

Volume 3



2022-04-26

# MYCOLOGICAL OBSERVATIONS



Gruppo Micologico e Naturalistico DLF Verona



# MYCOLOGICAL OBSERVATIONS

open access, electronic journal

## Executive Board / Comitato Direttivo:

Claudio Cingarlini (**Editor-in-chief / Direttore**), Gianluigi Maraia, Daniele Sartori, Danilo Signorini, Antonio Tacconi, Pietro Voto

## Editorial Board / Comitato di Lettura:

Franco Bersan, Gianluigi Maraia, Vincenzo Migliozi, Daniele Sartori, Danilo Signorini, Antonio Tacconi, Pietro Voto

Request issues to / richiedi le pubblicazioni a

[Mycolobs@gmail.com](mailto:Mycolobs@gmail.com)

Download issues from / scarica le pubblicazioni da

<http://veronamicologica.it>

Submission of articles for publication to / Invio di articoli per la pubblicazione a

[Mycolobs@gmail.com](mailto:Mycolobs@gmail.com)

Authors are required to send original unpublished articles and they have full responsibility for their content and truthfulness.  
Gli autori sono tenuti a inviare articoli originali inediti e hanno la totale responsabilità del loro contenuto e veridicità.

Volume 3

2022-04-26

- **Segnalazione di *Volvariella strangulata* in Veneto / Report of *Volvariella strangulata* in Veneto**  
C. Cingarlini. **Mycol. Obs.** 3: 1-7
  - **Segnalazione per il territorio italiano di *Leucoagaricus rhodelephantinus* / Report for the Italian territory of *Leucoagaricus rhodelephantinus***  
V. Migliozi, A. Martolini, G. Donato. **Mycol. Obs.** 3: 8-18
  - **Recenti ritrovamenti in Italia di *Leucoagaricus aurantiovergens*, *Leucoagaricus pseudopilatianus* e *Leucoagaricus cupresseoides* ed istituzione della nuova sottosezione *Pseudopilatiani***  
V. Migliozi, N. Forin. **Mycol. Obs.** 3: 19-37
  - **Rare Agaricales in Polesine - IV: *Hebeloma odoratissimum***  
P. Voto. **Mycol. Obs.** 3: 38-43
  - **Validation of *Psathyrella cladii-marisci***  
G. Sicoli, N.G. Passalacqua, A.B. De Giuseppe, A.M. Palermo, G. Pellegrino, D. Deschuyteneer, P. Voto. **Mycol. Obs.** 3: 44-46
  - ***Narcissea lahorensis* sp. nov. (*Psathyrellaceae*, *Agaricales*) from Pakistan**  
M. Usman, A. Izhar, A.N. Khalid. **Mycol. Obs.** 3: 47-55
  - **Comunicazione editoriale**  
Comitato Direttivo. **Mycol. Obs.** 3: 56-56
- Rubrica di micologia dai territori**
- **Scheda descrittiva di *Hydropus mediterraneus***  
V. Milanese. **Mycol. Obs.** 3: 57-58

Gruppo Micologico e Naturalistico DLF Verona

Via XX Settembre 17, I-37193 Verona, Italia

<http://veronamicologica.it>

[info@veronamicologica.it](mailto:info@veronamicologica.it)

**President / Presidente** Alberto Clementel

**Vice President / Vice Presidente** Claudio Cingarlini

**Scientific committee director / Direttore comitato scientifico** Pietro Franchina

**Councillors / Consiglieri** Marisa Accordi, Gianluigi Andreoli, Stella Benedetti, Aroldo Bonini, Luigi Brunelli, Giorgio Colussi, Rosalia Comparotto, Tarcisio Girardi, Antonio Lago, Danilo Signorini, Damiano Sivero, Lisa Sozzi, Bruno Tessaro

cover image by / immagine di copertina di D. Sartori

*Stropharia aeruginosa* (Curtis) Qué.

Article received 28 January 2022, accepted 7 February 2022

## Segnalazione di *Volvariella strangulata* in Veneto

(English version on page 6)

Claudio Cingarlini<sup>1</sup><sup>1</sup>Via Antonio Salieri 277, I- 37132 Verona - email: cingarlini1@alice.it**Parole chiave:***Volvariella strangulata*  
Veneto  
Lessinia**Riassunto:** Viene segnalato il primo ritrovamento di *Volvariella strangulata* in Veneto (Italia). Questa specie, poco descritta in letteratura, è particolarmente interessante per la sua rarità. L'autore presenta una descrizione macro e microscopica della specie corredandola con fotografie, una discussione tassonomica e un confronto con altre specie della sez. *Sericellae* presenti in Italia.**INTRODUZIONE**

A corredo di una visita turistica al Ponte di Veia, il più importante monumento geologico della Lessinia, nonché sito archeologico di straordinario fascino, una prospezione micologica nel territorio dell'adiacente Parco Naturale Regionale della Lessinia ha procurato il rinvenimento della rara *Volvariella strangulata* oggetto del presente contributo. La zona ispezionata è compresa dai 700 e gli 800 m. s.l.m. ed è formata da un numero variegato di arbusti di latifoglie, quali carpino, frassino, roverella, faggio, con la presenza, sebbene sparuta, di abete rosso e pino nero. L'esame macroscopico degli sporofori sul campo aveva evidenziato da subito l'appartenenza della raccolta al genere *Volvariella*: le lamelle rosate e una corposa volva alla base non lasciavano alcun dubbio in merito. Il successivo studio al microscopio ha poi evidenziato gli elementi caratteristici che delineano inequivocabilmente questa specie.

Nella scia di questa determinazione, infine, ho anche riscoperto un precedente ritrovamento austriaco che, all'epoca della raccolta, avevo lasciato indeterminato.

**MATERIALI E METODI**

I funghi sono stati fotografati con fotocamere Canon 650D e 80D dotate di obiettivi Canon 18-55 is e Sigma 17-70 macro os. Le strutture microscopiche sono state studiate principalmente su materiale fresco. Le osservazioni sono state fatte con un microscopio e telecamera Orma Eurotek usando obiettivi in campo chiaro con ingrandimenti 10 ×, 20 ×, 40 ×, 60 × e 100 × (a immersione in olio) anacropianari con focale all'infinito. I reagenti usati sono: rosso Congo anionico per la pileipellis, tampone alla glicerina L4 per le spore, una soluzione di rosso Congo anionico al 60% in composizione con Floxina anionica al 40% per le sezioni lamellari. Tutte le foto di microscopia sono di D. Sartori. Le misurazioni delle spore sono state effettuate da una sporata di esemplari maturi, considerando tutte quelle mature presenti nel campo ottico del microscopio, per mezzo del programma Mycomètre (Fannechère, 2011); le misure sono state riportate scartando i due decili estremi e ponendo in parentesi i due valori più estremi, nella misurazione della lunghezza è stata esclusa l'appendice ilare; Q rappresenta il rapporto lunghezza/larghezza di ogni spora, Qm rappresenta la media di tutti i rapporti.

*Volvariella strangulata* (Romagn.) Vizzini & Contu*Mycotaxon* **112**: 28 (2010)**Basionimo:** *Volvaria strangulata* Romagn., Bull. Trimest. Soc. Mycol. Fr. **94** (4): 371 (1979) ["1978"]**Caratteri macroscopici***Cappello* 80 – 100 mm, appianato; cuticola sericea, fibrillosa, bianca.*Lamelle* libere, ventricose, con numerose lamellule, rosate, con filo biancastro.*Gambo* 100 – 120 × 15 – 20 mm, cilindrico, leggermente svasato in alto, un po' bulboso alla base, fibrilloso, bianco; volva alta fino a 25 mm, lobata, bianca con zone ocracee.*Carne* bianca, eterogenea tra cappello e gambo; odore indistinto.**Caratteri microscopici***Spore* (5.72) 6.10 – 7.16 (7.69) × (3.89) 4.20 – 5.29 (5.54) μm, in media 6.65 × 4.56 μm, Q = (1.12) 1.26 – 1.58 (1.73), in media 1.42, in vista frontale mitriformi ("con strozzatura mediana"), in vista laterale adassialmente appiattite o irregolarmente amigdaliformi-strangolate; parete spessa.*Basidi* 4-sporici; *subimenio* cellulare.*Pleurocistidi* fino a 86.75 × 27.91 μm, utrififormi, lageniformi, fusiformi-ventricosi, fusiformi, a volte mucronati-papillati.*Cheilocistidi* simili ai pleurocistidi e anche piccoli e claviformi, portati da ife cilindracee catenulate.*Caulocistidi* su tutto il gambo, simili ai cistidi imeniali, 57.71 – 182.17 × 8.01 – 26.87 μm, sovente con collo molto allungato.*Pileipellis* formata da una cutis con transizione in trichoderma formato da ife cilindracee di lunghezza variabile, occasionalmente forcate, con terminali cilindracee, occasionalmente rigonfi, claviformi.*Giunti a fibbia* non trovati.**Habitat e raccolte studiate:** Italia. Gregari, in bosco di latifolia (castagno, faggio, carpino, betulla, frassino) con rada presenza di peccio e pino nero, su terreno calcareo, asciutto al momento della raccolta, loc. Vaggimal, Sant'Anna d'Alfaedo (VR), Veneto, ca. 700 – 800 m. s.l.m., 21 giugno 2021, C. Cingarlini, D. Sartori & L. Martini, VER fu12. Austria. Gregari, in bosco di conifera, Mieders, Innsbruck-Land, Tirolo, ca. 1000 m. s.l.m., 2 luglio 2016, C. Cingarlini.



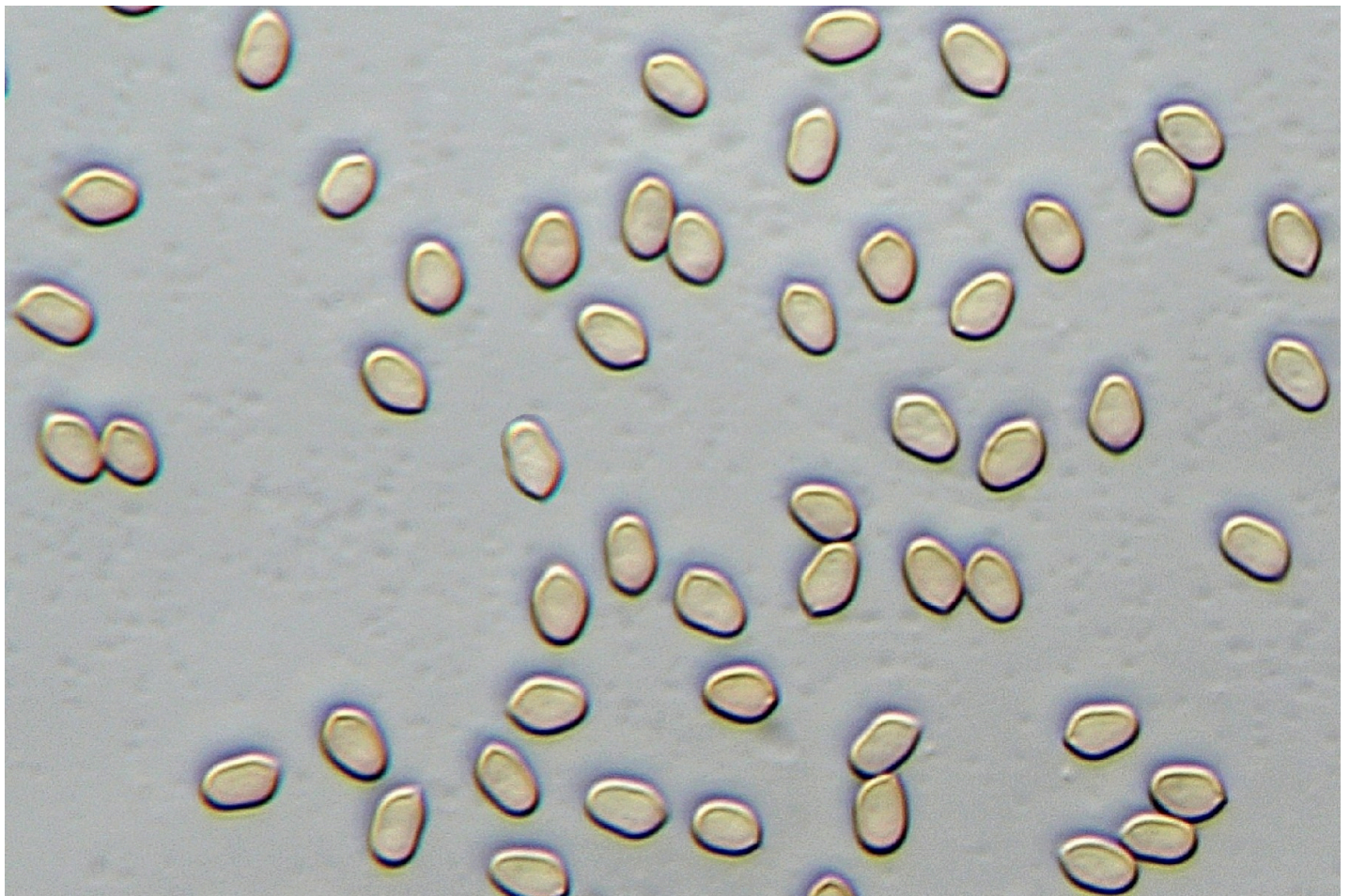
*Volvariella strangulata*. Loc. Vaggimal (VR), Italia. 21 giugno 2021 / Italy. 21 June 2021



*Volvariella strangulata*. Mieders, Austria. 2 luglio 2016 / Austria. 2 July 2016



*Volvariella strangulata*. Mieders, Austria. 2 luglio 2016 / Austria. 2 July 2016

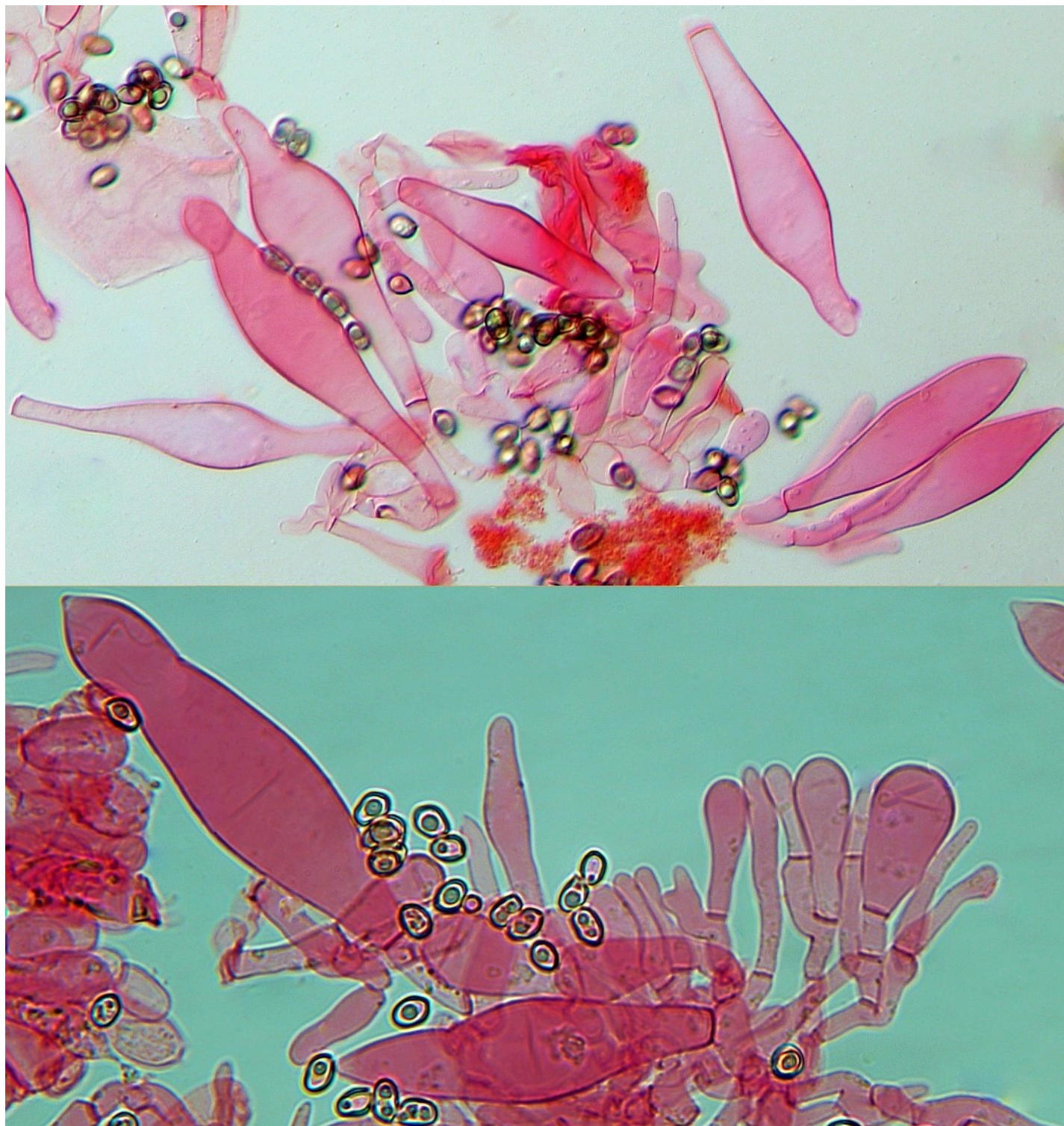


Spore / Spores

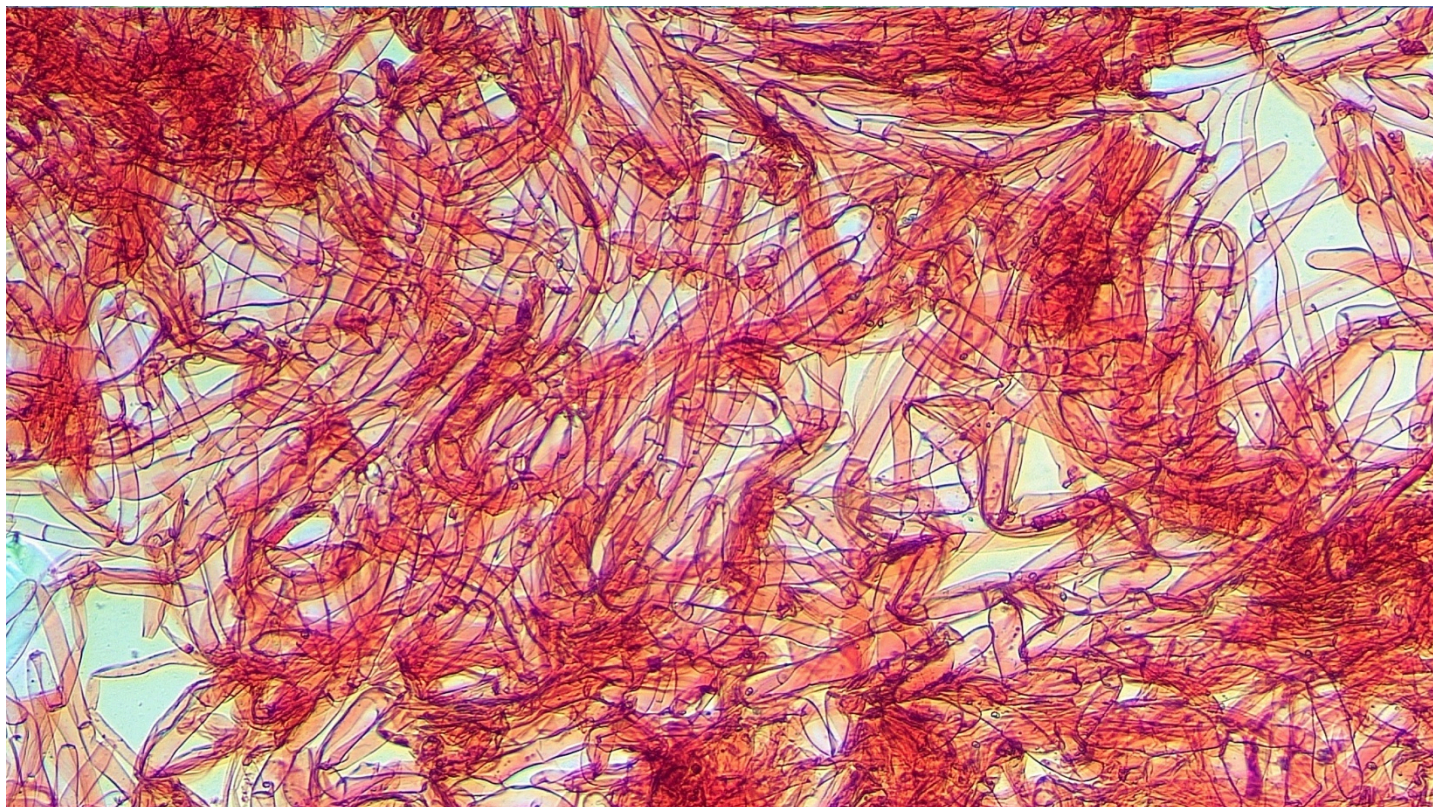
## COMMENTI

Nota solo dall'Europa [Romagnesi, 1979 (Francia); Moser, 2001 (Austria); Vizzini, Contu & Justo, 2011 (Italia, Emilia Romagna, solo caratterizzazione filogenetica), Campos et al., 2014 (Spagna)], *Volvariella strangulata* si caratterizza macroscopicamente per le grosse dimensioni dei carpofori e la cuticola sericea, asciutta; tuttavia è al microscopio che si evidenzia il suo elemento più vistoso dato dalle spore mitriformi, quasi strozzate in zona mediana. Questa morfologia sporale è, allo stato attuale delle conoscenze, unica nel suo genere.

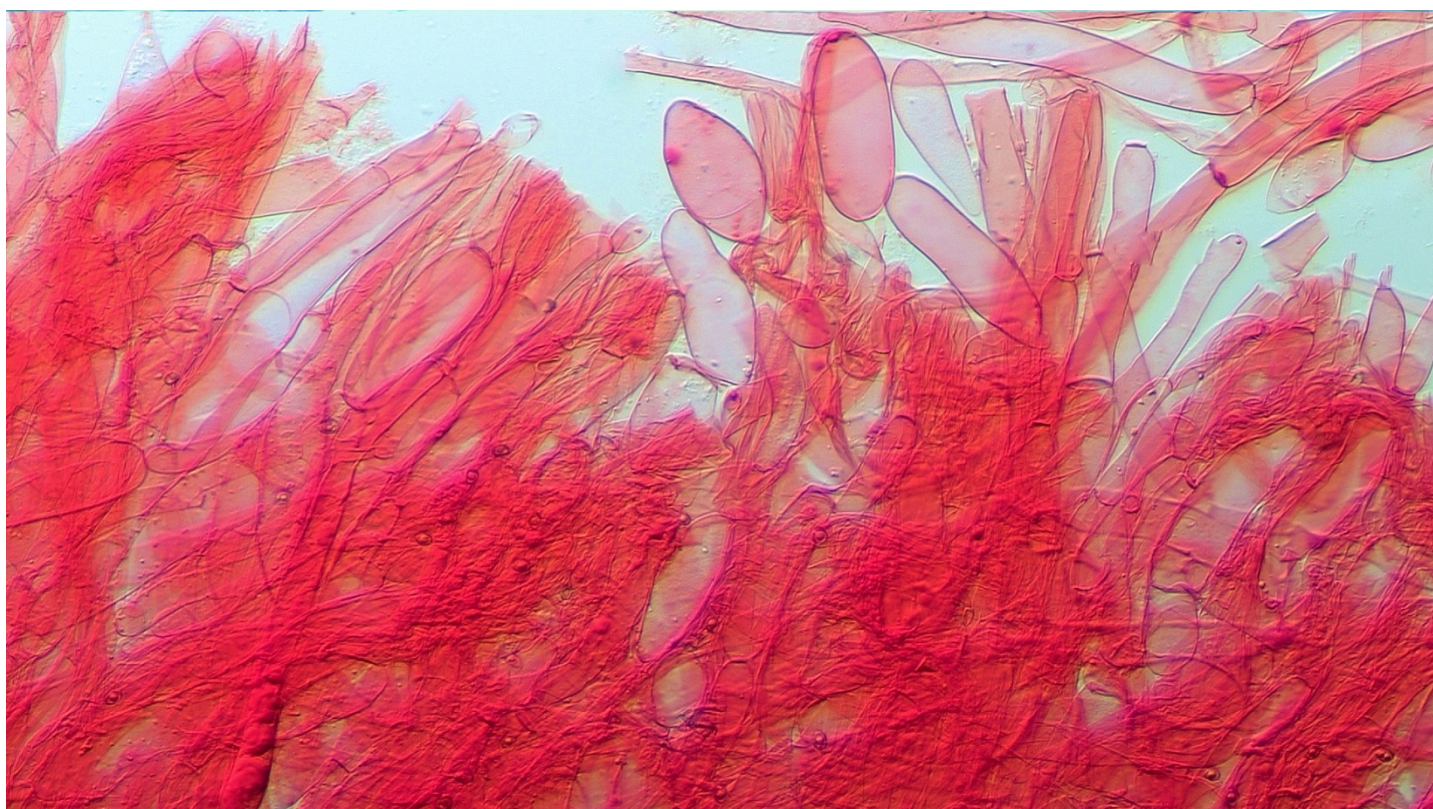
Sul campo *Volvopluteus gloiocephalus*, nel cui concetto includiamo anche *Volvariella gloiocephala* var. *speciosa* (Fr.) Bon, e *Volvopluteus earlei* (Murrill) Vizzini, Contu & Justo sono le uniche altre specie assimilabili per aspetto, dimensione e colorazione dei carpofori, tuttavia si differenziano per la cuticola viscosa e non sericea; le loro spore di forma regolare e di dimensione molto maggiore ovviamente integrano le differenze in campo microscopico.



Cistidi imeniali / hymenial cystidia



Pileipellis in scalpo / scalp of pileipellis



Pileipellis in scalpo con elementi differenziati, rigonfi / scalp of pileipellis with differentiated, swollen elements

#### **RINGRAZIAMENTI**

Ringrazio l'amico Livio Martini che mi ha accompagnato sul posto di questo bellissimo ritrovamento e Daniele Sartori per la consulenza micologica e le immagini di microscopia.

## BIBLIOGRAFIA / REFERENCES

- Campos JC, Pancorbo F, Ribes MA, Sanchez G, Rodriguez B, Cuesta J, Vila J (2014). Contribution to the knowledge of mycobiota of the Natural Park of the mountains North of Guadalajara. Catalogue and more interesting species I. *Bol. Soc. Micol. Madrid* **38**:163 – 181.
- Moser M (2001). Beobachtungen zur Gattung *Volvariella*. *Österr. Z. Pilzk.* **10**:181 – 184.
- Romagnesi H (1979 “1978”). Quelques espèces rares ou nouvelles de macromycètes. 7. Agarics rhodospores (Volvariacees). *Bull. trimestr. Soc. mycol. Fr.* **94**(4):371 – 377.
- Vizzini A, Contu M, Justo A (2011). Additional records of *Volvariella dunensis*. Morphological and molecular characterization. *Mycotaxon* **117**:37 – 43.

Report of *Volvariella strangulata* in Veneto

## Key words:

*Volvariella strangulata*  
Veneto  
Lessinia

**Abstract:** The first finding of *Volvariella strangulata* in Veneto (Italia) is reported. This species, little described in the literature, is particularly interesting because of its rarity. The author makes a macro and microscopic description of the species accompanied by photographs, a taxonomic discussion and a comparison with other species of sez. *Sericellae* present in Italy.

## INTRODUCTION

During a touristic visit to Ponte di Veia, the most important geological monument of the Lessinia, as well as an archaeological site of extraordinary charm, a mycological foray in the territory of the adjacent Parco Naturale Regionale della Lessinia has procured the finding of the rare *Volvariella strangulata* which is the object of this contribution. The inspected zone is comprised between 700 and 800 m. a.s.l. and is composed of a variegated number of broadleaved shrubs, such as hornbeam, ash tree, downy oak, beech, with the presence, albeit sporadic, of spruce and black pine. The macroscopic exam of the basidiomes in the field had soon evidenced the collection belonged to the genus *Volvariella*: pinkish gills and a distinct volva at the stipe base left no doubt about it. The subsequent study under the microscope then highlighted the characteristic elements which unequivocally delineate this species. Finally, in the wake of this determination, I have also rediscovered a preceding Austrian finding which, at the time of collection, I had left undetermined.

## MATERIALS AND METHODS

Basidiomes were photographed with Canon 650D and 80D cameras equipped with Canon 18-55 is and Sigma 17-70 macro lenses. Microscopic structures were studied mainly on fresh material. Observations were made with Orma Eurotek microscope and camera using infinity-corrected bright field objectives with anacropalate 10 ×, 20 ×, 40 ×, 60 × and 100 × (with oil immersion) magnification. The following reagents were used: Congo red for the pileipellis, glycerol-buffer (L4) for spores, a mixture of 60% Congo red and 40% phloxine for lamellae sections. All microscopic photographs are by D. Sartori. Spore measurements were made from a spore powder from a mature specimen, considering all the mature ones present in the optical field of the microscope and using the Mycomètre program (Fannechère, 2011); measurements were reported by discarding the extreme deciles and placing the two most extreme values in brackets, the apiculus was excluded from the length value; Q represents the length/width ratio of each spore, Qm represents the average of all ratios.

## TAXONOMY

*Volvariella strangulata* (Romagn.) Vizzini & Contu  
*Mycotaxon* **112**: 28 (2010)

**Basionym:** *Volvaria strangulata* Romagn., Bull. Trimest. Soc. Mycol. Fr. **94** (4): 371 (1979) [“1978”]

## Macroscopic characters

*Pileus* 80 – 100 mm, applanate; cuticle sericeous, fibrillose, white.

*Lamellae* free, ventricose, with numerous lamellulae, pinkish, with whitish edge.

*Stipe* 100 – 120 × 15 – 20 mm, cylindric, slightly flared upwards, a little bulbous at the base, fibrillose, white; volva up to 25 mm high, lobed, white with ochraceous zones.

*Context* white, heterogeneous between pileus and stipe; odour indistinct.

## Microscopic characters

*Spores* (5.72) 6.10 – 7.16 (7.69) × (3.89) 4.20 – 5.29 (5.54) μm, on average 6.65 × 4.56 μm, Q = (1.12) 1.26 – 1.58 (1.73), on average 1.42, in front view mitriform (“with a median restriction”), in side view adaxially flattened or irregularly amygdaliform-strangled; thick-walled.

*Basidia* 4-sp.; *subhymenium* cellular.

*Pleurocystidia* up to 86.75 × 27.91 μm, utriform, lageniform, fusiform-ventricose, fusiform, sometime mucronate-papillate.

*Cheilocystidia* similar to pleurocystidia and also small and claviform, born from cylindraceous catenulate hyphae.

*Caulocystidia* on all stipe, similar to hymenial cystidia, 57.71 – 182.17 × 8.01 – 26.87 μm, often with a very elongate neck.



*Pileipellis* composed of a cutis with transition to trichoderm, made of variably long cylindraceous hyphae, occasionally forked, with terminal elements cylindraceous, occasionally swollen or claviform.

*Clamp connections* not found.

**Habitat and collections examined:** Italy. Gregarious, in broadleaf wood (chestnut, beech, hornbeam, birch, ash tree) with sparse presence of spruce and black pine, on calcareous soil, dry at the time of finding, loc. Vaggimal, Sant'Anna d'Alfaedo (VR), Veneto, approx. 700 – 800 m. a.s.l., 21 June 2021, C. Cingarlini, D. Sartori & L. Martini, VER fu12. Austria. Gregarious, in conifer wood, Mieders, Innsbruck-Land, Tyrol, approx. 1000 m. a.s.l., 2 July 2016, C. Cingarlini.

### NOTES

Only known from Europe [Romagnesi, 1979 (France); Moser, 2001 (Austria); Vizzini, Contu & Justo, 2011 (Italy, Emilia Romagna, phylogenetic characterization alone), Campos et al., 2014 (Spain)], *Volvariella strangulata* is macroscopically characterized by its large habit and the sericeous, dry cuticle; however its most evident element is evinced in microscopy by the mitriform, almost strangled in the median zone spores. This sporal morphology is, at the present state of knowledge, unique in its genus.

In the field *Volvopluteus gloiocephalus*, in whose concept we include also *Volvariella gloiocephala* var. *speciosa* (Fr.) Bon, and *Volvopluteus earlei* (Murrill) Vizzini, Contu & Justo are the only other species that can be assimilated by aspect, habit, and basidiomes colour, however they differ by the viscid and not sericeous cuticle; their regularly shaped and much larger spores obviously integrate the microscopic differences.

### ACKNOWLEDGMENTS

I wish to acknowledge my friend Livio Martini who accompanied me on the place of this beautiful finding and Daniele Sartori for the mycological assistance and his microscopic photographs.

## Segnalazione per il territorio italiano di *Leucoagaricus rhodelephantinus*

(English version on page 15)

Vincenzo Migliozi<sup>1\*</sup>, Arianna Martolini<sup>2</sup>, Giuseppe Donato<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Viale G. Marconi 196, I- 00146 Roma - email vincenzomigliozi@alice.it

<sup>2</sup>Via Torres 21, I-57023 Cecina (LI) - email ari\_mar@hotmail.it

<sup>3</sup>Via Nomentana 861 R, I-00137 Roma – email gdonato01@libero.it

\*Corresponding author: vincenzomigliozi@alice.it

### Parole chiave:

*Agaricomycetidae*, *Lepiotaceae*  
*Leucoagaricus*, *L. rhodelephantinus*  
ITS sequences, Taxonomy, Italia

**Riassunto:** Gli autori, basandosi su due raccolte realizzate sul territorio nazionale in due distinte località, descrivono *Leucoagaricus rhodelephantinus* segnalando tale entità per la prima volta nel territorio italiano. Vengono altresì discussi i rapporti con altre specie della sezione *Leucoagaricus*. L'analisi filogenetica basata sul marcatore ITS mostra l'assoluta sovrapposibilità con il *typus* rinvenuto in Francia.

### INTRODUZIONE

Lo spunto per un approfondimento e conclusione dello studio di due differenti raccolte fino ad allora determinate in modo dubitativo è stato fornito dalla recente istituzione di *Leucoagaricus rhodelephantinus* rinvenuto e descritto per il territorio francese (Boisselet & Eyssartier, 2020). La conferma avuta dall'analisi filogenetica ha infine prodotto questa nostra sintesi che, oltretutto, consente di allargare l'areale di distribuzione della specie.

### MATERIALI E METODI

I basidiomi sono stati fotografati in habitat mediante fotocamera digitale Nikon modello Coolpix 4500. La descrizione macroscopica è stata formulata osservando esemplari freschi mentre l'analisi microscopica è stata eseguita sia su esemplari freschi sia su esemplari in essiccata. In quest'ultimo caso il materiale è stato preventivamente reidratato in acqua, trattato con Rosso Congo o reattivo di Melzer, lavato almeno altre due volte e poi osservato con reattivo o con colorante. Per la microscopia è stato utilizzato un microscopio biologico trinoculare AmScope modello T490B supportato da una videocamera elettronica digitale MC500. La struttura è dotata di ottiche apocromatiche 20x, 40x, 100x ed oculari 10x.

Tutte le immagini di V. Migliozi; il valore della barra nelle foto di microscopia è 5 µm per le spore, 20 µm per gli altri caratteri.

I risultati delle misurazioni della microscopia, effettuati su almeno 60 elementi per ciascuna tipologia di ciascuna raccolta, sono riportati nella forma "a due valori" che rappresentano l'intervallo osservato espresso con la formula "min-max" con, tra parentesi, i valori considerati fuori norma o eccezionali. Il materiale essiccato è depositato nell'erbario privato di uno degli autori (M.V.).

Il DNA totale è stato estratto dal Laboratorio Alvalab di Oviedo (Spagna) secondo la metodica standardizzata descritta in Murray & Thompson (1980). Per l'amplificazione mediante PCR (Mullis & Falaona 1987) sono stati utilizzati i primers ITS 1F e ITS4 per la regione ITS r-DNA (Garden & Bruns 1993, White et al. 1990), LROR e LRS per le regioni 28S dell'r-DNA (Gubeta et al. 1991). I prodotti della PCR sono stati evidenziati e controllati grazie ad elettroforesi in gel d'agarosio 1%. Infine sono stati controllati i cromatogrammi e sono stati corretti errori di lettura.

Le sequenze sono state esaminate visivamente ricercando errori di lettura con il software MEGA.

***Leucoagaricus rhodelephantinus*** Boisselet & Eyssart. Mycobank: MB836967  
*Bull. Soc. mycol. Fr.* **133** (3 – 4):265 (2020) [2017]

Posizione sistematica: regno *Fungi* R.T. Moore, divisione *Basidiomycota* R. T. Moore, sottodivisione *Agaricomycetidae* Parmasto, ordine *Agaricales* Underw., famiglia *Agaricaceae* Chevall, genere *Leucoagaricus* Locquin ex Singer, sezione *Leucoagaricus*.

Diagnosi originale in Boisselet & Eyssartier (2020):

*A Leucoagarico purpureolilacino differt statura multo minore, colore pilei eburneo incarnato et sporis ovoideis vel cylindratis (4.6) 4.8-5.5-6.1 (6.7) x (2.9) 3.1-3.4-3.8 (4.1) µm. Holotypus: GE 19.050 in herbario PC, Genbank: MT984270*

Iconografia selezionata:

- Boisselet & Eyssartier (2020), Pl. I, Pl. II.
- La Chiusa (1999). Exsiccatum MCVE 21191 sub *Leucoagaricus tener*.
- La Chiusa (2013:259) sub *Leucoagaricus tener*, analoga alla precedente.

Bibliografia selezionata:

- Boisselet & Eyssartier (2020).
- La Chiusa (2013).

Habitat e raccolte studiate:

- M.V. BB28 (= M.V. 15.2893) del 10.10.2015 realizzata nell'Oasi Naturale di Palo laziale (Ladispoli, Roma) sotto *Quercus ilex* e macchia mediterranea su retroduna consolidata, legit V. Migliozi, GB OM971828.
- M.V. BB29 (= M.V. 11.2109) del 08.08.2011 realizzata nella Cerreta di Manziana (Manziana, Roma) sotto *Quercus cerris*, legit V. Migliozi, analisi molecolare fallita.



*Leucoagaricus rhodelephantinus* M.V. BB28 (= M.V. 15.2893)

#### Caratteri macroscopici

**Cappello** (15) 20 – 25 mm, inizialmente subemisferico poi, abbastanza rapidamente, da espanso a piano con un modesto ma evidente umbone al disco e con margine sottilmente striato. La cuticola è costituita da evidenti squamature poligonali, ben separate tra loro, di colore bruno o bruno-rosato che lasciano intravedere un sottostante fondo crema-biancastro. Nella zona discale le squamature sono fuse tra loro fino a dare luogo ad uno strato continuo, dotato di tonalità più cariche tendenti al brunastro. Nella raccolta della Cerreta di Manziana la colorazione pileica risulta essere molto sbiadita, tendente al crema ma le squamature sono sempre di analoga morfologia e sempre ben contrastate rispetto alla superficie di base di colore avorio. Solamente nel caso di primordi è possibile osservare al margine minuscoli lembi eccedenti di residuo anulare di colore crema-avorio.

**Lamelle** libere al gambo, bianche o bianco-avorio, mediamente fitte e poco ventricose; filo concolore.

**Gambo** 25 – 45 (60) × 3 – 5 mm, cilindrico con ingrossamento basale fino a 6 – 7 mm, fin quasi ad simulare un bulbo allungato, colorato in bianco, pieno. Slanciato e dotato alla base di una evidente feltrosità. Nella parte superiore presente un anello di colore bianco, estremamente fragile e facilmente caduco, talvolta appeso al margine pileico oppure di difficile percezione perché scomparso. In questi casi lascia sul gambo delle impercettibili vestigia fioccosi. Sulla faccia superiore dell'anello si può osservare una banda circolare di modestissime dimensioni diametrali e di colorazione crema. Per manipolazione la superficie del gambo assume una modesta colorazione avorio.

**Guttule** assenti da tutte le parti degli sporofori.

**Carne** priva di odore particolare, in genere biancastra. Reazione nulla al trattamento con soluzioni di  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

#### Caratteri microscopici

**Spore** (4.7) 5.0 – 5.8 (6.3) × 3.2 – 4.2  $\mu\text{m}$ , in media 5.2 × 3.6  $\mu\text{m}$ . Q = 1.46, da ovoidi a subovoidi allungate, raramente subcilindracee, sempre con apice ottuso, apicolo pronunciato, parete moderatamente spessa, ialine, destrinoidi, metacromatiche al Blu di Cresile, prive di poro germinativo.

**Basidi** 16 – 22 × 6 – 8  $\mu\text{m}$ , tetrasporici, claviformi, con sterigmi lunghi 3.0 – 3.5  $\mu\text{m}$ .

**Subimenio** subcellulare con sottostanti ife allungate di dimensioni diametrali fino a 12 (15)  $\mu\text{m}$ .

**Pleurocistidi** non osservati.

*Cheilocistidi* (20) 25 – 40 (50) × (5) 6 – 10 (12) μm, nella maggior parte dei casi claviformi o cilindro-clavati, ventricosi, talvolta fusiformi, in diversi casi è stato osservato un rigonfiamento della parete estremamente localizzato, fino ad apparire come fini granulazioni inglobate nella parete e disperse sulla superficie esterna; abbastanza numerosi ma solo raramente aggregati in ciuffi consistenti, generalmente dispersi in modo continuo sul filo.

*Epicute* in trichoderma costituito da catene di elementi allungati. Gli elementi terminali sono in genere claviformi, altre volte sono ventricosi o difforni, misurano 40 – 100 (120) × 5 – 12 (18) μm, l'apice è sempre arrotondato, sono dotati di pigmentazione sia vacuolare sia di membrana. Gli elementi sottostanti, di analoghe dimensioni, sono dotati di pigmentazione incrostante. Esclusivamente nella zona del disco è presente una modesta sub-gelificazione della struttura, totalmente assente nella restante superficie pileica.

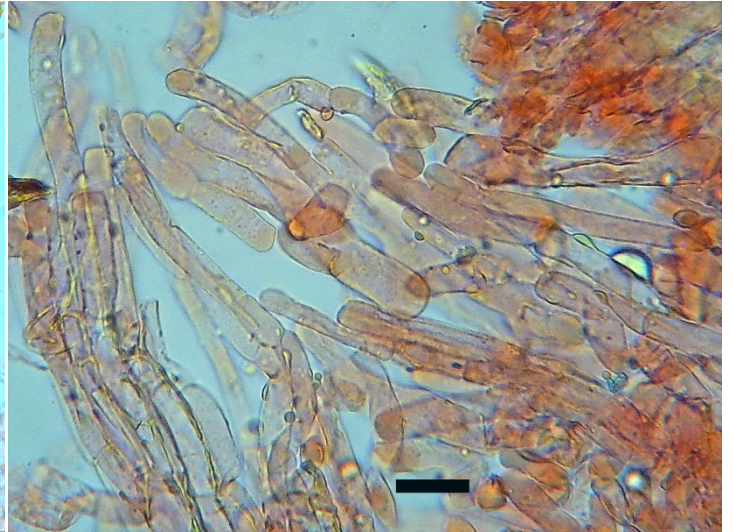
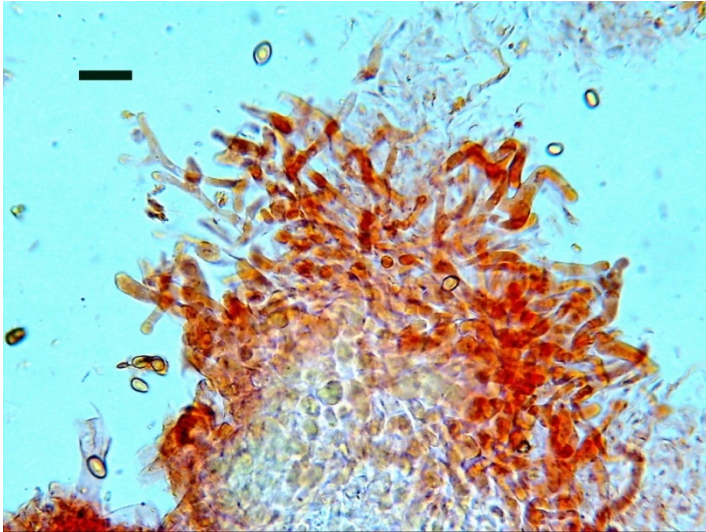
*Giunti a fibbia* assenti ovunque.



*Leucoagaricus rhodelephantinus* M.V. BB28 = M.V. 15.2893



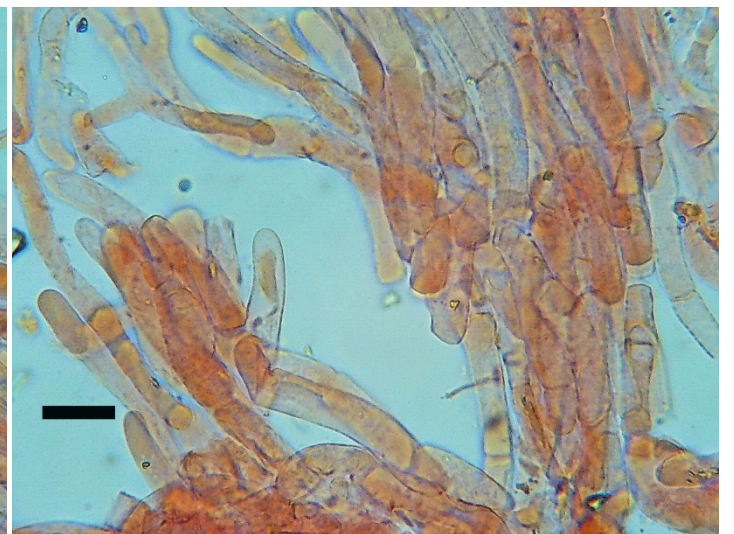
*Leucoagaricus rhodelephantinus* BB29 = M.V. 11.2109



Pileipellis al disco con elementi subgelificati / pileipellis at disk with sub gelatinised elements



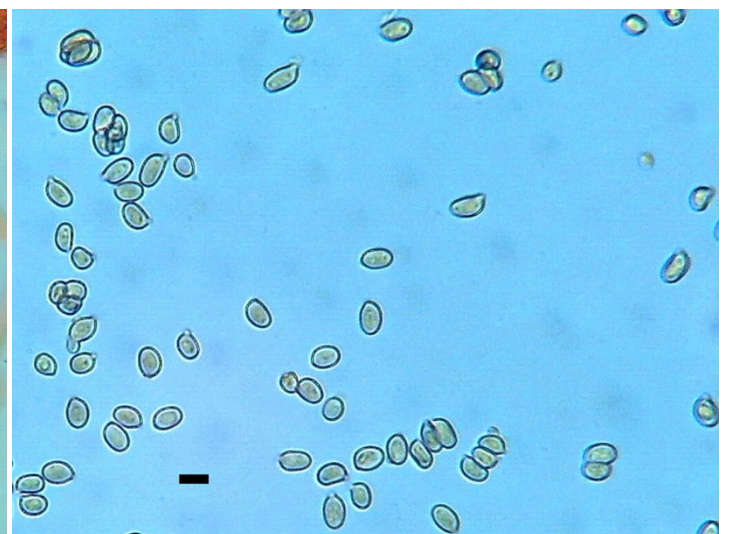
Trichoderma delle squame pileiche / trichoderm of pileal scales



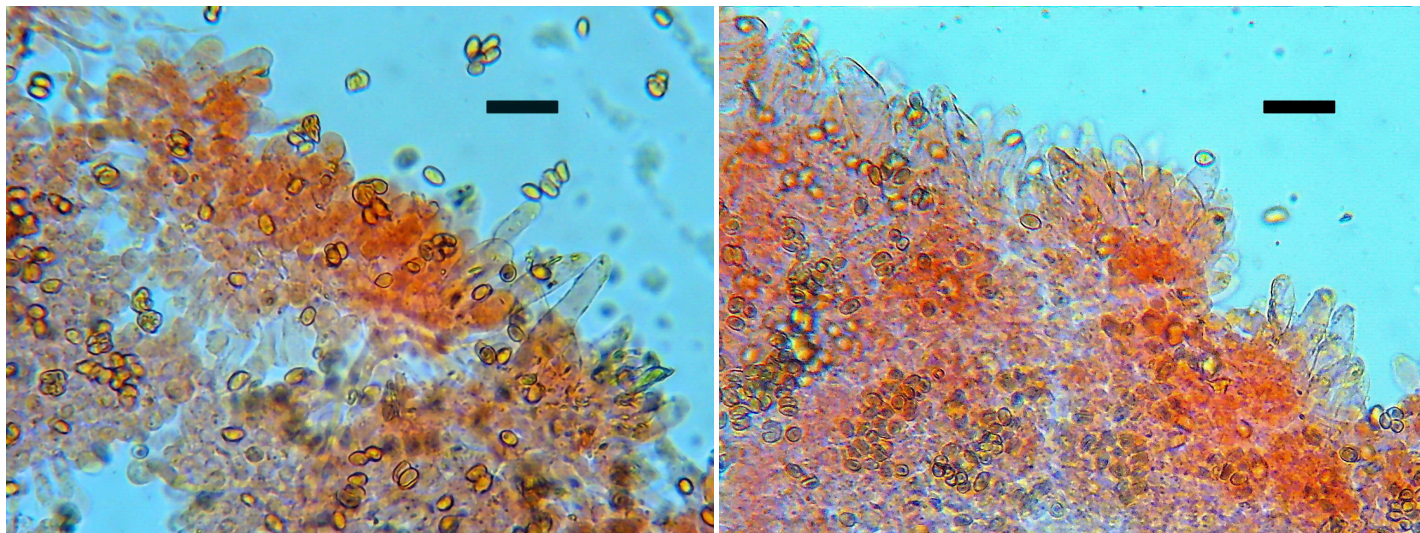
Pileipellis e subpellis / pileipellis and subpellis



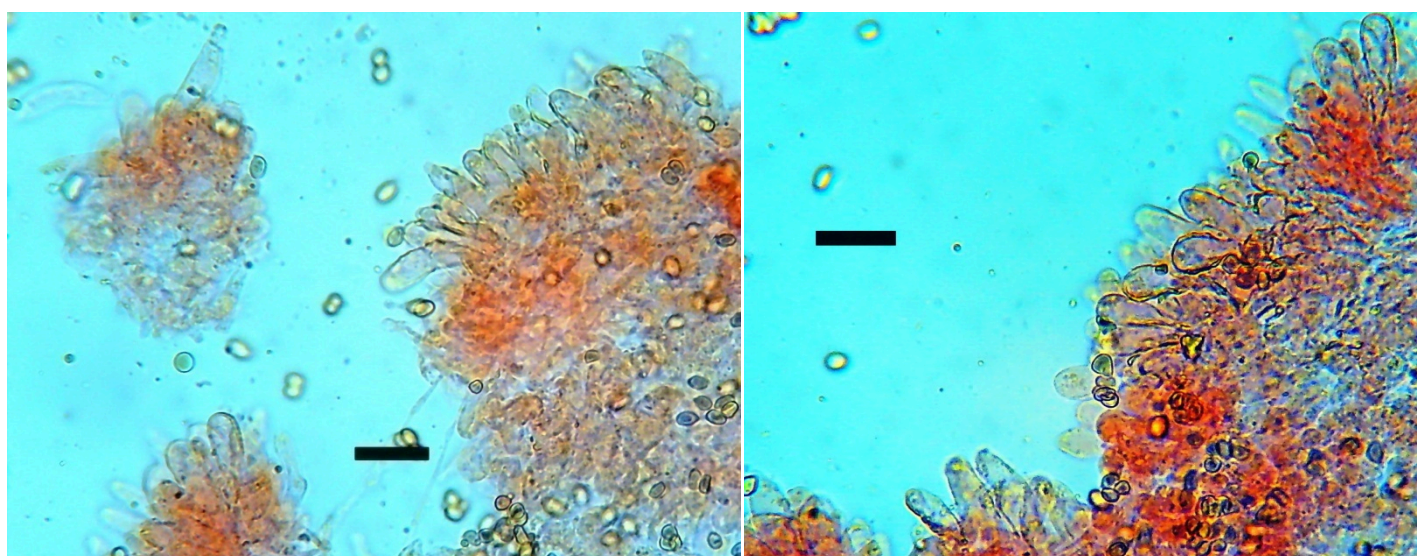
Pigmento incrostante in subcute / incrustant pigment in subcutis



Spore / spores



Filo lamellare con cheilocistidi / gill edge with cheilocystidia



Filo lamellare con cheilocistidi / gill edge with cheilocystidia

## COMMENTI

La sottosezione *Trichodermi* Bon & Migl., a cui appartiene *L. rhodelephantinus*, risulta essere costituita da numerose specie affini e non separabili tra di loro se non con difficoltà. Le specie europee interessate sono: *L. marriagei* (D.A. Reid) Bon, *L. ammovirescens* (Bon) Migl. & Coppola, *L. tener* (P.D. Orton) Bon, *L. brunneocingulatus* (P.D. Orton) Bon, *L. melanotrichus* var. *fuligineobrunneus* Bon & Boiffard, *L. melanotrichus* var. *septentrionalis* D.A. Reid, *L. gauguei* Bon & Boiffard ed infine *L. rhodelephantinus*. È merito di Boisselet & Eyssartier (2020) essere riusciti a separare la specie qui trattata da alcune interpretazioni errate di *L. tener* utilizzando le sequenze dell'ITS. Se, da una parte, risponde a verità quanto indicato da Hofstetter & al. (2019) e riportato da Boisselet & Eyssartier (2020) in merito alla validità scientifica dell'immissione di dati molecolari nelle banche dati di entità dimostrate poi erroneamente determinate, dall'altra possiamo aggiungere, e lo diciamo sommessamente, che in diversi casi risulta impossibile disporre delle sequenze di alcuni *typus* descritti in tempi pure recenti. Se si potesse disporre delle sequenze di specie istituite o ridescritte negli ultimi decenni si potrebbe, e non di poco, facilitare il compito per una corretta determinazione.

La difficoltà nel caso della sottosezione *Trichodermi* è stata accentuata da una serie di interpretazioni dubbie più o meno recenti nonché dalla possibile presenza di un certo numero di specie collettive di cui alcune già definite in passato (*L. marriagei* / *L. ionidicolor* Bellù & Lanzoni / *L. idea-fragum* Guinb., Boisselet & G. Dupuy), altre solo recentemente (*L. rhodelephantinus* / *L. tener*) ed altre, nel complesso *L. tener*, ancora da definire.

Premesso che non risulta possibile utilizzare la presenza di guttule sul cappello e sul gambo, rinvenibili quasi esclusivamente su esemplari freschi ed immaturi in condizioni meteo favorevoli, e premesso che molto spesso il materiale *typus* a disposizione non risulta essere sempre sequenziabile, non rimane che prestare la massima attenzione a quanto disponibile utilizzando le vecchie metodologie di indagine.

Nel presente caso il cappello di *L. rhodelephantinus* mostra, negli esemplari francesi e in quelli italiani, un habitus tipico, ma in miniatura, del cappello delle specie del genere *Macrolepiota* sottosezione *Microsquamatae* (Pazmany) Bellù & Lanzoni, cioè squame numerose e disperse a morfologia poligonale.

Questa particolarità consente di identificare già sul campo gli esemplari da attribuire a *L. rhodelephantinus*. Quanto detto risulta ben evidente sia per le raccolte francesi (Boisselet & Eyssartier, 2020) nell'immagine della tavola II ( in basso ) relativa alla raccolta

del 1.11.2014, sia nelle nostre immagini di corredo al presente lavoro così come in quella di La Chiusa (2013) in Funghi Agaricoidi. Per contro, l'immagine della raccolta GE 20.004 di P. Hériveau (riportata in Boisselet & Eyssartier, 2020), relativa al vero *L. tener*, evidenzia un esemplare a rivestimento pileico praticamente indissociato. La raccolta di Hériveau risulta essere conforme alla descrizione originale di Orton (1960) e assimilabile a quella di Vellinga (2004) la cui sequenza ITS, depositata in GenBank con voucher AY176444, è dotata di un'identità del 99% rispetto alla raccolta francese.

Per completezza di informazione riportiamo la percentuale di identità della nostra sequenza OM971828 (relativa alla raccolta M.V. BB28 = M.V. 15.2893) rispetto ai voucher presenti in GenBank interessati dal complesso *L. rhodelephantinus* / *L. tener*:

MT984270	collezione GE 19.050	99.86 % <i>L. rhodelephantinus</i>
GQ329043	collezione MCVE 751	99.00 % <i>L. rhodelephantinus</i> / <i>L. tener</i>
AY176444	collezione Vellinga 23.9.1998	85.78 % <i>L. tener</i>

Le nostre due raccolte, risultate ovviamente sovrapponibili tra loro per i caratteri macro e microscopici, possono entrambe a pieno titolo essere determinate come *L. rhodelephantinus*.

Non possiamo invece pronunciarsi in merito ad una vecchia raccolta riportata in Migliozzi & Coccia (1990) come *L. tener* "forma", caratterizzata da colorazione pileica bruno-vinosa al disco, da anello completamente bianco, priva di guttule e dotata di spore estremamente piccole, 4.0 – 4.5 (5.0) × 3.0 – 3.5 (4.0) µm. Il campione non risulta essere più sequenziabile.

In merito alle dimensioni sporiali possiamo notare come le spore di *L. rhodelephantinus* siano mediamente più piccole rispetto a quelle di *L. tener*, come evidenziato nella sottostante tabella 1.

Tabella 1 / Table 1	
<i>L. rhodelephantinus</i> (Boisselet & Eyssartier, 2020)	(4.6) 4.8 – 6.1 (6.7) × (2.9) 3.1 – 3.8 (4.1) µm
<i>L. rhodelephantinus</i> (sub <i>L. erioderma</i> , Eyssartier & Roux, 2017)	5.5 – 7.5 × 3.5 – 4.5
<i>L. rhodelephantinus</i> (sub <i>L. tener</i> , La Chiusa, 1999)	5.5 – 7.0 × 3.5 – 4.0 µm
<i>L. rhodelephantinus</i> (Migliozzi & al., 2022)	5.0 – 5.8 (6.3) × 3.2 – 4.2 µm
<i>L. tener</i> (Bizzi & Zecchin, 2001)	(5.0) 5.5 – 7.0 (7.5) × (3.5) 4.0 – 4.5 (5.0) µm
<i>L. tener</i> (Bon, 1976)	(5.0) 5.5 – 7.0 (7.5) × 3.0 – 4.0 (4.5) µm
<i>L. tener</i> (Bon, 1981)	(5.0) 5.5 – 7.5 (8.5) × (3.5) 4.0 – 4.5 (5.0) µm
<i>L. tener</i> (Bon, 1993)	(5.0) 5.5 – 7.5 (8.5) × (3.5) 4.0 – 4.5 (5.0) µm
<i>L. tener</i> (Candusso & Lanzoni, 1990)	6.0 – 7.5 (8.0) × 3.8 – 4.6 (5.0) µm
<i>L. tener</i> (Orton, 1960)	6.0 – 8.0 × 3.5 – 4.5 µm
<i>L. tener</i> (Ulje, 1984)	5.2 – 7.7 × 3.4 – 4.7 µm
<i>L. tener</i> (Vellinga, 2001)	6.5 – 8.0 × (3.5) 4.0 – 4.5 (5.0) µm
<i>L. tener</i> var. <i>brevisporus</i> (Kumari & Atri, 2013)	4.8 – 6.5 × 3.2 – 4.0 µm

Per differenziare *L. rhodelephantinus* dalle specie similiori possiamo commentare come segue.

*L. melanotrichus* var. *septentrionalis*, specie nordica, dotata anch'essa di guttule su tutto il carpoforo, si distingue nettamente per la colorazione pileica grigiasta o nerastra. *L. melanotrichus* var. *fuligineobrunneus* possiede colorazione pileica bruno-grigiasta, epicute costituita da catene di articoli corti con terminali di dimensioni ridotte, 30 – 50 × 8 – 12 µm. Queste due entità, al pari di numerose altre a cappello grigiastro non dovrebbero appartenere alla sottosezione *Trichodermi* quanto piuttosto alla sezione *Leucoagaricus* sottosezione *Melanotrichae* Bon, al pari di *L. atroalbus* P. Mohr & Dähncke e *L. atrofibrillosus* Singer.

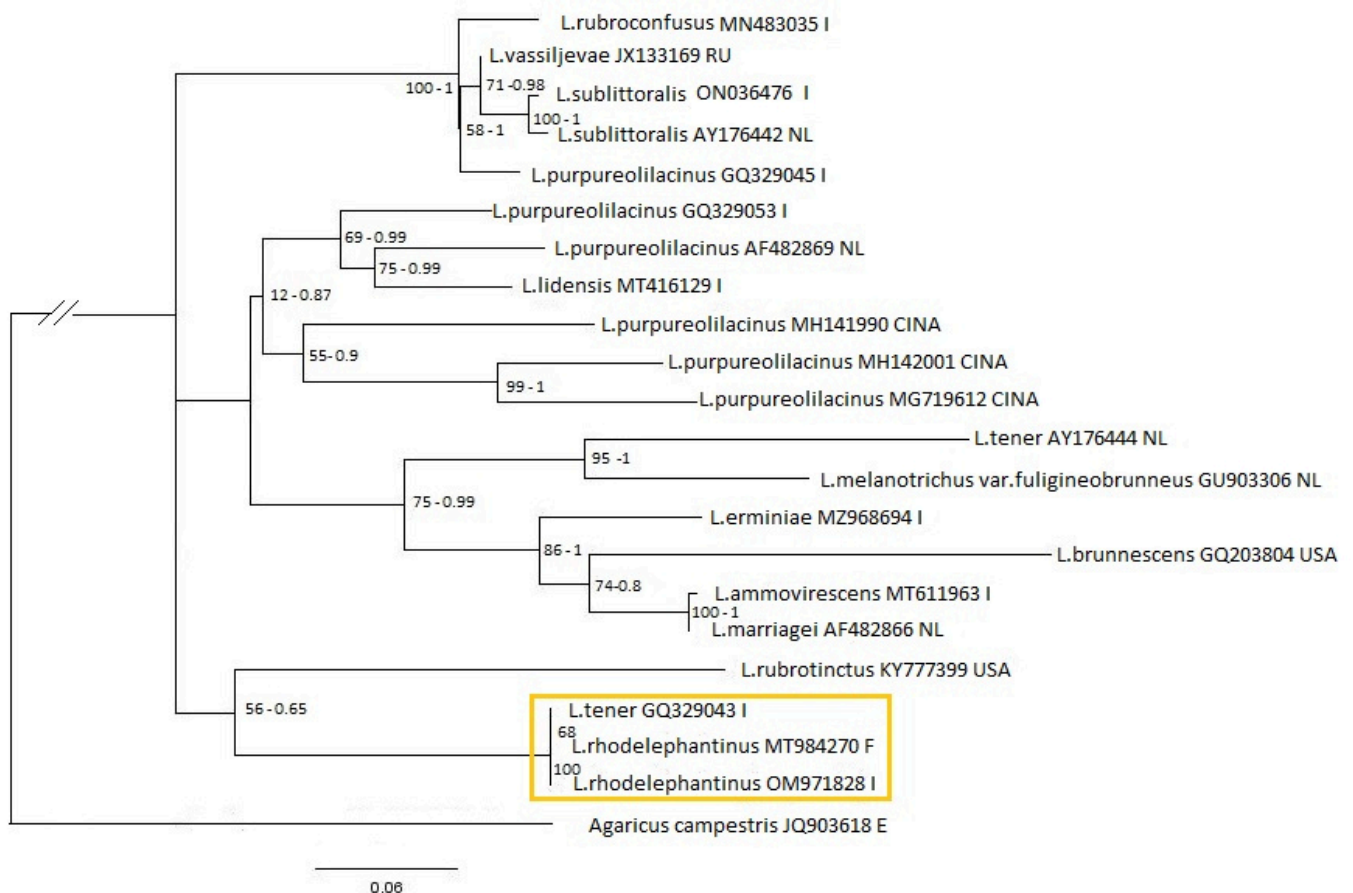
*L. gauguei* è differente per la colorazione pileica, per una morfologia sporale subamigdaliforme a sommità stirata e per la presenza nell'epicute di pileocistidi subimbeniformi.

Una specie invece davvero critica e che potrebbe porre serie difficoltà nella determinazione è *L. brunneocingulatus*. Si tratta di una specie estremamente rara, discussa da uno degli autori (M.V.) in una vecchia nota (Migliozzi & Perrone, 1991) e che meriterebbe di essere ulteriormente studiata. Come già fatto notare da Orton (1960), nella figura 427 raffigurante le "end-cells of scales on cap", le ife preterminali del trichoderma sono decisamente corte e fortemente incrostate. Questo carattere, già riportato in Migliozzi & Perrone (1991), è di fondamentale importanza per distinguere *L. brunneocingulatus* dal complesso *L. tener*. È inoltre allo studio una duplice raccolta realizzata nella Macchia della Signora nel comune di Cerveteri (RM) con caratteristiche macro e micro perfettamente sovrapponibili a quelle precedentemente da noi osservate (Migliozzi & Perrone, 1991); queste raccolte sono state pure sequenziate e le sequenze risultano distinte dalle specie trattate in questo lavoro.

Oltretutto nella nostra vecchia descrizione il cappello è al disco bruno, rosso-bruno o rosso arancione mentre l'anello presenta un bordo nettamente colorato in bruno rossastro. Per chiudere vogliamo altresì ricordare che l'elemento terminale del trichoderma del rivestimento pileico ha dimensioni massime pari a 250 × 20 µm nella diagnosi originale, fino a 220 × 14 (17) µm nella descrizione del 1991, fino a 200 × 16 (18) nel ritrovamento della Macchia della Signora. Altre specie, pur da noi incluse nell'albero filogenetico, devono essere escluse per il viraggio alla manipolazione o per la reazione alle soluzioni acquose ammoniacali. Analogamente devono essere escluse altre entità dotate di una marcata gelificazione nella zona discale, quali quelle appartenenti alla stirpe *Littoralis* ed alla sottosezione *Rubrotincti* (Singer) Bon.

In Figura 1 riportiamo il filogramma delle specie affini a *L. rhodelephantinus* nei caratteri macroscopici ed in quelli della microscopia nonché di quelle similari appartenenti alle sottosezioni *Trichoderma* e *Melanotrichae*. I dati completi delle sequenze inserite nell'albero filogenetico sono nella sottostante Tabella 2.

Tabella 2 / Table 2		
Species	Coll. ID/Origin	ITS
<i>L. ammovirescens</i> (Bon) Migl. & Coppola	MV Leuc 002 – 8381 (ALV24847)/IT	OM971827
<i>L. brunnescens</i> (Peck) Bon	R. Balsley (UC)/US	GQ203804
<i>L. erminiae</i> Consiglio, Setti & Vizzini	AMB18731/IT	MB841276
<i>L. lidensis</i> Migl. & P. Alvarado	MV241114.Le 006 type/IT	MT416129
<i>L. marriageae</i> (D.A. Reid) Bon	9-IX-1996, E.C. Vellinga 2005 (L)/NL	AF482866
<i>L. melanotrichus</i> var. <i>fuligineobrunneus</i> Bon & Boiffard	H.A. Huijser (herb. Huijser)/NL	GU903306
<i>L. purpureoililacinus</i> Huijsman	450526MF0069/CN	MG719612
<i>L. purpureoililacinus</i>	420526MF0052/CN	MH142001
<i>L. purpureoililacinus</i>	420526MF0037/CN	MH141990
<i>L. purpureoililacinus</i>	6-XI-1998, E.C. Vellinga 2291/NL	AF482869
<i>L. purpureoililacinus</i>	MCVE:754/IT	GQ329045
<i>L. purpureoililacinus</i>	MCVE:2261/IT	GQ329053
<i>L. rhodelephantinus</i> Boisselet & Eyssart.	GE 19.050 type/FR	MT984270
<i>L. rhodelephantinus</i>	M.V.15.2893 = MV BB28 (ALV28904)/IT	OM971828
<i>L. rubroconfusus</i> Migl. & Coccia	82002 type/IT	MN483035
<i>L. rubrotinctus</i> (Peck) Singer	TENN:064385/US	KY777399
<i>L. sublittoralis</i> Singer	19-IX-1998, E.C. Vellinga 2235 (L)/NL	AY176442
<i>L. sublittoralis</i>	MV 15.2403 = MV Leu 002 (ALV14268)/IT	ON036476
<i>L. tener</i> (P.D. Orton) Bon	23-IX-1998, E.C. Vellinga 2261 (L)/NL	AY176444
<i>L. tener</i>	MCVE:751/IT	GQ329043
<i>L. vassiljevae</i> E.F. Malysheva, Svetash. & Bulakh	LE10350 type/RU	JX133169



**Figura 1 / Figure 1.** Elaborazione tramite RaxML, metodo ML + rapid bootstrap, modello GTRGAMMA, repliche 1000. I valori di bootstrap sono indicati, rafforzati dai valori di probabilità a posteriori ottenuti con analisi bayesiana (0-1), distribuzione gamma, nst=6, generazioni 1 milione. *Agaricus campestris* è stato scelto come outgroup / Elaboration using RAXML, ML + rapid bootstrap method, GTRGAMMA model, 1000 bootstraps. Bootstrap values are reported, strengthened by the Bayesian posterior probability (0-1), gamma distribution, nst=6, 1 million generations. *Agaricus campestris* was selected as outgroup.



## RINGRAZIAMENTI

Desideriamo esprimere il nostro ringraziamento per la gradita collaborazione ed anche per l'aggiornamento della letteratura a Guillaume Eyssartier, Pierre Roux e Pablo Alvarado. Ringraziamo altresì Antonio Pizzuti Piccoli per l'accesso all'Oasi Naturale di Palo Laziale.

## BIBLIOGRAFIA citata o consultata / REFERENCES cited or consulted

- Boisselet P, Eyssartier G (2020). Un leucoagaric décrit du littoral morbihannais : *Leucoagaricus rhodelephantinus* sp. nov. *Bulletin de la Société Mycologique de France*. **133**(3):263 – 272.
- Bon M (1978). Taxons nouveaux. *Doc. Mycol.* **29**:33 – 38.
- Bon M (1981). Clé monographique des “Lépiotes” d'Europe. *Doc. Mycol.* **11**(43):1 – 77.
- Bon M (1993). Novitates 4. Famille *Lepiotaceae* Roze ex Overeen. *Doc. Mycol.* **88**:27 – 32.
- Bon M (1993). Flore mycologique d'Europe, 3. Les Lépiotes. *Lepiotaceae* Roze. *Doc. Mycol. Mémoire hors série no. 3*. L'Association d'Ecologie et Mycologie, Lille, 153 pp.
- Bizzi A, Zecchin G (2001). *Leucogarius tener*. *Soc. Veneziana di Micologia*. Scheda n. 730.
- Candusso M, Lanzoni G (1990). *Lepiota* s.l.. *Fungi Europaei*. Vol. 4. Ed. Candusso Edizioni.
- Cubeta MA, Echandi E, Abenerthy T, Vilgalys R (1991). Characterization of anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* species using restriction analysis of ribosomal RNA gene. *Phytopathology* **81**:1395 – 1400. doi: 10.1094/Phyto-81-1395.
- Eyssartier G, Roux P (2017). Le guide des champignons, France et Europe. Ed. Belin. Paris
- Gardes M, Bruns TD (1993). ITS primers with enhanced specificity for *Basidiomycetes*—application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* **2**:113 – 118.
- Hofstetter V, Buyck B, Eyssartier G, Schnee S, Gindro K (2019). The unbearable lightness of sequenced-based identification. *Fungal Diversity* **96**:243 – 284.
- Kumari B, Atri NS (2013). New additions of basidiomycetous fungi in Indian mycoflora. *Mycosphere* **4**(1):53 – 59. Doi: 10.5943/mycosphere/4/1/4.
- La Chiusa L (1999). *Leucoagaricus tener*. Società Veneziana di Micologia. Scheda n. 751.
- La Chiusa L (2013). Funghi agaricoidi vol. 1. *Agaricaceae*. ANDER Edizioni.
- Migliozzi V, Perrone L (1991). Sulle lepiotee – 6° contributo. Prima segnalazione in Europa continentale di *Leucoagaricus brunneocingulatus* (Orton) Bon. *Boll. Amer* **23**:3 – 6.
- Migliozzi V, Coccia M (1995). Funghi del Lazio II. 6 – 10. *Micologia Italiana* **1**:11 – 24.
- Mullis KB, Falaona FA (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* **155**:335 – 350. doi: 10.1016/0076-6879.
- Murray MG, Thompson WF (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* **8**(19):4321 – 4325.
- Orton PD (1960). New check list of British Agarics and Boleti. Part III. Notes on genera and species in the list. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **43**(2): 159 – 439.
- Uljé CB (1984). Twee bijzondere parasolzwammen: *Leucoagaricus tener* en *Lepiota casimirii*. *Coolia* **27**(1):10 – 16.
- White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Eds.) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, New York, pp. 315-322.
- Vellinga EC (2001). *Leucoagaricus* Locq. ex Singer. In: Noordeloos ME, Kuyper TW, Vellinga EC (Eds.) *Flora Agaricina Neerlandica. Critical monographs on families of agarics and boleti occurring in the Netherlands*, vol 5. A.A. Balkema, Lisse, pp. 85 – 108.

## Report for the Italian territory of *Leucoagaricus rhodelephantinus*

**Key words:**

*Agaricomycetidae*, *Lepiotaceae*  
*Leucoagaricus*, *L. rhodelephantinus*  
ITS sequences, Taxonomy, Italy

**Abstract:** The authors, basing on two findings made in the Italian territory in two different localities, describe *Leucoagaricus rhodelephantinus* reporting this entity from Italy for the first time. Relations with other species of section *Leucoagaricus* are also discussed. Phylogenetic analysis based on the ITS marker evidences the absolute overlap with the type collected in France.

## INTRODUCTION

The starting point for a conclusive study of two different collections hitherto determined in a dubious way was provided by the recent publication of *Leucoagaricus rhodelephantinus* collected and described from the French territory (Boisselet & Eyssartier, 2020). The confirmation received from the phylogenetic analysis has finally produced our synthesis which, moreover, allows us to expand the known distribution area of the species.

## MATERIALS AND METHODS

The basidiomes were photographed in habitat using a Nikon Coolpix 4500 digital camera. The macroscopic description was obtained by observing fresh specimens while the microscopic analysis was performed on both fresh and dried specimens. In the latter case, the material was previously rehydrated in water, treated with Congo Red or Melzer's reagent, washed at least two more times and then observed with reagent or dye. An AmScope model T490B trinocular biological microscope supported by an MC500

digital electronic video camera and equipped with 20x, 40x, 100x apochromatic optics and 10x eyepieces was used for the microscopy.

All imagery are by V. Migliozi; the bar value in microscopy images is 5 µm for the spores and 20 µm for all other characters.

Microscopy measurements, carried out on at least 60 elements for each parameter of each collection, are reported in the "two-value" form which represents the observed interval expressed with the "min-max" formula, with out of the ordinary or exceptional values in brackets. The dried material is deposited in the private herbarium of one of the authors (M.V.).

Total DNA was extracted by the Alvalab Laboratory in Oviedo (Spain) according to the standardized method described in Murray & Thompson (1980). For amplification by PCR (Mullis et Falaona 1987) primers ITS 1F and ITS4 were used for the ITS r-DNA region (Garden & Bruns 1993, White et al. 1990), LROR and LRS for the 28S regions of r-DNA (Gubeta et al. 1991). PCR products were highlighted and controlled by electrophoresis in 1% agarose gel. Finally, the chromatograms were checked and read errors were corrected.

Sequences were manually inspected for read errors with the MEGA software.

## TAXONOMY

*Leucoagaricus rhodelephantinus* Boisselet & Eyssart.

*Bull. Soc. mycol. Fr.* **133** (3 – 4):265 (2020) [2017]

Mycobank: MB836967

Systematics: reign *Fungi* R.T. Moore, division *Basidiomycota* R. T. Moore, subdivision *Agaricomycetidae* Parmasto, order *Agaricales* Underw., family *Agaricaceae* Chevall, genus *Leucoagaricus* Locquin ex Singer, section *Leucoagaricus*.

Original diagnosis in Boisselet & Eyssartier (2020):

*A Leucoagarico purpureolilacino differt statura multo minore, colore pilei eburneo incarnato et sporis ovoideis vel cylindraceis (4.6) 4.8-5.5-6.1 (6.7) x (2.9) 3.1-3.4-3.8 (4.1) µm.*

Holotypus: GE 19.050 in herbario PC, Genbank: MT984270

Selected iconography:

- Boisselet & Eyssartier (2020), Pl. I, Pl. II.
- La Chiusa (1999). Exsiccatum MCVE 21191 sub *Leucoagaricus tener*.
- La Chiusa (2013:259) sub *Leucoagaricus tener*, similar to the previous one.

Selected literature:

- Boisselet & Eyssartier (2020).
- La Chiusa (2013).

Habitat and examined collections:

- M.V. BB28 (= M.V. 15.2893), 10.10.2015, Oasi Naturale di Palo laziale (Ladispoli, Roma) under *Quercus ilex* and Mediterranean scrub on consolidated backdune, legit V. Migliozi, GB OM971828.
- M.V. BB29 (= M.V. 11.2109), 08.08.2011, Cerreta di Manziana (Manziana's ash wood) (Manziana, Roma) under *Quercus cerris*, legit V. Migliozi, molecular analysis unsuccessful.

### Macroscopic characters

*Pileus* (15) 20 – 25 mm, subhemispheric at start then fairly quickly expanded to applanate with a modest though evident umbo at centre; margin narrowly striate; cuticle composed of brown to pinkish brown evident polygonal scales well separated from each other and revealing an underlying whitish cream background in periphery, darker brownish and fused together in a continuous layer in the centre (in the Cerreta di Manziana's collection the pileus colour is very faded, tending to cream, while scales are always of similar morphology and always well contrasted with respect to the ivory-coloured background); only in young stages tiny, ivory cream annular remains are left exceeding the margin.

*Lamellae* free, white to ivory-white, moderately crowded and little ventricose; edge concolorous.

*Stipe* 25 – 45 (60) × 3 – 5 mm, slenderly cylindric with a basal enlargement up to 6 – 7 mm almost simulating an elongate bulb, white, stuffed, distinctly felty at base, turning to a weak ivory colour when handled. Annulus in the upper half white, with a cream circular band of very modest diametrical dimensions on the upper surface, extremely fragile and easily fugacious, sometimes appendiculate to the pileus margin or scarcely perceptible when already vanished and then imperceptible floccose vestigia are left on the stipe.

*Guttules* absent in all parts of the sporophores.

*Context* with no particular odour, generally whitish, not reacting to treatment with NH<sub>4</sub>OH solutions.

### Microscopic characters

*Spores* (4.7) 5.0 – 5.8 (6.3) × 3.2 – 4.2 µm, on average 5.2 × 3.6 µm. Q = 1.46, ovoid to elongate subovoid, rarely subcylindrical, apex always obtuse, apiculus pronounced, moderately thick-walled, hyaline, dextrinoid, metachromatic in Cresyl Blue; germ pore absent.

*Basidia* 16 – 22 × 6 – 8 µm, 4-spored, claviform; sterigmata 3.0 – 3.5 µm long.

*Subhymenium* subcellular with elongate underlying hyphae up to 12 (15) µm broad.

*Pleurocystidia* not observed.

*Cheilocystidia* (20) 25 – 40 (50) × (5) 6 – 10 (12) µm, mostly claviform to cylindrical-clavate, ventricose, sometimes fusiform, several with extremely localized swellings of the wall appearing as fine granulations included in the wall and scattered on its surface; quite numerous but rarely aggregated in consistent tufts, generally continuously dispersed along the edge.

*Pileipellis* a trichoderm of chained elongate elements with endcells generally claviform to sometimes ventricose or difform, 40 – 100 (120) × 5 – 12 (18) µm, always rounded at apex, with vacuolar and membranaceous pigment, modestly gelatinized exclusively in the disc, dry elsewhere. *Subpellis* of hyphae with similar dimension but with incrusting pigment.

*Clamp connections* absent everywhere.

## NOTES

Subsection *Trichodermi* Bon & Migl., to which *L. rhodelephantinus* belongs, is constituted of numerous similar species only separable from each other with difficulty. The European species included in it are: *L. marriagei* (D.A. Reid) Bon, *L. ammovirescens* (Bon) Migl. & Coppola, *L. tener* (P.D. Orton) Bon, *L. brunneocingulatus* (P.D. Orton) Bon, *L. melanotrichus* var. *fuligineobrunneus* Bon & Boiffard, *L. melanotrichus* var. *septentrionalis* D.A. Reid, *L. gauguei* Bon & Boiffard, and *L. rhodelephantinus*. It is thanks to Boisselet & Eyssartier (2020) to have managed to separate the species treated here from some erroneous interpretations of *L. tener* using the ITS sequences. If, on the one hand, it is true what indicated by Hofstetter & al. (2019) and reported by Boisselet & Eyssartier (2020) about the scientific validity of the entry of molecular data into databases of entities which later proved to be erroneously determined, on the other hand we can add, and we say it softly, that in several cases it is impossible to obtain sequences from some types described in recent times as well. If the sequences of species described or redescribed in recent decades could be available the task for a correct determination would be sensibly facilitate.

The difficulty in the case of subsection *Trichodermi* is emphasized by a series of more or less recent dubious interpretations as well as by the possible presence of a certain number of collective species, some of which already defined in the past (*L. marriagei* / *L. ionidicolor* Bellù & Lanzoni / *L. idea-fragum* Guinb., Boisselet & G. Dupuy), some only recently (*L. rhodelephantinus* / *L. tener*) and others, in the complex *L. tener*, still to be defined.

Given that it is not possible to use the presence of guttules on the cap and on the stem, as they are found almost exclusively on fresh and immature specimens in favorable weather conditions, and given that very often the type material available is not always sequenceable, all that remains is to lend the maximum attention to what is available using the old survey methods.

In the present case, the pileus of *L. rhodelephantinus* shows, in the French and Italian specimens, a typical habitus, but in miniature, of the pileus of the species of the genus *Macrolepiota* subsection *Microsquamatae* (Pazmany) Bellù & Lanzoni, i.e. numerous and dispersed polygonal scales.

This characteristic allows identifying already in the field the specimens to be attributed to *L. rhodelephantinus*. This is clearly evident both for the French collections (Boisselet & Eyssartier, 2020) in the image of table II (below) relating to the collection of 1.11.2014, and in our images as well as in that of La Chiusa (2013) in *Funghi Agaricoidi*. On the other hand, the image of the collection GE 20.004 by P. Hériveau (shown in Boisselet & Eyssartier, 2020), relating to the real *L. tener*, shows a specimen with a practically indissociable pileus covering. The collection by Hériveau is conform to the original description by Orton (1960) and similar to that by Vellinga (2004) whose ITS sequence, Genbank AY176444, has an identity of 99% with the French collection.

For complete information, we report the identity percentage of our sequence OM971828 (M.V. BB28 = M.V. 15.2893) compared to the vouchers present in GenBank affected by the *L. rhodelephantinus* / *L. tener* complex:

MT984270	collection GE 19.050	99.86 % <i>L. rhodelephantinus</i>
GQ329043	collection MCVE 751	99.00 % <i>L. rhodelephantinus</i> / <i>L. tener</i>
AY176444	collection Vellinga 23.9.1998	85.78 % <i>L. tener</i>

Our two collections, obviously overlapping with each other for macro and microscopic characters, can both fully be determined as *L. rhodelephantinus*.

We cannot, on the other hand, pronounce ourselves on an old collection reported in Migliozi & Coccia (1990) as *L. tener* "forma", characterized by vinous brown colour on the pileus disc, completely white annulus, absence of guttules and extremely small spores, 4.0 - 4.5 (5.0) × 3.0 - 3.5 (4.0) µm. The sample is no longer sequenceable.

Regarding the spore dimensions, we note that the spores of *L. rhodelephantinus* are on average smaller than those of *L. tener*, as shown in the table 1 below.

To differentiate *L. rhodelephantinus* from similar species we can comment as follows.

*L. melanotrichus* var. *septentrionalis*, a Nordic species, also endowed with guttules on the entire carpophore, is clearly distinguished by its greyish to blackish pileus. *L. melanotrichus* var. *fuligineobrunneus* has a gray-brown pileus, and a pileipellis consisting of chains of short articles with small terminals, 30 - 50 × 8 - 12 µm. These two entities, like many others with a grey pileus, should not belong to subsection *Trichodermi* but rather to *Leucoagaricus* subsection *Melanotrichae* Bon, like *L. atroalbus* P. Mohr & Dähncke and *L. atrofibrillosus* Singer.

*L. gauguei* differs in its pileus colour, subamygdaliform spores with a stretched apex, and presence of subhymeniform pileocystidia.

On the other hand, a truly critical species that could be hard to determine is *L. brunneocingulatus*. It is an extremely rare species, discussed by one of the authors (M.V.) in an old note (Migliozi & Perrone, 1991) and which deserves to be further studied. As already pointed out by Orton (1960), in figure 427 depicting the "end-cells of scales on cap", the pre-terminal hyphae of the trichoderm are decidedly short and strongly encrusted. This trait, already reported in Migliozi & Perrone (1991), is of fundamental importance to distinguish *L. brunneocingulatus* from the *L. tener* complex. A double collection from the Macchia della Signora,

municipality of Cerveteri (RM), with macro and micro characteristics perfectly overlapping those previously observed by us (Migliozzi & Perrone, 1991) is also being studied; these collections were also sequenced and their sequences are distinct from the species treated in this work.

Furthermore, in our old description the pileus disc is brown, red-brown or orange-red while the annulus has a distinct reddish brown margin. Finally, we also note that the dimensions of the pileic trichoderm endcells are at most 250 x 20  $\mu\text{m}$  in the original diagnosis, 220 x 14 (17)  $\mu\text{m}$  in the 1991 description, 200 x 16 (18) in the Macchia della Signora's finding. Other species, although included in our phylogram, must be excluded for their colour change on handling or for their reaction to ammonia. Similarly, other entities with a relevant gelification in the discal area, such as those belonging to stirps *Littoralis* and to subsection *Rubrotincti* (Singer) Bon, must be excluded.

Figure 1 shows the phylogram of the species related to *L. rhodelephantinus* in macroscopic and microscopic characters as well as similar species belonging to subsections *Trichoderma* and *Melanotrichae*. A complete dataset of the sequences included in the phylogenetic tree is in Table 2 below.

#### AKNOWLEDGMENTS

We wish to express our thanks to Guillaume Eyssartier, Pierre Roux and Pablo Alvarado for their kind collaboration and for updating our literature. We also thank Antonio Pizzuti Piccoli for the access to the Natural Oasis of Palo Laziale.

## Recenti ritrovamenti in Italia di *Leucoagaricus aurantiovergens*, *Leucoagaricus pseudopilatianus* e *Leucoagaricus cupresseoides* ed istituzione della nuova sottosezione *Pseudopilatiani*

Vincenzo Migliozi<sup>1\*</sup>, Niccolò Forin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viale G. Marconi 196, I- 00146 Roma - email vincenzomigliozi@alice.it

<sup>2</sup>Via Orto Botanico 15, Orto Botanico di Padova, I- 35123 Padova - niccolo.forin@unipd.it

\*Corresponding author: vincenzomigliozi@alice.it

Recent findings in Italy of *Leucoagaricus aurantiovergens*, *Leucoagaricus pseudopilatianus* and *Leucoagaricus cupresseoides* and institution of the new subsection *Pseudopilatiani*.

### Key words:

*Basidiomycota*  
*Agaricomycetes*  
*Agaricineae*  
*Leucoagaricus*  
 sect. *Pseudopiloselli*  
 subsect. *Pseudopilatiani*  
*Leucoagaricus ammoviorens*  
*Leucoagaricus aurantiovergens*  
*Leucoagaricus pseudopilatianus*  
*Leucoagaricus cupresseoides*  
*Leucoagaricus/Leucocoprinus* clade  
 taxonomy  
 sequences ITS  
 Italy

**Riassunto:** Sulla base di recenti raccolte realizzate in Italia in diverse località si procede in una descrizione aggiornata di due entità appartenenti alla nuova sottosezione *Pseudopilatiani* della sezione *Piloselli*: *Leucoagaricus aurantiovergens* e *Leucoagaricus pseudopilatianus*. Viene altresì descritta la specie *Leucoagaricus cupresseoides* recentemente istituita. Sono fornite descrizioni morfologiche corredate di foto dei basidiomi e dei relativi caratteri della microscopia nonché una analisi filogenetica delle sequenze nrITS per permettere di posizionare le tre entità in modo corretto nel contesto del complesso *Lepiota cupressea* (= *Leucoagaricus cupresseus*). Vengono inoltre validati i nuovi nomi *Leucoagaricus ammoviorens* e *Leucoagaricus* sect. *pseudopiloselli* invalidamente proposti in Migliozi & Coppola (2021).

**Abstract:** Based on new collections from Italy, the authors report an updated description of two entities belonging to the new subsection *Pseudopilatiani*, section *Piloselli*: *Leucoagaricus aurantiovergens* and *Leucoagaricus pseudopilatianus*. The recently established species *L. cupresseoides* is also presented. Detailed morphological descriptions are provided accompanied by photos of the basidiomes and microscopic characters of the microscopy as well as a phylogenetic analysis of the nrITS sequences to allow the three entities to be positioned correctly in the context of the *Leucoagaricus cupresseus* complex. Also the new names *Leucoagaricus ammoviorens* and *Leucoagaricus* sect. *pseudopiloselli*, invalidly published in Migliozi & Coppola (2021), are validated.

### INTRODUZIONE

*Lepiota cupressea* trova origine per mano di Burlingham (1945) che si è basata su ritrovamenti di Point Lobos in California e deve il suo nome all'habitat costituito da cipressi presenti lungo il litorale dell'Oceano Pacifico nel territorio della penisola di Monterey.

In tempi successivi Boisselet & Guinberteau (2001), a seguito di una prospezione sistematica dei cipressi presenti nelle zone retrodunali del litorale atlantico e del litorale mediterraneo, hanno pensato di poter attribuire alla specie nordamericana alcuni loro simili ritrovamenti europei realizzati sempre sotto cipresso. Le caratteristiche macro e microscopiche li indussero a ricombinare la specie di origine americana come *Leucoagaricus cupresseus*.

L'analisi molecolare della regione nrITS, realizzata da E.C.Vellinga pochi anni dopo, evidenziò che le raccolte americane ed europee di *Lepiota cupressea* (= *Leucoagaricus cupresseus*) in realtà nascondevano tre diverse specie di cui una di origine americana e due di origine europea, caratterizzate da tre distinte sequenze molecolari tutte depositate in GenBank.

Avendo avuto la possibilità di studiare le due entità di origine europea, differenziate tra loro non solo in virtù dell'analisi filogenetica ma anche in virtù dei caratteri macro e microscopici, ci accingiamo a fornire una descrizione completa di entrambe. È doveroso comunque fare una premessa. Anche se i campioni studiati da Boisselet e Guinberteau non corrispondono affatto alla *Lepiota cupressea* così come intesa da Burlingham, ed ora sappiamo, in virtù dei risultati della filogenesi, che non lo sono, la ricombinazione di *Lepiota cupressea* in *Leucoagaricus cupresseus* rimane sempre valida perché si tratta di un atto nomenclaturale automatico, essendo entrambi i nomi sinonimi omotipici.

I campioni citati da J. Guinberteau nell'articolo "*Leucoagaricus cupresseus* (Burlingham) Boisselet et Guinberteau comb. nov., une lépiote cupressicole d'origine américaine récoltée en France" apparso sul Bollettino della F.A.M.M. nel 2001, non costituiscono infatti un *typus* ma solamente un insieme di dati estratti da diverse raccolte. Nulla, quindi, hanno a che fare con la ricombinazione che risulta essere pienamente valida.

In conclusione, le raccolte americane di *Lepiota cupressea* Burl., nonché quelle studiate da Sundberg (1976) e da Vellinga (2004a, 2010), sono attualmente da nominare come *Leucoagaricus cupresseus* (Burl.) Boisselet et Guinb.

Di fronte ai timori paventati dagli stessi micologi transalpini sulla conspecificità delle raccolte francesi con quelle americane si è già espressa la stessa Vellinga (2004a) ed è infatti lei a richiamare l'attenzione: "... but the one French specimen analyzed differed in nrITS sequence (GenBank accession number AY243627) from the Californian collections". Non è però comprensibile come da allora nessuno abbia pensato a sanare questa situazione. Ci accingiamo a farlo avendo avuto modo di studiare diverse raccolte italiane differenziate dalla filogenesi e dotate di sequenza del tipo GenBank AY243632 e AY243627, che ovviamente risultano diverse tra loro e, soprattutto, diverse da quelle americane.

Tutte le raccolte europee, realizzate in Italia, Francia, Spagna e Grecia, sia con numero di accesso della sequenza in GenBank AY243632 che AY243627 differiscono, tutte, per le sequenze nrITS da quelle americane raccolte dalla Vellinga in USA. Allo stato attuale delle conoscenze non ci risultano ritrovamenti europei simili in toto a quelli americani.

Il filogramma relativo principalmente al complesso *L. cupresseus*, unitamente alle descrizioni dei caratteri macro e microscopici delle nostre raccolte, favorirà la comprensione dell'intero problema e delle soluzioni da noi prospettate in questa sede con la descrizione delle entità *L. aurantiovergens*, *L. pseudopilatianus* e *L. cupresseoides*.

Questo lavoro rappresenta ulteriormente quanto già riportato nella Rivista Phytotaxa nell'articolo di Forin et al. (2022). Dobbiamo ad uno degli autori (N.F.) la realizzazione di ulteriori analisi filogenetiche su alcuni typus del primo autore (M.V.) che in precedenza, pur sottoposti ad analoghe analisi, non avevano sortito risultati utili a sbrogliare il complesso *L. cupresseus*.

È stato dimostrato che gli esemplari identificati in GenBank come *L. cupresseus* (GenBank AY243627) debbano essere correttamente nominati come *L. aurantiovergens*. In modo analogo, come è emerso dalle relative sequenze, anche il typus di *L. pseudopilatianus* var. *roseodiffractus* (GenBank OK235670) nonché il typus di *L. paracupresseus* (GenBank MZ230523), istituito recentemente da Salom et al. (2021), sono risultati sinonimi posteriori di *L. aurantiovergens* (Forin et al., 2022).

La sequenza GenBank associata a *L. cupresseus* (AY243632) deve essere attribuita correttamente a *L. pseudopilatianus*. Anche *L. pseudopilatianus* var. *rugosoreticulatus* (GenBank OK235671) è risultato essere sinonimo posteriore di *L. pseudopilatianus*; Esiste, nel complesso della *Lepiota cupressea*, una ulteriore entità, ora nota come *L. cupresseoides*, esclusivamente europea e mai segnalata per il territorio americano (Forin et al., 2022).

Tutte le raccolte realizzate nel continente americano e identificate in GenBank come *L. cupresseus* risultano ben distinte dalle raccolte europee finora realizzate in Italia, Francia, Grecia e Spagna.

## MATERIALI E METODI

### Analisi morfologica

I funghi basidiomi sono stati fotografati in habitat mediante fotocamera digitale Nikon Coolpix 4500 e fotocamera digitale Nikon Coolpix B500. Le descrizioni macroscopiche sono state formulate osservando esemplari freschi mentre l'analisi microscopica è stata eseguita su materiale fresco e/o su essiccato. Nel secondo caso il materiale è stato preventivamente reidratato con acqua distillata e successivamente trattato con Rosso Congo, lavato ulteriormente ed infine osservato. Per la microscopia il primo autore si è avvalso di un microscopio biologico trinoculare AmScope T490B supportato da una videocamera elettronica digitale MC 500 e di un microscopio binoculare Zeiss Lab 16. Entrambe le strutture sono dotate di ottiche apocromatiche 10x, 40x, 100x ed oculari 10x. I risultati delle misurazioni microscopiche sporiali, effettuate su almeno 80 elementi per ciascuna raccolta, sono riportati nella forma a due valori che rappresentano il range osservato ed espresso con la formula min-max, con, tra parentesi, i valori considerati eccezionali. Il valore della barra nelle foto della microscopia è 10 µm per le spore, 60 µm per gli altri caratteri. Tutte le foto di microscopia sono di V. Migliozzi. Gli acronimi degli erbari seguono Thiers (2017).

Le citazioni degli autori seguono Index Fungorum, Authors of Fungal Names.

### Estrazione, amplificazione e sequenziamento del DNA

Il DNA genomico è stato estratto seguendo il protocollo CTAB riportato in Forin et al. (2018). Per amplificare l'intera regione nrITS sono stati utilizzati i primers universali ITS-1F/ITS-4b (White et al., 1990; Gardes & Bruns, 1993). In caso di fallimento, le regioni ITS1 e ITS2 sono state amplificate rispettivamente utilizzando i primers universali ITS-1F/ITS-2 e ITS-3/ITS-4b. Le reazioni di amplificazione sono state condotte in un termociclatore Q-Cycler 96 (Vetrotecnica) secondo il protocollo riportato in Forin et al. (2022). I prodotti di PCR sono stati purificati con ExoSAP-IT™ (Thermo Fisher Scientific) seguendo le istruzioni del produttore, quantificati utilizzando Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) e infine sequenziati dalla ditta Eurofins Genomics (Vimodrone, Milan, Italy).

Per alcuni campioni la sequenza nrITS è stata amplificata e ottenuta dal laboratorio Alvalab (Oviedo, Spagna). In questo caso il DNA è stato estratto seguendo il metodo descritto in Murray & Thompson (1980), la regione nrITS amplificata utilizzando i primer ITS-1F/ITS-4 e infine sequenziata. Tutte le sequenze sono state depositate in GenBank.

### Analisi filogenetica

Le sequenze nrITS utilizzate nell'analisi filogenetica sono state selezionate confrontando le sequenze dei campioni esaminati con quelle depositate in GenBank attraverso il tool BLASTn (Altschul et al., 1990) e considerando studi filogenetici focalizzati sul genere *Leucoagaricus* (Vellinga 2010; Vellinga et al. 2010; Muñoz et al. 2014; Latha et al. 2020). La sequenza nrITS di *Cystolepiota seminuda* è stata utilizzata come *outgroup*, come riportato nel lavoro di Vellinga (2010). Le sequenze sono state allineate utilizzando la versione online di MAFFT 7 (Katoh et al., 2019) e l'allineamento manualmente rifinito con Mesquite 3.6 (Maddison & Maddison, 2019). Il miglior modello di sostituzione nucleotidica è stato determinato utilizzando JModelTest2 (Darriba et al., 2012). Il modello TPM1uf+I+G è stato selezionato considerando il più basso valore del Criterio di Informazione Bayesiano (BIC). L'analisi di massima verosimiglianza (Maximum Likelihood) è stata eseguita utilizzando RAXML-NG 1.0.2 (Kozlov et al., 2019) con 1000 repliche di bootstrap e il modello suggerito da JModelTest2. L'analisi con l'approccio dell'inferenza bayesiana è stata eseguita con MrBayes 3.2.6 (Ronquist et al., 2012), utilizzando il portale web CIPRES (Miller et al., 2010), impostando come modello quello suggerito da JModelTest2, due esecuzioni simultanee, quattro catene, 10<sup>7</sup> generazioni, campionamento ogni 1000 generazioni e primo 25% degli alberi scartati. La soglia minima di significatività è stata impostata a 0,95 per la probabilità a posteriori dell'inferenza bayesiana (BPP, *Bayesian Posterior Probability*) e a 70% per la percentuale di bootstrap dell'analisi della massima verosimiglianza (MLB, *Maximum Likelihood Bootstrap*).

## Risultati dell'analisi molecolare

La Figura 1 riporta il filogramma ottenuto dall'analisi della regione nrITS di 56 taxa appartenenti al genere *Leucoagaricus*. Delle 56 sequenze, 13 appartengono ai campioni trattati nel presente articolo mentre le restanti 43 sono state scaricate da GenBank. *Cystolepiota seminuda* (Lasch) Bon è stata selezionata come *outgroup* seguendo Vellinga (2010). Poiché le analisi di massima verosimiglianza e di inferenza bayesiana hanno prodotto alberi con la stessa topologia, in figura 1 è riportato l'albero di massima verosimiglianza con ai nodi i valori di bootstrap (MLB) e di probabilità a posteriori (BPP).

Le sequenze ottenute dai tipi di *L. aurantiovergens* e *L. pseudopilatianus* var. *roseodiffractus* formano un clade altamente supportato (MLB = 100%; BPP = 1) insieme a quelle appartenenti a *L. cupresseus* (raccolta di Guinberteau, Francia, GenBank AY243627), *Leucoagaricus* sp. (GenBank MT416134, MT416135), *L. paracupresseus* (GenBank MZ230523) e a due collezioni di *L. aurantiovergens* (MVBB34, MVBB35).

I tipi di *L. pseudopilatianus* e *L. pseudopilatianus* var. *rugosoreticulatus* formano un clade altamente supportato (MLB = 100%; BPP = 1) con *L. cupresseus* (raccolta di Guinberteau, Grecia, GenBank AY243632), *Leucoagaricus* sp. (GenBank MT416133) e tre collezioni di *L. pseudopilatianus* (MV-LeuPil023, MVBB26, MVBB27).

*L. cupresseoides* risulta essere vicino filogeneticamente al gruppo di *L. aurantiovergens* e a quello costituito da sequenze di campioni californiani di *L. cupresseus* (Burl.) Boisselet & Guinb. (Fig. 1).

Come atteso questi risultati sono in accordo con quanto riportato nell'articolo di Forin et al. (2022).

Prima di procedere nella trattazione delle tre entità, si ritiene opportuno rappresentare le motivazioni che hanno indotto alla istituzione nel contesto del genere *Leucoagaricus* Locq. ex Singer, sezione *Piloselli* (Kuhn.) Singer, della nuova sottosezione *Pseudopilatiani*.

## SISTEMATICA E NOVITÀ NOMENCLATORIALI

Genus *Leucoagaricus* Locq. ex Singer

Section *Piloselli* (Kuhn.) Singer

***Leucoagaricus* sect. *Piloselli* subsect. *Pseudopilatiani* Migl., subsect. nov. [IF 555962]**

### Diagnosi originale

Species of the genus *Leucoagaricus* Locq. ex Singer, section *Piloselli* (Kuhn.) Singer which are characterized by a pileus medium to large, cheilocystidia clavate or clavate-cylindrical and not pedicellate, pileipellis terminal elements with rounded apex and not fusiform. One or all the parts of the fungus turn red after manipulation or aging, and green when treated with NH<sub>4</sub>OH. Generally found under *Cupressus* sp.

The type species is *Leucoagaricus pseudopilatianus* Migl., Rocabruna & Tabarés in Revista Catalana de Micologia, 23:67. 2001. MB479389.

*L. aurantiovergens*, *L. croceobasis*, *L. cupresseoides*, *L. marginatus*, *L. jubilaei*, *L. pseudopilatianus* belong to this subsection.

Come evidenziato nella diagnosi appena riportata, appartengono a questa sottosezione le specie caratterizzate contemporaneamente da:

- dimensioni da medie a grandi;
- viraggio al verde se testate con soluzioni acquose di ammoniaca (NH<sub>4</sub>OH);
- arrossamento per manipolazione o per invecchiamento in una o in tutte le sue parti. Alla fine risultano più o meno imbrunenti o annerenti nel materiale d'erbario;
- cheilocistidi da claviformi a cilindro-claviformi, privi di appendicoli o di monili;
- elementi terminali del tricoderma della pileipellis arrotondati all'apice e non fusiformi come si riscontra nel gruppo del *L. pilatianus* e nell'intera Sottosezione *Pilatiani*;
- generalmente legate ai cipressi ma non esclusive dei cipressi.

Allo stato attuale delle conoscenze per il territorio europeo appartengono alla sottosezione *Pseudopilatiani* le specie *L. aurantiovergens*, *L. croceobasis*, *L. cupresseoides*, *L. jubilaei*, *L. marginatus* e *L. pseudopilatianus*.

Ci risulta appartenere a questa sottosezione l'entità nordamericana *Lepiota cupressea*, ora più correttamente nota come *Leucoagaricus cupresseus*.

A seguire, il prospetto delle sottosezioni e delle entità presenti nella sezione *Piloselli* nonché le specie da ascrivere alla nuova sezione *Pseudopiloselli* qui istituita.

### Sezione *Piloselli* (Kuhn.) Singer

Specie del genere *Leucoagaricus* prive di poro germinativo nella spora, arrossanti per manipolazione e/o invecchiamento e, contemporaneamente, inverdenti con le soluzioni acquose di ammoniaca (NH<sub>4</sub>OH). Sono quindi escluse le specie della sottosezione *Rubescentes* (Wasser) Bon e della sottosezione *Annulosi* (Fr.) Bon della sezione *Annulati* (Fr.) Bon.

Le specie sono ripartite nelle seguenti sottosezioni:

- Sottosezione *Pilatiani* Migl. & Perrone
- Sottosezione *Pilosellini* (Singer) Bon
- Sottosezione *Pseudopilatiani* Migl.

**Sottosezione *Pilatiani*** Migl. & L. Perrone

Specie dotate di cheilicistidi non moniliformi né appendicolati, ma cilindro-claviformi con elementi terminali del tricoderma della pileipellis dotati di apici aculeati, fusiformi o rastremati.

- L. brunnescens* (Peck) bon
- L. decipiens* Contu, Vizzini & Vellinga
- L. pilatianus* (Demoulin) Bon & Boiffard
- L. pilatianus* var. *rimosovelatus* (Contu) Migl. & A. Gennari
- L. pilatianus* var. *salmoneophyllus* (Bon & Guinb.) Migl. & A. Gennari
- L. pilatianus* var. *subrubens* (Wichanský) Migl. & A. Gennari

**Sottosezione *Pilosellini*** (Singer) Bon

Specie dotate di cheilicistidi moniliformi o appendicolati. Appartengono a questa sottosezione le specie:

- L. babosiae* (Bon)
- L. badhamii* (Berk. & Broome) Singer
- L. croceovelutinus* (Bon & Boiffard) Bon
- L. erubescens* (Babos) Bon
- L. georginae* (W.G. Sm.) Candusso
- L. meleagris* (Gray) Singer.

**Sottosezione *Pseudopilatiani***

Specie dotate di cheilicistidi non moniliformi o appendicolati, ma cilindro-claviformi, e con elementi terminali del tricoderma della pileipellis arrotondati all'apice.

- L. aurantiovergens* A. Gennari & Migl.
- L. croceobasis* G. Muñoz, A. Caball., Contu & Vizzini
- L. cupresseus* (= *Lepiota cupressea*)
- L. cupresseoides* Migl. & Forin
- L. jubilaei* (Joss.) Bon
- L. marginatus* (Burl.) Boisselet
- L. pseudopilatianus* Migl., Rocabrana & Tabarés

***Leucoagaricus* sect. *Pseudopiloselli*** Migl. & Coppola, sect. nov. [IF 555969]

Diagnosis:

This section includes all the species of the genus *Leucoagaricus* Locquin ex Singer which turn green when treated with aqueous ammonia solution (NH<sub>4</sub>OH) or with its vapors, but which do not show any spontaneous colour change, either orange or red brown to black, on handling or with age.

Type species: *Leucoagaricus ammovirescens* (Bon) Migl. & Coppola, comb. nov. [IF 555965].

Basionym: *Leucoagaricus marriageae* var. *ammovirescens* Bon, Documents Mycologiques 22 (88): 31 (1993).

Questa nuova sezione raccoglie specie del genere *Leucoagaricus* prive di poro germinativo nella spora, ma invariante cioè non arrossanti per manipolazione o per invecchiamento. Risultano essere in tutti i casi inverdenti con le soluzioni acquose di ammoniaca (NH<sub>4</sub>OH). Appartengono a questa sezione le seguenti entità:

- L. ammovirescens* (Reid) Migl. & Coppola
- L. ariminensis* Dovana, Angeli, Contu & Brandi
- L. idae-fragum* Guinb., Boisselet & G. Dupuy
- L. ionidicolor* Bellù & Lanzoni
- L. variicolor* G. Muñoz, A. Caball., Contu & Vizzini.

La specie *L. gaillardii* Bon & Boiffard non è stata inserita in nessuna delle due sezioni perché critica e la cui posizione rimane dubbia nonostante alcuni ritrovamenti le cui sequenze filogenetiche siano presenti in GenBank. Analogo è il nostro comportamento in merito alla specie *L. brunneolilacinus* Babos di cui si ignora il comportamento nei confronti delle soluzioni ammoniacali.

**TASSONOMIA\***

\* Le descrizioni morfologiche di seguito riportate sono circoscritte al materiale raccolto dal primo autore. Gli stessi esemplari sono stati trattati, insieme ad altri, per le descrizioni riportate nell'articolo di Forin et al. (2022).

***Leucoagaricus aurantiovergens*** A. Gennari & Migl.

Riv. Micol. 4: 291 (1999) [1998]. MB450128

= *Leucoagaricus cupresseus* sensu Guinberteau in GenBank AY243627;

= *Leucoagaricus paracupresseus* Salom, Siquier, Planas & Espinosa. Index Fungorum 485: 1 (2021). MB558417;

= *Leucoagaricus pseudopilatianus* var. *roseodiffractus* Migl. & Resta, Micol. Veg. Medit. 15: 129 (2001). MB479390.





*L. aurantiovergens*. Raccolta del 28.11.2018, MV281118-DSCN 3722

V. Migliozi



*L. aurantiovergens*. Raccolta del 29.11.2019, MV291119 LeuPil006

A. Coppola

### Raccolte studiate

I ritrovamenti descritti in questa sede sono stati recentemente realizzati sotto cipresso ma non su terreno sabbioso e in tutti i casi lontano dal litorale marino:

- Raccolta V. Migliozzi del 14.11.2018, Roma, nel Parco dell'Ospedale Addolorata San Giovanni (MVBB34).
- Raccolta V. Migliozzi del 21.11.2018, Roma, Parco dell'Ospedale Addolorata San Giovanni (MVBB33, non sequenziato).
- Raccolta V. Migliozzi del 28.11.2018, Roma, Parco dell'Ospedale Addolorata San Giovanni (MV281118-DSCN 3722).
- Raccolta A. Coppola del 29.11.2018, Roma, Viale C. Colombo (MV291119 LeuPil006).
- Raccolta V. Migliozzi del 29.03.2021, Roma, Via Civiltà del Lavoro (MVBB35).

Le sequenze delle sopraccitate raccolte sono state depositate in GenBank fatta ovviamente eccezione per la raccolta MVBB33. È stato altresì sequenziato con successo da parte di N. Forin il *typus*, descritto da Gennari & Migliozzi (1998) in Rivista di Micologia, per il quale in precedenza non era riuscito il sequenziamento.

Tutte queste raccolte, compresa ovviamente quella del *typus*, mostrano una similitudine di sequenza nrITS estremamente alta, pari o superiore al 99% rispetto alla sequenza AY243627 ottenuta dalla raccolta di J. Guinberteau realizzata in Francia nell'Ile d'Oleron, dipartimento Charente-Maritime e nominata in GenBank *L. cupresseus* come l'altra con differente sequenza (AY243632).

### Diagnosi originale

Tratta da Gennari & Migliozzi (1998), Rivista di Micologia 41(4): 291.

*Leucoagaricus aurantiovergens* Gennari et Migl. sp. nov.

*Pileus* 3-6 cm *latus*, *convexus obtuse conicus*, *plano convexus*, *plus minusve applanatus vel umbone centrali late obtuso praeditus*. *Cuticula tenuiter squamosa*, *brunneovinosa*, *disco obscuriore*, *marginem versus pallescens*, *praesertim in vetustioribus speciminibus*. *Lamellae albae*, *liberae*, *confertae*, *tritae cito rubescens*, *deinde luteae*, *denique brunneoatrae vinosae*. *Stipes* 5-8 cm *longus*, 0,5 -1 cm (*unima parte* 1,5 cm) *crassus*, *cylindricus*, *gradatim inflatus et bulbosus basim versus*, *albus sed mox pileo concolor*, *praecipue sub anulo qui est tenuis et satis fugax*; *tritrus cito ruber*, *deinde luteus (momento temporis)*, *denique brunneoatrae vinosus*.

*Caro alba*, *roseorubra*, *deinde lutea*, *denique sordide brunneoatra vinoso*; *ammonii hydrati ope caeruleiviridis*.

*Sporae hyalinae*, (7,0) 7,2-9,4(10,0) x 3.6-4,7(5.0)  $\mu\text{m}$ . *Qm*= 2.00, *leviter dextrinoideae in Melzer*, *metachromaticae in Blu cresile*, *sine poro germinativo*. *Plerumque ellipsoideae*, *interdum ellipsoideo-cylindraceae*, *raro subamygdaliformes*, *apiculo manifesto sed parum evoluto (Tav. n° 1)*.

*Basidia clavaeformia*, *tetrasporigera*, *brevibus sterigmatibus praedita*, 21-28 x 7.5- 10  $\mu\text{m}$ ; *frequentia basidiolahaud longe notantur*.

*Subhymenium ex parvis partibus (rebus) subcellularibus constitutum*.

*Cheilocystidia plurima*, *manifesta*, *fasciculata*, *clavaeformia vel clavatocylindracea*, *saepe in media parte inflata*, *fere sublageniformia*, *sine monilibus*; 35-60 x 8- 16  $\mu\text{m}$ .

*Pleurocystidia non notata*. *Pilei cutis*, *trichoderma*, *ex pilis terminalibus variarum mensurarum*, *cylindraceis apice rotundato*, *raro apice tenuiore constituta*, (45) 60-240 (280) x (10) 12-18(20)  $\mu\text{m}$ . *Hyphae terminales pigmento parietali*, *vacuolari et saepe etiam neopigmento praeditae*. *Hyphae inferiores diametro minore (  $\Phi$ = 7-12  $\mu\text{m}$ )*, *manifesto membranae pigmento praeditae*. *Breves hyphae hyalinae etiam adsunt*. *Fibulae absunt*.

*Habitat Cupressus sempervirens*, *Pistacia lentiscus et (haud) procul Quercus ilex et Pinus pinea*.

*Holotypus in loco circiter 100 m a mari distante prope Ansedonia (Grosseto- Italia)*, IGM 343-2, 14.1.96, *lectus, leg. A. Gennari, in Herbario MCVE syb n. 74 conservatur*.

### Caratteri macroscopici

**Cappello:** di medie dimensioni comprese nell'intervallo 50 – 70 (80) mm, tipicamente convesso o piano convesso e più o meno spianato e dotato, talvolta, di una leggera depressione centrale. Si presenta con una superficie finemente squamosa, con le microsquamme che contrastano fortemente con il fondo biancastro della carne sottostante. La superficie pileica e le squame sono di colore generalmente bruno, bruno rossastro, rossastro-vinoso o marrone. Gli esemplari, per manipolazione, tendono ad evidenziare una colorazione da aranciata a rossastra con bande bruno-marroni. La reazione retrograda, osservata sul *typus*, non è ben evidente e la si può osservare esclusivamente sui primordi e mai sugli esemplari maturi. Questi ultimi, anche se non manipolati, sono in genere dotati di pigmentazione scura (grigio-marrone). Se manipolati, tutti gli esemplari tendono a pigmentarsi ulteriormente per una componente aggiuntiva bruno-vinosa. In un solo caso, su un esemplare giovane, è stata osservata una cuticola biancastra ma dotata di sfumature radiali di colore arancione-rossastro dal disco verso il margine. Tutti gli esemplari per manipolazione assumono alla fine una progressiva colorazione rossastra, rossastra-violacea, marrone. Risultano essere tutti inverdenti per trattamento con soluzioni acquose di ammoniaca (NH<sub>4</sub>OH). Sono sempre privi di resti di velo generale sulla cuticola.

**Lamelle:** libere, mediamente fitte ed intervallate da rare lamellule, di colore bianco o bianco-rosato. Sugli esemplari vetusti o quantomeno maturi la colorazione è bianco-crema, bianco-rosa e, per manipolazione, aranciata, rossastro-viola ed infine marrone-nerastra a seguito di essiccazione.

**Gambo:** cilindrico e slanciato, di dimensioni fino a 70 – 90 mm di lunghezza, indipendentemente dalle dimensioni pileiche. Le dimensioni diametrali sono pari a (8) 12 – 16 mm con bulbo basale leggermente più ingrossato fino a 18 (20) mm. Si presenta bianco, fibrilloso e dotato di un anello di tipo semplice, ascendente, bordato di bruno, generalmente ma non sempre, posto nella parte mediana o inferiore del gambo. Sia il gambo sia l'anello, per manipolazione o per maturazione, diventano nel tempo aranciati, rossastri, marroni e poi marrone scuro nel materiale d'erbario. Per trattamento con NH<sub>4</sub>OH il gambo assume, così come il pileo, una evidente colorazione verdastra.

**Carne:** da bianca ad arancione-rossastra fino a bruno scuro. Reazione blu-verdastra con soluzioni ammoniacali.

#### Caratteri microscopici

**Spore** (6.0) 7.0 – 8.5 (11.0) × (4.0) 4.5 – 5.5 (6.0) μm; nella maggioranza dei casi ellissoidali, talvolta oblunghe o subamigdaliformi, apice non stirato ma può presentarsi ogivale o subpapillato; ialine, destrinoidi in reattivo di Melzer, metacromatiche in Blu di cresile; prive di poro germinativo.

**Basidi** 26 – 32 × 9 – 11 (13) μm, claviformi, tetrasporici.

**Trama imenoforale** costituita da ife cilindracee di diametro massimo fino a 16 μm.

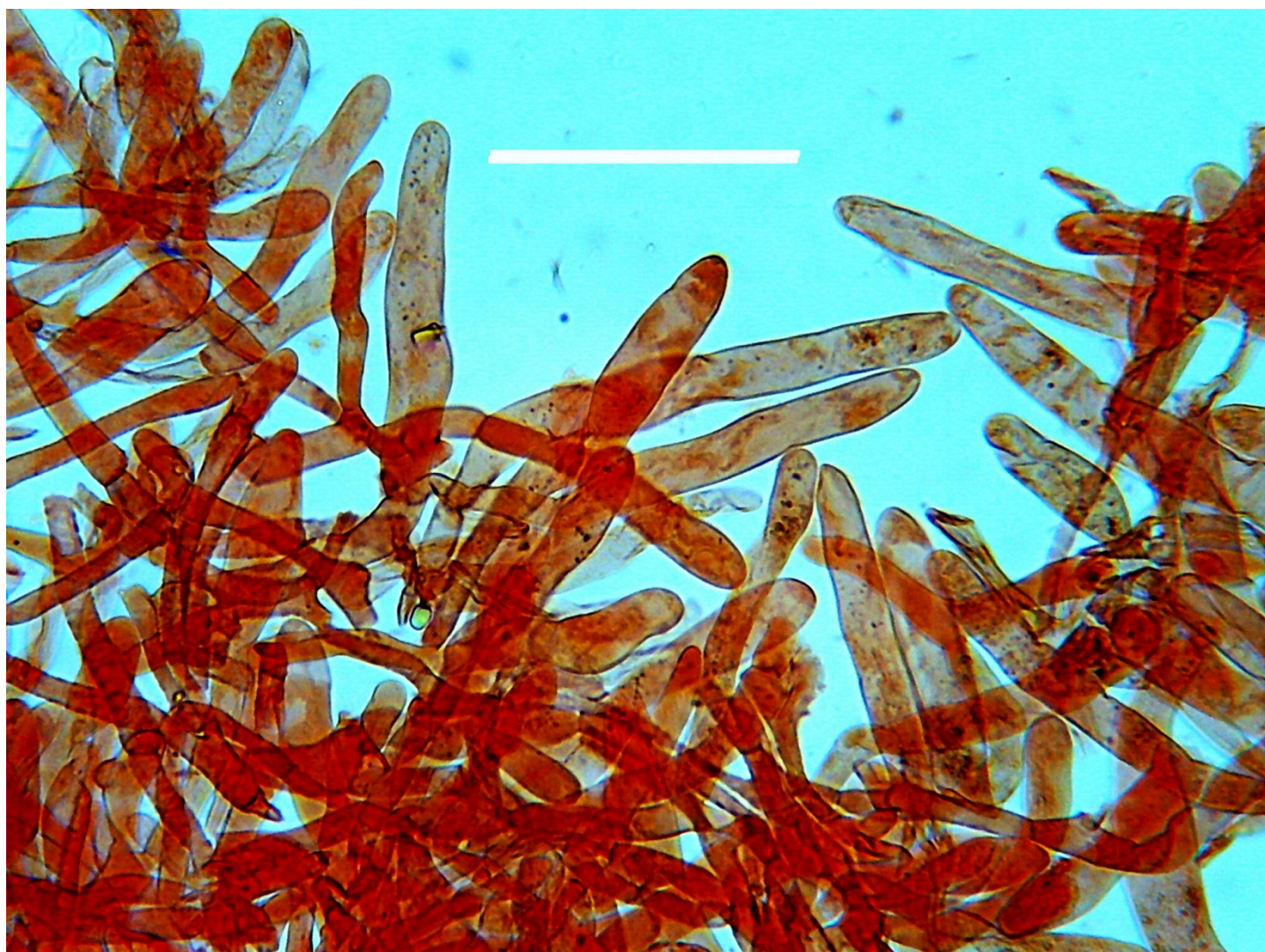
**Cheilocistidi** (26) 30 – 45 (50) × (9) 10 – 14 (17) μm, numerosi e sempre fascicolati a ciuffi; in genere claviformi o clavato-cilindracei, raramente sublageniformi, assolutamente privi di appendicoli o di monili, in casi estremi cilindracei con apice rastremato. Nel materiale d'erbario sono facilmente identificabili per la presenza nel loro interno di necropigmento oltre che per pigmento vacuolare bruno-crema.

**Pleurocistidi** non riscontrati.

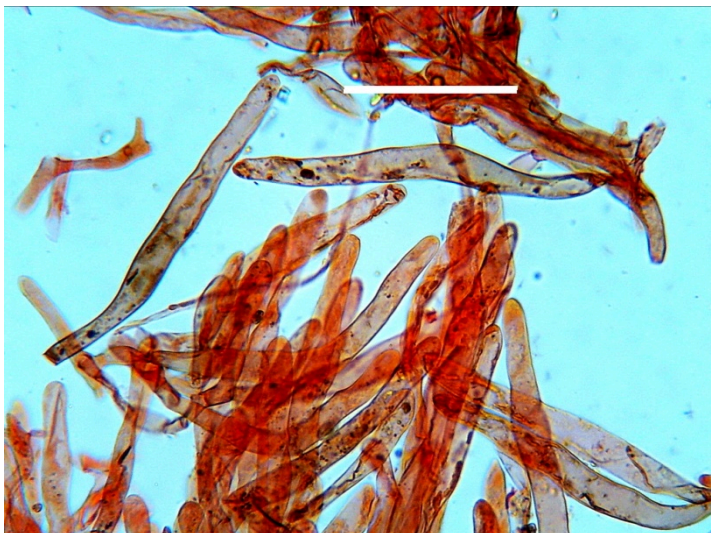
**Anello** costituito da ife corte 40 – 80 × 7 – 9 μm, debolmente pigmentate nella parete, con ridotte manifestazioni di necropigmento.

**Rivestimento pileico** costituito da un tricoderma con elementi terminali di dimensioni variabili, (70) 80 – 180 (190) × (7) 9 – 14 (16) μm, più piccoli di quelli riscontrate nelle raccolte di *L. pseudopilatianus*, sub cilindracei, cilindracei o flessuosi se non addirittura contorti, ma sempre con apice arrotondato e privo di mucrone, del tutto differente da quelli osservabili in *L. pilatianus* o in *L. croceobasis*; da segnalare la presenza di strozzature; dotati di pigmento parietale e vacuolare e, sul materiale d'erbario, di necropigmento. Gli elementi preterminali, pigmentati e cilindracei, possiedono dimensioni diametrali inferiori (4 – 7 μm). In tutta la struttura si notano, di contorno, ife scarsamente pigmentate se non ialine emergenti da una subpellis costituita da elementi larghi e corti.

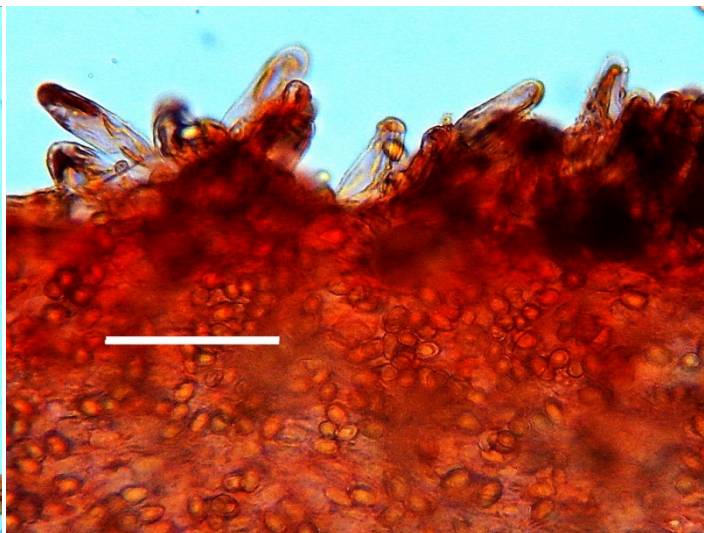
**Giunti a fibbia** assenti.



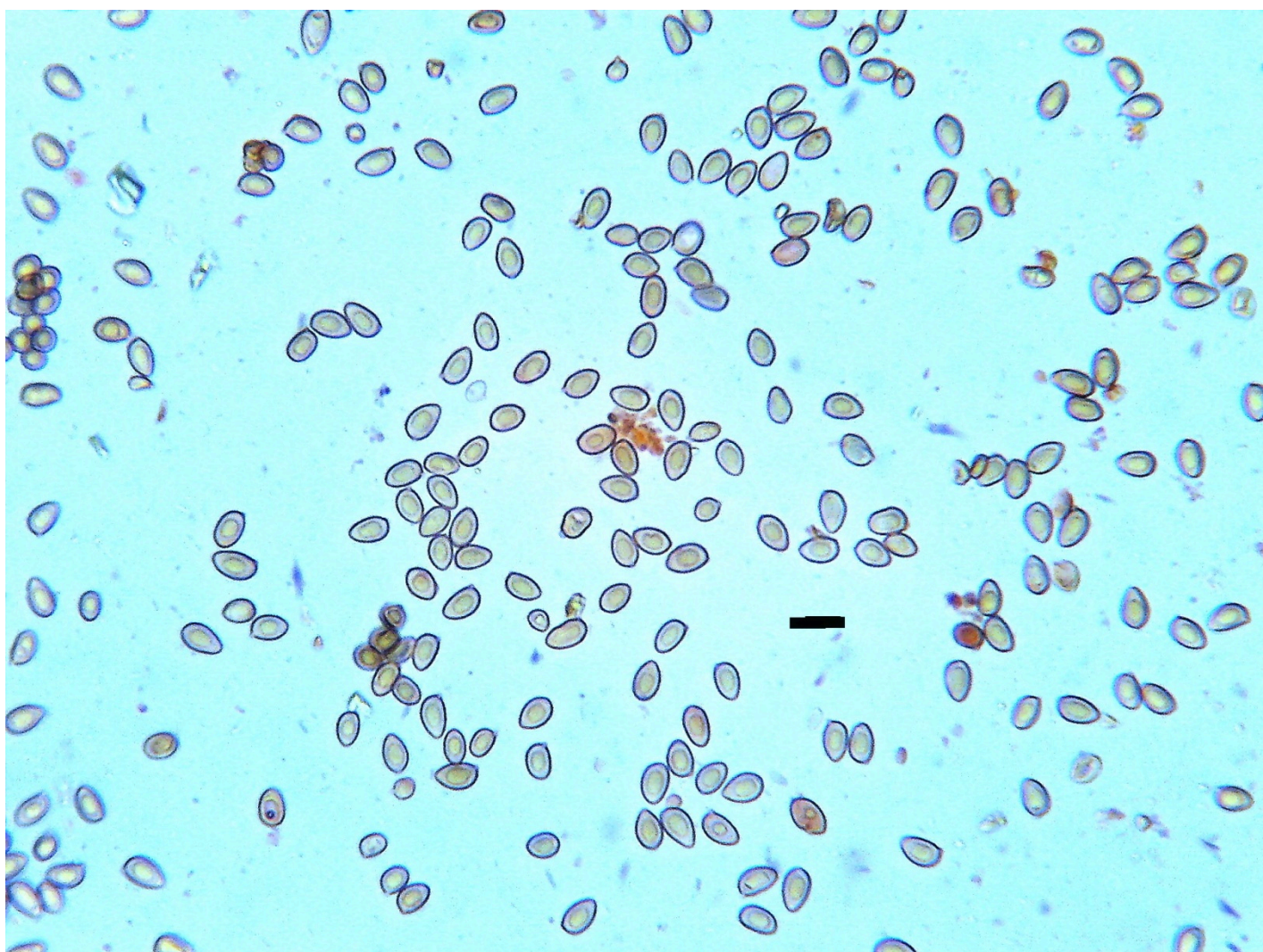
*L. aurantiovergens*. Rivestimento pileico



*L. aurantiovergens*. Rivestimento pileico



*L. aurantiovergens*. Cheilocistidi



*L. aurantiovergens*. Spore

***Leucoagaricus pseudopilatianus*** Migl., Rocabruna & Tabarés  
Revta Catal. Micol. 23: 67 (2001). MB479389

= *Leucoagaricus cupresseus* sensu Guinberteau (GenBank AY243632).

= *Leucoagaricus pseudopilatianus* var. *rugosoreticulatus* Migl. & Resta, Micol. Veg. Medit. 15: 129 (2000). MB 479392

Essendo stato possibile ottenere la sequenza nrITS dal typos di *L. pseudopilatianus* rinvenuto in Catalogna nel 1999 e successivamente descritto (Migliozzi Rocabruna & Tabarés, 2001) siamo stati obbligati a realizzare un confronto, risultato poi comparabile, della sequenza del typos con quelle delle sotto elencate raccolte rinvenute nel territorio nazionale.



*L. pseudopilatianus*. Raccolta del 04.01.2020, MV LeuPil023

V. Migliozi



*L. pseudopilatianus*. Raccolta del 16.11.2019, MV161119-LeuPil002

V. Migliozi

**Raccolte studiate**

I caratteri di *L. pseudopilatianus* qui descritti risultano dalle seguenti raccolte, tutte sabulicole:

- raccolta V. Migliozzi del 16.11.2019, Tenuta Salvati nel Comune di Marina di Vecchiano (Pisa), realizzata durante il convegno AGMT del 2019, su terreno sabbioso (MV161119-LeuPil002);
- raccolta M. Raumi del 22.11.2019, Tenuta Salvati nel Comune di Marina di Vecchiano (Pisa), su terreno sabbioso (MVBB27);
- raccolta V. Migliozzi del 03.12.2019, Roma, località Castel di Guido, su terreno sabbioso (MVBB26);
- raccolta V. Migliozzi del 04.01.2020 in località Palo Laziale (Ladispoli), su terreno sabbioso consolidato della retroduna (MV LeuPil023).

Queste raccolte sono state sequenziate e le sequenze sono state depositate in GenBank.

È stato altresì sequenziato con successo, da parte di N. Forin, il *typus* a disposizione di uno degli Autori (M.V.) e servito per la istituzione di *L. pseudopilatianus* Migl., Rocabruna & Tabares in *Revista Catalana de Micologia* 2001 (*Typus* SCM 3904B).

Tutte queste raccolte mostrano una completa similitudine di sequenza con quella depositata in GenBank, voucher AY243632, ottenuta dalla raccolta di J. Guinberteau realizzata in Grecia a Larissa in data 13.12.1999 e determinata come *L. cupresseus*.

È bene far presente che le sequenze AY243632 e AY243627, entrambe realizzate da J. Guinberteau ed entrambe determinate come *L. cupresseus*, sono non solo differenti tra loro, con una bassa percentuale di identità, pari al 91–94%, ma sono, entrambe, diverse dalle sequenze delle raccolte americane di Monterrey Co., San Mateo Berkeley Marina, Esplanada Park ed altre, depositate in GenBank da E.C. Vellinga. Le identità delle raccolte nordamericane rispetto ad AY243632 e a AY243627 sono pari al 92–93%.

**Diagnosi originale**

Tratta da Migliozzi, Rocabruna e Tabares (2001), in *Revista Catalana de Micologia* 23: 67.

*Leucoagaricus pseudopilatianus* Migl., Rocabruna & Tabarés.

*Basidiomata robusta, generis Agarici specierum typico habitu. Pileus 3-9 cm latus, primum subglobosus, deinde convexus, demum planus, interdum leviter umbonatus. Cuticula leviter velutina, tomentosa, laevis sed mox radiatim rupta ita ut caro subjacens, clarior quam superficies, id est albocarnea, appareat, Pilei superficies brunneovinosa, brunneofulva vel fuscoatra, disco obscuriore. Margo albidus, leviter appendiculatus. Lamellae albocremaeae, confertae, subcollarium formantes; lamellulae praesentes. Stipes 9-12 cm longus, 1-2 cm crassus, cylindricus, basi leviter inflata, maxime in juvenibus specimenibus, sed numquam bulbosus; primum albus, tactus aurantius vel eiusdem coloris est cuiusstipes; ammonii hydrati ope viridis, smaragdina. Exsiccata fuscoatra, lamellis fere nigris. Sporae dextrinoideae in Melzer, metachromaticae in Blu cresile, subamygdaliformes vel amygdaliformes-globosae, 6,3-8,6 (9,0) x 4,2-5,3 µm, Q= 1,50-1,62. Basidia clavata, tetrasporigena, 22-30 x 7,5-10,0 µm. Cheilocystidia plurima, fasciculata, clavata, sphaeropedunculata vel ovoidea –elongata, necropigmento praedita, 30-50 x 11-20 µm. Pleurocystidia non notata. Fibulae absentes. Pileipellis, trichoderma ex pilis elongatis e substrato hymenoclavaeformi surgentibus constitutum. Pili terminales cylindracei, apice rotundato, pigmento parietali atque necropigmento praediti, 100-200 (240) x 10-18 (20) µm.*

*Holotypus in coniferarum nemore, prope veterem cultos Sequoiam et Abietem masyoani, prope Can Masjoan dictum, Espinelves (Osona, Catalonia) dicto, 750 m alto supra mare (UTM 4635451), in solo acido, 29/IX/1999, lectus, leg. A.Rocabruna et M. Tabarés, in Herbario SCM-3904B conservatur.*

**Caratteri macroscopici**

**Cappello:** di grandi dimensioni, fino a 90 – 100 (110) mm di diametro, inizialmente subgloboso poi convesso ed infine piano, bassamente umbonato, raramente con debole depressione discale negli esemplari spianati; la colorazione, sempre a dominanti scure, è bruno-vinosa, brunastra, rossastro-castana se non rossastro-marrone con una ulteriore accentuazione del colore nella zona del disco al punto di sembrare marrone grigiastra; non è presente alcun residuo velare; il margine pileico, inizialmente biancastro, risulta moderatamente appendicolato; la superficie pileica tende frequentemente a fessurarsi radialmente negli esemplari maturi mettendo in mostra la sottostante carne bianco-crema; per manipolazione vira verso il rosso, rossastro vivo, per poi imbrunire definitivamente; con le soluzioni ammoniacali (NH<sub>4</sub>OH) si ottiene un immediato e ben evidente viraggio al verde scuro.

**Lamelle:** fitte, libere, di colore bianco, poi bianco-crema ed infine crema-vinoso; per manipolazione o per maturità assumono toni aranciati, color zafferano ed infine bruno rossastri se non bruno scuro in fase di essiccazione.

**Gambo:** di dimensioni pari a 90 – 120 x 10 – 20 mm, cilindrico con una base dilatata progressivamente ma non bulbosa, di colore bianco fino a rossastro vinoso per manipolazione o per invecchiamento; per trattamento con NH<sub>4</sub>OH reagisce assumendo una vivace colorazione verde smeraldo.

**Anello:** sempre presente, di colore bianco, ascendente, generalmente posto nella metà superiore del gambo.

**Carne:** da bianca a biancastra per poi virare, nel tempo, al rossastro ed infine al bruno scuro. Reazione verdastra con le soluzioni ammoniacali.

**Caratteri microscopici**

**Spore:** (6.5) 7.5 – 10.0 (11.5) x (4.6) 4.8 – 5.8(6.8) µm, da ellissoidali a subamigdaliformi con apice non stirato, ialine, destrinoidi in reattivo di Melzer, metacromatiche in Bleu di Cresile, prive di poro germinativo, a parete spessa ed apicolo evidente.

**Basidi:** di dimensioni 24 – 28 x 7 – 10 µm, claviformi, tetrasporici.

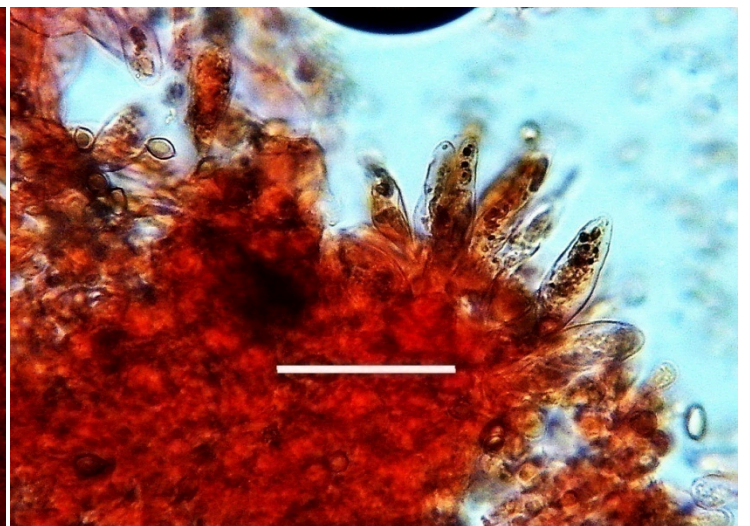
**Trama imenoforale:** con ife di tipo subcellulare moderatamente allungate, di diametro massimo fino a 18 µm.



*L. pseudopilatianus*. Rivestimento pileico



*L. pseudopilatianus*. Rivestimento pileico



*L. pseudopilatianus*. Cheilocistidi

**Cheilocistidi:** 30 – 65 × (10) 11 – 16 (20) μm presenti a ciuffi, numerosi, in genere claviformi o cilindro-clavati, talvolta sublageniformi, lisci e privi di appendicoli, monili e cristalli ossaliferi; debolmente pigmentati, in presenza di granuli ed ammassi di necropigmento di color marrone.

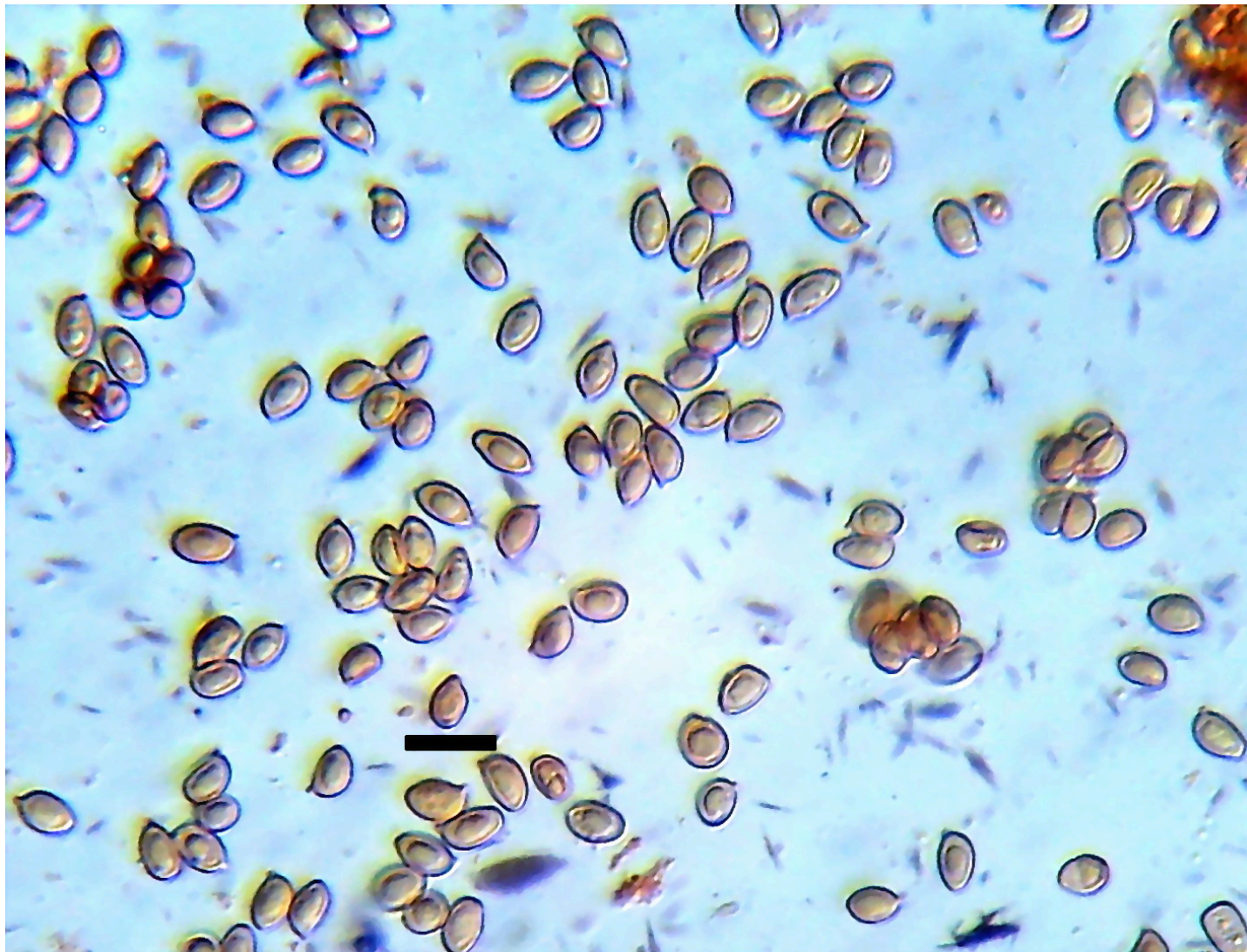
**Pleurocistidi:** non riscontrati.

**Anello:** costituito da elementi corti, un po' contorti, pigmentati in bruno, di modeste dimensioni.

**Rivestimento pileico:** costituito in tricotoderma con elementi terminali di grandi dimensioni, pari a  $80 - 260 (300) \times (10) 12 - 20 (24) \mu\text{m}$ , più o meno cilindrici, dotati di apice arrotondato, con pigmento parietale dominante, pigmento vacuolare e manifestazioni di necropigmento; alla base sono presenti elementi di contorno simili in diametro, presenti a ciuffi, ma di lunghezza nettamente inferiore,  $40 - 70 \times 10 - 15 \mu\text{m}$ , poco pigmentati e con scarsa presenza di necropigmento. Le ife preterminali, di dimensioni diametrali nettamente inferiori, presentano, molto spesso, pigmento parietale incrostante e/o subzebrante.

Lunghezza e diametro delle ife terminali sono comparabili con i dati precedentemente riscontrati in *L. pseudopilatianus* var. *rugosoreticulatus*.

**Giunti a fibbia** assenti.



*L. pseudopilatianus*. Spore

***Leucoagaricus cupresseoides* Migl. & Forin**

Phytotaxa 536 (2): 129 (2022). MB841188

Si tratta di una nuova entità appartenente alla sottosezione *Pseudopilatiani* della sezione *Piloselli* del genere *Leucoagaricus* ritrovata, in più esemplari, nella Pineta di Castelfusano (Roma) sotto *Pinus pinea*, *Pinus pinaster* e *Quercus ilex* nel primo periodo invernale su terreno consolidato sabbioso del litorale tirrenico a poca distanza dal mare. La sequenza della raccolta typus (MVBB20), realizzata in data 29.11.2014, è stata successivamente depositata in GenBank. Il materiale typus è depositato in TR gmb01484.

**Diagnosi originale**

Tratta da Forin, Tatti, Vizzini, Coppola & Migliozzi (2022), in Phytotaxa 536(2): 129. MB841188.

*The species is characterized by a vinaceous pileus with fragmented margins, a disc area covered by white arachnoid velar remnants, white lamellae, a white stipe with a basal bulb, abundant cylindrical to clavate cheilocystidia, and a pileipellis with cylindrical elements. Pileus, lamellae and stipe stain orange red on handling and green when treated with ammonia.*

*Holotype:—ITALY. Rome, Castelfusano, in a pinewood near the sea on sandy soil under Pinus pinea, Pinus pinaster and Quercus ilex, 29 November 2014; V. Migliozzi (TR gmb01484). GenBank accession: (nrITS).*





*L. cupresseoides*. Raccolta del 29.11.2014, TR gmb01484



*L. cupresseoides*. Raccolta del 29.11.2014, TR gmb01484

**Caratteri macroscopici**

**Cappello:** di medio-grandi dimensioni, fino a 80 (90) mm, da convesso a piano convesso fino a piano con una modesta depressione nella zona discale dove è evidente la presenza di residui velari di tipo aracnoide; superficie subliscia e solo minutamente fessurata nella zona premarginale, tende a frammentarsi esclusivamente al margine che rimane scoperto negli esemplari più sviluppati; la colorazione pileica varia dal vinoso al rossastro-vinoso, al bruno-rossastro fino a vinoso-grigio senza mai raggiungere toni marroni, quanto meno negli esemplari non manipolati; se manipolati tendono ad assumere una colorazione viva rossastra, che ricorda, seppur vagamente, quella in possesso di *L. idae-fragum*; per trattamento con soluzioni acquose di ammoniaca ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) è stato possibile osservare una reazione al verde sporco.

Sul campo, in virtù dei modesti residui velari, il raccoglitore ha inizialmente avuto il sospetto, poi smentito dalla microscopia, di trovarsi al cospetto di *L. pilatianus* var. *rimosovelatus*; con gli esemplari sottoposti a manipolazione successivamente è venuto il sospetto di essere alla presenza di un malridotto e maturo *L. idae-fragum*, ma la differente colorazione degli esemplari immaturi ha smentito anche questa ipotesi.

**Gambo:** 60 – 90 × 8 – 16 mm, cilindrico e poco slanciato, con un bulbo basale leggermente ingrossato fino a 15 mm; è presente, nella parte mediana, un anello biancastro semplice, particolarmente aderente, di tipo ascendente.

**Lamelle:** inizialmente di colore bianco-crema, per manipolazione si tingono immediatamente in arancione per poi arrossare violentemente. Altrettanto violenta ed immediata è la reazione della carne così come quella del gambo per manipolazione.

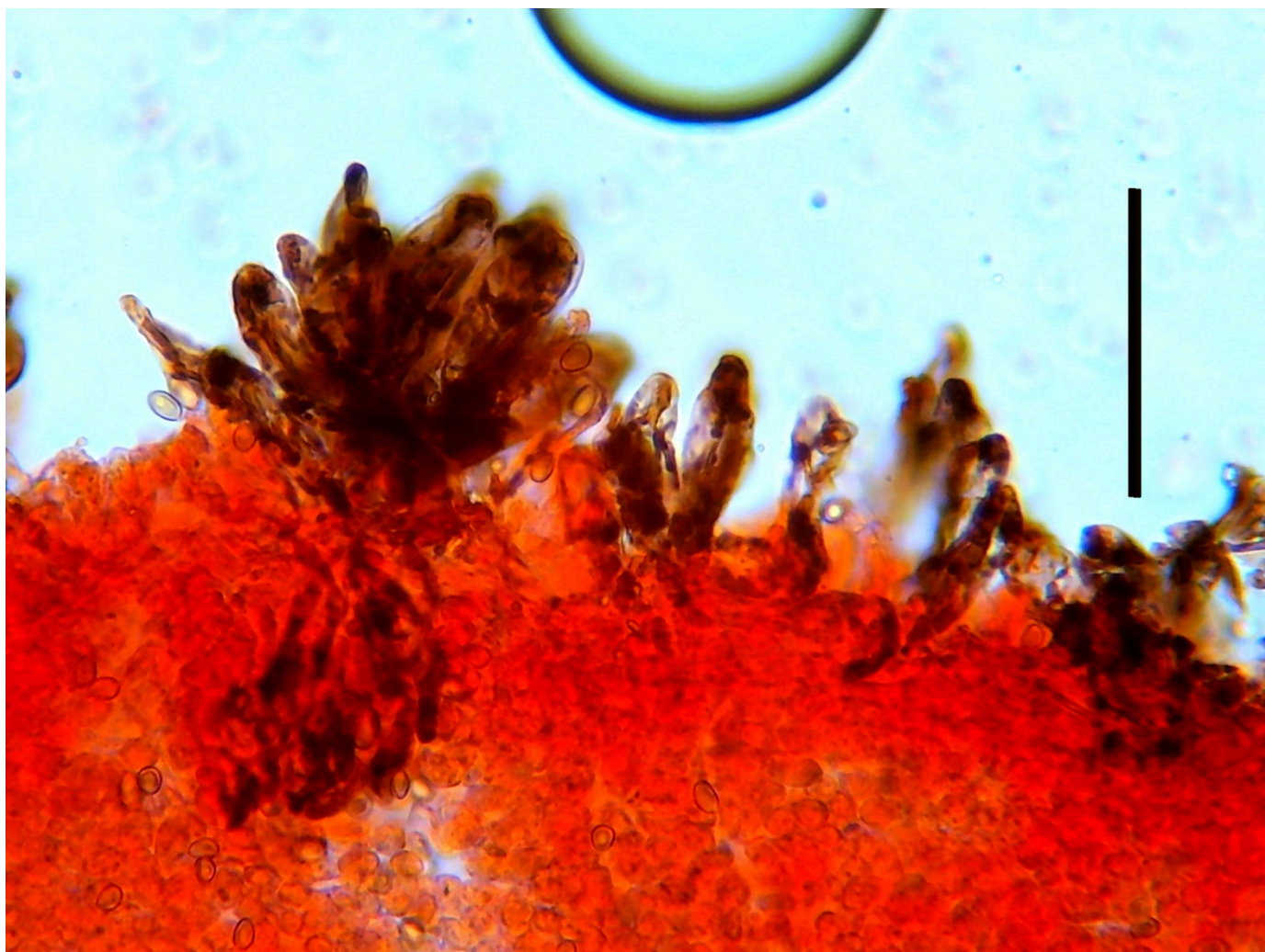
**Carne:** da biancastra a bianco-avorio, tendente autonomamente a virare verso il rosso-vinoso per poi imbrunire con l'essiccamento; non possiede la reazione retrograda osservata nel *typus* di *L. aurantiovergens*. Odore subnullo o fungino. Sapore insignificante.

**Caratteri microscopici**

**Spore:** di dimensioni, abbastanza ridotte, (6.0) 6.4 – 7.6 (8.6) × (4.0) 4.2 – 4.8 (5.3)  $\mu\text{m}$ , ellittiche e prive di apice stirato, subpapillato o tale da ricordare una morfologia amigdaliforme, con parete non consistente e apicolo poco pronunciato; destrinoidi in reattivo di Melzer, metacromatiche in Bleu di cresile; prive di poro germinativo.

**Basidi:** 20.0 – 28.0 × 7.0 – 8.5  $\mu\text{m}$ , tetrasporici, claviformi, dotati di sterigmi corti.

**Cheilocistidi:** 30 – 50(60) × 10 – 16 (18)  $\mu\text{m}$ , numerosi e presenti a ciuffi, da cilindracei, clavato-cilindracei a claviformi o lageniformi, privi di appendicoli o di monili; facilmente identificabili nel materiale d'erbario per la presenza di ammassi di necropigmento nel loro interno.

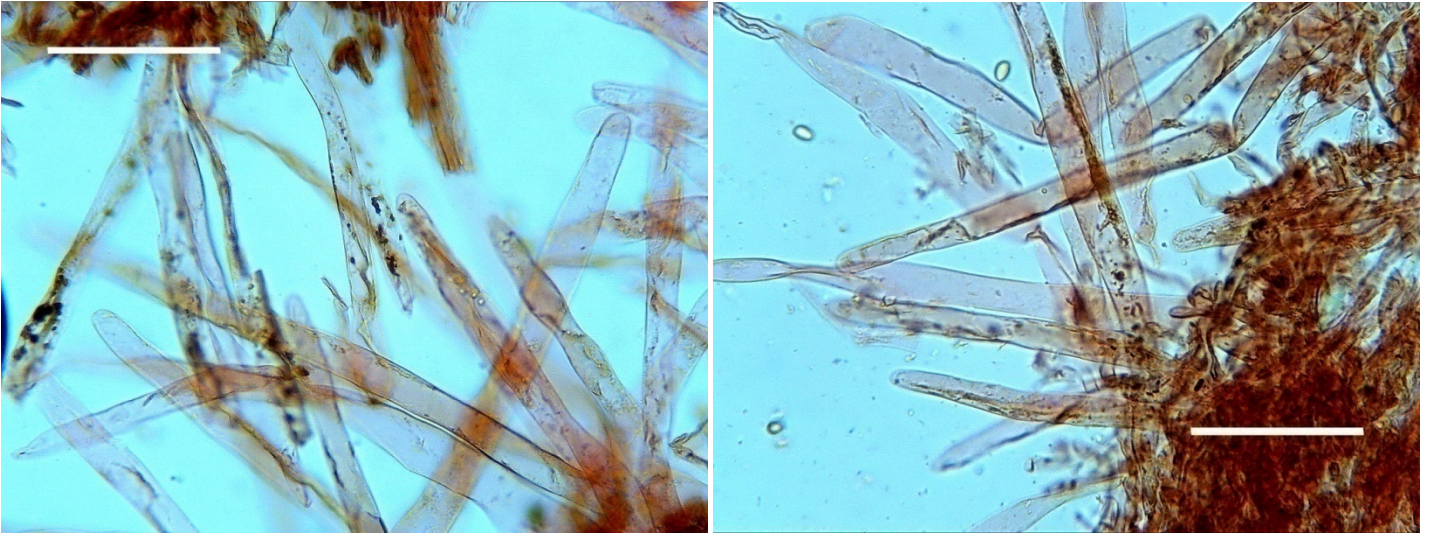


*L. cupresseoides*. Cheilocistidi

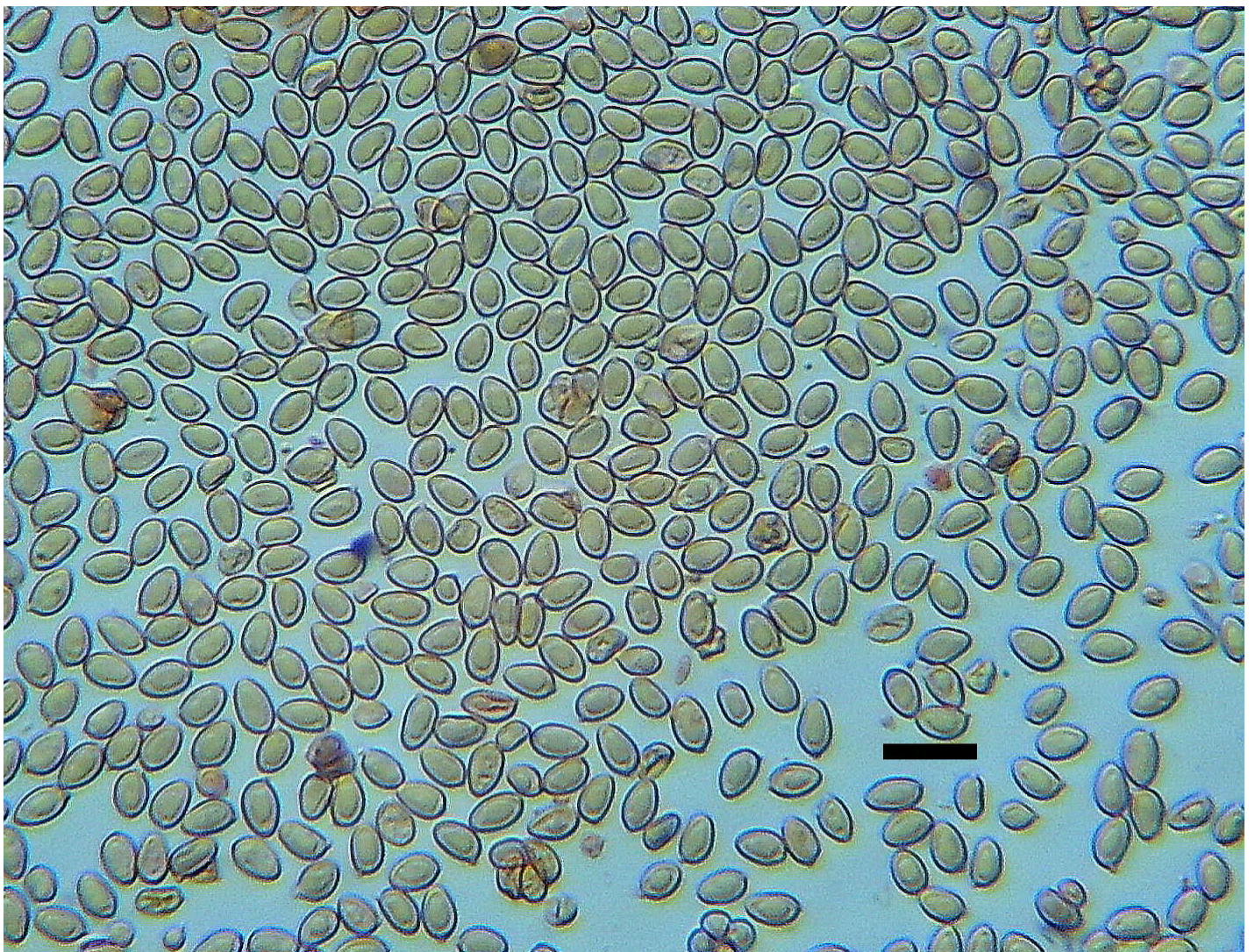
**Pleurocistidi:** non riscontrati.

**Rivestimento pileico** in tricotoderma costituito da elementi terminali di dimensioni pari a  $(80) 100 - 240 (280) \times (8) 9 - 15 (16) \mu\text{m}$ , cilindracei ad apice arrotondato, molto allungati, con pigmento bruno sia parietale sia vacuolare con saltuaria presenza di necropigmento, emergenti da un groviglio di ife sottostanti estremamente fini  $(2 - 4 \mu\text{m})$  ed allungate talvolta pigmentate in bruno con pigmento incrostante, raramente subzebrante.

**Giunti a fibbia:** assenti.



*L. cupresseoides*. Rivestimento pileico



*L. cupresseoides*. Spore

## DISCUSSIONE

Essendoci già espressi sul nome da attribuire alle raccolte nord-americane descritte ed analizzate da E.C. Vellinga non resta che dedicare la nostra attenzione a quelle europee da noi recentemente raccolte, studiate e determinate come *L. aurantiovergens*, *L. pseudopilatianus* e *L. cupresseoides*.

A nostro nodo di vedere tutte le raccolte non presentano solo punti di affinità macroscopica ma anche alcune che ci consentono di poter identificare a priori la specie con la sola microscopia a prescindere dalla conferma della loro diversità nella sequenza molecolare nrITS.

Le tre entità, microscopicamente, presentano caratteristiche simili ma in determinati casi utili per una loro diversificazione da associare comunque, sempre, per una determinazione scientificamente inoppugnabile, alla analisi filogenetica.

L'elemento probabilmente meno utile è costituito dalla dimensione delle spore.

Di seguito sono riportati i valori desunti dalle descrizioni originali oppure dai ritrovamenti descritti in questa sede.

- *L. aurantiovergens* 1999 ('1998') (typus): (7.0) 7.2 – 9.4 (10.0) × 3.6 – 4.7 (5.0) μm
- *L. aurantiovergens* 2022: (6.0) 7.0 – 8.5 (11.0) × (4.0) 4.5 – 5.5 (6.0) μm
- *L. cupresseoides* 2022 (typus): (6.0) 6.4 – 7.6 (8.4) × (4.0) 4.2 – 4.8 (5.3) μm
- *L. cupresseus* 1976 (Sundberg): 8.0 – 10.0 × 4.6 – 6.0 μm
- *L. cupresseus* 2001 (Boisselet & Guinberteau): 7.0 – 9.5 (10.0) × 5.0 – 6.0 μm
- *L. cupresseus* 2010 (Vellinga): 6.1 – 9.3 × 3.9 – 5.4 μm
- *L. pseudopilatianus* 2022: (6.5) 7.5 – 10.0 (11.5) × (4.6) 4.8 – 5.8 (6.8) μm
- *L. pseudopilatianus* 2001 (typus): 6.3 – 8.6 (9.0) × 4.2 – 5.3 μm
- *L. pseudopilatianus* var. *roseodiffractus* 2001 ('2000') (typus): (5.8) 6.3 – 8.3 (8.5) × 4.2 – 5.3 μm
- *L. pseudopilatianus* var. *rugosoreticulatus* 2001 ('2000') (typus): 6.8 – 8.2 (8.7) × 4.2 – 5.2 (5.5) μm

Questi dati sono abbastanza monotoni ed evidenziano, oltre alla instabilità legata alle diverse interpretazioni di *Lepiota cupressea* (= *Leucoagaricus cupresseus*), come le dimensioni sporali siano leggermente ridotte solamente in *L. cupresseoides*, in misura minore, nelle descrizioni originali delle varietà di *L. pseudopilatianus*. La morfologia sporale, in ultima analisi, non concede nulla di più alla tassonomia.

La morfologia dei cheilicistidi è anche essa abbastanza monotona ed offre il solo spunto per fare notare come gli elementi descritti da Vellinga (2010) siano fuori dalla norma per una variabilità dimensionale eccessiva pari a 23 – 89 × 6 – 16 μm. Avendo appena detto che la Vellinga riporta come essi abbiano dimensioni straordinarie, non possiamo non fare notare che possiedono, oltretutto, un ampio spettro di variabilità nella morfologia descritta come '*variable in shape, clavate, fusiform-clavate, lageniform-utriform, cylindrical, one lageniform with rather abrupt excrescence, or with subcapitate apex*'.

Il dato della microscopia che può risultare utile per la separabilità delle tre entità descritte in questa sede riguarda le dimensioni dell'elemento terminale del tricoderma della pileipellis.

Tutti i ritrovamenti di *L. pseudopilatianus* mostrano sempre elementi terminali molto più allungati rispetto a quelli riscontrati in *L. aurantiovergens*.

Non possiamo esimerci dal fare notare come l'elemento terminale del tricoderma sia di dimensioni diametrali grandi, fino a 24 μm, in tutti i ritrovamenti di *L. pseudopilatianus*.

Al contrario, in *L. aurantiovergens* tutti i differenti ritrovamenti, ad eccezione del typus, hanno dimensioni diametrali fino a 13-14 μm.

I tipi di *L. aurantiovergens* e di *L. cupresseoides* sono intermedi, nelle dimensioni degli elementi terminali, tra quanto riscontrato in *L. pseudopilatianus* var. *roseodiffractus* (= *L. aurantiovergens*) così come nelle più recenti raccolte di *L. aurantiovergens* (MV281118-DSCN 3722, MV291119 LeuPil006, MVBB34 e MVBB35), e l'intero gruppo del *L. pseudopilatianus*.

Boisselet e Guinberteau (2001), nella loro figura 1, riportano come le ife terminali della pileipellis risultino, in modo eccessivo, mucronate o subpapillate alla sommità. Esse ricordano gli apici degli elementi terminali che abbiamo osservato in alcune nostre raccolte di *L. croceobasis* (cfr Vegetazione Micologia Mediterranea, 2021 in stampa).

Gli elementi delle raccolte americane, nella descrizione di Vellinga (2010), risultano dimensionalmente abbastanza variabili e pari a (50) 80 – 350 × 8 – 20 μm. La stessa micologa aggiunge: '*in some collections in the smaller ranger, in other long and slender, cylindrical to narrowly fusiform*'.

È bene ricordare che nel contesto della intera sezione *Piloselli* la morfologia arrotondata degli elementi terminali del tricoderma consente di distinguere con estrema facilità le specie *L. aurantiovergens* e *L. pseudopilatianus* così come l'intera sottosezione *Pseudopilatiani* da quelle del complesso *L. pilatianus* (= Sottosezione *Pilatiani*).

È noto, infatti, che l'intero complesso *L. pilatianus* sia caratterizzato da elementi terminali del tricoderma in massima parte fusiformi, affilati o acuminati e quindi ben differenti.

In conclusione, avendo detto come la morfologia sporale e quella dei cheilicistidi sia di poca o nulla importanza tassonomica, non resta che rimarcare come la struttura del rivestimento pileico, con riferimento alla morfologia degli elementi terminali, possa risultare utile per una preliminare identificazione delle tre entità in esame.

Molto più che la larghezza degli elementi terminali, che pure può risultare utile nella determinazione, è nella lunghezza il motivo diversificante tra *L. pseudopilatianus* e *L. aurantiovergens*.

Il filogramma accluso è basato sull'analisi di massima verosimiglianza di un dataset di sequenze nrITS di specie selezionate del genere *Leucoagaricus* indicando il numero di accesso della sequenza in GenBank.

Sono state scelte in questa sede le specie della sezione *Piloselli* s.s. che si presume siano presenti nel territorio europeo o in quello nord-americano.

Non sono state prese in considerazione quelle specie che riteniamo appartengano alla sezione *Pseudopiloselli* Migl. & Coppola così come indicato in *Micologia e Vegetazione Mediterranea* (Migliozzi & Coppola, 2021).

I tentativi di estrarre il DNA dal *typus* di *L. pseudopilatianus*, della varietà *rugosoreticulatus* e della varietà *roseodiffractus*, in possesso di uno degli autori ( M.V.) non hanno avuto esito positivo fino all'intervento di un secondo autore ( F.N.).

È in tutti i casi doveroso da parte nostra richiamare l'attenzione sul fatto che quanto da noi recentemente dimostrato era già stato ipotizzato da Vellinga (2010) che scrive come "*Leucoagaricus pseudopilatianus* Migl. Rocabruna & Tabarés and its varieties *roseodiffractus* Migl. & Resta and *rugosoreticulatus* Migl. & Resta from southern Europe come very close and might well be identical to the French collection of *La. cupresseus* (Migliozzi et al. 2001, Migliozzi e Resta 2001)".

Questa ipotesi non è stata poi approfondita da nessuno dei cultori della materia che nei tempi successivi hanno dedicato i loro studi al genere *Leucoagaricus*.

È possibile altresì da parte nostra segnalare alcune modeste differenze tra le raccolte da noi recentemente esaminate e quanto contenuto nelle descrizioni originali.

In particolare, il *typus* di *L. pseudopilatianus*, di origine spagnola, possiede un habitat particolare costituito da *Abies masjoani*, sequoia ed alloro, un gambo privo di un bulbo consistente, spore di dimensioni leggermente inferiori, 6.3 – 8.6 (9.0) × 4.2 – 5.3 μm, elementi terminali del tricotoderma della pileipellis leggermente più corti rispetto a quelli riscontrati in territorio italiano ma ugualmente larghi.

Queste caratteristiche avrebbero potuto indicare una qualche analogia tra i diversi ritrovamenti della specie *L. pseudopilatianus* ma solamente la sequenza filogenetica avrebbe potuto dare una risposta definitiva, come in realtà è ora avvenuto.

Per quanto riguarda l'ultima specie da noi istituita in ordine temporale, *L. cupresseoides*, non è possibile confonderla con altre specie della sezione *Piloselli* perché tutte risultano, per diverse motivazioni, estranee al complesso della *Lepiota cupressea*.

È possibile escludere le entità inserite nella sezione *Pseudopiloselli* perché alla manipolazione esse risultano invariati, non presentando alcun viraggio all'arancione-rossastro o al vinoso-bruno né per manipolazione né per invecchiamento.

L'intero complesso *L. pilatianus*, ora identificato come sottosezione *Pilatiani*, caratterizzato da elementi terminali del tricotoderma fusiformi, affilati o acuminati, risulta decisamente differente.

*L. croceobasis*, che pure è stato da noi inserito nella sottosezione *Pseudopilatiani*, possiede una colorazione aranciata alla base del gambo presente fin dall'origine e quindi non indotta per successiva manipolazione. Oltretutto la carne è praticamente immutabile e vira, con ritardo, solamente a seguito di una violenta e prolungata manipolazione.

*L. marginatus*, recentemente descritta da Migliozzi & Coppola (2021), possiede dimensioni inferiori, al massimo sei centimetri nel cappello, superficie pileica diffratta in modo minuto, viraggio per manipolazione molto poco pronunciato, diversa struttura del rivestimento pileico e, infine, è dotata di una sequenza molecolare diversa non solo da quella di *L. cupresseoides* ma anche da quelle riscontrate nelle altre entità dell'intero complesso *L. cupresseus*.

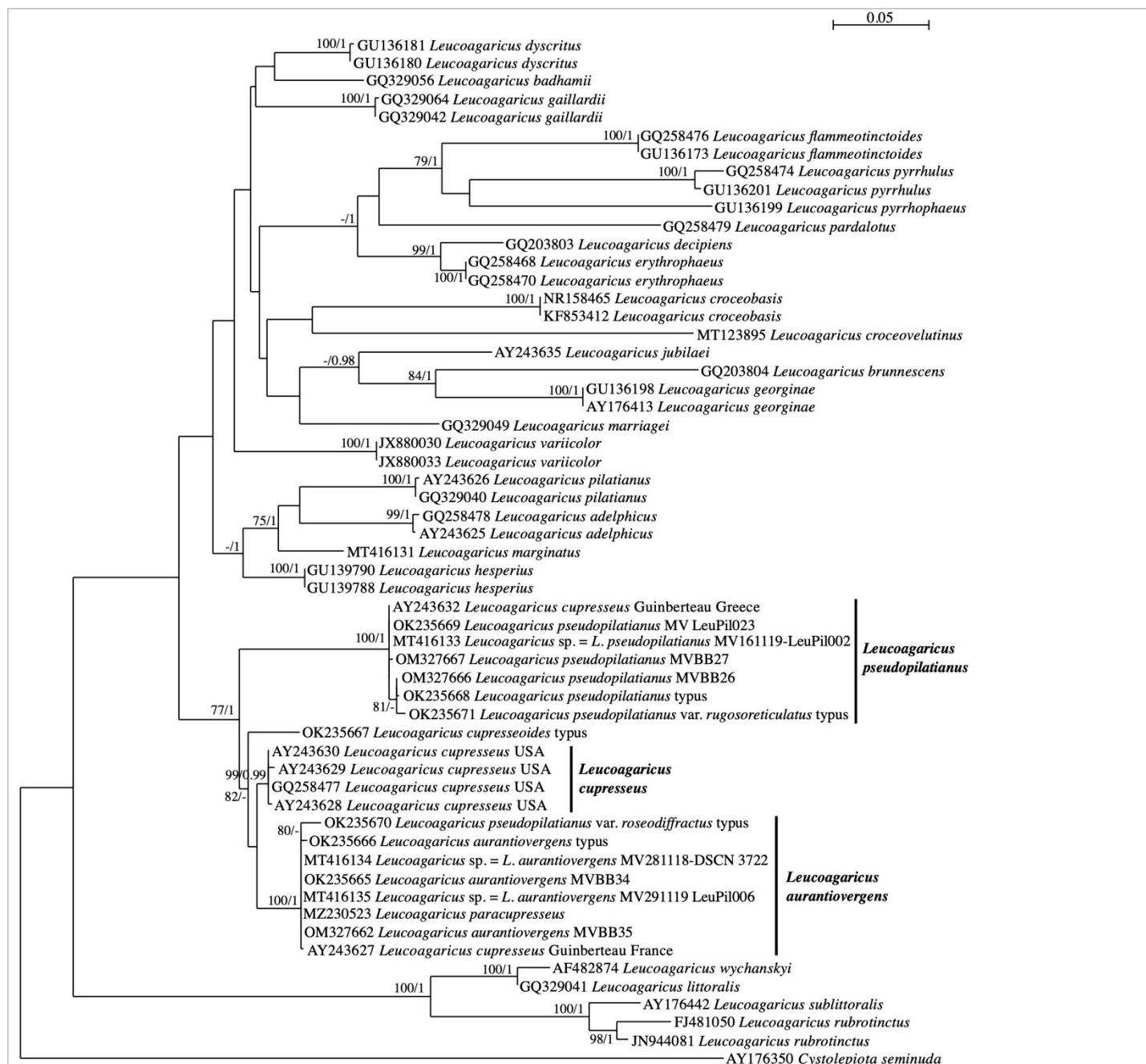
La presenza in *L. cupresseoides* di residui velari, seppure modesti, potrebbe accomunare quest'ultimo con le interpretazioni, fornite da Priou et al. (1995) nonché da Bizzi & Zecchin (2003), di *L. gaillardii* ma le sequenze molecolari risultano diverse e con un basso grado di similarità (% pari a 89.06–89.86%) rispetto ai voucher GenBank GQ329042 (*L. gaillardii*, MCVE736) e GQ329064 (*L. gaillardii*, MCVE16567). Le differenze nelle sequenze non consentono, in ultima analisi, alcun dubbio di conspecificità tra *L. cupresseoides* e *L. gaillardii*. Oltretutto, come detto in precedenza, *L. gaillardii*, che per alcuni appartiene ai *Rubrotincti* e non ai *Piloselli*, è specie critica, variamente interpretata, e, probabilmente, cumulativa di più entità.

#### CHIAVE ALLE SPECIE DEL GRUPPO *LEUCOAGARICUS CUPRESSEUS* BASATA SUGLI ESEMPLARI QUI TRATTATI

- 1 A – Specie nordamericana.....**L. cupresseus**
- 1 B – Specie europee.....**2**
- 2 A – Dimensioni sporali piccole, 6.2 – 7.5(8.4) × 4.2 – 4.8 (5.3) μm ; colorazioni pileiche rossastre o vinose, disco concolore; ridotti residui velari di tipo aracnoide e cheilocistidi per la maggior parte lageniformi.....**L. cupresseoides**
- 2 B – Dimensioni sporali più grandi, fino a 9.5 (11) × (4.7) 5.8 μm; assenza di residui velari sul cappello; colorazioni pileiche vinoso marroni, marroni, vinoso rossastre, più scure al disco.....**3**
- 3 A – Dimensioni pileiche medie, fino a 70 (80) mm; gambo dotato di bulbo ingrossato alla base; dimensioni delle ife terminali del tricotoderma fino a 180 (190) × 14 (16) μm; reazione retrograda di viraggio per manipolazione non sempre manifesta.....**L. aurantiovergens**
- 3 B – Dimensioni pileiche medio-grandi, fino a 100(110) mm; gambo cilindrico progressivamente dilatato alla base ma non bulboso; dimensioni delle ife terminali del tricotoderma decisamente allungate fino a 260 (300) × 20(24) μm.....**L. pseudopilatianus**

#### RINGRAZIAMENTI

Per la fattiva e gradita collaborazione a vario titolo si ringraziano Pablo Alvarado, Alessandra Coppola, Marco Floriani, Marco Raumi, Massimo Sanna e Pietro Voto.



Filogramma di massima verosimiglianza ottenuto utilizzando RaxML-NG. *Cystolepiota seminuda* è stata utilizzata come *outgroup*. I valori di bootstrap  $\geq 70\%$  ottenuti dall'analisi di massima verosimiglianza (a sinistra) e i valori di probabilità a posteriori  $\geq 0,95$  ottenuti dall'analisi dell'inferenza bayesiana (a destra) sono riportati a livello dei diversi nodi.

## BIBLIOGRAFIA CITATA O CONSULTATA

- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* **215**: 403 – 410.
- Bizzi A, Zecchin G (2003). *Lepiotaceae* rare o critiche raccolte in occasione del X Convegno della CEMM. Atti delle X Giornate micologiche della CEMM. Cervia 10-16 Novembre 2002. Annales confederationis europaeae mycologiae mediterraneae 2002:99 – 115.
- Boisselet P, Guinberteau J (2001). *Leucoagaricus cupresseus* (Burlingham) Boisselet et Guinberteau comb. nov., une Lépiote cupressicole d'origine américaine récoltée en France. *Bull. FAMM., N.S.* **19**:33 – 42.
- Burlingham GS (1945). Noteworthy species of *Lepiota* and *Lactaria*. *Mycologia* **37**:53 – 61.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 2012 Jul 30; **9**(8):772.
- Forin N, Nigris S, Voyron S, Girlanda M, Vizzini A, Casadoro G, Baldan B (2018). Next generation sequencing of ancient fungal specimens: the case of the Saccardo mycological herbarium. *Frontiers in Ecology and Evolution* **6**:129.
- Forin N, Tatti A, Vizzini A, Coppola A, Migliozzi V (2022). *Leucoagaricus cupresseoides* (Agaricaceae), a new species in sect. *Piloselli* and *L. aurantiovergens* and *L. pseudopilatianus* redescribed from Italy. *Phytotaxa* **536**:126 – 140.

- Gardes M, Bruns TD (1993). ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* **2**:113 – 118.
- Gennari A, Migliozi V (1998). Una nuova entità della Sezione *Piloselli*, *Leucoagaricus aurantiovergens* sp. nov. *Rivista di Micologia* **41**(4):291 – 300.
- Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief Bioinform.* **20**(4):1160 – 1166. doi: 10.1093/bib/bbx108.
- Kozlov AM, Darriba D, Flouri T, Morel B, Stamatakis A (2019). RAXML-NG: A fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics* **35**:4453 – 4455.
- Latha KPD, Raj KNA, Manimohan P (2020). *Leucoagaricus callainitinctus* - a new species of *Leucoagaricus* section *Piloselli* (*Agaricaceae*) from tropical India. *Phytotaxa* **442**:111 – 120.
- Maddison WP, Maddison DR (2019). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.70. <http://www.mesquiteproject.org>
- Migliozi V (2021). Contributo allo studio della Sezione *Piloselli* del genere *Leucoagaricus*. 1. Prima segnalazione per il territorio italiano di *Leucoagaricus marginatus* (Burlingham) Boisselet. *Boll. Gr. Micol. Bresadola* **55-56**:103 – 114.
- Migliozi V, Resta G (2000). Note sulla Sottosezione *Pilatiani* del genere *Leucoagaricus*. Due nuove varietà: *Leucoagaricus pseudopilatianus* var. *rugosoreticulatus* e *Leucoagaricus pseudopilatianus* var. *roseodiffractus* *Micol. e Veget. Medit.* **15**(2):129 – 156.
- Migliozi V, Coppola A (2021). *Leucoagaricus ammovirescens* stat. nov. *Micol. e Veget. Medit.* **36**(1-2):45 – 58.
- Migliozi V, Mua A, Raumi M, Casula M, Coppola A (2021). Segnalazione per il territorio italiano di *Leucoagaricus croceobasis*. *Micol. e Veget. Medit.* **36**(1-2):69 – 82.
- Migliozi V, Rocabrana A, Tabarés M, (2001). *Leucoagaricus pseudopilatianus*: Una nueva especie de la sección *Piloselli*. *Revista Catalana de Micologia* **23**:67 – 74.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010). "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees". In Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1 – 8.
- Muñoz G, Caballero A, Contu M, Vizzini A (2012). A new *Leucoagaricus* species of Section *Piloselli* (*Agaricales*, *Agaricaceae*) from Spain. *IMA Fungus* **3**(2):117 – 123.
- Muñoz G, Caballero A, Contu M, Ercole E, Vizzini A (2014). *Leucoagaricus croceobasis* (*Agaricales*, *Agaricaceae*), a new species of section *Piloselli* from Spain. *Mycological Progress* **13**:649 – 655.
- Murray MG, Thompson WF (1980). Rapid isolation of higher weight DNA. *Nucleic Acids Research* **8**(19):4321 – 4325. doi: 10.1093/nar/8.19.4321
- Priou JP, Bodin M, Guinberteau J (1995 ). Une espèce méconnue: *Leucoagaricus gaillardii* Bon et Boiffard. Nouvelles données morphologiques, anatomiques, écologiques, chorologiques. *Documents Mycologiques* **25**(98-100):349 – 358.
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard ML, Huelsenbeck J (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**:539 – 542.
- Salom JC, Siquier JL, Planas J, Espinosa J (2021). *Leucoagaricus paracupresseus* Salom, Siquier, Planas & Espinosa. *Index Fungorum* **485**:1.
- Sundberg WJ (1976). *Lepiota* sensu lato in California. II. Type studies of *Lepiota cupressea* and *Lepiota marginata*. *Mycotaxon* **3**(3):381 – 386.
- Thiers B (2017). Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium.
- Vellinga EC (2004a). Ecology and distribution of Lepiotaceous Fungi (*Agaricaceae*) – A review. *Nova Hedwigia* **78**(3-4):273 – 299.
- Vellinga EC (2004b). Genera in the family *Agaricaceae*: evidence from nrITS and nr LSU sequences. *Mycol. Res.* **108**(4):354 – 377.
- Vellinga EC (2010). Lepiotaceous fungi in California USA. *Leucoagaricus* sect. *Piloselli*. *Mycotaxon* **112**:393 – 444.
- Vellinga EC, Contu M, Vizzini A (2010). *Leucoagaricus decipiens* and *La. erythrophaeus*, a new species pair in sect. *Piloselli*. *Mycologia* **102**:447 – 454.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Eds.) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York, pp. 315 – 322.

## SITOGRAFIA

Index fungorum. <http://www.indexfungorum.org/>

Mycobank database. <http://www.mycobank.org/>

Mikoweb. <http://www.mykoweb.com/>

NCBI National centre for biotechnology information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Article received 02 February 2022, accepted 15 March 2022

## Rare Agaricales in Polesine - IV: *Hebeloma odoratissimum*

(English version on page 43)

Pietro Voto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Via G. Garibaldi 173 - 45010 Villadose (RO) – email : pietrovoto@libero.it

### Parole chiave:

*Hebeloma odoratissimum*  
Polesine  
Pianura Padana  
Italia

**Riassunto:** Questa breve nota aggiorna la presentazione del genere *Hebeloma* in Polesine apparsa in Voto (2017). Il raro *Hebeloma odoratissimum* è stato trovato nelle campagne polesane in un suo tipico habitat igrofilo: associato a salici a margine di un corso d'acqua. Immagini delle raccolte, alcune focalizzate sulle principali caratteristiche macroscopiche, e dei parametri microscopici più rilevanti accompagnano la descrizione delle raccolte Polesane della specie insieme a note di confronto con il taxon più prossimo, *H. nauseosum*.

### INTRODUZIONE

La prima di queste raccolte è stata effettuata agli inizi di dicembre 2018, in concomitanza con le prime giornate fredde e nebbiose invernali, tipiche della Padania, a circa 400 metri da casa; successivamente la specie è stata ritrovata nel mese di novembre nei due anni seguenti. Si tratta di funghi dai colori niente affatto appariscenti che possono passare facilmente inosservati ma che, una volta presi in mano e sentitone l'odore, offrono al micologo la loro più vistosa caratteristica macroscopica: un intenso odore dolciastro che rende piena giustificazione al suo nome. Sono altresì meritevoli di menzione la cuticola che può arrivare a desquamarsi alla maniera delle specie del genere *Lepiota*, un carattere certamente insolito in *Hebeloma*, e il gambo possibilmente radicante che pure trova poche altre occorrenze in questo genere.

### TASSONOMIA

*Hebeloma odoratissimum* Britzelm.  
*Hymenomyceten aus Südbayern* 8: 8 (1891)



*Hebeloma odoratissimum*. Villadose, 6/12/2018





*Hebeloma odoratissimum*. Villadose, 20/11/2019



*Hebeloma odoratissimum*. Villadose, 2/11/2020



*Hebeloma odoratissimum*. Cuticola dissociata e gambo fusiforme-radicante / dissociated cuticle and fusiform-rooting stipe

#### Sinonimi eterotipici:

*Hebeloma hetieri* Boud., Bull. Soc. mycol. Fr., **33**: 8, 1917 [fide Beker et al. (2016)];

*Hebeloma sacchariolens* var. *tomentosum* M.M. Moser, Z. Pilzk., **36** (1-2): 71, 1970 [fide Beker et al. (2016)];

*Hebeloma tomentosum* (M.M. Moser) Gröger & Zschiesch., Z. Mykol., **47** (2): 203, 1981 [fide Beker et al. (2016)].

#### Caratteri macroscopici

*Cappello* 30 – 100 mm; convesso poi più o meno spianato eventualmente con basso umbone; viscidulo ma da maturo sovente asciutto; cuticola inizialmente unita e minutamente feltrata o tomentosa, non pruinosa, con la maturazione può screpolarsi in squamule concentriche adnate; beige, bruno nocciola chiaro, bruno ocraceo chiaro, unicolore o leggermente più pigmentato al disco, non igrofano, subcute nelle screpolature beige-nocciola.

*Lamelle* fitte, 45 – 50 negli esemplari maturi, con lamellule, ventricose e alte 6 – 14 mm, con attacco largamente adnato o con dentino decorrente, sovente verticalmente venose, sovente anastomosate e a volte increspate nelle anastomosi, da argillacee a nocciola chiaro, poi brunastre.

*Gambo* 80 – 180 × 8 – 27 mm, più stretto all'apice, 5 – 17 mm, e alla base, 7 – 10 mm, sovente sinuoso nel tratto inferiore, fusiforme, a volte svasato dall'alto in basso o cilindraceo, in un esemplare più grande con base bulbosa, all'estrema base rastremato o ottusamente radicante, per un quarto o quasi un terzo interrato, centrale o leggermente eccentrico; pallido, imbrunente dal basso, fibrilloso; apice pruinoso; pieno poi cavo.

*Carne* ovunque pallida, biancastra; odore intenso dolciastro.

#### Caratteri microscopici

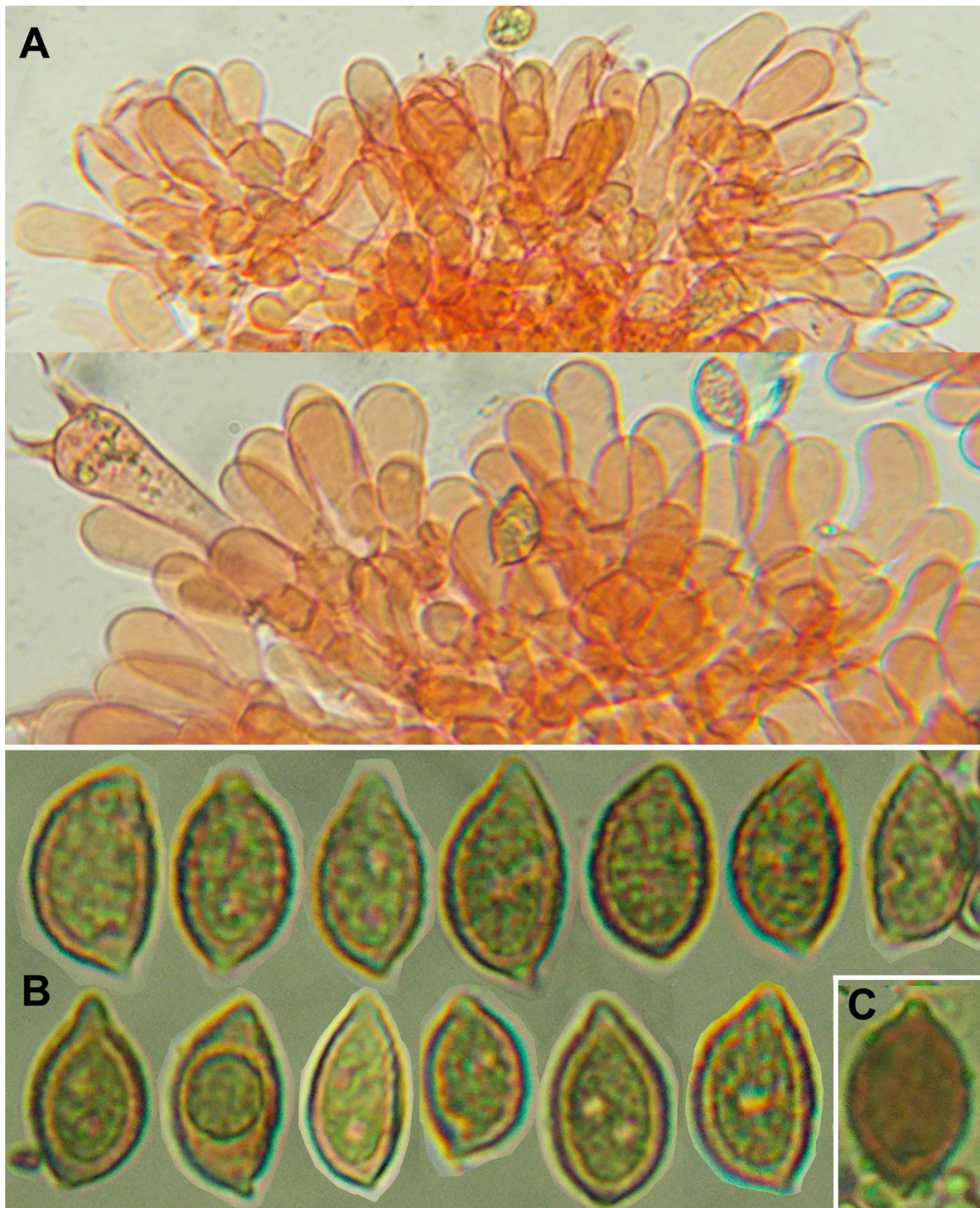
*Spore* 10.6 – 17.5 × 7.3 – 9.4 μm, in media 11.0 – 14.0 × 7.5 – 8.8 μm, Q 1.43 – 2.00, in media 1.6 – 1.7, citriformi o amigdaliformi-citriformi, alcune amigdaliformi, fusiformi-amigdaliformi o fusiformi-papillate, fortemente destrinoidi e verrucose con papilla indestrinoide e liscia, perisporio poco distaccato o poco percepibile.

*Basidi* 4-sporici.

*Cheilocistidi* 20.0 – 38.0 × 6.5 – 12.0 (14.0) μm all'apice (ristretto fino a 5 μm nella tipologia utrifforme), strettamente claviformi o tozzi cilindracei, alcuni utrifforme, corti, diversi settati, numerosi, frammisti a qualche basidio.

*Pileipellis* in ixocutis.

*Giunti a fibbia* presenti.



*Hebeloma odoratissimum*. A. Cheilocystidi in rosso Congo; B. Spore in 5% KOH; C. spora in reattivo di Melzer / A. Cheilocystidia in Congo red; B. Spores in 5% KOH; C. spore in Melzer's reagent

**Habitat e raccolte studiate.** Gregari con esemplari singoli o in coppie unite sotto salici nella scarpata tra un margine stradale e un canale d'irrigazione delimitante un campo coltivato, Villadose, Rovigo, Veneto, Italia, 06.12.2018, 20.11.2019, 02.11.2020, P. Voto, VER fu11 (06.12.2018).

## COMMENTI

I due caratteri del forte odore dolciastro e del cappello feltrato-tomentoso e finanche squamuloso sono probabilmente un ottimo indizio di riconoscimento sul campo per un "hebelomologo" esperto. Per me quella cuticola lepiotoide appariva come un elemento di disturbo che impediva di fare una prima approssimativa classificazione generica già sul campo, ostacolando un immediato riconoscimento come *Hebeloma* (Fr.) Kumm. Un percorso di studio microscopico ha dovuto pertanto guidare l'approccio a questa determinazione.

Epicute e spore hanno indicato il genere *Hebeloma*, mentre l'odore e la forma dei cheilocistidi hanno condotto l'indagine nella sez. *Sacchariolentia* (J.E. Lange ex Bon) H. Boyle.

Stando a BEKER ET AL. (2016) questo raggruppamento include solo cinque specie di cui tre, *H. sacchariolens* Quél., *H. fusisporum* Gröger & Zschiesch e *H. ischnostylum* (Cooke) Sacc., possono essere facilmente scartate per avere spore decisamente più strette.

Le restanti due, *H. nauseosum* Sacc. e *H. odoratissimum*, condividono l'habitat associato a piante igrofile in ambienti umidi. Tuttavia alcuni morfocaratteri le distinguono: la prima ha cappello glabro o al più sub vellutato al margine, spore in media un po' più lunghe con relativo quoziente un po' più alto, e cheilocistidi un po' più lunghi, fino a 70 µm o oltre, in media 18 – 58 µm. In effetti i cheilocistidi estremamente corti contraddistinguono *H. odoratissimum* all'interno dell'intera sezione.

Lo scarso distacco del perisporio che ho osservato rappresenta la sola discrepanza rispetto alla descrizione di BEKER ET AL. (2016) che lo indicano nei massimi valori P2-3 (da distinto a forte), tuttavia VESTERHOLT (2005), sub nom. *H. hetieri*, lo designa come P1-2.

Il gambo tendenzialmente più stretto ai due estremi e finanche lungamente radicante in alcuni esemplari può rappresentare un'ottima peculiarità morfologica di questo taxon. Sotto questo aspetto *H. odoratissimum* potrebbe essere confrontato con *H. radicosum* (Bull.) Ricken, pure provvisto di un forte odore (dolciastro di mandorle, di marzapane) ma appartenente alla sez. *Myxocybe* (Fayod) Konrad & Maubl. Esso si differenzia per avere il gambo provvisto anche di un anello membranoso, spore decisamente più piccole (inferiori a 11 × 7 µm) e cheilocistidi in parte anche lageniformi/lageno-clavati del tutto assenti in *H. odoratissimum*.

Va notato che, diversamente da Index Fungorum e Mycobank, BEKER ET AL. (2016) indicano questa specie con il nome *H. odoratissimum* (Britzelm.) Sacc.

## BIBLIOGRAFIA / REFERENCES

- Beker HJ, Eberhardt U, Vesterholt J (2016). *Hebeloma* (Fr.) P. Kumm. *Fungi Europaei* **14**. Edizioni Tecnografica, Lomazzo, Italy.  
 Vesterholt J (2005). The genus *Hebeloma*. *Fungi of Northern Europe* - Vol. **3**. Svampetryk.  
 Voto P (2017). Rare *Agaricales* in Polesine - Il L'aiuola degli *Hebeloma*. *Rivista di Micologia* **60**(1):3 – 42.

## Rare Agaricales in Polesine - IV: *Hebeloma odoratissimum*

**Abstract:** This short note updates the presentation of the genus *Hebeloma* in Polesine appeared in Voto (2017). The rare *Hebeloma odoratissimum* was found in the Polesine's countryside in its typical hygrophilous habitat: associated with willows on the edge of a watercourse. Images of the collections, some of which focused on the main macroscopic characteristics, and of the most relevant microscopic parameters, accompany the description of the Polesine's collections of the species along with notes of comparison with its closest taxon, *H. nauseosum*.

## INTRODUCTION

The first of these collections was made at the beginning of December 2018, coinciding with the first cold and foggy winter days, typical of the Padania, approximately 400 meters away from home; successively the species was found again in November in the two following years. These are mushrooms with quite inconspicuous colours which can easily go unnoticed but which, once picked up and smelled, offer the mycologist their most striking macroscopic feature: an intense sweetish odour fully justifying the name of the species. The cuticle that can dissociate into squamules in the manner of the species of the genus *Lepiota*, a decidedly unusual feature in *Hebeloma*, and the possibly rooting stipe which too has few other occurrences in this genus are also worthy of mention.

## TAXONOMY

*Hebeloma odoratissimum* Britzelm.  
*Hymenomyceten aus Südbayern* **8**: 8 (1891)

**Heterotypic synonyms:**

- Hebeloma hetieri* Boud., Bull. Soc. mycol. Fr., **33**: 8, 1917 [fide Beker et al. (2016)];  
*Hebeloma sacchariolens* var. *tomentosum* M.M. Moser, Z. Pilzk., **36** (1-2): 71, 1970 [fide Beker et al. (2016)];  
*Hebeloma tomentosum* (M.M. Moser) Gröger & Zschiesch., Z. Mykol., **47** (2): 203, 1981 [fide Beker et al. (2016)].

**Macroscopic Characters**

*Pileus* 30 – 100 mm; convex then more or less applanate with possibly a low umbo; viscidulous but when mature often dry; cuticle at start entire and minutely felty to tomentose, not pruinose, when mature possibly dissociating into concentric adnate squamules;

beige, light hazelnut brown, light ochraceous brown, unicolor or slightly more pigmented at the disc, not hygrophanous, subcutis beige-hazelnut in the cracks.

*Lamellae* crowded, 45 – 50 in mature specimens, with lamellulae, ventricose and 6 – 14 mm high, broadly adnate or with a decurrent tooth, often vertically veined, often anastomosed and sometimes rippled in the anastomosis, argillaceous to light hazelnut, then brownish.

*Stipe* 80 – 180 × 8 – 27 mm, narrowing towards the apex, 5 – 17 mm, and towards the base, 7 – 10 mm, often sinuous in the inferior portion, fusiform, sometimes flared from top to bottom or cylindraceous, with a bulbous base in a larger specimen, extreme base tapering or obtusely rooting, underground for a quarter or almost a third lower, central to slightly excentric; pale, discoloring to brown from below; fibrillose, apex pruinose; stuffed then hollow.

*Carne* ovunque pallida, biancastra; odore intenso dolciastro.

#### Microscopic Characters

*Spores* 10.6 – 17.5 × 7.3 – 9.4 μm, on average 11.0 – 14.0 × 7.5 – 8.8 μm, Q 1.43 – 2.00, on average 1.6 – 1.7, citriform to amygdaliform-citriform, sometimes amygdaliform to fusiform-amygdaliform or fusiform-papillate, strongly dextrinoid and verrucose with indextrinoid smooth papilla, perispore little detached or little perceptible.

*Basidia* 4-spored.

*Cheilocystidia* 20.0 – 38.0 × 6.5 – 12.0 (14.0) μm at the apex (narrowed to 5 μm in the utriform type), narrowly claviform to thick-set cylindraceous, sometimes utriform, short, several septate, numerous, intermixed with some basidia.

*Pileipellis* an ixocutis.

*Clamp connections* present.

**Habitat and collections studied.** Gregarious with single or paired specimens below willows in the escarpment between a roadside and an irrigation channel delimiting a cultivated field, Villadose, Rovigo, Veneto, Italy, 06.12.2018, 20.11.2019, 02.11.2020, P. Voto, VER fu11 (06.12.2018).

#### COMMENTS

The two features of the strong sweetish smell and of the felted-tomentose and even squamulose pileus are probably an excellent indication of field recognition for an expert “hebelomologist”. For me that lepiotoid cuticle appeared as a disturbing element that prevented a first approximate generic classification already on the field, hindering an immediate recognition as *Hebeloma* (Fr.) Kumm. A process of microscopic study therefore had to guide the approach to this determination.

Epicutis and spores indicated the genus *Hebeloma* while smell and cheilocystidia shape led the investigation into sect.

*Sacchariolentia* (J.E. Lange ex Bon) H. Boyle.

According to BEKER ET AL. (2016) this grouping includes only five species of which three, *H. sacchariolens* Quél., *H. fuisporum* Gröger & Zschiesch and *H. ischnostylum* (Cooke) Sacc., can be readily discarded for having much narrower spores.

The other two, *H. nauseosum* Sacc. and *H. odoratissimum*, share the association with hygrophilous plants in humid habitat. However some morphocharacters distinguish them: the former has a glabrous pileus or at the most sub velvety at the margin, spores on average somewhat longer and with a higher quotient, and cheilocystidia somewhat longer, up to 70 μm or more, on average 18 – 58 μm. In fact extremely short cheilocystidia distinguish *H. odoratissimum* within the entire section.

The scarce detachment of the perispore observed represents the only discrepancy with respect to BEKER ET AL.’s (2016) description which report it in the maximum values P2-3 (distinct to strong), however VESTERHOLT (2005), sub nom. *H. hetieri*, refer to it as P1-2.

The stem which tends to be narrower at both ends and also extensively rooting in some specimens can represent an excellent morphological peculiarity of this taxon. In this respect *H. odoratissimum* could be compared with *H. radicosum* (Bull.) Ricken, also having a strong smell (sweetish of almonds, of marzipan) but belonging to sect. *Myxocybe* (Fayod) Konrad & Maubl. It differs in having the stipe provided also with a membranous annulus, spores decidedly smaller (less than 11 × 7 μm), and cheilocystidia partly also lageniform/lageno-clavate completely absent in *H. odoratissimum*.

It should be noted that, unlike Index Fungorum e Mycobank, BEKER ET AL. (2016) indicate this species by the name of *H. odoratissimum* (Britzelm.) Sacc.

## Validation of *Psathyrella cladii-marisci*

Giovanni Sicoli<sup>1\*</sup>, Nicodemo G. Passalacqua<sup>1,2</sup>, Antonio B. De Giuseppe<sup>2</sup>, Anna Maria Palermo<sup>1</sup>, Giuseppe Pellegrino<sup>1</sup>, Daniel Deschuyteneer<sup>3</sup>, Pietro Voto<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Ecology and Earth Sciences, The University of Calabria, 87036 Arcavacata di Rende, Cosenza, Italy

<sup>2</sup>Museum of Natural History of Calabria and Botanical Garden, The University of Calabria, 87036 Arcavacata di Rende, Cosenza, Italy

<sup>3</sup>Spreeuwenhoek 12, 1820 Perk, Belgique; email: danieldeschuyteneer@gmail.com

<sup>4</sup>Via G. Garibaldi 173 - 45010 Villadose (RO), Italy; email: pietrovoto@libero.it

\*Corresponding author: giovanni.sicoli@unical.it

### Key words:

*Psathyrella cladii-marisci*  
validation  
description

**Abstract:** The authors noticed that *P. cladii-marisci* is an invalid name because it was inadvertently published without the citation of an identifier issued by a recognized repository (ICN art. F.5.1); the species is therefore republished and also redescribed with the updating of the morphological data from new collections. Some new unpublished pictures of basidiomes and cheilocystidia are also provided.

### INTRODUCTION

When Sicoli et al. (2019a,b) published this interesting hygrophilous *Psathyrella* of sect. *Spintrigerae* found in southern Italy, they inadvertently omitted to register its name in a recognized repository as required by art. F.5.1 of the San Juan Chapter F publication (May et al., 2019) which supersedes the provisions of Chapter F in the earlier Shenzhen code (Turland et al., 2018). This article provides the rule that on or after 1 January 2013, in order to be validly published, a nomenclatural fungal novelty must include in the protologue citation of the identifier issued for the name by a recognized repository. The authors provide here to republish the name in correct appliance of the ICN rules adding the redescription of its morphological data based on new observations from collections from the type site and from Belgium (Deschuyteneer et al., 2020). Unpublished pictures are also provided.

***Psathyrella cladii-marisci*** Sicoli, N.G. Passal., De Giuseppe, Palermo, Pellegrino, D. Deschuyteneer & Voto, sp. nov. [IF 555924]

Typus: Italy. Calabria, Cosenza, Rende, Orto Botanico Università della Calabria. 39°21'25.05"N, 16°13'44.57"E, 220 m a.s.l., marsh at the base of cut culms of a *Cladium mariscus* (L.) Pohl plant, transplanted from Lago dell'Aquila (Laureana di Borrello, Reggio Calabria, southern Italy) at the corner of a concrete tank maintained full of water, 10 April 2018, Antonio Biagio De Giuseppe & Giovanni Sicoli (CLU F302).

Etymology. The specific epithet derives from *Cladium mariscus*, the name of the plant where it was first detected.

*Pileus* 10 – 40 mm broad, campanulate to conical-convex when young, then hemispheric to convex and applanate at maturity, with or without an obtuse broad umbo, margin deeply striate and becoming radially fissured, hazelnut in colour, hygrophanous, discolouring to pale (greyish-) beige from margin; veil composed of abundant, whitish, concentric arachnoid fibrils on primordia, then of scattered fibrils, often appendiculate at the margin.

*Lamellae* moderately crowded to crowded, not or little ventricose, 1 – 3 mm high, adnate, intermingled with numerous lamellulae, initially pale pink, then intensely brown-purplish to greyish rust coloured; edge whitish fimbriate.

*Stipe* 15 – 50 × 2 – 4 mm, very fragile, cylindrical with a scarcely swollen base, not rooting, hollow, white to whitish; exannulate, diffusely fibrillose especially at base, pruinose at apex. *Context* with apparently no smell, taste mild.

*Basidiospores* (5.4) 6.2 – 8.4 (8.9) × (3.8) 4.1 – 5.0 (5.6) μm, on average 6.7 – 7.9 × 4.5 – 4.8 μm, Q = (1.20) 1.40 – 1.75 (1.90), on average 1.5 – 1.7; in front view oblong to elliptic or oval, base obtuse to sometimes rounded, in side view adaxially flattened to subphaseoliform or amygdaliform, sometimes with a weak suprahilar depression; pale yellow to yellowish-beige in 10% ammonia, slightly grey in 5% KOH, with a thick and smooth wall; germ pore central, 2 μm-wide, distinct in full mature spores; hilar appendix distinct. Spore-print dark brown.

*Basidia* clavate, 4-spored. *Hymenial trama* slightly pigmented.

*Cheilocystidia* (22) 30 – 60 × 10 – 15 (20) μm, slenderly to thickset utriform, sometimes cylindraceous to clavate; apex rounded, rarely forked, often subcapitate; longest ones sometimes septate, hyaline, thin-walled, numerous; *paracystidia* scattered, sometimes thick-walled.

*Pleurocystidia* absent.

*Pileipellis* composed of a one-layer paraderm.

*Veil* composed of clamped hyphae with enlarged ends, initially hyaline then brownish and encrusted with age.

*Caulocystidia* up to 90 – 100 μm long, similar to cheilocystidia or slenderer, sometimes septate.

*Clamp connections* present.

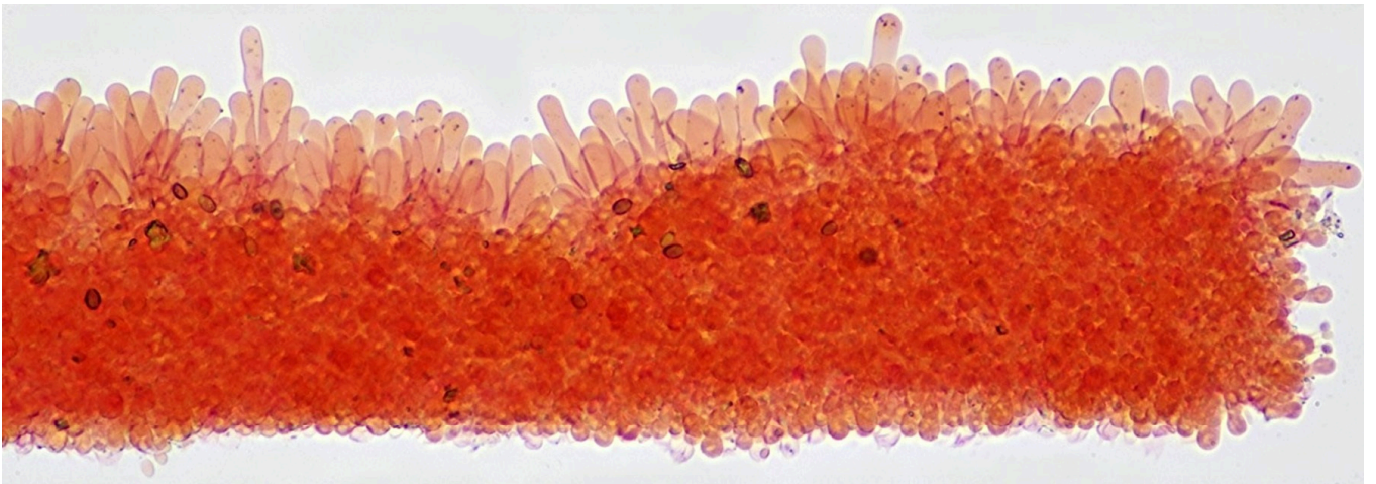
*Mycelial hyphae* septate and clamped.

**Habitat and distribution.** In small groups (gregarious), on culm remnants of *Cladium mariscus*. Present in Europe (Italy, Belgium) and South East Asia (Thailand).



*Psathyrella cladii-marisci*. Orto Botanico Università della Calabria, Rende, Italy, 18 Apr. 2019

G. Sicoli



*Psathyrella cladii-marisci*. Cheilocystidia in Congo red

D. Deschuyteneer

## NOTES

A collection from Thailand, phylogenetically supported, possesses spores somewhat larger ( $7.0 - 9.5 \times 4.0 - 5.5 \mu\text{m}$ ,  $Q = 1.45 - 2.00$ , on average  $1.63 - 1.89$ ), basidia  $8.5 - 20.5 \times 6.0 - 9.0 \mu\text{m}$ , pileipellis cells  $18 - 50 \mu\text{m}$  broad, and lacks caulocystidia (Bhunjun et al., 2022).



*Psathyrella cladii-marisci*. Torfbroek Natural Reserve, Belgium, 2 and 20 Sept. 2018

D. Deschuyteneer

## ACKNOWLEDGMENTS

Luis A. Parra is thanked for providing nomenclatural clarifications.

## REFERENCES

- Bhunjun CS, Niskanen T, Suwannarach N, Wannathes N, et al. (2022). The numbers of fungi: are the most speciose genera truly diverse?. *Fungal Diversity* <https://doi.org/10.1007/s13225-022-00501-4>
- Deschuyteneer D, Sicoli G, Palermo AM, Wächter D (2020). Découverte et description de *Psathyrella cladii-marisci* Sicoli, NG Passal, De Giuseppe, Palermo & Pellegrino dans la réserve naturelle de Torfbroek. *Bulletin de l'Association des Mycologues Francophones de Belgique* **13**:38 – 42.
- May TW, Redhead SA, Bensch K, Hawksworth DL, Lendemer J, Lombard L, Turland NJ (2019). Chapter F of the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants as approved by the 11th International Mycological Congress, San Juan, Puerto Rico, July 2018. *IMA Fungus* **10**:21. <https://doi.org/10.1186/s43008-019-0019-1>
- Sicoli G, Passalacqua NG, De Giuseppe AB, Palermo AM, Pellegrino G (2019a). A new species of *Psathyrella* (*Psathyrellaceae*, *Agaricales*) from Italy. *MycKeys* **52**:89 – 102. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.52.31415>
- Sicoli G, Passalacqua NG, De Giuseppe AB, Palermo AM, Pellegrino G (2019b). *Corrigendum*: Sicoli G, Passalacqua NG, De Giuseppe AB, Palermo AM, Pellegrino G, 2019. A new species of *Psathyrella* (*Psathyrellaceae*, *Agaricales*) from Italy. *MycKeys* **52**:89 – 102. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.52.31415>. *MycKeys* **58**:129 – 129. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.58.38856>
- Turland NJ, Wiersema JH, Barrie FR, Greuter W, Hawksworth DL, Herendeen PS, Knapp S, Kusber W-H, Li D-Z, Marhold K, May TW, McNeill J, Monro AM, Prado J, Price MJ, Smith GF (eds.) (2018). International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017. *Regnum Vegetabile* **159**. Glashütten: Koeltz Botanical Books. <https://doi.org/10.12705/Code.2018>



***Narcissea lahorensis* sp. nov. (Psathyrellaceae, Agaricales) from Pakistan**Muhammad Usman<sup>1,2\*</sup>, Aiman Izhar<sup>1,3</sup>, Abdul Nasir Khalid<sup>1,4</sup><sup>1</sup>Fungal Biology and Systematics Research Laboratory, Institute of Botany, University of the Punjab, Quaid-e-Azam Campus 54590, Lahore, Pakistan.<sup>2</sup>musmanmughal52@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0002-3490-058X><sup>3</sup>aimanizhar25@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-8739-2881><sup>4</sup>drankhalid@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5635-8031>

\*Corresponding author: musmanmughal52@yahoo.com

**Key words:***Coprinopsis**Coprinus*

Lahore

Phylogenetics

Systematics

**Abstract:** *Narcissea lahorensis* sp. nov. is described from Pakistan based on morpho-anatomical and phylogenetic analyses using ITS and LSU regions, as a third species of the genus *Narcissea*. It is characterized by small basidiomata, with the pileus (10 – 18 mm in diam.) having a pruinose surface covered with whitish floccose veil composed of globose to sub-globose elements, deeply plicate from margin to center with dull yellow orange center, brownish black edges of lamellae, a short stipe (13 – 20 × 0.8 – 1.8 mm) without annulus and volva, limoniform to rectangular, brownish black to reddish brown basidiospores, 7.6 – 9.3 × 6.2 – 8.1 μm, and polymorphic cheilocystidia and pleurocystidia. Our analyses confirmed that it is a distinct species in the genus *Narcissea* and is described here as new to science.**INTRODUCTION**

*Psathyrellaceae* was recently split into 16 genera by Wächter and Melzer (2020) based on phylogenetic evidence and morphological characteristics. *Narcissea* Wächter & A. Melzer (2020: 1203) is one of these genera and it was represented by two species only, viz., *N. patouillardii* (Quél.) Wächter & A. Melzer (2020: 1204) and *N. cordispora* (T. Gibbs) Wächter & A. Melzer (2020: 1203) (Wächter & Melzer 2020). Previously, both belonged to the genus *Coprinus* Pers. (1797: 62) but were transferred to the genus *Coprinopsis* P. Karst. (1881: 27) as *C. patouillardii* (Quél.) Gminder (2010: 650) and *C. cordispora* (T. Gibbs) Watling & M.J. Richardson (2010: 406) (Krieglsteiner & Gminder 2010, Watling & Richardson 2010, Wächter & Melzer 2020).

The genus *Narcissea* is characterized by well-developed granular veil on pileus and tri- to polygonal basidiospores (in outline) being strongly flattened and with a central germ-pore. Other features of the genus are small basidiomata, occurrence on dung or on manured soil, polymorphic cheilocystidia and pleurocystidia, and the absence of clamps (Wächter & Melzer 2020). Here, we describe *Narcissea lahorensis*, a new species from Pakistan, based on phylogenetic and morphological analysis. This study is the continuation of our efforts to unveil the fungal diversity of the country using integrative taxonomic approaches to describe new fungal taxa.

**MATERIALS AND METHODS***Sampling Site*

Basidiomata were collected in the Quaid-e-Azam Campus of the University of the Punjab, Lahore, during the winter season. The district of Lahore is averagely 217 m above sea level and covers an area of 1772 km<sup>2</sup> while the total vegetation cover is 259 km<sup>2</sup> (Siddiqui *et al.*, 2020; Tanveer *et al.*, 2020). It has a hot semi-arid climate (Köppen climate classification BSh) with long, wet and extremely hot summers, dry and warm winters, annual monsoons and dust storms. It experiences a long rainy season (from end of June to mid-September), which increases the humidity of the area. Considerable macrofungal diversity was recorded in Lahore district with around 100 species of macrofungi (mostly of the order *Agaricales*) belonging to 11 families reported so far (Ahmad *et al.*, 1997; Tayyaba, 2020).

*Morphological characterization*

Macroscopic characteristics of the fresh basidiomata were noted in the field and some from the tagged photographs as mentioned in Hussain *et al.* (2018). The Munsell soil color chart was followed for color codes (Munsell, 1994). Microscopic features were described using a trinocular OLYMPUS CH30 microscope. The color of microscopic structures was observed in 5–10% KOH solution. Microscopic structures were stained with 1% Congo red solution. Twenty-five basidiospores, basidia, and cystidia were measured from 4 basidiomata. The abbreviation [n/m/p] indicates 'n' basidiospores measured from 'm' basidiomata of 'p' collections. Basidiospore dimensions were recorded as '(a–) b–c (–d)', where 'a' = extreme minimum value, range 'b–c' contains at least 90% of the calculated values, and 'd' = extreme maximum value of basidiospores. Fungal species names with authorities were retrieved from Index Fungorum (2021).

*Molecular characterization*

DNA extraction from fresh basidiomata followed the 2% CTAB method of Bruns (1995). Amplification of specific nc rDNA regions, including ITS and LSU was done using a Thermal cycler (Bio-RAD T100). Primers used during amplifications were ITS1F 5'-CCT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A-3' as forward and ITS4 5'-TCC TCC GCT CTA TTG ATA TGC-3' as reverse for ITS region (>750 bp) while LROR 5'-ACC CGC TGA ACT TAA GC-3' as forward and LR5 5'-TCC TGA GGG AAA CTT CG-3' as reverse for LSU region (>1,300bp) (Gardes & Bruns, 1993; Usman & Khalid, 2020a; White *et al.*, 1990). PCR protocol consisted of 35 cycles of denaturation at 94 °C for 30 sec, annealing at 54 °C for 1 min, extension at 71 °C for 2 min while initial denaturation at 94 °C for 2 min and a final extension at 71 °C for 5 min as in Usman & Khalid (2020b).

Usman M, Izhar A, Khalid AN (2022). *Narcissea lahorensis* sp. nov. (*Psathyrellaceae*, *Agaricales*) from Pakistan. *Mycological Observations* 3:47 – 55

### Alignment and phylogenetic analyses

The obtained sequences of ITS and LSU regions for MU01-21 and MU02-21 were assembled using BioEdit v. 7.2.5. (Alzohairy, 2011). For ITS phylogenetic analyses, sequences were selected from an initial NCBI BLAST search comprising results that had identity of more than 89%; the closest one was AY461837 named as *Coprinus cordisporus* with 97% identity and 93% query cover. Then the remaining sequences of genus *Narcessea* were added in the dataset from publications not included through the initial NCBI BLAST search (Keirle *et al.*, 2004; Wächter & Melzer, 2020). In the final data set, 43 sequences were included out of which two sequences of *Coprinellus campanulatus* S. Hussain & H. Ahmad (2018: 48) were used as an outgroup (MH753666 and MH753667). For LSU phylogenetic analyses all sequences of genus *Narcessea* were added as ingroup while MW621007 named *Coprinellus andreorum* Sammut & Karich (2021: 24) was used as an outgroup taxon. For the final alignment of both region's datasets Bioedit was used for Clustal W method. Phylogenetic trees were constructed with the Maximum Likelihood (ML) method using RAXML-HPC2 v. 8.2.12 as implemented on the CIPRES portal with 1000 bootstrap replicates for both regions (Miller *et al.*, 2010; Stamatakis, 2014).

For Bayesian analyses, Markov Chain Monte Carlo (MCMC) coalescent approach implemented in BEAST v 1.10.4 (Rambaut *et al.*, 2018) was used. Four independent runs were conducted, and chain length was 1 million generations with a sampling frequency of 1000. Tracer v 1.10.4 was used for the Burn-in value determination (Rambaut *et al.*, 2018) with effective sample sizes (ESS) higher than 300. Maximum Clade Credibility (MCC) tree was generated using Log Combiner v 1.10.4 and Tree Annotator v 1.10.4 (Rambaut *et al.*, 2018). Posterior probabilities (PPs) of  $\geq 0.80$  were considered significant and mentioned at nodes. Phylogenetic trees were visualized using FigTree v. 1.4.2 (Rambaut, 2012).

## RESULTS

### Phylogenetic analyses using ITS region (Fig. 5, Table 1)

Sequences of the nc rDNA ITS region from two basidiomata collections, MU01-21 (LAH36395) and MU02-21 (LAH36970), were successfully obtained. The final dataset after multiple sequence alignment consisted of 713 and 692 base pairs, respectively. The closest sequences in the same clade were named as uncultured fungus (MW215870) and uncultured *Coprinus* (MH161295), respectively, without morphological description. These will be considered as dark taxa as those are DNA sequences obtained from environmental metabarcoding via high-throughput sequencing (HTS) (Jeszeová *et al.*, 2018; Marčiulyrienė *et al.*, 2021). The closest sister clade consists of four sequences (AY461831, AY461841, AY461816 and AY461817) assigned as *Coprinus cordispora* B clade in Wächter & Melzer (2020). Those sequences belong to dark taxa and have no morphological description for comparison. The ITS phylogenetic analyses support the distinctiveness of *N. lahorensis* from all other analyzed species with very strong bootstrap values.

### Phylogenetic analyses using LSU region (Fig. 6, Table 1)

The sequences of nc rDNA LSU region from two basidiomata collections MU01-21 (LAH36395) and MU02-21 (LAH36970) consisted of 916 and 904 base pairs, respectively. The closest sequences in the tree were identified as belonging to *Coprinus patouillardii* (FN396197 and FM876265) forming a sister clade, the species characterized by deliquescent fruiting bodies, but morphological description was not available for comparison with our material (Nagy *et al.* 2011). Other close sequences in the tree were identified as belonging to *Coprinus patouillardii* (FN396195 and FN396196) and *Coprinus cordisporus* (AF041511) with no morphological description included (Nagy *et al.*, 2011; Wächter & Melzer, 2020). Judging from phylogenetic analysis based on nc rDNA LSU region *N. lahorensis* is a distinct species with a strong bootstrap value, and clearly different from other species in the tree.

## TAXONOMY

***Narcessea lahorensis* Usman & Khalid, sp. nov. (Figs. 1–3)**

Mycobank MB 840992

**Etymology:**—The specific epithet "*lahorensis*" (Latin) refers to Lahore, the district where the type locality is placed.

**Diagnosis:**—*Narcessea lahorensis* is different from its closest species *N. patouillardii* by having short stipe, up to 20 mm in height, greyish white in color, swollen at the base, dull yellowish orange center of the pileus, dimorphic basidia, hymenial cystidia partly utriform.

**Holotype:**—PAKISTAN. Punjab, Lahore, Allama Iqbal Hall, Boys Hostel no 3, (31°29'57.60"N, 74°18'33.86"E) 213 m a.s.l, January 28, 2021, *Muhammad Usman*, MU01-21 (LAH36395), GenBank: OK161241 (ITS) and OK161263 (LSU).

### Description

*Basidiomata* small.

*Pileus* 10–18 mm in diam., fleshy, plano-convex when mature, pruinose, covered with whitish floccose veil, pale gray (2.5YR 5/1) to light gray (10YR 7/1), surface rough, deeply plicate from margin to center, center not plicate and dull yellowish orange (10YR 7/4).

*Lamellae* deliquescent, free, close, with regular lamellulae of 1 – 2 tiers, thin, fragile, light brown (5YR 6/4) with brownish black edge (5YR 3/1).

*Stipe* 13 – 20 × 0.8 – 1.8 mm, central, cylindrical, tapering upwards, swollen at base, shiny, delicate, smooth, grayish white (HueN8/0). *Annulus* and *volva* absent.

*Odor* and *taste* not recorded.

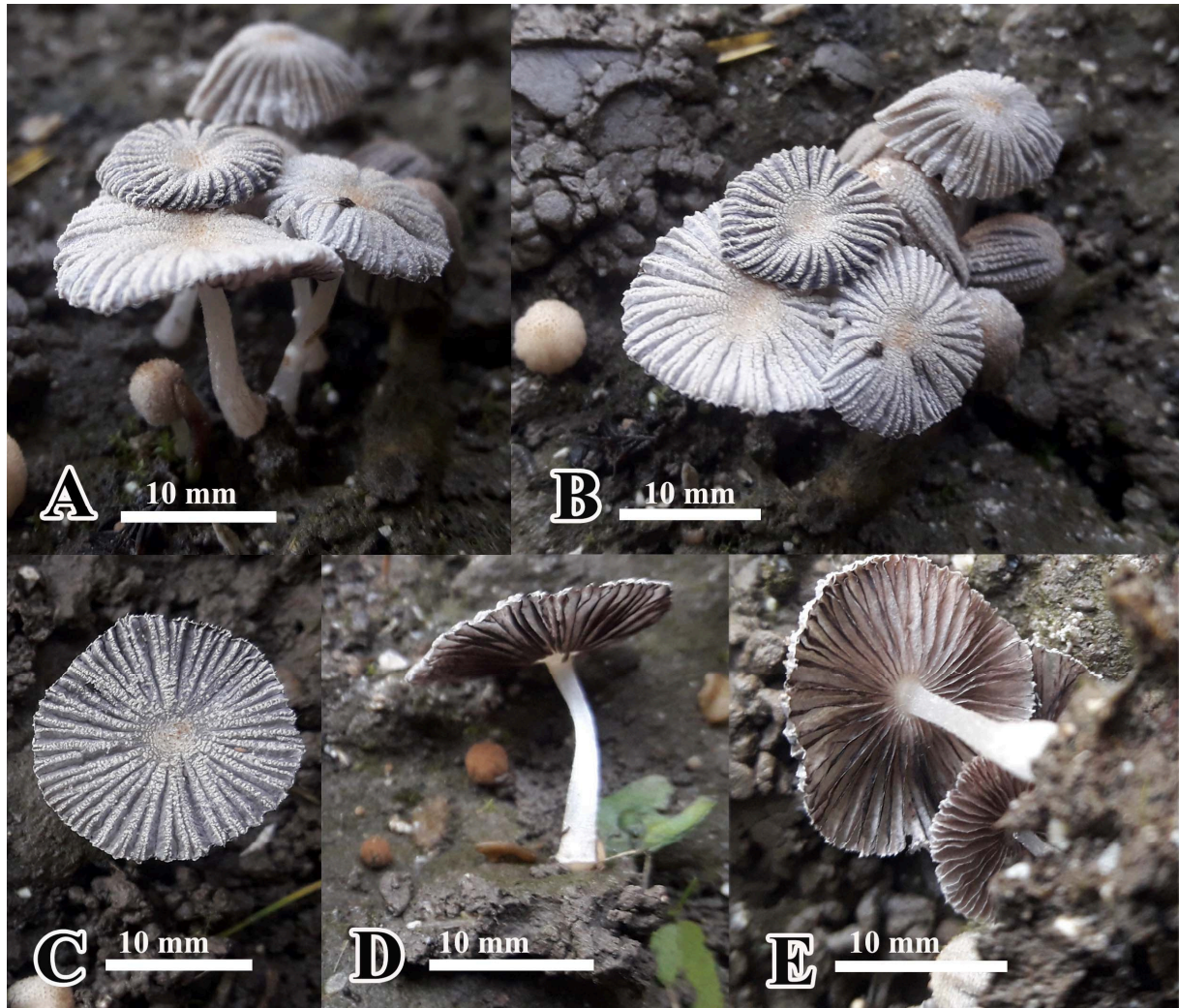


Fig. 1. A-E. Fresh basidiomata of *Narcissea lahorensis* (holotype)

M. Usman

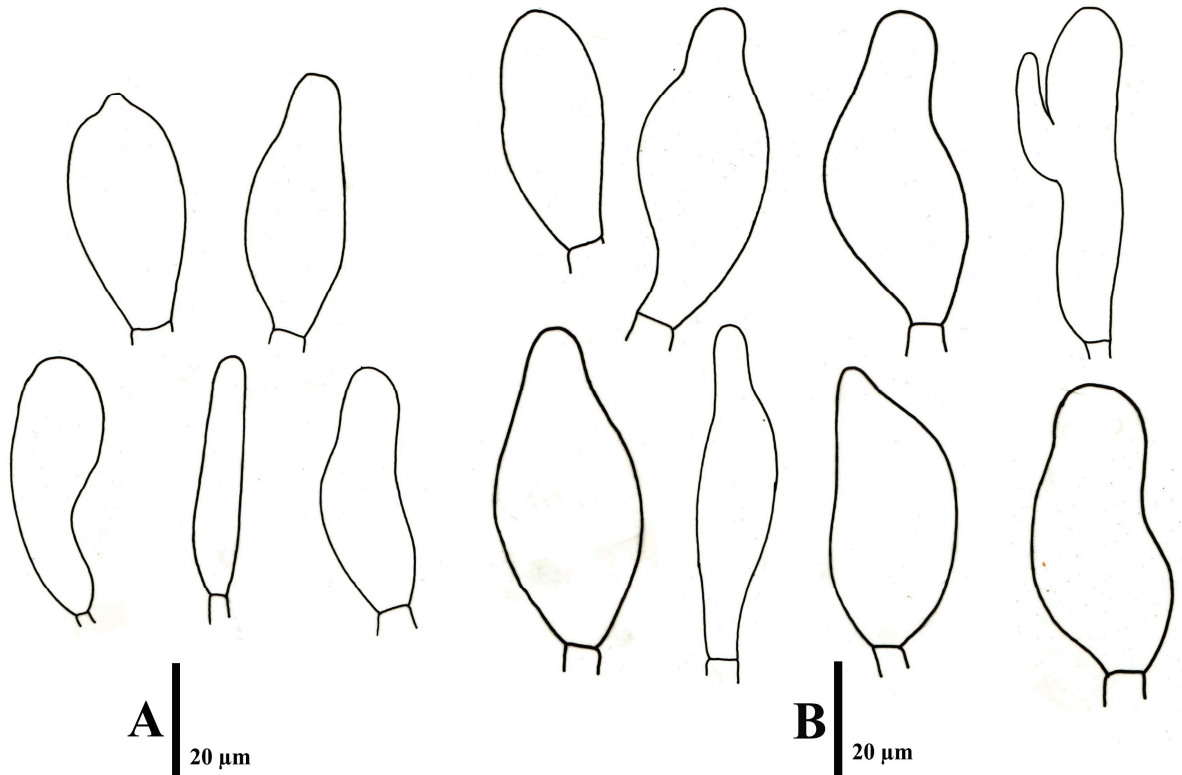


Fig. 2. Line drawings of microscopic elements of *Narcissea lahorensis* (holotype):  
A. cheilocystidia; B. pleurocystidia

M. Usman

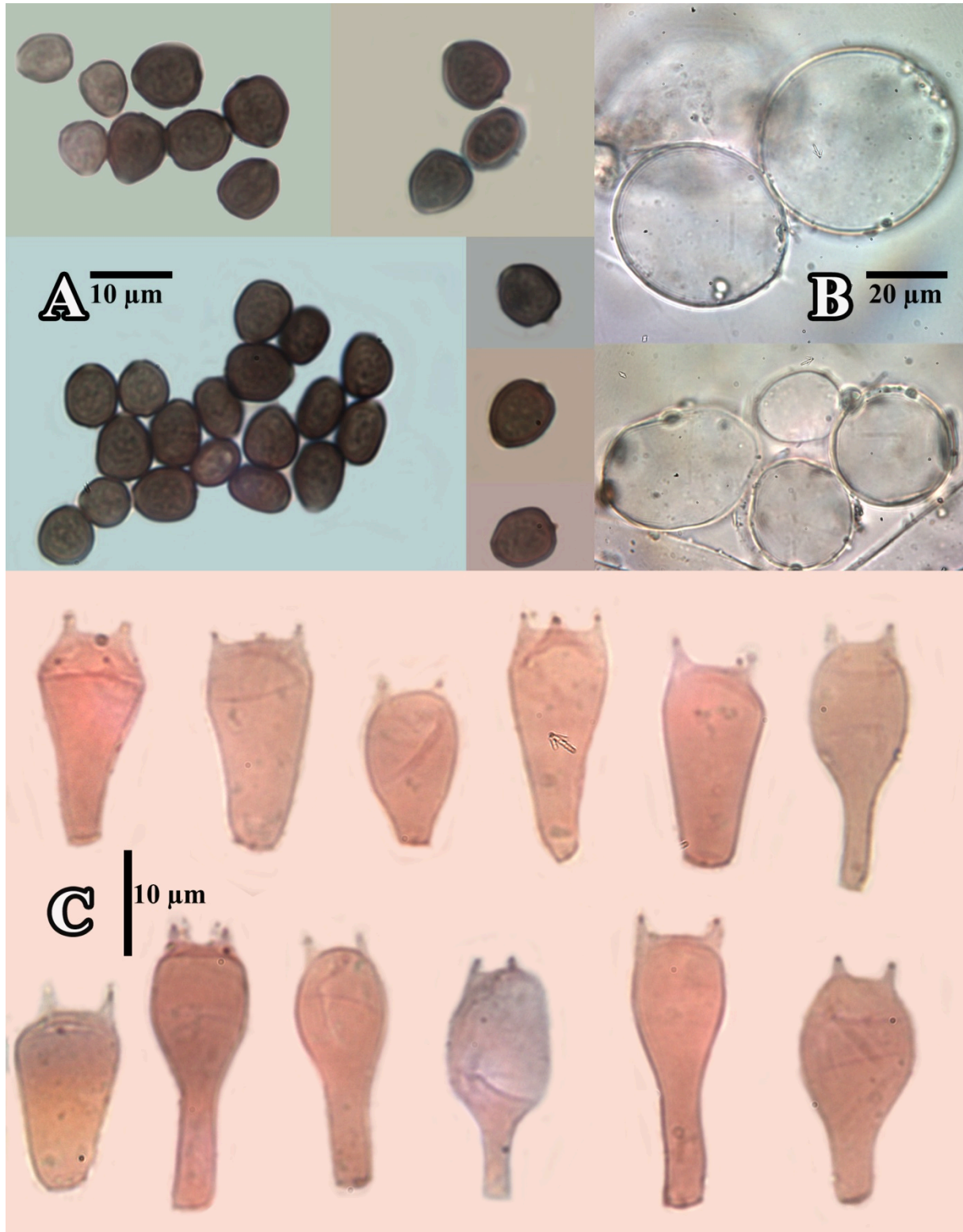


Fig. 2. A-G. *Narcissea lahorensis* (holotype): A. basidiospores; B.veil elements; C.basidia

M. Usman

*Basidiospores* [80/2/4], (6.1–) 7.6 – 9.3 (–9.8) × (5.1–) 6.2 – 8.1 (–8.7) μm, Q= 1.1 – 1.4, Q<sub>av</sub> = 1.3, limoniform to rectangular or sometimes almost heart-shaped in frontal view, oblong in profile and polar views, smooth, thick-walled, non-guttulate, with central germ pore, brownish black (7.5YR 3/1) to reddish brown (4/2).

*Basidia* 15.6 – 28.8 × 8.6 – 11.5 μm, hyaline, 4-spored (sometimes also 2-spored), dimorphic, short and long narrowly clavate to clavate.

*Cheilocystidia* 35.9 – 47.4 × 8.8 – 16.6 μm, polymorphic, some ovoid and cylindrical, others narrowly utriform to utriform, hyaline, thin-walled, oil droplets present.

*Pleurocystidia* 42.9 – 60.1 × 16.9 – 23.6 μm, partially like the cheilocystidia but larger, polymorphic, varying from utriform to pyriform, thin-walled, hyaline.

*Pileipellis* composed of hyphae 2.3 – 3.4 μm in width, branched, clamp connection absent, hyaline, thin walled.

Veil elements 25.10 – 47.05 µm in diam., globose to sub-globose, hyaline, thin-walled.

Stipitipellis composed of hyphae 3 – 7 µm in width, unbranched, clamp connection absent, hyaline, thin walled.

Habit and habitat:—Solitary to gregarious on moist soil near sanitary points, under a tree of *Mangifera indica* L. Basidiomata were collected during the winter season (January-February).

Additional specimen examined:—PAKISTAN. Punjab, Lahore, Hostel Road, (31°30'0.58"N, 74°18'32.79"E) 213 m a.s.l. February 5, 2021, *Muhammad Usman*, MU02-21 (LAH36970), GenBank: OK161242 (ITS) and OK161264 (LSU).

DISCUSSION

Recently, Wächter & Melzer (2020) have revised the classification of coprinoid fungi and erected new genera for better understanding of the family *Psathyrellaceae*. The newly proposed taxon belongs to the genus *Narcissea* which was represented by only two species so far, *N. patouillardii* and *N. cordispora*. Phylogenetically, the genus is different from its closest genera i.e. *Coprinellus* P. Karst. and *Tulosesus* Wächter & A. Melzer (Wächter & Melzer, 2020), the latter, however, considered a superfluous synonym of *Coprinellus* by Voto's online key ([www.ameronlus.it/chiavi\\_micologia.php](http://www.ameronlus.it/chiavi_micologia.php)). *Coprinellus* and *Tulosesus* morphologically also differ from *Narcissea* by truncate ellipsoid, obovoid to amygdaliform basidiospores and the absence of veil elements, respectively (Wächter & Melzer, 2020).

*N. lahorensis* has distinct features in comparison with other species of the genus, including a short stipe which is swollen at the base, and broader dimorphic basidia. Phylogenetically, most of the sequences included in the ITS analyses are obtained from soil samples via high-throughput sequencing (HTS) and directly submitted to the GenBank without any reference to a morpho-anatomical description and are known as dark sequences (Fig. 5 & Table 1). However, the sequence of the ITS region of *N. lahorensis* differs from the ITS sequences of *N. cordispora* (published by Örstadius, Ryberg & Larsson, 2015) and *N. patouillardii* (published by Nagy *et al.*, 2011) by 28 and 29 base pairs, respectively (Fig. 4).

*N. lahorensis* differs morphologically from the other species of the genus *Narcissea* by having a short stipe (13 – 20 mm) while both *N. patouillardii* and *N. cordispora* have longer stipe (up to 50 mm or more) (Uljé & Noordeloos, 1993; Uljé, 2005). Moreover, *N. cordispora* differs from *N. lahorensis* by larger spores (7.5 – 11.5 × 6.5 – 10.0 µm), a larger pileus (up to 25 mm diam. when expanded), and narrower basidia (7 – 10 µm broad) (Uljé & Noordeloos, 1993; Uljé, 2005). *N. lahorensis* is characterized by broad dimorphic basidia (15.6 – 28.8 × 8.6 – 11.5 µm), partly utriform pleurocystidia and polymorphic cheilocystidia (35.9 – 47.4 × 8.8 – 16.6 µm). *N. patouillardii* is also different from *N. lahorensis* by having ellipsoid to sub-globose cheilocystidia and pleurocystidia, up to 50 × 40 µm large (Uljé & Noordeloos, 1993; Uljé, 2005).

With respect to the habitat all these species also differ. *N. lahorensis* occurs on soil near sewage places while *N. cordispora* is recorded on dung of several animals, and *N. patouillardii* is reported as growing on vegetable debris (Uljé & Noordeloos, 1993; Vila & Rocabruna, 1996, 2002). This addition of *N. lahorensis* will increase the information about the genus *Narcissea* within the family *Psathyrellaceae*.

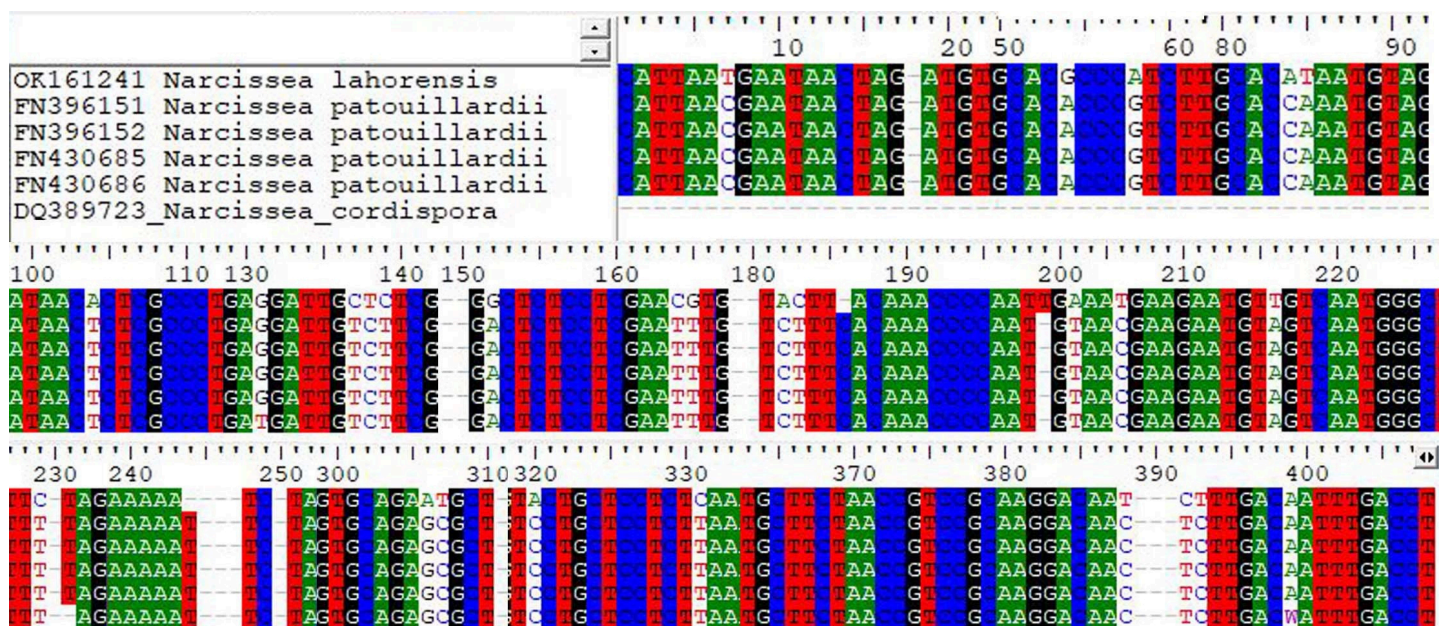
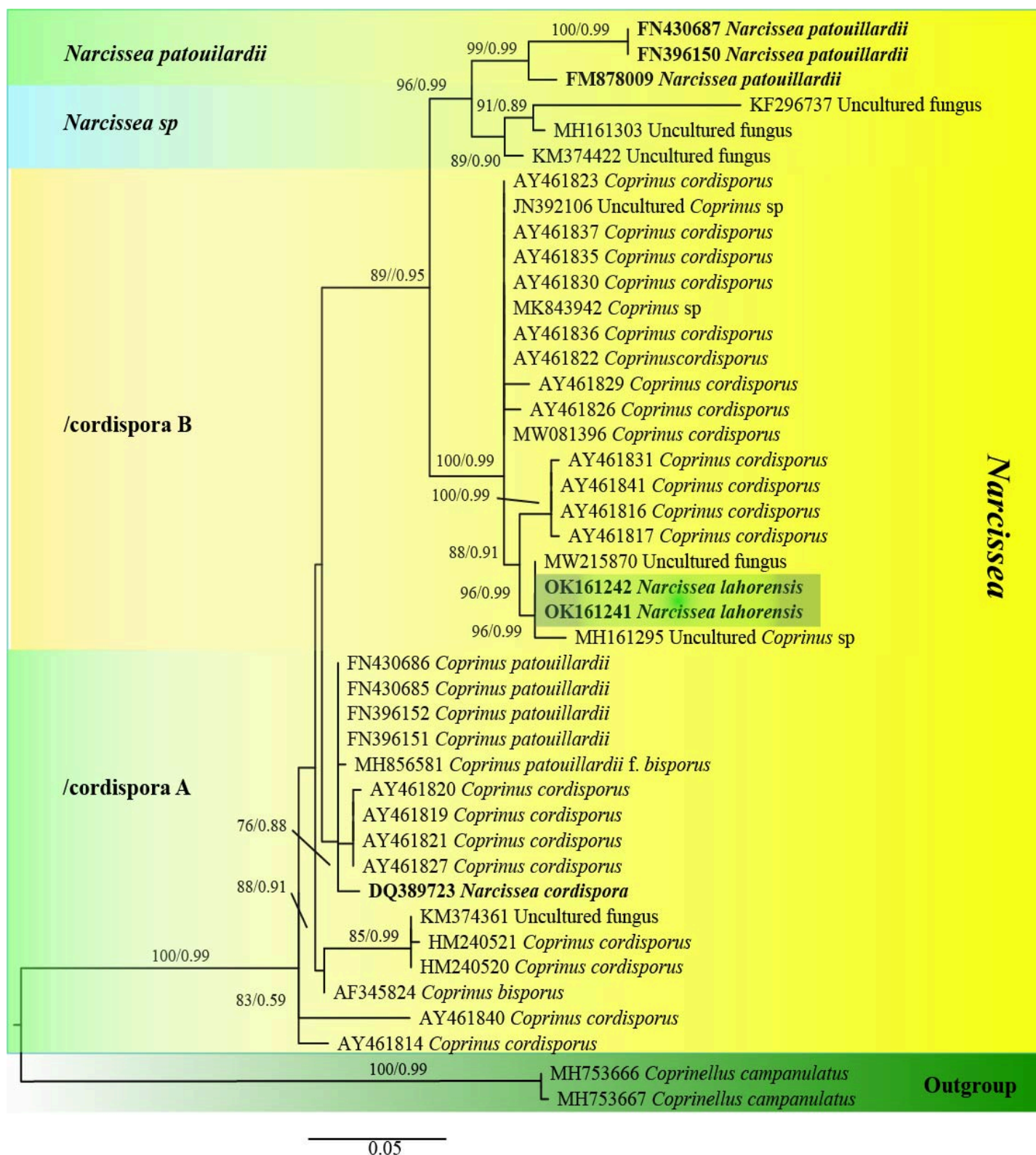


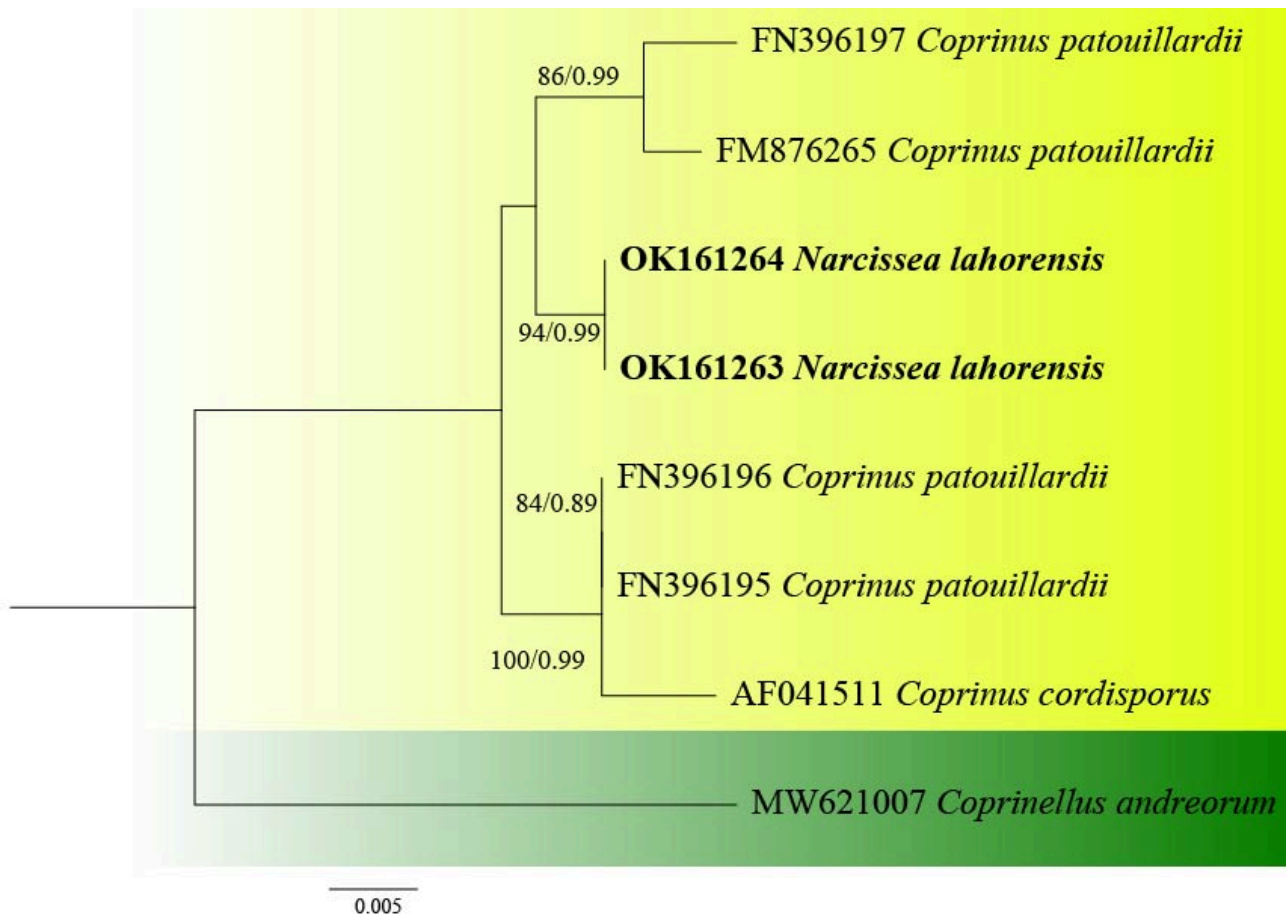
Fig. 4. Sequence key for *Narcissea lahorensis*, *N. patouillardii* and *N. cordispora* in Bioedit. Nucleotides differences along with positions in the final alignment of ITS dataset

Taxon	Voucher No.	GenBank	Accession	Reference
		ITS	LSU	
<i>Coprinus bisporus</i>	KACC49409	AF345824	-	Unpublished
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH2081	AY461830	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	5-F4	MW081396	-	Unpublished
<i>Coprinus cordisporus</i>	ROZ38	JN392106	-	Alvarado & Manjon (2013)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH2046	AY461823	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH1837	AY461822	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU MRK16	AY461837	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU MRK04	AY461835	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH2074B	AY461829	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH2071	AY461826	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH2128B	AY461831	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	L Ulje1100	AY461841	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH1084	AY461816	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH1702	AY461817	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH1813	AY461819	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH1815	AY461820	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH1829	AY461821	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH2073	AY461827	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	UBC F19670	HM240520	-	Unpublished
<i>Coprinus cordisporus</i>	CCCM:108	HM240521	-	Unpublished
<i>Coprinus cordisporus</i>	L Ulje1058	AY461840	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU DEH000	AY461814	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	SFSU MRK06	AY461836	-	Keirle et al. (2004)
<i>Coprinus cordisporus</i>	-	-	AF041511	Hopple & Vilgalys (1999)
<i>Coprinus patouillardii</i>	SZMC-NL-1685	FN396151	FN396195	Nagy et al. (2011)
<i>Coprinus patouillardii</i>	SZMC-NL-1685	FN430686	-	Nagy et al. (2011)
<i>Coprinus patouillardii</i>	SZMC-NL-1695	FN396152	FN396196	Nagy et al. (2011)
<i>Coprinus patouillardii</i>	SZMC-NL-1695	FN430685	-	Nagy et al. (2011)
<i>Coprinus patouillardii</i> f. <i>bisporus</i>	CBS 172.50	MH856581	-	Vu et al. (2019)
<i>Coprinus</i> sp	SFC 2978	MK843942	-	Unpublished
<i>Narcissea cordispora</i>	LO41-010	DQ389723	-	Larsson & Örstadius (2008)
<b><i>Narcissea lahorensis</i></b>	<b>LAH36395</b>	<b>OK161241</b>	<b>OK161263</b>	<b>This Study</b>
<b><i>Narcissea lahorensis</i></b>	<b>LAH36970</b>	<b>OK161242</b>	<b>OK161264</b>	<b>This Study</b>
<i>Narcissea patouillardii</i>	SZMC-NL-1684	FN396150	FN396197	Nagy et al. (2011)
<i>Narcissea patouillardii</i>	SZMC-NL-1684	FN430687	-	Nagy et al. (2011)
<i>Narcissea patouillardii</i>	SZMC-NL-1687	FM878009	FM876265	Nagy et al. (2011)
Uncultured <i>Coprinus</i> sp	K-5-16-41	MH161295	-	Jeszeová et al. (2018)
Uncultured fungus	3993_2328	MW215870	-	Marčiulyrienė et al. 2021
Uncultured fungus	2_NA6_P31_C13	KF296737	-	Timling et al. (2014)
Uncultured fungus	K-7-16-45	MH161303	-	Jeszeová et al. (2018)
Uncultured fungus	-	KM374422	-	Johnson et al. (2014)
Uncultured fungus	-	KM374361	-	Johnson et al. (2014)
<b>Outgroup</b>				
<i>Coprinellus campanulatus</i>	SH144T	MH753667	-	Hussain et al. (2018)
<i>Coprinellus campanulatus</i>	SHP144	MH753666	-	Hussain et al. (2018)
<i>Coprinellus andreoreum</i>	CS1247	-	MW62100	Sammut & Karich (2021)

**Table 1.** Fungal taxa, Voucher numbers, GenBank accession numbers and references of the sequences used in the phylogenetic analyses of ITS and LSU



**Fig. 5.** Phylogram generated from Maximum Likelihood (ML) analyses and Bayesian Inference (BI) method based on ITS sequence data representing *Narcissea lahorensis* and its related species. Bootstrap values >70% based on 1000 replicates for ML and for BI  $\geq 0.80$  are shown at the branches as ML/BI



**Fig. 6.** Phylogram generated from Maximum Likelihood (ML) analyses and Bayesian Inference (BI) method based on LSU sequence data representing *Narcissea lahorensis* and its related species. Bootstrap values >70% based on 1000 replicates for ML and for BI  $\geq 0.80$  are shown at the branches as ML/BI

## ACKNOWLEDGMENTS

We acknowledge the Higher Education Commission Pakistan for providing financial support under National Research Program for Universities project no. 20-3383/NRPU/R&D/HEC/14/184.

## REFERENCES

- Ahmad S, Iqbal SH, Khalid AN (1997). *Fungi of Pakistan*. Sultan Ahmad Mycological Society of Pakistan, Department of Botany, University of the Punjab, Quaid-e-Azam campus, Lahore.
- Alzohairy AM (2011). BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Biosciences* **2**(1): 60 – 61.
- Bruns TD (1995). Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil* **170**: 63 – 73. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02183055>
- Gardes M, Bruns TD (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* **2** (2): 113 – 118. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x>
- Gminder A (2010). In: Krieglsteiner GJ, Gminder A. *Die Großpilze Baden-Württembergs*, (Stuttgart) **5**: 650.
- Hussain S, Usman M, Afshan NS, Ahmad H, Khan J, Khalid AN (2018). The genus *Coprinellus* (*Basidiomycota*; *Agaricales*) in Pakistan with the description of four new species. *MycKeys* **39**: 41 – 61.
- Index Fungorum (2021) <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>, retrieved on July 20, 2021.
- Jeszeová L, Puškárová A, Bučková M, Kraková L, Grivalský T, Danko M, Pangallo D (2018). Microbial communities responsible for the degradation of poly (lactic acid)/poly (3-hydroxybutyrate) blend mulches in soil burial respirometric tests. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **34**(7): 1 – 12.
- Karsten PA (1881). *Hymenomycetes Fennici*, Pro Fauna et Flora Fennica, *Acta Societatis* **2**(1): 27.
- Keirle MR, Hemmes DE, Desjardin DE (2004). *Agaricales* of the Hawaiian Islands. 8. *Agaricaceae: Coprinus* and *Podaxis*; *Psathyrellaceae: Coprinopsis*, *Coprinellus* and *Parasola*. *Fungal Diversity* **15**(3): 33 – 124.
- Krieglsteiner GJ, Gminder A (2010). *Die Großpilze Baden-Württembergs*. Band 5: Ständerpilze: Blätterpilze III. Eugen Ulmer KG, Stuttgart.



- Marčiulynienė D, Marčiulynas A, Lynikienė J, Vaičiukynė M, Gedminas A, Menkis A (2021). DNA-Metabarcoding of Belowground Fungal Communities in Bare-Root Forest Nurseries: Focus on Different Tree Species. *Microorganisms* 9(1):150.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1 – 8. doi: <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>
- Munsell A (1994). Soil color charts, revised edition. Macbeth Division of Kollmorgen Instruments Corporation, New York.
- Nagy LG, Walther G, Hazi J, Vágvölgyi C, Papp T (2011). Understanding the evolutionary processes of fungal fruiting bodies: correlated evolution and divergence times in the *Psathyrellaceae*. *Systematic Biology* 60(3):303 – 317. doi: <https://doi.org/10.1093/sysbio/syr005>
- Örstadius L, Ryberg M, Larsson E (2015). Molecular phylogenetics and taxonomy in *Psathyrellaceae* (*Agaricales*) with focus on psathyrelloid species: introduction of three new genera and 18 new species. *Mycological Progress*. 14(5/25):1 – 42.
- Persoon CH (1797). Tentamen Dispositionis Methodicae Fungorum, (Lipsiae): 62.
- Rambaut A (2012). FigTree v1.4.2, available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>
- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67(5):901 – 904. doi: <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Sammut C, Karich A (2021). *Coprinellus andreorum*: a new species from Malta and South America. *Italian Journal of Mycology* 50:21 – 29. doi: <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/12445>
- Siddiqui R, Siddiqui S, Javid K, Akram M (2020). Estimation of rainwater harvesting potential and its utility in the educational institutes of Lahore using GIS techniques. *Pakistan Geographical Review* 75(1):1 – 9.
- Stamatakis A (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312 – 1313. doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Tanveer M, Ahmed SR, Aslam RW, Khalid MB, Ullah H, Aziz A, Abbas W, Mirza AI (2020). Assessment of irrigated land transformations in Lahore. *International Journal of Agriculture & Sustainable Development* 2(4):114 – 126.
- Tayyaba Q (2020). A systematic and phylogenetic study of gilled mushrooms of Lahore, Pakistan, PhD Dissertation, Institute of Botany, University of the Punjab, Lahore, Pakistan.
- Uljé CB, Noordeloos ME (1993). Studies in *Coprinus* III—*Coprinus* section *Veliformes*. Subdivision and revision of subsection *Nivei* emend. Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi 15(3):257 – 301.
- Uljé CB (2005). 1. *Coprinus Pers.* In: Noordeloos ME, Kuyper TW & Vellinga EC (eds). Flora Agaricina Neerlandica. Critical monographs on families of agarics and boleti occurring in the Netherlands 6:22 – 109.
- Usman M, Khalid AN (2020a). *Zhuliangomyces pakistanicus*: a new species of *Zhuliangomyces* (*Amanitaceae*: *Basidiomycota*) from Pakistan. *Phytotaxa* 443(2):198 – 206. doi: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.443.2.7>
- Usman M, Khalid AN (2020b). *Termitomyces acriumbonatus* sp. nov. (*Lyophyllaceae*, *Agaricales*) from Pakistan. *Phytotaxa* 477(2):217 – 228. doi: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.477.2.6>
- Vila J, Rocabrana A (1996). Aportación al conocimiento del género *Coprinus* Pers. en Cataluña, II. *Revista Catalana de Micologia* 19:73 – 90.
- Vila J, Rocabrana A (2002). Aportación al coneixement del gènere *Coprinus* Pers. a Catalunya. IV. *C. cardiasporus* Bender. *Revista Catalana de Micologia* 24:131 – 134.
- Wächter D, Melzer A (2020). Proposal for a subdivision of the family *Psathyrellaceae* based on a taxon-rich phylogenetic analysis with iterative multigene guide tree. *Mycological Progress* 19(11):1151 – 1265.
- Watling R, Richardson MJ (2010). Coprophilous fungi of the Falkland Islands. *Edinburgh Journal of Botany* 67(3):399 – 423.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Eds.) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York, pp 315 – 322.

## Comunicazione editoriale

La redazione ha il piacere di comunicare che col presente numero viene lanciata una rubrica intitolata “**Rubrica di micologia dai territori**” che ha lo scopo di accogliere lavori descrittivi in forma sintetica, non esaustiva come in un normale articolo, rappresentanti raccolte di funghi interessanti provenienti dal territorio italiano e prodotte da micologi anche appartenenti ad altri gruppi micologici.

I lavori potranno presentarsi sia come articoli in forma ridotta e sintetica, sia sotto forma di schede descrittive; molti micologi del nord est italiano conosceranno certamente lo schema delle schede descrittive prodotte per la **Federazione gruppi Veneti**, cui i micologi dello stesso **Gruppo Micologico e Naturalistico DLF Verona** contribuiscono da diversi anni, prima che la pandemia Covid ne bloccasse le attività ormai da un paio d’anni.

Nel caso in cui nelle schede descrittive inviateci siano presenti loghi di proprietà di altri gruppi e federazioni micologiche, sarà implicitamente considerata responsabilità dell’autore rispondere del permesso della loro apparizione e uso, all’interno e come parte integrante della scheda, nella rivista *Mycological Observations*.

A tale proposito accogliamo con piacere la disponibilità della neo eletta presidentessa della Federazione Gruppi Veneti Anna Marini, cui va il nostro caloroso benvenuto a augurio di buon lavoro, alla presenza del logo della Federazione in schede prodotte da membri della stessa e pubblicate nella nostra rivista.

Affianco a lavori approfonditi di respiro internazionale, la redazione dà quindi il benvenuto alla sottomissione di pubblicazioni a chiunque voglia cimentarsi con descrizioni “leggere” nel mondo della micologia.



SCHEDA N°

ORDINE Tricholomatales

GENERE <i>Hydropus</i>	SPECIE <i>mediterraneus</i>	AUTORE Pacione & Lalli	
DATA DI RACCOLTA 15.11.2020	LUOGO DI RACC. Porto Caleri	COMUNE Rosolina	PROV. RO
ALTITUDINE S.L.M. 0.5 m	I.G.M. 169-I	RACCOLITORE Vitaliano Milanese	

## HABITAT:

- PRATERBOSI                       ORTI E GIARDINI                       MARGINI DI STRADA  
 TERRENO NUDO                       TERRENO SABBIOSO                       ARENILE  
 TORBIERA                       TERRENO COLTIVATO A  
 ARGINE DI FIUME                       LUOGO BRUCIATO                       BOSCO SUBALPINO

BOSCO DI :

- DENTRO AL BOSCO                       AI MARGINI DEL BOSCO                       IN RADURE  
 SU LEGNO                       VIVO                       MORTO                      DI

## ESPOSIZIONE:

- ASSOLATA                       OMBROSA                       MEDIA

## UMIDITA' DEL TERRENO

- ACQUITRINOSO                       MOLTO UMIDO                       UMIDO                       ASCIUTTO                       SECCO

VEGETAZIONE CIRCOSTANTE : Ginepro.

NOTE : Rinvenuti due gruppi di una decina di esemplari su sabbia in prossimità di Ginepro.

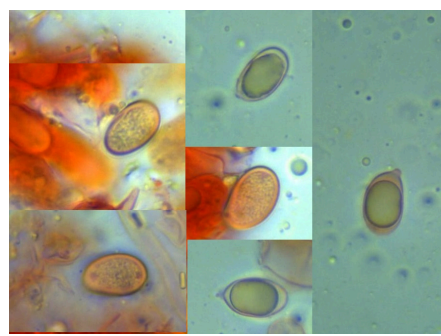
MICROSCOPIA: Spore ellissoidali, apicolate, lisce, con grossa guttula centrale, 11.1-13.5 x 6.8-9.3 µ.

BIBLIOGRAFIA : MONTI G., GORRERI L., MARCHETTI M., FRANCHI P. – FUNGHII DI AMBIENTI DUNALI

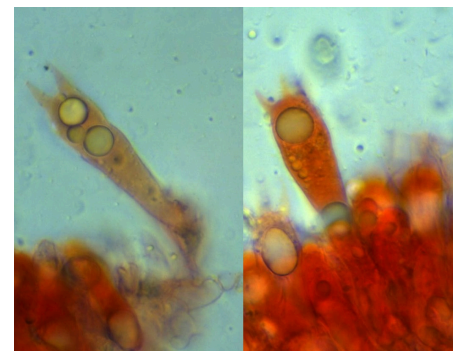
DETERMINATORE Vitaliano Milanese

RILIEVI EFFETTUATI SU REPERTI  FRESCHI                       SECCHI

CARPORI



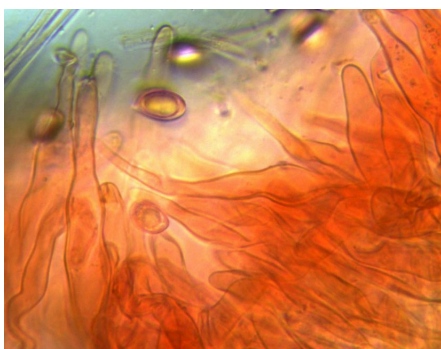
SPORE



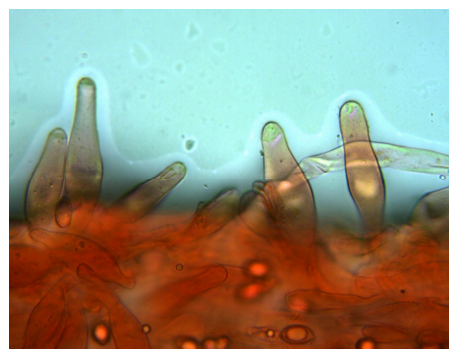
BASIDI



PLEUROCISTIDI



CAULOCISTIDI



CISTIDI [INCROSTAZIONI]



#### DESCRIZIONE (ASPETTI CARATTERIZZANTI)

**Pileo** appianato-convesso, con depressione ombelicale, di circa 2.5-3 cm di diametro; cuticola liscia, viscosa (granuli di sabbia attaccati), di colore bruno-arancio, più scura nella regione ombelicale; orlo talora striato per trasparenza, ricurvo.

**Lamelle** decorrenti, spaziate, spesse, con brevi lamellule, di colore bianco-crema; filo intero.

**Stipite** cilindrico, fibroso, leggermente allargato alla base, con colore al cappello con eccezione della parte apicali più chiara; radicante.

**Carne** biancastra; odore e sapore non significativi.

**Microscopia** Spore ellissoidali, apicolate, lisce, ialine, con grossa guttula centrale, di 11.1-(12.47)-13.5 x 6.8-(8.08)-9.3  $\mu\text{m}$ , con Q: 1.27-(1.57)-1.71; basidi cilindrico-clavati, tetrasporici, intorno ai 50.0 x 12.5  $\mu\text{m}$ ; pleuro e cheilocistidi similari (i pleurocistidi più lunghi), da fusiformi a ventricoli, 68.0-138.0 x 13.4-21.7  $\mu\text{m}$ ; pileocistidi con apice allungato.