

## 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 retroduali 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 tricotoderma 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. *salmonophyllus* (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. jubilai* (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.

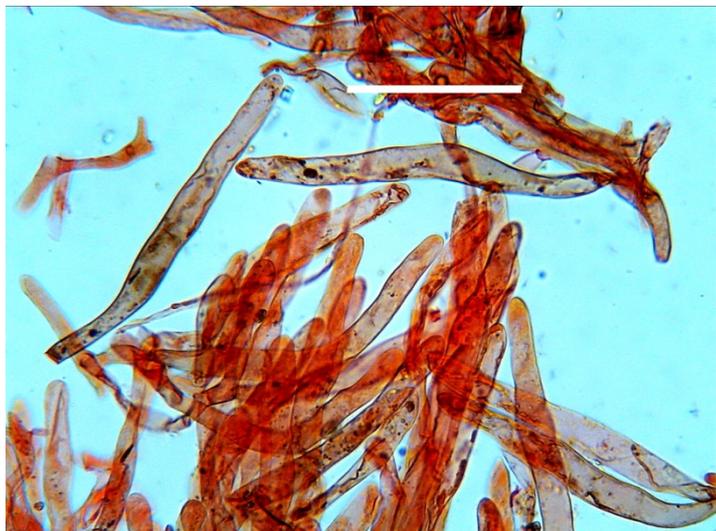
**Anello** costituito da ife corte 40 – 80 × 7 – 9 μm, debolmente pigmentate nella parete, con ridotte manifestazioni di necropigmento.

**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.

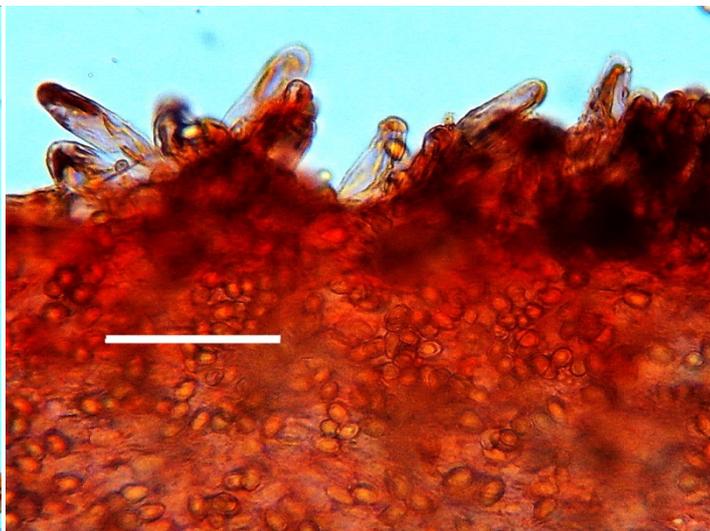
**Giunti a fibbia** assenti.



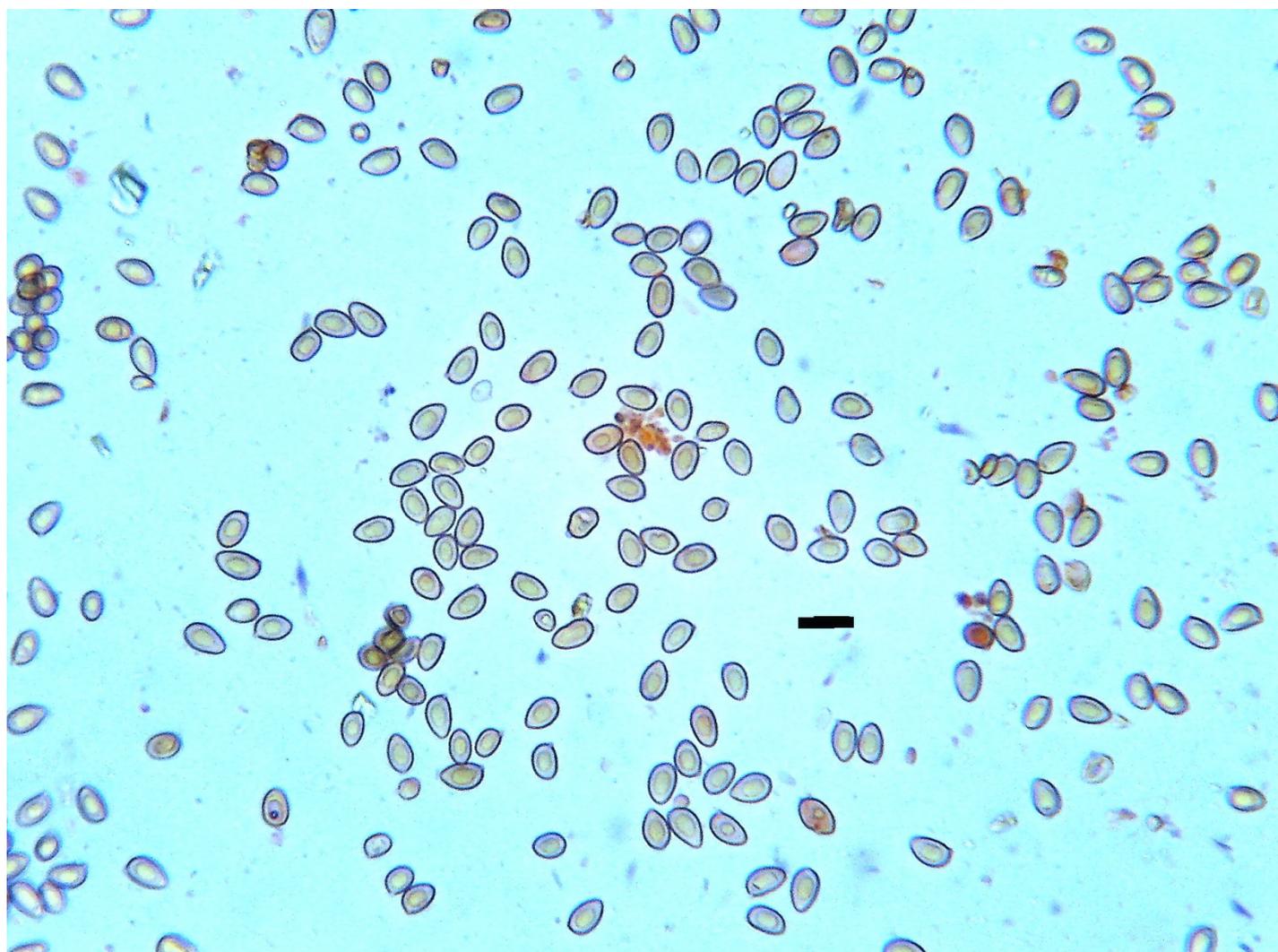
*L. aurantiovergens*. Rivestimento pileico



*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 typus 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 typus 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 essiccamento.

**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.

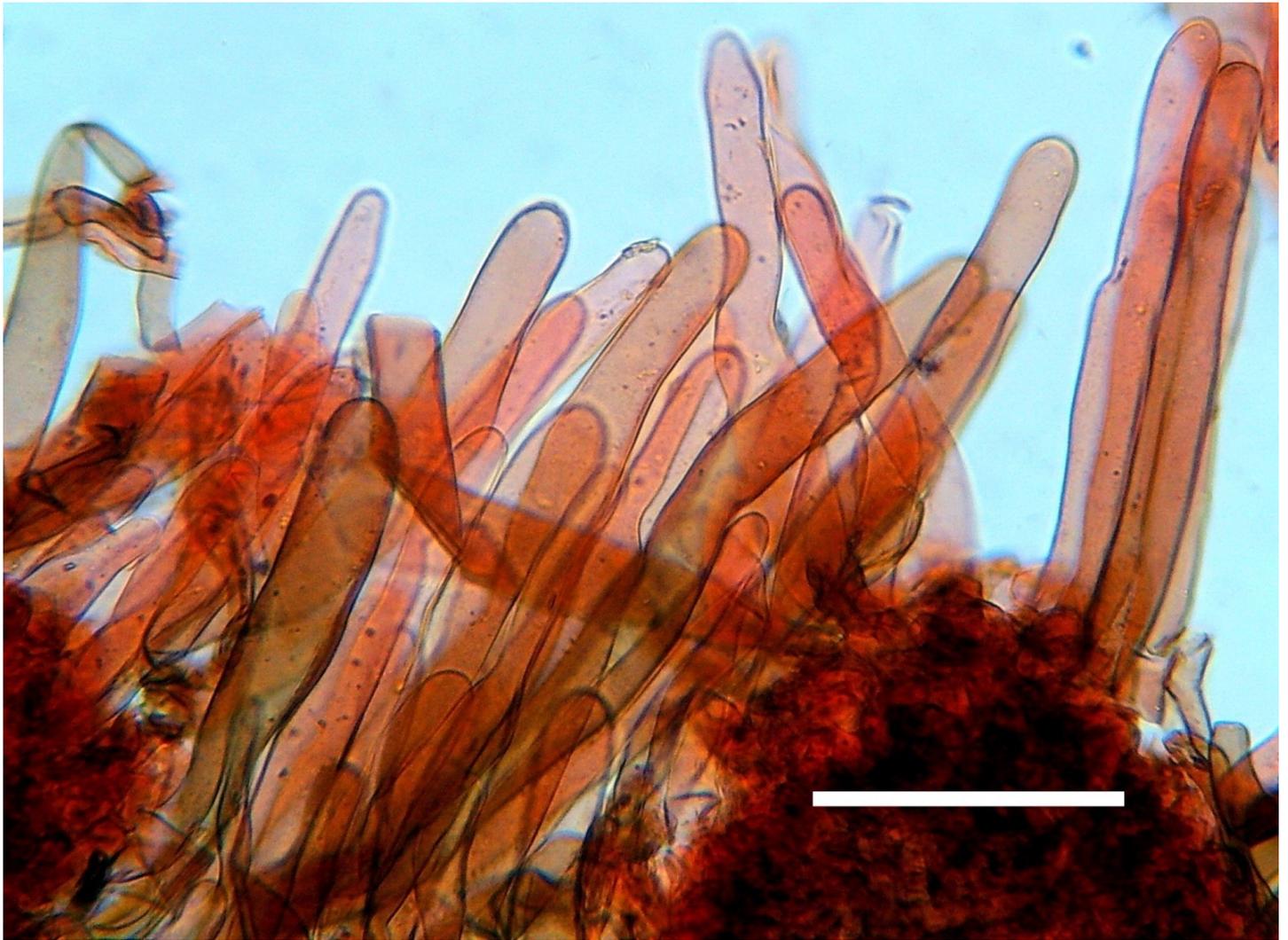
**Carne:** da bianca a biancastra per poi virare, nel tempo, al rossastro ed infine al bruno scuro. Reazione verdastra con le soluzioni ammoniacali.

**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.

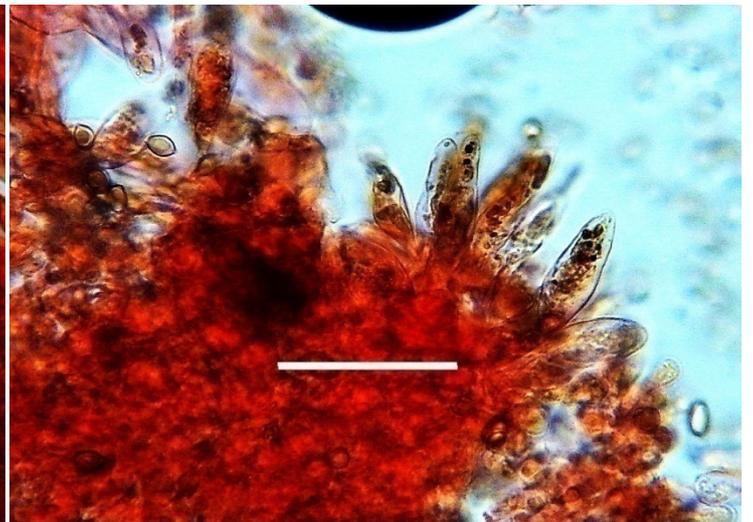
**Trama imenoforale:** con ife di tipo subcellulare moderatamente allungate, di diametro massimo fino a 18 µm.



*L. pseudopilatianus*. Rivestimento pileico



*L. pseudopilatianus*. Rivestimento pileico



*L. pseudopilatianus*. Cheilocistidi

**Cheilocistidi:** 30 – 65 × (10) 11 – 16 (20)  $\mu\text{m}$  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.

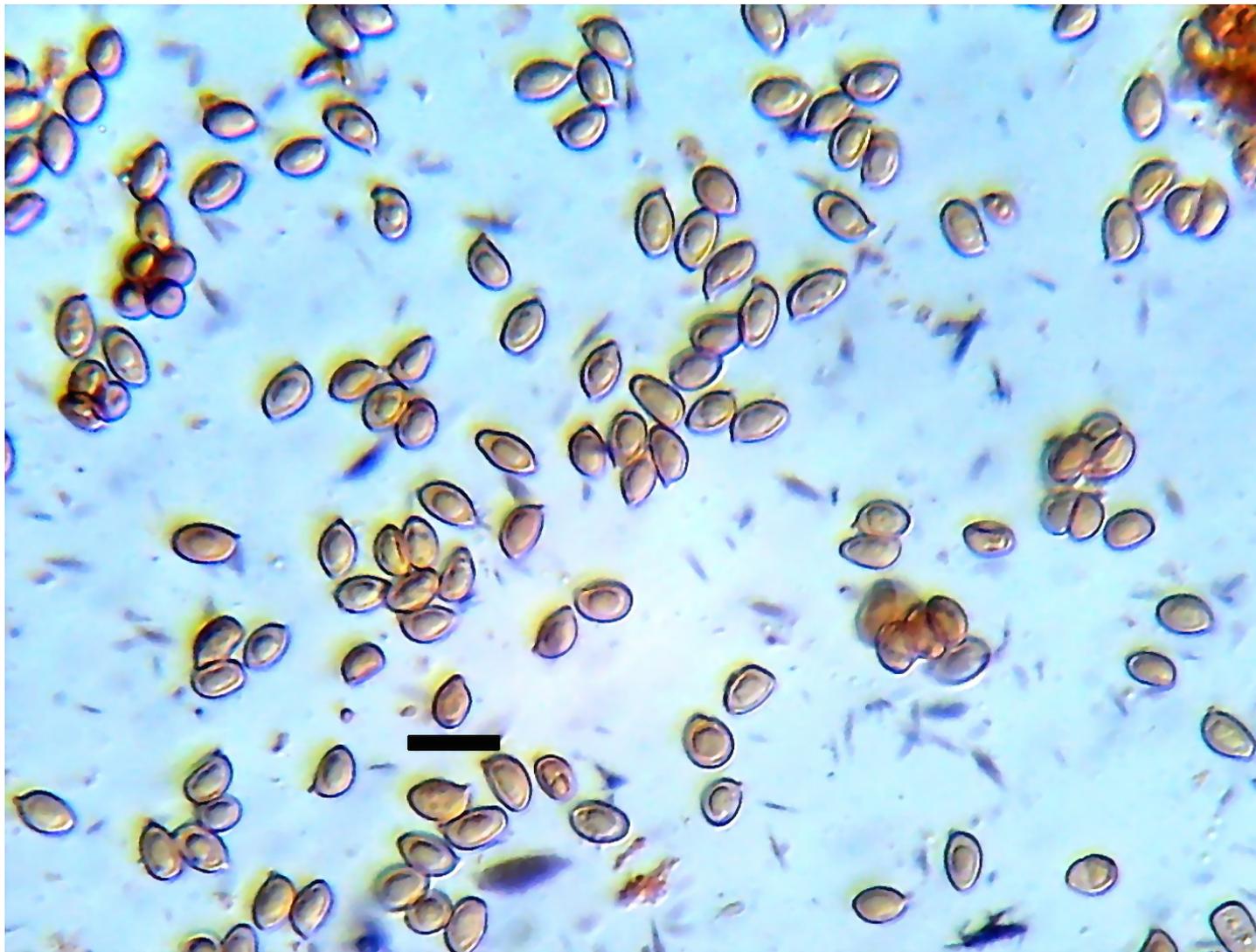
**Pleurocistidi:** non riscontrati.

**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 similari 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.

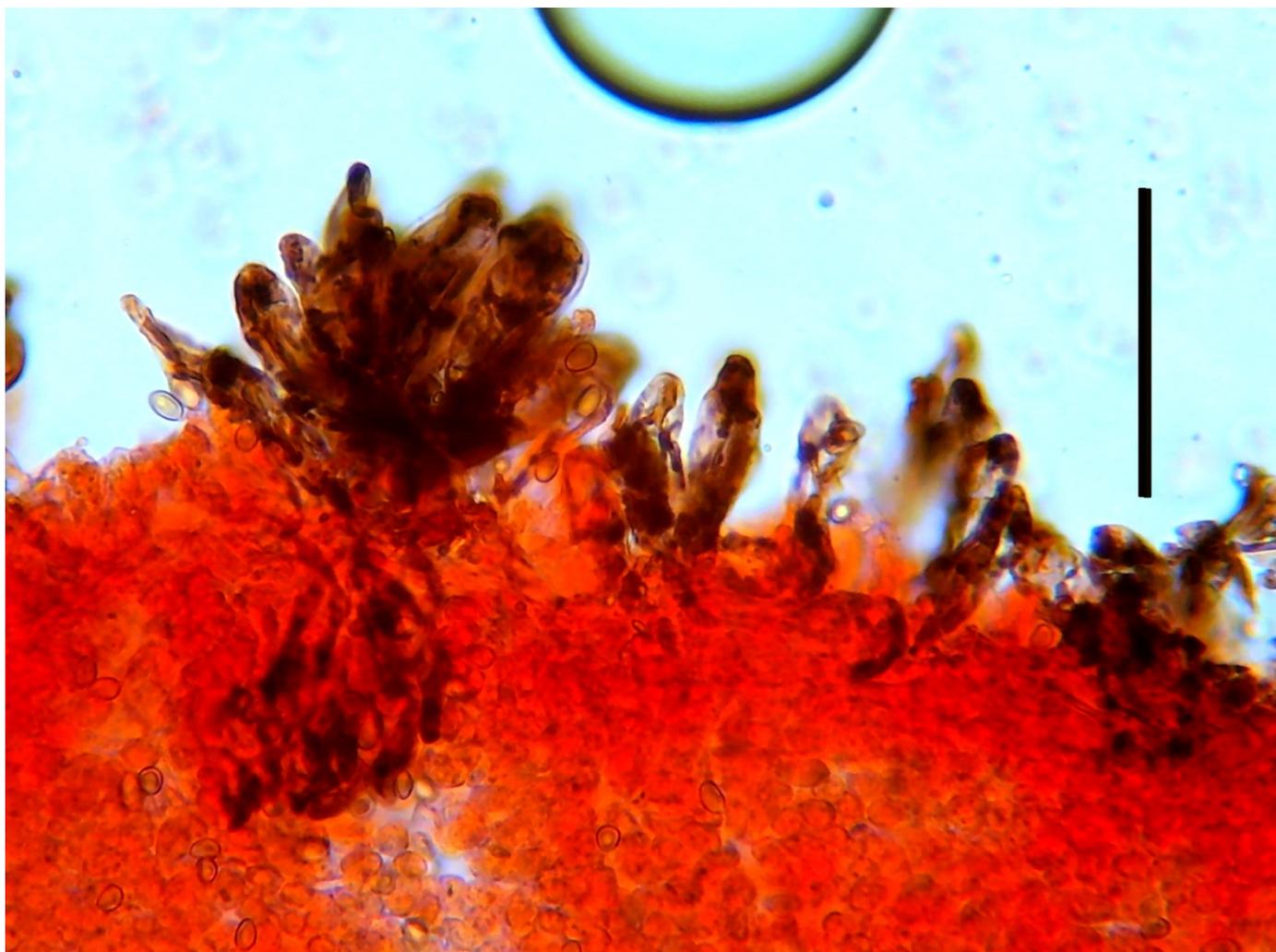
**Carne:** da biancastra a bianco-avorio, tendente autonomamente a virare verso il rosso-vinoso per poi imbrunire con l'essiccamento; non possiede la reazione retrograda osservata nel *typus* di *L. aurantiovergens*. Odore subnullo o fungino. Sapore insignificante.

**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-cilindranei 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.

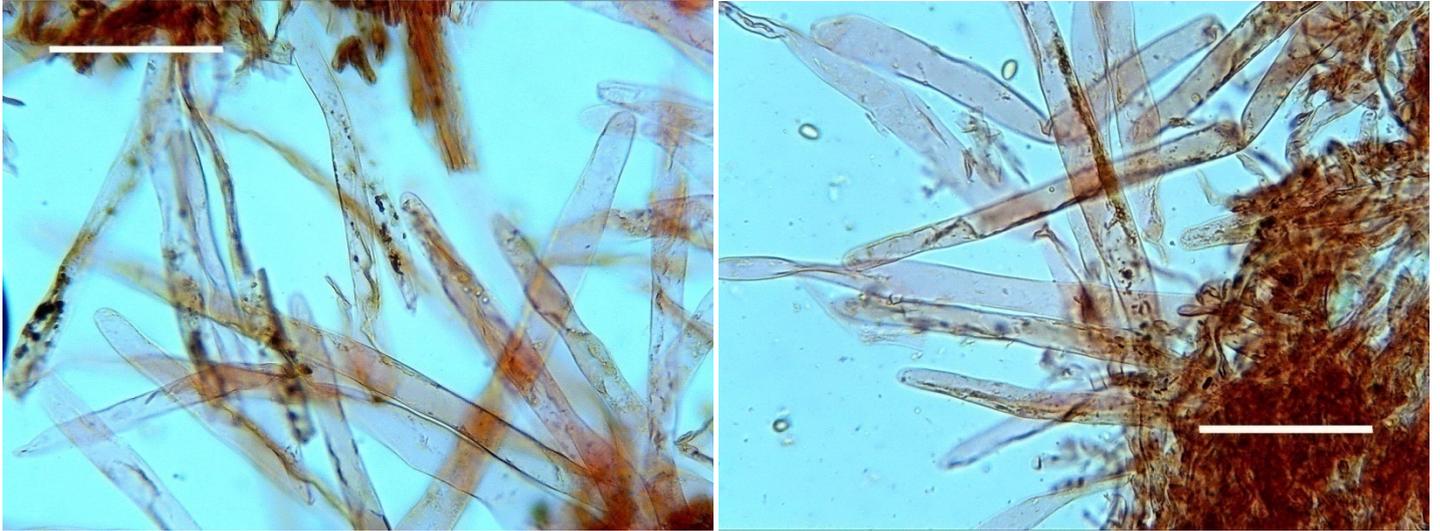


*L. cupresseoides*. Cheilocistidi

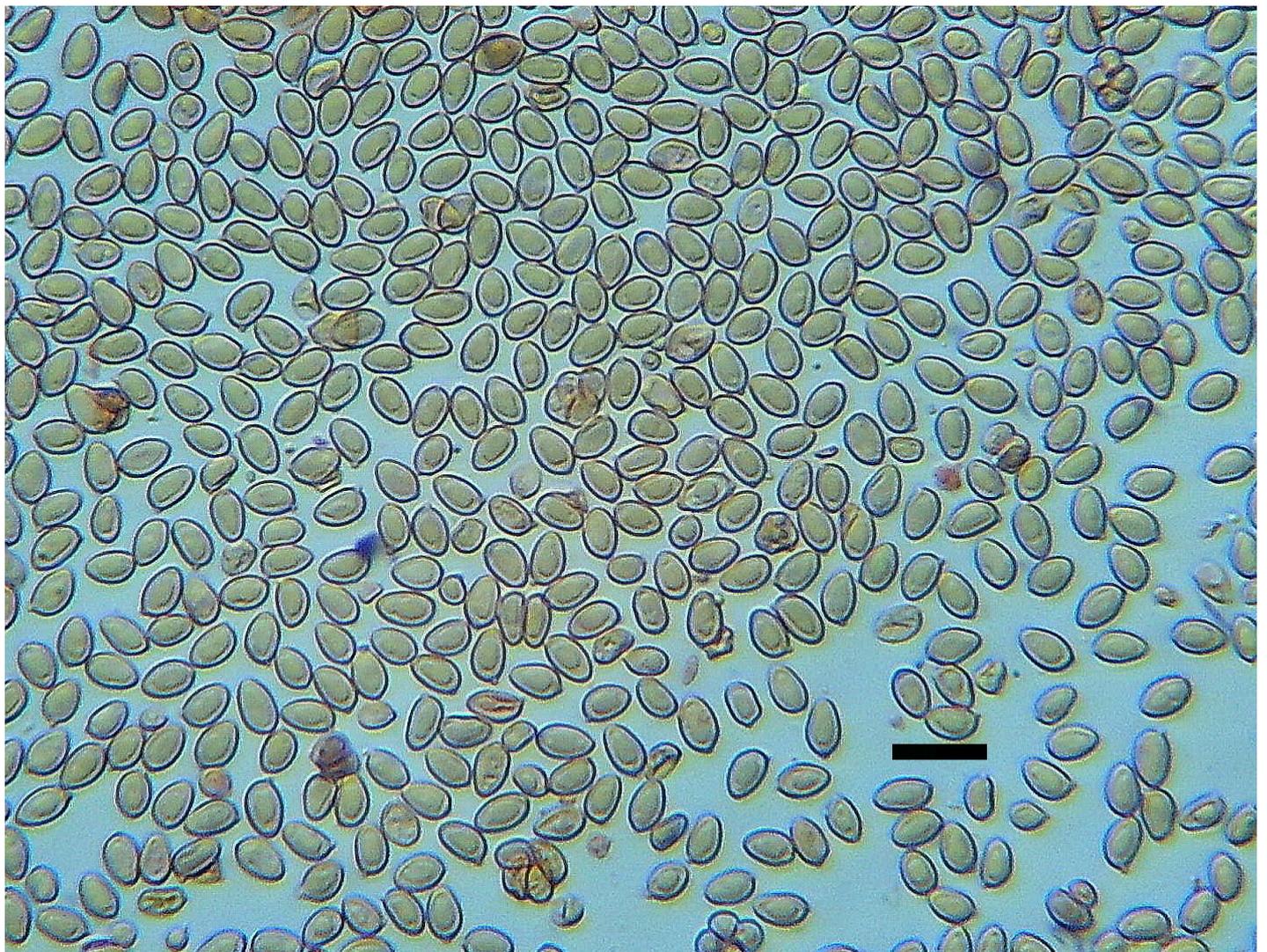
**Pleurocistidi:** non riscontrati.

**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*.

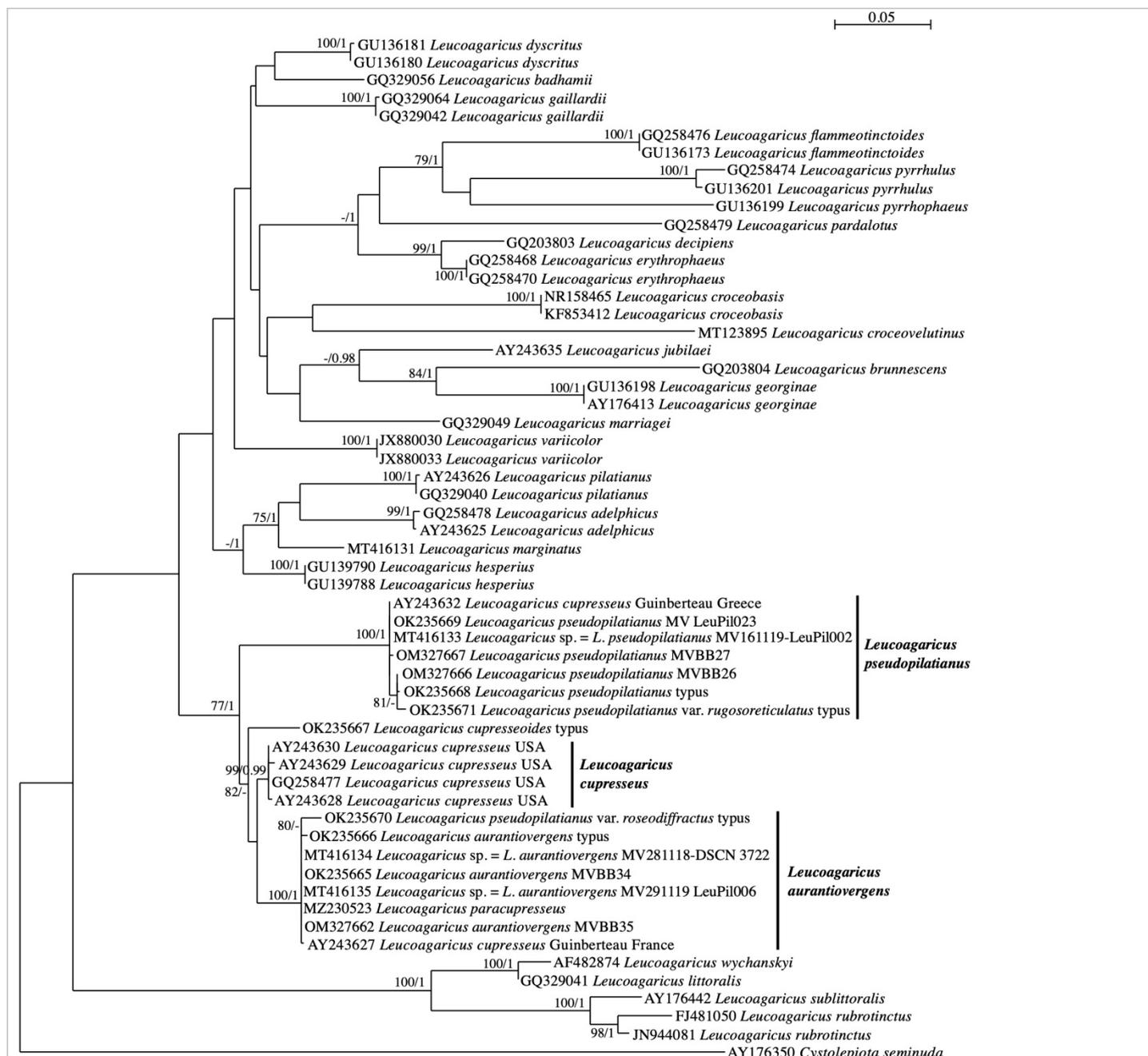
La presenza in *L. cupresseoides* di residui velari, seppure modesti, potrebbe accomunare quest'ultimo con le interpretazioni, fornite da Priou et al. (1995) nonché da Bizzi & Zecchin (2003), di *L. gaillardii* ma le sequenze molecolari risultano diverse e con un basso grado di similarità (% pari a 89.06–89.86%) 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/>