

GIANLUIGI MARAIA, ANTONIO TACCONI, LEDO SETTI

## MYCENA PRADENSIS: UNA NUOVA SPECIE REPERITA IN ITALIA SETTENTRIONALE

**Riassunto**

*In questo articolo descriviamo per la prima volta *Mycena pradensis*, una nuova specie raccolta sul monte Baldo in provincia di Verona. Qui di seguito vengono descritte le caratteristiche microscopiche, macroscopiche e molecolari dei basidiomi studiati.*

**Abstract**

*In this article the authors describe *Mycena pradensis* for the first time, a new specie collected on Baldo Mountain in the province of Verona. The microscopic, macroscopic and molecular characteristics of the basidiomas studied are provided here.*

**Key words:** *Basidiomycota, Rubromarginatae section, *Mycena pradensis*, taxonomy, Monte Baldo, Italy.*

**Introduzione**

*Mycena pradensis* è una nuova specie appartenente alla sezione *Rubromarginatae* per la caratteristica di possedere il filo della lamella di colore rosso-brunastro. Fungo di piccole dimensioni (9-15 mm), presenta un cappello conico-campanulato con un largo umbone di colore biancastro-beige, con odore subnullo o leggermente alcalino in vecchiaia. *M. pradensis* è stata reperita per la prima volta sul Monte Baldo in provincia di Verona, ai bordi di un pascolo in presenza di querce, nocciolo e larice, nel mese di ottobre. Oltre alle indagini macro e micro morfologiche, le analisi biomolecolari, eseguite solo attraverso uno studio di omologia delle sequenze genetiche, supportano molto bene la creazione di questo nuovo taxon.

**Materiali e metodi**

Le strutture microscopiche sono state osservate principalmente su materiale secco. Le osservazioni sono state fatte usando un microscopio Zeiss Axioskop 40, in campo chiaro, in contrasto di fase e in contrasto interferenziale, usando obiettivi con ingrandimenti 10 ×, 20 ×, 40 ×, 63 × e 100 × (a immersione in olio).

Frammenti delle lamelle, sezioni trasversali delle lamelle, filo lamellare e sezioni radiali della pileipellis sono stati montati in L4 [(7,2 g di KOH, 160 ml di glicerina, 840 ml di H<sub>2</sub>O, 7,6 g di NaCl e 5 ml di Invadin Ciba-Geigy (CLÉMENÇON, 1972)] e debolmente colorati con Rosso Congo. Per la determinazione dell'amiloïdia è stato utilizzato il reagente di Melzer.

Le misurazioni delle spore sono state fatte fotografando tutte quelle (prese dall'imenoforo di esemplari maturi) presenti nel campo ottico del microscopio per mezzo del programma Mycomètre (FANNECHÈRE, 2011). Le dimensioni sporiali, con esclusione dell'appendice ilare, sono date come segue: media meno deviazione standard-media più deviazione standard della lunghezza per media meno deviazione standard-media più deviazione standard della larghezza; Q = media meno deviazione standard-media più deviazione standard del rapporto lunghezza/larghezza; Qm = media del rapporto lunghezza/larghezza; Vm = media del volume (in  $\mu\text{m}^3$ ). Il volume sporale approssimato è stato calcolato come quello di un ellissoide (GROSS, 1972; MEERTS, 1999). Le fotomicrografie sono state fatte con una camera digitale Canon PowerShot A640. Le analisi molecolari hanno previsto uno studio di omologia delle sequenze dei loci

ITS e del gene TEF-1 $\alpha$ , confrontando le nostre sequenze con quelle presenti nelle banche dati attraverso l'uso del programma BLAST di GenBank. Il DNA totale è stato estratto dal laboratorio ALVALAB (Oviedo, Spagna) per mezzo di un kit commerciale e le PCR sono state eseguite rispettivamente con i primers ITS1F/ITS4 per la regione nrITS (WHITE *ET AL.*, 1990; GARDES & BRUNS, 1993) e i primers EF1-983F e EF1-1567R (REHNER & BUCKLEY, 2005) per il gene translation elongation factor 1a (*tef1*). Le sequenze sono state depositate in GenBank.

### *Mycena pradensis* Tacconi, Setti, & Maraia sp. nov. (Foto 1, 2, 3)

Mycobank N. MB835022

**Exsiccata:** N° erbario MCVE 31261 presso museo Civico di Scienze Naturali di Venezia. Leg. A. Tacconi, 13.10.2018, Loc. Prada di San Zeno di Montagna (VR).

**Etimologia:** il nome *pradensis* fa riferimento alla località di Prada, dove è avvenuta la raccolta, che è situata sul Monte Baldo nel comune di San Zeno di Montagna in provincia di Verona.

### Original Diagnosis

*Pileus 9-15 mm across, whitish-beige with orange-red margin. Lamellae white, 40 in number with a brownish-red edge. Stipe grey, light-grey and violaceous brownish at the base, pruinose. Odour slightly raphanoid and alkaline with age. Spore: 6.41-7.41  $\times$  4.11-4.65  $\mu$ m, from ellipsoid to slightly oblong. Basidia: (26)25.2(23)  $\times$  (10)9.1(8.5)  $\mu$ m, 4-spored. Cheilocystidia (5)6-8  $\times$  (18)20-34  $\mu$ m, claviform, smooth. Pleurocystidia 11-15  $\times$  23-38  $\mu$ m, smooth, subclavate. Hyphae of the pileipellis smooth, 2.5-4  $\mu$ m wide. Hyphae of the cortex of the stipe 4-8  $\mu$ m wide, smooth. Caulocystidia 5-18  $\times$  -240  $\mu$ m, smooth. Hyphae of pileus and lamellae are pseudoamyloid. Hyphae of the stipe pseudoamyloid. Habitat: in grass.*

### Descrizione

**Cappello** largo 9-15 mm, conico campanulato con un largo umbone di colore beige-biancastro con leggeri riflessi rosati; striato per trasparenza per tutta la lunghezza; zona discale con un alone di colore grigio-nerastro, bordo rialzato di colore rosso-arancio.

**Lamelle** bianche, in numero circa di 36-40, con una lamellula inserita tra 2 lamelle, larghe, adnate, ascendente-decorrenti per un piccolo dentino; filo lamellare rosso-brunastro.

**Gambo** cilindrico, slanciato, con la tendenza ad allargarsi verso la base, di colore grigio, grigio chiaro in alto, violaceo-brunastro in prossimità della base, ricoperto per tutta la lunghezza da una folta pruina (fioccosità) di colore bianco; base con peli bianchi corti.

**Carne** esigua bianco-grigiastria, odore nullo nei giovani esemplari, da alcalino a leggermente rafanoide in vecchiaia.

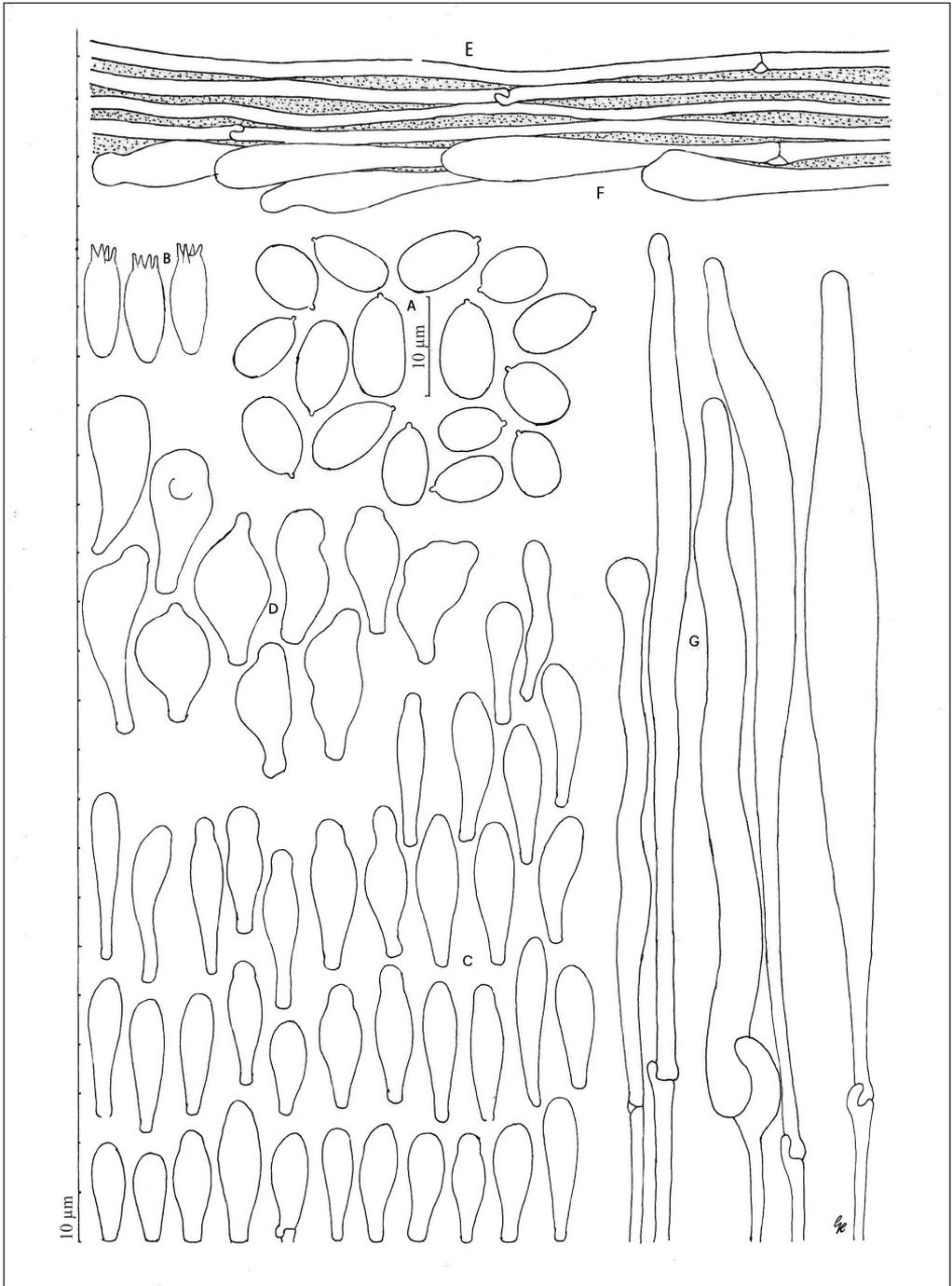
**Habitat** fra l'erba, ai bordi del pascolo in presenza di querce, nocciolo e larice, ottobre-novembre (Foto 1, 2, 3).

**Spore** 6,41-7,41  $\times$  4,11-4,65  $\mu$ m, Q = 1,45-1,7, Volume = 58,48-81,54  $\mu$ m<sup>3</sup>, da ellissoidali a leggermente oblunghe viste di fronte, a volte leggermente amigdaliformi viste di profilo, a volte fino a disegnare una forma ovoidale o citriforme. Ornamentazioni assenti, superficie liscia. Il colore risulta ialino, viste in L4 al microscopio ottico. Appendice ilare piuttosto vistosa, lunga da 0,8 a 1  $\mu$ m (Foto 4).

**Basidi** (26)25,2(23)  $\times$  (10)9,1(8,5)  $\mu$ m, tetrasporici, clavati, con sterigmi lunghi fino a 4  $\mu$ m.

**Cheilocistidi** (5)6-8  $\times$  (18)20-34  $\mu$ m, claviformi, lisci, disposti sull'intero orlo lamellare (Foto 5).

**Pleurocistidi** 11-15  $\times$  23-38  $\mu$ m, lisci, subclavati, gonfi, in forme irregolari, apice arrotondato o con breve protuberanza.



**Tavola 1.** Caratteri microscopici. A. Spore; B. Basidi; C. Cheilocistidi; D. Pleurocistidi; E. Epicute, ife superficiali; F. Epicute, pellis; G. Caulocistidi.  
Disegno di Giovanni Robich



Foto 1. *Mycena pradensis*. Carpofoforo in habitat.

Foto di Antonio Tacconi



Foto 2. *M. pradensis*. Carpofoforo in habitat.

Foto di Antonio Tacconi



Foto 3. *M. pradensis*. Carpofoforo in habitat.

Foto di Antonio Tacconi

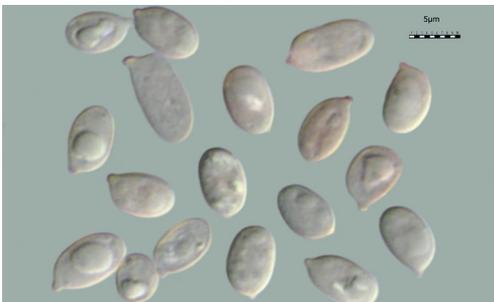


Foto 4. *M. pradensis*. Spore in Rosso Congo. Contrasto di interferenza differenziale (DIC). Barra = 5  $\mu$ m.

Foto di Ledo Setti



Foto 5. *M. pradensis*. Cheilocistidi in Rosso Congo. Contrasto di interferenza differenziale (DIC). Barra = 10  $\mu$ m.

Foto di Ledo Setti

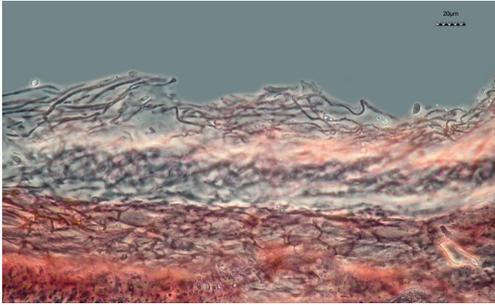


Foto 6. *M. pradensis*. Epicute a contrasto di fase. Barra = 20  $\mu\text{m}$ .  
Foto di Ledo Setti

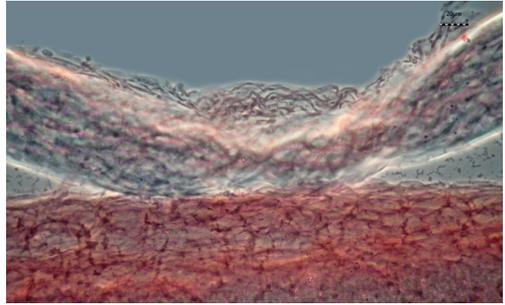


Foto 7. *M. pradensis*. Epicute a contrasto di fase. Barra = 20  $\mu\text{m}$ .  
Foto di Ledo Setti

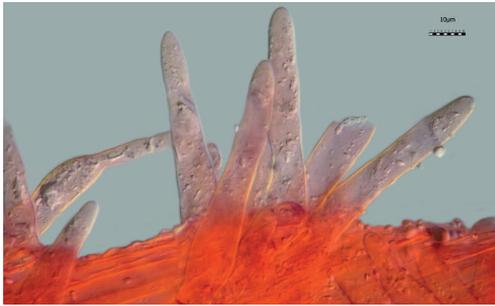


Foto 8. *M. pradensis*. Caulocistidi in Rosso Congo. Contrasto di interferenza differenziale (DIC). Barra = 10  $\mu\text{m}$ .  
Foto di Ledo Setti

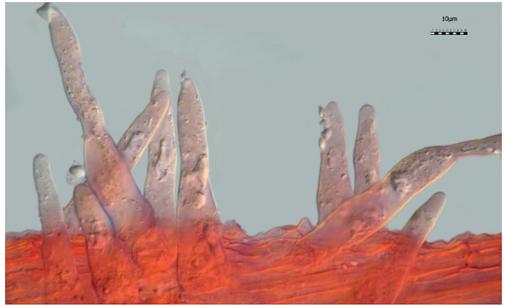


Foto 9. *M. pradensis*. Caulocistidi in Rosso Congo. Contrasto di interferenza differenziale. (DIC). Barra = 10  $\mu\text{m}$ .  
Foto di Ledo Setti

**Epicute** formata da una ixocutis di ife variamente intrecciate, con una pellis costituita da cellule da largamente ellissoidali a subglobose, larghe fino a 33  $\mu\text{m}$ ; quelle superficiali larghe 2,5-4  $\mu\text{m}$ , lisce, immerse in un strato di gel, con spessore fino a circa 80  $\mu\text{m}$  (Foto 6-7).

**Caulocistidi** 5-18  $\times$  240  $\mu\text{m}$ , lisci, con apice arrotondato, largo 4-6(8)  $\mu\text{m}$  (Foto 8-9).

**Ife esterne del gambo** larghe 4-8  $\mu\text{m}$ , lisce.

**Ife del cappello e delle lamelle** destrinoidi.

**Ife del gambo** destrinoidi a contatto col reattivo di Melzer.

**Note:** pur essendo una specie molto piccola è molto appariscente per i suoi caratteri morfocromatici, come l'alone grigio-nerastro nella zona discale, il gambo con toni violacei sempre presenti alla base del gambo e il filo delle lamelle listato di bruno-rossastro.

## Osservazioni

Alcune entità del genere *Mycena* presentano un orlo lamellare colorato, bene evidente al momento della raccolta, carattere utilizzato dalla maggior parte dei micologi per la loro inserzione nella sezione *Rubromarginatae* (Singer ex) Maas Geest. [1980, 11, Part 1: 106].

*Mycena pradensis*, che evidenzia un orlo lamellare rosso brunastro, può essere messa a confronto con alcune specie aventi in comune questo medesimo carattere, come: *M. bresadolana* Robich & Neville (1997, 40 (2-3): 417); *M. brunneomarginata* Robich (2003: 592); *M. cheboyganensis* A.H. Smith (1947: 221); *M. elegantula* Peck (MAAS GEEST., 1986, 8: 293); *M. kurramulla* Grgur. (2003: 261-264); *M. renati* Quél. (MAAS GEEST., 1986, 8: 293; ROBICH, 2003: 592); *M. seynii* f. *pumila* Robich (loc. cit.: 1453) e *M. thymicola* Velen. (1920, Dil. II: 297; ROBICH, 2003: 624) e delle quali di seguito elenchiamo le caratteristiche utili per una corretta separazione.

*M. bresadolana* Robich & Neville possiede: un cappello largo 14-30 mm, da lilla-bruno a lilla-rosa e lilla-rosso; 24-30 lamelle; gambo giallo lucente, giallo-rosa e giallo-bruno; spore lunghe 8,5-11(12)  $\mu\text{m}$ ; cheilocistidi lunghi 34-70  $\mu\text{m}$ , alcuni con 2-3 prolungamenti apicali; pleurocistidi lunghi 55-67  $\mu\text{m}$ ; ife dell'epicute lisce o ricoperte di corte escrescenze; caulocistidi con escrescenze grossolane e crescita alla base di tronchi e radici (*Abies alba* Mill.).

*Mycena brunneomarginata* Robich possiede: un cappello crema-brunastro molto chiaro, largo 5-7 mm; si differenzia da *M. pradensis* anche per: spore lunghe 8,5-11  $\mu\text{m}$ ; cheilocistidi e pleurocistidi di forme maggiori, 11-18  $\times$  40-85  $\mu\text{m}$ ; ife dell'epicute coperte di escrescenze semplici e flessuose; pileocistidi 8-15  $\times$  25-60, diverticolati; ife esterne del gambo lisce o diverticolate; caulocistidi diverticolati, 4-7  $\times$  35-150; crescita su infiorescenze di *Cedrus* sp. al suolo.

*M. cheboyganensis* A.H. Smith (1947: 221) si differenzia da questa specie per: cappello "fuscous on the disc", umbonato, solcato-striato sull'umbone, grigio-pallido al centro, bruno-rossastro al margine; spore lunghe (10)11-14  $\mu\text{m}$ ; cheilocistidi e pleurocistidi lunghi 40-60  $\mu\text{m}$  (questi ultimi "occasionally forked"); crescita "on sphagnum".

*M. elegantula* Peck (MAAS GEEST., 1986, 8: 293) si presenta con: cappello da bruno a bruno-porpora, largo -20 mm; lamelle 17-22; gambo con base densamente coperta di fibrille da biancastre a brunastre; spore lunghe 9,0-10,7  $\mu\text{m}$ ; basidi lunghi 30-40  $\mu\text{m}$ ; cheilocistidi "fairly irregularly shaped, with few, very coarse, and irregularly shaped excrescences"; pleurocistidi non osservati; ife dell'epicute coperte di escrescenze ramificate e "grow out to coralloid structures"; ife esterne del gambo diverticolate; crescita su foglie al suolo (California).

*M. kurramulla* Grgurinovic (2003: 261-264) è una nuova entità raccolta in una località del sud-est dell'Australia, con: orlo lamellare "whitish with a pink tinge, greyish brown"; cappello "violet brown" al centro, poi "greyish red to violet brown", largo -34 mm; lamelle con orlo "whitish with a pink tinge, greyish brown"; gambo largo 7 mm, cartilagineo, fistoloso "violet brown"; basidi lunghi 20,3-29,7  $\mu\text{m}$ ; cheilocistidi diverticolati; ife dell'epicute ed esterne del gambo diverticolate; crescita su conifere (*Pinus* sp.) al suolo.

*M. renati* Quél. (MAAS GEEST., 1986, 8: 293; ROBICH, 2003: 610) è una entità piuttosto comune con: cappello da violaceo a brunastro e giallastro, rosa-brunastro, rosa-violetto, largo -20 mm; gambo giallo-brillante, giallo, giallo-crema; spore lunghe (8)9-12(13)  $\mu\text{m}$ ; cheilocistidi lunghi 24-55(80)  $\mu\text{m}$ , con escrescenza apicale; pleurocistidi assenti o presenti; ife dell'epicute ed esterne del gambo diverticolate e caulocistidi diverticolati.

*M. seynii* f. *pumila* Robich (loc. cit.: 1453) possiede: cappello largo solo 5 mm; 18-20 lamelle bruno molto chiare; gambo largo 3,5 mm; spore lunghe 10-14  $\mu\text{m}$ ; caulocistidi diverticolati, lunghi 45-110  $\mu\text{m}$ ; crescita su cono (*Pinus pinaster* Aiton) al suolo.

*M. thymicola* Velen. (1920, Dil. II: 297; ROBICH, 2003: 624) presenta: cappello da grigio-bruno a grigio-brunastro scuro; lamelle, 20-24, bianco-grigie e grigie; spore lunghe 10-13,5  $\mu\text{m}$ ; cheilocistidi lunghi 50-72  $\mu\text{m}$ ; ife dell'epicute con escrescenze semplici, flessuose e ramificate; caulocistidi lisci o diverticolati; crescita al suolo, su tappeto di muschio in avvallamento di retroduna marina.

## Analisi molecolari

Sono state condotte anche delle analisi biomolecolari con due marcatori per fare maggior luce sull'inquadramento tassonomico di questa nuova specie. La sequenza ITS sembra allo stato attuale un marcatore non specifico per poter distinguere una specie di *Mycena* da quelle appartenenti alla stessa sezione o che maggiormente risultano, dopo analisi morfologiche, più prossime al taxon in questione. Da ricerche da noi condotte attraverso l'uso del programma Blast (inserito come tool nella Banca dati di GenBank), la sequenza ITS di *Mycena pradensis* (N° voucher di GenBank: MT196392) presenta un alto grado di omologia con sequenze di *Mycena amicta* (*Mycena amicta*, GB: MH145355; 99.82%), depositate nella stessa banca,

dimostrando quanto abbiamo sopra riportato. Un marcatore che dovrebbe discriminare bene *Mycena pradensis* da altre micene, appartenenti alla sezione delle *Rubromarginatae* e non, è il TEF-1-alpha (N° voucher di GenBank di *Mycena pradensis* per il TEF-1-alpha: MT235240), come dimostrato dai valori di omologia di *Mycena rubromarginata*, *Mycena plumbea* e *Mycena haematopus*, qui di seguito riportato:

*Mycena rubromarginata* (N° Voucher GenBank KF723659), omologia 84%; *Mycena plumbea* (N° Voucher GenBank GU187729.1), omologia 85%; *Mycena haematopus* (Voucher GenBank LC492857), omologia 88%.

Ulteriori studi molecolari per definire nuovi marcatori allo scopo di caratterizzare meglio la tassonomia delle specie, inserite nel genere *Mycena*, dovranno essere affrontati in futuro, sia per arricchire le banche dati alquanto povere di sequenze genetiche, sia per capire meglio la variabilità genetica dei diversi marcatori all'interno di questo genere. È molto probabile che in futuro la scelta di un'analisi multigenica diventi il gold standard rispetto ad analisi a singolo o doppio gene per studi di filogenesi di generi polifiletici, come è appunto il genere *Mycena*.

### Ringraziamenti

Gli Autori intendono ringraziare il Sig. Robich per il suo imparagonabile aiuto, per la caratterizzazione tassonomica della nuova specie e per la realizzazione della tavola degli elementi microscopici e la Prof.ssa Rosemary Worrall per la traduzione in inglese della diagnosi originale di *Mycena pradensis*.

#### Indirizzi degli Autori

GIANLUIGI MARAIA

Via della Speranza 6, I-37069 Villafranca di Verona (VR).

E-mail: gian1973.gm@gmail.com

LEDO SETTI

Via C. Pavese 1, I-46029 Suzzara (MN).

E-mail: settiledo@libero.it

Antonio Tacconi

Via Giuseppe Biadego 6, I-37131 Verona.

E-mail: antacco@gmail.com

### Bibliografia

- CLÉMENÇON H. – 1972: *Zwei verbesserte Präparierlösungen für die mikroskopische Untersuchung von Pilze*. Zeitschrift für Pilzkunde 38: 49-53.
- FANNECHÈRE G. – 2011: *Mycomètre, logiciel d'aide à la mesure et de traitement statistique*. [http://mycolim.free.fr/DOC\\_SML/mycm202/Charg\\_Mycm202.htm](http://mycolim.free.fr/DOC_SML/mycm202/Charg_Mycm202.htm)
- 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.
- GRGURINOVIC CHERYL A. – 2003: *The genus Mycena in south-eastern Australia*. Fungal Diversity Research, 1-329.
- GROSS G. – 1972: *Kernzahl und sporenvolumen bei einigen Hymenogasterarten*. Zeitschrift für Pilzkunde 38: 109-158.
- MAAS GEESTERANUS R.A. – 1980: *Studies in Mycenas 15. A tentative subdivision of the genus Mycena in the northern Hemisphere*. Persoonia, 11, Part 1: 93-120.
- MAAS GEESTERANUS R.A. – 1986: *Conspectus of the Mycenas of the Northern Hemisphere - 8. Sections Intermediae, Rubromarginatae*. Proc. K. Ned. Akad. Wet. (Ser. C) 89 (3): 279-310.

- MEERTS P. – 1999: *The evolution of spores in agarics: do big mushrooms have big spores?* Journal of Evolutionary Biology 12: 161–165.
- REHNER S.A. & BUCKLEY E. – 2005: *A Beauveria phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- $\alpha$  sequences: evidence for cryptic diversification and links to Cordyceps teleomorphs.* Mycologia 97 (1): 84–98.
- ROBICH G. – 2002: *Mycena brunneomarginata, una nuova specie della sezione Rubromarginatae dalla Catalogna.* Revista Catalana de Micologia, Vol. 24: 187: 192.
- ROBICH G. – 2003: *Mycena d'Europa.* Volume 1: 1-728. AMB, Fondazione Centro Studi Micologici, Trento.
- ROBICH G. – 2016: *Mycena d'Europa.* Volume 2: 729-1528. AMB, Fondazione Centro Studi Micologici, Trento.
- ROBICH G. & NEVILLE P. – 1997: *Mycena bresadolana, specie nuova della sezione Rubromarginatae.* Bollettino Gruppo Micologico Bresadola, Trento, 40 (2-3): 417-428.
- SMITH A.H. – 1947: *North American Species of Mycena.* University of Michigan Press, Ann Arbor: 1-521.
- VELENOVSKY J. – 1920: *Ceske Houby,* Dil II: 297-327.
- WHITE T.J., BRUNS T., LEE S.S. & TAYLOR J. – 1990: *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.* In: INNIS M.A., GELFAND D.H., SNINSKY J.J. & WHITE T.J. (Eds.) - PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, New York, pp. 315-322.