

GIUSEPPE PORCU, ALBERTO MUA, MASSIMO SANNA, MARCO CASULA, MARIO MELIS

PRIME RACCOLTE IN ITALIA DI *AGARICUS PILOSPORUS*,
UNA INTERESSANTE SPECIE DI *AGARICUS* SEZ. *CHITONIOIDES* ROMAGN.

Riassunto

Viene descritto ed illustrato Agaricus pilosporus, raccolto in Sardegna, che costituisce la prima segnalazione in Italia. Viene inoltre proposto un albero filogenetico relativo alle specie di Agaricus sez. Chitonioides.

Abstract

Agaricus pilosporus, found in Sardinia, which constitutes the first report in Italy, is described and illustrated. A phylogenetic tree relating to the species of Agaricus sect. Chitonioides is also proposed

Key words Agaricaceae, *Agaricus*, *Minores*, *A. pilosporus*, Italy.

Introduzione

Negli ultimi anni il genere *Agaricus* si è arricchito di un notevole numero di specie ed oggi se ne contano oltre 500 a livello mondiale. Precedentemente la distinzione tra le specie di questo genere era affidata esclusivamente ai caratteri macro e micromorfologici oltre che chimici e molto spesso era difficile separare specie molto simili tra loro (specie criptiche). La separazione tra queste specie è potuta avvenire grazie alla biologia molecolare; tale disciplina ha dato un contributo decisivo alla classificazione del genere *Agaricus* apportando delle sostanziali modifiche, soprattutto grazie ai lavori di vari studiosi europei ed extraeuropei (ZHAO *et al.* 2011, ZHAO *et al.* 2016, KERRIGAN 2016, CHEN *et al.* 2017, PARRA *et al.* 2018, HE *et al.* 2018) e che prevedono all'interno del genere sei sottogeneri e ventisei sezioni. Le sezioni sono ora ventisette, considerando *A. sez. Catenulati* S. Hussain & Al-Sadi appartenente al sottogenere *Pseudochitonina* di recentissima pubblicazione (HUSSAIN *et al.* 2022). Le specie appartenenti ad *A. sez. Chitonioides* a livello mondiale sono otto, numero che può variare considerando eventuali sinonimie.

Materiali e metodi

Descrizione macroscopica e microscopica

La descrizione macroscopica è stata effettuata su materiale fresco proveniente da due raccolte, ognuna di esse era costituita sia da esemplari giovani che maturi.

L'osservazione microscopica è stata effettuata sia su materiale fresco che essiccato. Il materiale essiccato è stato reidratato con idrato d'ammonio al 3%. I preparati sono stati osservati in rosso Congo anionico o in acqua con microscopi OPTIKA e Motic. I dati relativi alle misure sporali sono il risultato di settantatre misurazioni sul deposito sporale ottenuto dalle raccolte. Ogni spora è stata misurata tramite il software Piximètre su immagini ottenute da telecamere dedicate ai microscopi utilizzati.

Il dato relativo alle dimensioni sporali, lunghezza e larghezza, è stato ottenuto seguendo il metodo statistico proposto da HEINEMANN & RAMMELOO (1985), il dato ottenuto è composto da un primo numero tra parentesi che rappresenta le spore più piccole, un secondo numero senza parentesi che rappresenta il valore minore ottenuto dalla deviazione standard, un terzo numero,

sottolineato, che indica il valore medio, un quarto numero che individua il valore maggiore ricavato dalla deviazione standard ed infine l'ultimo valore è quello relativo alle spore più grandi. Il quoziente di una spora è il rapporto tra lunghezza e larghezza. Il QM (Quoziente Medio) è dato dalla media aritmetica dei quozienti delle singole spore. Dalle misurazioni è escluso l'apicolo.

Per effettuare le reazioni macrochimiche sono stati utilizzati i seguenti reagenti: anilina, acido nitrico al 60%, KOH 30%, naftolo-1. La reazione di Schaeffer è stata effettuata secondo la metodica indicata dallo stesso autore (SCHAEFFER 1933).

Le collezioni dalle quali sono state ottenute le sequenze della regione ITS sono state depositate presso l'erbario CAG (Museo Herbarium di Cagliari), duplicati delle collezioni sono depositate negli erbari degli autori secondo quanto indicato nel capitolo "Raccolte studiate". L'ultima lettera del codice di raccolta indica l'erbario dell'autore in cui sono conservate le collezioni: P indica l'erbario Porcu, M indica l'erbario Mua.

Analisi molecolare

Il DNA totale è stato estratto ed amplificato dal laboratorio Alvalab di Oviedo (Spagna) secondo la metodica standardizzata del laboratorio (ALVARADO *et al.* 2010, 2012). Una volta ottenuta la sequenza del tratto che comprende 18S parziale, ITS1, 5,8S e ITS2 totali, 28S parziale, la stessa è stata confrontata tramite il software Blast del website NCBI con le sequenze presenti nelle banche dati Unite e GenBank presenti sul web.

L'albero filogenetico è stato così ottenuto: è stato elaborato un dataset contenente sequenze della regione ITS relative alle specie appartenenti ad *A. sez. Chitonioides* o appartenenti a sezioni diverse da questa ma con sequenza riconducibile ad essa, prelevate dai database GenBank e Unite includendo anche la sequenza delle nostre due raccolte di *A. pilosporus* (accession number GenBank OP882144, OP882286), è stata inoltre aggiunta anche la sequenza relativa a una specie di sezione diversa da *A. sez. Chitonioides*, con funzione di outgroup; si tratta di *A. arvensis* Schaeff. (GenBank KT951328) appartenente ad *A. subg. Flavoaгарicus*, sez. *Arvenses*. Le sequenze sono state allineate tramite Muscle del software Mega 6 (TAMURA *et al.* 2013) e, dopo aver ottenuto il file con estensione .phy tramite il software MESQUITE (MADDISON & MADDISON 2017), è stata ottenuta la massima verosimiglianza (Maximum Likelihood) utilizzando il programma RAxMLGUI 2.0 (EDLER *et al.* 2020) con impostazione di bootstrap 1000. L'albero filogenetico generato è stato elaborato con il software ThreeGraph2.

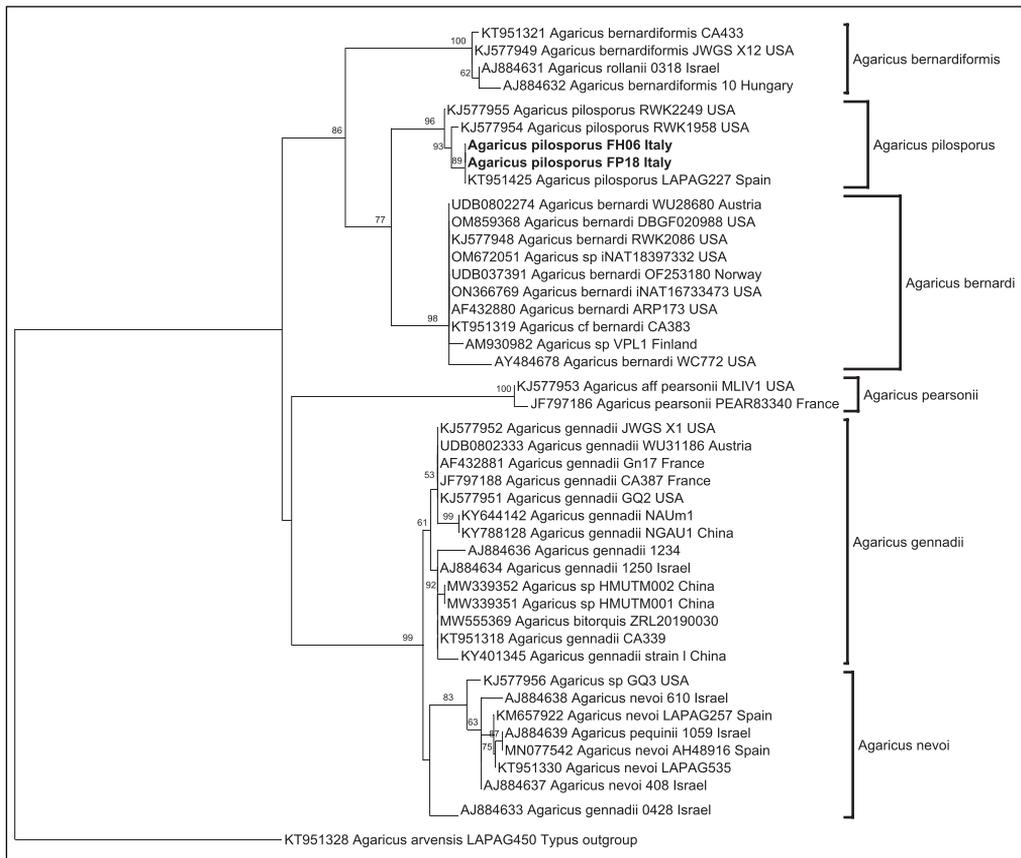
Purtroppo nessuna delle sequenze di *A. sez. Chitonioides* presenti nei database GenBank e Unite è riferita a dei *typus*, per cui si fa affidamento alla bontà delle determinazioni di specie da parte dei vari specialisti del genere *Agaricus*. Per quanto riguarda *A. vinaceovirens* Kerrigan non risulta essere presente nessuna sequenza. L'unica sequenza riportata come *A. pequinii* (Boud.) Konrad & Maubl. si rivela essere conspecifica con varie sequenze riportate come *A. nevoi* Wasser. È quindi evidente la necessità di implementare i database di nuove sequenze e di epitipificare o neotipificare quelle specie per le quali non vi è un *typus* disponibile.

Agaricus pilosporus Peck, *New York State Mus., Bull.* 94.1905

≡ *Agaricus sphaerosporus* Peck

Cappello 7-10 cm, convesso, piano-convesso, appena depresso a maturità, ondulato; margine involuto, poi incurvato o anche arrotolato, sinuoso, talvolta lobato, eccedente circa 2 mm, sovente appendicolato da resti di velo; superficie asciutta, feltrata, fibrillosa, asportabile per intero, spesso tinteggiata di rosso porpora e anche screziata da aloni ocrei su fondo biancastro.

Lamelle larghe intorno a 5-8 mm, arrotolate e libere dal gambo, arcuate, poi poco panciute, sottili, più o meno fitte, intercalate da varie lamellule, rosa-carnicino, poi scurenti in via di maturazione; taglio finemente eroso (lente!), biancastro.



Filogramma di sequenze di *Agaricus* sez. *Chitonioidea*, basato sull'analisi della massima verosimiglianza (raxML) relativa alle regioni geniche ITS1 e ITS2. Sui nodi sono riportati i valori di MLB. Le raccolte italiane sono in carattere grassetto.

Carne spessa intorno a 15 mm al centro del cappello, soda, rosata specie nel cappello ed in prossimità delle pareti del gambo; odore salmastro (che ricorda *Agaricus bernardi* Qué!.), sapore leggero, poco gradevole all'assaggio.

Gambo 5-7 × 1,5-2,5 cm, generalmente cilindrico, attenuato in basso, più raramente clavato, pieno, poi fistoloso, bianco, nella parte superiore risulta forforaceo, poi squamuloso, calzato nei 2/3 inferiori da una pseudo-volva liscia o appena fioccosa, biancastra ed appena imbrunente alla manipolazione.

Anello infero, situato all'apice della pseudo-volva, non molto espanso, assottigliato, sfrangiato al margine, liscio o appena striato nella superficie superiore e fioccoso in quella inferiore.

Sporata bruna, intorno a 9A-11A della tabella Moser (Moser 1986).

Reazioni macrochimiche reazione di Schaeffer negativa sulla superficie del cappello e sulla base del gambo; KOH al 20% = giallo citrino e lentamente cromo sulla superficie del cappello, sulla pseudo-volva e sulla carne della base del gambo; naftolo-1 = bruno porpora sulla cuticola, delicatamente lilacino e lentamente e debolmente aranciato in ogni parte della carne.

Spore (6,28) 6,63-6,97-7,30 (7,74) × (4,91) 5,28-5,55-5,82 (6,3) μm, Qm = 1,26, in maggioranza sub-globose o largamente ellissoidali, raramente ellissoidali, con parete spessa, generalmente munite di una grossa guttula, più raramente bi-guttulate.



Agaricus pilosporus. Loc. Bia Parteolla 16/11/2021.

Foto di Giuseppe Porcu

Basidi (26,9) 28,5-33,3 (37,6) × (9) 9,6-11,2 (11,6) μm; Q = 2,7-3,3 (3,5) (effettuate dodici misurazioni); generalmente tetrasporici, clavati, muniti di sterigmi lunghi 3-5,2 μm.

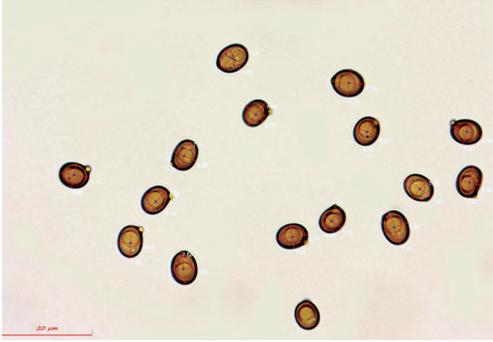
Cheilocistidi (15,9) 23,6-44,8 (53,1) × (6,9) 9,3-14,3 (17,4) μm; Q = (1,6) 2,4-3,6 (4) (effettuate quarantasette misurazioni); in maggioranza claviformi, più raramente cilindrici, fusiformi o anche sub-capitulati; pigmento parietale brunastro, leggermente incrostante e generalmente concentrato agli apici.

Veli (superficie inferiore dell'anello) formata da una struttura di ife sub-parallele o leggermente intrecciate ed aventi diametro di 3,5-8,5 μm; elementi marginali cilindrico-filiformi, spesso flessuosi, ad apice generalmente arrotondato delle dimensioni di 20-75 × 4,5-7,2 μm.

Contesto o trama pileica formata da una struttura di ife generative ialine, intrecciate, di forma generalmente subcilindrica, mostranti qualche diramazione, non particolarmente ristrette ai setti ed aventi diametro di 4,5-16,5 μm.

Epicute formata nella suprapelle da una struttura di ife sub-regolari o leggermente intrecciate, disposte a cutis, di forma generalmente cilindroide, non particolarmente ristrette ai setti ed aventi diametro di 3-8 μm; sono presenti elementi marginali di forma subcilindrica o anche filiforme, ad apice generalmente arrotondato ed aventi dimensioni di 19-130 × 5-7,5 μm; pigmento parietale brunastro di scarso rilievo, formante qualche breve e vaga incrostazione.

Raccolte studiate 09/02/2021, comune di S. Sperate, loc. Bia Parteolla, leg. G. Porcu (0575P, FH06M) (erbario CAG: 10 9/1.57 a), (GenBank OP882144); 16/11/2021 S. Sperate, loc. Bia Parteolla, leg. G. Porcu (0645 P, FP18M) (erbario CAG: 10 9/1.57b) (GenBank OP882286). Entrambe le raccolte sono avvenute al margine di un terreno agricolo in presenza di *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm., essenza impiantata in loco da diversi anni.



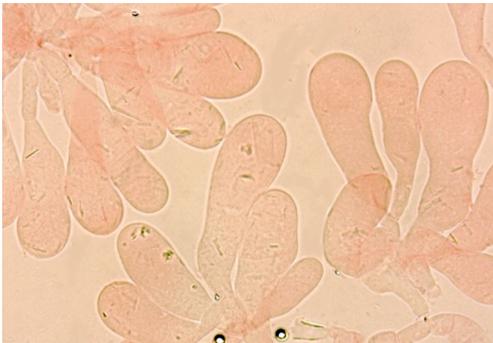
A. pilosporus. Spore in H₂O (1000×).

Foto di Giuseppe Porcu



A. pilosporus. Basidi e elementi imeniali in rosso Congo (1000×).

Foto di Giuseppe Porcu



A. pilosporus. Cheilocistidi in rosso Congo (1000×).

Foto di Giuseppe Porcu

Discussione

Agaricus pilosporus appartiene ad *Agaricus* (subg. *Pseudochitonina* Konrad & Maubl.), sez. *Chitonioides* Romagn. Le caratteristiche della sezione sono: reazione di Schaeffer negativa su tutto il basidioma; superficie del cappello talvolta virante al rossastro; carne spesso virante al rosa-rossastro oppure immutabile, mai virante al giallo; odore fungino oppure sgradevole di pesce o indistinto, mai di anice o di mandorle amare, né di fenolo o di iodio; basidiomi generalmente robusti e tozzi, diametro del cappello quasi uguale alla lunghezza del gambo; anello infero, semplice, in alcuni casi

collocato nella parte bassa del gambo da sembrare una volva; spore prive di poro germinativo rudimentale, cheilocistidi presenti, clavati, talvolta cilindrici oppure flessuosi, talvolta settati.

Normalmente in *A.* sez. *Chitonioides* la reazione al KOH sulla cuticola è negativa, in queste raccolte è invece risultata di colore giallo citrino, poi cromo sulla cuticola, sulla superficie della volva e sulla carne del gambo.

Agaricus pilosporus si caratterizza per il leggero arrossamento delle superfici, per le spore da subglobose a largamente ellittiche. Esso venne descritto per la prima volta negli USA da Peck (1904) con il nome di *A. sphaerosporus*, successivamente modificato dallo stesso autore con il nome attuale (PECK 1905). In Europa è stato raccolto soltanto in Spagna da Parra (PARRA 2008), le nostre collezioni costituiscono le prime segnalazioni in Italia.

Le altre specie di *A.* sez. *Chitonioides* sono:

Agaricus bernardi (Quél.) Sacc. si differenzia da *A. pilosporus* per la carne del gambo fortemente virante al rosso-bruno, per le spore leggermente più allungate e mediamente un po' più grandi.

Agaricus bernardiformis Bohus ha colorazioni vinose sul cappello e sul gambo, l'anello denticolato al margine superiore, le spore più grandi.

Agaricus gennadii (Chatin et Boud.) P.D. Orton ha un viraggio al rosa molto scarso o nullo nella carne, presenta delle squamule sul gambo sopra l'anello e le spore più grandi.

Agaricus nevoi Wasser, specie di origine medio-orientale (Israele) ha il cappello non virante al tocco, ricoperto di squame grigie o brune, ha la carne poco o nulla virante al taglio, presenta una pseudovolva ricoperta da squame, le spore hanno un rapporto lunghezza-larghezza (Qm) superiore (WASSER 1995).

Agaricus pequinii (Boud.) Konrad & Maubl. è una specie molto più robusta, con un grosso bulbo basale, presenza di squamule grigio-porpora sul gambo al di sopra dell'anello e la carne che vira abbastanza evidentemente al rosso-bruno.

Agaricus pearsonii Bon & Boisselet (PEARSON 1950) ha una volva larga e ben conformata, un forte viraggio della carne al rosso al taglio e le spore in maggioranza subglobose ma più grandi che in *A. pilosporus*.

Agaricus vinaceovirens Kerrigan, specie americana, mai segnalata in Europa, ha un odore molto sgradevole "It may be the world's most malodorous agaric" (KERRIGAN 2016), il cappello assume tinte violacee a maturità.

Indirizzi degli autori

ALBERTO MUA

Via Spano 8 - 09045 Quartu S. Elena (CA).

E-mail: albermua@gmail.com

GIUSEPPE PORCU

Via E. Marongiu 32 - 09026 S. Sperate (SU).

E-mail: pinoporcu.ss@gmail.com

MASSIMO SANNA

Via Famagosta 13 - 09134 Cagliari (CA).

E-mail: massanfungo@gmail.com

MARCO CASULA

Via Piave 21 - 09048 Sinnai (CA).

E-mail: casula.mek@gmail.com

MARIO MELIS

Via Cavaro 45 - 09131 Cagliari.

E-mail: melismario@alice.it

Bibliografia

ALVARADO P., MANJÓN J.L., MATHENY P.B. & ESTEVE-RAVENTÓS F. – 2010. *Tubariomyces*, a new genus of *Inocybaceae* from the Mediterranean region. *Mycologia*, 102 (6): 1389-1397.

ALVARADO P., MORENO G. & MANJÓN J.L. – 2012. Comparison between *Tuber gennadii* and *T. oligospermum* lineages reveals the existence of the new species *T. cistophilum* (Tuberaceae, Pezizales). *Mycologia* 104 (4): 894-910

CHEN J., CALLAC P., PARRA L.A., KARUNARATHNA S.C., HE M.Q., MOINARD M., DE KESEL A., RASPÉ O., WISITRASSAMEEWONG K., HYDE K.D. & ZHAO R.L. – 2017: Study in *Agaricus* subgenus *Minores* and allied clades reveals a new American subgenus and contrasting phylogenetic patterns in Europe and Greater Mekong Subregion. *Persoonia* 38(1): 170-196.

EDLER D., KLEIN J., ANTONELLI A. & SILVESTRO D., 2020: raxmlGUI 2.0: A graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RaxML. *Methods in Ecology and Evolution*, 00: 1-5.

HEINEMANN P. & RAMMELOO J. – 1985: De la mesure des spores et son expression. *Agarica*, 6: 366-380.

HUSSAIN S., AL-KHAROUSI M., AL-MUHARABI M.A., AL-MAQBALI D., AL-SHABIBI Z., AL-BALUSHI A.H., AL-YAHYA'EI M.N., AL SAADY N., ABDEL-JALIL R., VELAZHAHAN R. & AL-SADI A.M. – 2022: Phylogeny of *Agaricus* subgenus *Pseudochitonina* with the description of a new section and a new species from Oman. *Mycological Progress* 21: 72.

KERRIGAN R.W. – 2016: *Agaricus* of North America. *Mem. N. Bot. Gard.* 114: 1-574.

MADDISON W.P. & MADDISON D.R. – 2017: Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.0.

- MOSER M. – 1980: *Guida alla determinazione dei funghi. Vol. 1.* Ed. Saturnia, Trento.
- PARRA L.A. – 2008: *Agaricus L., Allopsalliota Nauta & Bas. Fungi Europaei 1.* Ed. Candusso, Alassio.
- PARRA L.A., ANGELINI C., ORTIZ-SANTANA B., MATA G., BILLETTE C., ROJO C., CHEN J., & CALLAC, P. – 2018: The genus *Agaricus* in the Caribbean. Nine new taxa mostly based on collections from the Dominican Republic. *Phytotaxa* 345(3): 219-271.
- PEARSON A.A. – 1950: *Cape agarics and boleti.* Transactions of the British Mycological Society 33 (3-4): 313.
- PECK, C.H. – 1904: New species of fungi. *Bulletin of the Torrey Botanical Club.* 31: 177-182
- PECK, C.H. – 1905: Report of the state botanist, 1904. *Bulletin of the New York State Museum.* 94: 5-58.
- SCHÄFFER J. – 1933: Spezifische Merkmale bei Champignons. *Schweiz. Pilz.* 11: 137-140.
- TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FILIPSKI, A., & KUMAR, S. – 2013: MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, 30(12): 2725-2729.
- WASSER S.P. – 1995: New and noteworthy species of the genus *Agaricus* L.: Fr. emend. Karst. from Israel. *Doc. Mycol.* 25 (98-100): 469-478.
- ZHAO R.L., ZHOU J.L., CHEN J., MARGARITescu S., SÁNCHEZ-RAMÍREZ S., D HYDE K.D., CALLAC P., PARRA L.A., LI G.J. & MONCALVO J.M. – 2016: Towards standardizing taxonomic ranks using divergence times - a case study for reconstruction of the *Agaricus* taxonomic system. *Fungal Diversity* 78: 239-292.