

ALBERTO MUA, GIUSEPPE PORCU, MASSIMO SANNA, MARCO CASULA

PRIMA RACCOLTA IN ITALIA DI *AGARICUS GEMLI*,
UNA INTERESSANTE SPECIE DI *AGARICUS* SEZ. *MINORES*

Riassunto

Viene descritto ed illustrato *Agaricus gemlii*, raccolto nella regione Sardegna, che costituisce la prima segnalazione per l'Italia. Viene inoltre proposto un albero filogenetico relativo alle specie di *Agaricus* sez. *Minores*, clado I sec. HE et al. (2017).

Abstract

Agaricus gemlii, found in Sardinia, which constitutes the first report in Italy, is described and illustrated. Is also proposed a phylogenetic tree relating to the species of *Agaricus* sect. *Minores*, clade I, according to HE et al. (2017).

Key words *Agaricus*, *Agaricaceae*, *Minores*, *A. gemlii*, Italia.

Introduzione

Fino a qualche decennio fa lo studio delle specie del genere *Agaricus* si effettuava esclusivamente tramite descrizioni macroscopiche, studi microscopici e osservazione delle reazioni chimiche, molto spesso era difficile separare specie molto simili tra loro, soprattutto quelle inserite in *A. sez. Minores*, tra le quali la similitudine interspecifica era ed è particolarmente accentuata. L'intervento della biologia molecolare ha dato un sostanziale contributo all'individuazione di specie "nascoste" e ha reso più chiara la filogenesi che, a sua volta, ha permesso una nuova classificazione del genere *Agaricus* apportando delle sostanziali modifiche. Ciò è soprattutto dovuto 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; HUSSAIN et al. 2022) e ciò ha permesso di creare all'interno del genere 6 sottogeneri e ventisette sezioni. Le specie conosciute, appartenenti ad *A. sez. Minores*, a livello mondiale, sono circa un centinaio, ma si stima che il numero effettivo totale possa arrivare a duecento (CHEN et al. 2017). Infatti soltanto dal 2017 a oggi sono stati descritti ben quaranta nuovi taxa di *A. sez. Minores*: PARRA & CABALLERO (2017) con una specie, HYDE et al. (2017) con due specie, CHEN et al. (2017) con undici specie, HE et al. (2017) con sedici specie, HE et al. (2018) con tre specie, HUSSAIN & SHER (2019) con due specie, JAICHALIOW et al. (2021) con una specie, PARRA et al. (2021) con una specie, TARAFDER et al. (2022) con due specie, BROADBRIDGE et al. (CROUS et al. 2022) con 1 specie. Pensiamo, quindi, che nel prossimo futuro ci sarà un notevole aumento di taxa conosciuti, soprattutto provenienti da zone inesplorate.

Negli ultimi dieci anni l'Italia si è arricchita di un discreto numero di specie di questa sezione, alcune come prime raccolte nel territorio nazionale ed una come specie nuova. Le nuove presenze sono: *Agaricus kerriganii* L.A. Parra, B. Rodr., A. Caball., Martín-Calvo & Callac (FELLIN & Ferrari 2019) e *Agaricus iesu-et-marthae* L.A. Parra (MUA et al. 2022); la nuova specie è *Agaricus carassaii* Faraoni, L.A. Parra & Suriano (PARRA et al. 2021).

Alle precedenti si aggiunge oggi la specie descritta in questo lavoro, *Agaricus gemlii* L.A. Parra, Arrillaga, Ribes & Callac, raccolto sinora soltanto in territorio spagnolo, francese e del Regno Unito.

Materiali e metodi

La descrizione macroscopica è stata effettuata su materiale fresco proveniente da una sola raccolta, 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 o in acqua con microscopi OPTIKA e Motic. I dati relativi alle dimensioni sporiali sono il risultato di numero sessantuno misurazioni sul deposito sporale ottenuto dalla raccolta. Ogni spora è stata misurata tramite il software Piximètre su immagini ottenute da telecamere dedicate ai microscopi utilizzati.

Le dimensioni sporiali, lunghezza e larghezza, sono state calcolate 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 numero che è quello relativo alle spore più grandi. Il QM (Quoziente Medio) è dato dalla media aritmetica dei quozienti delle singole spore. Il quoziente di una spora è il rapporto tra lunghezza e larghezza. Dalle misurazioni è escluso l'apicolo.

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

La raccolta è stata depositata presso l'erbario del dipartimento delle Scienze e dell'Ambiente, sez. Botanica, dell'Università degli Studi di Cagliari (CAG), un duplicato di questa collezione è stata depositata negli erbari degli autori secondo quanto indicato nel capitolo "Raccolte studiate".

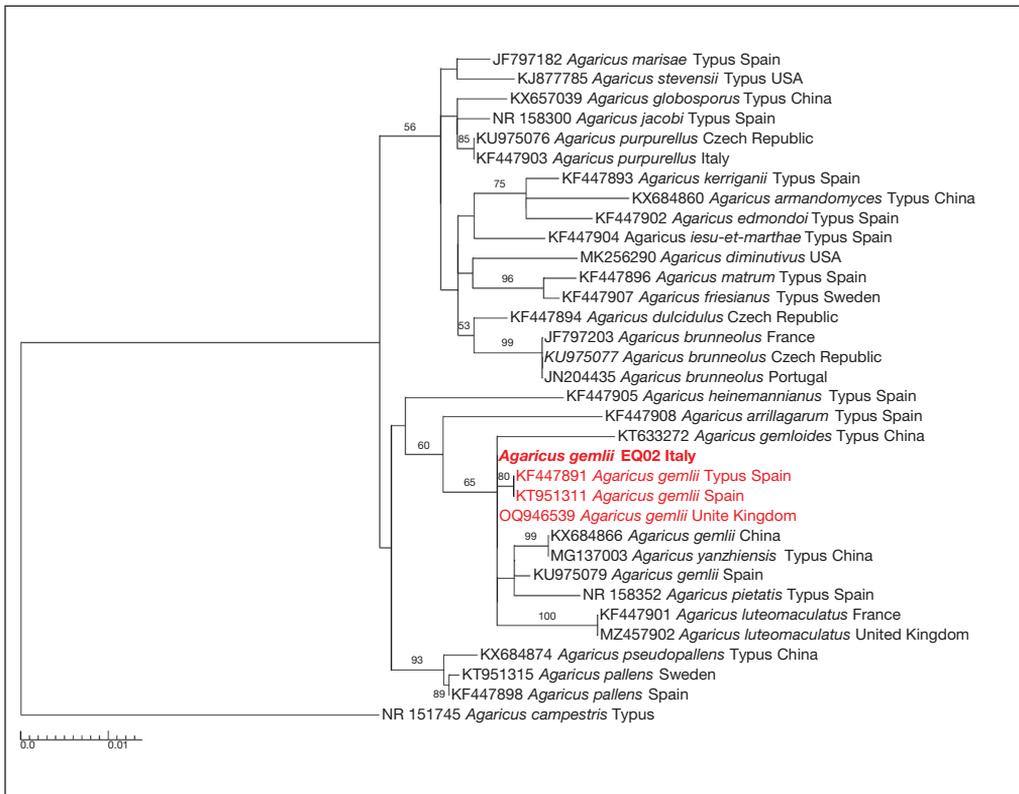
Analisi molecolare

Il DNA totale è stato estratto ed amplificato dal laboratorio Alvalab di Oviedo (Spagna) secondo la metodica standardizzata del laboratorio: Il DNA totale è stato estratto da campioni secchi utilizzando un protocollo modificato basato su MURRAY & THOMPSON (1980); le reazioni PCR (MULLIS & FALOONA 1987) hanno compreso 35 cicli con una temperatura di 54 °C.; per amplificare la regione ITS rDNA sono stati impiegati i primers ITS1F, ITS4 e ITS4B (WHITE *et al.* 1990; GARDES & BRUNS 1993). I cromatogrammi sono stati controllati alla ricerca di eventuali errori di lettura e corretti. 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 presenti sul web, Unite e GenBank. L'albero filogenetico è stato ottenuto, come di seguito: è stato elaborato un dataset contenente sequenze della regione ITS relative alle specie appartenenti ad *A. sez. Minores*, clado I, secondo HE *et al.* (2017), prelevate dai database GenBank e UNITE includendo anche la sequenza della nostra raccolta di *A. gemlii* (accession number GenBank PP057929), è stata inoltre aggiunta anche la sequenza relativa a una specie di sezione diversa da *A. sez. Minores*, con funzione di outgroup; si tratta di *A. campestris* L. (GenBank NR_151745) appartenente ad *Agaricus*, sez. *Agaricus*. 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 ricavata 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 poi elaborato con il software ThreeGraph2.

Agaricus gemlii L.A. Parra, Arrillaga, M.Á. Ribes & Callac 2013

Cappello 2-5 cm di diametro, emisferico, convesso, poi piano, subumbonato. Margine involuto, poi disteso, scarsamente eccedente, con residui bianchi di velo parziale, ingiallente alla manipolazione. Cuticola asciutta, decisamente fibrillosa in senso radiale con fibrille grossolane color porpora, il centro compatto sempre di color porpora; in periferia le fibrille, affievolendosi, lasciano intravedere la carne bianca sottostante.

Lamelle libere, abbastanza fitte, con numerose lamellule, bianco-grigiastre, poi rosa, infine bruno, bruno-nerastre. Filo biancastro.



Agaricus gemlii. Filogramma di sequenze d'*Agaricus* sez. *Minores*, clado I, secondo He *et al.* (2017), basato sull'analisi della massima verosimiglianza (RAxML) relativa alle regioni geniche ITS1 e ITS2. Sui nodi sono riportati i valori di MLB. Le raccolte da attribuire ad *A. gemlii* sono in rosso; la raccolta italiana è in carattere grassetto.

Gambo 3-5 × 0,5-0,8 cm, cilindrico con bulbo basale, fistoloso, superficie liscia sopra l'anello, fibrilloso-pruinosa sotto, biancastra, tendenzialmente ocracea verso il basso, anello situato ai 3/4 dell'altezza del gambo, semplice, liscio, supero, bordato di bruno porpora, ingiallente al tatto o con l'età.

Carne bianca, con odore leggero di mandorle, sapore mite.

Reazione macrochimica al test Schaeffer positiva, rossa.

Spore (5,1) 5,3-5,9-6,3 (7,4) × (3,5) 3,9-4,3-4,7 (5,4) μm, Q = 1,3-1,4-1,5, largamente ellittiche o anche ovoidali, se osservate di profilo, ovoidali nelle osservazioni dorso-ventrali, con parete di medio spessore e apicolo poco pronunciato, munite di una o più guttule dal contenuto ocraceo.

Basidi (16,6) 17-20,4 (21,8) × (6,9) 7,6-8,6 μm, con sterigmi lunghi fino a 3,3 μm, Q = (2,2) 2,21-2,5 (2,6), clavati, generalmente tetrasporici.

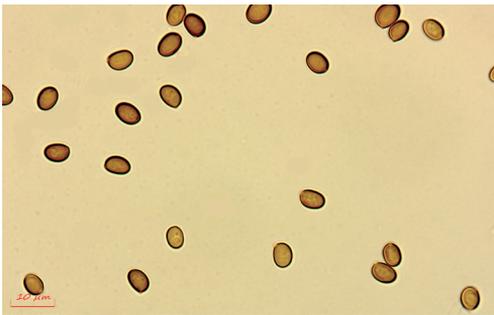
Cheilocistidi numerosi, in maggioranza multisetati, con elementi marginali clavati o più spesso piriformi, talvolta sferopedunculati, con dimensioni di (10,2) 10,8-18,7-26,1 (30,4) × (5,7) 6,7-9,6-13,6 (14,2) μm, Q = (1,4) 1,6-2-2,7 (3), si osserva un lieve pigmento parietale brunastro e raramente incrostante.

Superficie inferiore dell'anello costituita da ife cilindriche spesse 3,3-6,7 μm, non o poco ristrette ai setti, alcuni con sottile pigmento incrostante.

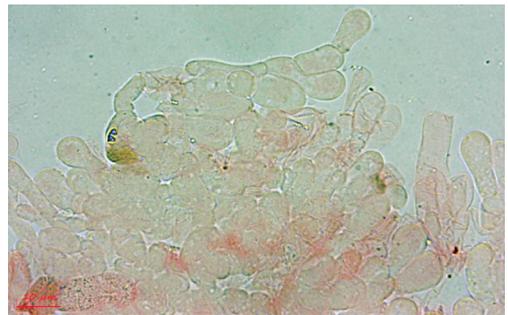


Agaricus gemlii. Località S. Barbara (EQ02).

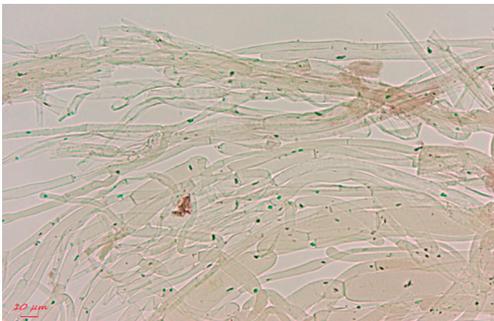
Foto di Giuseppe Porcu



A. gemlii. Spore (1000×). Barra 10 μm. Foto di Giuseppe Porcu



A. gemlii. Epicute (1000×). Barra 10 μm. Foto di Giuseppe Porcu



A. gemlii. Epicute (400×). Barra 10 μm. Foto di Giuseppe Porcu

Trama pileica formato da una densa struttura di ife cilindriche ed a tratti rigonfie, più o meno intrecciate, senza particolari restringimenti ai setti, munite di qualche breve diramazione ed aventi diametro di 3-17 μm; si osserva un pigmento citoplasmatico intracellulare di colore ocreo nelle osservazioni in KOH al 5%, diffuso uniformemente o concentrato in qualche minuto vacuolo.

Pileipellis costituita nella suprapellis da una struttura di ife più o meno intrecciate e

con disposizione a cutis, in parte con restringimenti ai setti, munite di qualche diramazione, in qualche caso brevemente congiunte, con diametro di 2,5-10 µm; elementi marginali cilindrico-filiformi, con apice arrotondato o leggermente attenuato e dimensioni di 27-63 × 3-6 µm; si osserva un modesto pigmento citoplasmatico intracellulare dal colore brunoastro o anche ocreo, non diffuso in tutta la struttura, diluito uniformemente o concentrato in qualche vacuolo; si osserva inoltre un modesto pigmento parietale, dal colore brunoastro, talvolta formante qualche vaga incrostazione.

Materiale esaminato: raccolta del 10/11/2017, avvenuta in località Genn'Antine, nel comune di Villagrande Strisaili (NU), in un ambiente con substrato granitico, a circa 900 m d'altitudine, popolato da *Quercus ilex* L., *Arbutus unedo* L. e *Erica arborea* L., con presenza di varie essenze impiantate, *Pinus pinea* L., *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex Carrière, *Cupressus* sp., leg. G. Porcu.

Exsiccata: il materiale in parte è stato depositato presso il Museo Herbarium CAG del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Cagliari, in parte nell'erbario di Alberto Mua (EQ02M).

Discussione

Agaricus gemlii venne descritto nel 2013 (PARRA 2013) in base ad alcune raccolte effettuate nell'isola di Tenerife nell'arcipelago delle Canarie (Spagna), facente parte della Spagna pur trovandosi a occidente del continente africano, successivamente venne raccolto in Spagna e nella costa atlantica della Francia. Non siamo a conoscenza di precedenti raccolte in ambiente mediterraneo. La specie venne dedicata al micologo József Geml per il contributo dato a L.A. Parra nella pubblicazione della monografia sul genere *Agaricus* e per il contributo alla conoscenza del genere.

Possibili confusioni si possono generare con le seguenti specie:

Agaricus purpurellus F.H. Møller, che si distingue per la colorazione meno vivace del cappello e per l'habitat sotto *Picea*;

Agaricus brunneolus (J.E. Lange) Pilát, che ha cappello con colorazioni meno vivaci, una taglia generalmente maggiore e grossi cistidi a parete spessa non presenti in *A. gemlii*. In caso di raccolta di esemplari di piccola taglia di *A. brunneolus* il dubbio può essere definitivamente sciolto solo con l'analisi molecolare;

Agaricus jacobi L.A. Parra, A. Caball. & Callac, che si distingue per avere cheilocistidi con elementi terminali allungati e di forma variabile, mentre in *A. gemlii* questi sono più corti, sferopedunculati e a forma clavata.

Indirizzo degli autori

ALBERTO MUA

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

E-mail: albermua@gmail.com

GIUSEPPE PORCU

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

E-mail: pinoporcu.ss@gmail.com

MASSIMO SANNA

Via Famagosta 13 - 09134 Cagliari (CA-Italia).

E-mail: massanfungo@gmail.com

MARCO CASULA

Via Piave 21 - 09048-Sinnai (CA-Italia).

E-mail: casula.mek@gmail.com

Bibliografia

- CHEN J., CALLAC P., PARRA L.A., KARUNARATHNA S.C., HE M.Q., MOINARD M *et al.* – 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.
- CROUS P. W., BOERS J., HOLDOM D., STEINRUCKEN T.V., TAN Y.P., VITELLI J. S. *et al.* – 2022: *Fungal Planet description sheets*: 1383–1435. *Persoonia-Molec. Phylog. and Evol. of Fungi*, 48 (1): 261-371.
- EDLER D., KLEIN J., ANTONELLI A. & SILVESTRO D. – 2021: raxmlGUI 2.0: a graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML. *Meth. in Ecol. and Evol.* 12 (2): 373-377.
- FELLIN A. & FERRARI R.J. – 2019: *Agaricus kerriganii*, una rara specie rinvenuta in Trentino Alto Adige. *RMR, Boll. AMER* 106: 3-12.
- GARDES M. & BRUNS T. D. – 1993: ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molec. Ecol.* 2 (2): 113-118.
- HE M.Q., CHEN J., ZHOU J.L., RATCHADAWAN C., HYDE K.D. & ZHAO R.L. – 2017: Tropic origins, a dispersal model for saprotrophic mushrooms in *Agaricus* section *Minores* with descriptions of sixteen new species. *Scient. reports* 7 (1): 1-31.
- HE M.Q., HYDE K.D., WEI S.L., XI Y.L., CHEEWANGKON R. & ZHAO R.L. – 2018: Three new species of *Agaricus* section *Minores* from China. *Mycosph.* 9 (2): 189-201.
- HEINEMANN P. & RAMMELOO J. – 1985. De la mesure des spores et son expression. *Agarica* 6: 366-380.
- HUSSAIN S. & SHER H. – 2019: Study in *Agaricus* section *Minores* in Pakistan with the description of two new species. *Mycol. Progr.* 18 (6): 795-804.
- HUSSAIN S., AL-KHAROUSI M., AL-MUHARABI M.A., AL-MAQBALI D.A., AL-SHABIBI Z., AL-BALUSHI, A.H. *et al.* – 2022: Phylogeny of *Agaricus* subgenus *Pseudochitonina* with the description of a new section and a new species from Oman. *Mycol. Progr.* 21 (8/72): 1-13.
- HYDE K.D., NORPHANPHOUN C., ABREU V.P., BAZZICALUPO A., THILINI CHETHANA K.W., CLERICUZIO M. *et al.* – 2017: Fungal diversity notes 603-708: taxonomic and phylogenetic notes on genera and species. *Fungal Divers.* 87 (1): 1-235.
- JAICHALIAW C., KUMLA J., VADTHANARAT S., SUWANNARACH N. & LUMYONG S. – 2021. Multigene Phylogeny and Morphology Reveal Three Novel Species and a Novel Record of *Agaricus* From Northern Thailand. *Front. in Microbiol.* 12/650513: 1-14.
- 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 3.2. 2017.
- MUA A., PORCU G., SANNA M., & CASULA M. – 2022: Prime raccolte in italia di *Agaricus iesu-et-marthae*, una interessante specie di *Agaricus* sez. *Minores*. *RMR, Boll. AMER* 116, 59-68.
- MULLIS K. B., & FALOONA F. A. – 1987: Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Meth. in Enzymol.* (Vol. 155, pp. 335-350). Academic Press.
- MURRAY M. G. & THOMPSON W. – 1980: Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acids Res.* 8 (19): 4321-4326.
- PARRA L.A. – 2013: *Agaricus L., Allopsalliota Nauta & Bas.* Fungi Europaei 1a. Candusso Edizioni s.a.s., Alassio.
- PARRA, L.A. & CABALLERO A. – 2017: *Agaricus pietatis*, una especie nueva de *Agaricus* sect. *Minores* encontrada en España – *Bol. Micol. FAMCAL* 12: 137-143.
- 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.
- PARRA L.A., FARAONI M. & SURIANO, E. – 2021: *Agaricus carassaii*, una especie nueva de *Agaricus* sect. *Minores* recolectada en Italia central. *Micol. e Veget. Medit.* 36 (1-2): 3-22.
- 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. *Molec. Biol. and Evol.* 30 (12): 2725-2729.

- TARAFDER E., DUTTA A. K., & ACHARYA K. – 2022: New species and new record in *Agaricus* subg. *Minores* from India. *Turkish Journ. of Bot.* 46 (2): 183-195.
- WHITE T.J., BRUNS T.D., LEE S.B., & TAYLOR, J.W. – 1990: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications* 18 (1): 315-322.
- ZHAO R., KARUNARATHNA S., RASPÉ O., PARRA L.A., GUINBERTEAU J., MOINARD, M. *et al.* – 2011: Major clades in tropical *Agaricus*. *Fungal Divers.* 51 (1): 279-296.
- 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 Divers.* 78: 239-292.