RMR, Boll. Amer 114, Anno XXXVII, 2021 (3): 138-144

GIUSEPPE PORCU, ALBERTO MUA, MASSIMO SANNA, MARCO CASULA

PRIMA RACCOLTA IN ITALIA DI *AGARICUS CONIFERARUM*, UNA INTERESSANTE SPECIE DI *AGARICUS* SEZ. *BOHUSIA*

Riassunto

Viene descritta ed illustrata una collezione di Agaricus coniferarum, raccolta in Sardegna (Italia), che costituisce la prima segnalazione in Italia. Viene, inoltre, proposto un albero filogenetico relativo alle specie di Agaricus sez. Bohusia.

Abstract

A collection of Agaricus coniferarum, found in Sardinia (Italy), which constitutes the first report in Italy, is described and illustrated. Is also proposed a phylogenetic tree relating to the species of Agaricus sect. Bohusia.

Keyword Agaricales, Agaricaceae, *Agaricus coniferarum*, Sardinia, Italy.

Introduzione

Negli ultimi anni il genere *Agaricus* si è arricchito di un notevole numero di specie ed oggi se ne contano oltre 500 a livello mondiale; questo è dovuto alle tecnologie di biologia molecolare, che hanno reso possibile la separazione di entità spesso molto somiglianti tra loro. Tale disciplina ha anche in qualche modo rivoluzionato le vecchie classificazioni basate sugli studi macroscopici, microscopici e chimici e che tenevano conto soprattutto delle specie delle zone temperate e meno delle specie tropicali. La stessa classificazione operata da Parra (Parra 2008, Parra 2013) può dirsi superata, viste le nuove concezioni apportate in lavori successivi dallo stesso Parra e da altri studiosi europei ed extraeuropei (Zhao *et al.* 2011, Zhao *et al.* 2016, Kerrigan 2016, Chen *et al.* 2017, Parra *et al.* 2018, He *et al.* 2018 e Ortiz-Santana *et al.* 2021, che attualmente prevedono all'interno del genere *Agaricus* 6 sottogeneri e 26 sezioni.

Secondo questa nuova concezione tassonomica, *A. coniferarum* appartiene ad *A.* sottogen. *Pseudochitonia* Konrad & Maubl., *A.* sez. *Bohusia* (L.A. Parra) L.A. Parra & R.L. Zhao (Mahdizadeh 2017). *A.* sez. *Bohusia,* che precedentemente era considerata sottosezione di *A.* sez. *Sanguinolenti* L.A. Parra, è stata elevata al rango di sezione, infatti negli studi di Zhao *et al.* (2016), i quali hanno calcolato i tempi di divergenza delle specie in milioni di anni, sono considerati sottogeneri i gruppi di specie,, i cui antenati comuni si sono separati oltre 30 milioni di anni fa, e sezioni quelli che si sono separati tra 18 e 26 milioni di anni fa.

I caratteri di *A.* sez. *Bohusia* sono: reazione al KOH positiva al giallo solo nel gambo o negativa; reazione di Schäffer positiva rossa o violacea o viola; un viraggio, spesso presente, all'arancione-giallo sulle superfici alla manipolazione; carne leggermente gialla, rossa o immutabile all'esposizione; odore fungino; anello supero, spesso, doppio; cheilocistidi presenti, clavati (Zhao *et al.* 2016).

A. sez. *Bohusia* è costituita da 6 specie a livello mondiale: *Agaricus bohusii* Bon (Europa), *Agaricus lusitanicus* Callac, Parra & Tancrède (Portogallo), *Agaricus crassisquamosus* R.L. Zhao (Cina), *Agaricus amicosus* Kerrigan (Nord America), *Agaricus brunneofibrillosus* Kerrigan (Nord America) e *Agaricus coniferarum,* che è stato raccolto in Francia e in Portogallo da Mahdizadeh *et al.* (2017), in Spagna da Parra & Becerra (2021) e da noi ora anche in Italia.

Materiali e metodi

Lo studio è stato effettuato su materiale fresco. Per effettuare le reazioni macrochimiche sono stati utilizzati i seguenti reagenti: anilina, acido nitrico al 60%, KOH 30%, naftolo-1. La reazione di Schäffer è stata effettuata secondo la metodica dello stesso autore (Schäffer 1933).

I preparati sono stati osservati in rosso Congo o in acqua con microscopi OPTIKA e Motic. I dati relativi alle misure sporali sono il risultato di 91 misurazioni sul deposito sporale ottenuto dalla raccolta.

Il dato relativo alle dimensioni sporali, lunghezza e larghezza, è composto da un primo numero tra parentesi che rappresenta le spore più piccole, un secondo numero senza parentesi che rappresenta il valore minore ottenuto dalla deviazione standard, un terzo numero, sottolineato, che indica il valore medio, un quarto numero che individua il valore maggiore ricavato dalla deviazione standard ed, infine, l'ultimo valore che è quello relativo alle spore più grandi. Il QM (Quoziente Medio) è dato dalla media aritmetica dei quozienti delle singole spore. Il quoziente di una spora è il rapporto tra lunghezza e larghezza. Dalle misurazioni è escluso l'apicolo.

Analisi molecolare

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

L'albero filogenetico (**Fig 1**) è stato così ottenuto: è stato elaborato un dataset contenente diverse sequenze della regione ITS relative alle specie appartenenti ad *A.* sez. *Bohusia* prelevate dal database GenBank, inclusa la sequenza della nostra raccolta di *A. coniferarum* (accession number GenBank OL856081), sono state aggiunte anche tre sequenze relative a specie di sezioni diverse da *A.* sez. *Bohusia*, ma comunque appartenenti ad *A.* sottogen. *Pseudochitonia*; si tratta di *A. parvitigrinus* Guinb. & Callac (Genbank AY899267), appartenente ad *A.* sez. *Xanthodermatei, A. sipapuensis* Kerrigan (GenBank KJ026950), appartenente ad *A.* sez. *Bivelares* e *A. variabilicolor* Zhao (GenBank NR_151768), appartenente ad *A.* sez. *Rubricosi*, scegliendo la sequenza di quest'ultimo come outgroup. Le sequenze sono state allineate tramite Muscle del software MegaX e, dopo aver ottenuto il file con estensione .phy con il software MESQUITE, è stato utilizzato il sistema di massima verosimiglianza (Maximum Likelihood), tramite il programma RAxML con bootstrap 1000. L'albero filogenetico così ottenuto è stato elaborato con il software ThreeGraph 2.

Agaricus coniferanum Guinberteau & Callac in Mahdizadeh, Parra, Safaie, Mohammadi-Goltapeh, Chen, Guinberteau & Callac, *Fungal Biology* 122 (1): 40 (2017) (**Foto 1**)

Cappello 8-10 cm, da sub-globoso ad emisferico, poi convesso, piano convesso, appena depresso a maturazione, più o meno ondulato; margine involuto poi arrotondato, eccedente alcuni mm, sovente appendicolato da resti di velo parziale; superficie asciutta, non molto lucida, asportabile quasi per intero, indissociata al disco, dissociata a partire dalla periferia del disco e verso il margine, ornata da numerose fibrille disposte radialmente ed aventi colorazioni intorno al bruno-nocciola, su base ocracea o comunque più chiara, imbrunente allo sfregamento.

Lamelle larghe fino a 0,8 cm, arrotondate, libere, accostate al gambo, appena ventricose al centro, sub-acute o largamente ottuse verso il margine, fitte, sottili, intercalate da varie lamellule, grigiastre, poi carnicine, infine brunastre, arrossanti alla manipolazione; taglio finemente eroso e nettamente più chiaro rispetto alle pareti.

Foto 1. *Agaricus coniferarum.* Raccolta di Corte Pisanu, 28.12.2016. Foto di Giuseppe Porcu

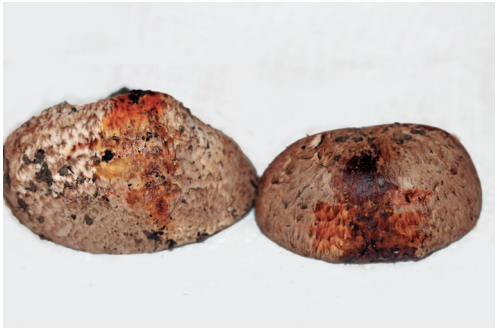

Foto 2. *A. coniferarum.* Reaz. di Schäffer (rispettivamente istantanea e secondaria). Foto di Giuseppe Porcu

Foto 3. *A. coniferarum*. Reazione all'anilina. Foto di Giuseppe Porcu

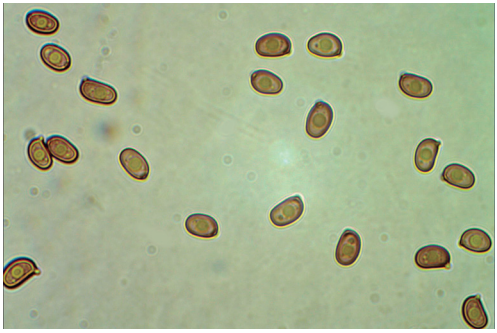

Foto 4. *A. coniferarum*. Spore (1000×). Foto di Giuseppe Porcu

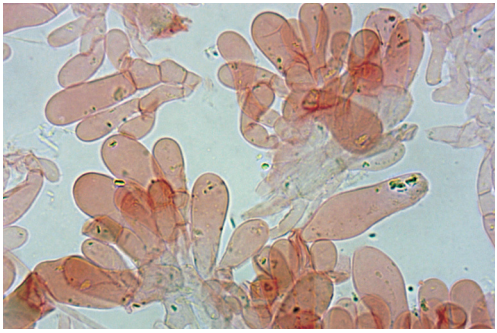

Foto 5. *A. coniferarum*. Cheilocistidi (1000×). Foto di Giuseppe Porcu

Foto 6. *A. coniferarum*. Ife della superficie inferiore dell'anello (400×). Foto di Giuseppe Porcu

Gambo 6-8 × 1,8-2,5 cm, largamente fusiforme in alcuni esemplari giovani, generalmente cilindrico, fistoloso, spesso attenuato alla base, bianco, imbrunente alla manipolazione, striato al di sopra dell'anello, fioccoso al di sotto, sovente ornato nella metà inferiore da varie zigrinature e cercini concolori al cappello.

Anello supero, membranoso, poco espanso, striato nella faccia superiore, fioccoso nella superficie inferiore, presto frazionato fra il margine del cappello e il gambo, bianco, concolore al cappello verso l'estremità.

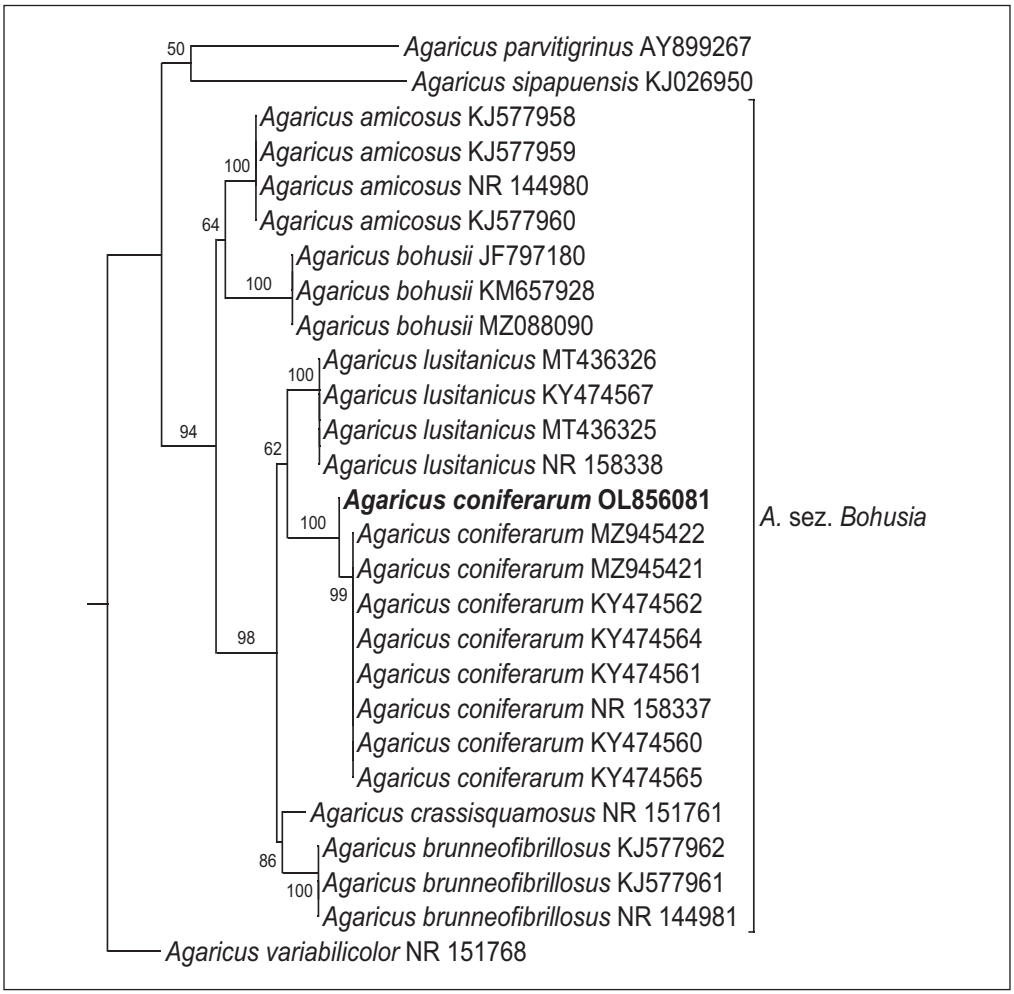

Fig. 1. Filogramma di sequenze del genere *Agaricus* sez. *Bohusia* basato sull'analisi della massima verosimiglianza (RAxML) relativa alle regioni geniche ITS1 e ITS2. Sui nodi sono riportati i valori di MLB. La raccolta italiana è in carattere grassetto.

Carne spessa fino a 1,2 cm al centro del cappello e progressivamente attenuata verso il margine, soda nel cappello e fibrosa nel gambo, bianca, in sezione vira all'aranciato, poi al rosso-brunastro in ogni parte; odore fungino, talvolta accompagnato da componente aromatica (come di patate appena pelate) o, tardivamente, anche appena sgradevole (salmastro), sapore grato (fungino).

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

Reazioni macrochimiche KOH 5%, negativo sulla cutis e sulla superfice del gambo; reazione di Schäffer (**Foto 2**), violetto molto tenue all'istante, lentamente più decisa e inscurente sulla cuticola, negativa altrove; anilina, rosso-arancio ovunque; naftolo 1, bruno sulla cutis, violetto sulla carne del cappello, sulla parte alta della superficie del gambo, rosso-arancio sulla parte bassa della superficie del gambo (**Foto 3**).

Spore (6,03) 7,04-7,59-8,13 (8,62) × (4,7) 5-5,32-5,64 (6,04) μm; Qm = 1,42; ellittiche o largamente ellittiche se osservate di profilo, ovoidali nelle osservazioni dorso-ventrali, in maggioranza monoguttulate, apicolo pronunciato (**Foto 4**).

Basidi (28,9) 29,2-35,4 (36) × (7,9) 8,6-9,8 (10,4) μm; Q = (3) 3,1-3,8 (4,6); aventi sterigmi lunghi fino a 5 μm; clavati, in maggioranza tetrasporici, più raramente bisporici.

Cheilocistidi (12,9) 15,6-30,5 (40,5) × (4,8) 7,1-13,4 (14,4) μm; Q = (1,5) 1,8-2,9 (3) (28 misurazioni); molto numerosi, in maggioranza claviformi o anche piriformi, più raramente cilindrici o filiformi, talvolta lageniformi, semplici o con alcuni setti (1-3), solo raramente accompagnati da qualche basidio; pigmento parietale incrostante, ocraceo, acongofilo, non molto diffuso (**Foto 5**).

Pleurocistidi assenti.

Velo (superfice inferiore dell'anello) formata da una struttura di ife sub parallele o leggermente intrecciate, per lo più ristrette ai setti, mostranti qualche diramazione ed aventi misurazioni comprese fra 3 e 10 μm; elementi marginali generalmente cilindrico-filiformi, talvolta flessuosi, ad apice arrotondato o anche attenuato; misure comprese fra 24-52 × 5-9 μm (**Foto 6**).

Contesto o trama pileica formata da una densa struttura di ife piuttosto intrecciate, mostranti diverse ramificazioni, facilmente collassanti, aventi diametro compreso fra 3 e 17 μm, con rigonfiamenti fino a 25 μm; ialine o anche colorate da un pigmento intracellulare ocraceo.

Epicute formata, nella suprapellis e nella mediopellis, da una cutis di ife intrecciate aventi diametro compreso fra 3 e 10 μm, non o poco ristrette ai setti; pigmento parietale ocraceo, leggermente incrostante, abbastanza frequente; pigmento intracellulare citoplasmatico, altrettanto ocraceo, non molto frequente**.**

Materiale esaminato raccolta del 28.12.2016, avvenuta in località Corte Pisanu, nel territorio di San Sperate (SU), al margine di una strada sterrata di periferia, su terreno argilloso e perfettamente pianeggiante, a circa 40 m di altitudine, in presenza di *Eucalyptus globulus* Labill. di vecchio impianto (essenza principale) e *Cupressus sempervirens* L.

Exsiccata in erbario CAG, n. 9/1.53, copia in erbario Porcu, collezione N° 0158.

Osservazioni

Le altre specie di *A.* sez. *Bohusia* si differenziano da A. *coniferarum* per i seguenti motivi:

Agaricus bohusii ha una crescita cespitosa, il gambo lungo e fusiforme, le spore più piccole e più rotondeggianti;

Agaricus lusitanicus ha dimensioni inferiori, le lamelle denticolate in vicinanza del margine del cappello che formano un solco circolare (Mahdizadeh *et al*. 2017), la carne scarsamente arrossante, le spore più piccole;

Agaricus crassisquamosus è più piccolo, ha la carne non virante, il gambo lungo e sottile con piccolo bulbo basale (Zhao *et al*. 2016);

Agaricus amicosus sembrerebbe la specie più simile ad *A. coniferarum* per il cappello squamoso e fibrilloso, per le sue colorazioni, le dimensioni ed il portamento, ma se ne differenzia per il gambo più o meno liscio e con la base bulbosa (Kerrigan 2016);

Agaricus brunneofibrillosus ha il cappello liscio e le spore sono più piccole.

Tra le specie europee *A. coniferarum* può essere confuso con *Agaricus biberi* Hlavácek, appartenete ad *A.* sez. *Nigrobrunnescentes*, che però ha il gambo liscio, il margine del cappello appendicolato per residui di velo parziale, inoltre ha la reazione di Schäffer negativa e le spore più piccole. Anche *A. subperonatus* (J.E. Lange) Singer, appartenente ad *A.* sez. *Bivelares*, ha una certa somiglianza con *A. coniferarum*, però si distingue per il portamento più snello, per il mancato o debole viraggio al rosso della carne ed infine per le spore più piccole e meno allungate.

Indirizzo degli autori

Giuseppe Porcu
Via E. Marongiu 32 - 09026 S. Sperate (SU).
E-mail: pinoporcu.ss@gmail.com

Alberto Mua
Via Spano 8 - 09045 Quartu S. Elena (CA).
E-mail: albertomua@gmail.com

Massimo Sanna
Via Famagosta 13 - 09134 Cagliari (CA)
E-mail: massanfungo@gmail.com.

Marco Casula
Via Piave 21 - 09048-Sinnai (CA).
E-mail: casula.mek@gmail.com

Bibliografia

Alvarado P., Manjón J.L., Matheny P.B. & Esteve-Raventós F. – 2010: *Tubariomyces*, a new genus of Inocybaceae from the Mediterranean region. *Mycologia*, 102 (6): 1389-1397.

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

Ariyawansa *et a.l.* – 2015: Taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal Diversity* 75: 27-274.

Chen J., Callac P., Parra L.A., Karunarathna S.C., He M.Q., Moinard M., De Kesel A., Raspé O., Wisitrassameewong K., Hyde K.D. & Zhao R.L. – 2017: Study in *Agaricus* subgenus *Minores* and allied clades reveals a new American subgenus and contrasting phylogenetic patterns in Europe and Greater Mekong Subregion. *Persoonia* 38: 170-196.

He M.Q., Chuankid B., Hyde K.D., Cheewangkoon R. & Zhao R.L. – 2018: A new section and species of *Agaricus* subgenus *Pseudochitonia* from Thailand. *MycoKeys* 40: 53-67.

Kerrigan R.W. – 2016: *Agaricus* of North America. *Mem. N. Bot. Gard.*, vol. 114.

Mahdizadeh V., Parra L.A., Naser Safaie N., Goltapeh E.M., Chen J., Guinberteau J. & Callac P. – 2017: A phylogenetic and morphological overview of sections *Bohusia, Sanguinolenti*, and allied sections within *Agaricus* subg. *Pseudochitonia* with three new species from France, Iran and Portugal. *Fungal Biology* 122: 34-51.

Moser M. – 1980: Guida alla determinazione dei funghi. Vol. 1. Ed. Saturnia, Trento.

Ortiz-Santana B., Chen J., Parra L.A., Angelini C., Lodge G.J., Kerrigan R.W. & Callac P. – 2021: The genus *Agaricus* in the Caribbean II. Refined phylogeny of *Agaricu*s subg. *Spissicaules* with description of two new sections and eight new species. *Mycological Progress* 20: 381-411.

Parra L.A. – 2008: *Agaricus* L., *Allopsalliota* Nauta & Bas. Fungi europaei. Ed. Candusso, Alassio.

Parra L.A. – 2013: *Agaricus* L. - *Allopsalliota* Nauta & Bas. Fungi Europaei 1a. Candusso Edizioni s.a.s., Alassio.

Parra L.A. & Becerra J.L. – 2021: *Agaricus coniferarum* Guinb. & Callac, primeras citas para España. *Boll. Inf. Soc. Micol. Extremeña* 21: 3-10.

Parra L.A., Angelini C., Ortiz-Santana B., Mata G., Billette C., Rojo C., Chen J. & Callac P. – 2018: The genus *Agaricus* in the Caribbean. Nine new taxa mostly based on collections from the Dominican Republic. *Phytotaxa* 345 (3): 219-271.

Schäffer J. – 1933: Spezifische Merkmale bei Champignons. *Schweiz. Pilz*. 11:137-140.

Zhao R.L., Karunarathna S., Raspé O., Parra L.A., Guinberteau J., Moinard M., De Kesel A., Barroso G., Courtecuisse R., D. Hyde K.D., Guelly A.K., Desjardin D.E. & Callac P. – 2011: Major clades in tropical *Agaricus*. *Fungal Diversity* 51: 279-296.

Zhao R.L., Zhou J.L., Chen J., Margaritescu S., Sánchez-Ramírez S., D Hyde K.D., Callac P., Parra L.A., Li G.J. & Moncalvo J.M. – 2016 Towards standardizing taxonomic ranks using divergence times – a case study for reconstruction of the *Agaricus* taxonomic system. *Fungal Diversity* 78: 239-292.