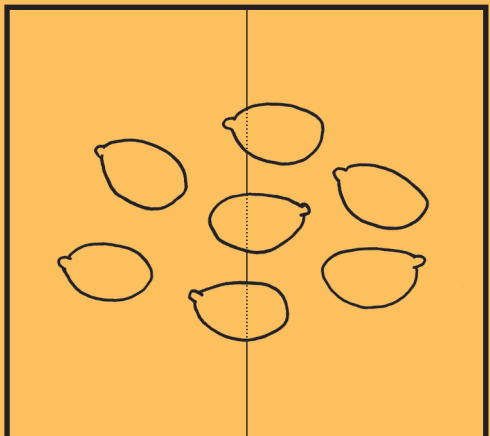
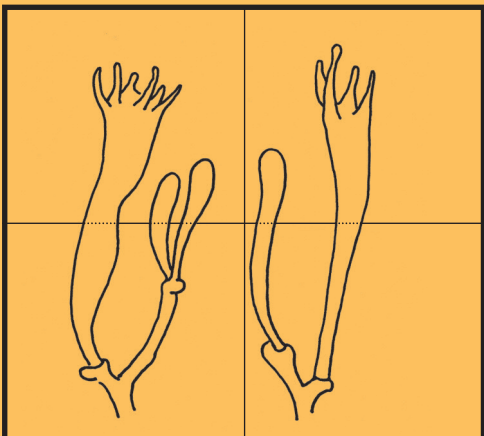
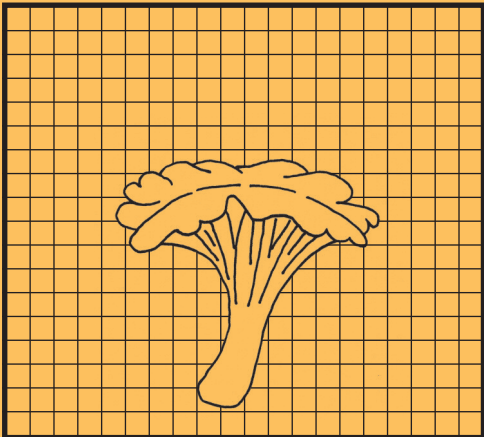


RIVISTA MICOLOGICA ROMANA

Bollettino dell'Associazione Micologica Ecologica Romana

Numero speciale (fuori serie) 2023 (3)



ALFREDO VIZZINI, PABLO ALVARADO,
GIOVANNI CONSIGLIO, CLAUDIO ANGELINI,
MAURO MARCHETTI

Lulesia Singer (1970),
an older name for *Clitocella* Kluting, T.J. Baroni &
Bergemann (2014, *Entolomataceae*) /
Lulesia Singer (1970),
un nome più vecchio di *Clitocella* Kluting,
T.J. Baroni & Bergemann (2014, *Entolomataceae*)

3

MAURO BRAGALONI

Valutazione dei vantaggi e dei rischi
per l'ambiente e l'agricoltura derivanti
dall'uso di biostimolanti microbici
a base di funghi micorrizici arbuscolari /
Evaluation of the benefits and risks
for the environment and agriculture deriving
from the use of microbial biostimulants
based on arbuscular mycorrhizal fungi

24

RIVISTA MICOLOGICA ROMANA

BOLLETTINO dell'ASSOCIAZIONE MICOLOGICA ECOLOGICA ROMANA - APS

Anno XXXIX, numero speciale (fuori serie) 2023 (3)

Data di pubblicazione: dicembre 2023

Direttore responsabile

Luigi PERRONE

Comitato di lettura

Enrico BIZIO - Eliseo BATTISTIN - Marco CLERICUZIO - Giovanni CONSIGLIO - Matteo GELARDI - Edmondo GRILLI -

Tomaso LEZZI - Enzo MUSUMECI - Giovanni SEGNERI - Alfredo VIZZINI

Redazione

Tomaso LEZZI - Luigi PERRONE - Giovanni SEGNERI

Direzione, Redazione ed Amministrazione, Via Tuscolana 548, 00181 Roma - Tel. e Fax 06-7802490

P. IVA 02120821000 - C.F. 80074620586 • e-mail: amerass1@virgilio.it • <http://www.ameronlus.it>

Autorizzazioni del Tribunale di Roma N. 96 per la versione cartacea e N. 97 per la versione on line del 22.05.2018

Periodico quadrimestrale

La Rivista è proprietà dell'A.M.E.R. La riproduzione parziale o totale degli articoli pubblicati sarà consentita solo previa autorizzazione. La pubblicazione è inviata gratuitamente ai Soci in regola con la quota associativa.

Quota associativa annuale: **Euro 35,00**

Numeri arretrati: **Euro 10,00** per l'Italia e per l'estero (per i numeri cartacei devono essere aggiunte le spese postali).

I versamenti per la quota associativa devono pervenire all'Associazione entro il mese di marzo di ogni anno.

Il pagamento può essere effettuato tramite il seguente bonifico bancario, intestato a A.M.E.R., APS, Via Tuscolana 548, 00181 Roma, presso:

Credit Agricole Italia S.p.a., Viale Regina Margherita, 188 - Roma - Codice IBAN: (per l'Italia) IT 88 V 06230 03201 000 064 338 746 - (dall'estero) BIC/SWIFT: CRPPTI2PXXX.

Il pagamento dei numeri arretrati si effettua anch'esso tramite il bonifico sopra citato.

ASSOCIAZIONE MICOLOGICA ECOLOGICA ROMANA - A.M.E.R. - APS

Presidente

Aldo GURRIERI

Segretario Generale

Leonardo GIULIANI

Tesoriere

Luciano DEL MASTRO

Consiglio Direttivo

Alessandro BUDRONI - Fabio DE STEFANI - Luciano DEL MASTRO - Gaetano FANELLI

Alessandro FRANCESCANGELI - Leonardo GIULIANI - Aldo GURRIERI - Giovanni SEGNERI - Mauro TOMASSETTI

Garante

Angelo SFERRAZZA

ALFREDO VIZZINI, PABLO ALVARADO, GIOVANNI CONSIGLIO,
CLAUDIO ANGELINI, MAURO MARCHETTI

LULESIA SINGER (1970),
AN OLDER NAME FOR *CLITOCELLA* KLUTING, T.J. BARONI & BERGEMANN
(2014, *ENTOLOMATACEAE*)

Abstract

In the present work, an epitype collection for Lulesia densifolia, type species of Lulesia, and one for Clitocybe alachuana, are designated. Multigene phylogenetic analysis suggests that Lulesia is a priority synonym of the genus Clitocella, a recent segregate from Rhodocybe s.l. Even the macroscopic appearance of the basidiomes and the shape and structure of the basidiospores are compatible with the synonymization of the two genera. Accordingly, there are thirteen species of Clitocella which have to be combined into Lulesia. Clitocella subgenus Rhodopleurella and C. subgenus Paraclitopilus are here also combined in Lulesia.

Riassunto

Nel presente lavoro vengono designati gli epitipi di Lulesia densifolia, specie tipo di Lulesia, e di Clitocybe alachuana. L'analisi filogenetica multigenica indica che Lulesia è un sinonimo prioritario del genere Clitocella, di recente segregato dal genere Rhodocybe s.l. Anche l'aspetto macroscopico dei basidiomi e la forma e struttura delle basidiospore sono concordi con la sinonimizzazione dei due generi. Tredici sono le specie di Clitocella che sono quindi da ricombinare in Lulesia. Clitocella subgenus Rhodopleurella e C. subgenus Paraclitopilus vengono qui ricombinati in Lulesia.

Key words: Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales, Tricholomatineae, rhodocyboid fungi, taxonomy

Introduction

The genus *Lulesia* was established by SINGER (1970) for accommodating two taxa previously considered as part of *Armillariella* Singer (SINGER 1951; SINGER & DIGILIO 1951), viz. *A. densifolia* Singer (type of *Lulesia*) and *Clitocybe alachuana* Murrill. The generic name *Lulesia* derives from “Quebrada de Lules”, a locality in the province of Tucumán in Argentina, where the type collection of *A. densifolia* was found (SINGER & DIGILIO 1951; SINGER 1970). SINGER (1970) differentiated *Lulesia* from *Armillariella* by having a zonate pileus, very narrow lamellae, a bitter taste, smaller spores, a trichodermic pileus covering, and a terricolous/humicolous habitat. Additionally, *L. densifolia* spores were described as smooth in some mounting media (methylene blue, carmine-acetic acid, and Melzer's reagent) but appear slightly rounded-angular and nodulose in aqueous NH₃ and KOH in light microscopy (SINGER & DIGILIO 1951; SINGER 1970, 1986). According to SINGER & DIGILIO (1951) and SINGER (1986) this slight irregularity of the spore surface would be reminiscent of the spores of the species in genus *Rhodocybe* Maire.

BARONI (1981) and BIGELOW (1982, 1985), after studying the type collection of *Clitocybe alachuana* Murrill (from Florida), considered it a later synonym of *Rhodocybe mundula* (Lasch) Singer, and this conclusion was also followed by SINGER (1986). The species recognized in *Lulesia* were recently supplemented by LECHNER *et al.* (2006) with another new species from Argentina, *L. lignicola* B.E. Lechner & J.E. Wright.

With the exclusion of *Clitocybe alachuana* from the genus, *Lulesia* was characterized by an agaricoid gymnocarpic basidiome with convex to depressed $\pm$ zonate, subglabrous to slightly velutinous, dry, brown pileus; stipe solid, concolorous to pileus, often with white rhizomorphs; lamellae decurrent, whitish, very narrow; taste farinaceous, mild to slightly bitter; spore deposit white to cream. Basidiospores largely ellipsoid, appearing rounded-angular, inamyloid; basidia 1-2 or 4-spored; cystidia absent or indistinct; hymenophoral trama regular to subregular; pileipellis a trichoderm of thick-walled, brown hyphae, inamyloid and non-dextrinoid; stipitipellis similar in structure, non-dextrinoid to dextrinoid; clamp connections absent. Terricolous, lignicolous, presumably saprotrophic; tropical to subtropical, thermophilous, Argentina (SINGER 1986; LECHNER *et al.* 2006) and Dominican Republic (ANGELINI & CONTU 2012).

Based only on morphological data, *Lulesia* was placed by SINGER (1970, 1986) in subtribe *Omphalinae* Singer (tribe *Clitocybeae* Fayod, family *Tricholomataceae* R. Heim ex Pouzar), by LECHNER *et al.* (2006) and AGERER (2018) in *Tricholomataceae* s.l., and by HE *et al.* (2019) in *incertae sedis Agaricales*. In the supplementary materials of the first molecular work also including a sequence (nrLSU) generated from a collection of *Lulesia* (VARGA *et al.* 2019), *L. densifolia* clustered within *Clitocella* Kluting, T.J. Baroni & Bergemann, a genus recently segregated from *Rhodocybe* s.l. (*Entolomataceae* Kotl. & Pouzar) (KLUTING *et al.* 2014). Based on this preliminary molecular indication KALICHMAN *et al.* (2020), in their compendium of generic names of agarics and *Agaricales*, placed *Lulesia* in the *Entolomataceae*.

No further collections of *L. densifolia* apart from the original ones were reported until recent findings in the Dominican Republic (ANGELINI & CONTU 2012). The aim of the present work was to assess the phylogenetic placement of *Lulesia* by using a multilocus molecular approach.

Materials & Methods

DNA extraction, amplification, and sequencing

Total DNA was extracted from dry specimens employing a modified protocol based on MURRAY & THOMPSON (1980). PCR reactions (MULLIS & FALOONA 1987) included 35 cycles with an annealing temperature of 54 °C. The primers ITS1F and ITS4 (WHITE *et al.* 1990; GARDES & BRUNS 1993) were employed to amplify the ITS rDNA nuclear region, LR0R and LR5 (VILGALYS & HESTER 1990; CUBETA *et al.* 1991) were used for the LSU rDNA nuclear region, EF1-983F, EF1-1567R and EF1- 2218R (REHNER & BUCKLEY 2005) for the translation elongation factor *1 α* (*tef1*) gene, and bRPB2-6F2 (reverse of bRPB2-6R2), and bRPB2-7R2 for the RNA polymerase II second largest subunit (*rpb2*) gene (MATHENY *et al.* 2007). PCR products were checked in 1% agarose gels, and amplicons were sequenced with one or both PCR primers. Sequences were corrected to remove reading errors in chromatograms.

Phylogenetic analyses

Two different datasets were built from sequences produced in the present work and others available in public databases (**Tables 1-2**): 1) *Entolomataceae*-dataset aimed to resolve the phylogenetic relationships of *L. densifolia* within this family. It included sequences of three different loci (LSU, *RPB2* and *TEF-1 α*) from the main lineages analyzed by KLUTING *et al.* (2014) and BARONI *et al.* (2020). Sequences of *Infundibulicybe geotropa* (Bull.) Harmaja (*Omphalinaceae* Vizzini, Consiglio & M. Marchetti) were employed as outgroup; 2) Based on the first larger analysis, a *Clitocella*-dataset aimed to provide a more accurate view of the position of *Lulesia* within this genus. It included sequences of five different loci (ITS, LSU, *RPB2*, *TEF-1 α* and *ATP6*) from all the species recognized in VIZZINI *et al.* (2023). Sequences of *Clitopilus prunulus* were employed as outgroup.

BLASTn (ALTSCHUL *et al.* 1990) was used to select the most closely related sequences from the International Nucleotide Sequence Database Collaboration public database (INSDC,

ARITA *et al.* 2021). All sequences employed are listed in **Tables 1-2**. Sequences first were aligned in MEGA 5.0 (TAMURA *et al.* 2011) or MEGA 6.0 (TAMURA *et al.* 2013) with its Clustal W or MUSCLE (EDGAR 2004) applications and then realigned manually as needed to establish positional homology. The analysis of Dataset 1 (*Entolomataceae*, three partitions: LSU, *RPB2* and *TEF-1α*) was run locally, while that of Dataset 2 (*Clitocella*, five partitions: ITS rDNA, LSU rDNA, *RPB2*, *TEF-1α* and *ATP6*) was run through the CIPRES Science Gateway platform (MILLER *et al.* 2010). Both datasets were loaded in MrBayes 3.2.6 (RONQUIST *et al.* 2012), where a Bayesian analysis was performed (GTR+G+I model, two simultaneous runs, four chains, temperature set to 0.2, sampling every 100th generation) until the average split frequencies between the simultaneous runs fell below 0.01 after 4.28 M (*Entolomataceae*) and 2.32 M (*Clitocella*) generations. Finally, a full search for the best-scoring maximum likelihood tree was performed in RAxML 8.2.12 (STAMATAKIS 2014) using the standard search algorithm (same partitions, GTRCAT model, 2000 bootstrap replications). The significance threshold was set above 0.95 for posterior probability (PP) and 70% bootstrap proportions (BP).

Results

In the phylogenetic tree of the *Entolomataceae* (**Fig. 1**), all the six genera currently recognized within the family (KLUTING *et al.* 2014; BARONI *et al.* 2020), viz. *Clitocella* Kluting, T.J. Baroni & Bergemann, *Clitopilopsis* Maire, *Clitopilus* (Fr. ex Rabenh.) P. Kumm., *Entoloma* (Fr.) P. Kumm. s.l., *Rhodocybe* s.s., and *Rhodophana* Kühner, were found to be significantly monophyletic. *Lulesia densifolia* clusters within *Clitocella* in its subgenus *Clitocella*. In the phylogenetic tree focused on *Clitocella* (**Fig. 2**), the three subgenera recognized by VIZZINI *et al.* (2023) were obtained again, viz. C. subgen. *Clitocella*, C. subgen. *Paraclitopilus* Vizzini & Consiglio, and C. subgen. *Rhodopleurella* Vizzini & Consiglio. *Lulesia densifolia* and *L. alachuana* fall within C. subgen. *Clitocella*.

As a consequence of these findings, the genus *Lulesia* Singer (1970) is here considered a priority synonym of *Clitocella* Kluting, T.J. Baroni & Bergemann (2014) and the necessary taxonomic modifications are proposed below (viz. species and subgenera of *Clitocella* are combined in *Lulesia*).

Lulesia Singer, *Fl. Neotrop.*, Monogr. 3: 16 (1970)

Synonyms: *Clitocella* Kluting, T.J. Baroni & Bergemann, *Mycologia* 106 (6): 1135 (2014).

Type: *Clitocella popinalis* (Fr.) Kluting, T.J. Baroni & Bergemann, *Mycologia* 106 (6): 1138 (2014).

Basionym: *Agaricus popinalis* Fr., *Syst. Mycologia*. (Lundae) 1: 194 (1821), nom. sanct.

“*Clitocella*” Kluting, T.J. Baroni & Bergemann, in Kluting, A Revised Generic Classification for the *Rhodocybe-Clitopilus* clade, Thesis, Middle Tennessee State University: 20. 2013, nom. inval., Art. 32.1 (a) (Shenzhen Code, TURLAND *et al.* 2018).

Rhodocybe sect. *Decurrentes* (Konrad & Maubl.) Singer, *Lilloa* 22: 609. 1951, partim.

Type: ***Lulesia densifolia*** (Singer) Singer, *Fl. Neotrop.*, Monogr. 3: 16 (1970)

Synonym: *Armillariella densifolia* Singer, in SINGER & DIGILIO, *Lilloa* 25: 72 (1952) [1951].

Epitype here designated (Mycobank MBT10017391): Dominican Republic, P.to Plata, Sosua, 05 Dec. 2013, *leg.* and *det.* C. Angelini, JBSD125861 (GenBank: ITS rDNA OR994620; LSU rDNA OR994669; SSU rDNA OR994670; *RPB2* PP001698, *TEF-1α* PP001699 [duplo MCVE28358 and CORT014744 (incorrectly reported as 02 Dec. 2011)]). **Figs 3 c-d, f-h.**

Lulesia alachuana (Murrill) Singer, *Fl. Neotrop.*, Monogr. 3: 17 (1970)

Synonyms: *Clitocybe alachuana* Murrill, *Proc. Fla. Acad. Sci.* 7 (2/3): 107 (1945) [1944].

Armillariella alachuana (Murrill) Singer, *Lilloa* 22: 216 (1951)

Epitype here designated (Mycobank MBT10017392): United States of America, Florida, Putnam, Ordway-Swisher Biol. Station, Mill Creek Swamp Bridge, 06 July 2017, *leg.* M. Smith, *det.* T.J. Baroni, FLAS-F-61088 (GenBank: ITS rDNA MH399861) (duplo CORT014753).5

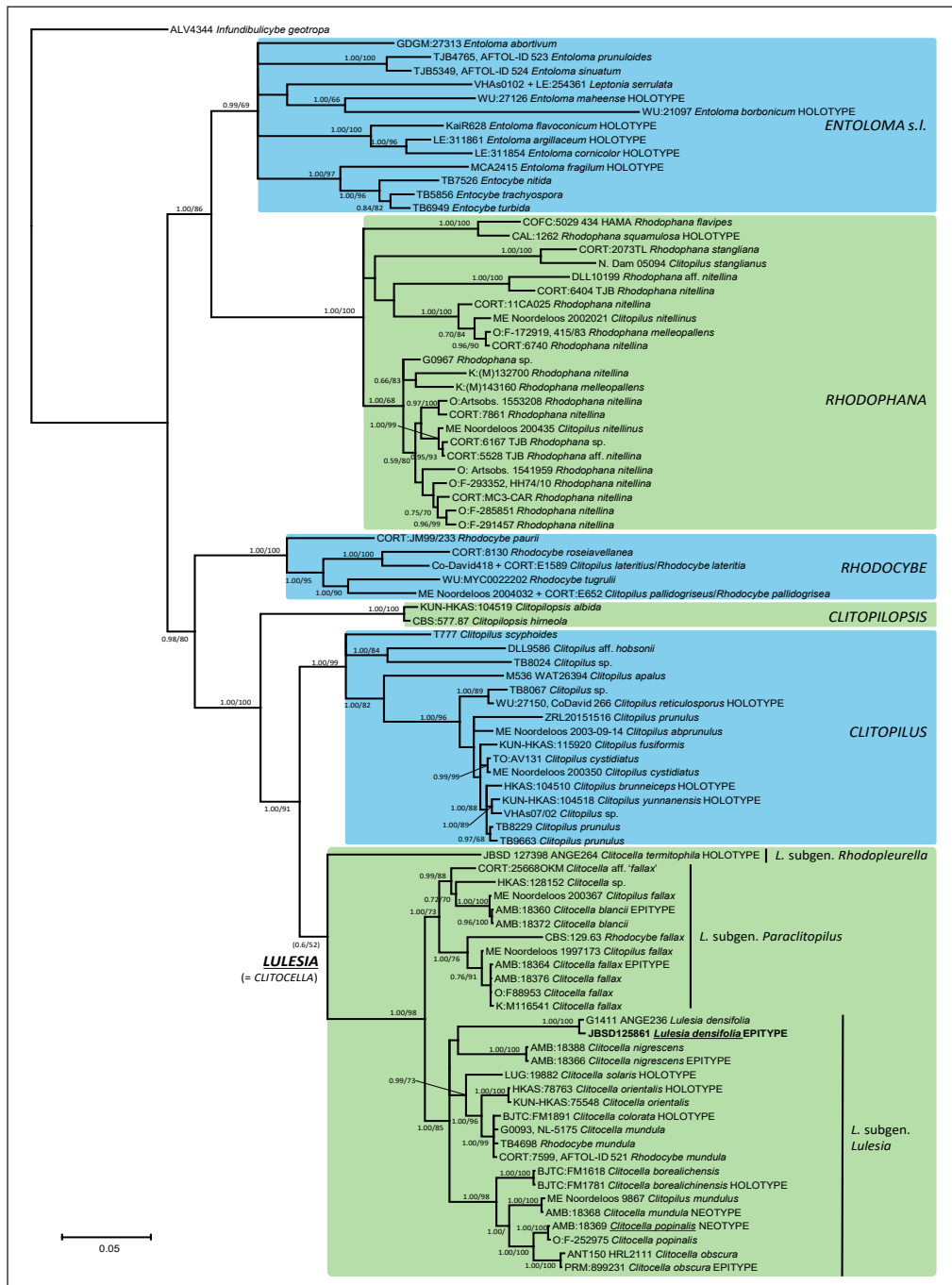


Fig. 1. Bayesian inference phylogram built with nucleotide sequence data of three loci (LSU, *RPB2*, and *TEF-1α*) of the main lineages inside family *Entomataceae*, rooted with *Infundibulicybe geotropa* (*Omphalinaceae*) as outgroup taxon. The main genera are shown in color boxes while subgenera names are shown next to vertical bars. Nodes were annotated if supported by >0.95 Bayesian PP (left) or >70% ML BP (right). Exceptionally, subsignificant values were also annotated in parentheses. Boldface names represent samples sequenced for this study.

Lulesia subgenus *Lulesia*, autonym.

Lulesia subgenus *Paraclitopilus* (Vizzini & Consiglio) Vizzini & Consiglio comb. nov.
MycoBank MB851520

Basionym: *Clitocella* subgen. *Paraclitopilus* Vizzini & Consiglio, *Persoonia* 50: 146 (2023).

Type: *Omphalia fallax* Quél., *C. r. Assoc. Franç. Avancem. Sci.* 24 (2): 617 (1896) '1895'.

Lulesia subgenus *Rhodopleurella* (Vizzini & Consiglio) Vizzini & Consiglio comb. nov.
MycoBank MB851521

Basionym: *Clitocella* subgen. *Rhodopleurella* Vizzini & Consiglio, *Persoonia* 50: 152 (2023).

Type: *Clitocella termitophila* T.J. Baroni & Angelini, in BARONI, ANGELINI, BERGEMANN, LODGE, LACEY, CURTIS & CANTRELL, *Mycol. Progr.* 19 (10): 1087 (2020).

Lulesia blancii (Maire) Vizzini, Consiglio, P. Alvarado, Angelini & M. Marchetti, comb. nov.
MycoBank MB851522

Basionym: *Rhodopaxillus blancii* Maire, *Bull. Soc. Hist. nat. Afr. N.* 36 (3): 30 (1945).

Lulesia borealichinensis (L. Fan & N. Mao) Vizzini, Consiglio, P. Alvarado, Angelini & M. Marchetti, comb. nov.
MycoBank MB851523

Basionym: *Clitocella borealichinensis* L. Fan & N. Mao, in MAO, LV, XU, ZHAO & FAN, *MycoKeys* 88: 157 (2022).

Lulesia nigrescens (Maire) Vizzini, Consiglio, P. Alvarado, Angelini & M. Marchetti, comb. nov.
MycoBank MB851524

Basionym: *Rhodopaxillus nigrescens* Maire, *Bull. Soc. Hist. nat. Afr. N.* 36 (3): 31 (1945).

Lulesia orientalis (S.P. Jian & Zhu L. Yang) Vizzini, Consiglio, P. Alvarado, Angelini & M. Marchetti, comb. nov.
MycoBank MB851525

Basionym: *Clitocella orientalis* S.P. Jian & Zhu L. Yang, in JIAN, BAU, ZHU, DENG, YANG, ZHAO, *Mycologia* 112 (2): 391 (2020).

Lulesia pallescens (Silva-Filho & Cortez) Vizzini, Consiglio, P. Alvarado, Angelini & M. Marchetti, comb. nov.
MycoBank MB851526

Basionym: *Clitocella pallescens* Silva-Filho & Cortez, in Silva-Filho, Teixeira-Silva & Cortez, *Darwiniana*, n.s. 6 (1): 61 (2018).

Lulesia solaris (Musumeci, Consiglio & Vizzini) Musumeci, Consiglio & Vizzini, comb. nov.
MycoBank MB851527

Basionym: *Clitocella solaris* Musumeci, Consiglio & Vizzini, *Persoonia* 50: 144 (2023).

Clitocella colorata L. Fan & N. Mao, *Omphalia fallax* Quél., *Agaricus mundulus* Lasch, *Rhodopaxillus obscurus* Pilát, *Agaricus popinalis* Fr., *Rhodocybe semiarboricola* T.J. Baroni, and *Clitocella termitophila* T.J. Baroni & Angelini were very recently combined in *Lulesia* via Index Fungorum e-Publishing (<https://www.indexfungorum.org/names/IndexFungorumRegister.htm>; <https://www.indexfungorum.org/names/IndexFungorumPublicationsListing.asp>) by BARONI *et al.* (2023) in a non-ethical predatory way even though we agreed on joint work.

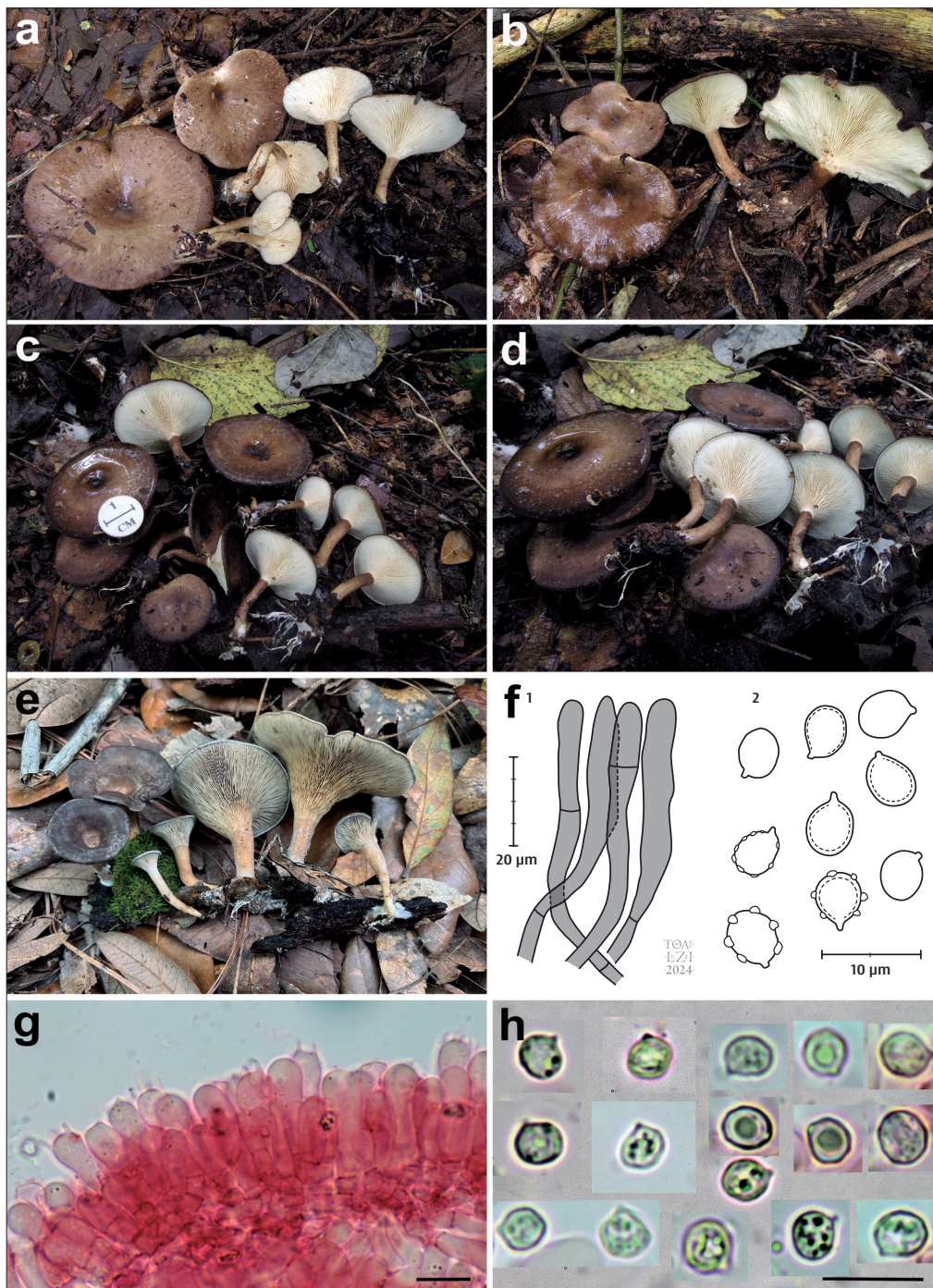


Fig. 3. *Lulesia densifolia*. Basidiomes. Photos: **a-b.** (ANGE1150); **c-d.** (JBSD125861, epitype). *Lulesia alachuana*. Photo (**e**) (FLAS:F-71949). *Lulesia densifolia*. Microscopic characters. **f.** Elements of the pileipellis (**f1**) (JBSD125861), spores (**f2**) (JBSD125861). **g.** Hymenium (basidia) and subhymenium (JBSD125861). **h.** Spores (JBSD125861). Photos (**a-d, g-h**) by C. Angelini; photo (**e**) by M. Wilson. Drawings (**f**) by T. Lezzi (from ANGELINI & CONTU, 2012). Bars: **f1** = 20 µm; **f2, g-h** = 10 µm.

Discussion

The holotype collections of *Armillariella densifolia* (Argentina, SINGER T. 367, 02/04/1949, LIL) and *Clitocybe alachuana* (Florida, FLAS-F-17903, 15/07/1938) are old and in poor conservation conditions, and therefore not usable for sequencing. Consequently, a sequenced collection of *Lulesia densifolia* from the Dominican Republic (JBSD125861) and a sequenced collection of *L. alachuana* from Florida (FLAS-F-71949), whose morphological features (ANGELINI & CONTU 2012; BARONI <https://www.mycportal.org/portal/collections/individual/index.php?occid=7960428>, and pers. observations) fit well those of the original descriptions (SINGER in SINGER & DIGILIO 1951; SINGER 1970; MURRILL 1944, respectively), were above designated as epitypes to preserve current usage of the names and to serve as reference specimens.

The fact that the *Lulesia densifolia* spores have been reported by various authors (SINGER & DIGILIO 1951; SINGER 1970; ANGELINI & CONTU 2012) as appearing slightly, obscurely rounded-angular and nodulose or slightly undulate only in certain media, has misled them from understanding the real phylogenetic affinities of the species, placing it in *Tricholomataceae* rather than in *Entolomataceae*. Our observations under optical microscopy on the collection analyzed by ANGELINI & CONTU (2012) and sequenced in the present work (JBSD125861, epitype), revealed clearly angular spores (Fig. 3h), which were found also as angular in the same collection on scanning electron microscopy (SEM) by T. Baroni (pers. comm.). Therefore, *L. densifolia* shares with the *Clitocella* species the clitocyboid habit (depressed pileus and decurrent lamellae), crowded, narrow, long-decurrent lamellae, a quite bitter taste, absence of clamp connections, and thin-walled, obscurely pustulate spores (KÜHNER & LAMOURE 1971; KLUTING *et al.* 2014; VIZZINI *et al.* 2023). *Lulesia densifolia* differs from all the *Clitocella* species so far known (VIZZINI *et al.* 2023) by the strictly trichodermic/subpalisadic structure of its pileipellis rather than a cutis, a dark-coloured stipe concolorous with the pileus, and whitish to cream spore deposit. Most species of *Lulesia* subgen. *Lulesia* (= *Clitocella* subgen. *Clitocella*) are distinguished by an irregular hymenophoral trama and a red reaction of the pileus surface to KOH (VIZZINI *et al.* 2023); *L. densifolia* shows a regular hymenophoral trama (SINGER & DIGILIO 1951; SINGER 1970, 1986; ANGELINI & CONTU 2012) and the reaction of its pileus surface to KOH (which was proved to be very important for distinguishing species within the genus “*Clitocella*” by BARONI 1981 and VIZZINI *et al.* 2023) is unknown.

Lulesia lignicola from Argentina, recently described based only on morphology (LECHNER *et al.* 2006), differs from *L. densifolia* mainly by smaller 1-2 spored basidia ($14\text{--}20 \times 4.2\text{--}5.2\ \mu\text{m}$ versus $26\text{--}29 \times 5.8\text{--}6.5\ \mu\text{m}$ in SINGER & DIGILIO 1951; SINGER 1970; $15\text{--}30 \times 6\text{--}7.5\ \mu\text{m}$ in ANGELINI & CONTU 2012), smaller spores ($3.5\text{--}4.7 \times 3.6\text{--}5\ \mu\text{m}$ versus $4.7\text{--}5.8 \times 3.5\text{--}5\ \mu\text{m}$ in SINGER & DIGILIO 1951; SINGER 1970; $4.5\text{--}6 \times 3.5\text{--}4.5\ \mu\text{m}$ in ANGELINI & CONTU 2012), and lignicolous versus terricolous habitat.

Lulesia alachuana, so far known only from Florida, due to its greyish pileus (Fig. 3e), pileipellis as a cutis, subglobose, slightly angular, undulate pustulate or nearly smooth spores, a hymenophoral trama of interwoven hyphae, and bitter taste (MURRILL 1944; BIGELOW 1982) is morphologically a good member of *Lulesia* subgen. *Lulesia*, as molecularly supported in the analysis (Fig. 2) where it is sister to a strongly supported clade consisting of *L. mundula*, *L. popinalis* and *L. obscura* (all with greyish colours, irregular hymenophoral trama and red reaction to KOH). Because of its subglobose spores $5.5\text{--}6 \times 5\ \mu\text{m}$, and growth on forest litter *L. alachuana* seems quite close to *L. mundula* and in fact it was considered a later synonym of the latter by some authors [T. BARONI's handwritten notes (1978) accompanying the holotype of *C. alachuana*, <https://www.mycportal.org/portal/collections/individual/indephp?occid=604249>; BARONI (1981); BIGELOW (1982, 1985); SINGER (1986)]. It morphologically seems to differ mainly by a non-blackening context and different rDNA sequences (Fig. 2). The reaction of its pileus surface to KOH is unknown.

Lulesia termitophila (T.J. Baroni & Angelini) T.J. Baroni & Angelini (ITS, LSU and *RPB2* sequences) from the Dominican Republic, seems sister (0.60 PP, 52 BP) to the core of *Lulesia* (*L.* subgen. *Lulesia* + *L.* subgen. *Paraclitopilus*, Fig. 1-2) in our analysis, and represents an independent evolutive line (*Lulesia* subgen. *Rhodopleurella*). This species occupied a position outside the core of the “*Clitocella*” species already in the phylogenetic analyses by BARONI

et al. (2020), MAO *et al.* (2022) and VIZZINI *et al.* (2023) based only on a *RPB2* sequence. The thin-walled basidiospores with obscure, rounded angularity in polar view and an obscurely pustulate-bumpy surface are typical features also of species placed in “*Clitocella*” (KLUTING *et al.* 2014; BARONI *et al.* 2020). However, the ellipsoid basidiospores, the eccentric stipe (pleurotoid habit), and the habit of growing on decaying woody materials of an arboreal termite nest are diagnostic features (BARONI *et al.* 2020).

Further investigations could demonstrate in the future whether or not this taxon deserves the rank of independent genus.

Table 1. Taxa, vouchers, and GenBank accessions numbers of the DNA sequences used in the *Entolomataceae*-wide phylogenetic analysis inferred from a three-gene dataset (LSU, *RPB2*, and *TEF-1 α*). Sequences in bold were generated in this study.

SPECIES (revised name)	LABEL (GenBank)	VOUCHER	GENBANK ACCESSION No.			REFERENCE
			nrLSU	<i>RPB2</i>	<i>TEF-1α</i>	
<i>Clitopilopsis albida</i>	<i>Clitopilopsis albida</i>	KUN-HKAS:104519	MN065730	MN148167	MN166278	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Clitopilopsis hirneola</i>	<i>Clitopilopsis hirneola</i>	CBS:577.87	AF223163	–	–	MONCALVO <i>et al.</i> 2002
<i>Clitopilus</i> aff. <i>hobsonii</i>	<i>Clitopilus</i> aff. <i>hobsonii</i>	DLL9586	KJ021698	–	–	LARGENT <i>et al.</i> 2014
<i>Clitopilus apalus</i>	<i>Clitopilus apalus</i>	M536, WAT26394	AF261287	–	–	MONCALVO <i>et al.</i> 2002
<i>Clitopilus brunneiceps</i>	<i>Clitopilus brunneiceps</i>	HKAS:104510 (HOLOTYPE)	NG_068895	MN148123	MN166234	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Clitopilus cystidiatus</i>	<i>Clitopilus cystidiatus</i>	ME Noordeloos 200350 isolate 26	GQ289147	GQ289220	–	CO-DAVID <i>et al.</i> 2009
<i>Clitopilus cystidiatus</i>	<i>Clitopilus cystidiatus</i>	TO:AV131	HM623133	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2011
<i>Clitopilus fusiformis</i>	<i>Clitopilus fusiformis</i>	KUN-HKAS:115920	MZ853556	MZ826360	MZ826358	HE <i>et al.</i> 2022
<i>Clitopilus prunulus</i>	<i>Clitopilus prunulus</i>	ME Noordeloos 2003-09-14 isolate 2	GQ289149	GQ289221	–	CO-DAVID <i>et al.</i> 2009
<i>Clitopilus prunulus</i>	<i>Clitopilus prunulus</i>	TB8229	GU384615	GU384650	–	BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Clitopilus prunulus</i>	<i>Clitopilus prunulus</i>	TB9663	GU384614	GU384648	–	BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Clitopilus prunulus</i>	<i>Clitopilus prunulus</i>	ZRL20151516	KY418853	KY419000	KY419056	ZHAO <i>et al.</i> 2017
<i>Clitopilus scyphoides</i>	<i>Clitopilus scyphoides</i>	T777	AF261288	–	–	MONCALVO <i>et al.</i> 2002

SPECIES (revised name)	LABEL (GenBank)	VOUCHER	GENBANK ACCESSION No.			REFERENCE
			nrLSU	RPB2	TEF-1 α	
<i>Clitopilus reticulosporus</i>	<i>Clitopilus</i> sp.	WU 27150/DC-2010 isolate Co-David 266 (HOLOTYPE)	NG_064318	HM164416	–	MORGADO <i>et al.</i> 2016
<i>Clitopilus</i> sp.	<i>Clitopilus</i> sp.	TB8024	GU384613	GU384647	–	BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Clitopilus</i> sp.	<i>Clitopilus</i> sp.	TB8067	AF261286	GU384649	–	BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Clitopilus</i> sp.	<i>Clitopilus</i> sp.	VHAs07/2	EF421092	DQ825408	EF421086	HOFSTETTER <i>et al.</i> , unpublished
<i>Clitopilus yunnanensis</i>	<i>Clitopilus yunnanensis</i>	KUN-HKAS:104518 (JSP223) (HOLOTYPE)	MN065698	MN148136	MN166247	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Entocybe nitida</i>	<i>Entoloma nitidum</i>	TB7526	GU384626	GU384655	–	BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Entocybe trachyspora</i>	<i>Rhodocybe trachyspora</i>	TB5856	GU384629	GU384658	–	BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Entocybe turbida</i>	<i>Entoloma turbidum</i>	TB6949	GU384630	GU384656	–	BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Entoloma abortivum</i>	<i>Entoloma abortivum</i>	GDGM:27313	JQ320117	–	–	HE <i>et al.</i> 2013
<i>Entoloma argillaceum</i>	<i>Entoloma argillaceum</i>	LE:311861 (HOLOTYPE)	OL338531	OL405237	OL405537	RESCHKE <i>et al.</i> 2022
<i>Entoloma borbonicum</i>	<i>Entoloma borbonicum</i>	WU:21097 (HOLOTYPE)	NG_067819	MH190131	MH190166	KARSTEDT <i>et al.</i> 2019
<i>Entoloma cornicolor</i>	<i>Entoloma cornicolor</i>	LE:311854 (HOLOTYPE)	OL338535	OL405243	OL405536	RESCHKE <i>et al.</i> 2022
<i>Entoloma flavoconicum</i>	<i>Entoloma flavoconicum</i>	KaiR628 (HOLOTYPE)	MZ611667	OL405244	OL405507	RESCHKE <i>et al.</i> 2022
<i>Entoloma fragilum</i>	<i>Entoloma fragilum</i>	BRGAime2415 (HOLOTYPE)	NG_059244	KJ021694	MG702622	LARGENT <i>et al.</i> 2014
<i>Entoloma maheense</i>	<i>Entoloma maheense</i>	WU27126 (HOLOTYPE)	NG_153985	OL405255	OL405553	RESCHKE <i>et al.</i> 2022
<i>Entoloma prunuloides</i>	<i>Entoloma prunuloides</i>	AFTOL-ID 523, TJB4765	AY700180	DQ385883	DQ457633	MATHENY <i>et al.</i> 2007
<i>Entoloma sinuatum</i>	<i>Entoloma sinuatum</i>	AFTOL-ID 524, TJB5349	AY691891	KJ424375	–	SÁNCHEZ-GARCÍA <i>et al.</i> 2014
<i>Infundibulicybe geotropa</i>	<i>Infundibulicybe geotropa</i>	ALV4344 + AMB:18861	KT122793	OQ672601	PP001700	VIZZINI <i>et al.</i> 2023, this study
<i>Leptonia serrulata</i>	<i>Leptonia serrulata</i>	VHAs0102 + LE:254361	GU384624	GU384634	–	BARONI <i>et al.</i> 2011

SPECIES (revised name)	LABEL (GenBank)	VOUCHER	GENBANK ACCESSION No.			REFERENCE
			nrLSU	RPB2	TEF-1 α	
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitocella blancii</i>	AMB:18360 (EPITYPE)	NG_228964	ON524537	ON524566	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitocella blancii</i>	AMB:18372	ON502628	ON524539	ON524568	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia borealichinensis</i>	<i>Clitocella</i> sp.	BJTC:FM1618	–	OL989912	–	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia borealichinensis</i>	<i>Lulesia borealichinensis</i>	BJTC:FM1781 (HOLOTYPE)	NG_088314	OL989913	OL989917	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	BJTC:FM1891 (HOLOTYPE)	NG_088313	OL989914	OL989918	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia densifolia</i>	<i>Lulesia densifolia</i>	JBSD125861, ANGE236 (EPITYPE)	OR994620	PP001698	PP001699	This study
<i>Lulesia densifolia</i>	<i>Lulesia densifolia</i>	ANGE-236, G1411	MK278305	–	–	VARGA <i>et al.</i> 2019
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	AMB:18364 (EPITYPE)	ON502634	ON524546	ON524573	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	AMB:18376	ON502633	ON524544	ON524571	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Rhodocybe fallax</i>	CBS:129.63	AF223166	–	–	MONCALVO <i>et al.</i> 2002
<i>Lulesia</i> aff. "fallax"	<i>Clitocella fallax</i>	CORT:25668OKM	–	KC816937	KC816846	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	K:116541	–	KC816938	KC816847	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitopilus fallax</i>	ME Noordeloos 1997173 isolate 262	GQ289209	GQ289275	–	CO-DAVID <i>et al.</i> 2009
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitopilus fallax</i>	ME Noordeloos 200367 isolate 37	GQ289210	GQ289276	–	CO-DAVID <i>et al.</i> 2009
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	O:F88953	–	KC816936	KC816845	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Rhodocybe mundula</i>	CORT:7599, AFTOL-521	AY700182	DQ474128	–	MATHENY <i>et al.</i> 2007
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	AMB:18368 (NEOTYPE)	ON502636	ON524548	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella mundula</i>	G0093, NL-5175	MK278567	–	–	VARGA <i>et al.</i> 2019
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Rhodocybe mundula</i>	TB4698	AF261284	–	–	MONCALVO <i>et al.</i> 2002
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	AMB:18366 (EPITYPE)	–	ON524553	ON524576	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	AMB:18388	ON502642	ON524556	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023

SPECIES (revised name)	LABEL (GenBank)	VOUCHER	GENBANK ACCESSION No.			REFERENCE
			nrLSU	RPB2	TEF-1 α	
<i>Lulesia obscura</i>	<i>Clitocella obscura</i>	ANT150, HRL2111	ON923665	ON934195	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia obscura</i>	<i>Clitocella obscura</i>	PRM:899231 (EPITYPE)	ON502645	ON524559	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia orientalis</i>	<i>Clitocella orientalis</i>	HKAS:78763 (HOLOTYPE)	NG_068897	MN148165	MN166276	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Lulesia orientalis</i>	<i>Clitocella orientalis</i>	KUN-HKAS:75548 (Cai794)	MN065727	MN148164	MN166275	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	AMB:18369 (NEOTYPE)	ON502649	ON524563	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitopilus popinalis</i>	ME Noordeloos 9867	GQ289213	GQ289280	–	Co-DAVID <i>et al.</i> 2009
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	O:F252975	ON502647	ON524561	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia solaris</i>	<i>Clitocella solaris</i>	LUG:19882 (HOLOTYPE)	ON923666	ON934197	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia</i> sp.	<i>Clitocella</i> sp.	WL-2023a HKAS:128152	OR067883	OR077302	–	Lu <i>et al.</i> , unpublished
<i>Lulesia termitophila</i>	<i>Clitocella termitophila</i>	JBSD 127398 ANGE264 (HOLOTYPE), CORT014751 (ISOTYPE)	PP028781	MN893319	–	This study, BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Rhodocybe lateritia</i>	<i>Clitopilus lateritius</i> / <i>Rhodocybe lateritia</i>	Co-David418 + CORT:E1589	HM164410	KC816942	KC816852	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodocybe pallidogrisea</i>	<i>Clitopilus pallidogriseus</i> / <i>Rhodocybe pallidogrisea</i>	ME Noordeloos 2004032 + CORT:E652	GQ289216	KC816968	KC816875	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodocybe paurii</i>	<i>Rhodocybe paurii</i>	CORT:JM99/233	AY286004	KC816969	KC816876	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodocybe roseiavellanea</i>	<i>Rhodocybe roseiavellanea</i>	CORT:8130 TJB	KR869930	KC816982	KC816889	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodocybe tugruii</i>	<i>Rhodocybe tugruii</i>	WU:MYC0022202	OP363999	OP381082	OP381084	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Rhodophana</i> aff. <i>nitellina</i>	<i>Rhodophana</i> aff. <i>nitellina</i>	CORT:5528, TJB5528	–	KC816962	KC816869	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana</i> aff. <i>nitellina</i>	<i>Rhodophana</i> aff. <i>nitellina</i>	DLL10199	–	KC816967	KC816874	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana flavipes</i>	<i>Rhodophana flavipes</i>	COFC:5029 434 HAMA	–	KC816984	KC816891	KLUTING <i>et al.</i> 2014

SPECIES (revised name)	LABEL (GenBank)	VOUCHER	GENBANK ACCESSION No.			REFERENCE
			nrLSU	RPB2	TEF-1 α	
<i>Rhodophana melleopallens</i>	<i>Rhodophana melleopallens</i>	K:M143160	–	KC816945	KC816855	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana melleopallens</i>	<i>Rhodophana melleopallens</i>	O:172919	–	KC816946	KC816856	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	CORT:11CA025	–	KC816965	KC816872	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	CORT:6404	–	KC816963	KC816870	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	CORT:6740	–	KC816964	KC816871	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	CORT:7861	–	KC816959	KC816866	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	CORT:MC3-CAR	–	KC816955	–	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	K:(M)132700	–	KC816960	KC816867	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Clitopilus nitellinus</i>	ME Noordeloos 2002021 isolate 265	GQ289214	GQ289281	–	Co-DAVID <i>et al.</i> 2009
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Clitopilus nitellinus</i>	ME Noordeloos 200435 isolate 400	GQ289215	GQ289282	–	Co-DAVID <i>et al.</i> 2009
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	O:Artsobs1541959	–	KC816961	KC816868	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	O:Artsobs1553208	–	KC816966	KC816873	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	O:F285851	–	KC816956	–	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	O:F291457	–	KC816957	–	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana nitellina</i>	<i>Rhodophana nitellina</i>	O:F293352 HH74/10	–	KC816958	KC816865	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana</i> sp.	<i>Rhodophana</i> sp.	CORT:6167	–	KC816983	KC816890	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana</i> sp.	<i>Rhodophana</i> sp.	G0967, NL-5401	MK278565	–	–	VARGA <i>et al.</i> 2019
<i>Rhodophana squamulosa</i>	<i>Rhodophana squamulosa</i>	CAL:1262 (HOLOTYPE)	NG_060152	KT180331	–	ANIL RAJ <i>et al.</i> 2016
<i>Rhodophana stangliana</i>	<i>Rhodophana stangliana</i>	CORT:2073TL	–	KC816992	KC816899	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Rhodophana stangliana</i>	isolate 503 <i>Clitopilus stanglianus</i>	N. Dam 05094	GQ289218	GQ289285	–	Co-DAVID <i>et al.</i> 2009

Table 2. Taxa, vouchers, countries, and GenBank accessions numbers of the DNA sequences used in the *Clitocella*-wide phylogenetic analysis inferred from a five-gene dataset (ITS, LSU, *RPB2*, *TEF-1 α* and *ATP6*). Sequences in bold were generated in this study.

SPECIES (revised name)	LABEL (GENBANK- UNITE)	VOUCHER	COUNTRY	GENBANK ACCESSION No.					REFERENCE
				nrITS	nrLSU	RPB2	TEF-1 α	ATP6	
<i>Clitopilus prunulus</i>	<i>Clitopilus prunulus</i>	KUN-HKAS: 96158 (EPITYPE)	Austria	NR_172770	MN065691	MN148129	MN166240	MN133745	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Lulesia alachuana</i>	<i>Lulesia alachuana</i>	FLAS:F-61088 (EPITYPE)	USA: Florida	MH399861	–	–	–	–	KAMINSKY <i>et al.</i> 2019, unpublished
<i>Lulesia alachuana</i>	<i>Clitocella</i> sp.	FLAS:F-71949 -iNaturalist-183000711	USA: Florida	OR664077	–	–	–	–	SHEFFER & SMITH 2023, unpublished
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitocella blancii</i>	AMB:18360 (EPITYPE)	Italy	ON502686	ON502626	ON524537	ON524566	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitocella blancii</i>	AMB:18371	Italy	ON502687	ON502627	ON524538	ON524567	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitocella blancii</i>	AMB:18372	Italy	ON502688	ON502628	ON524539	ON524568	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitocella blancii</i>	AMB:18373	Italy	–	–	ON524540	ON524569	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitocella blancii</i>	AMB:18855	Spain	ON502689	ON502629	–	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Clitopilus fallax</i>	ME Noordeloos 200367	Slovakia	–	GQ289210	GQ289276	–	–	CO-DAVID <i>et al.</i> 2009
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Rhodocybe amarella</i>	MCVE:1003 (HOLOTYPE of <i>Rhodocybe amarella</i>)	Italy	ON502690	–	–	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia blancii</i>	<i>Rhodocybe ochraceopallida</i>	FP402	ITALY	ON502691	–	–	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia borealichinensis</i>	<i>Clitocella borealichinensis</i>	BJTC:FM1618	China	OL966942	OL966946	OL989912	–	OL989922	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia orelichinensis</i>	<i>Clitocella borealichinensis</i>	BJTC:FM1781 (HOLOTYPE)	CHINA	OL966943	OL966957	OL989913	OL989917	OL989923	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Rhodocybe obscura</i>	AMB:18391	Italy	ON502692	ON502630	ON524541	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	BJTC:FM1593	CHINA	OL966940	–	–	–	–	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	BJTC:FM1594	China	OL966941	–	–	–	–	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	BJTC:FM1891 (HOLOTYPE)	China	OL966944	OL966955	OL989914	OL989918	OL989924	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	BJTC:FM1892	China	OL966945	OL966956	OL989915	OL989919	OL989925	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	BJTC:FM1952	CHINA	–	OL966958	OL989916	OL989920	OL989926	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	CBS:481.50	France	FJ770397	–	–	–	–	HARTLEY <i>et al.</i> 2009

SPECIES (revised name)	LABEL (GENBANK)	VOUCHER	COUNTRY	GENBANK ACCESSION No.					REFERENCE
				nrITS	nrLSU	RPB2	TEF-1 α	ATP6	
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella</i> sp.	FLAS:F-70982	USA	OP932049	OP932040	–	–	–	LEMOND 2022, unpublished
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	HBJU-550	India	KU561066	–	–	–	–	KOUR <i>et al.</i> 2016
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	KA12-1717	South Korea	KR673647	–	–	–	–	KIM <i>et al.</i> 2015
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	RA802-3b	USA: Arkansas	MK217434	–	–	–	–	ALANBAGI <i>et al.</i> 2020, unpublished
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella mundula</i>	TENN:074481	USA: Tennessee	MT237519	–	–	–	–	MATHENY <i>et al.</i> 2020, unpublished
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocybe</i> sp.	S.D. Russell MycoMap 7768	USA: Indiana	MK532767	–	–	–	–	RUSSELL 2019, unpublished
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	Smith-2018 iNaturalist # 17340579	USA: Wisconsin	MK573922	–	–	–	–	RUSSELL 2019, unpublished
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella mundula</i>	TJB7599 (AFTOL-ID 521)	USA: New York	–	–	KC816953	KC816863	KC816783	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	TUF:106376	Estonia	UDB011645	–	–	–	–	UNITE
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	TUF:120607a	Estonia	ON502693	ON502631	ON524542	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia colorata</i>	<i>Clitocella colorata</i>	TUF:120607b	Estonia	UDB031317	–	–	–	–	UNITE
<i>Lulesia densifolia</i>	<i>Lulesia densifolia</i>	JBSD125861 (EPI TYPE) ANGE-236	Dominican Republic	OR994620	OR994669	PP001698	PP001699	–	This study
<i>Lulesia densifolia</i>	<i>Lulesia densifolia</i>	ANGE-236	Dominican Republic	–	MK278305	–	–	–	VARGA <i>et al.</i> 2019
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	AMB:18364 (EPI TYPE)	Italy	ON502696	ON502634	ON524546	ON524573	ON934200	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	AMB:18375	Italy	ON502694	ON502632	ON524543	ON524570	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	AMB:18376	Italy	ON502695	ON502633	ON524544	ON524571	ON934199	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	TO:AV5201320	Italy	ON502697	–	–	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	AMB:18377	Italy	–	–	ON524545	ON524572	ON934198	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Rhodocybe fallax</i>	CBS:605.79	France	AF357018	–	–	–	–	HOFSTETTER <i>et al.</i> 2002
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitopilus amarus</i>	A. d. Haan 98031	Belgium	KC885963	–	–	–	–	MORGADO <i>et al.</i> 2016
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitopilus amarus</i>	BR A. d. Haan 96-121 (HOLOTYPE)	Belgium	OP002024	OP002025	OP021856	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitopilus fallax</i>	ME Noordeloos 1997173	Italy	–	GQ289209	GQ289275	–	–	CO-DAVID <i>et al.</i> 2009

SPECIES (revised name)	LABEL (GENBANK)	VOUCHER	COUNTRY	GENBANK ACCESSION No.					REFERENCE
				nrITS	nrLSU	RPB2	TEF-1 α	ATP6	
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitopilus scyphoides</i>	WU-MYC 0016359	Austria	ON922913	–	ON934196	–	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Rhodocybe fallax</i>	CBS:129.63	France	AF357017	AF223166	EF421018	–	–	HOFSTETTER et al. 2002
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	O:F-88953	Norway	–	–	KC816936	KC816845	KC816767	KLUTING et al. 2014
<i>Lulesia fallax</i>	<i>Clitocella fallax</i>	K:(M) 116541	Spain	–	–	KC816938	KC816847	KC816769	KLUTING et al. 2014
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	HMJAU:27014	China	–	MN065722	MN148159	MN166270	MN133779	JIAN et al. 2020
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	HMJAU:7275	China	–	MN065723	MN148160	MN166271	MN133780	JIAN et al. 2020
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	HMJAU:7274	China	–	MN065724	MN148161	MN166272	MN133781	JIAN et al. 2020
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	AMB:18367	Italy	ON502698	ON502635	ON524547	–	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitopilus popinalis</i>	ME Noordeeloos 9867	Austria	–	GQ289213	GQ289280	–	–	CO-DAVID et al. 2009
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	AMB:18370	Italy	ON502700	ON502637	ON524549	–	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	AMB:18368 (NEOTYPE)	Italy	ON502699	ON502636	ON524548	–	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	AMB:18853	Italy	ON502701	ON502638	ON524550	ON524574	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	O:F-71544	Norway	–	–	KC816950	KC816860	KC816780	KLUTING et al. 2014
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	TJB7115	USA: New York	–	–	KC816951	KC816861	KC816781	KLUTING et al. 2014
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella mundula</i>	TJB7161	USA: New York	–	–	KC816952	KC816862	KC816782	KLUTING et al. 2014
<i>Lulesia mundula</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	CORT:MC2-TRENT	Italy	–	–	KC816973	–	KC816798	KLUTING et al. 2014
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	AMB:18366 (EPITYPE)	Italy	ON502704		ON524553	ON524576	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	AMB:18387	Italy	ON502705	ON502640	ON524554	–	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	AH:54311	Spain	ON502703	ON502639	ON524551	–	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	GM:081227-1	Spain	ON502706	ON502641	ON524555	–	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	AMB:18392	Italy	ON502709	ON502643	ON524557	–	–	VIZZINI et al. 2023
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	LIP:94112502	France	ON502702	–	–	–	–	VIZZINI et al. 2023

SPECIES (revised name)	LABEL (GENBANK)	VOUCHER	COUNTRY	GENBANK ACCESSION No.					REFERENCE
				nrITS	nrLSU	RPB2	TEF-1 α	ATP6	
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	AMB:18365	Italy	–	–	ON524552	ON524575	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Clitocella nigrescens</i>	AMB:18388	France	ON502707	ON502642	ON524556	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia nigrescens</i>	<i>Rhodocybe cupressicola</i>	MCVE:15200 (HOLOTYPE of <i>Rhodocybe cupressicola</i>)	Italy	ON502708	–	–	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia obscura</i>	<i>Clitocella obscura</i>	BRNM 666712	Czech Republic	ON502710	ON502644	ON524558	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia obscura</i>	<i>Clitocella obscura</i>	MK09051302 -BRNM:666712	Czech Republic	KX271753	–	–	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2016
<i>Lulesia obscura</i>	<i>Clitocella obscura</i>	PRM:899231	Czech Republic	ON502711	ON502645	ON524559	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia obscura</i>	<i>Clitocella obscura</i>	AMB:18856	Italy	ON502712	ON502646	ON524560	ON524577	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia obscura</i>	<i>Clitocella mundula</i>	O:F-19454	Norway	–	–	KC816954	KC816864	KC816784	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia obscura</i>	<i>Clitocella mundula</i>	ANT150- HRL2111	Canada	MN992316	ON923665	ON934195	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia orientalis</i>	<i>Clitocella orientalis</i>	KUN- HKAS:75548	China	MN061333	MN065727	MN148164	MN166275	MN133784	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Lulesia orientalis</i>	<i>Clitocella orientalis</i>	KUN- HKAS:75664	China	MN061332	MN065726	MN148163	MN166274	MN133783	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Lulesia orientalis</i>	<i>Clitocella orientalis</i>	KUN- HKAS:77899	China	–	MN065725	MN148162	MN166273	MN133782	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Lulesia orientalis</i>	<i>Clitocella orientalis</i>	KUN- HKAS:78763 (HOLOTYPE)	China	–	MN065728	MN148165	MN166276	MN133785	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Lulesia orientalis</i>	<i>Clitocella orientalis</i>	KUN- HKAS:78876	China	MN061334	MN065729	MN148166	MN166277	MN133786	JIAN <i>et al.</i> 2020
<i>Lulesia orientalis</i>	<i>Clitocella orientalis</i>	BJTC:FM1539	China	–	OL966947	OL989911	OL989921	–	MAO <i>et al.</i> 2022
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	O:F-252975a	Norway	ON502713	ON502647	ON524561	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Rhodocybe popinalis</i>	O:F-253176a	Norway	UDB017726	–	–	–	–	UNITE
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Rhodocybe popinalis</i>	O:F-252975b	Norway	UDB037336	–	–	–	–	UNITE
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	AMB:18369 (NEOTYPE)	Italy	ON502715	ON502649	ON524563	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	O:F-253176b	Norway	ON502714	ON502648	ON524562	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella mundula</i>	K:(M) 49620	United Kingdom	–	–	KC816948	KC816858	KC816778	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	K:(M) 143166	United Kingdom	–	–	KC816971	KC816878	KC816796	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	K:(M) 146162	United Kingdom	–	–	KC816970	KC816877	KC816795	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella mundula</i>	K:(M) 164736	United Kingdom	–	–	KC816949	KC816859	KC816779	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	K:(M) 167017	United Kingdom	–	–	KC816972	KC816879	KC816797	KLUTING <i>et al.</i> 2014

SPECIES (revised name)	LABEL (GENBANK)	VOUCHER	COUNTRY	GENBANK ACCESSION No.					REFERENCE
				nrITS	nrLSU	RPB2	TEF-1 α	ATP6	
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	O:F-63376	Norway	–	–	KC816974	KC816880	KC816799	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	O:F-105360	Norway	–	–	KC816975	KC816881	KC816800	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	TJB6378	Switzerland	–	–	KC816976	KC816882	KC816801	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	TB6378	Switzerland	–	AF261285	GU384654	–	–	MONCALVO <i>et al.</i> 2002, BARONI <i>et al.</i> 2011
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	AMB:18389	Italy	ON502716	ON502650	ON524564	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	AMB:18390	Italy	ON502717	ON502651	–	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia popinalis</i>	<i>Clitocella popinalis</i>	CL:911012-34	Switzerland	ON502718	ON502652	ON524565	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia solaris</i>	<i>Clitocella solaris</i>	LUG:19882 (HOLOTYPE)	Switzerland	ON922914	ON923666	ON934197	–	–	VIZZINI <i>et al.</i> 2023
<i>Lulesia</i> sp.	<i>Clitocella fallax</i>	OKM:25668	USA: Oregon	–	–	KC816937	KC816846	KC816768	KLUTING <i>et al.</i> 2014
<i>Lulesia termitophila</i>	<i>Clitocella termitophila</i>	JBSD 127398 ANGE264 (HOLOTYPE), CORT014751 (ISOTYPE)	Dominican Republic	PP028782	PP028781	MN893319	–	–	This study , BARONI <i>et al.</i> 2020

Acknowledgements

We owe a particular debt of gratitude towards the following colleagues who have collaborated, at various titles, in accomplishing the present paper, apologizing, right from the start, for possible, unintentional omissions: M.E. Smith, M. Wilson, and C. Willis (University of Florida, USA); T. Varga and L.G. Nagy (Hungarian Academy of Sciences, Szeged, Hungary). C. Angelini wishes to thank P. Suarez, F. Jiménez, T. Clase, E. Septimo, M.C. Nova (Jardín Botánico Nacional Dr. Rafael M. Moscoso, Santo Domingo, Dominican Republic) for their interest and encouragement in studying fungi of the Dominican Republic and for their active cooperation in providing herbarium material preserved at their institution.

Indirizzi degli autori

ALFREDO VIZZINI

Department of Life Sciences and Systems Biology, University of Torino, Viale P.A. Mattioli 25, 10125, Turin, Italy; Institute for Sustainable Plant Protection (IPSP-SS Turin), C.N.R., Viale P.A. Mattioli, 25, 10125, Turin, Italy.

Email: alfredo.vizzini@unito.it

PABLO ALVARADO

ALVALAB, Dr. Fernando Bongera st., Severo Ochoa bldg. S1.04, 3006 Oviedo, Spain.

Email: pablo.alvarado@gmail.com

GIOVANNI CONSIGLIO

Via Ronzani 61, Casalecchio di Reno, 40033, Bologna, Italy.

Email: giovanni.consiglio45@gmail.com

CLAUDIO ANGELINI

Via Cappuccini 78/8, Pordenone (PN), Italy.

Jardín Botánico Nacional Dr. Rafael Ma. Moscoso, Santo Domingo, Dominican Republic.

Email: claudio_angelini@libero.it

MAURO MARCHETTI

Via Molise 8, 56123, Pisa, Italy.

Email: marchettimauro@alice.it

References

- AGERER R. – 2018: Subphylum *Agaricomycotina* Doweld. In: BEGEROW D., AGERER R., McTAGGART A., *Basidiomycota* and *Entorrhizomycota*. A. Engler's Syllabus of Plant Families, part 1/3 (Frey W., ed). Borntraeger, Stuttgart, Germany: 130-444.
- ALTSCHUL S.F., GISH W., MILLER W. *et al.* – 1990: Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403-410.
- ANGELINI C. & CONTU M. – 2012: *Lulesia densifolia* (Basidiomycota, Agaricomycetes) rinvenuta nella Repubblica Dominicana (Caraibi). *Rivista Micologica Romana, Bollettino AMER*, Anno XXVIII, 86 (2): 20-24.
- ANIL RAJ K.N., DEEPNA LATHA K.P., IYYAPPAN R. *et al.* 2016: *Rhodophana squamulosa* - a new species of *Entolomataceae* from India. *Mycoscience* 57(2): 90-95.
- ARITA M., KARSCH-MIZRACHI I. & COCHRANE G. – 2021: The international nucleotide sequence database collaboration. *Nucleic Acids Research* 49: D121-D124.
- BARONI T.J. – 1981: A revision of the genus *Rhodocybe* Maire (Agaricales). *Nova Hedwigia, Beihefte* 67: 1-194.
- BARONI T.J., HOFSTETTER V., LARGENT D.L. *et al.* – 2011: *Entocybe* is proposed as a new genus in the *Entolomataceae* (Agaricomycetes, Basidiomycota) based on morphological and molecular evidence. *North American Fungi* 6 (12): 1-19.
- BARONI T.J., ANGELINI C., BERGEMANN S.E. *et al.* – 2020: *Rhodocybe-Clitopilus* clade (Entolomataceae, Basidiomycota) in the Dominican Republic: new taxa and first reports of *Clitocella*, *Clitopilus*, and *Rhodocybe* for Hispaniola. *Mycological Progress* 19: 1083-1099.
- BARONI T.J., LECHNER B.E. & NIVEIRO N. – 2023: Nomenclatural novelties. *Index Fungorum*. 566: 1-1.
- BIGELOW H.E. – 1982: Species described in *Clitocybe* by C.H. Peck and W.A. Murrill. *Sydowia* 35: 37-74.
- BIGELOW H.E. – 1985: North American Species of *Clitocybe*. Part. II. *Nova Hedwigia, Beihefte* 81: 281-471.
- CO-DAVID D., LANGEVELD D. & NOORDELOOS M.E. – 2009: Molecular phylogeny and spore evolution of *Entolomataceae*. *Persoonia* 23: 147-176.
- CUBETA M.A., ECHANDI E., ABERNETHY T. *et al.* – 1991: Characterization of anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* species using restriction analysis of an amplified ribosomal RNA gene. *Phytopathology* 81: 1395-400.
- EDGAR R.C. – 2004: MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32 (5): 1792-1797.
- GARDES M. & BRUNS T.D. – 1993: ITS primers with enhanced specificity for *Basidiomycetes* - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113-118.
- HARTLEY A.J., DE MATTOS-SHIPLEY K., COLLINS C.M. *et al.* – 2009: Investigating pleuromutilin-producing *Clitopilus* species and related basidiomycetes. *FEMS Microbiology Letters* 297 (1): 24-30.
- HE M.Q., ZHAO R.L., HYDE K.D. *et al.* – 2019: Notes, outline and divergence times of *Basidiomycota*. *Fungal Diversity* 99 (1): 105-367.
- HE X-L., LI T-H., XI P-G. *et al.* – 2013: Phylogeny of *Entoloma* s.l. subgenus *Pouzarella*, with descriptions of five new species from China. *Fungal Diversity* 58 (1): 227-243.

- HE Z.-M. & YANG Z.L. – 2022: The genera *Bonomyces*, *Harmajaea* and *Notholepista* from Northwestern China: two new species and a new record. *Mycological Progress* 21 (2): 26.
- HOFSTETTER V., CLÉMENÇON H., VILGALYS R. *et al.* – 2002: Phylogenetic analyses of the *Lyophylleae* (Agaricales, Basidiomycota) based on nuclear and mitochondrial rDNA sequences. *Mycological Research* 106 (9): 1043-1059.
- JIAN S.-P., BAU T., ZHU X.-T. *et al.* – 2020: *Clitopilus*, *Clitocella*, and *Clitopilopsis* in China. *Mycologia* 112: 371-399.
- KALICHMAN J., KIRK P.M. & MATHENY P.B. – 2020: A compendium of generic names of agarics and Agaricales. *Taxon* 69: 425-447.
- KARSTEDT F., CAPELARI M., BARONI T.J. *et al.* – 2019: Phylogenetic and morphological analyses of species of the *Entolomataceae* (Agaricales, Basidiomycota) with cuboid basidiospores. *Phytotaxa* 391 (1): 1-27.
- KIM C.S., JO J.W., KWAG Y.N. *et al.* – 2015: Mushroom Flora of Ulleung-gun and a newly recorded *Bovista* species in the Republic of Korea. *Mycobiology* 43 (3): 239-257.
- KLUTING K.L., BARONI T.J. & BERGEMANN S.E. – 2014: Toward a stable classification of genera within the *Entolomataceae*: a phylogenetic re-evaluation of the *Rhodocybe*-*Clitopilus* clade. *Mycologia* 106 (6): 1127-1142.
- KOUR H., KUMAR S., SHARMA Y.P. *et al.* – 2016: *Clitocella* (Entolomataceae) - a new genus record for India. *Studies in Fungi* 1 (3): 130-134.
- KÜHNER R. & LAMOURE D. – 1971: Agaricales de la zone alpine. Genre *Rhodocybe* R. Maire. *Bulletin de la Société Mycologique de France* 87 (1): 15-23.
- LARGENT D.L., BERGEMANN S.E. & ABELL-DAVIS S.E. – 2014: *Entoloma* species from New South Wales and northeastern Queensland, Australia. *Mycotaxon* 129 (2): 329-359.
- LECHNER B.E., WRIGHT J.E. & POPOFF O. – 2006: New taxa and new records for Argentina from Iguazú National Park, Misiones. *Fungal Diversity* 21: 131-139.
- MAO N., LV J.C., XU Y.Y. *et al.* – 2022: Two new *Clitocella* species from North China revealed by phylogenetic analyses and morphological characters. *MycoKeys* 88: 151-170.
- MATHENY P.B., WANG Z., BINDER M. *et al.* – 2007: Contributions of *rpb2* and *tef1* to the phylogeny of mushrooms and allies (Basidiomycota, Fungi). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43 (2): 430-451.
- MILLER M.A., 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: 1-8.
- MONCALVO J.M., VILGALYS R., REDHEAD S.A. *et al.* – 2002: One hundred and seventeen clades of euagarics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23 (3): 357-400.
- MORGADO L.N., NOORDELOOS M.E. & HAUSKNECHT A. – 2016: *Clitopilus reticulosporus*, a new species with unique spore ornamentation, its phylogenetic affinities and implications on the spore evolution theory. *Mycological Progress* 15 (3): 26.
- MULLIS K. & FALOONA F.A. – 1987: Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* 155: 335-350.
- MURRAY M.G. & THOMPSON W.F. – 1980: Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8 (19): 4321-4325.
- MURRILL W.A. – 1944: New Florida fungi. *Proceedings of the Florida Academy of Sciences* 7 (2/3): 107-127.
- REHNER S.A. & BUCKLEY E. – 2005: A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps teleomorphs*. *Mycologia* 97 (1): 84-98.
- RESCHKE K., MOROZOVA O., DIMA B. *et al.* – 2022: Phylogeny, taxonomy, and character evolution in *Entoloma* subgenus *Nolanea*. *Persoonia* 49: 136-170.
- RONQUIST F., TESLENKO M., VAN DER MARK P. *et al.* – 2012: MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61 (3): 539-542.
- SANCHEZ-GARCIA M., MATHENY P.B., PALFNER G. *et al.* – 2014: Deconstructing the *Tricholomataceae* (Agaricales) and introduction of the new genera *Albomagister*, *Corneriella*, *Pogonoloma* and *Pseudotracholoma*. *Taxon* 63 (5): 993-1007.
- SILVA-FILHO A.G.S., TEIXEIRA-SILVA M.A. & CORTEZ V.G. – 2018: New species, new combination, and notes on *Clitocella* and *Rhodocybe* (Entolomataceae) from Paraná state, Brazil. *Darwiniana, nueva serie* 6 (1): 58-67.

- SINGER R. – 1951: The *Agaricales* in modern taxonomy. *Lilloa* 22: 5-832.
- SINGER R. – 1970: *Omphalineae* (*Clitocybeae*-*Tricholomataceae*, *Agaricales*). *Flora Neotropica* 3: 1-80.
- SINGER R. – 1986: *The Agaricales in modern taxonomy*. 4th ed. Libri scientifici Koeltz, Koenigstein.
- SINGER R. & DIGILIO A.P.L. – 1951: Pròdromo de la flora agaricina argentina. *Lilloa* 25: 5-461.
- STAMATAKIS A. – 2014: RAXML Version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30 (9): 1312-1313.
- TAMURA K., PETERSON D., PETERSON N. *et al.* – 2011: MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28 (10): 2731-2739.
- TAMURA K., STECHER G., PETERSON D. *et al.* – 2013: MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30 (12): 2725-2729.
- VARGA T., KRIZSÁN K., FÖLDI C. *et al.* – 2019: Megaphylogeny resolves global patterns of mushroom evolution. *Nature Ecology & Evolution* 3 (4): 668-678.
- VILGALYS R. & HESTER M. – 1990: Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* 172: 4238-4246.
- VIZZINI A. & ERCOLE E. – 2011: *Clitopilus chrischonensis* sp. nov. (*Agaricales*, *Entolomataceae*), a striking new species from Switzerland. *Nova Hedwigia* 92 (3-4): 425-434.
- VIZZINI A., CONSIGLIO G. & MARCHETTI M. – 2023: Overview of the European species of the genus *Clitocella* (*Entolomataceae*, *Agaricales*) with notes on extralimital taxa. *Persoonia* 50: 123-157.
- WHITE T.J., BRUNS T.D., LEE S. *et al.* – 1990: *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: INNIS M.A., GELFAND D.H., SNINSKY J. & WHITE T.J. (eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, London: 482 pp.
- ZHAO R-L., LI G-J., SANCHEZ-RAMIREZ S. *et al.* – 2017: A six-gene phylogenetic overview of *Basidiomycota* and allied phyla with estimated divergence times of higher taxa and a phyloproteomics perspective. *Fungal Diversity* 84 (1): 43-74.

MAURO BRAGALONI

VALUTAZIONE DEI VANTAGGI E DEI RISCHI PER L'AMBIENTE E L'AGRICOLTURA DERIVANTI DALL'USO DI BIOSTIMOLANTI MICROBICI A BASE DI FUNGHI MICORRIZICI ARBUSCOLARI

M. Bragaloni – 2023: *Assessment of the benefits and risks for the environment and agriculture resulting from the use of microbial biostimulants based on arbuscular mycorrhizal fungi.*

Riassunto

L'attuale normativa italiana ed europea relativa alla messa a disposizione sul mercato di prodotti fertilizzanti sancisce di fatto la possibilità, nell'ambito dei cosiddetti "biostimolanti microbici", di utilizzare consorzi microbici esotici di funghi e batteri non prevedendone un espresso divieto né, tantomeno, l'obbligo di utilizzare ceppi fungini autoctoni. Le ricadute prevedibili, in termini ecologici connessi all'introduzione di biostimolanti microbici esotici, riguardano la riduzione della biodiversità dei funghi micorrizici locali a causa dell'introduzione di ceppi antagonisti alieni che possono alterare la biodiversità micorrizica arbuscolare dei nostri suoli. Vi sono, inoltre, ricadute non prevedibili perché le conoscenze microbiologiche sono ancora limitate a causa dell'impossibilità di crescere in coltura pura i funghi micorrizici arbuscolari. Inoltre, sussiste una difficoltà di tracciamento dovuta in gran parte alle diverse controversie tassonomiche che scaturiscono dai pochi caratteri morfologici a disposizione per l'identificazione di una specie e dalla mancanza di un consolidato e universalmente accettato sistema di identificazione e analisi filogenetica basato sulle caratteristiche molecolari. La discussione scientifica ha portato molti scienziati a considerare di rivalutare quale debba essere il concetto di specie per questo gruppo di funghi la cui riproduzione sessuale al momento non è nota. L'introduzione di ceppi di funghi arbuscolari micorrizici, quasi sempre esotici, mediante la somministrazione sotto forma di biostimolanti commerciali causa la concomitante trasmissione di microbiota batterico associato alla rizosfera e alle micorrize derivanti dalla produzione di "inoculo grezzo" mediante la pianta ospite. Ad colorandum, i funghi arbuscolari hanno la peculiare caratteristica di poter essere parte del microbioma delle piante ma di avere a loro volta un proprio microbioma a livello endocellulare. La caratterizzazione e il tracciamento dell'endomicrobioma micorrizico e dei FAM sono molto complesse e quindi le valutazioni non possono essere estese a grandi superfici di analisi del suolo. Risulta, pertanto, impraticabile poter stimare su vasta scala i danni dei biostimolanti microbici esotici sulla biodiversità micorrizica autoctona. La soluzione tecnica per limitare il rischio microbiologico e l'impatto sull'ambiente può trovarsi nell'utilizzo di biostimolanti microbici locali provenienti da una moltiplicazione *in situ* o, in alternativa, mediante una gestione delle tecniche colturali in campo mirate ad incrementare la ricchezza microbiologica micorrizica locale. Tuttavia, la comunità scientifica continua a prestare troppa poca attenzione a questa problematica e sono pochi gli studi scientifici a supporto in grado di valutare gli effetti dell'aggiunta di biostimolanti microbici esotici. È auspicabile che tutta la documentazione, attualmente disponibile e descritta per sommi capi in questo lavoro, sia spunto di dibattito ai tavoli tecnici e legislativi nella ricerca di una celere risoluzione del problema mediante idonee misure di intervento.

Parole chiave: Funghi arbuscolari micorrizici, agricoltura sostenibile, biostimolanti, consorzi microbici esotici, biodiversità microbiologica del suolo, normativa fertilizzanti.

Abstract

The current Italian and European legislation relating to the availability on the market of fertilizing products establishes the possibility, in the context of the so-called "microbial biostimulants", of using

exotic microbial consortia of fungi and bacteria, without providing for a ban or an obligation to use strains native fungi. The foreseeable consequences in ecological terms connected to the introduction of exotic microbial biostimulants concern the reduction of the biodiversity of local mycorrhizal fungi due to the introduction of alien antagonistic strains that could alter the arbuscular mycorrhizal biodiversity of our soils. Furthermore, there are unpredictable consequences because microbiological knowledge is still limited due to the impossibility of growing arbuscular mycorrhizal fungi in pure culture. Moreover, the difficulty of tracing due largely to the various taxonomic controversies arising from the few morphological characters available for the identification of a species and the lack of a consolidated and universally accepted system of identification and phylogenetic analysis based on molecular characteristics. The scientific discussion has led many scientists to consider re-evaluating what the limits of the species' concept should be for this group of fungi whose sexual reproduction is currently unknown. The introduction of strains of arbuscular mycorrhizal fungi, almost always exotic, through the administration in the form of commercial biostimulants causes the concomitant transmission of bacterial microbiota associated with the rhizosphere and mycorrhizae deriving from the production of "crude inoculum" by the host plant. Ad colorandum, arbuscular fungi have the peculiar characteristic of being able to be part of the microbiome of plants but in turn having their own microbiome at the endocellular level. The characterization and tracking of the mycorrhizal endomicrobiome and FAM are very complex and therefore assessments cannot be extended to large soil analysis surfaces. It is, therefore, impractical to be able to estimate on a large scale the damage of exotic microbial biostimulants on native mycorrhizal biodiversity. The technical solution to limit the microbiological risk and the impact on the environment can be based on the use of "local" microbial biostimulants coming from *in situ* multiplication or alternatively by the management of cultivation techniques in the field aimed at increasing the local mycorrhizal microbiological richness. However, the scientific community continues to pay too little attention to this issue and there are few supporting scientific studies capable of evaluating the effects of the addition of exotic microbial biostimulants. Hopefully all the documentary aspects, currently available and described in summary in this work, will be debated at the technical and legislative tables to address the resolution of the problem as soon as possible by preparing suitable intervention measures.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi; sustainable agriculture; biostimulants, exotic microbial consortia, soil microbiological biodiversity, fertilizer regulations.

Perché i funghi micorrizici arbuscolari sono considerati i protagonisti dell'agricoltura sostenibile?

È noto da tempo che i funghi arbuscolari micorrizici (FAM) sono in grado di migliorare le relazioni idriche e nutrizionali (BRAGALONI & REA 1996; BRAGALONI *et al.* 1996; MARSHNER 1995), di conferire una maggiore resistenza agli stress biotici e abiotici nelle piante ospiti (SMITH & READ 2008; RAVNSKOV *et al.* 2020), di sequestrare anidride carbonica instaurando a livello della micorrizosfera aggregati stabili di suolo e sostanza organica con il risultato di limitare la perdita di acqua e l'erosione dei suoli (HARTMUT *et al.* 1995; MARDHIAHAB *et al.* 2016; MILLER & JASTROW 1990, 2000), di "fitorisanare" i suoli trattenendo i metalli pesanti sul micelio fungino, immobilizzandoli e riducendone la biodisponibilità, la traslocazione e il bioaccumulo nei tessuti vegetali dell'ospite (RAKLAMI *et al.* 2022). Per tale motivo i FAM sono considerati di grande interesse per tutte le possibili applicazioni in agricoltura sostenibile e di particolare interesse per la coltivazione delle piante sia in pieno campo sia in coltura protetta. Infatti, i FAM infettano le radici delle piante di interesse agronomico, così come fanno con le piante negli ambienti naturali, formano arbuscoli e vescicole e colonizzano una grossa parte del suolo con la loro fase esterna alla radice composta da ife e spore. L'elevato utilizzo di fertilizzanti, i cicli di coltura, la lavorazione del suolo e la sua sterilizzazione chimica e/o fisica nell'agricoltura intensiva sono state e continuano ad essere le principali cause di una riduzione della biodiversità e della quantità dei FAM negli ambienti di produzione vegetale. Un sistema in termini energetici a

senso unico che, pur variando con la specifica produzione agricola, comporta in linea generale un discreto consumo di acqua e l'ingresso e il consumo di energia soprattutto sotto forma di fertilizzanti e fitofarmaci. Insomma, una situazione diametralmente opposta ai sistemi climatici indisturbati degli habitat naturali ciclicamente autosostenibili e resilienti. Una peculiarità unica di questi funghi sono i loro batteri endosimbionti che si rivengono nel citoplasma e nella parete che avvalorano la possibile origine endosimbiotica di alcuni organuli cellulari. La tassonomia dei FAM ha subito notevoli cambiamenti a partire dagli anni '80. Tali funghi sono stati inquadrati da Famiglia (*Endogonaceae*) a *Phylum* (*Glomeromycota*) con diverse discussioni e conflittualità nel mondo scientifico che sono state descritte altrove (BRAGALONI 2022). Alcuni autori (BRUNS *et al.* 2018) si sono interrogati recentemente in una sessione assembleare di scienziati dedicata dell'"International Conference on Mycorrhiza" (ICOM9) tenutosi nel 2017 a Praga, Repubblica Ceca, sulla sessualità criptica dei FAM e sulla condizione genomica dei nuclei. Si è concluso in tale sessione che i FAM devono essere riesaminati e analizzati con le tecniche attuali per poterne delineare i confini delle specie. Negli anni a venire si potrebbe assistere, pertanto, a nuove riorganizzazioni tassonomiche. Nonostante le conflittualità in tassonomia, le conoscenze raggiunte hanno permesso all'opinione scientifica di maturare il concetto che il passaggio ad un'agricoltura più sostenibile che prenda in considerazione l'utilizzo dei FAM significhi attuare una strategia di riduzione dei costi energetici ed un miglioramento delle condizioni di crescita e della salute delle piante coltivate, dell'uomo e dell'ambiente (KASHYAP 2018). Vi sono però dei rischi da valutare in quanto l'introduzione di funghi arbuscolari micorrizici spesso non autoctoni con biostimolanti microbici a base di FAM possono modificare il microbioma locale e tali modifiche sono di difficile tracciatura non solo per le considerazioni già fatte ma anche per la peculiarità di questi microrganismi. I FAM non solo sono parte del microbioma che interagisce con le piante ma a loro volta hanno essi stessi un proprio endomicrobioma. Infatti, sono presenti batteri che promuovono la crescita delle piante (Plant-Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) solitamente associati alle superfici fungine nella rizosfera, e un altro gruppo di batteri endocellulari inizialmente rinvenuti nel citoplasma di alcuni isolati di FAM appartenenti alle *Gigasporaceae* (BIANCIOOTTO & BONFANTE 2002). Si deve, inoltre, considerare che i batteri associati nella rizosfera e gli endosimbionti batterici vengono trasmessi con i FAM nelle produzioni di biostimolanti microbici. Questi funghi sono simbionti obbligati e devono quindi essere moltiplicati con la pianta ospite per cui il risultato è un "inoculo grezzo" composto almeno da FAM e altri microrganismi. Questa complessità e le conflittualità tassonomiche soprariportate incidono sulla possibilità di tracciamento e di caratterizzazione del microbiota e del microbioma micorrizico e sulla possibilità di poter stimare le influenze dei biostimolanti microbici esotici sulla biodiversità micorrizica e microbiologica locale. La soluzione tecnica da adottare al fine di limitare il rischio microbiologico e l'impatto sull'ambiente consiste nell'utilizzare biostimolanti microbici "locali" provenienti da una moltiplicazione *in situ* e/o in una gestione di campo mirata ad incrementare la ricchezza microbiologica micorrizica locale. Si deve, inoltre, considerare che i FAM instaurano complesse interazioni. Da qualche anno diversi studi confermano che il microbioma umano e gli altri microbiomi sono in relazione e che variazioni nel microbioma del suolo possono influenzare il microbioma umano e la salute (TRINH *et al.* 2018; BANERJEE *et al.* 2023). Per le ragioni esposte non dobbiamo sottovalutare i possibili rischi derivanti dall'uso indiscriminato di biostimolanti microbici commerciali che contengono ceppi esotici perché in questo momento non si è ancora in grado di valutare i possibili effetti a lungo termine di tali azioni. Si riassume quanto detto con la rappresentazione della **Figura 1** per delineare un quadro schematico d'insieme delle relazioni tra l'endomicrobioma dei FAM, il microbioma delle piante e il microbioma umano. Si riportano, inoltre, nello schema di **Figura 1**, oltre alle relazioni tra microbiomi, gli effetti e le possibili applicazioni biotecnologiche dei FAM per salvaguardare l'agricoltura e l'ambiente.

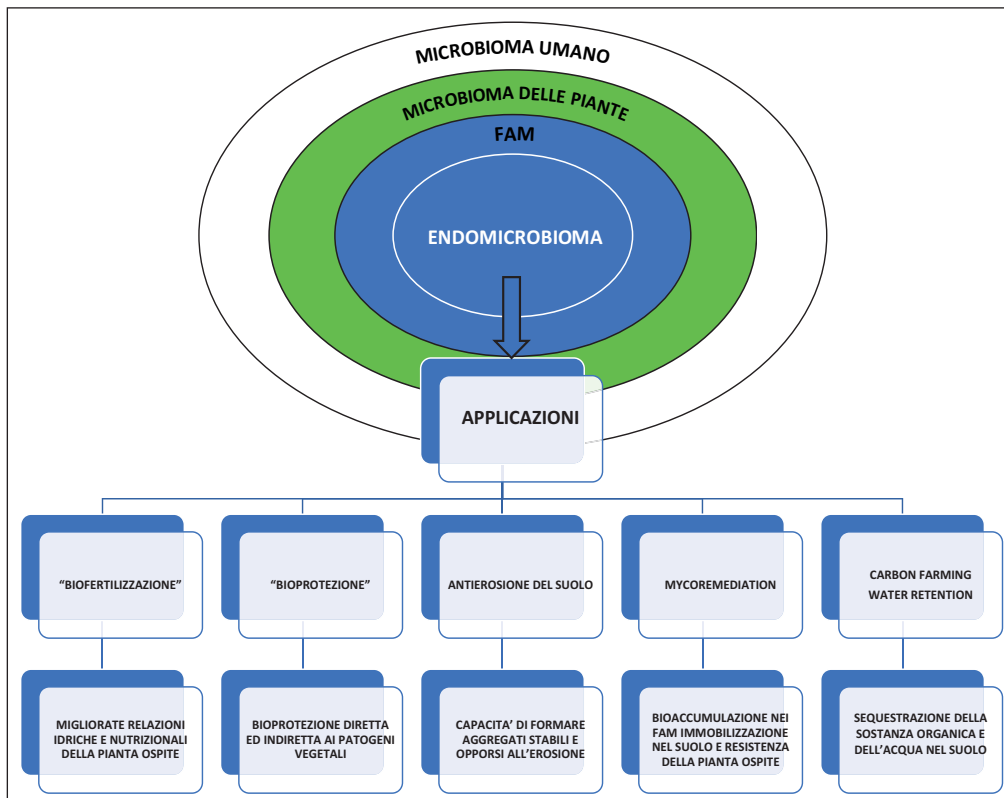


Figura 1. Rappresentazione schematica delle relazioni instaurate nell'ambiente dai Funghi Arbuscolari Micorrizici (FAM) e delle possibili applicazioni biotecnologiche per migliorare l'agricoltura e salvaguardare l'ambiente.

La definizione dei biostimolanti microbici e il percorso normativo che permette l'uso dei FAM in agricoltura con particolare riferimento alla normativa italiana e ai prodotti biostimolanti registrati in Italia.

In questi ultimi anni si è stimato che la popolazione raggiungerà i 10 miliardi entro il 2050, contestualmente aumenterà la domanda di prodotti agricoli e, salvo porvi riparo affrontando nuove sfide, l'incremento demografico comporterà anche un sovra utilizzo di fertilizzanti chimici e pesticidi con effetti deleteri sull'ambiente e su molte forme di vita, tra cui l'uomo. La situazione è preoccupante e se risulta difficile quantificare il danno dell'uso eccessivo dei fertilizzanti sull'ambiente e sull'uomo migliori sono le stime per il danno causato dai pesticidi. Si stima che ogni anno si verificano circa un milione di decessi a causa di malattie croniche causate da avvelenamento per i soli pesticidi (Environews Forum 1999). Da qui l'urgenza dell'adozione di nuove pratiche agricole sostenibili e rispettose dell'ambiente ma anche efficienti nel produrre più alimenti. Questi obiettivi possono essere raggiunti utilizzando sostanze di origine biologica in grado di ridurre al minimo l'apporto di fertilizzanti chimici e pesticidi. La ricerca ha individuato sostanze naturali utilizzabili in agricoltura che sono in grado migliorare la crescita, la produttività e la qualità delle colture, e di alleviare gli stress biotici e abiotici (PARAĐIKOVIĆ *et al.* 2019). Queste sostanze che possiamo definire "biostimolanti non microbici" possono applicarsi direttamente sui semi, sulla porzione epigea delle piante o direttamente al suolo. Tuttavia, spesso la composizione di queste sostanze di diversa ed eterogenea origine è

complessa e comprende un'ampia gamma di molecole, pertanto è difficile identificare i loro componenti più attivi e le modalità di azione. Bisogna, inoltre, considerare che l'efficacia di un particolare biostimolante non è dovuta a un singolo composto, ma piuttosto alle conseguenze delle azioni sinergiche di diverse molecole bioattive che promuovono la crescita delle piante ed altri effetti benefici quando applicate in piccole quantità rispetto alle quantità dei più comuni fertilizzanti. È proprio l'aspetto relativo alle quantità che distingue i biostimolanti non microbici dai fertilizzanti. Si riporta qui di seguito per esteso la definizione dei biostimolanti menzionati come *"Beneficial substances or compounds"* dell'Association of American Plant Food Control Officials" (AAPFCO): *"any substance or compound other than primary, secondary, and micro plant nutrients that can be demonstrated by scientific research to be beneficial to one or more species of plants, when applied exogenously to the plant or soil"* (AAPFCO, 2012). In questa definizione non si fa riferimento ai biostimolanti microbici mentre in Europa, al contrario, la "European Biostimulants Industry Council (EBIC) entra nel merito con la seguente definizione: *"Plant biostimulants contain substance(s) and/or microorganisms whose function when applied to plants or the rhizosphere is to stimulate natural processes to enhance/benefit nutrient uptake, nutrient efficiency, tolerance to abiotic stress, and crop quality"* (EBIC, 2013). Per i biostimolanti microbici valgono considerazioni analoghe a quelle già fatte. La composizione dei consorzi microbici non è ben definita da un punto di vista tassonomico, i ceppi microbici possono essere di diversa ed eterogenea origine per cui è difficile identificare quelli più attivi singolarmente ed è altrettanto difficile individuare le loro modalità di azione. Valgono anche qui le considerazioni sulle relazioni sinergiche di diversi ceppi che promuovono la crescita delle piante ed altri effetti benefici quando applicate in piccole quantità rispetto alle quantità dei più comuni fertilizzanti. La normativa europea e italiana si è articolata con diversi aggiornamenti. Nell'art. 13 della Legge 7 luglio 2009, n. 88, si dispone di adeguare la normativa sui fertilizzanti in base alle indicazioni del Regolamento (CE) n. 2003/2003 che viene attuato con l'abrogazione del Decreto Legislativo 29 aprile 2006, n. 217 (D.LGS. 2006, n. 217), e l'entrata in vigore del Decreto Legislativo 29 aprile 2010, n. 75, relativo al "Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88", che entra in vigore il 10/06/2010 e da tale data è stato più volte aggiornato (Ultimo aggiornamento all'atto pubblicato il 16/09/2023). La parte che interessa relativamente alla definizione dei FAM nell'ambito dei biostimolanti è definita nell'allegato 6. Su questa base legislativa viene istituito il "Registro dei Fabbrianti" ed il "Registro dei Fertilizzanti" disponibile sul portale ufficiale SIAN (Sistema Informativo Agricolo Nazionale) al link <https://www.sian.it/vismiko/jsp/indexConsultazione.do>) attualmente aggiornato al 13 settembre 2023 (DDG n. 0477374 del 13 settembre 2023; DDG n. 0477376 del 13 settembre 2023). All'interno del Registro dei Fertilizzanti, ai fini della ricerca dei biostimolanti microbici a base di funghi micorrizici, è necessario selezionare preliminarmente se si intende visionare un prodotto per uso in agricoltura convenzionale oppure biologica. Negli atti normativi di aggiornamento del registro lo stesso prodotto a base di micorrize può essere registrato sia per l'uso in agricoltura convenzionale sia per l'uso in agricoltura biologica identificati rispettivamente come lettera C o B. La consultazione dei Decreti del Direttore Generale (Dipartimento delle politiche europee ed internazionali e dello sviluppo rurale – DISR V Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste – Masaf) è un'alternativa alla consultazione del portale SIAN che però risulta molto più laboriosa. Il portale può essere consultabile qualora si volesse fare un'analisi sui dati contenuti nel registro negli anni disponibili per l'estrazione (2015 - 13 settembre 2023) in relazione ai prodotti utilizzati in agricoltura biologica. Per ottenere tutto l'elenco di prodotti disponibili è necessario selezionare oltre all'uso biologico la spunta su "Ricerca per DENOMINAZIONE DEL TIPO" avendo cura poi di selezionare nel menu a tendina "All. 13 IT All. 6.3.6 – Inoculo funghi "micorizici" dove "micorizici" è stato riportato erroneamente con una sola "r". Le estrazioni, selezionando nel menu a tendina "All. 13 IT All. 6.4.1.6 - Inoculo di funghi micorizici", restituiscono un numero di registrazioni molto limitato e riferibile al solo periodo

2017-2023. L'elenco risultante permette di evidenziare il singolo prodotto e di verificare il contenuto e la carica microbiologica. Per i funghi micorrizici il dato è espresso come percentuale in peso rispetto all'intero prodotto. Nei batteri e nei funghi non micorrizici, come ad esempio *Trichoderma* spp., rinvenibili nei prodotti con consorzi microbici, il dato è espresso come unità formanti colonia per grammo di prodotto. Dalla consultazione dei dati è stata estrapolata la **Tabella n. 1**. Il numero dei prodotti registrati è molto elevato e supera più di duemila registrazioni (2186) nell'arco del periodo definito. Vi sono flessioni molto rilevanti in alcuni anni ma si può generalizzare affermando che sono stati registrati dai fabbricanti approssimativamente in media circa 200 prodotti l'anno con circa 3-4 prodotti per fabbricante ogni anno. Tuttavia, sono i dettagli all'interno del registro sul contenuto dei prodotti che fanno evincere la presenza il più delle volte di consorzi microbici invece che di soli funghi micorrizici e batteri della rizosfera. Interessanti ma di difficile e laboriosa estrazione potrebbero essere i dati sui prodotti effettivamente commercializzati allo stato attuale e la quantificazione di quanti di questi contengano ceppi esotici. In questa trattazione, piuttosto, si intende entrare nel merito della definizione dei biostimolanti microbici e mostrare il percorso normativo che ha portato alla commercializzazione e agli strumenti ufficiali di consultazione. A tal fine sono state effettuate alcune stime di massima sulla quantità di prodotti biostimolanti microbici con inoculo a base di funghi micorrizici registrati in Italia. Inoltre, tali dati sono stati messi in relazione con il numero di fabbricanti che ogni anno hanno ottenuto la registrazione di nuovi prodotti (**Tabella 1**). Gli aggiornamenti normativi non si sono fermati. Nel 2019 è stato emanato il Regolamento CE n. 1009/2019 che abroga il regolamento (CE) n. 2003/2003 ma che ribadisce la collocazione dei biostimolanti nell'ambito delle norme relative ai fertilizzanti eliminando le possibili ambiguità che potrebbero portare all'inserimento di tali prodotti tra i fitofarmaci con riferimento alle norme da applicare così come riportato nel testo: *"Talune sostanze, miscele e microrganismi, denominati prodotti biostimolanti delle piante, non rappresentano di per sé un apporto di nutrienti ma stimolano comunque i processi nutrizionali naturali delle piante. Laddove tali prodotti siano intesi unicamente a migliorare l'efficienza dell'uso dei nutrienti delle piante, la tolleranza allo stress abiotico, le caratteristiche qualitative o l'aumento della disponibilità di nutrienti confinati nel suolo e nella rizosfera, sono per loro natura più simili ai prodotti fertilizzanti che non alla maggior parte delle categorie di prodotti fitosanitari. Agiscono in aggiunta ai concimi, con lo scopo di ottimizzare l'efficienza di tali concimi e di ridurre il tenore di apporto di nutrienti. Tali prodotti dovrebbero pertanto essere autorizzati a recare la marcatura CE in forza del presente regolamento ed essere esclusi dall'ambito di applicazione del regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio (9). È opportuno pertanto modificare di conseguenza il regolamento (CE) n. 1107/2009"*.

Indipendentemente dalle possibili considerazioni ed opinioni che possano essere fatte in campo scientifico, la Commissione Europea riconosce ed inquadra i biostimolanti microbici e non microbici nel campo di applicazione del presente Regolamento (CE) n. 1009/2019 nelle categorie dei fertilizzanti evidenziando la scarsa rispondenza con le categorie dei prodotti fitosanitari. Non si esclude il possibile ruolo di alcuni biostimolanti contro i patogeni vegetali ma si ribadisce la prevalenza dell'effetto modulatore sulla nutrizione delle piante andando ad emendare il regolamento (CE) n. 1107/2009 che *"..... ommississtabilisce norme riguardanti l'autorizzazione, l'immissione sul mercato, l'impiego e il controllo all'interno della Comunità dei prodotti fitosanitari, così come sono presentati nella loro forma commerciale."* Infatti, con il Regolamento (CE) n. 1009/2019 al CAPO VII dell'articolo 47 viene emendato il regolamento (CE) n. 1107/2009 entrando nella definizione dei biostimolanti aggiungendo il punto 34 all'art. 3 che recita così: *"34. "Biostimolante delle piante" qualunque prodotto che stimola i processi nutrizionali delle piante indipendentemente dal suo tenore di nutrienti, con l'unica finalità di migliorare una o più delle seguenti caratteristiche della pianta o della rizosfera della pianta: a) efficienza dell'uso dei nutrienti; b) tolleranza allo stress abiotico; c) caratteristiche qualitative; d) disponibilità di nutrienti confinati nel suolo o nella rizosfera."*. Per completezza sulla definizione di "Biostimolante Microbico" il Reg. (CE) 1009/2019 specifica

tra le Categorie Funzionali del Prodotto (PFC) per i prodotti fertilizzanti dell'UE nell'Allegato I al punto 6: “6. *Biostimolante delle piante A. Biostimolante microbico delle piante B. Biostimolante non microbico delle piante*” per cui i FAM vengono a ricadere nella PFC 6.A. dei biostimolanti microbici. Importante rilevare la definizione abbastanza generica di “Fabbricante” all’art. 3 “*qualsiasi persona fisica o giuridica che fabbrica un prodotto fertilizzante dell’UE oppure lo fa formulare o fabbricare e lo commercializza apponendovi il proprio nome o marchio*”. Con questo regolamento vengono aumentate le verifiche da effettuare riguardo alla presenza di microrganismi patogeni nocivi per l'uomo. Tuttavia, in merito alle possibili verifiche sul prodotto i fabbricanti non sono obbligati a produrre certificazioni ma possono dichiarare di rientrare nei requisiti richiesti assumendosi la responsabilità del contenuto così come indicato nelle etichette e nelle relative schede. La responsabilità del contenuto del prodotto biostimolante può ricadere anche sui distributori e sugli importatori come sancito dagli artt. 10 e 11 e, con l’art. 12, sugli operatori economici in merito alla tracciabilità di prodotto. Il procedimento per la registrazione di biostimolanti a base di FAM rimane comunque semplice se comparato con i procedimenti relativi alle altre categorie di fertilizzanti e di fitofarmaci. Nel 2023 come si evince dalla **Tabella 1** non ci sono state in Italia grosse flessioni nel numero di registrazioni di prodotti a base di FAM. Probabilmente è ancora troppo presto per stimare se la normativa nel suo insieme o i singoli articoli 10, 11 e 12 del Reg. (CE) 1009/2019, che individuano le responsabilità dei distributori, degli importatori e degli operatori economici, possano limitare nel futuro il numero di registrazioni e la diffusione di prodotti con ceppi FAM esotici in Italia. Si deve considerare, inoltre, che il regolamento suddetto è entrato in vigore nella sua integralità già dal 16 luglio 2022 per tutti gli stati membri dell'UE e che nel 2023 il numero di registrazioni di nuovi prodotti biostimolanti non si è affatto ridotto (**Tabella 1**).

Tabella 1. Estrapolazione del numero di biostimolanti microbici con micorrize per l'uso in agricoltura biologica (All. 6.3.6 - Inoculo funghi micorrizici) e del numero di fabbricanti dal “Registro dei Fertilizzanti” relativamente agli anni disponibili (2015-2023*) sul portale del Sistema Informativo Agricolo Nazionale (SIAN).

Anno di registrazione	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023*
Numero di Biostimolanti	395	127	96	149	211	262	341	308	297
Numero di Fabbricanti	66	41	38	39	70	91	107	80	81
Rapporto n. Biostimolanti / n Fabbricanti	6,0	3,1	2,5	3,8	3,0	2,9	3,2	3,9	3,7
* I dati relativi all'anno 2023 si riferiscono al solo periodo che va dal 01.01.2023 al 13.09.2023, quest'ultima è la data dell'ultimo aggiornamento nel registro dei fertilizzanti (DDG del Masaf n. 0477376 del 13/09/2023).									

Poiché la normativa non ha imposto vincoli espliciti alla possibilità di registrare dei prodotti con ceppi fungini micorrizici provenienti dall'estero, l'ipotesi di una futura flessione al ribasso del numero di registrazioni di tali prodotti senza nessun ulteriore intervento normativo appare improbabile. Il legislatore ha evitato di entrare nel merito dando la possibilità di contaminare con ceppi esotici i suoli dedicati alla produzione agricola. Si è già evidenziato quanto la conoscenza

sulla biodiversità e funzionalità di questi funghi sia ancora limitata. Inoltre, l'ubiquità di molte specie ha generato negli addetti ai lavori la convinzione di una mancanza di specificità dei FAM tale da poterne giustificare la diffusione e distribuzione a livello mondiale sotto forma di biostimolanti. In realtà le attuali conoscenze non consentono di comprendere appieno le relazioni che esistono tra il microbioma endogeno, i FAM e il microbioma delle piante ospiti nel suo insieme a livello della rizosfera. Questa mancanza di conoscenza potrebbe essere la ragione dei molti insuccessi riportati dai produttori. Si arriva, inoltre, all'erroneo assunto di mancanza di specificità dei ceppi dovuto alla registrazione ubiquitaria nel mondo dei FAM dando per scontato che l'efficacia dei ceppi sia generale e che valga con qualunque pianta ospite e in qualunque condizione di crescita delle piante. In realtà, come anche condiviso da altri autori (EDIRISINGHE & MADAWALA 2017; CHEN *et al.* 2018) esiste una specializzazione funzionale che non può essere trascurata e che deve essere opportunamente valutata se si vogliono ottenere buoni risultati. La controversa situazione tassonomica unitamente alle difficoltà nel valutare l'efficienza e la funzionalità di questi ceppi fungini di per sé o nei consorzi microbici hanno alimentato e permesso di generalizzare la loro fisiologia in relazione con la pianta ospite. Inoltre, in via prudenziale non si dovrebbero introdurre ceppi esotici ma gestire quelli che già sono presenti nei nostri suoli agricoli incrementandoli e proteggendoli nel loro habitat. In accordo con quanto indicato anche da altri autori (BEVER 2002; BERRUTI *et al.* 2016) i produttori agricoli dovrebbero essere incoraggiati e adeguatamente formati a produrre il proprio inoculo di FAM in maniera autonoma dai propri campi. In concreto, ciò comporterebbe affrontare un costo iniziale per istruire gli agricoltori ma da questo investimento ne deriverebbe un grande ritorno economico non solo in Europa ma anche nei paesi in via di sviluppo dove l'agricoltura convenzionale per i costi elevati dei fertilizzanti, dei fitofarmaci e/o dei biostimolanti risulta una scelta non praticabile.

L'efficienza micorrizica dei biostimolanti microbici e lo stato dell'arte sulla possibilità della tracciatura dei FAM nei sistemi di produzione agricola.

Una delle prime metodiche molecolari per profilare i FAM nei suoli agricoli è stata la "Polymerase Chain Reaction and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis" (PCR-DGGE) per rilevare il gene RNA ribosomiale 18S (MA *et al.* 2005). Tuttavia, da qualche anno vengono pubblicati lavori che riportano la possibilità di tracciare i ceppi FAM esotici introdotti nei nostri suoli agricoli distinguendoli da quelli autoctoni con metodologie molecolari più avanzate basate sul sequenziamento del DNA. In alcuni di questi studi si utilizzano anche tecniche di "Next-Generation Sequencing" (NGS) di III e IV generazione. Alcuni autori (PELLEGRINO *et al.* 2022) hanno anche compiuto studi nei suoli italiani cercando di tracciare i ceppi introdotti nel suolo provenienti da collezioni fungine alloctone, sia singolarmente sia come consorzio microbico miscelando tre singole specie alloctone, in comparazione con un consorzio microbico di ceppi autoctoni. Tali autori giungono alla conclusione che i consorzi microbici alloctoni utilizzati persistono più tempo e sono in grado di aumentare la produzione più dei consorzi microbi autoctoni. Tuttavia, questa conclusione si poggia sui risultati ottenuti con solo due combinazioni di consorzi microbici uno alloctono e l'altro autoctono, la produzione vegetale viene valutata nei confronti di un solo ospite (*Medicago sativa* L. var. Giulia) e, pertanto, questi risultati non permettono di assumere una generalizzazione delle conclusioni scientifiche cui si perviene. In letteratura però sono presenti altri risultati riportati da diversi autori (AFFOKPON *et al.* 2011; ESTRADA *et al.* 2013; LABIDI *et al.* 2015) che affermano che i ceppi FAM autoctoni sono molto più efficienti dei ceppi disponibili in commercio. Inoltre, sebbene i fabbricanti di biostimolanti microbici affermino capacità superiori dei propri inoculi posti in commercio diversi autori (GARMENDIA e MANGAS 2014; MUKHONGO *et al.* 2016) ne hanno riportato l'inefficienza. In aggiunta al problema già sollevato è stata anche riscontrata una notevole variabilità di risposta tra i diversi lotti di produzione di biostimolanti microbici che evidenzia le difficoltà del controllo qualità

nella fase di produzione degli stessi. In conclusione, siamo di nuovo di fronte a risultati che portano a conclusioni conflittuali. Altri studi molecolari più avanzati evidenziano la possibilità di poter tracciare i ceppi dei FAM (SCHLAEPPI *et al.* 2016; NIWA *et al.* 2018). Tuttavia, si ribadisce che purtroppo al momento non c'è una piena condivisione generale sull'identificazione molecolare dei FAM e i risultati ottenuti dai diversi tipi di analisi, principalmente sulla variabilità del rDNA, hanno prodotto diverse conflittualità (BRAGALONI 2022). Per i FAM e anche per altri funghi, secondo un rapporto sulle recenti tendenze nelle banche dati genomiche, le sequenze prive di annotazioni o scarsamente annotate vengono depositate con grande sorpresa in preponderanza da micologi esperti nel settore e tale andamento non tende a diminuire nel tempo (ABARENKOV *et al.* 2022). Di fatto tale circostanza limita la possibilità di identificazione certa e gli studi di filogenesi molecolare. Un'ulteriore complicazione deriva dal deposito di molte sequenze dei FAM ottenute da "uncultured spores". Per le spore raccolte in habitat l'identificazione tassonomica su base morfologica è considerata meno attendibile anche se fatta da un micologo esperto e ne deriva una scarsa credibilità della conseguente annotazione nella banca dati. In conclusione, non è stato ancora delineato un metodo economicamente conveniente e agevole per le analisi di routine su ampia scala riguardo il tracciamento dei FAM, sia nei campi agricoli o nelle colture protette, sia nei controlli di qualità della produzione di biostimolanti. Alcuni studi pubblicati recentemente (KOLAŘIKOVÁ *et al.* 2021; DELAVALUX *et al.* 2022) sono molto promettenti e potrebbero costituire un punto di riferimento per le future applicazioni nella tracciabilità dei FAM. Per quanto sopra riportato allo stato attuale diventa difficile poter fare una valutazione del rischio ambientale. Analogamente a quanto detto per i FAM dovrebbe essere valutato l'impatto anche degli altri microrganismi che vengono dispersi nell'ambiente sotto forma di biostimolanti. Questa situazione impone la necessità di un ulteriore intervento normativo rispondente ad un atteggiamento prudentiale idoneo a limitare la diffusione indiscriminata di ceppi di cui non è noto l'impatto a lungo termine. L'attuale Regolamento (CE) 1109/2019 sicuramente mette più paletti per assicurare una riduzione del rischio ambientale e umano ma non potrà sortire molti effetti non prevedendo un divieto esplicito all'uso sul nostro territorio di ceppi esotici dei FAM o di altri microrganismi o consorzi microbici esotici.

Conclusioni

Si è di fronte ad una sfida impegnativa se si vogliono valorizzare le colture agrarie del nostro paese mediante la gestione dell'infezione micorrizica nell'ambiente di produzione. È opportuno evitare di sviluppare poche fonti di inoculo micorrizico che possano essere diffuse globalmente. L'approccio alternativo è quello di incoraggiare l'adozione di pratiche agricole che possano ampliare la varietà di funghi micorrizici arbuscolari locali e incrementare il loro contenuto nei suoli così da ottenere i benefici ricercati per soddisfare le esigenze della specifica coltura. Tale approccio è per molti aspetti più difficile da realizzare in quanto si deve fornire un ambiente di supporto tecnico affinché un consorzio di FAM possa essere arricchito nella zona di produzione ed essere mantenuto stabile così da colonizzare la maggior parte delle piante coltivate. Questo obiettivo può essere raggiunto solo attraverso lo sviluppo di nuove strategie agricole e con una puntuale assistenza da parte di personale tecnico a supporto degli agricoltori. Questa assistenza indirizzata alla produzione agricola nel rispetto dell'ambiente può arrivare soprattutto dal contributo degli enti pubblici e di ricerca dedicati al supporto all'agricoltura e al territorio. L'assistenza in agricoltura da parte di tecnici formati rappresenta l'arma migliore per poter conseguire gli obiettivi illustrati. Esistono già degli esempi a cui fare riferimento come la Misura 2 del Piano di Sviluppo Regionale. Tale misura finanzia i servizi di consulenza per migliorare la gestione sostenibile, la performance economica e ambientale e il sostegno ad attività dimostrative e ad azioni di informazione delle aziende agricole e forestali e delle piccole e medie imprese che operano nelle zone rurali. Sarebbe auspicabile che interventi come questi possano essere previsti

anche per dare il corretto supporto agli agricoltori al fine di consentire agli stessi di provvedere autonomamente in un prossimo futuro alla produzione e gestione di ceppi FAM autoctoni. Per raggiungere questi obiettivi è necessario dissuadere l'uso dei biostimolanti microbici a base di FAM e di altri microrganismi esotici attraverso una corretta informazione sui possibili rischi che potrebbero derivare dall'utilizzazione di tali microrganismi. Inoltre, il legislatore *in primis*, i ricercatori e i tecnici in agricoltura, che presiedono ai tavoli di concertazione, dovrebbero essere esortati ad individuare soluzioni tecnico-giuridiche che abbiano come fine ultimo la limitazione dei rischi connessi alla diffusione dei biostimolanti microbici esotici prevenendo e riducendo l'esposizione ai potenziali danni che potrebbero ricadere sull'ambiente in cui viviamo.

Indirizzo dell'autore

MAURO BRAGALONI

CREA Alimenti e Nutrizione

Via Ardeatina, 546 - 00178 Roma.

E-mail: mauro.bragaloni@crea.gov.it

Bibliografia

- AAPFCO – 2012: Product Label Guide. Association of American Plant Food Control Officials. Doi: https://agr.mt.gov/_docs/fertilizer-docs/AAPFCO_FertandSoilLabelingGuide_2012.pdf
- ABARENKOV K., KRISTIANSSON E., RYBERG M., NOGAL-PRATA S., GÓMEZ-MARTÍNEZ D., STÜER-PATOWSKY K., JANSSON T., PÖLME S., GHOBAD-NEJHAD M., CORCOLL N., SCHARN R., SÁNCHEZ-GARCÍA M., KHOMICH M., WURZBACHER C. & NILSSON R.H. – 2022: The curse of the uncultured fungus. *MycKeys*. 2 (86): 177-194. Doi: <https://doi.org/10.3897/mycokeys.86.76053>
- AFFOKPON A., COYNE D.L., LAWOUIIN L., TOSSOU C., AGBE'DE' R.D. & COOSEMANS, J. – 2011: Effectiveness of native West African arbuscular mycorrhizal fungi in protecting vegetable crops against root-knot nematodes. *Biol. Fertil. Soils* 47: 207–217. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00374-010-0525-1>
- BANERJEE S. & VAN DER HEIJDEN M.G.A. – 2023: Soil microbiomes and one health. *Nat Rev Microbiol* 21: 6-20. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- BIANCOTTO V. & BONFANTE P. – 2002: Arbuscular mycorrhizal fungi: a specialised niche for rhizospheric and endocellular bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81, 365-371. Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1020544919072>
- BRAGALONI M. – 2022: I funghi micorrizici arbuscolari del litorale pontino: dalla lotta all'erosione dei suoli all'agricoltura sostenibile e agli alimenti sostenibili. *RMR, Boll. Amer* 117, Anno XXXVIII, 2022 (3): 123-142. Doi: <https://doi.org/10.57624/AMER.2022.07>
- BRAGALONI M. & REA E. – 1996: Impatto di endofiti micorrizici isolati da dune sabbiose su piante di interesse agrario. *Mic. Ital.*, 1:85-91. (ISSN: 0390-0460)
- BRAGALONI M., DI MONTE G., PIERANDREI F. & REA E. – 1996. *Valutazione dell'efficienza di un endofita micorrizico isolato da dune sabbiose*. Atti del XIII Convegno Nazionale della Società Italiana di Chimica Agraria, Firenze, 2-4 ottobre 1995, Pàtron Editore, Bologna: pp. 213-218.
- BERRUTI A., LUMINI E., BALESTRINI R. & BIANCOTTO V. – 2016: Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Natural Biofertilizers: Let's Benefit from Past Successes. *Front. Microbiol.* 6: 1559. Doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.01559>
- BEVER J.D. – 2002: Host-specificity of AM fungal population growth rates can generate feedback on plant growth. *Plant Soil* 244: 281-290. Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1020221609080>
- BRUNS T.D., CORRADI N., REDECKER D., TAYLOR J.W. & ÖPIK M. – 2018: *Glomeromycotina*: what is a species and why should we care? *New Phytologist – Viewpoints*. 220: 963-967. Doi: <https://doi.org/10.1111/nph.14913>
- CHEN M., ARATO M., BORCHI L., NOURI E. & REINHARDT D. – 2018: Beneficial Services of Arbuscular Mycorrhizal Fungi – From Ecology to Application. *Front. Plant Sci., Sec. Plant Path. Interact.* 9:1270. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01270>
- Decreto Legislativo 29 aprile 2006, n. 217. Revisione della disciplina in materia di fertilizzanti. GU n.141 del 20-06-2006 - Suppl. Ordinario n. 152.

- Decreto Legislativo 29 aprile 2010, n. 75. Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88. GU n.121 del 26-05-2010 - Suppl. Ordinario n. 106.
- DELAUVAUX C.S., RAMOS R.J., STURMER S.L. & BEVERE J.D. – 2022: Environmental identification of arbuscular mycorrhizal fungi using the LSU rDNA gene region: an expanded database and improved pipeline. *Mycorrhiza* 32, 145-153. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00572-022-01068-3>
- ESTRADA B., AROCA R., BAREA J.M. & RUIZ-LOZANO J.M. – 2013: Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. *Plant Sci.* 201–202: 42-51. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.11.009>
- EDIRISINGHE C. & MADAWALA S. – 2017: Arbuscular mycorrhizal fungal dynamics following change of land use from mature forest to Eucalyptus plantation. *J. Natl. Sci. Found.* 45 (4): 321-328.
- EIBC (European Biostimulants Industry Council) – 2013: Promoting the Biostimulant Industry and the Role of Plant Biostimulants in Making Agriculture More Sustainable. Available online at: www.biostimulants.eu/.
- Environews Forum – 1999: Killer environment. *Environ. Health Perspect.* 107, A62.
- GARMENDIA I. & MANGAS V.J. – 2014: Comparative study of substrate-based and commercial formulations of arbuscular mycorrhizal fungi in romaine lettuce subjected to salt stress. *J. Plant Nutr.* 37: 1717-1731. Doi: <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.889149>
- HARTMUT K., ELKE M. & SYBILLA H. – 1995: Soil microarthropods (Acari, Collembola) from beach and dune: characteristics and ecosystem context. *J. Coast Conserv.* 1: 77–86. Doi: <https://doi.org/10.1007/BF02835564>
- KOLAŘÍKOVÁ Z., SLAVÍKOVÁ R., KRÜGER C., KRÜGER M., & KOHOUT P. – 2021: PacBio sequencing of Glomeromycota rDNA: a novel amplicon covering all widely used ribosomal barcoding regions and its applicability in taxonomy and ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 231: 490-499. Doi: <https://doi.org/10.1111/nph.17372>
- LABIDI S., JEDDI F.B., TISSERANT B., YOUSFI M., SANAA M., DALPE Y. & SAHRAOUI A.L.H. – 2015: Field application of mycorrhizal bio-inoculants affects the mineral uptake of a forage legume (*Hedysarum coronarium* L.) on a highly calcareous soil. *Mycorrhiza* 25: 297-309.
- Legge 7 luglio 2009, n. 88. Disposizioni per l'adempimento di obblighi derivanti dall'appartenenza dell'Italia alle Comunità europee - Legge comunitaria 2008. GU n.161 del 14-07-2009 - Suppl. Ordinario n. 110.
- MA W.K., SICILIANO S.D. & GERMIDA J.J. – 2005: A PCR-DGGE method for detecting arbuscular mycorrhizal fungi in cultivated soils. *Soil Biol. and Biochem.*, 37 (9): 1589-1597. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.01.020>
- MARDHIAHAB U., CARUSO T., GURNELL C. & RILLIGAB M.C. – 2016: Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae reduce soil erosion by surface water flow in a greenhouse experiment. *Appl. Soil Ecol.* 99: 137-140. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.11.027>
- MARSHNER H. – 1995: *Mineral nutrition in the Higher Plants*. Academic Press Inc., London Ltd. II edition: pp. 889. ISBN: 9780080571874. Doi: <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0155>
- MILLER R.M. & JASTROW J.D. – 1990: Hierarchy of Root and Mycorrhizal Fungal Interactions with Soil Aggregation. *Soil Biol. and Biochem.*, 22: 579-584. Doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90001-G](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(90)90001-G)
- MILLER R.M. & JASTROW J.D. – 2000: *Mycorrhizal Fungi Influence Soil Structure*. In: Kapulnik, Y. and Douds, D.D., Eds., *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*, Springer, Dordrecht: 3-18. Doi: https://doi.org/10.1007/978-94-017-0776-3_1
- MUKHONGO R.W., TUMUHAIRWE J.B., EBANYAT P., ABDELGADIR A.H., THUITA M. & MASSO C. – 2016: Production and use of arbuscular mycorrhizal fungi inoculum in sub-Saharan Africa: challenges and ways of improving. *Int. J. Soil Sci.* 11: 108-122. Doi: <https://doi.org/10.3923/ijss.2016.108.122>
- NIWA R., KOYAMA T., SATO T., ADACHI K., TAWARAYA K., SATO S., HIRAKAWA H., YOSHIDA S. & EZAWA T. – 2018: Dissection of niche competition between introduced and indigenous arbuscular mycorrhizal fungi with respect to soybean yield responses. *Sci. Rep.* 8: 7419. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25701-4>
- PARADIKOVIĆ N., TEKLIĆ T., ZELJKOVIĆ S., LISJAK M. & SPOLJAREVIĆ M. – 2019: Biostimulants research in some horticultural plant species - a review. *Food Energy Secur.* 8: e00162.
- PELLEGRINO E., NUTI M. & ERCOLI L. – 2022: Multiple Arbuscular Mycorrhizal Fungal Consortia Enhance Yield and Fatty Acids of *Medicago sativa*: A Two-Year Field Study on Agronomic Traits and Tracing of Fungal Persistence. *Front. Plant Sci.* 13: 1-19. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.814401>

- RAKLAMI A., MEDDICH A., OUFDOU K. & BASLAM M. – 2022: Plants-Microorganisms-Based Bioremediation for Heavy Metal Cleanup: Recent Developments, Phytoremediation Techniques, Regulation Mechanisms, and Molecular Responses. *Int. J. Mol. Sci.* 9: 5031. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23095031>
- Regolamento (CE) n. 2003/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio del 13 ottobre 2003 relativo ai concimi (Testo rilevante ai fini del SEE). Gazzetta ufficiale n. L 304 del 21/11/2003 pag. 1-194.
- Regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari e che abroga le direttive del Consiglio 79/117/CEE e 91/414/CEE.
- Regolamento (UE) 2019/1009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 5 giugno 2019, che stabilisce norme relative alla messa a disposizione sul mercato di prodotti fertilizzanti dell'UE, che modifica i regolamenti (CE) n. 1069/2009 e (CE) n. 1107/2009 e che abroga il regolamento (CE) n. 2003/2003.
- SCHLAEPI K., BENDER S. F., MASCHER F., RUSSO G., PATRIGNANI A., CAMENZIND T., HEMPEL S., RILLIG M.C. & VAN DER HEIJDEN M.G.A. – 2016: High-resolution community profiling of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 212: 780-791. Doi: <https://doi.org/10.1111/nph.14070>
- SMITH S.E., & READ D.J. – 2008: *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press and Elsevier London, New York City, New York, USA. ISBN 978-0-12-370526-6. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6>
- TRINH P., ZANEVELD J. R., SAFRANEK S. & RABINOWITZ P. M. – 2018: One health relationships between human, animal, and environmental microbiomes: a mini-review. *Front. Public Health* 6: 1-9. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2018.00235>

