

Un nuovo ritrovamento di *Leucoagaricus brunneocingulatus*

(English version on page 8)

Vincenzo Migliozi^{1*}, Giuseppe Donato²

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

²Via Nomentana 861 R, I-00137 Roma – email gdonato01@libero.it

*Corresponding author: vincenzomigliozi@alice.it

Parole chiave:

Agaricomycetidae, *Lepiotaceae*,
Leucoagaricus, *L. brunneocingulatus*,
sequenze ITS, tassonomia, Italia

Riassunto: Gli autori descrivono *Leucoagaricus brunneocingulatus* basandosi su due distinte raccolte realizzate nel territorio del Comune di Cerveteri (Roma). Vengono discussi i rapporti con altre specie della sezione *Leucoagaricus*. Viene altresì presentata l'analisi filogenetica basata sul marcatore ITS per la quale allo stato attuale delle conoscenze non risulta presente alcuna sequenza della specie in esame.

INTRODUZIONE

Lo spunto per l'elaborazione di queste note deriva dalla personale convinzione di aver realizzato un nuovo ritrovamento a distanza di trenta anni di una specie estremamente rara quale è *Leucoagaricus brunneocingulatus*. Negli ultimi decenni, dopo la descrizione effettuata da Migliozi & Perrone (1991), questa entità non è stata più segnalata né in GenBank sono stati inseriti dati con cui fare comparazioni. La possibilità di presentare una sequenza diversa da quelle relative a *L. tener* (P.D. Orton) Bon e a *L. rhodelephantinus* Boisselet & Eyssart. è stata per noi un ulteriore stimolo per un approfondimento dell'argomento.

MATERIALI E METODI

I basidiomi sono stati fotografati in habitat tramite fotocamera digitale Nikon modello Colpix 4500. La descrizione macroscopica è stata formulata osservando esemplari freschi. L'analisi della microscopia è stata realizzata su materiale sia fresco sia essiccato, trattato con Rosso Congo, lavato più volte ed infine osservato per le descrizioni e le fotografie dei caratteri microscopici. Il materiale essiccato è stato preventivamente reidratato con acqua distillata.

Per le immagini di microscopia, tutte eseguite da V. Migliozi, si è fatto uso di un microscopio biologico trinoculare AmScope T490B, supportato da una videocamera elettronica digitale MC500 e di un microscopio binoculare Zeiss Lab16. Entrambe le strutture sono dotate di ottiche apocromatiche 20x, 40x, 100x ed oculari 10x.

I risultati delle misurazioni sporiali, effettuate su almeno 60 elementi per ciascuna raccolta, sono riportati nella forma a due valori che rappresentano l'intervallo osservato ed espressi con la formula "minimo – massimo" con, tra parentesi, i valori considerati eccezionali o fuori norma. Il valore della barra nelle foto di microscopia è 10 µm per le spore, 50 µm per gli altri caratteri.

Il materiale essiccato è depositato nell'erbario privato di uno degli autori (M.V.).

La sequenza è depositata in GenBank con il numero di registrazione OM971829. Il DNA è stato estratto dal laboratorio Alvalab di Oviedo (Spagna) secondo la metodica standardizzata "DNA analysis of biodiversity" verificabile in <http://www.alvalab.es/>.





TASSONOMIA

Leucoagaricus brunneocingulatus (P.D. Orton) Bon
Documents Mycologiques 6(24): 44 (1976)

Basionimo: *Lepiota brunneocingulata* P.D. Orton. *Trans Br. mycol. Soc.* 43 (2): 282. 1960

non *Leucoagaricus brunneocingulatus* sensu Zuccherelli (2006) = *Leucoagaricus* sp.

Mycobank: 316772

GenBank: OM971829

Posizione sistematica: Regno *Fungi* R.T. Moore, Sottoregno *Dicarya* Hibbett, T.Y. James & Vilgalys, Divisione *Basidiomycota* R.T. Moore, Sottodivisione *Agaricomycotina* Doweld, Classe *Agaricomycetes* Doweld, Sottoclasse *Agaricomycetidae* Parmasto, Ordine *Agaricales* Underw., Famiglia *Agaricaceae* Chevall., Genere *Leucoagaricus* Locq. ex Singer, Sezione *Leucoagaricus*.

Diagnosi originale

Pileus 14-24 mm, e convexo expansus vel postremo leviter depressus, vulgo lato obtuse umbonatus, rufo-brunneus vel ferrugineus-cacainus interdum ad discum obscure brunneus vel cacainus, primo totus minute tomentosus-squamulosus, ad discum aut fere glaber aut velutino-tomentosus, dein ad externam partem squamulis cacainis adpressis vel leviter revolutis carne albida exposita obtectus, ad marginem lamellas excedens et interdum excoriatus. Lamellae leberae, remotae, a stipite collario cartilagineo separatae, ventricosae, ex albo albidae vel leviter cremae, confertae, ad aciem integrae vel sub lente minutissime albo-denticulatae. Stipes 15-27 / 1½-3 mm (ad basim 4-6), sursum attenuatus ad basim incrassatus vel leviter bulbosus, albus dein supra anulum albido-flocculosus et infra anulum albidus vel cacaino-tinctus, subtiliter serico-sriatus, e farcto anguste cavus; anulus membranaceus distinctus, magnus, < 8mm latus, infundibuliformis dein superus, supra albus leviter flocculoso infra interdum squamulis paucis eis pilei similibus obtectus, ad marginem interdum flocculoso-laceratus vel squamulosus. Caro alba, sub cuticola ad discum pilei et ad basim stipitis cacaino-tincta, juxta lamellas, in collario et in cortice stipitis colore cornus tincta. Odor nullus. Sporae ellipsoideae vel leviter amygdaliformes, 5-7½ / 3½-4 µ, in liquore Melzerio rubro brunneae. Basidia 4-sporigera. Cellulae steriles aciei lamellarum clavate, ± acute fusiformes vel leviter utrifformes, 20-52 / 7-14 µ. Cystidia nulla. Cellulae ultimae hypharum squamularum pilei fusiforme-cylindraceae vel ad apicem fere acutae, vulgo ad basim flexuosae, rufobrunneo-vacuolatae interdum sparse obscurae granulatae, 80-250 / 7-20 µ; cellulae inferae breviores, cylindricae vel leviter curvatae interdum ramosae, hialinae vel incrustato-pigmentatae, 20-50 / 3-7 µ; cellulae clavatae inter eas nullae, hyphas fibulatas non vidi. Ad terram, Kenley Bottom, Saxton, Som., 29 Oct. 1958 (legit Mrs. E. Marriage, typus in Herb. Kew.). Annulo distincto, coloribus rufobrunneis, characteribus cellularum squamularum pilei, sporis insignis.

Iconografia selezionata:

- Migliozzi & Perrone (1991);
- Bon (1993) Pl. 4 M;
- Candusso (1990) (sub nomen *Leucoagaricus marriagei*).

Bibliografia selezionata:

- Orton (1960);
- Migliozzi & Perrone (1991).

Habitat e raccolte studiate:

- Raccolta M.V. AA04.1 (= M.V. 17.0917) del 16.12.1917 realizzata nel bosco della Macchia della Signora, Comune di Cerveteri (Roma), sotto *Quercus ilex* e macchia mediterranea, legit V. Migliozzi, GenBank OM971829 (=ALV25162). Il filogramma contenente la sequenza è in Fig. 1.
- Raccolta M.V. AA04.2 (= M.V. 17.0930) a distanza di cento metri dalla raccolta precedente nello stesso giorno e nello stesso habitat.

Caratteri macroscopici

Capello: (15) 18 – 28 mm, inizialmente convesso poi da espanso a piano con un modesto ma largo umbone al disco. La superficie pileica, compatta al disco, tende a frammentarsi in squamule particolarmente minute a partire dalla mediana fino al margine, sono appressate e solamente al margine tendono moderatamente a rialzarsi lasciando intravedere il sottostante fondo biancastro. Le squamette e la superficie pileica possiedono una colorazione bruno-marrone con una dominante che al margine assume colorazione marrone-arancione mentre nella zona discale ha tonalità nettamente marroni-rossastre. Negli esemplari maturi, esclusivamente al margine, si osservano tonalità chiare ma rossastre. Il disco rimane sempre di colore bruno-marrone.

Lamelle: libere al gambo, da bianche a debolmente crema, subcollariate, mediamente fitte. Il filo è concolore.

Gambo: (20) 25 – 40 (50) × 3 – 4.5 mm, cilindrico, leggermente ingrossato nella parte basale, fino ad 8 mm. Bianco nella parte mediana e superiore, si colora in bruno in quella inferiore; per manipolazione la superficie del gambo assume un'ulteriore pigmentazione bruna; è presente un anello supero, di tipo membranaceo ma facilmente caduco, quasi sempre appeso al margine

pileico se non al gambo stesso. Ad un esame attento ed immediato si nota che l'anello presenta una superficie colorata in bruno sulla faccia superiore.

Carne: priva di odore e sapore particolari, da biancastra a crema a maturità. Nessuna reazione per trattamento con soluzioni acquose ammoniacali (NH_4OH).

Caratteri microscopici

Spore: $5.5 - 7.0$ (7.4) \times $3.5 - 4.0$ μm , da ellittiche a ellisso-subamigdaliformi, con apicolo poco pronunciato e parete moderatamente spessa, ialine, destrinoidi, metacromatiche in blu di cresile, prive di poro germinativo.

Basidi: $(18) 20 - 26 \times 5 - 7$ μm , tetrasporici, claviformi, con sterigmi lunghi $2.0 - 3.0$ μm , a contenuto granulare.

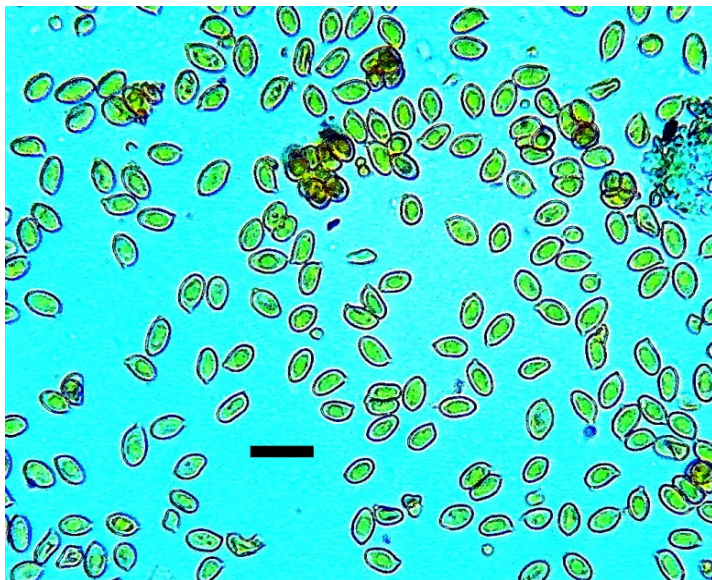
Trama lamellare: composta da ife di tipo cellulare con ife larghe fino a 25 μm ed allungate fino a 60 μm .

Cheilocistidi: $30 - 55 \times 8 - 14$ (18) μm , nella maggior parte dei casi cilindracei, cilindro-clavati, utriformi, claviformi, raramente sublageniformi; presenti a ciuffi localmente ma in genere dispersi sul filo.

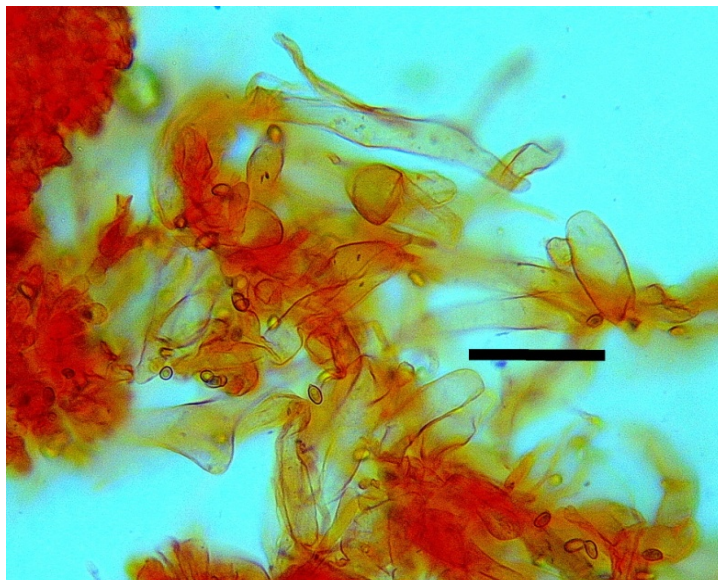
Pleurocistidi: non osservati.

Epicute: in trichoderma costituito da catene di elementi. Gli elementi terminali sono nettamente differenziati dai precedenti, misurano $70 - 200 \times (8) 10 - 18$ (20) μm , possiedono morfologia cilindracea, claviforme nella parte apicale che appare da convessa a rastremata ma sempre arrotondata all'apice, sono dotati talvolta di pigmentazione sia vacuolare sia di membrana di colore bruno; sono stati osservati, seppure raramente, ammassi poco voluminosi e granulazioni tipici di necropigmento. Gli elementi preterminali misurano $20 - 40$ (50) \times (4) $5 - 8$ (10) μm , sono cilindracei, catenulati, corti e molto spesso dotati anche di pigmento incrostante la parete. Non è presente gelificazione della struttura in alcuna parte del rivestimento pileico.

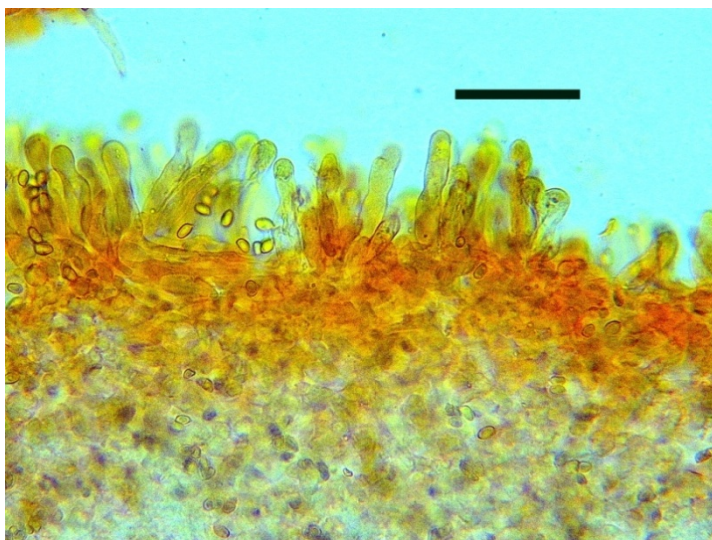
Giunti a fibbia: assenti ovunque.



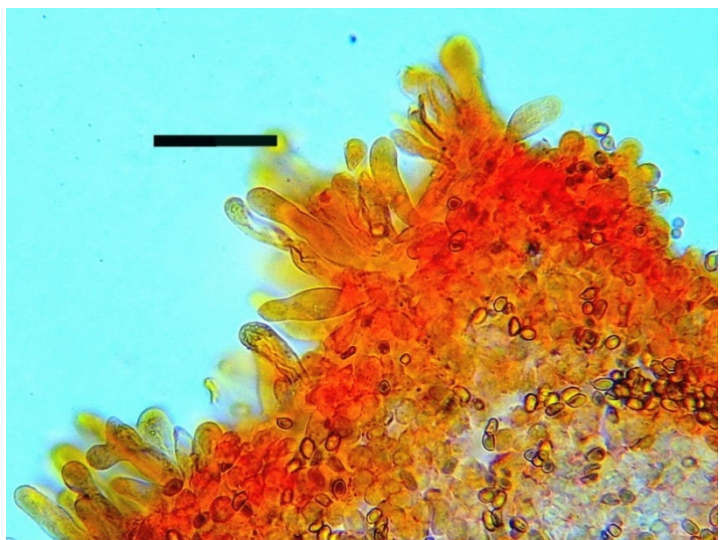
Spore / spores

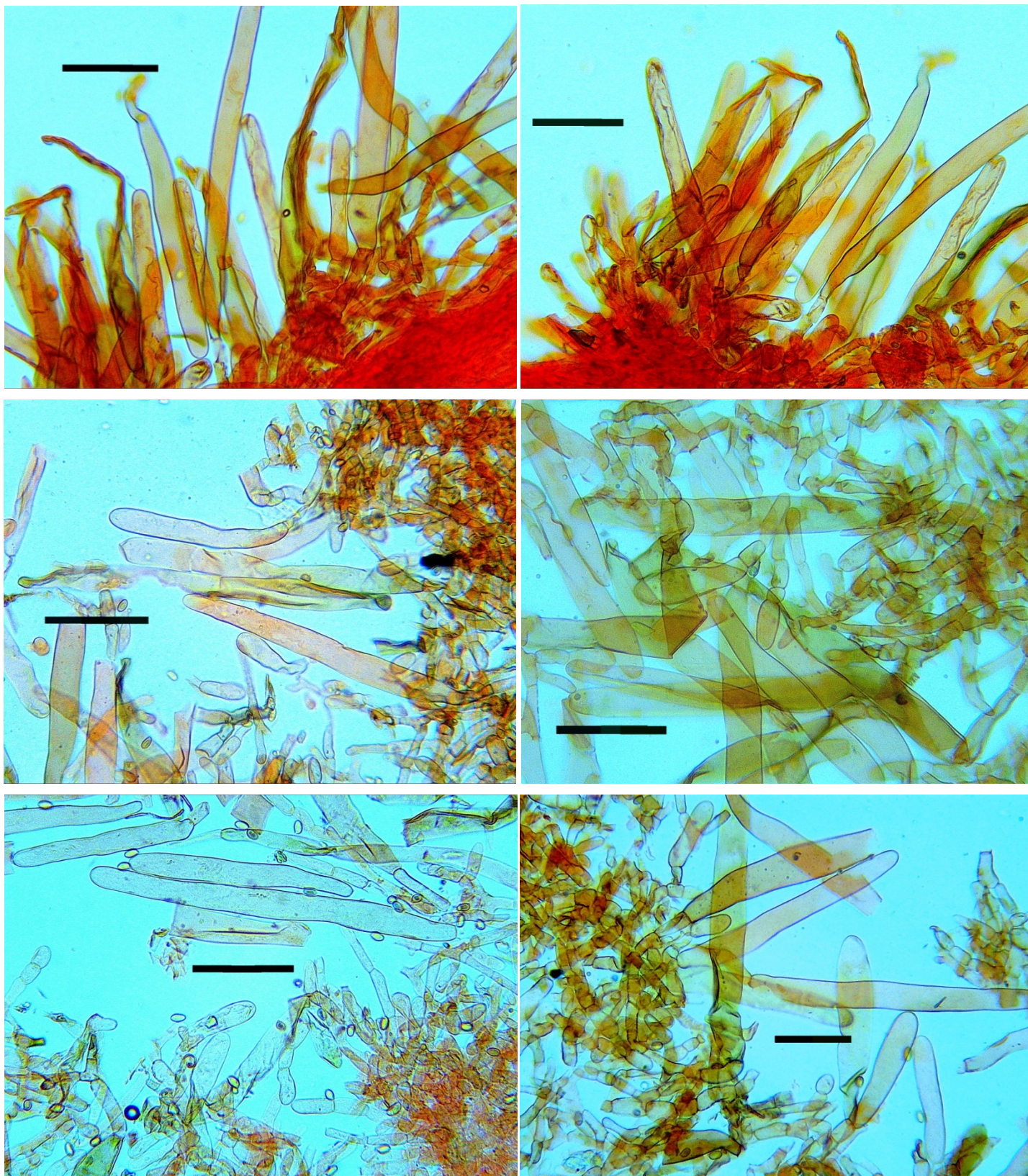


Ife della trama imeniale / hyphae of hymenial trama



Cheilocistidi / cheilocystidia



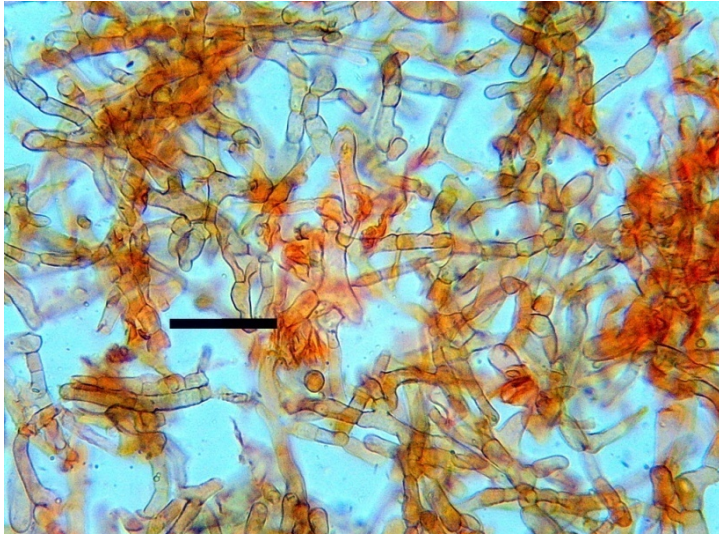


Pileipellis

COMMENTI

Il presente lavoro costituisce un naturale immediato seguito a quello recentemente presentato in merito a *L. rhodelephantinus* Boisselet et Eyssart. in *Mycological Observations* vol. 3 (Migliozzi, Martolini & Donato, 2022).

In tale contributo sono state evidenziate le modalità per separare *L. rhodelephantinus* dalle differenti interpretazioni di *L. tener* e sono già state anticipate le motivazioni per cui siamo stati in grado di determinare questa raccolta come *L. brunneocingulatus*, pur non potendo contare su una conferma da parte di una filogenesi preesistente in GenBank con cui confrontare la sequenza ITS OM971829 da noi ottenuta dalla raccolta M.V. AA04.1 (= M.V. 17.0617).



Subpellis

Trichodermini Bon et Migl. escludendo, per la colorazione pileica, le entità della sottosezione *Melanotrichae* Bon. In questo contesto abbiamo potuto constatare le moltissime analogie delle raccolte della Macchia della Signora con la descrizione particolareggiata di *L. brunneocingulatus* redatta da Orton (1960) e con quella elaborata da Migliozi & Perrone (1991).

A seguire, una succinta elencazione delle tante conformità riscontrate con quanto presente in letteratura:

- Morfologia del cappello con particolare riferimento alla colorazione;
- Morfologia di gambo ed anello;
- Morfologia e dimensioni sporiali;
- Morfologia dei cheilocistidi;
- Struttura dell'epicute.

In particolare, come raffigurato da Orton (1960) nella figura 427, che illustra le "end-cells of scales on cap", le ife preterminali concatenate, molto corte e dotate di pigmentazione incrostante, ci hanno convinto della correttezza della determinazione, ovviamente supportati da tutti gli altri elementi morfocromatici. La particolarità appena citata era già stata sottolineata nella precedente segnalazione (Migliozi & Perrone, 1991).

Utilizzando questi dati *L. brunneocingulatus* resta inserito nella sottosezione *Trichodermini* ma potrebbe costituire un ponte verso la sezione *Piloselli* per la presenza nell'elemento terminale dell'epicute di ammassi vacuolari e di granulazioni simili a necropigmento. In tutti i casi le dimensioni modeste dei basidiomi di *L. brunneocingulatus* non sono assolutamente paragonabili a quelle generalmente maggiori in possesso delle entità ascritte alla sezione *Piloselli* mentre, di contro, sono in linea con quelle della sottosezione *Trichodermini*.

Come fatto osservare in un precedente lavoro (Migliozi & Coppola, 2021), Candusso (1990) illustra una specie che, per quanto evidenziato dalla tavola della microscopia, non può essere attribuita a *L. marriageae* (D.A. Reid) Bon ma, più correttamente, a *L. brunneocingulatus*.

La morfologia dell'epicute ne costituisce la prova in quanto gli elementi preterminali sono concatenati, corti ed incrostanti contrariamente a quelli riscontrabili nel complesso *L. marriagei*. Analogo è stato in precedenza il parere di Bon (1976a) secondo cui "La *lepiote* de Reid (*marriagei*) etant anatomiquement bien définie nous nous sommes demandé si cette espèce avait une relation avec *L. brunneocingulatus* Orton (TBMS 43: 282.1960) assez curieusement semblable macroscopiquement avec de tons relativement plus brunâtres que violacés...".

Oltretutto le dimensioni sporiali di *L. marriageae* sono decisamente maggiori, risultando pari a $6 - 8 (8.5) \times 3.5 - 4.5 (5) \mu\text{m}$, e le spore sono amigdaliformi con sommità stirata.

Tra le altre specie con cui è possibile uno scambio possiamo escludere le seguenti:

L. ianthinophaeus Locq. per le spore di piccole dimensioni, per gli elementi terminali dell'epicute corti e per una colorazione pileica violacea;

L. ianthinosquamulosus Guinb. possiede spore allungate fino a $11 (12.5) \mu\text{m}$;

L. ionidicolor Bellù & Lanzoni è una specie di medio-grandi dimensioni con colorazione pileica violacea;

L. erminiae Consiglio, Setti & Vizzini, *L. gauguei* Bon & Boiffard, *L. rhodelephantinus* e *L. tener* sono tutte diverse per la colorazione pileica decisamente più chiara fatta eccezione per il ristretto intorno della zona discale.

Tra le specie europee recentemente descritte da Malysheva et al. (2013) possiamo escludere *L. rubrobrunneus* E.F. Malysheva, Svetash. & Bulakh (GenBank NR_120166) per i corti peli terminali dell'epicute ($50 - 110 \times 8 - 12 \mu\text{m}$) e per una scarsa verosimiglianza della sequenza pari a 79.09%. Altre specie, quali *L. proximus* E.F. Malysheva, Svetash. & Bulakh e *L. lateriopurpureus* (Lj.N. Vassiljeva) E.F. Malysheva, Svetash. & Bulakh, devono essere escluse per la stessa bassa similarità delle sequenze.

Concludiamo in tutti i casi facendo osservare come la sequenza da noi ottenuta risulta essere ben diversa da quelle dell'intero complesso di *L. marriageae* costituito da *L. marriageae* (GenBank AF482866), *L. ammovirescens* (Bon) Migl. & Coppola (GenBank OM971827) e *L. roseilivida* (Murrill) E. Ludw. (GenBank EF121816).

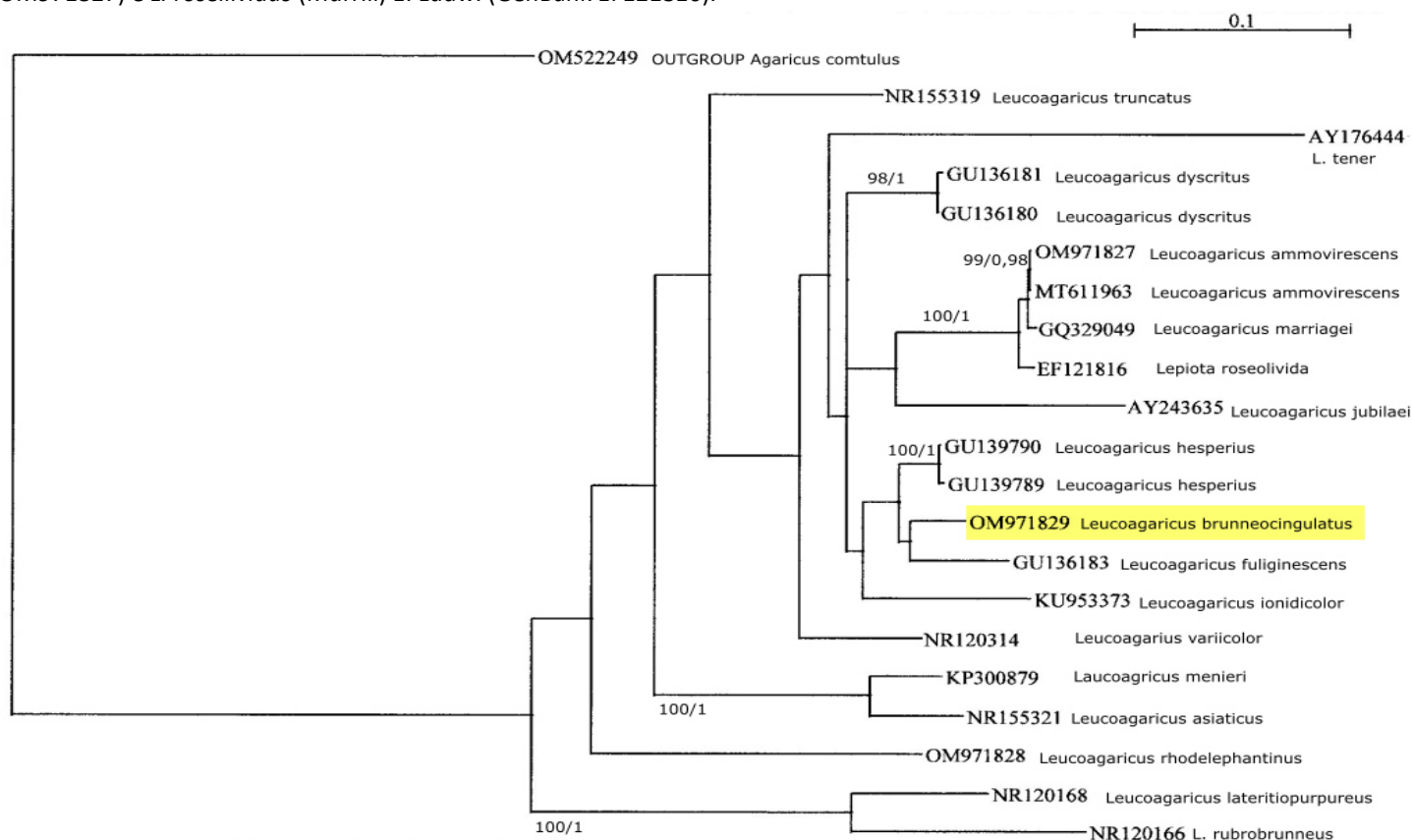


Fig. 1 Filogramma basato sull'analisi di massima verosimiglianza (RAxML) di sequenze della regione ITS (ITS1-5,8s-ITS2) di specie appartenenti al genere *Leucoagaricus*, rafforzata dai valori di probabilità a posteriori ottenuta con l'analisi bayesiana; sull'albero sono stati riportati a sinistra i valori di MLP $\geq 60\%$ e a destra quelli di BPP $\geq 0,90$. La sequenza di *L. brunneocingulatus* è evidenziata in colore giallo con il relativo numero di accesso in GenBank. La sequenza di *Agaricus comtulus* è stata scelta come outgroup / Phylogram generated from Maximum Likelihood analysis (RAxML) and Bayesian Inference method based on ITS (ITS1-5,8s-ITS2) sequence data representing species of genus *Leucoagaricus*; MLP $\geq 60\%$ values on the left and BPP $\geq 0,90$ values on the right are shown at the branches. The sequence of *L. brunneocingulatus* is highlighted in yellow with its MycoBank accession number. *Agaricus comtulus* was selected as outgroup.

RINGRAZIAMENTI

Desideriamo ringraziare P. Alvarado e P. Voto per la gradita collaborazione.

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 (1976a). Lépiotes rares, critiques ou nouvelles aux Deilandertagung d'Emmendingen-Septembre 1975. *Bulletin de la Société Mycologique de France*. **92**:317 – 334
- Bon M (1976b). 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). 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.
- Candusso M (1990). Alcune "Lépiote" del litorale toscano. Il contributo. *Rivista di Micologia* **33**(1):3 – 30.
- Candusso M, Lanzoni G (1990). *Lepiota* s.l.. Fungi Europaei. Vol. 4. Ed. Candusso Edizioni.
- Kelderman PH (1994). Para solrwammen van Zuid-Limberg. Nederland. *Lepiota* s.l. excl. *Macrolepiota*. Paddestoelenstudiegroep van het Natuurhistorisch Genootschap in Limburg, 207 pp.
- La Chiusa L (2013). Funghi agaricoidi vol. 1. *Agaricaceae*. ANDER Edizioni.
- Malysheva EF, Svetasheva TYu, Bulakh EM (2013). To the diversità of fungi in the Russian Far East. I. *Leucoagaricus lateritiopurpureus* and new species of *Leucoagaricus* (*Agaricaceae*) with red basidiocarps. *Mikologiya i Fitopatologiya* **47**(3):169 – 179.
- Migliozzi V, Coppola A (2021). *Leucoagaricus ammovirescens* stat. nov. *Micol. Veget. Medit.* **36**(1-2):45 – 58.

- Migliozzi V, Martolini A, Donato G (2022). Segnalazione per il territorio italiano di *Leucoagaricus rhodelephantinus*. *Mycological Observations* 3:8 – 18.
- Migliozzi V, Perrone L (1991). Sulle lepiotee – 6° contributo. Prima segnalazione in Europa continentale di *Leucoagaricus brunneocingulatus* (Orton) Bon. *Boll. Amer* 23:3 – 6.
- Orton PD (1960). British Agarics and Boleti. III. Notes on genera and species in the list. *Transactions of the British Mycological Society* 45:282 – 290.
- 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.
- Zuccherelli A (2006). I Funghi delle pinete delle zone mediterranee. Volume secondo. Longhi Editore. Ravenna.

A new finding of *Leucoagaricus brunneocingulatus*

Key words:

Agaricomycetidae, *Lepiotaceae*,
Leucoagaricus, *L. brunneocingulatus*,
ITS sequences, taxonomy, Italy

Abstract: The authors describe *Leucoagaricus brunneocingulatus* based on two separate collections made in the territory of the Municipality of Cerveteri (Rome). Relationships with other species of the section *Leucoagaricus* are discussed. The phylogenetic analysis based on the ITS marker is also presented, of which no sequence exists at the current state of knowledge.

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 & Eysartier, 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

Basidiomes were photographed in habitat by a Nikon Colpix 4500 digital camera. The macroscopic description was obtained by observing fresh specimens. The microscopic analysis was made on both fresh and dried material, stained with Congo red, washed several times and finally observed for description and picture-documentation of microscopical features of interest. Dried material was previously imbibed with distilled water.

Microscopy imagery was produced by V. Migliozzi using both an AmScope model T490B trinocular biological microscope supported by an MC500 digital electronic video camera and a binocular Zeiss Lab16 microscope; both instruments were equipped with 20x, 40x, 100x apochromatic optics and 10x eyepieces.

Spore measurements, carried out on at least 60 elements for each collection, are reported in the two-value form where the observed range is expressed in the “minimum – maximum” formula with exceptional or out of the norm values put in brackets.

The dried material is housed in M.V.’s private fungarium. The bar value in microscopy images is 10 µm for the spores and 50 µm for all other characters.

The sequence was filed in GenBank with the accession number OM971829. The DNA was extracted by the Alvalab laboratory of Oviedo (Spain) following the standardized method “DNA analysis of biodiversity” available in <http://www.alvalab.es/>.

TAXONOMY

Leucoagaricus brunneocingulatus (P.D. Orton) Bon
Documents Mycologiques 6(24): 44 (1976)

Basionym: *Lepiota brunneocingulata* P.D. Orton. *Trans Br. mycol. Soc.* 43 (2): 282. 1960

non *Leucoagaricus brunneocingulatus* sensu Zuccherelli (2006) = *Leucoagaricus* sp.

Mycobank: 316772

GenBank: OM971829

Systematics: Kingdom *Fungi* R.T. Moore, Subkingdom *Dicarya* Hibbett, T.Y. James & Vilgalys, Division *Basidiomycota* R.T. Moore, Subdivision *Agaricomycotina* Doweld, Class *Agaricomycetes* Doweld, Subclass *Agaricomycetidae* Parmasto, Order *Agaricales* Underw., Family *Agaricaceae* Chevall., Genus *Leucoagaricus* Locq. ex Singer, Section *Leucoagaricus*.

Original diagnosis

Pileus 14-24 mm, e convexo expansus vel postremo leviter depressus, vulgo lato obtuse umbonatus, rufo-brunneus vel ferrugineus-cacainus interdum ad discum obscure brunneus vel cacainus, primo totus minute tomentosus-squamulosus, ad discum aut fere glaber aut velutino-tomentosus, dein ad externam partem squamulis cacainis adpressis vel leviter revolutis carne albida exposita obtectus, ad marginem lamellas excendens et interdum excoriatus. Lamellae leberae, remotae, a stipite collario cartilagineo separatae, ventricosae, ex albo albidae vel leviter cremae, confertae, ad aciem integrae vel sub lente minutissime albo-denticulatae. Stipes 15-27 / 1½-3 mm (ad basim 4-6), sursum attenuatus ad basim incrassatus vel leviter bulbosus, albus dein supra anulum albido-flocculosus et infra anulum albidus vel cacaino-tinctus, subtiliter serico-sriatus, e farcto anguste cavus; annulus membranaceus distinctus, magnus, < 8mm latus, infundibuliformis dein superus, supra albus leviter flocculoso infra interdum squamulis paucis eis

pilei similibus obtectus, ad marginem interdum flocculoso-laceratus vel squamulosus. Caro alba, sub cuticola ad discum pilei et ad basim stipitis cacaino-tincta, juxta lamellas, in collario et in cortice stipitis colore cornus tincta. Odor nullus. Sporae ellipsoideae vel leviter amygdaliformes, 5-7½ / 3½-4 µ, in liquore Melzerio rubro brunneae. Basidia 4-sporigera. Cellulae steriles aciei lamellarum clavate, ± acute fusiformes vel leviter utriformes, 20-52 / 7-14 µ. Cystidia nulla. Cellulae ultimae hypharum squamularum pilei fusiforme-cylindraceae vel ad apicem fere acutae, vulgo ad basim flexuosae, rufobrunneo-vacuolatae interdum sparse obscurae granulatae, 80-250 / 7-20 µ; cellulae inferae breviores, cylindricae vel leviter curvatae interdum ramosae, hialinae vel incrustato-pigmentatae, 20-50 / 3-7 µ; cellulae clavatae inter eas nullae, hyphas fibulatas non vidi. Ad terram, Kenley Bottom, Saxton, Som., 29 Oct. 1958 (legit Mrs. E. Marriage, typus in Herb. Kew.). Annulo distincto, coloribus rufobrunneis, characteribus cellularum squamularum pilei, sporis insignis.

Selected iconography:

- Migliozzi & Perrone (1991);
- Bon (1993) Pl. 4 M;
- Candusso (1990) (sub nomen *Leucoagaricus marriagei*).

Selected literature:

- Orton (1960);
- Migliozzi & Perrone (1991).

Habitat and examined collections:

- Collection M.V. AA04.1 (= M.V. 17.0917), 16.12.1917, from the Macchia della Signora forest, County of Cerveteri (Roma), under *Quercus ilex* and Mediterranean scrub, legit V. Migliozzi, GenBank OM971829 (=ALV25162). The phylogram containing the sequence is in Fig. 1.

- Collection M.V. AA04.2 (= M.V. 17.0930) at a distance of hundred meters from the previous finding, same day and habitat.

Macroscopic characters

Pileus: (15) 18 – 28 mm, at first convex then expanded to applanate with a low large umbo; cuticle compact at the disc, tending to be fragment into very minute squamules from median to margin, these squamules adpressed in the median, moderately emerging at the margin above a whitish background; squamules and cuticle brown, margin more orange-brown turning to light reddish shades at maturity, disc distinctly reddish brown and unchanging.

Gills: free, white to weakly cream colored, sub collared, averagely crowded; edge concolorous.

Stipe: (20) 25 – 40 (50) × 3 – 4.5 mm, cylindric, slightly broadened at base up to 8 mm; brown in the lower third, white elsewhere, turning brown on handling; annulus superior, membranaceous but easily fugacious, most always appendiculate to the pileus margin, brown coloured on the superior surface.

Context: without particular odour and taste; whitish to cream coloured at maturity; insensitive when treated with aqueous ammonia solution (NH₄OH).

Microscopic characters

Spores: 5.5 – 7.0 (7.4) × 3.5 – 4.0 µm, elliptic to elliptic-subamygdaliform, apiculus little pronounced, walls moderately thick, hyaline, dextrinoid, metachromatic in Cresyl Blue, germ pore absent.

Basidia: (18) 20 – 26 × 5 – 7 µm, tetrasporic, claviform, with a granular content, sterigmata 2.0 – 3.0 µm long.

Lamellar trama: composed of up to 25 µm broad cellular hyphae and of up to 60 µm long elongate hyphae.

Cheilocystidia: 30 – 55 × 8 – 14 (18) µm, mostly cylindraceous, cylindric-clavate, utriform or claviform, rarely sublageniform; scattered to locally clustered.

Pleurocystidia: not found.

Pileipellis: a trichoderm made of chained elements with last cell distinctly differentiated; terminal elements 70 – 200 × (8) 10 – 18 (20) µm, cylindraceous with claviform apical part where they appear convex to tapering before a rounded extreme apex, sometimes with a brown vacuolar and membranaceous pigment, rarely with small masses and granulations of necropigment; preterminal elements 20 – 40 (50) × (4) 5 – 8 (10) µm, catenulate, cylindraceous, short, often with parietal incrustated pigment; no gelatinization present anywhere.

Clamp connection: absent everywhere.

NOTES

This paper constitutes a natural immediate follow-up to the one recently published about *L. rhodelephantinus* Boisselet et Eyssart. in *Mycological Observations* vol. 3 (Migliozzi, Martolini & Donato, 2022).

In that contribution the ways to separate *L. rhodelephantinus* from the several interpretations of *L. tener* were highlighted and the reasons why we could determine the present finding as *L. brunneocingulatus* were anticipated even though we could not count on support from any existing phylogeny in Genbank against which to compare the ITS sequence OM971829 we obtained from our collection M.V. AA04.1 (= M.V. 17.0617). A search through the BLAST algorithm only consents us to retrieve some sequences with low, at most 94%, identity; the closest ones among them, all submitted by E.C. Vellinga, are:

- sequence GU139790, corresponding to *L. hesperius* Vellinga;

- sequences GU139788 and GU139789, also relative to *L. hesperius*, found in California and belonging to the section *Piloselli* (Kuhn.) Singer, therefore different from those in our possession;

- sequences GU136180 and GU136181, relative to Californian collections of *L. dyscritus* Vellinga and likewise belonging to section *Piloselli*.

Given the above situation, and after having necessarily excluded all taxa belonging to sections *Piloselli* and *Pseudopiloselli* Migl. & Coppola (because lacking any reaction to NH₄OH), we could only turn our attention to section *Leucoagaricus*, subsection *Trichodermini* Bon et Migl. excluding the taxa of subsection *Melanotrachae* Bon due to their pileus coloring.

Inside subsection *Trichodermini* we could see many similarities of our findings from Macchia della Signora with the detailed description of *L. brunneocingulatus* by Orton (1960) and with that drafted by Migliozi & Perrone (1991).

These similarities are briefly listed below:

- Pileus morphology and colour;
- Stipe and annulus morphology;
- Spore morphology and dimension;
- Cheilocystidia morphology;
- Pileipellis structure.

In particular, as evidenced by Orton (1960) in figure 427 illustrating the end-cells of scales on cap, the concatenated, very short and incrustated pigmented preterminal hyphae convinced us of the correctness of our determination which was of course supported also by all other morphochromatic correspondences. This feature had already been highlighted in the description by Migliozi & Perrone (1991).

By its general data set *L. brunneocingulatus* is a member of subsection *Trichodermini* although it may represent a bridge towards section *Piloselli* due to the presence of vacuolar masses and granulations similar to necropigment in the trichoderm terminal element. In all cases the modest dimension of the basidiomes of *L. brunneocingulatus* are not at all comparable to those, usually larger, possessed by the taxa ascribed to section *Piloselli* while, on the other hand, they are in line with those possessed by the taxa belonging to section *Trichodermini*.

As noted in a previous paper (Migliozi & Coppola, 2021), Candusso (1990) illustrates a species which, based on what is shown in the microscopy table, cannot be attributed to *L. marriageae* (D.A. Reid) Bon but, more correctly, to *L. brunneocingulatus*.

The morphology of the pileipellis is proof of this given that the preterminal elements are chained, short and incrustated contrary to those found in the *L. marriageae* complex. Previously, Bon (1976) expressed a similar opinion: “*La lepiote de Reid (marriageae) etant anatomiquent bien definie nous nous sommes demandé si cette espèce avait une relation avec L. brunneocingulatus Orton (TBMS 43: 282.1960) assez curieusement semblable macroscopiquement avec de tons relativement plus brunastres que violacés...*”.

Moreover the spore dimension of *L. marriageae* is decidedly larger, resulting in 6 – 8 (8.5) × 3.5 – 4.5 (5) μm, and the shape is amygdaliform with a protruding apex.

Among the species with which confusion is possible we can exclude the following:

L. ianthinophaeus Locq. which has small spores, short terminal elements of pileipellis, and a violaceous pileus colour;

L. ianthinosquamulosus Guinb. possesses elongate spores up to 11 (12.5) μm;

L. ionidicolor Bellù & Lanzoni is a taxon with medium-large dimensions and a violaceous pileus colour;

L. erminiae Consiglio, Setti & Vizzini, *L. gauguei* Bon & Boiffard, *L. rhodelephantinus* and *L. tener* are all differentiated by a decidedly lighter pileus colour except for a narrow discal area.

Among the European taxa recently described by Malysheva et al. (2013) we can exclude *L. rubrobrunneus* E.F. Malysheva, Svetash. & Bulakh (GenBank NR_120166) due to its short terminal hairs in the pileipellis (50 – 110 × 8 – 12 μm) and to its scarce molecular identity (79.09%). Other taxa, such as *L. proximus* E.F. Malysheva, Svetash. & Bulakh and *L. lateritopurpureus* (Lj.N. Vassiljeva) E.F. Malysheva, Svetash. & Bulakh, must similarly be excluded due to the same low molecular identity.

We conclude in all cases by noting that the sequence we obtained turns out to be very different from those of the whole *L. marriageae* complex constituted by *L. marriageae* (GenBank AF482866), *L. ammovirescens* (Bon) Migl. & Coppola (GenBank OM971827) and *L. roseilividus* (Murrill) E. Ludw. (GenBank EF121816).

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank P. Alvarado and P. Voto for their kind cooperation.