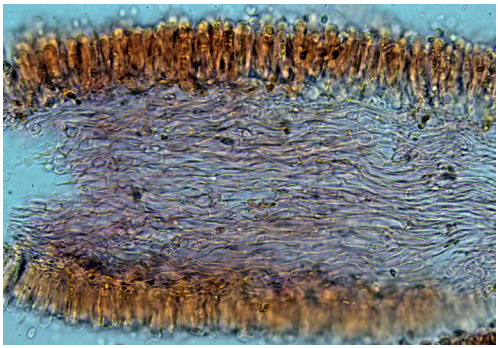


Fig. 9. *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Trama lamellare. Foto di Maria Teresa Basso

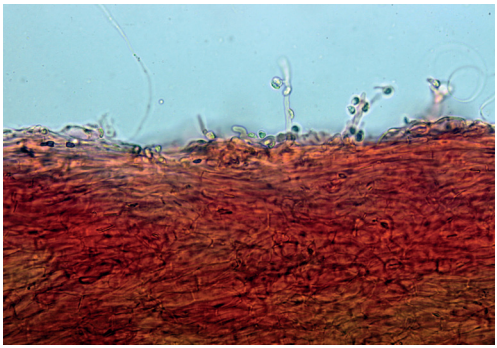


Fig. 10. *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Pileipellis 40×. Foto di Maria Teresa Basso

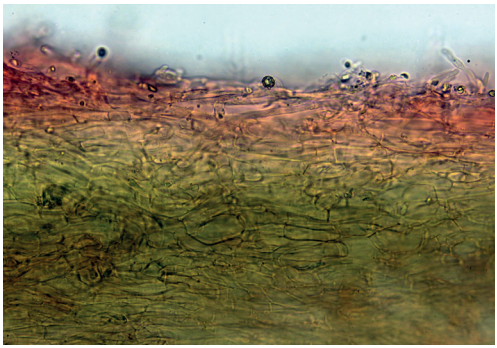


Fig. 11. *C. pudica*. Raccolta 01-11-2024, Calambrone (PI). Suprapellis e subpellis 40×. Foto di Maria Teresa Basso

dall'Italia (Sardegna, Lazio, Toscana, Emilia-Romagna), Francia (sub *Calocybe cerina* var. *juncicola*, fide M. Bon) e Spagna (Pancorbo *et al.* 2016: 175-176). Nel database di GenBank è riportata la sequenza rDNA di una raccolta proveniente dall'India, siglata MW487244 con voucher KUBOT-KRMK 2020-100 (Liu *et al.* 2024: **fig. 79**), corrispondente al 100% alla raccolta di Lido d'Ostia (AMB 15994).

Raccolte studiate 22/11/2008 e 18/11/2012, Parco Nazionale del Circeo, retroduna del litorale di Sabaudia (LT), in ambiente praticolo ricco di muschio su substrato sabbioso, *leg.* L. Perrone (**Figg. 12-13-14**); 23/11/2008, stesso luogo, G. Consiglio *et al.* (AMB 15995); 01/11/2024, località Calambrone (PI), 0 m s.l.m., una dozzina di esemplari nel retroduna con forte presenza di ginepro coccolone (*Juniperus oxycedrus* ssp. *macrocarpa*) e altre essenze tipiche dell'ambiente dunale, *leg.* G. Cacialli & A. D'Ercole. I campioni secchi della raccolta toscana sono stati depositati presso gli erbari privati degli autori con numero di inventario CAL241101/01.



Fig. 12. *Calocybella pudica*. Raccolta 18-11-2012, Sabaudia (LT). Retroduna. Esemplari in habitat. Foto di Luigi Perrone



Fig. 13. *C. pudica*. Raccolta 22-11-2008, Sabaudia (LT). Retroduna. Esemplari in habitat. Foto di Luigi Perrone



Fig. 14. *C. pudica*. Raccolta 22-11-2008, Sabaudia (LT). Retroduna. Esemplari in habitat. Foto di Luigi Perrone

Note storico-tassonomiche

Malgrado la sua recente istituzione (2000) questa specie ha avuto una storia tassonomica complicata, che l'ha portata ad essere collocata in ben cinque generi diversi nell'arco temporale di soli quindici anni. Cercheremo qui di riassumerne la storia, attingendo ampiamente dai lavori riportati in bibliografia.

Questa specie raccoglie caratteristiche appartenenti a diversi generi delle *Lyophyllaceae* Jülich, per cui la sua posizione tassonomica è stata più volte dibattuta.

La specie fu creata da Marcel Bon e Marco Contu (Bon & Contu 2000) a seguito di un ritrovamento dello stesso Contu in una pioppeta di impianto artificiale in Sardegna. La presenza di granulazioni carminofile nei basidi e la cianofilia sporale ne consentirono l'inserimento nella famiglia delle *Lyophyllaceae*, mentre la struttura del rivestimento pileico, composta da ife in parte piuttosto allargate nella parte terminale, suggerirono agli autori del basionimo il collocamento della nostra specie nel genere *Rugosomyces* Raithelh. emend. Bon. Per il notevole arrossamento della carne al tatto e al taglio, caratteristica aberrante per il genere, fu creata l'apposita monospecifica sottosezione *Rubescentes* Bon & Contu della sezione *Rugosomyces* Raithelh. (*Species sectionis Rugosomycetis carne tactu vivide rubescente*).

Il genere *Rugosomyces* fu creato da Jörg H. Raithelhuber (Raithelhuber 1979) per le specie liofilloidi (taxa con basidi siderofili) precedentemente collocate in *Calocybe* Kühner ex Donk, aventi habitus collibioide, colorazioni sgargianti per la presenza di pigmenti vacuolari e ife della pileipellis composte da elementi rigonfi e pseudoparenchimatici (intrecciantesi a formare un falso tessuto). Il genere fu emendato da Marcel Bon (Bon 1991) per includervi sia i taxa con una pileipellis ad elementi più o meno rotondeggianti (sect. *Rugosomyces*), sia i taxa con una pileipellis a trichoderma con elementi corti e catenulati (sect. *Carneoviolacei* Bon), con presenza di pigmenti parietali e intracellulari, a distinguersi da *Calocybe* che per questo viene ristretta a specie a portamento tricolomatoide, con colorazioni più smorte e una pileipellis a cutis. Nell'ambito di studi ottenuti con analisi molecolari e filogenetiche (Hofstetter *et al*. 2002, 2014), fu dimostrato che il genere *Rugosomyces*, basato solo su caratteri morfologici, era artificiale, per cui si rendeva necessaria una sua rivisitazione. In particolare fu rilevato che formava un singolo clade all'interno del genere *Calocybe*.

Un successivo lavoro di Marco Contu e Antonio Ortega (Contu & Ortega 2001) sulla morfologia sporale di questa specie mediante l'utilizzo del SEM, dimostrò che le spore di *Rugosomyces pudicus* possedevano una parete ondulata e ornamentata e che tali ornamentazioni erano costituite da verruche piuttosto pronunciate, seppur abbastanza distanziate (*Rhodocybe*-like). Queste ornamentazioni sono difficilmente osservabili al microscopio ottico. Tale particolare contrasta con il resto delle specie note del genere, che hanno tutte

spore lisce. Questo carattere, unitamente al viraggio verso il rosso e alle particolari reazioni macrochimiche, indussero gli autori ad elevare di rango la sottosezione *Rubescentes*, ponendola nello status di sezione e sollevando ulteriormente il problema di una difficile collocazione sistematica. Gli autori realizzarono che vi fosse una affinità con le specie del genere *Gerhardtia* Bon, malgrado la presenza di GAF, caratteristica assente in quest'ultimo genere.

Nel 2004 Giovanni Consiglio e Marco Contu (Contu & Consiglio 2004: 159), riallacciandosi anche al lavoro precedente, ricombinarono la nostra specie nel genere *Lyophyllum* P. Karst., nell'ambito di uno studio sulle specie europee del genere *Gerhardtia*. Gli autori esaminarono al SEM le spore delle specie appartenenti a questo genere, evidenziando che le stesse avevano una parete ondulata o verrucoso-ondulata, similarmente a molte specie del genere *Rhodocybe* Maire, le quali tuttavia hanno una sporata rosata o grigiastra. Dato che anche *Rugosomyces pudicus* ha spore similari, tale caratteristica, a loro parere, non ne poteva consentire il mantenimento in *Rugosomyces*, per cui gli autori ricombinarono la specie in *Lyophyllum* s.l. (inteso in senso ampio, inclusi cioè i generi *Calocybe* e *Tephrocybe* Donk) e ne esclusero l'inserimento in *Gerhardtia* per la presenza di GAF.

Siamo nel 2006, quando il micologo olandese Eef Arnolds (Arnolds 2006: 38) ricombinò *Rugosomyces pudicus* in *Calocybe*, attenendosi agli studi di Hofstetter *et al.* (2002, 2014), non riconoscendo a *Rugosomyces* lo status di genere e applicando a *Lyophyllum* un senso più stretto, con *Calocybe* e *Tephrocybe* intesi come generi autonomi.

Bernardo Picillo e Marco Contu nel 2009 segnalarono una serie di raccolte laziali di *Calocybe pudica* (Picillo & Contu 2009), provenienti da Lido di Ostia e da Sabaudia, le prime fuori dalla Sardegna. In questo lavoro gli autori riconobbero la ricombinazione in *Calocybe* da parte di Arnolds, attribuendole una migliore collocazione della specie in esame.

Successivamente Alfredo Vizzini provvide a ricombinare la specie nel genere *Gerhardtia* in *Index Fungorum* (Vizzini 2014), senza addurne il motivo, ma probabilmente per il tipo di ornamentazione sporale.

Finalmente nel 2015 venne meglio definito il genere di appartenenza di questa specie. A seguito di studi molecolari e filogenetici venne istituito il nuovo genere *Calocybella* Vizzini, Consiglio & Setti (Vizzini *et al.* 2015: 5). Fino a qui *Rugosomyces pudicus* non era mai stato sottoposto a tali studi. Gli autori sequenziarono quattro raccolte depositate nell'erbario AMB, provenienti da Lido di Ostia (RM) (AMB 15994), Sabaudia (LT) (AMB 15995), Bassa del Bardello (RA) (AMB 15996, AMB 15997) e le inserirono in un albero filogenetico composto da 35 sequenze ITS e 81 sequenze LSU, provenienti da generi liofilloidi dei database GenBank e UNITE. Le sequenze di *Rugosomyces pudicus* si presentarono raggruppate in un clade monofiletico ben supportato e "sister" a un clade di sequenze di specie di *Gerhardtia*. Entrambi formavano a loro volta un "sister clade" con specie del genere *Myochromella* V. Hofst., Clémençon, Moncalvo & Redhead, genere caratterizzato da basidiomi micenoidi, con pileo striato e igrofano, lamelle libere o semilibere, presenza nelle ife di pigmenti bruno-grigiastri, carne immutabile e spore lisce. Per tale motivo venne istituito il nuovo genere *Calocybella*, con specie tipo *Calocybella pudica*. Diagnosi del genere: "*The genus is distinguished from Gerhardtia Bon by the context turning red on bruising and violaceous-red in alkaline solutions, the presence of clamp-connections and different ITS and LSU sequences*".

Nello stesso lavoro gli autori rilevarono che nel medesimo biotopo dei ritrovamenti emiliano-romagnoli Hausknecht & Zuccherelli (1994) avevano effettuato una raccolta, su detriti di *Juncus* sp., da loro determinata come *Calocybe juncicola* (R. Heim) Singer. Questa specie fu originariamente descritta sulla base di una collezione dalla Spagna, crescente su frustuli di *Juncus acutus* L., col nome di *Tricholoma chrysenteron* var. *juncicola* R. Heim (Heim *et al.* 1934: 101-103 + pl. IV) (**Fig. 15**), senza indicazione del typus. Dalla descrizione riportata sul protologo e dalla relativa tavola a colori, il taxon ricorda *Calocybella pudica*, sebbene sia descritta con spore lisce e carne immutabile. Senza addentrarci troppo nelle successive ricombinazioni di questo

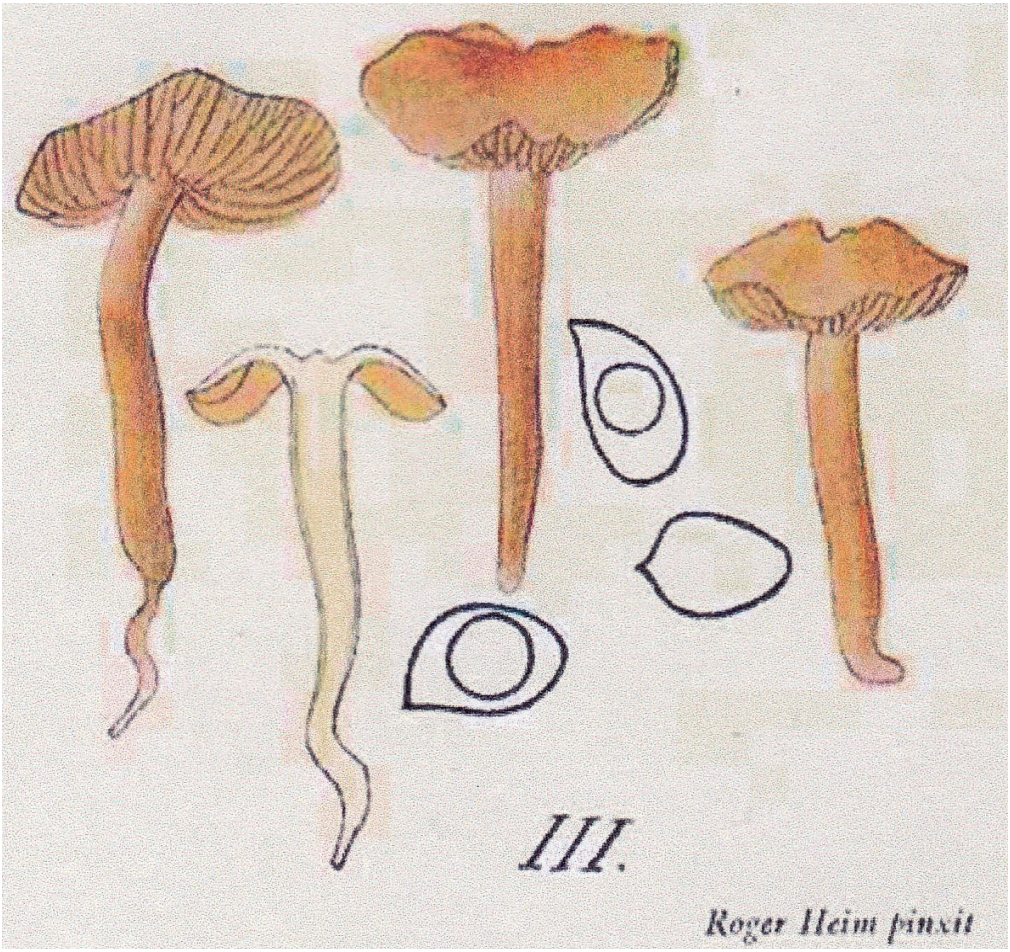


Fig. 15. Heim 1934, pl. IV, f. III (*Tricholoma chrysenterum* Fr. ex Bull. var. *juncicola* Heim)

taxon (si veda il paragrafo "Nomi male applicati"), la specie non è più stata collezionata dalla località-tipo, ma altre raccolte ad essa riconducibili, sotto vari nomi, sono state effettuate da Moreno *et al.* (1994: 240-241), Marcel Bon (LIP 80092406) e, come detto, da Hausknecht & Zuccherelli (1994). Tutti gli autori concordarono sul fatto che le spore erano lisce. La specie venne poi esaustivamente studiata da Arnolds (2006: 35-37) e la stessa raccolta (WU 20752) da Vizzini *et al.* (2015: 10). Moreno *et al.* (1994) e Arnolds (2006) ne focalizzarono il viraggio alle soluzioni alcaline. Vizzini *et al.* (2015: 10) evidenziarono, invece, che le collezioni in Hausknecht & Zuccherelli (1994), Arnolds (2006) e quella francese di Bon avevano spore verrucose, non avendo potuto studiare la raccolta spagnola in quanto non più disponibile, ma comunque riconducibile a *Calocybe juncicola* dai caratteri morfologici. Per questi motivi Vizzini *et al.* (2015: 10) ritennero tutte queste collezioni riferibili a *Calocybella pudica*, sospettando quindi che *Tricholoma chrysenteron* var. *juncicola* R. Heim, nel senso originario, potesse essere proprio *Calocybella pudica* stessa. Tuttavia, in assenza di nuove raccolte dalla località-tipo, considerarono tale nome di incerta applicazione.

Nel 2017 uscì un lavoro in lingua francese (Corriol *et al.* 2017) in cui gli autori descrissero un ritrovamento nell'erbario crittogamico del Museo Nazionale di Storia Naturale di Parigi (PC),

di un album di collezioni di Roger Heim intitolato "*Champignons de Catalogne*", corrispondente alla pubblicazione "*Fungi Iberici*" (Heim *et al.* 1934). All'interno vi era, tra l'altro, una busta non numerata, vergata "*Tricholoma chrysenteron* var. *juncicola*, 7/11/32, su ceppi di *Juncus acutus*", contenente due mezzi esemplari in condizioni apparentemente molto buone. Questo materiale era senza dubbio quello su cui Heim aveva basato la sua descrizione nel protologo: "*Su ceppi e detriti di Juncus acutus, in luoghi umidi ai margini delle pinete, presso Pals, vicino a Girona*". "*Girona, 7-XI*". Lo studio microscopico, effettuato su questo esemplare, aveva evidenziato spore larmiformi, distintamente verrucose, non amiloidi e non cianofile (!), pertanto gli autori si sentirono di confermare le supposizioni di Arnolds (2006) e Vizzini *et al.* (2015) sopra riportate a riguardo della coincidenza di questo taxon con *Calocybella pudica*. Forti di questa asserzione ricombinarono *Tricholoma chrysenteron* var. *juncicola* in *Calocybella juncicola* (R. Heim) P.-A. Moreau, Bellanger & Corriol e ne posero *Calocybella pudica* in sinonimia posteriore. Ne designarono, altresì, il lectotypus: "*Espagne: Catalogne, près de Pals, environs de Girona, 7 novembre 1932, sur souches de Juncus acutus, collection R. Heim «Champignons de Catalogne», PC 7023636. MycoBank MBT 374634*". Il basionimo, ovviamente, è *Tricholoma chrysenterum* [«*chrysenteron*»] var. *juncicola* R. Heim, *Treb. Inst. Bot. Barcelona* 15 (3): 101 (1934).

Discussione

Per quanto precedentemente riportato sembrerebbe che il nome *Calocybella pudica* debba essere sostituito da *Calocybella juncicola*, essendo un binomio posteriore di quest'ultimo. Tuttavia, a nostro parere, studi moderni necessitano di strumenti molecolari a supporto, in particolar modo nel caso di specie nuove o ricombinazioni. Pertanto, non dubitando minimamente della buona fede e delle capacità professionali degli autori francesi, preferiamo continuare ad usare il nome *Calocybella pudica* per questa specie, anche in attesa di ulteriori prese di posizione da parte della comunità scientifica al riguardo.

Visti gli habitat di crescita di *Calocybella pudica*, si può dire che sia una specie a distribuzione mediterranea, sicuramente non comune, reperibile in ambienti a forte influenza antropica, con esigenze edafiche non particolarmente esigenti e che non intrattiene rapporti di simbiosi micorrizica, ma piuttosto caratterizzata da un saprofitismo tipico di altre specie liofilloidi, quali ad esempio *Calocybe persicolor* (Fr.) Singer, *Calocybe carnea* (Bull.) Donk, ecc.

La specie ha un aspetto macroscopico ingannevole, come ben rilevabile dalle foto proposte, ricordando un più comune *Gymnopilus* P. Karst. oppure, meglio ancora, un *Callistosporium*. Le spore ialine e l'assenza di cistidi escludono la prima ipotesi, mentre l'assenza di inclusioni rifrangenti in ammoniaca nelle spore e la presenza di abbondanti GAF in tutti i tessuti escludono la seconda. Inoltre nessuno di questi due generi ha basidi carminofili. Da considerare anche il viraggio al rosso sia al tocco che al taglio, non tipico di alcuna specie dei due generi precedenti.

L'intensità e la velocità del viraggio non è costante in ogni raccolta. In letteratura sono riportati viraggi molto intensi e veloci per le raccolte laziali, mentre in quelle ravennati il viraggio è avvenuto solo dopo un lungo strofinamento. Nella nostra raccolta il viraggio è passato quasi inosservato e evidenziato solo dopo essere venuti a conoscenza di tale carattere.

Le ornamentazioni delle spore di *Calocybella pudica* sono difficilmente visibili al microscopio ottico, per cui un eventuale osservatore può essere indotto in errore ritenendo le spore stesse lisce. Inoltre l'altezza delle ornamentazioni varia con l'età dei basidiomi e la quantità stessa delle ornamentazioni è variabile da raccolta a raccolta, potendo quindi essere scarse fino a ricoprire completamente la spora. Una migliore osservazione si ha usando tecniche di interferenza e contrasto di fase. Ovviamente risultano chiaramente visibili al SEM.

La presenza di ornamentazioni sporali potrebbe indurre il determinatore ad includere questa specie in *Gerhardtia*, ma tale genere risulta essere privo di GAF, abbondantemente presenti invece in tutti i tessuti di *Calocybella pudica*.

La raccolta toscana da noi effettuata ha evidenziato una microscopia della pileipellis in linea con quanto riportato in Vizzini *et al.* (2015: 6), mentre si discosta molto dalla descrizione che ne dà Marcel Bon nel protologo di *Rugosomyces pudicus* (Bon & Contu, 2000: 35). La tal cosa non è segnalata dagli autori del suddetto articolo e per capirne di più sarebbe auspicabile lo studio dell'holotypus, di cui peraltro manca la sequenza genica. Da parte nostra ci rendiamo disponibili ad effettuare ulteriori approfondimenti, eventualmente riuscissimo ad entrare in possesso di un campione della raccolta-tipo.

La nostra raccolta è stata sequenziata (ITS + LSU) ed è risultata essere corrispondente al 100% alla raccolta di Lido d'Ostia (AMB 15994), le cui sequenze ITS e LSU sono depositate nel database di GenBank con i numeri di accesso KP858000 e KP858005 rispettivamente. Anche la nostra sequenza è stata depositata nello stesso database con il numero di accesso PV199134.

Secondo il database di Index Fungorum, ad oggi il genere *Calocybella* conta otto specie a livello mondiale. Oltre alla europea *Calocybella pudica* (= *Calocybella juncicola*), altre quattro specie provengono dall'India: *Calocybella babruka* K.N.A. Raj & Manim., *Calocybella lohitha* K.N.A. Raj & Manim., *Calocybella swetha* K.N.A. Raj & Manim. (Latha *et al.* 2016) e *Calocybella dicholamellata* K.P.D. Latha, K.N.A. Raj & Manim. (Latha *et al.* 2020); due dalla Repubblica Domenicana: *Calocybella dominicana* Angelini & Vizzini (Vizzini *et al.* 2017) e *Calocybella goethei* Angelini & Vizzini (Crous *et al.* 2021); una dalla Thailandia: *Calocybella sribuabanensis* N. Suwannarach, Kumla & Lumyong (Liu *et al.* 2024). Essendo specie extra-europee, in questa sede non forniremo una discussione in merito. Gli interessati potranno consultare i relativi articoli in bibliografia.

Conclusioni

Con questo lavoro gli autori vogliono contribuire ad una migliore conoscenza di *Calocybella pudica*, ad oggi nota solo in poche stazioni in ambiente mediterraneo.

Essendo una specie da considerarsi rara e con un areale di crescita limitato alla zona mediterranea, è opinione che *Calocybella pudica* dovrebbe essere soggetta agli sforzi di conservazione della Natura e considerata nei progetti di "*red lists*" nazionali e globali. Per ottenere un aggiornamento sullo stato attuale della sua popolazione, le località conosciute dovrebbero essere rivisitate e monitorate regolarmente.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano Luigi Perrone per aver fornito alcune raccolte personali con le rispettive foto macro e il laboratorio di analisi ALVALAB (Oviedo) per la sequenza genica della raccolta toscana.

Indirizzi degli autori

Massimo Bacci
Via Livornese Ovest, 38, 56035 Casciana Terme Lari (PI-IT).
E-mail: baccimassimo59@gmail.com

Maria Teresa Basso
Via Croce, 31, 56035 Casciana Terme Lari (PI-IT).
E-mail: emmetibi58@gmail.com

Gabriele Cacialli
Via A. Cecioni, 10, 57127 Livorno (IT).
E-mail: gabriele.cacialli@alice.it

Ada D'Ercole
Via P. Paoli, 26, 57125 Livorno (IT).
E-mail: adadercole@gmail.com

Bibliografia

Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W. & Lipman D.J. – 1990: Basic local alignment search tool. *Journ. of Molec. Biol.* 215: 403-410.

Arnolds E. – 2006: A confusing duo: *Calocybe cerina* and *Callistosporium pinicola*. *Acta Micol.* 41 (l): 29-40.

Bon M. – 1991: Les genres *Echinoderma* (Locq. ex Bon) st. nov. et *Rugosomyces* Raithelhuber ss. lato. *Doc. Micol.* 21 (82): 61-66.

Bon M. & Contu M. – 2000: Une nouvelle espèce de *Rugosomyces* rougissant. *Doc. Mycol.* 29 (116): 35-36.

Contu M. & Consiglio G. – 2004: Il genere *Gerhardtia (Lyophyllaceae)* in Europa, con osservazioni sulle rimanenti specie conosciute. *Micol. Veget. Medit.* 19 (2): 151-162.

Contu M. & Ortega A. – 2001: Studi sulle *Lyophyllaceae* della Sardegna. V. Morfologia sporale di *Rugosomyces pudicus* ed implicazioni sulla sua posizione sistematica. *Bol. Soc. Micol. de Madrid* 26: 171-176.

Corriol G., Moreau P.-A. & Bellanger J.M. – 2017: *Calocybe hymenoderma* sp. nov., *Calocybella juncicola* comb. nov. et les con tours taxinomiques de la section *Rugosomyces*. *Errotari* 14: 35-46.

Crous P.W., Osieck E.R., Jurjevi Ž., Boers J. *et al.* – 2021: Fungal planet description sheets: 1284-1382. *Persoonia* 47: 178-374.

Cubeta M.A., Echandi E., Abernethy T. & Vilgalys R. – 1991: Characterization of anastomosis groups of binucleate Rhizoctonia species using restriction analysis of an amplified ribosomal RNA gene. *Phytopath.* 81 (11): 1395-1400.

Gardes M. & Bruns T.D. – 1993: ITS primers with enhanced specificity for *Basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts*. *Molec. Ecol.* 2 (2): 113-118.

Hausknecht A. & Zuccherelli A. – 1994: Ritrovamenti interessanti dal Ravennate. 3ª Parte. *Boll. Gr. Micol. G. Bres.* N.S. 1994: 67-95.

Heim R.., Font Quer P. & Codin A.J. – 1934: *Fungi Iberici. Observations sur la flore mycologique Catalane.* Treballs del Museu de Ciències Naturals de Barcelona, sèrie Botanica 15 (3): 1-146.

Hofstetter V., Clémençon H., Vilgalys R. & Moncalvo J.-M. – 2002: Phylogenetic analyses of the *Lyophylleae (Agaricales, Basidiomycota*) based on nuclear and mitochondrial rDNA sequences. *Mycol. Res.* 106: 104-1059.

Hofstetter V., Redhead S.A., Kauff F., Moncalvo J.-M. & Matheny P.B. – 2014: Taxonomic revision and examination of ecological transitions of the *Lyophyllaceae (Basidiomycota, Agaricales)* based on a multigene phylogeny. *Crypt., Mycol.* 35: 399-425.

Latha K.P.D., Raj K.N.A. & Manimohan P. – 2020*: Diversity of the genus Calocybella* Vizzini, Consiglio & Setti in Kerala State, India. *Crypt., Mycol.* 41 (8): 147-156. (doi.org/10.5252/cryptogamie-mycologie 2020v41a8)

Latha K.P.D., Raj K.N.A., Thushara C., Sharafudheen S.A. & Manimohan P. – 2016: Three new species of *Calocybella* from India based on morphology and molecular phylogeny. *Phytot.* 255 (2): 133-143. (doi. org/10.11646/phytotaxa.255.2.2)

Liu S.L., Wang X.W., Li G.J., Deng C.Y. *et al.* – 2024: Fungal diversity notes 1717–1817: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungal taxa. *Fung. Div.* 124: 1–216.

Moreno G., Arenal F. & González V. – 1994: Algunos *Agaricales* de las playas de Espana peninsular. *Crypt., Mycol.* 15 (4): 239-254.

Mullis K. & Faloona F.A. – 1987: Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Meth. in Enzym.* 155: 335-350.

Murray M.G. & Thompson W.F. – 1980: Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nuc. Ac. Res.* 8 (19): 4321-4325.

Pancorbo F., Campos J.C, Merino D., Tello S., Illescas T., Becerra M., Robles E., Pérez De Gregorio M.À., Moreno J.F., Sánchez F. & Conca A. – 2016: Research on the mycobiota of the dune ecosystems of the Iberian Peninsula and Balearic Island IV. *Boll. Soc. Micol. Madrid* 40: 169-196.

Picillo B. & Contu M. – 2009: *Calocybe pudica (Basidiomycota)* osservata nel Lazio. *Micol. Veget. Medit.* 24 (1): 23-29.

Reithelhuber J. – 1979: *Calocybe* Kühner – Eine Sammelgattung? *Metrod.* 8: 9-10.

Vilgalys R. & Hester M. – 1990: Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journ. of Bacteriol.* 172 (8): 4238-4246.

Vizzini A. – 2014: Nomenclatural novelties. *Gerhardtia pudica* Vizzini, Consiglio & Setti, new combination. *Index Fungorum* 155: 1.

Vizzini A., Angelini C. & Ercole E. – 2017: Is the species diversity in the lyophylloid genera *Calocybella* and *Gerhardtia (Agaricales, Basidiomycota)* underestimated? Two new species from the Dominican Republic. *Phytot.* 291 (4): 241-252. (doi.org/10.11646/phytotaxa.291.4.1)

Vizzini A., Consiglio G., Setti L. & Ercole E. – 2015: *Calocybella*, a new genus for *Rugosomyces pudicus (Agaricales, Lyophyllaceae)* and emendation of the genus *Gerhardtia. IMA Fungus* 6 (1): 1-11.

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: 315-322. *Academic Press, London*.

Sitografia

GenBank database (GB). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/. [Ultima consultazione: 04/05/2025].

Index Fungorum database (IF). www.indexfungorum.org. [Ultima consultazione: 04/05/2025].

Kirk, P.M. & Ansell, A.E. (2003). *Authors of Fungal Names*. CABI Bioscience. www.indexfungorum.org/Names/AuthorsofFungalNames.htm. [Ultima consultazione: 04/05/2025].

Mycobank database (MB). https://www.mycobank.org/ [Ultima consultazione: 04/05/2025].

Thiers, B. (2019). *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. http://sweetgum.nybg.org/science/ih/. [Ultima consultazione: 04/05/2025].