

Cortinarius aavae: connexió del Penyagolosa (Castelló) amb Nord-Amèrica

RAFAEL MAHIQUES^{(1)*}, ANTONI CONCA⁽²⁾ i ISAAC GARRIDO-BENAVENT⁽³⁾

(1) C/ Doctor Climent 26, 46837 Quatretonda (València). E-mail: rmahiquessan@gmail.com

(2) P. Poeta Joan Vimbodí, 5, E-46870 Ontinyent, València. E-mail: tconca@gmail.com

(3) Departament de Botànica i Geologia, Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València, C/ Doctor Moliner 50, E-46100 Burjassot, València. E-mail: Isaac.Garrido@uv.es

*Autor per a la correspondència

Resum. MAHIQUES R., CONCA T. i GARRIDO-BENAVENT I. (2022). *Cortinarius aavae*, primera cita d'aquest fong a Europa, provinent del Massís de Penyagolosa (Castelló). *Butll. Soc. Micol. Valenciana* 26: 37–45.

Es presenta la recent troballa del *Cortinarius aavae* Liimat. & Niskanen, taxó fins ara conegut només del subcontinent nord-americà, al bosc mixt de *Pinus sylvestris* i *Quercus ilex* del Massís de Penyagolosa a la tardor del 2021, del qual es fa una descripció macro i microscòpica, amb recolzament iconogràfic. A més es compara la seua seqüència nrITS de l'ADN ribosòmic amb les més properes que hi ha a la base de dades del GenBank.

Paraules clau: Catàleg fúngic, Comunitat Valenciana, *Cortinariaceae*, nova cita, Parc Natural del Penyagolosa.

Resumen. MAHIQUES R., CONCA T. y GARRIDO-BENAVENT I. (2022). *Cortinarius aavae*, primera cita de este hongo en Europa, proveniente del Macizo de Peñagolosa (Castellón). *Butll. Soc. Micol. Valenciana* 26: 37–45.

Se presenta el *Cortinarius aavae* Liimat. & Niskanen, hasta ahora conocido únicamente del subcontinente norteamericano, recientemente descubierto en el bosque mixto de *Pinus sylvestris* y *Quercus ilex* del Macizo del Penyagolosa, durante el otoño de 2021, del cual se hace descripción macro y microscópica, con iconografía. Además, se compara su secuencia nrITS del ADN ribosómico con las más cercanas que surgen al compararla con las que hay en la base de datos del GenBank.

Palabras clave: Catálogo fúngico, Comunidad Valenciana, *Cortinariaceae*, nueva cita, Parque Natural del Peñagolosa.

Abstract. MAHIQUES R., CONCA T. & GARRIDO-BENAVENT I. (2022). *Cortinarius aavae*, the first record for Europe based on a collection from the Massís de Penyagolosa (Castelló). *Butll. Soc. Micol. Valenciana* 26:37–45.

We describe *Cortinarius aavae* Liimat. & Niskanen, so far known from North America, which was recently discovered in a mixed forest of *Pinus sylvestris* and *Quercus ilex* in the Penyagolosa Massif, during the autumn of 2021. Ma-

cro- and microscopic descriptions, as well as iconography are provided for the studied species. In addition, its nrITS sequence of the ribosomal DNA is compared with the closest ones found in the GenBank database.

Keywords: Fungal checklist, Valencian Community, *Cortinariaceae*, new citation, Penyagolosa Natural Park.

INTRODUCCIÓ

Amb l'aparició a principi del present segle de la nova eina d'escorcoll i diferenciació taxonòmica, consistent en la determinació de les seqüències identificadores d'espècies, mitjançant marcadors moleculars de les regions genètiques, s'ha obert una nova era on els estudis filogenètics aplicats a la taxonomia dels cortinaris intenten complementar les dades morfològiques, emprades pels investigadors anteriors a l'aparició de la biologia molecular, amb la finalitat d'aplicar una nova eina, del tot encara millorable, que contribuïska a l'objectivitat en la classificació de les espècies dintre d'aquest complex món dels gènere *Cortinarius* (Pers.) Gray i particularment del subgènere *Telamonia* (Fr.) Trog. Destaquem, dintre dels nombrosos estudis efectuats en aquest camp, els de BRANDRUD ET AL. (2018), FRØSLEV ET AL. (2005), GARNICA ET AL. (2005), HARROWER ET AL. (2011), LIIMATAINEN ET AL. (2014, 2020), PEINTNER ET AL. (2004) i SUÁREZ-SANTIAGO ET AL. (2009).

El fruit d'aquests estudis ens ha obert la possibilitat de poder identificar una espècie de telamònia en territori europeu, coincidint plenament tant morfològicament com genètica, amb l'espècie inicialment descrita en territori canadenc i, fins a la data actual, no determinada al Vell Món, tot i ser conscients que hi ha moltes espècies als herbaris públics i privats, publicades vàlidament, però encara no seqüenciades.

MATERIAL I MÈTODE

Estudi macroscòpic i microscòpic. Els exemplars d'una recol·lecció de telamònia foren examinats emprant una metodologia estàndard. Així, les descripcions macroscòpiques i microscòpiques es realitzaren a partir del material fresc. Per a l'estudi micromorfològic es va utilitzar una òptica de camp clar, amb triocular incorporat per a la captura d'imatges fotogràfiques.

L'observació i mesura de les espores es va realitzar emprant aigua destil·lada i un objectiu d'immersió. Els reactius emprats per observar les reaccions químiques de les diferents estructures dels carpòfors foren els següents: KOH

Taula 1. Relació de tàxons inclosos a l'estudi filogenètic d'aquest treball. A la taula s'indica, per a cadascun d'ells, l'hàbitat i la localitat de recol·lecció i el codi de la seqüència nrITS al GENBANK. La procedència de les seqüències emprades de cada tàxon s'indica entre parèntesi (p. ex. Tipus, T). Amb N/A s'especifica que no s'ha trobat informació a la literatura i/o a les bases de dades.

TÀXON	HÀBITAT AMB INDICACIÓ, SI ESCAU, DE L'ARBRE HOSTE	LOCALITAT O PAÍS DE RECOL·LECCIÓ	CODI DE GENBANK
<i>Cortinarius aavae</i> T	Bosc mixt amb <i>Tsuga canadensis</i> i <i>Betula</i> sp.	Canadà, Quebec, Montebello	NR_120095
<i>C. aavae</i>	Sota <i>Pinus sylvestris</i> , en bosc mixt amb <i>Quercus ilex</i>	Espanya, Castelló, Massís de Penyagolosa (MES-4797)	ON982578
<i>C. aavae</i>	Probablement bosc de <i>Tsuga heterophylla</i>	Canadà, Columbia Britànica	KP889354
<i>C. aavae</i>	N/A	Canadà, Columbia Britànica	FJ717539
<i>C. aavae</i>	Sota <i>Pinus ponderosa</i>	Estats Units, Arizona	MZ017792
<i>C. leiocastaneus</i> T	Sota <i>Betula</i> sp., en bosc mixt amb <i>Pinus sylvestris</i> i <i>Picea abies</i>	Finlàndia	NR_119678
<i>C. cyprinus</i>	N/A	França	KX964474
<i>C. saturninus</i>	Sota <i>Pinus</i> sp., <i>Picea</i> sp. i <i>Salix</i> sp., en sòl arenós	Estats Units, Washington	KX964550
<i>C. stuntzii</i> T	Sota <i>Salix exigua</i> i <i>S. rigida</i>	Estats Units, Washington	NR_153098
<i>C. vinaceobrunneus</i> T	Sota <i>Quercus garryana</i>	Estats Units, Washington	NR_153060

al 20%, tintura de guaiac i fenol-anilina (FA). Els materials estudiats es troben dipositats a l'herbari personal del primer autor (RAFAEL MAHIQUES, MES). Pel que fa a les descripcions de colors es va seguir CAILLEUX (1936), que en el text s'abrevia com a 'Cx'. Per a les abreviacions dels autors es va seguir Kirk et al. (1992). Les cites dels autors segueixen a MycoBank (<http://www.mycobank.org/>). Com en treballs anteriors, els autors segueixen el marc sistemàtic de *Cortinarius* establert per BRANDRUD ET AL. (1994) i KNUDSEN & VESTERHOLT (2008).

Aïllament de l'ADN, seqüenciació i anàlisi filogenètica. Els protocols emprats per extreure l'ADN i realitzar l'amplificació per PCR de la regió nrITS de l'ADN ribosòmic nuclear de l'espècimen recol·lectat a Penyagolosa segueixen BALLARÀ ET AL. (2017). El número d'accés del GenBank corresponent a la nova seqüència generada en aquest estudi es troba a la Taula 1. A continuació, la construcció d'una filogènia que inclogués la seqüència de l'exemplar estudiat es dugué a terme amb MEGA v.6 (TAMURA ET AL. 2013) mitjançant l'opció de Màxima Ver-

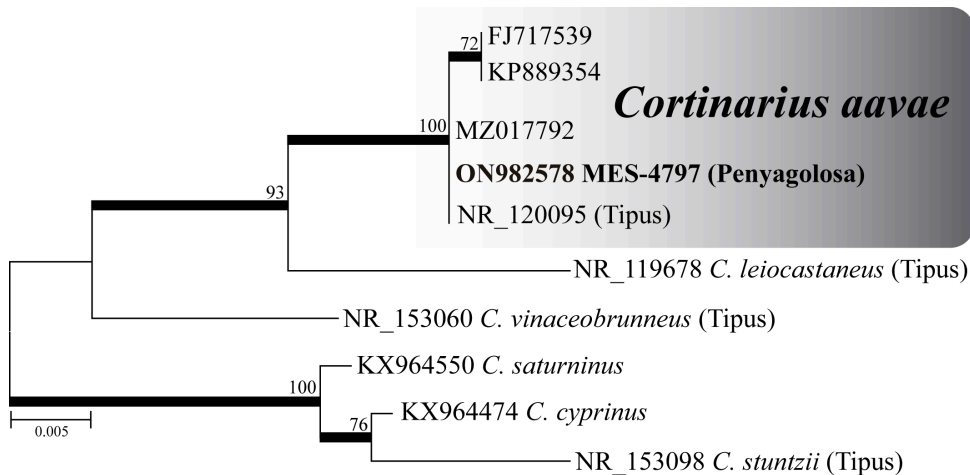


Figura 1. Filograma elaborat amb el mètode de Màxima Versemblança que representa la ubicació filogenètica de l'espècimen castellonenc de *Cortinarius aavae* (MES-4797), recollit al Massís de Penyagolosa. Les branques amb negreta representen un recolzament estadístic nodal (*bootstrap*) igual o superior al 70 %. Per a cada terminal s'indica el codi de GenBank i, si escau, el nom del tàxon.

semblança. L'alineament en què es basà aquest anàlisi fou estimat a l'entorn de Geneious v.9.0.2 emprant Mafft v.7.308 (KATO ET AL. 2002; KATO & STANDLEY 2013) amb els paràmetres següents: algoritme FFT-NS-I x1000, la matriu de puntuació 200PAM / $k = 2$, una penalització per obertura de *gaps* de 1.5, i un valor *offset* de 0.123. L'alineament resultant fou posteriorment corregit manualment, de manera que es van eliminar les regions de l'ADN ribosòmic dels flancs del nrITS corresponents al 18S i 28S. El model de substitució nucleotídica emprat per a la construcció de l'arbre fou TN92+I i el recolzament dels nodes es va avaluar mitjançant els valors de *bootstrap* calculats a partir de 100 pseudorèpliques. L'arbre resultant fou editat gràficament amb l'Adobe Illustrator CS5.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Estudi de la variabilitat genètica i filogènia. L'alineament de les 10 seqüències assolí una longitud de 513 parells de bases nucleotídiques, de les quals 39 foren variables mentre que 13 d'elles representaren posicions variables úniques (*singletons*). La nova seqüència obtinguda en el present treball fou idèntica a la seqüència que representa al tipus de *Cortinarius aavae* Liimat. & Niskanen. Aquest fet es traduí en l'existència d'un clade monofilètic amb alt recolzament de *boots-*

trap (100%) que inclogué aquests dos espècimens de *C. aavae*, junt amb altres tres col·leccions que també representen a aquesta espècie (Figura 1). En la topologia obtinguda, l'espècie germana fou *C. leiocastaneus* Niskanen, Liimatainen & Soop, amb un recolzament de *bootstrap* del 93%, la qual pertany a *Cortinarius* secció *Leiocastanei*. Les seqüències nrITS d'aquestes dos espècies se separen per 13 substitucions nucleotídiques i 7 posicions indèliques.

Taxonomia

Cortinarius aavae Liimat. & Niskanen, in Niskanen, Liimatainen, Kytövuori & Ammirati, *Botany* **90**(8): 750 (2012)

Codi MYCOBANK: MB 564810.

Cortinarius secció *Leiocastanei* Niskanen, Liimat. & Kytöv.

Figura 2.

Descripció original: *Basidiomata fairly small. Pileus 1.5–4 cm diam., brown, stipe 3.5–5 cm long, 0.3–0.7 cm thick at apex, 0.5–1.6 cm at base, white, universal veil white, sparse. Differs from the similar C. leiocastaneus by smaller spores (6.5–7.5 µm × 4.0–4.5 µm) and distinctly encrusted lamellar trama hyphae. In conifer-dominated forest.*

Material tipus: Canadà, Quèbec: Montebello, bosc mixt sota *Tsuga canadensis* i *Betula* sp., 27 setembre 2010, leg. Niskanen & Liimatainen 10–166, DAOM 242014 (H, holotipus; DAOM, isotipus). Codi GenBank (nrITS): NR_120095.

Etimologia: L'epítet específic deriva del nom de la filla dels autors, Aava.

Diagnosi: Petit telamònia de coníferes, amb un bulb en cibulet, espores menudes i olor indiferent o amb efluvis de nou moscada.

Descripció macroscòpica: Píleu de 25–40 mm de diàmetre, pla, umbonat, amb umbó petit i agut, una o dues vegades infractat, higòfan, amb el centre bru grogós (Cx N57) i perifèria bru grisenc (Cx M55), més o menys ocraci; a penes fibril·lós. Làmines uncinades, apretades, d'aresta regular i del mateix color que la pleura, bru ocraci, que passen del Cx N60 al Cx N57. Estípit de 45–50 × 5–6 (6–15) mm, amb bulb en cibulet, blanquinós, amb escasses fibres que no apleguen a formar empremta d'anell; tomentós blanquinós a la base; fistulós. Carn crem pàl·lid (Cx L71), amb olor inapreciable en alguns exemplars o amb efluvis de nou moscada en altres.

Reaccions macroquímiques: KOH, grisaci (Cx N71) sobre la carn del píleu. FA negatiu sobre la carn del píleu als 15', positiu sobre la cutícula del píleu als 30'. Tintura de guaiac, negatiu als 15'.

Descripció microscòpica: Espores molt petites, a penes ornamentades, el·lipsoïdes, de (5) 5.9–6.7–8 × 3.5–4.2–4.5 µm. Q= (1.1) 1.5–1.7–2. Aresta laminar, fèrtil. Basidis tetraspòrics. Epicutis compost per una capa fina d'hifes cilíndriques, hialines, algunes erectes i amb terminacions en forma de projectil, d'1–3 µm d'amplària; subcutis una capa gruixuda d'hifes de 7–15 µm d'amplària, progressivament mes amples a mesura que s'endinsen cap a l'interior, amb pigment de membrana de reforç, així com incrustant, tant granular com començant a formar plaquetes, de color ocrós rogenc.

Material estudiat: Espanya, Comunitat Valenciana, Castelló, l'Alcalatén, Vista-bella del Maestrat, Massís de Penyagolosa, Mas de Benages, font de la Rabassa, sota *Pinus sylvestris*, en bosc mixt amb *Quercus ilex*, 30TYK2661257571, 40°14'17" N, 0°20'10" W, 1399 m, 14/10/2021, leg. i det. T. Conca i R. Mahiques MES-4797.

Observacions: Fins el moment actual han hagut 4 cites, incloent l'original, del *Cortinarius aavae* (GBIF 2022), totes elles al Canadà i als Estats Units d'Amèrica (HARROWER ET AL. 2011; NISKANEN ET AL. 2012; veure també dades associades a les seqüències de GenBank amb codi KP889354 i MZ017792), des que es va descriure l'holòtip. No tenim constància de ninguna cita d'aquesta espècie al territori europeu ni a la resta de les regions més enllà de Nord-Amèrica. Aquest fet ens porta a plantejar-nos el per què aquest petit telamònia, tan ben caracteritzat pels tons ocracis, umbó agut, estípit amb escasses fibres, bulb en cibulet i petites espores, a penes ornamentades, ha passat desapercebut a l'intens escorcoll d'espècies que s'ha fet a Europa i apareix ara al Penyagolosa, sota espècies de coníferes ben distintes a les nord-americanes. Difícil i estrany seria, encara que mai rebutjable, que hagués estat importada aquesta espècie d'Amèrica, donat l'antiguitat del bosc autòcton castellonenc. Més bé respondria aquesta disjunció a un esdeveniment de dispersió a llarga distància de les xicotetes espores gràcies als corrents d'aire atmosfèrics. Tampoc es descarta que hi haja alguna mostra oblidada en algun herbari europeu, en espera de ser seqüenciada, cas que, d'estar ben recolzada per una publicació vàlida, podria llençar a la sinonímia aquesta espècie.

Són escassos els tàxons que podrien ser confosos amb aquest, perquè en el cas del cap de secció al qual pertany, *C. leiocastaneus* Niskanen, Liimat. & Soop, difereix morfològicament per tenir aquest l'umbó obtús, estípit cilíndric o lleugerament augmentat, però mai cibuliforme, olor lleuger a rave, espores un tant

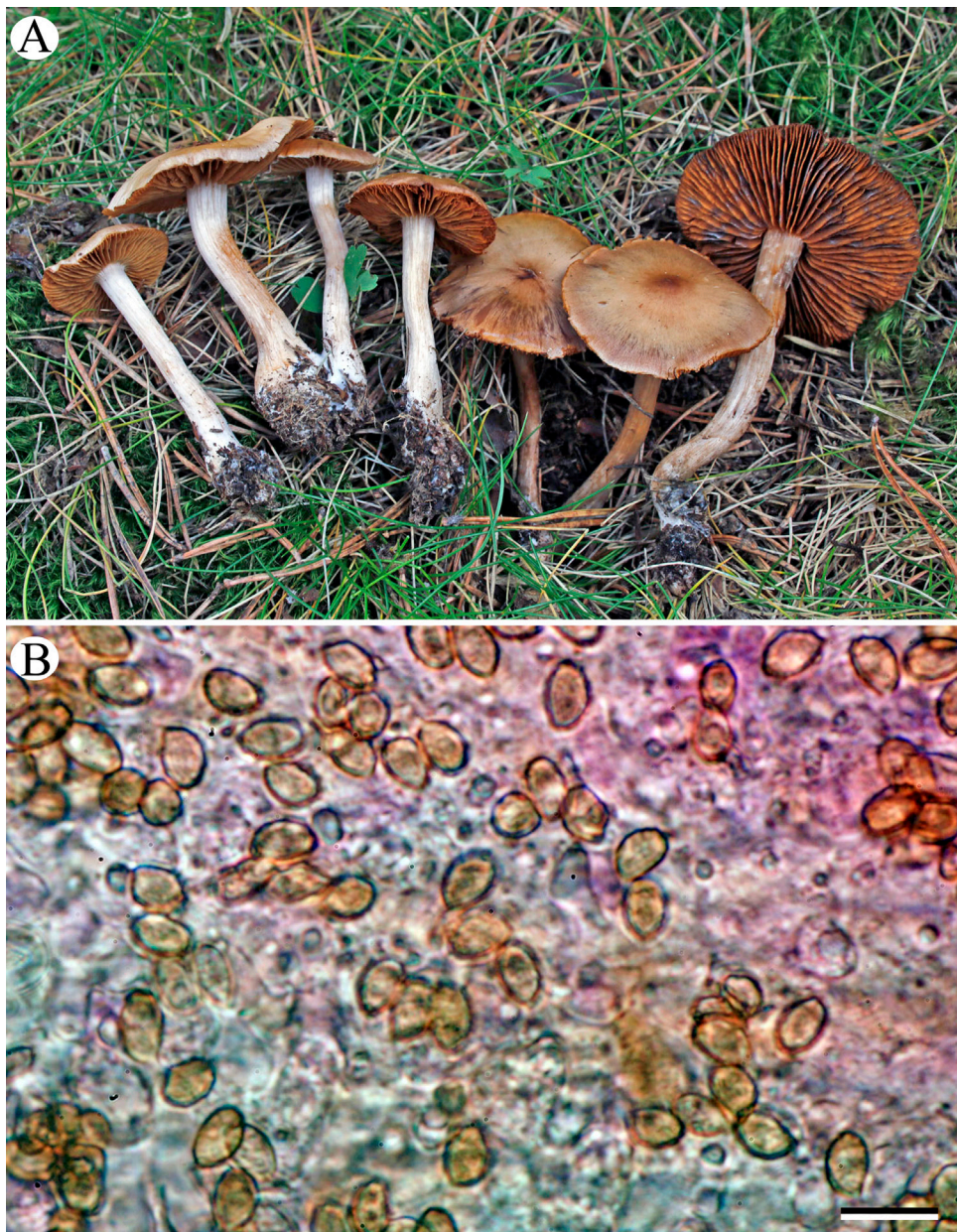


Figura 2. *Cortinarius aavae* (MES-4797, Penyagolosa): caràcters macroscòpics (A) i microscòpics (espores, B). Fotos: R. Mahiques.

major, de 8–9×4.5–5.2 µm i hàbitat en boscos mixts amb bedolls (NISKANEN ET AL. 2008), a més de les diferències genètiques ja referides a l'apartat de resultats i discussió d'aquest mateix treball.

BIBLIOGRAFÍA

- BALLARÀ J., MAHIQUES R. & GARRIDO-BENAVENT I. (2017). Dades genètiques confirmen la presència de *Cortinarius puellaris* (Cortinariaceae, Agaricales) al Parc Natural del Cadí-Moixeró (NE Península Ibèrica). *Butlletí de la Societat Micològica Valenciana* **22**: 61–71.
- BOWMAN E.A. & ARNOLD A.E. (2021). School of Plant Sciences, University of Arizona, 1140 E. South Campus Dr., Tucson, AZ 85721, USA (GB: MZ017792). Unpublished.
- BRANDRUD T.E., LINDSTRÖM H., MARKLUND H., MELOT J. & MUSKOS S. (1994). *Cortinarius*. *Flora Photographica*. Vol. III. Cortinarius. HB. Matfors. Sweden.
- BRANDRUD T.E., SCHMIDT-STOHN G., LIIMATAINEN K., NISKANEN T., FRØSLEV T.G., SOOP K., BOJANTCHEV D., KYTÖVUORI I., JEPPESEN T.S., BELLÙ F., SAAR G., OERTEL B., ALI T., THINES M. & DIMA B. (2018). *Cortinarius* sect. *Riederi*: taxonomy and phylogeny of the new section with European and North American distribution. *Mycological Progress* **17**: 1323–1354.
- CAILLEUX A. (1981). *Code des couleurs des sols*. Boubée Ed., Paris, 16 p. + dépliant à 4 volets en couleurs. Boubée. Paris.
- FRØSLEV T.G., MATHENY P.B. & HIBBET 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.
- GARNICA S., WEIB 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**: 1457–1477.
- GBIF (2022). *Cortinarius aavae* Liimat. & Niskanen in GBIF Secretariat. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset: <https://doi.org/10.15468/39omei>. Disponible a GBIF.org. Data de consulta: 1 de juliol de 2022.
- HARROWER E., AMMIRATI J., CAPPUCINO A., CESKA O., KRANABETTER J.M., KROEGER P., LIM S. & TAYLOR T. (2011). *Cortinarius* species diversity in British Columbia and molecular phylogenetic comparison with European specimen sequences. *Botany* **89**: 799–810.
- KATO H., MISAWA K., KUMA K.-I. & MIYATA T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* **30**: 3059–3066.
- KATO H. & STANDLEY D.M. (2013). MAFFT: Iterative Refinement and Additional Methods. *Methods in Molecular Biology* **1079**: 131–146.

KIRK P.M. & ANSELL A.E. (1992). *Authors of fungal names*. Index of fungi suplement. International Mycological Institute. C.A.B. International.

KNUDSEN H. & VESTERHOLT J. (2008). *Funga Nordica. Agaricoid, boletoid and cyphelloid genera*. Nordsvamp, Copenhagen. 965 pp. + dvd.

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.

LIIMATAINEN K., NISKANEN T., DIMA B., AMMIRATI J.F., KIRK P.M. & KYTÖVUORI I. (2020). Mission impossible completed: unlocking the nomenclature of the largest and most complicated subgenus of *Cortinarius*, *Telamonia*. *Fungal Diversity* **104**: 291–331.

NISKANEN T., LIIMATAINEN K. & KYTÖVUORI I. (2008). Two new species in *Cortinarius* subgenus *Telamonia*, *Cortinarius brunneifolius* and *C. leiocastaneus* from Fennoscandia (*Basidiomycota*, *Agaricales*). *Mycological Progress* **7**: 239–247.

NISKANEN T., LIIMATAINEN K., KYTÖVUORI I. & AMMIRATI J.F. (2012). New *Cortinarius* species from conifer-dominated forests of North America and Europe. *Botany* **90**: 743–754.

PEINTNER U., MONCALVO J.M. & VILGALYS R. (2004). Towards a better understanding of the infrageneric relationships in *Cortinarius* (*Agaricales*, *Basidiomycota*). *Mycologia* **96**: 1042–1058.

SUÁREZ-SANTIAGO V.N., ORTEGA A., PEINTNER U. & LÓPEZ-FLORES I. (2009). Study on *Cortinarius* subgenus *Telamonia* section *Hydrocybe* in Europe, with especial emphasis on Mediterranean taxa. *Mycological Research* **113**: 1070–1090.

TAMURA K., STECHER G., PETERSON D., FILIPSKI A. & KUMAR S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* **30**: 2725–2729.