

LUIZ ANTONIO SILVA RAMOS

**Diversidade e posicionamento filogenético de
espécies de *Agaricus* da região metropolitana de
São Paulo – SP**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO
AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas
Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

São Paulo

2018

LUIZ ANTONIO SILVA RAMOS

**Diversidade e posicionamento filogenético de
espécies de *Agaricus* da região metropolitana de
São Paulo – SP**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO
AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas
Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

Orientador: Dr. Nelson Menolli Jr.

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Ramos, Luiz Antonio Silva
R175d Diversidade e posicionamento filogenético de espécies de *Agaricus* da região metropolitana de São Paulo-SP / Luiz Antonio Silva Ramos -- São Paulo, 2018.
103p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2018.
Bibliografia.

1. Cogumelo. 2. ITS. 3. Biodiversidade. I. Título.

CDU: 582.287.23

“...a species is what it is useful to give a species name to.”

(Hawksworth D.L. 1996)

AGRADECIMENTOS

A vida, aos ensinamentos do cotidiano, aos perrengues, entraves, superações e alegrias. A minha mãe, pela força e incentivo, sempre, pelas preocupações e também por ter me ensinado sobre perseverança e resiliência. Aos amigos e colegas, pelo voto de confiança, pela crença, muitas vezes dogmática, de que tudo sempre dá certo, pela fé.

A toda equipe do Instituto de Botânica, onde tive a oportunidade de conviver com pessoas tão especiais e aprender sobre profissionalismo, solidariedade e espírito de equipe. Agradeço ao meu orientador, Dr. Nelson Menolli Jr., que mesmo distante, sempre esteve tão próximo nessa jornada, a Dra. Adriana Gugliotta pela lição de como ver o mundo sob uma perspectiva mais leve, a Dra. Carmen Pires-Zottarelli, por toda atenção e dedicação, a Dra. Vera Vitalli pela companhia carismática durante o “terceiro turno” do IBt. A todos os meus colegas, que através de incentivo e dedicação, me auxiliaram a resolver problemas e seguir em frente. A Viviana, pela força com as sequências, pelos “*contigs*” impossíveis, ao Mauro pelo incentivo, pela técnica de “*contig*” manual, e pela disposição em resolver qualquer problema que surgisse, à Ana, pelas palavras de força e pelas frases de calendário, pelas soluções rápidas acerca dos problemas repentinos, por simplesmente ouvir quando houve necessidade, a Marcela, por servir de exemplo e inspiração, ao Ricardo, pela partilha das ideias filosóficas, pelas conversas na ratolândia, juntamente com o Gustavo, que também serviu de exemplo de dedicação à Ciência e de eficiência, ao Alex, principalmente por ter compartilhado toda sua alegria e lições de generosidade, deixando o trabalho do cotidiano muito mais leve. A Sarah, pela força com a Macrogen, pela alegria, valeu. Claro, para a grande colega e amiga Mariana Drewinski, por ter me ensinado a me virar com as análises, por ter me ajudado tão pacientemente a montar esta dissertação, e por ter adiantado vários correios enquanto eu estava plantado na frente do computador, Mari vc é demais, t devo um açaí! Ao Thiago Yan, agradeço pela gentileza e prontidão em ajudar a resolver problemas, pela companhia de coleta e pelas conversas na trilha.

As meninas de Agaricales, Adriana, Daline, Carol Liz, Flavinha, obrigado pela força, pela companhia nas coletas, apareçam!

Gostaria de agradecer também a pós-graduação, tanto da gestão atual quanto da gestão passada, pela dedicação e carinho despendido nessa missão que é manter tudo isso com perfeição, em especial a Dra. Regina Moraes, Dra. Edenise Segala, Dra. Andrea Tucci, Dra. Mutue Toyota Fujii, também a Shirlei Soares Dassi e a Marcia Regina Ângelo.

Aos meus professores do Instituto de Botânica, obrigado pela atenção e pela partilha do conhecimento.

Aos meus amigos da vida, aos novos e aos antigos, agradeço em especial a Júlia Molina, pela força e companheirismo, pelas noites sem dormir cortando lamela de cogumelo e colocando no potinho, pela força nos textos em inglês com prazos de entrega estourados, pelos rolês com os dogs e conversas filosóficas, obrigado. Ao Daniel e ao Hadrien, que foram companhias essenciais para os momentos de descontração, pelos *gigs* na meca, “la experiencia nomade”, etc..., Japous, Thi, agradecimentos mil ao pessoal de casa, Maria, Samú, Rá e Clau, desculpem a bagunça, valeu pela consideração, vcs são os melhores coabitantes.

A todas as pessoas que participaram dessa etapa da minha vida, que ajudaram de alguma forma, que torceram, acreditaram, à vocês, muito obrigado.

RESUMO

O gênero *Agaricus* representa a primeira proposição taxonômica de todos os fungos formadores de cogumelos, em geral reconhecidos por possuírem píleo, estipe e lamelas. Atualmente o gênero consta de aproximadamente 440 espécies, incluindo algumas de interesse nutricional, medicinal e tóxicas. Estudos moleculares, utilizando sequências de DNA da região ITS confirmaram a monofilia do gênero e de algumas seções tradicionalmente conhecidas. Apesar da carência de estudos moleculares com espécies de regiões tropicais, alguns resultados sugerem que espécies tropicais formam grupos monofiléticos típicos dessas regiões. A Mata Atlântica, um dos *hotspots* de biodiversidade do mundo, possui uma riqueza de biodiversidade extraordinária e, sem dúvida, representa um campo de estudos extremamente promissor para o levantamento da micobiota. Neste projeto foi realizado um estudo sistemático de representantes do gênero *Agaricus* sob a perspectiva da taxonomia moderna incluindo dados morfológicos e moleculares. Foram realizadas coletas periódicas em três áreas de Mata Atlântica da região metropolitana de São Paulo, o Parque Estadual da Cantareira (PEC), a Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba (RBASP) e o Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), e adicionalmente coleções de outras localidades foram incorporadas ao estudo. Os estudos moleculares foram conduzidos a partir da obtenção de sequências de DNAr da região ITS, a fim de determinar o posicionamento filogenético dos espécimes coletados e contribuir para a filogenia global do grupo. Como resultado deste estudo, três novas espécies de *Agaricus* foram propostas para a *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* seção *Xanthodermatei* com base em dados morfológicos e moleculares, além de uma revisão acerca da sistemática e filogenia do gênero *Agaricus* no contexto mundial, incluindo 30 novas sequências de ITS obtidas a partir dos materiais estudados e distribuídas entre 10 das 23 seções atualmente reconhecidas no gênero.

Palavras-chave: cogumelo, taxonomia, filogenia, biodiversidade, ITS.

ABSTRACT

The genus *Agaricus* represents the first taxonomic proposition of all mushroom-forming fungi, generally recognized for having pileus, stipe and lamellae. Currently the genus consists of approximately 440 species, including some of nutritional, medicinal and toxic interest. Molecular studies, using rDNA sequences from the ITS region, confirmed the monophyly of the genus and some traditionally known sections. Despite the lack of molecular studies with species from tropical regions, some results suggest that tropical species form monophyletic groups typical from these regions. The Atlantic Rainforest, one of the biodiversity hotspots in the world, has an extraordinary wealth of biodiversity and undoubtedly represents an extremely promising field of study for the mycobiota survey. This project carried out a systematic study of representatives of the genus *Agaricus* from the perspective of a modern taxonomy including morphological and molecular data. Periodic collections were carried out in three areas of the Atlantic Rainforest of the São Paulo metropolitan region, the Parque Estadual da Cantareira (PEC), the Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba (RBASP) and the Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), and additionally other collections were incorporated into the study. Molecular studies were conducted by rDNA sequences from the ITS region in order to determine the phylogenetic positioning of the collected specimens and contribute to the overall phylogeny of the group. As result of this study, three new species of *Agaricus* were proposed for *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* seção *Xanthodermatei*, as well as a review about the systematics and phylogeny of the genus *Agaricus* in the world context, including 30 new ITS sequences obtained from the materials studied and distributed among 10 of the 23 sections currently recognized in the genus.

Keywords: mushroom, taxonomy, phylogeny, biodiversity, ITS.

APRESENTAÇÃO

Este trabalho está subdividido em seis seções. A seção 1, “Introdução”, traz uma visão geral sobre os fungos, sua diversidade e principais funções ecológicas. É oferecida uma breve contextualização sobre cogumelos e uma introdução ao gênero *Agaricus*, evidenciando sua importância socioeconômica e o estado de conhecimento do grupo no Brasil. Por fim, o objetivo deste estudo é apresentado, ressaltando suas principais potencialidades.

A seção 2, chamada “O gênero *Agaricus*”, conta um pouco da origem do gênero sob a perspectiva da taxonomia, resgatando as principais definições que circunscreveram o grupo desde os primórdios em sua concepção, até os dias atuais. A subseção 2.1, denominada “Classificação Infragenérica”, retrata de forma sucinta o histórico da classificação infragenérica de *Agaricus*, resgatando os principais caracteres morfológicos que protagonizaram o surgimento dos primeiros táxons relacionados ao gênero. Em “Estudos Moleculares” (seção 2.1.1) são apresentados os trabalhos mais relevantes que corroboraram alguns sistemas de classificação infragenérica em *Agaricus* e que serviram de base para proposição de novos táxons para o gênero sob a luz da sistemática filogenética e análises moleculares. A seção 2.2 (“*Agaricus* no Brasil”) traz a contextualização dos estudos do gênero no país, sumarizando as espécies já citadas e a bibliografia de referência.

A seção 3 (Material e Métodos) explica como este estudo foi realizado e quais foram os trabalhos de referência para gerar e interpretar os resultados obtidos. Os métodos apresentados nessa seção estão relacionados a este trabalho como um todo, de forma que a subseção 4.2, em resultados, possui a sua própria metodologia, apresentada dentro do capítulo que representa um artigo submetido para publicação.

Na seção 4 são apresentados os resultados obtidos em todo o estudo. A subseção 4.1 traz os resultados gerais, subdivididos em tópicos. A subseção 4.1.1 sumariza as saídas a campo e o número de espécimes coletados, a subseção 4.1.2 traz a listagem de todas as exsicatas

amostradas e obtidas neste estudo, além da situação dos resultados moleculares relacionados a cada material. A subseção 4.1.3 traz a filogenia elaborada com as sequências de ITS produzidas neste estudo e as sequências provenientes de trabalhos relacionados ao tema, seguida de uma discussão acerca do posicionamento dos espécimes brasileiros na filogenia global de *Agaricus*. A subseção 4.1.4 traz uma discussão sobre o incremento do conhecimento de *Agaricus* no Brasil, ressaltando as novidades provenientes deste estudo.

A subseção 4.2 é um manuscrito que inclui a proposição de três espécies novas para o gênero *Agaricus* subg. *Pseudochitonia* seção *Xanthodermatei* com base em estudos morfológicos e moleculares, além de uma revisão da filogenia molecular de *Agaricus* seção *Xanthodermatei* baseada na região ITS do DNAr.

A seção 5 apresenta as considerações finais acerca do estudo desenvolvido, contextualizando as dificuldades, desafios e potencialidades da taxonomia, sistemática e filogenia de *Agaricus* no Brasil e no mundo.

Na seção 6 estão as referências bibliográficas consultadas durante este estudo, organizadas em ordem alfabética. Essas referências estão associadas ao estudo de forma geral, sendo que as referências citadas no manuscrito da subseção 4.2 possui a sua própria bibliografia incorporada dentro do capítulo.

Por fim, a seção 7 é o apêndice com a tabela que possui informações sobre todas as sequências de ITS utilizadas nas análises filogenéticas, relacionando-as aos seus respectivos espécimes e sua região de origem, bem como os códigos de acesso do Genbank e os trabalhos de referência.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	12
2 O GÊNERO <i>Agaricus</i>.....	14
2.1 CLASSIFICAÇÃO INFRAGENÉRICA	18
2.1.1 Estudos Moleculares.....	23
2.2 <i>Agaricus</i> NO BRASIL.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 COLETAS E HERBORIZAÇÃO.....	30
3.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA	31
3.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA.....	31
3.4 EXTRAÇÃO DE DNA, PCR E SEQUÊNCIAMENTO	31
3.5 ANÁLISES FILOGENÉTICAS.....	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 RESULTADOS GERAIS.....	33
4.1.1 Coletas	33
4.1.2 Coleções Amostradas	33
4.1.3 Filogenia Molecular.....	36
4.1.4 Incremento do Conhecimento de <i>Agaricus</i> no Brasil	46
4.2 Three new species of <i>Agaricus</i> sect. <i>Xanthodermatei</i> from Brazil with an overview of the nrITS phylogeny	48
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
6 BIBLIOGRAFIA.....	85
7 APÊNDICE.....	95

1 INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos altamente versáteis, encontrados em diversos ambientes, sob diversas formas, como decompositores, parasitas ou simbioses de plantas, animais e de outros fungos (Mehrotra *et al.*, 1990). São organismos muito utilizados em inúmeros processos do cotidiano, como produção de pão, vinho, cerveja, antibióticos, entre outros (Bononi & Grandi, 1999). A partir da década de 60 passaram a compor um reino à parte, o reino Fungi, devido à uma série de atributos morfológicos, citológicos, ecológicos e bioquímicos compartilhados entre esses organismos tão diferentes dos demais organismos conhecidos até então (Whittaker, 1969). Os fungos são essenciais para a ciclagem da matéria orgânica por representar o grupo com maior número de decompositores da Terra (Blackwell, 2011). Dentre suas funções primordiais está a degradação de macromoléculas orgânicas, como a lignina, provendo a ciclagem do carbono no ambiente (Alexopoulos, 1962). Além disso, vale citar a importância dos fungos associada à colonização do ambiente terrestre pelas plantas devido às associações simbióticas (micorrizas) que otimizam a absorção de nutrientes pelos vegetais (Pirozynsky & Malloch, 1975).

Kirk *et al.*, (2008) citaram que existem cerca de 97.330 espécies descritas sob a denominação de “fungo”, Blackwell (2011), baseada em análises moleculares, estimou cerca de 5.1 milhões de espécies pertencentes a esse reino. Contudo, Hawksworth & Lücking (2017) argumentaram sobre a infinidade de conceitos de espécies que vêm sendo debatidos entre os micólogos e sugeriram, considerando também fatores filosóficos, uma estimativa em torno de 2.2 a 3.8 milhões de espécies de fungos. Além disso, os autores afirmaram que o número de espécies atualmente conhecidas para o reino está próximo de 120.000 (Hawksworth & Lücking, 2017), apesar de muitas não terem sido formalmente apresentadas à ciência.

Mofos, bolores, leveduras e cogumelos são nomes populares que representam os fungos e sua grande diversidade de formas (Bononi & Grandi, 1999). Cogumelo é o nome comum dado

à estrutura reprodutiva de alguns fungos do filo Basidiomycota Whittaker ex Moore (Bononi & Grandi, 1999). Os cogumelos têm sido considerados como alimento pela humanidade há séculos, na Grécia antiga acreditava-se que os cogumelos proporcionavam força aos guerreiros, e os romanos os tinham como "alimento dos Deuses" (Galli, 2004), principalmente devido às suas hoje conhecidas propriedades nutricionais e terapêuticas (Valverde *et al.*, 2015).

O gênero tipo da ordem Agaricales, a mais representativa do filo Basidiomycota (Kirk *et al.*, 2008) – *Agaricus* L. – inclui muitas espécies comestíveis, como *A. bisporus* (J. E. Lange) Imbach, popularmente conhecida como cogumelo de Paris, *champignon* ou *Portobello* (Royse, 2014); *A. subrufescens* Peck, conhecido no Brasil como cogumelo do sol (Kerrigan, 2005). Algumas espécies do gênero também são apreciadas para uso terapêutico devido às suas propriedades medicinais, como *A. subrufescens* e *A. sylvaticus* Schaeff., que possuem reconhecidas atividades antioxidantes, antivirais, imunorregulatórias e antimutagênicas, também favorecendo o controle da diabetes, reduzindo doenças cardiovasculares, atenuando os efeitos da hepatite B e até servindo de matéria prima para cosméticos (Ellertsen & Hetland, 2009; Hyde *et al.* 2010; Valverde *et. al.*, 2015). Espécies tóxicas também estão presente no gênero, como *A. xanthodermus* Genev., cuja ingestão, em alguns casos, pode causar letargia, vômito e diarreia (Gill & Strauch, 1984).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi aumentar o conhecimento da diversidade de espécies de *Agaricus* em áreas da região metropolitana de São Paulo, buscando também o incremento de dados moleculares para análises globais, determinar o posicionamento filogenético dos espécimes brasileiros, enriquecer o conhecimento sobre a região neotropical e sua biodiversidade, bem como contribuir para a compreensão e delimitação das seções e clados do gênero.

2 O GÊNERO *Agaricus*

O gênero *Agaricus* foi proposto por Linnaeus (1753) ao agrupar os fungos popularmente conhecidos como cogumelos, ou seja, que apresentam o basidioma composto por píleo, estipe e a superfície himenial desenvolvendo-se sobre lamelas. Linnaeus (1752, p. 397) previamente já havia mencionado a circunscrição do gênero *Agaricus* como “*fungus horizontalis, subtus lamellatus*”, e desde sua proposição até o começo da década de 60 do século XX, o gênero *Agaricus* foi interpretado de diferentes formas por vários taxonomistas (Gray, 1821; Genevier, 1876; Kummer, 1871). Donk (1964) propôs *Agaricus* L. como “*nomem conservadum*” e *Agaricus campestris* L., uma das espécies mais antigas do gênero, foi proposta como espécie tipo conservada.

A circunscrição proposta por Linnaeus (1753) era bastante ampla, englobando fungos das atuais ordens Agaricales, Cantharellales, Russulales, Boletales e Polyporales, e que foram distribuídos em dois subgrupos: i) “*stipitati, pileo orbiculato*”, com 24 espécies; e ii) “*parasitici, acaules, dimidiata*”, com outras três espécies (Linnaeus 1753, p. 1171).

Posteriormente, Fries (1821, p. 8), em *Systema Mycologicum*, propôs uma nova circunscrição para *Agaricus*, também com uma definição igualmente ampla:

Lamellae e centro l. basi radiantes, simplices, paralelae, immixtis plerumque brevioribus, e membrana duplici arcte conexa compositae, transversim planae, a pileo subdiscretae, longitudinaliter ascigerae – Stipes numquam reticulatus, raro obliteratus. Pileus carnosus l. membranaceus, horizontalis in adultis, determinatus, margine libero juniore inflexo, nunquam effusus etc. Velum varium, nullum.

A versão da descrição de Fries (1821) poderia ser interpretada como: lamelas simples com base no centro (do píleo) e irradiando paralelamente (ao píleo), quase sempre intercaladas por lamélulas, membrana duplamente composta, longitudinalmente associada e ligada intimamente ao píleo em um plano transversal, de forma semidiscreta – Estipe nunca reticulado,

raramente obliterado (preenchido). Píleo carnosos, membranáceos, aplanados quando maduros, bem definidos, margens livres, involutas quando jovens, nunca esparramados etc. Veu variável ou ausente.

Contudo, devido à ampla circunscrição de *Agaricus*, as espécies agrupadas por Fries (1821), em 36 tribos, eram muito heterogêneas entre si, e muitas dessas tribos propostas por Fries (1821) já haviam sido previamente propostas como gêneros por outros autores, à exemplo de: *Amanita* Pers., *Lepiota* (Pers.) Gray, *Russula* Pers. e *Mycena* (Pers.) Roussel (Roussel, 1806; Persoon, 1794, 1796; Gray, 1821). Diversos autores (Staude, 1857; Kummer, 1871; Quélet, 1872; Wünsche, 1877) passaram também a tratar as tribos de Fries (1821) como gêneros, com circunscrições mais estritas e agrupando espécies com mais semelhanças morfológicas, de forma que a circunscrição do gênero *Agaricus*, tal como proposta por Linnaeus (1753) e Fries (1821) passou a se tornar obsoleta.

Kummer (1871) propôs o gênero *Psalliota* (Fr.) P. Kummer a partir da tribo *Psalliota* de Fries (1821), de forma que as espécies relacionadas à tribo *Psalliota*, incluindo *A. campestris*, foram gradativamente sendo transferidas para o novo gênero *Psalliota* (Kummer, 1871; Quélet, 1872). O novo gênero foi proposto por Kummer (1871, p. 23) com a seguinte circunscrição:

Lamellen sich verfeuchtend und meist etwas zerfließen, anfangs meist hellrosa, rot oder grau, dann braunschwarz, schwarzviolett oder grünschwarz; sind oder werden sie rotbraun, so ist der Hut und meist auch der Stiel spangrün. Manschette schlaffhäutig, meist hängend. Auf Grasplätzen, "Tristen", an Wegen, in lichten Wäldern, gern in der Nähe von verrottetem Biehdünger.

A versão da circunscrição de Kummer (1871) para o gênero *Psalliota* pode ser interpretada da seguinte forma: lamelas geralmente dissolvendo ligeiramente, inicialmente, geralmente rosa claro, vermelhas ou cinzas, então marrom-pretas, preto-violetas ou verde-pretas; ou então castanhas avermelhadas, assim como o píleo e geralmente também o estipe.

Anel frequentemente dilacerado, principalmente pendurado. (Ocorrendo) Nos campos de grama, “disperso”, em caminhos, em florestas esparsas, ou perto de estrume apodrecido.

Karsten (1879, p. 482), com o intuito de manter o epíteto genérico *Agaricus*, que deixou de comportar as tribos de Fries (1821), e solucionar um problema nomeclatural¹ causado pela exclusão de todas as espécies de um gênero, propôs uma nova circunscrição para o gênero:

Sporerna mörk-eller svartbruna, vanl. Skiftande mer eller mindre i purpurrdt. Foten köttig eller tågig. Hyllet bildande en ring kring foten. Hatten skild frå; lamellerna fria. Medelstora, ätliga eller oskadliga, på jord växande svampar. Sporerna rundadt elliptiska. Motsvarar Lepiota.

A versão da circunscrição de Karsten (1879) para o gênero *Agaricus* pode ser interpretada da seguinte forma: esporos marrom-escuros ou marrom-enegrecidos, com tons purpúreos, estipe carnoso a fibriloso, véu na forma de anel ao redor do estipe, píleo separado do estipe, lamelas livres, estatura mediana, comestíveis ou tóxicos, terrícolas, esporos elíptico-arredondados, semelhante à *Lepiota*.

A proposição do gênero *Psalliota* e a nova circunscrição do gênero *Agaricus* geraram um impasse nomenclatural² entre os micólogos da época. Novas espécies foram gradativamente sendo descritas para o gênero *Psalliota*, porém com as características de *Agaricus*, a exemplo *Psalliota bitorquis* Quél. [= *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc.], entre outras (Quélet, 1884).

Em contrapartida, uma vez que a circunscrição de *Agaricus* passou a ser melhor definida, incluindo várias espécies já bem estabelecidas – como *A. arvensis* Schaeff., *A. sylvaticus* Schaeff., *A. comtulus* Fr., *A. augustus* Fr., *A. semotus* Fr., *A. placomyces* Peck, *A. subrufescens*, *A. abruptibulbus* Peck, *A. dulcidulus* Schulzer e *A. xanthodermus* –, os estudos

¹ Com ascensão das tribos propostas por Fries à gêneros, o gênero *Agaricus* passou a não conter mais espécies. A exclusão de todas as espécies pertencentes ao gênero, incluindo a espécie *A. campestris*, que foi transferida para o gênero *Psalliota* (Kummer, 1871), foi contra as Leis de Nomenclatura Botânica estipuladas no primeiro Congresso Internacional de Botânica, em Paris (1867). De acordo com as regras “quando um táxon era dividido em duas ou mais partes, o táxon original deveria ser conservado” (Parra, 2008).

² De acordo com Parra (2008), ocorreu uma confusão nomenclatural envolvendo *Agaricus* L., *Agaricus* Genev., *Pratella* (Pers.) Gray e *Psalliota* Kummer, sendo que, muitas vezes, um mesmo micólogo chegou à referenciar uma mesma espécie em três táxons diferentes, por exemplo: *Agaricus bernardii* Quél. (1878), *Psalliota bernardii* (Quél.) Quél. (1879) e *Pratella bernardii* (Quél.) Quél. (1886).

taxonômicos do grupo passaram a focar não somente nas descrições de novas espécies, mas também na busca de novas características diagnósticas com base na morfologia (Parra, 2008).

Sendo assim, o gênero *Agaricus* e o gênero *Psalliota* passaram a ser estudados como gêneros distintos e, gradativamente, novas características taxonômicas foram sendo usadas para facilitar a distinção de *Agaricus* e *Psalliota* de outros gêneros, e para que servissem de base para o desenvolvimento de novas propostas de classificação infragenérica desses grupos.

Atualmente, a circunscrição de *Agaricus* é bem próxima àquela proposta por Karsten (1879). Singer (1986) definiu *Agaricus* como um gênero composto por espécies sapróbias, de basidiomas carnosos; píleo liso, fibroso ou escamoso, de coloração esbranquiçada, amarelada ou marrom; estipe geralmente com anel simples ou duplo; lamelas livres, inicialmente esbranquiçadas, rosadas ou acinzentadas em basidiomas jovens, tornando-se sépia a chocolate ou marrom-púrpura em basidiomas maduros; basidiósporos marrons sob microscopia óptica, lisos, com poro germinativo distinto ou indistinto, raramente maiores do que 10 µm de comprimento; pleurocistídios ausentes; queilocistídios presentes, vesiculosos e às vezes septados na base ou pedicelados, podendo ser vestigiais com a maturidade; superfície pilear tipicamente como uma cútis; e ansas geralmente ausentes. Parra (2008) acrescentou que a superfície pilear de representantes do gênero pode ser celular ou com esferocitos; que o contexto não contém esferocistos; o himênio é facilmente separável do basidioma; a trama da lamela também pode ser irregular; a esporada é marrom-escura; os basidiósporos geralmente contêm endósporo grosso; e que os queilocistídios são de várias formas, com ápice capitado, porém nunca cilíndricos ou estreitamente lageniformes. Espécies secotioides também estão presentes no gênero (Vellinga *et al.*, 2003; Geml *et al.*, 2004).

2.1 CLASSIFICAÇÃO INFRAGENÉRICA

Muitos sistemas de classificação infragenérica foram propostos para o gênero *Agaricus* e para o gênero *Psalliota*, desde a proposição por Linnaeus (1753) e Kummer (1871) até os dias atuais (Fries, 1838, 1874; Kauffman 1919; Konrad & Maublanc, 1927, 1948; Schäffer & Møller, 1938; Møller 1950, 1952; Singer, 1951, 1986; Heinemann, 1953, 1956, 1977; Capelli 1984; Galli, 2004; Parra, 1997, 2008, 2018; Chen *et al.* 2017; Zhao *et al.* 2016). No entanto, de acordo com Parra (2005, 2008), muitas dessas proposições não são reconhecidas atualmente por serem inválidas de acordo com as regras do Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Fungos e Plantas.

Em *Epicrisis Systematis Mycologici*, Fries (1838) subdividiu a tribo *Psalliota* em duas seções: i) seção *Pholiotidei*, agrupando espécies com lamelas adnatas, adnexas ou decurrentes, e que posteriormente foi removida de *Psalliota*; e ii) seção *Lepiotidei*, essa com a seguinte circunscrição: himenóforo separado do estipe, lamelas livres (“*Hymenophorum a stipite discretum, lamellae absolute liberae*” – Fries, 1838, p. 212).

Fries (1838) reconheceu cinco espécies na seção *Lepiotidei*: *A. campestris*, *A. sylvaticus*, *A. arvensis*, *A. comtulus* e *A. augustus*. Fries (1838) também propôs a divisão da seção *Lepiotidei* em dois subgrupos (*Edules* e *Varii*), baseado no tamanho dos basidiomas.

Edules foi proposto com a seguinte circunscrição (Fries, 1838, p. 212): maiores, antes chamados de mais carnosos (“*Majoris, magis carnosi, sub nomine*”). *Edules* passou a comportar as espécies com basidiomas grandes e carnosos, a exemplo de *A. campestris*, *A. sylvaticus*, *A. arvensis* e *A. augustus* (Fries, 1838).

Varii, por sua vez, foi proposto por Fries (1838, p. 214) para incluir espécies com píleo mais fino (“*pileo tenuiori*”) e que, posteriormente, Fries (1874, p. 281) incluiu mais espécies e passou a chamar de *Minores*, definindo o grupo como sendo composto por cogumelos rejeitados como alimento e com píleo menos carnosos (“*in cibariis rejecti, pileo tenuiter carnosus*”).

Minores (Fries, 1874) incluía as espécies *A. algeriensis* Fr., *A. comtulus*, *A. dulcidulus*, *A. phoenix* Fr., *A. rusiophyllus* Lasch., *A. sagatus* Fr. e *A. semotus*.

Kauffman (1919), baseado nas características do véu e tratando até então as espécies dentro de *Psalliota*, dividiu o gênero em duas seções: *Psalliota* seção *Bivelares* Kauffman e *Psalliota* seção *Univelares* Kauffman. *Psalliota* seção *Bivelares* foi definida por Kauffman (1919) por conter espécies com basidiomas que possuíam anel duplo e com flocos espessos na parte inferior, provenientes do véu universal, a exemplo de *P. bitorquis* (= *Agaricus bitorquis*) e *P. arvensis* (Schaeff.) P. Kumm. (= *Agaricus bitorquis*). *Psalliota* seção *Univelares* passou a incluir espécies que possuíam basidiomas com anel simples e sem padrão floculoso na parte inferior, como *P. campestris* L. (Quél.) (= *Agaricus campestris*) e *Psalliota silvatica* (Schaeff.) P. Kumm. (= *A. silvaticus*) (Kauffman, 1919).

Konrad & Maublanc (1927) também utilizaram características do véu e a composição do anel, além da mudança de coloração do contexto quando exposto ao ar, para propor a subdivisão do gênero *Psalliota* em dois subgêneros: *Psalliota* subg. *Psalliota* e *Psalliota* subg. *Pseudochitonia* Konrad & Maubl.

Psalliota subg. *Psalliota* foi definido por apresentar espécies que continham basidiomas com véu universal desaparecendo ou aderido ao estipe e o véu parcial formando um anel (Konrad & Maublanc, 1927). Os autores ainda propuseram dois subgrupos para *Psalliota* subg. *Psalliota*: *Arvenses*, contendo espécies com anel duplo e cujo contexto do basidioma tornava-se amarelado quando exposto ao ar; e *Campestris*, contendo espécies com anel quase sempre simples, e cujo contexto do basidioma tornava-se levemente rosado, avermelhado ou marrom.

Psalliota subg. *Pseudochitonia*, por sua vez, foi caracterizado por conter espécies sem anel, com volva separada do estipe e basidiósporos praticamente subglobosos (Konrad & Maublanc, 1927).

Schäffer & Møller (1938) optaram por dividir o gênero *Psalliota* em quatro grupos (*Arvensis*, *Campestris*, *Silvatica* e *Xanthoderma*), desconsiderando o caráter volva, e

priorizando a mudança de cor do contexto quando exposto ao ar, além das reações químicas do basidioma, em contato com NaOH, H₂SO₄, e pela reação de Schäffer³.

Comparando a proposta de Konrad & Maublanc (1927) com o sistema de Schäffer & Møller (1938), o subgrupo *Arvenses* (Konrad & Maublanc, 1927) corresponde aos grupos *Arvensis* mais *Xanthoderma* (Schäffer & Møller 1938), enquanto o subgrupo *Campestres* (Konrad & Maublanc, 1927) corresponde ao grupo *Campestris*, também chamado de *rufescentes*, mais o grupo *Silvatica*, também chamado de *sanguinolentae* (Schäffer & Møller, 1938).

Singer (1948) propôs *Agaricus*⁴ seção *Xanthodermatei* Singer como categoria taxonômica, baseado no grupo *Xanthoderma* de Schäffer & Møller (1938), contendo a *A. xanthodermus*, como espécie tipo, uma espécie tóxica quando ingerida e que apresenta características taxonômicas peculiares, como o odor fenólico e uma coloração amarela moderada, geralmente apenas na base do estipe (Singer, 1948).

Singer (1951), baseado no sistema de classificação de Schäffer & Møller (1938) para *Psalliota*, propôs a divisão do gênero *Agaricus* também em quatro grupos, atribuindo-lhes a categoria taxonômica de seção: i) *Agaricus* seção *Campestres* Konrad & Maublanc, que está associada ao grupo *Campestris* de Schäffer & Møller (1938); ii) *Agaricus* seção *Arvenses* Konrad & Maublanc, que está associada ao grupo *Arvensis* de Schäffer & Møller (1938); iii) *Agaricus* seção *Sanguinolenti* F.H. Møller & Jul. Schaeff., que está associada ao grupo *Silvatica* de Schäffer & Møller (1938); e iv) *Agaricus* seção *Xanthodermatei*, já previamente apontada por Singer (1948) como seção de *Agaricus*.

³ A reação de Schäffer é uma reação que envolve ácido nítrico e óleo de anilina. Para verificar o resultado da reação, faz-se dois traços na superfície do píleo, o primeiro com ácido nítrico e o segundo perpendicular, com óleo de anilina. Quando o resultado da reação é positivo, aparece uma cor avermelhada no ponto de intersecção dos traços (Schäffer & Møller, 1938).

⁴ Desde Karsten (1879), gradativamente o gênero *Agaricus* passou a ser considerado pelos taxonomistas como epíteto genérico conservado. De acordo com Parra (2008), por volta de 1950, vários micólogos já haviam aceitado *Psalliota* e *Pratella* como sinônimos de *Agaricus*, dentre eles Rolf Singer. Contudo, apenas em 1969 que a aceitação do epíteto genérico *Agaricus* L. ex Fries foi consensual, como *nomem conservandum*, durante o décimo primeiro Congresso Internacional de Botânica, em Seattle (Donk, 1964; Parra, 2008).

Heinemann (1956), baseado em estudos da superfície pilear de espécies de regiões tropicais da atual República Democrática do Congo, propôs um sistema de classificação de *Agaricus* com três subgêneros: *Agaricus* subg. *Agaricus*, *Agaricus* subg. *Lanagaricus* Heinem. e *Agaricus* subg. *Conioagaricus* Heinem.

Em *Agaricus* subg. *Agaricus*, Heinemann (1956) acomodou as quatro seções propostas por Singer (1949) e propôs ainda *Agaricus* seção *Brunneopicti* Heinem. Para *Agaricus* subg. *Agaricus* seção *Campestres*, Heinemann (1956) propôs duas subseções: *Agaricus* subseção *Campestres* e *Agaricus* subseção *Hortenses* Heinem. Para *Agaricus* subg. *Agaricus* seção *Arvenses*, Heinemann (1956) propôs três subseções: *Agaricus* subseção *Sylvicolae* Kühner & Romagnesi, *Agaricus* subseção *Minores* Fr. (recuperando o subgrupo *Minores* proposto por Fries, 1874) e *Agaricus* subseção *Augusti* Kühner & Romagnesi.

Para *Agaricus* subg. *Lanagaricus*, Heinemann (1956) propôs três seções: *Agaricus* seção *Olivacei* Heinem., *Agaricus* seção *Lanosi* Heinem. e *Agaricus* seção *Trisulphurati* Heinem. Por fim, para *Agaricus* subg. *Conioagaricus*, Heinemann (1956) propôs duas seções: *Agaricus* seção *Intermedii* Heinem. e *Agaricus* seção *Pulverotecti* Heinem.

Heinemann (1977) alterou o nome de *Agaricus* seção *Campestres* e de *Agaricus* subseção *Campestres* para *Agaricus* seção *Agaricus* e *Agaricus* subseção *Agaricus*, respectivamente. Heinemann (1977) propôs ainda outras duas subseções para *Agaricus* seção *Agaricus*: *Agaricus* subseção *Spissicaules* Heinem. e *Agaricus* subseção *Bitorques* Heinem. Para *Agaricus* subg. *Lanagaricus*, Heinemann (1977) alterou o nome de *Agaricus* seção *Olivacei* Heinem. para *Agaricus* seção *Olivelli* Heinem. e propôs outras três seções: *Agaricus* seção *Lanagaricus* Heinem., *Agaricus* seção *Laeticolores* Heinem. e *Agaricus* seção *Rufolanosi* Heinem.

Wasser (1976) propôs uma classificação de *Agaricus* para as espécies que ocorrem na Europa, recuperando algumas classificações originalmente propostas para o gênero *Psaliotta*

(Konrad & Maublanc, 1927) e incluindo novos táxons como *Agaricus* subg. *Flavoagaricus* Wasser e *Agaricus* seção *Duploannulati* Wasser. *Agaricus* subg. *Flavoagaricus* foi proposto por Wasser (1976) para incorporar espécies que exibiam uma coloração amarelada no contexto e pertencentes a *Agaricus* seção *Arvenses* e *Agaricus* seção *Xanthodermatei*, táxons previamente reconhecidos por Singer (1948, 1951) e considerados em *Agaricus* subg. *Agaricus* por Heinemann (1956, 1977). O autor também adotou *Agaricus* subg. *Agaricus* seção *Minores*, anteriormente tratada como *Agaricus* subg. *Agaricus* seção *Arvenses* subseção *Minores* por Heinemann (1956). Wasser (1976) considerou em *Agaricus* subg. *Agaricus* as espécies cujo basidioma muda de cor para vermelho, e propôs várias subdivisões sob a categoria taxonômica de série para *Agaricus* seção *Agaricus* e *Agaricus* seção *Duploannulati*.

Bom (1985) propôs um sistema de classificação muito parecido com o de Heinemann (1977), porém, elevou ao nível de seção alguns táxons previamente considerados subseções de *Agaricus* seção *Agaricus* e *Agaricus* seção *Arvenses* por Heinemann (1977), a saber por *Agaricus* seção *Hortenses* (Heinem.) Bon, *Agaricus* seção *Bitorques* (Heinem.) Bon e *Agaricus* seção *Minores* (Heinem.) Bon.

Como já dito, muitos sistemas de classificação infragenéricos de *Agaricus* foram propostos, dentre os quais muitos foram considerados inválidos devido a equívocos nomenclaturais. De qualquer forma, além de novas características, diferentes pesos para características taxonômicas foram atribuídos à taxonomia do grupo, o que auxiliou e auxilia até os dias atuais na sistemática e interpretação da filogenia baseada em caracteres moleculares.

Dentre os trabalhos mais relevantes na sistemática de *Agaricus*, Schäffer & Møller (1938) e Heinemann (1977) podem ser considerados como os principais. O primeiro, por subdividir o gênero em quatro subgrupos baseados na coloração do basidioma quando exposto ao ar, ou por meio de testes com reagentes específicos. E o segundo por incorporar novos caracteres morfológicos à taxonomia de *Agaricus*, como a análise da estrutura e composição da

superfície pilear e a medida da espessura do endósporo, além de realizar estudos taxonômicos com realizando também estudos taxonômicos em espécimes de regiões tropicais.

2.1.1 Estudos Moleculares

A necessidade do uso de novos caracteres taxonômicos para refinar a taxonomia e a classificação de *Agaricus* só foi suprida a partir do início do século XXI, com o incremento de estudos filogenéticos e a utilização de análises moleculares (Parra, 2008). Diversos estudos corroboraram a hipótese de monofilia de vários táxons conhecidos historicamente dentro da classificação infragenérica de *Agaricus*, e outros serviram de base para a proposição de novos arranjos taxonômicos (Mitchell & Bresinky, 1999; Calvo-Brado *et al.*, 2000; Challen *et al.*, 2003; Geml *et al.* 2004, Callac & Guinberteau, 2005; Didukh *et al.*, 2005; Kerrigan *et al.*, 2005, 2008; Kerrigan 2016; Zhao *et al.* 2011, 2012, 2016; Parra, 2013, 2018; Thongklang *et al.*, 2014; Chen *et al.* 2015, 2017; Gui *et al.* 2015).

O primeiro trabalho envolvendo análises filogenéticas em *Agaricus*, utilizando a região ITS do DNAr, foi realizado por Mitchell & Bresinky (1999), corroborando a monofilia do grupo. Geml *et al.* (2004), também com dados da região ITS do DNAr, e com análises combinadas de ITS e LSU, analisaram de 62 espécimes, representando 42 espécies de *Agaricus*. Como resultado, os autores identificaram seis grandes clados dentro do gênero e propuseram uma estimativa de tempo de divergência para *Agaricus* em torno de 30 ma.

Calvo-Brado *et al.* (2000), também por meio de análises da região ITS, e a partir de estudos de intercruzamento de isolados morfologicamente relacionados, foram os primeiros a estudar as relações filogenéticas de espécies de *Agaricus* seção *Arvenses*, dando indícios de que tais espécies realmente formavam um grupo monofilético. Posteriormente, Zhao *et al.* (2012) apresentaram uma filogenia com um clado relacionado a *Agaricus* seção *Arvenses*, incluindo a espécie tipo *Agaricus arvensis*. Gui *et al.* (2015) corroboraram a monofilia de *Agaricus* seção

Arvenses por meio da reconstrução filogenética da seção, utilizando sequências da região ITS de espécimes da China.

Challen *et al.* (2003), por meio de análises filogenéticas da região ITS, evidenciaram a monofilia de *Agaricus* seção *Duploannulatae* Wasser ex Wasser, que atualmente corresponde a *Agaricus* seção *Hortenses* e *Agaricus* seção *Bivelares* (Kauffman) L.A. Parra⁵, sendo *Agaricus* seção *Bivelares* o nome atualmente aceito para o grupo (Parra, 2008). Didukh *et al.* (2005) corroboraram os resultados de Challen *et al.* (2003) e ainda evidenciaram a formação de um clado associado à *Agaricus* seção *Chitonoides* Romagnesi⁶ (Romagnesi, 1986). Kerrigan *et al.* (2008) corroboraram a monofilia de *Agaricus* seção *Bivelares* com base na região ITS.

Kerrigan *et al.* (2005), com base em estudos moleculares da região ITS, propuseram a reconstrução filogenética de *Agaricus* seção *Xanthodermatei*, ampliando sua circunscrição morfológica e confirmando a sua monofilia.

Zhao *et al.* (2011), investigando a aplicabilidade dos sistemas de classificação de *Agaricus*, propostos até então com base somente em espécies de regiões temperadas, concluíram que apenas um terço das espécies de regiões tropicais poderia ser classificada em alguma das categorias infragenéricas já existente. A análise de 124 sequências da região ITS de espécies de *Agaricus*, sendo 38 espécies típicas de regiões temperadas e 86 de regiões tropicais, como África, Ásia e América, resultou em um filograma em que dois terços das espécies estavam distribuídas em clados não relacionados aos sistemas de classificações convencionais.

Com base em estudos recentes, utilizando sequências da região ITS de espécies de regiões tropicais da Ásia, Chen *et al.* (2015) propuseram a reconstrução filogenética de

⁵ Alguns epítetos dentro do gênero *Agaricus* foram propostos em desacordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica e, portanto, foram tidos como inválidos. Parra (2005, 2008) realizou uma revisão da nomenclatura de *Agaricus* e passou a validar diversos nomes, mantendo as mesmas características dos grupos em questão.

⁶ *Agaricus* seção *Chitonoides* foi originalmente proposta para o gênero *Chitonia* por Romagnesi (1986) para incluir *Chitonia pequinii* Boudier e *Chitonia gennadii* Chatin & Boudier, espécies posteriormente combinadas no gênero *Agaricus*. Wasser (1976) propôs a combinação e o reconhecimento de *Agaricus* seção *Chitonoides*.

Agaricus seção *Brunneopicti*, atribuindo uma circunscrição morfológica mais ampla para a seção e incluindo espécies anteriormente classificadas em outras seções. Chen *et al.* (2015) também mostraram que dois terços dos táxons tropicais por eles amostrados não estão associados ao conceito morfológico das seções previamente descritas, mas sim aos clados com espécies exclusivamente tropicais.

Zhao *et al.* (2016), com base em análises filogenéticas multigênicas (ITS, LSU, *tef-1α* e *rpb2*), propuseram um sistema de classificação padronizado contendo cinco subgêneros e 20 seções, considerando o tempo de divergência dos clados para inferir categorias taxonômicas. Dessa forma, foi possível delimitar melhor os táxons infragêneros, associando ou dissociando características morfológicas previamente estabelecidas.

Agaricus subg. *Pseudochitonia* proposto por Konrad & Maublanc (1927), *Agaricus* subg. *Flavoagaricus* proposto por Wasser (1976) e *Agaricus* subg. *Agaricus* foram ratificados como subgêneros e melhor delimitados morfológicamente dentro da base filogenética proposta por Zhao *et al.* (2016). Para *Agaricus* subg. *Pseudochitonia*, Zhao *et al.* (2016) reconheceram doze seções, sendo quatro delas propostas como novos táxons: *Agaricus* seção *Crassispori* R.L. Zhao, *Agaricus* seção *Flocculenti* L. J. Chen, K. D. Hyde & R. L. Zhao, *Agaricus* seção *Hondenses* R.L. Zhao & L.A. Parra e *Agaricus* seção *Rubricosi* R. L. Zhao. As demais oito seções associadas por Zhao *et al.* (2016) a *Agaricus* subg. *Pseudochitonia* são resultado do reconhecimento de táxons anteriormente propostos ou da proposição do estado de seção desses táxons, a saber por: i) *Agaricus* seção *Bivelares*; ii) *Agaricus* seção *Bohusia*⁷ (L.A. Parra) L.A. Parra & R.L. Zhao⁷; iii) *Agaricus* seção *Brunneopicti*; iv) *Agaricus* seção *Chitonioides*; v) *Agaricus* seção *Nigrobrunnescentes*⁸ K. P. Peterson, Desjardin, & Hemmes⁸; vi) *Agaricus* seção *Sanguinolenti*; vii) *Agaricus* seção *Trisulphurati*; viii) *Agaricus* seção *Xanthodermatei*. Para

⁷ *Agaricus* seção *Bohusia* foi proposta originalmente como subseção por Parra (2008), para acomodar a espécie recém proposta *A. bohusi* L.A. Parra.

⁸ *Agaricus* seção *Nigrobrunnescentes* foi proposta por Peterson *et al.* (2000) para acomodar a espécie *A. nigrobrunnescentis* K. R. Peterson, Desjardin, & Hemmes, descrita no mesmo trabalho e originária das Ilhas do Haváí.

Agaricus subg. *Agaricus* e *Agaricus* subg. *Flavoagaricus*, Zhao *et al.* (2016) reconheceram, respectivamente, apenas *Agaricus* seção *Agaricus* (Konrad & Maublanc, 1927) e *Agaricus* seção *Arvenses*.

Outros dois táxons anteriormente propostos por Fries (1874) e Heinemann (1977) foram elevados à categoria de subgêneros: *Agaricus* subg. *Minores* (Fr.) R.L. Zhao & Moncalvo e *Agaricus* subg. *Spissicaules* (Heinem.) R.L. Zhao & Moncalvo (Zhao *et al.*, 2016). *Agaricus* subg. *Spissicaules* foi reconhecido por Zhao *et al.* (2016) como contendo três seções, uma delas proposta como novo táxon (*Agaricus* seção *Amoeni* Callac & R. L. Zhao) e as outras duas⁹ propostas e descritas por Kerrigan (2016), a saber por *Agaricus* seção *Rarolentes* Kerrigan e *Agaricus* seção *Subrutilescentes* Kerrigan. Para *Agaricus* subg. *Minores*, Zhao *et al.* (2016) reconheceram duas seções originalmente propostas por Fries (1874) e Heinemann (1977): *Agaricus* seção *Minores* e *Agaricus* seção *Laeticolores*, respectivamente.

Chen *et al.* (2017), empregando o mesmo tipo de análises realizadas por Zhao *et al.* (2016), conduziram um estudo com representantes do sudeste asiático de *Agaricus* subg. *Minores* e outras espécies do gênero e propuseram um novo subgênero englobando as espécies remanescentes e *Agaricus* seção *Laeticolores*¹⁰ e espécies relacionadas: *Agaricus* subg. *Minoriopsis* Linda J. Chen, L.A. Parra, Callac, Angelini & Raspé. Os autores propuseram também uma nova seção para *Agaricus* subg. *Minores*: *Agaricus* seção *Leucocarpi* Linda J. Chen & Callac.

Recentemente, Parra *et al.* (2018), trabalhando com espécies da República Dominicana, propôs três novas seções baseado em análises filogenéticas de ITS e multigênicas (ITS, LSU, e *tef-1α*) e análises de tempo de divergência dos clados, a saber por: *Agaricus* subg. *Minoriopsis*

⁹ Ambas as seções descritas por Kerrigan (2016) foram tratadas por Zhao *et al.* (2016) com nome provisório e posteriormente publicadas definitivamente (Kerrigan, 2016).

¹⁰ *Agaricus* subg. *Minores* seção *Laeticolores* passou a ser sinônimo de *Agaricus* seção *Minores*, haja vista que a espécie tipo da seção, *A. laeticulus* Callac, L.A. Parra, Linda J. Chen & Raspé, aparece nas análises de Chen *et al.* (2017) inserida no clado correspondente à seção *Minores*.

seção *Kerrigania* L.A. Parra, Angelini, B. Ortiz, Linda J. Chen & Callac; *Agaricus* seção *Minoriopsis* (Linda J. Chen, L.A. Parra, Callac, Angelini & Raspé) L.A. Parra, Angelini, Linda J. Chen & Callac, e *Agaricus* seção *Pantropicales* L.A. Parra, Angelini, B. Ortiz, Linda J. Chen & Callac.

A Tabela 1, a seguir, mostra um resumo do sistema de classificação atual de *Agaricus*, resultado dos estudos moleculares recentes de Zhao *et al.* (2016), Chen *et al.* (2017) e Parra *et al.* (2018).

Tabela 1. Resumo do atual sistema de classificação de *Agaricus* baseado em Zhao *et al.* (2016), Chen *et al.* (2017) e Parra *et al.* (2018). Em **negrito** estão os subgêneros, seguidos por suas respectivas seções em cada coluna.

<i>Pseudochitonina</i>	<i>Agaricus</i>	<i>Spissicaules</i>	<i>Flavoagaricus</i>	<i>Minores</i>	<i>Minoriopsis</i>
<i>Bivelares</i>	<i>Agaricus</i>	<i>Amoeni</i>	<i>Arvenses</i>	<i>Leucocarpi</i>	<i>Kerrigania</i>
<i>Bohusia</i>		<i>Rarolentes</i>		<i>Minores</i>	<i>Minoriopsis</i>
<i>Brunneopicti</i>		<i>Spissicaules</i>			<i>Pantropicales</i>
<i>Chitonoides</i>		<i>Subrutilescentes</i>			
<i>Crassispori</i>					
<i>Flocculenti</i>					
<i>Hondenses</i>					
<i>Nigrobrunnescentes</i>					
<i>Rubricosi</i>					
<i>Sanguinolenti</i>					
<i>Trisulphurati</i>					
<i>Xanthodermatei</i>					

2.2 *Agaricus* NO BRASIL

Dados disponibilizados pela Lista de Espécies da Flora do Brasil (Agaricales, 2018) trazem o registro da ocorrência de 23 espécies de *Agaricus*, distribuídas nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo, no domínio fitogeográfico de Cerrado e, principalmente, na Mata Atlântica. Putzke & Putzke (2017), realizando um levantamento de dados da literatura e revisando materiais depositados em herbários, citaram 32 espécies para o país, com registros para outros estados como Mato Grosso, Minas Gerais, Pernambuco, Ceará e Santa Catarina. Todavia, poucos são os estudos específicos sobre a taxonomia, sistemática e filogenia de *Agaricus* para o Brasil, estando quase todos os registros dentro de levantamentos gerais da ordem Agaricales ou da família Agaricaceae.

Os trabalhos mais relevantes para a taxonomia de *Agaricus* no Brasil atualmente são: Heinemann (1993) – que apesar de citar algumas espécies para o Brasil, não é um trabalho restrito a essa região –, Pegler (1997), Meijer (2008) e Putzke *et al.* (2014), Putzke & Putzke, (2017). Recentemente, Drewinski *et al.* (2017) descreveram mais uma espécie para o Brasil, com base em dados morfológicos e moleculares (ITS). *Agaricus globocystidiatus* Drewinski & M.A. Neves foi proposto como uma nova espécie em *Agaricus* subg. *Minoriopsis* (Drewinski *et al.*, 2017). Drewinski (2017) também obteve dados moleculares de diversas amostras coletadas principalmente no estado de Santa Catarina.

Além dos dados moleculares disponibilizados no Genbank por Drewinski *et al.* (2017), estudos moleculares com espécies de *Agaricus* que ocorrem no Brasil ou na região Neotropical ainda são raros. Uma busca por sequências de DNA de espécimes de *Agaricus* do Brasil disponíveis no GenBank (NCBI, 2018) resultou em 54 registros, sendo que a grande maioria é proveniente de cepas comerciais e as poucas sequências que estão identificadas em nível específico correspondem aos seguintes táxons: *A. bisporus*, *A. fiardii* Pegler, *A. martineziensis* Heinem. e *A. subrufescens* (= *A. blazei*, *A. brasiliensis* Fr.).

O levantamento bibliográfico realizado durante este estudo possibilitou a listagem de 46 espécies de *Agaricus* citadas para o país. Porém, Putzke & Putzke (2017) citaram que Albertó *et al.* (2005), revisando exsicatas de Rick (1939), não puderam confirmar todas as coleções deste último autor pois algumas exsicatas não existem mais ou são de identificação duvidosa. A seguir (Tabela 3), é apresentada a lista de espécies de *Agaricus* citadas para o Brasil, organizadas de acordo com uma proposta de classificação infragenérica com base em Zhao *et al.* (2016), Chen *et al.* (2017) e Parra *et al.* (2018). Espécies descritas originalmente em táxons que não são atualmente aceitos, e que não possuem dados moleculares disponíveis, foram classificadas junto a espécies morfológicamente relacionadas, que pertenciam ao mesmo táxon infragenérico e cujo posicionamento baseado em dados moleculares é conhecido atualmente. Um grupo denominado *incertae sedis* foi criado para reunir espécies cujos dados

taxonômicos disponíveis na bibliografia foram insuficientes para sugerir uma proposta de classificação de acordo com o sistema atual.

Tabela 3. Lista de 46 espécies do gênero *Agaricus* citadas para o Brasil, organizadas de acordo com uma proposta de classificação infragenerica com base em Zhao *et al.* (2016), Chen *et al.* (2017) e Parra *et al.* (2018). **M** = espécies com dados moleculares (sequências da região ITS) disponíveis no Genbank.

Subgênero	Seção	M	Espécie	Bibliografia ¹¹
<i>Agaricus</i>	<i>Agaricus</i>		<i>A. argentinus</i> Speg.	[11][19][20]
			<i>A. argyropotamicus</i> Speg.	[07][11][17][19][20][27]
			<i>A. campestris</i> L.	[08][09][18][19][20][22][23][26]
			<i>A. hornei</i> Murrill.	[07][14][17][20]
			<i>A. langei</i> (F.H. Møller) F.H. Møller	[13]
			<i>A. porosporus</i> Heinem.	[07][08][17][18][20]
			<i>A. pseudoargentinus</i> Albertó & J.E. Wright	[07][20][25]
<i>Flavoagaricus</i>	<i>Arvenses</i>		<i>A. abruptibulbus</i> Peck	[18][22][23]
			<i>A. augustus</i> Fr.	[18][21][22]
			<i>A. fiardii</i> Pegler	[07][16][17][20]
			<i>A. meijeri</i> Heinem.	[07][11][13]
			<i>A. cf. nivescens</i> (F.H. Møller) F.H. Møller	[20][24]
			<i>A. cf. ochrascens</i> Heinem. & Gooss.	[20][11]
			<i>A. silvicola</i> (Vittad.) Peck	[11][20]
			<i>A. subrufescens</i> Peck	[07][19][20]
<i>Minores</i>			<i>A. trinitatisensis</i> Baker & Dale	[20][24]
			<i>A. cf. brunneostictus</i> Heinem.	[20][24]
			<i>A. cheilotulus</i> Heinem.	[11][20]
			<i>A. porphyron</i> P.D. Orton	[07][20][25]
			<i>A. singeri</i> Heinem.	[07][08][10][17][18][20]
	<i>Minores</i>		<i>A. dulcidulus</i> Schulzer	[07][20][24]
<i>Minoriopsis</i>	<i>Kerrigania</i>		<i>A. rufoaurantiacus</i> Heinem.	[07][17][20]
	<i>Minoriopsis</i>		<i>A. globocystidiatus</i> Drewinski & M.A. Neves	[06]
	<i>Pantropicales</i>		<i>A. martineziensis</i> Heinem.	[04][07][19][20]
	<i>Bivelaes</i>		<i>A. bisporus</i> (J. Lange) Imbach	[19][20]
<i>Pseudochitonina</i>			<i>A. dicystis</i> Heinem.	[11][20][24]
			<i>A. cf. fuscofibrillosus</i> (F.H. Møller) Pilát	[11]
			<i>A. junquitensis</i> Heinem.	[11][20]
			<i>A. parasilvantiacus</i> Heinem.	[07][11][16][17][20][24]
	<i>Sanguinolenti</i>		<i>A. sylvaticus</i> Schaeff.	[03][05][07][11][16][17][18][20][22][23]
			<i>A. ochraceosquamulosus</i> Heinem.	[07][17][20]
			<i>A. riberalensis</i> Heinem.	[11][20]
			<i>A. sulcatellus</i> Heinem.	[11][20]
	<i>Trisulphurati</i>		<i>A. trisulphuratus</i> Berk.	[05][11][18][20][21][22]
			<i>A. violaceosquamulosus</i> Baker & Dale	[02][07][20]
	<i>Xanthodermatei</i>		<i>A. endoxanthus</i> Berk. & Broome	[01][07][16][17][20]
			<i>A. stijvei</i> de Meijer	[07][13][15][20]
			<i>A. volvatulus</i> Heinem. & Gooss	[07][11][20]
<i>Spissicaules</i>	<i>Amoeni</i>		<i>A. cf. kivuensis</i> Heinem. & Gooss.	[11]
	<i>Spissicaules</i>		<i>A. cf. litoralis</i> (Wakef. & A. Pearson) Pilát	[11][20][25]
			<i>A. spissicaules</i> Moeller	[11][20]
	<i>Subrutillescentes</i>		<i>A. subrutillescens</i> (Kauffman) Hotson & Stuntz	[12][20]
<i>Incertae Sedis</i>			<i>A. cf. bugandensis</i> Pegler	[11][20]
			<i>A. dennisii</i> Heinem.	[07][17]
			<i>A. nigrescentibus</i> Heinem.	[07][20][24]
			<i>A. puttemansii</i> Pegler	[07][17][20]

11

[01] Alves et al. (2014)
 [02] Baker & Dale (1951)
 [03] Bononi et al. (1984)
 [04] Capelari et al. (2006)
 [05] Capelari & Maziero (1988)
 [06] Drewinski et al. (2017)
 [07] Flora do Brasil 2020

[08] Grandi et al. (1984)
 [09] Guerrero & Homrich (1983)
 [10] Heinemann (1961)
 [11] Heinemann (1993)
 [12] Karstedt & Stürmer (2008)
 [13] Meijer (2008)
 [14] Murrill (1918)

[15] Nascimento & Alves (2013)
 [16] Pegler (1993)
 [17] Pegler (1997)
 [18] Putzke (1994)
 [19] Putzke et al. (2014)
 [20] Putzke & Putzke (2017)
 [21] Rick (1920)

[22] Rick (1930)
 [23] Rick (1939)
 [24] Rick (1961)
 [25] Rosa & Capelari (2009)
 [26] Rother & Silveira (2008)
 [27] Singer (1953)
 [28] Spegazzini (1889)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETAS E HERBORIZAÇÃO

As coletas foram realizadas preponderantemente em remanescentes de Mata Atlântica da região metropolitana da cidade de São Paulo, em áreas onde já se tem o conhecimento da riqueza e diversidade de Agaricales (Capelari & Gimenes, 2004; Capelari & Gugliotta, 2005; Puccinelli & Capelari, 2006, 2007, 2009a, b; Capelari, 2007, Menolli & Capelari, 2008, 2010; Menolli et al., 2009, 2010, 2014a, b; Karstedt & Capelari, 2010, 2013; Oliveira & Capelari, 2012; Oliveira *et al.*, 2014). Foram realizadas coletas mensais, durante o primeiro ano do projeto, em três áreas previamente determinadas: o Parque Estadual da Cantareira (PEC), a Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba (RBASP), e o Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI). Coletas provenientes de outras áreas da região metropolitana de São Paulo, e/ou realizadas por outros colaboradores foram incorporadas ao estudo.

Os basidiomas coletados foram acondicionados individualmente em sacos de papel ou estojos plásticos particionados. No ato da coleta o material foi fotografado, quando possível, e as características macroscópicas necessárias para a identificação foram anotadas (vide seção 3.2 – Descrição Macroscópica), bem como características ecológicas, ambientais e da fitofisionomia dos locais de coleta. Após a coleta e descrição das características macroscópicas os materiais foram desidratados em estufa com circulação de ar entre 45–50°C para herborização e a realização dos estudos micromorfológicos para identificação. Os espécimes determinados em nível específico aqueles para os quais foram obtidas sequências da região ITS, estão depositados no herbário SP do Instituto de Botânica.

3.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Após a coleta, ainda em campo ou no laboratório, para descrição macroscópica dos basidiomas foram consideradas a forma, dimensão, cor, superfície e consistência do píleo, estipe, anel e lamelas (Singer, 1986; Largent, 1986; Vellinga, 1988; Parra, 2008); além de reações de mudanças de coloração do contexto e reações na superfície do píleo com KOH 5% e anilina e ácido nítrico – reação de Schäffer (Schäffer & Møller, 1938).

3.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Para os estudos micromorfológicos foram feitos cortes à mão livre dos basidiomas desidratados e montados entre lâmina e lamínula com o material resuspenso em álcool 70% e posteriormente reidratado em solução de KOH 5%. O reagente Vermelho Congo foi utilizado para corar as microestruturas e facilitar a visualização. Foram observadas características das principais estruturas importantes para a taxonomia do grupo, incluindo, basidiósporos, basídios, cistídios, trama da lamela e superfície pilear (Heinemann 1956, Singer, 1986). As ilustrações microscópicas foram feitas com auxílio de câmara-clara acoplada ao microscópio óptico ou a partir de fotografias utilizando programas específicos para captura de imagem.

3.4 EXTRAÇÃO DE DNA, PCR E SEQUENCIAMENTO

A extração de DNA foi realizada a partir de fragmentos dos basidiomas de acordo com o protocolo de Doyle & Doyle (1987) adaptado por Góes-Neto *et al.* (2005) e Ferreira & Grattapaglia (1998). O *mix* de PCR foi preparado usando 10 µl de água Mili-Q, 12 µl de JumpStart™ Taq ReadyMix™ (Merck Sigma-Aldrich), 1 µl de cada solução de *primers* (10 pmol/l) e 1 µl de solução de DNA genômico (10–50 ng/µl). Foram utilizados os *primers* ITS8-

F e ITS6-R (Dentinger *et al.*, 2010) e as condições de termociclos foram de acordo com o descrito por Zhao *et al.* (2011): 5 min at 95 °C; 35 ciclos (1 min. em 94 °C, 1.5 min. em 55 °C, 1.5 min. em 72 °C); e 5 min. em 72 °C. O produto da PCR foi purificado adicionando 1,5 volume de etanol 100%, agitando e deixando descansar por 1 min.; em seguida, centrifugou-se a 13 r.p.m. por 5 min.; descartando o álcool. Adicionou-se então 500 µl de etanol 75%, agitou-se levemente e centrifugou-se a 13 r.p.m. por 3 min; descartando o álcool. Com o auxílio de um termobloco a 90°C por 5 min, deixou-se evaporar o líquido remanescente. O *pellet* foi ressuspensionado em 20–30 µl de água Mili-Q. O produto purificado da PCR foi sequenciado pela Macrogen, Korea (www.macrogen.com/) utilizando os mesmos pares de *primers*.

3.5 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Exemplares de todas as espécies citadas para o Brasil que possuíam sequências da região ITS foram incluídas nas análises. As sequências foram selecionadas de acordo com os trabalhos de filogenia mais relevantes envolvendo ITS (Apêndice A).

As sequências foram alinhadas usando o MAFFT *online service* v.7 (Katoh & Standley, 2013) com estratégia Q-INS-I e o alinhamento foi posteriormente corrigido com o AliView (Larsson, 2014). As análises de Verossimilhança (ML) foram realizadas com o RAxML-HPC v.8.2.9 (Stamatakis, 2014) usando o modelo GTR+GAMMA para análises com partições mistas, com 1.000 replicatas de *bootstrap* e buscando a árvore melhor pontuada. A análise de Inferência Bayesiana (BI) foi realizada no MrBayes 3.2.6 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001; Ronquist & Huelsenbeck, 2003) com quatro cadeias, 20.000.000 gerações e árvores sendo amostradas a cada 1.000 gerações. A região ITS foi particionada em ITS1, 5.8S e ITS2. Os modelos evolutivos para cada partição foram definidos usando o jModelTest 2.1.6 (Darriba *et al.*, 2012; Guindon & Gascuel, 2003) e selecionados de acordo com o critério AIC (Akaike Information Criterion). Todas as ferramentas filogenéticas foram utilizadas em XSEDE sobre

a plataforma CIPRES (Miller *et al.*, 2010). As árvores foram primeiramente visualizadas com o programa FigTree v1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) e depois editadas para melhor visualização. Como grupo externo foi utilizado *Heinemanomyces* sp.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESULTADOS GERAIS

4.1.1 Coletas

Foram realizadas 47 saídas a campo, e um total de 37 espécimes do gênero *Agaricus* foram coletados entre as três áreas pré-estabelecidas para estudo. Apenas três espécimes foram coletados na área do Parque Estadual da Cantareira – PEC e três espécimes foram coletados na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba – RBASP. No Parque Estadual das Fontes do Ipiranga – PEFI foram coletados 31 espécimes.

4.1.2 Coleções Amostradas

Além dos espécimes coletados nas três áreas pré-estabelecidas, outras 88 coleções foram incorporadas ao estudo, provenientes majoritariamente da região metropolitana de São Paulo, totalizando 125 coleções estudadas. De todos os materiais amostrados, 117 foram submetidos ao processo de extração de DNA, e tiveram seu DNA genômico armazenado no Banco de DNA de Basidiomicetos (BDB) do Núcleo de Pesquisa em Micologia do Instituto de Botânica. Após a PCR, 48 amostras apresentaram banda no gel de eletroforese, e o produto da PCR foi enviado para sequenciamento. Ao todo 30 sequências foram obtidas, em boa qualidade, para uso em análises filogenéticas. A Tabela 4 sumariza os materiais amostrados e os resultados obtidos com cada coleção.

Tabela 4. Dados das coleções e resumo dos dados moleculares obtidos a partir dos materiais amostrados neste estudo. E = material submetido ao processo de extração de DNA, D = Material cuja solução de DNA genômico obtido apresentou concentração acima de 200 ng/μl; P = material cuja PCR foi bem sucedida; S = material cuja sequência de ITS foi obtida com êxito (o número representa o tamanho da sequência, em pares de base).

Nome do Táxon	Herbário SP	Data de coleta	Nº de coletor	Local de coleta	E	D	P	S
<i>A. cf. globocystidiatus</i>	467355	10-XI-2015	LASR 118	USP-SP	●	●	●	556
<i>A. sp. A</i>	498386	24-III-2017	LASR 192	Santo André	●	●	●	715
<i>A. sp. B</i>	498387	07-XII-2015	LASR 133	PEFI	●	●	●	770
<i>A. sp. B</i>	498388	07-XII-2015	LASR 134	PEFI	●	●	—	—
<i>A. sp. B</i>	498389	25-I-2017	TYMP 040	Santo André	●	●	●	—
<i>A. sp. C</i>	467360	28-XI-2016	LASR 164	PEFI	●	●	●	770
<i>A. sp. C</i>	498390	12-XII-2016	LASR 170	PEFI	●	●	●	772
<i>A. sp. C</i>	498392	19-IV-2017	LASR 195	USP	●	●	●	732
<i>A. sp. C</i>	498391	27-I-2017	LASR 181	PEFI	●	●	●	778
<i>Agaricus sp.</i>		15-V-2017	MAN 1228	UFSC	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		15-V-2017	MAN 1227	UFSC	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		19-IV-2017	LASR 194	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		15-IV-2017	LASR 190	PEC	●	●	●	759
<i>Agaricus sp.</i>		09-III-2017	(AMG) 1567	PESM	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>	467357	01-II-2017	LASR 188	PEFI	●	●	●	795
<i>Agaricus sp.</i>		30-I-2017	LASR 187	Ribeirão Pires	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		30-I-2017	LASR 185	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>	467358	29-I-2017	LASR 184	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>	467362	29-I-2017	LASR 183	PEFI	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		28-I-2017	LASR 182	USP-SP	●	●	●	599
<i>Agaricus sp.</i>	467363	27-I-2017	LASR 180	PEFI	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		27-I-2017	LASR 179	PEFI	●	●	●	766
<i>Agaricus sp.</i>		27-I-2017	LASR 178	PEFI	●	●	●	778
<i>Agaricus sp.</i>		25-I-2017	TYMP 043	Santo André	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		24-I-2017	LASR 177	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		24-I-2017	LASR 176	PEFI	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		24-I-2017	LASR 175	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		23-I-2017	LASR 174	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		23-I-2017	TYMP 039	Santo André	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		21-I-2017	LASR 173	USP-SP	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		14-I-2017	LASR 172	PEC	●	●	●	649
<i>Agaricus sp.</i>		17-XII-2016	LASR 171	PEC	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		16-XII-2016	TYMP 033	Santo André	●	●	●	717
<i>Agaricus sp.</i>		12-XII-2016	LASR 169	PEFI	●	●	●	630
<i>Agaricus sp.</i>	467359	12-XII-2016	LASR 168	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		08-XII-2016	LASR 167	PEFI	●	●	●	597
<i>Agaricus sp.</i>		05-XII-2016	TYMP 031	UFABC - SA/SP	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		01-XII-2016	LASR 166	PEFI	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>	467361	28-XI-2016	LASR 165	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		28-XI-2016	LASR 163	PEFI	●	●	●	691
<i>Agaricus sp.</i>		28-XI-2016	LASR 162	PEFI	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		13-XI-2016	TYMP 027	UFABC - SA/SP	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		05-XI-2016	LASR 160	USP-SP	—	—	—	671
<i>Agaricus sp.</i>		05-XI-2016	LASR 159	USP-SP	—	—	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		21-X-2016	LASR 158	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		07-IX-2016	CL 02	Santana (SP)	●	●	●	789
<i>Agaricus sp.</i>		22-VI-2016	LASR 150	Ubatuba	●	●	●	772
<i>Agaricus sp.</i>		19-VI-2016	LASR 148	RBASP	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		19-VI-2016	LASR 147	RBASP	●	●	●	794
<i>Agaricus sp.</i>		19-VI-2016	LASR 146	RBASP	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		18-VI-2016	LASR 145	PEC	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		09-VI-2016	LL 16	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		24-III-2016	LASR 138	PEC	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		09-XII-2015	NMJ 227	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>	467367	09-XII-2015	NMJ 225	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		26-XI-2015	LASR 131	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		26-XI-2015	LASR 130	PEFI	●	●	●	794
<i>Agaricus sp.</i>		26-XI-2015	LASR 129	PEFI	●	●	●	588
<i>Agaricus sp.</i>		26-XI-2015	LASR 128	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		25-XI-2015	LASR 124	USP-SP	●	●	●	—
<i>Agaricus sp.</i>		19-XI-2015	DSF 012	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>	467355	10-XI-2015	LASR 119	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		26-III-2015	ADF 01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		23-III-2015	LASR 104	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus sp.</i>		10-XII-2014	LASR ag 01	PEFI	●	●	●	717

Continuação...

Nome do Táxon	Data de coleta	Nº de coletor	Local de coleta	E	D	P	S
<i>Agaricus</i> sp.	04-IV-2014	NMJ 221	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	31-V-2012	Leg. Menolli Jr. S.N.	campus IFSP	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	16-XII-2011	MC 4632	PEFI	●	●	●	651
<i>Agaricus</i> sp.	07-XI-2011	MC 4620	PEC	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	07-XI-2011	MC 4611	PEC	●	●	●	778
<i>Agaricus</i> sp.	21-IV-2010	JISO 0091	RBASP	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	25-XI-2009	MC 4521	PEC	●	●	●	—
<i>Agaricus</i> sp.	25-XI-2009	MC 4514	PEC	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	10-XI-2009	MC s/n	PEFI	●	●	●	748
<i>Agaricus</i> sp.	03-XI-2009	LASR 66	PEFI	●	●	●	808
<i>Agaricus</i> sp.	—	FK 1157	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	24-I-2008	FK 1044	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	24-I-2008	FK 1034	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	24-I-2008	FK 1032	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	11-XI-2007	P. jungbluth 1674	Campo Limpo Paulista (SP)	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	17-XII-2006	LJG 183/06	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	20-VI-2006	FK 684	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus</i> sp.	23-II-2006	LJG 125/06	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus</i> sp.	01-IV-2005	LJG 113/05	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	30-III-2005	LJG 108/05	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	01-IV-2005	LJG 112/05	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	30-III-2005	LJG 106/05	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	30-III-2005	LJG 102/05	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	30-III-2005	LJG 101/05	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	16-II-2005	LJG 87/05	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	01-II-2005	MC 4300	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus</i> sp.	05-XI-2004	LJG 82/04	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	31-X-2004	PEFI 80/04	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	29-X-2004	LJG 079/04	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	06-VII-2004	MC 4285	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	27-V-2004	LJG 78/04	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	01-III-2004	LJG 70/04	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	26-II-2004	MC 4280	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	22-II-2004	PEFI 50/04	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	16-II-2004	LJG 64/04	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	09-II-2004	LJG 57/04	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	15-XII-2003	LJG 25/03	PEFI	—	—	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	08-XII-2003	PEFI 51/03	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	02-XII-2003	PEFI 050/03	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	14-XI-2003	PEFI 40/03	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	22-X-2003	LJG 12/03	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	03-II-2003	MC 4249	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	19-XII-2002	MC 4220	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus</i> sp.	19-XI-2002	MC 4203	PEFI	●	●	●	—
<i>Agaricus</i> sp.	06-XI-2002	PEFI 06/02	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	20-II-2002	MC 4152	PEFI	●	●	●	658 ¹
<i>Agaricus</i> sp.	14-XII-2001	PEFI 27/01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	13-XII-2001	PEFI 30/01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	12-XII-2001	PEFI 24/01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	09-X-2001	PEFI 14/01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	26-IX-2001	PEFI 11/01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	10-VIII-2001	PEFI 21/01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	12-III-2001	PEFI 17/01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	15-II-2001	PEFI 43/01	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	20-I-1999	PEFI 65/99	PEFI	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	14-II-1999	[21]	Mogi-Guaçu	●	●	●	684
<i>Agaricus</i> sp.	05-III-1998	MC 4014	-	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	05-II-1997	MC 4012	Itapeccerica	●	●	—	—
<i>Agaricus</i> sp.	19-X-1995	Okino s/n.	PEFI	●	●	—	—

1: A sequência de ITS correspondente ao material MC4152 não foi gerada durante este estudo, foi incorporada posteriormente, juntamente com a coleção em questão, como incremento das análises moleculares e dos estudos taxonômicos.

4.1.3 Filogenia Molecular

O alinhamento final das 316 sequências de ITS utilizadas neste estudo (Apêndice A) teve um total de 753 caracteres. O melhor modelo de estimativa de substituição de nucleotídeo para cada partição do ITS desse conjunto de dados foi TPM3uf+G para ITS1, TPM2 + I para 5.8S e TrN+G para ITS2. Os filogramas provenientes da análise de Máxima Verossimilhança e de Inferência Bayesiana (Figura 1) diferiram em relação ao monofiletismo de alguns clados correspondentes aos subgêneros e seções e ao posicionamento de alguns espécimes em suas respectivas seções.

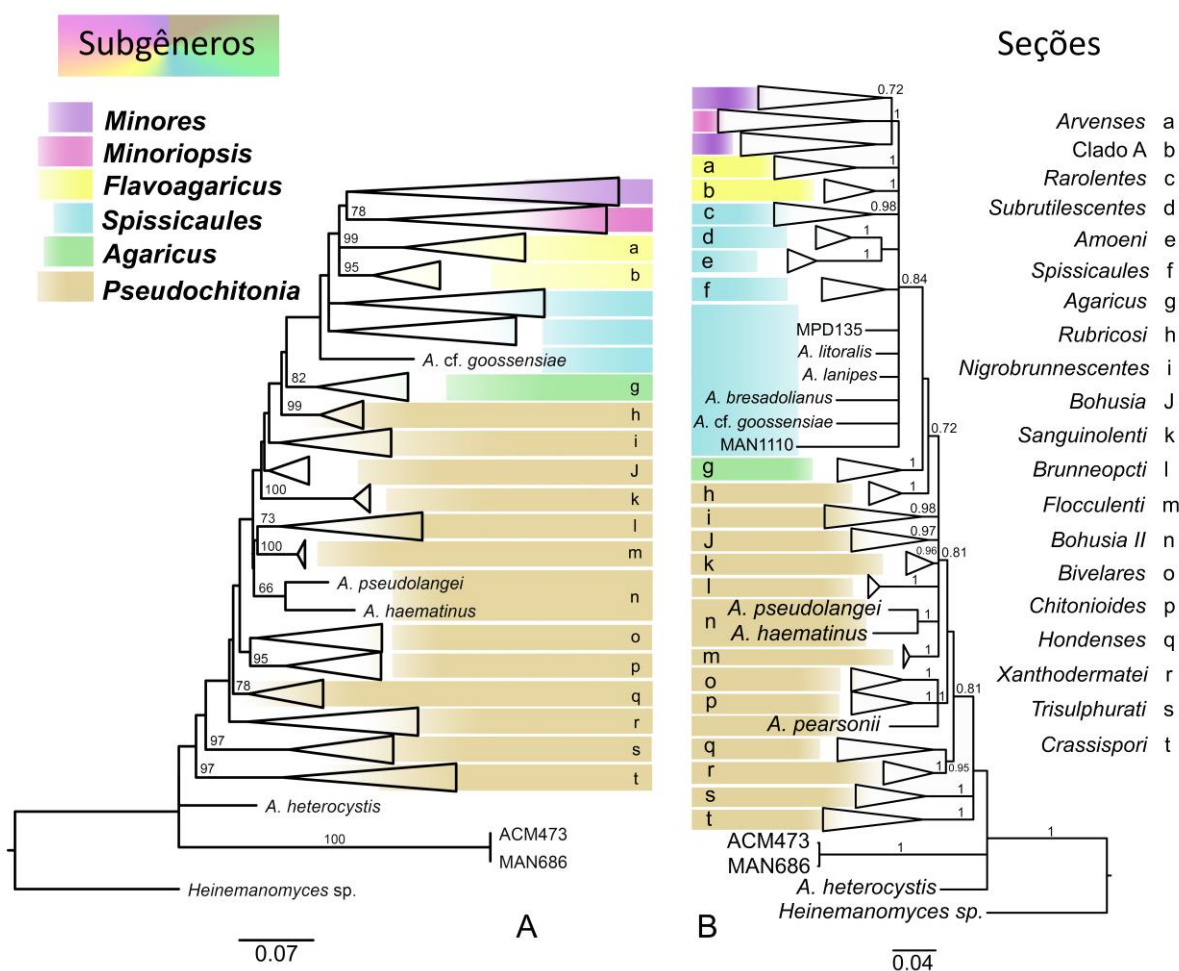


Figura 1. A- Filogramas baseados nas sequências de ITS de espécies de *Agaricus*. A. Máxima Verossimilhança. B. Inferência Bayesiana. *Heinemanomyces* sp. foi escolhido como grupo externo. Valores de *Bootstrap* (BS > 60) e Probabilidade Posterior (PP > 0.7) estão exibidos nos ramos.

Em ambas as análises foi possível identificar todas as seções de *Agaricus* propostas por Zhao *et al.* (2016) e Chen *et al.* (2017), embora *Agaricus* subg. *Spissicaules* e *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* foram recuperados como grupos parafiléticos na análise de Máxima Verossimilhança (Figura 1A). No filograma decorrente de Inferência Bayesiana (Figura 1B), *Agaricus* subg. *Flavoagaricus*, *Agaricus* subg. *Minores*, *Agaricus* subg. *Spissicaules* e *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* aparecem como grupos parafiléticos. Apenas os clados relacionados a *Agaricus* subg. *Minoriopsis* e *Agaricus* subg. *Agaricus* apareceram como monofiléticos e bem suportados em ambas análises (BS/PP 78/1 e BS/PP 82/1).

Espécimes brasileiros estão distribuídos nos seis subgêneros: *Agaricus* subg. *Agaricus*, em *Agaricus* seção *Agaricus*; *Agaricus* subg. *Flavoagaricus*, dentro de um clado constituído preponderantemente de espécimes brasileiros; *Agaricus* subg. *Pseudochitonina*, em *Agaricus* seção *Xanthodermatei*; *Agaricus* subg. *Minores*, em *Agaricus* seção *Leucocarpi* e *Agaricus* seção *Minores*; *Agaricus* subg. *Minoriopsis*, em *Agaricus* seção *Minores*, *Agaricus* seção *Kerrigania* e *Agaricus* seção *Pantropicales*; e, por fim, *Agaricus* subg. *Spissicaules*, em *Agaricus* seção *Rarolentes*, *Agaricus* seção *Subrutillescentes* e *Agaricus* seção *Spissicaules*. A taxonomia e filogenia do espécimes pertencentes a *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* seção *Xanthodermatei* estão apresentadas e melhor discutidas na seção 4.2 deste estudo.

Apesar de *Agaricus* subg. *Minores* aparecer como grupo monofilético, não foi possível recuperar a topologia apresentada em Zhao *et al.* (2016) e Chen *et al.* (2017). *Agaricus* subg. *Minores* seção *Minores* aparece como grupo parafilético, com *Agaricus* seção *Leucocarpi* representada como um subclado mais externo, na região central, dentro de *Agaricus* seção *Minores*.

Dos 16 espécimes brasileiros pertencentes à *Agaricus* subg. *Minores*, quatro (**LASR167**, **LASR169**, **LASR172** e **LASR190**) são provenientes da região metropolitana de São Paulo.

Em Zhao *et al.* (2016), através de análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana, da região ITS, propuseram *Agaricus* subg. *Minores*, com base no clado denominado

clado A (Zhao *et al.*, 2016), constituído por dois subclados principais, relacionados à *Agaricus* seção *Minores* (clado A1), e *Agaricus* seção *Laeticolores* (clado A2). Posteriormente, Chen *et al.* (2017) através de análises de Máxima Verossimilhança e de Inferência Bayesiana, trabalhando com dados concatenados de ITS, LSU e *tef-1α* propuseram uma filogenia onde *Agaricus* subg. *Minores* aparece com 11 subclados (AI-AXI), que não puderam ser completamente reconstruídos nesse estudo apenas com sequências de ITS. A topologia de *Agaricus* subg. *Minores* está representada na figura 2.

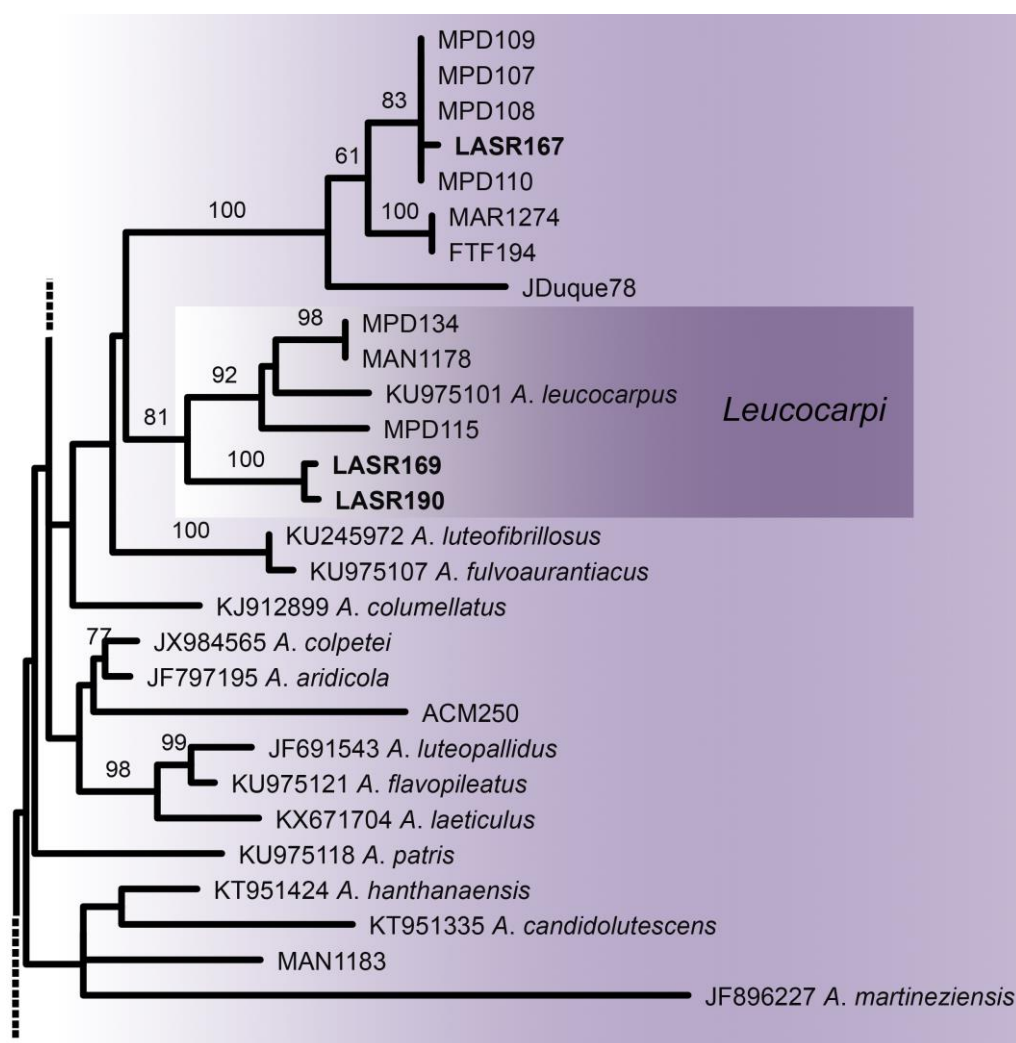


Figura 2. Topologia do clado *Agaricus* subg. *Minores*, do filograma de Máxima Verossimilhança (Figura 1A), representando o posicionamento dos espécimes brasileiros. Espécimes em **negrito** foram gerados durante este estudo, Valores de BS > 60 e PP > 0.7 estão representados próximos aos ramos.

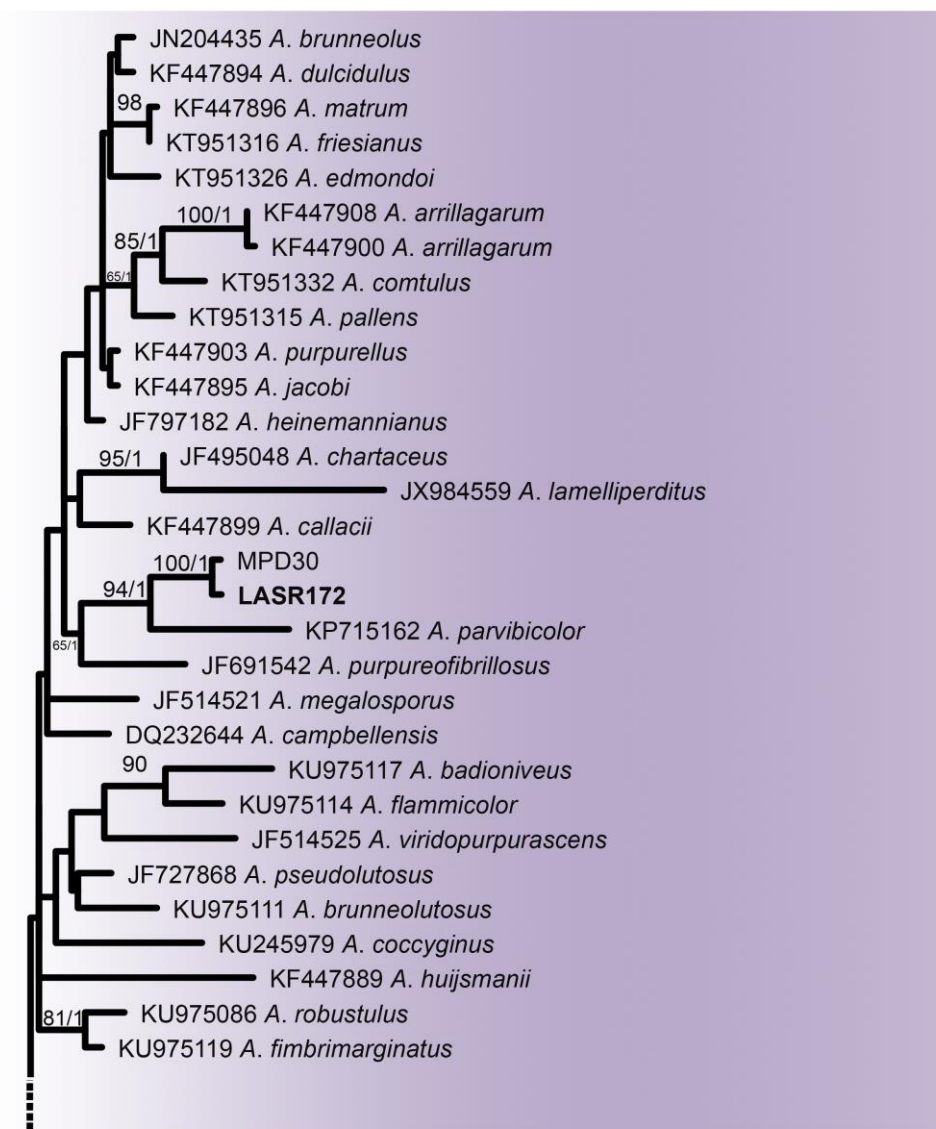


Figura 2. Continuação...

Agaricus subg. *Minoriopsis*, proposto recentemente (Chen *et al.* 2017), baseado em espécimes coletados na Grande Subregião do Mekong, no sudoeste da Ásia, foi o subgênero com maior número de espécimes brasileiros (32). Chen *et al.* (2017), realizando análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana, considerando dados de ITS, LSU, e *tef-1α*, propuseram *Agaricus* subg. *Minoriopsis*, atribuído a um clado com alto suporte, em todas as análises, subdividido em dois subclados, correspondentes as linhagens de *A. martinicensis* Pegler e *A. rufoaurantiacus* Heinem. Drewinski *et al.* (2017) trabalhando com análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana, considerando dados de ITS, também obtiveram um clado correspondente a *Agaricus* subg. *Minoriopsis* subdividido em dois subclados, sendo que neste caso, um dos subclados apresentou uma dicotomia envolvendo

espécimes relacionados à *A. rufoaurantiacus*, agrupando em um dos terminais, e espécies associadas à *A. globocystidiatus* Drewinski & M.A. Neves, agrupando na outra extremidade. Dentre os seis espécimes coletados na região metropolitana de São Paulo, dois deles (**LASR118** e **LASR188**) agruparam junto com espécimes de *A. globocystidiatus* enquanto os outros quatro (**LASR130**, **MCsn**, **MC4152** e **21**) ficaram distribuídos dentro do grupo relacionado à *A. rufoaurantiacus*. A figura 3, à seguir, representa a topologia de *Agaricus* subg. *Minoriopsis*.

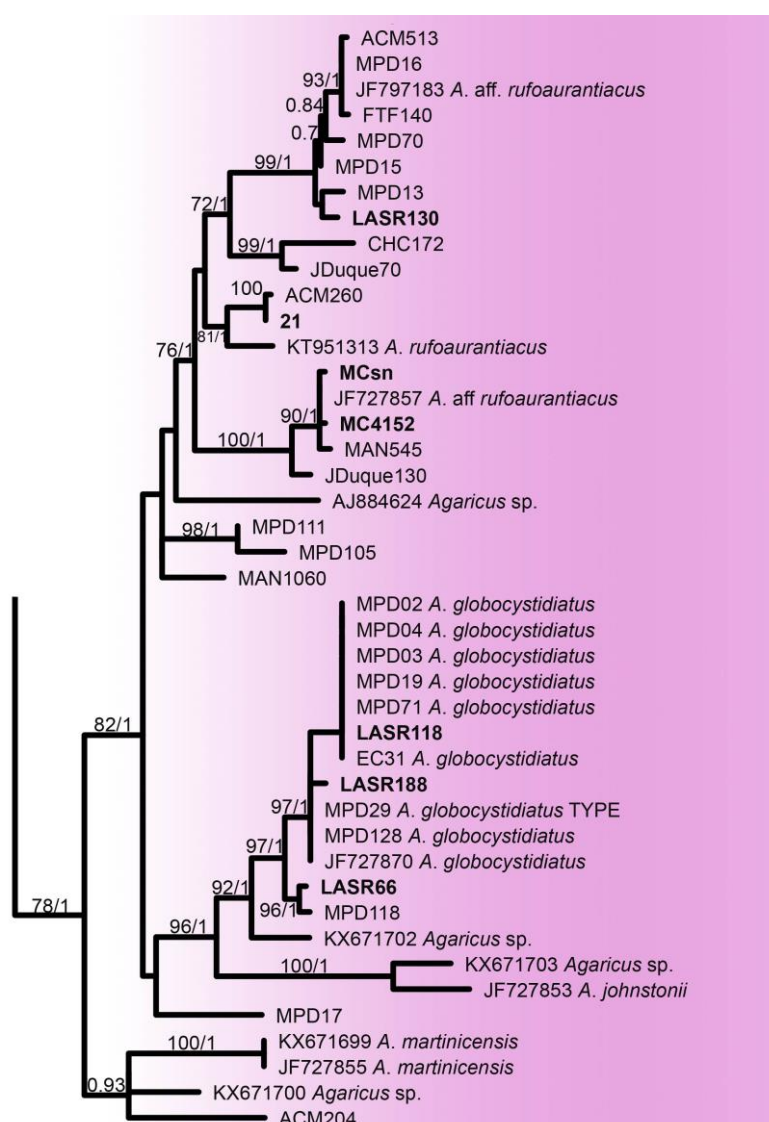


Figura 3. Topologia do clado relacionado a *Agaricus* subg. *Minoriopsis*, *Agaricus* subg. do filograma de Máxima Verossimilhança (Figura 1A), representando o posicionamento dos espécimes brasileiros. Espécimes em **negrito** foram gerados durante este estudo, valores de BS > 60 e PP > 0.7 estão representados próximos aos ramos.

O clado atribuído a *Agaricus* subg. *Flavoagaricus* aparece nas análises de ML (Figura 1A) subdivido em dois subclados não relacionados. Um dos clado corresponde a *Agaricus* seção *Arvenses* (Calvo-Brado, 2000, Zhao *et al.* 2011, 2016, Gui *et al.* 2015) e não apresenta representantes brasileiros amostrados neste estudo, e o outro clado, denominado aqui como Clado A, corresponde a um grupo preponderantemente formado por sequências de espécimes brasileiros e já evidenciado por Drewinski (2017) a partir de análises multigênicas (ITS, LSU, *tef-1 α*), denominado pela autora como “Clado novo”. Neste estudo, o Clado A está subdividido em dois subclados principais e constituído por 16 espécimes brasileiros mais uma sequência de *A. deserticola* G. Moreno, Esqueda & Lizárraga dos Estados Unidos. Um dos dois subclados do Clado A é constituído apenas por sequências de espécimes brasileiros divididos em três possíveis linhagens distintas. A primeira delas incluindo cinco sequências (AGP08, MAN651, MAN1150, MAN1151, MPD131) estudadas por Drewinski (2017) e também cinco sequências geradas neste estudo e obtidas de materiais coletados na região metropolitana de São Paulo (**MC4632**, **LASR179**, **LASRag01**, **LASR163** e **LASR160**).

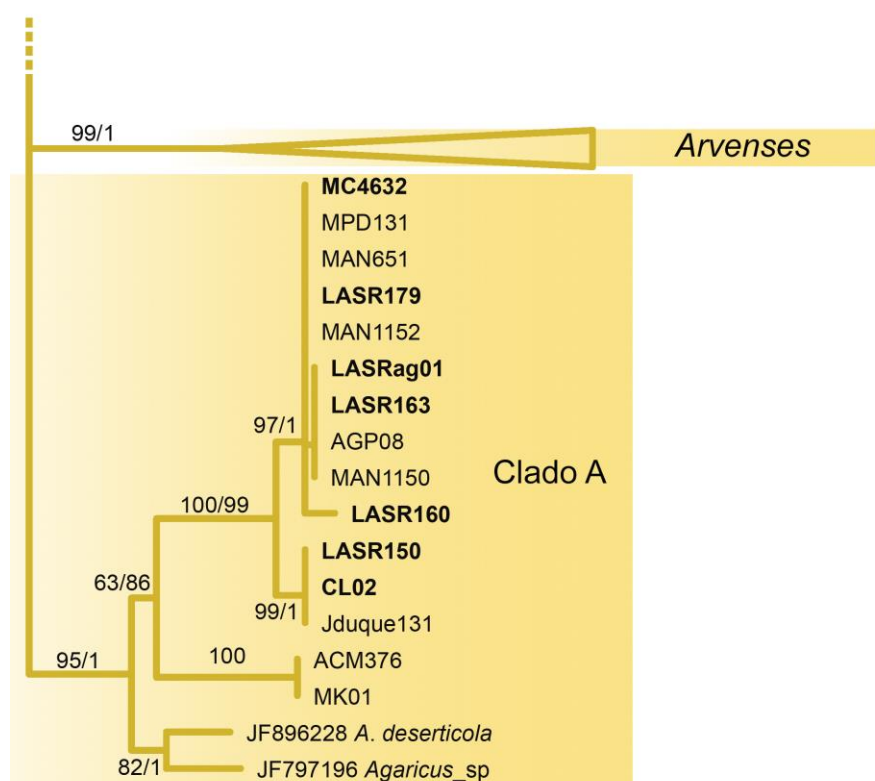


Figura 4. Detalhe do clado relacionado a *Agaricus* subg. *Flavoagaricus* a partir do filograma de Máxima Verossimilhança (Figura 1A). Espécimes em **negrito** foram gerados durante este estudo. Valores de BS > 60 e PP > 0.7 estão representados próximos aos ramos.

A segunda linhagem do Clado A está representada por uma sequência (Jduque131) gerada por Drewinski (2017) e outras duas sequências geradas neste estudo e obtidas de materiais coletados na região metropolitana de São Paulo (**LASR150** e **CL02**). Por fim, a terceira linhagem do principal subclado do Clado A é formada por sequências de dois espécimes (ACM376 e MK01) estudados por Drewinski (2017). O segundo subclado do Clado A formado por *A. deserticola*, espécie originária dos EUA, e um espécime não identificado em nível específico coletado no estado do Paraná (JF797196).

Em *Agaricus* subg. *Spissicaules*, com exceção de *A. cf. goossensiae* Heinem., que aparece externo em relação a todos os outros representantes da seção, *Agaricus* subg. *Spissicaules* aparece representado por dois ramos paralelos, sustentando dois subclados sem relação definida entre eles (Figura 6). *Agaricus* seção *Spissicaules* e *Agaricus* seção *Subrutillescentes* aparecem em um clado como grupos irmãos, e em outro clado estão os representantes de *Agaricus* seção *Amoeni* e *Agaricus* seção *Rarolentes*. *Agaricus* seção *Spissicaules* aparece como grupo polifilético, com *A. litoralis* (Wakef. & A. Pearson) Pilát como ramo externo do clado correspondente a *Agaricus* seção *Subrutillescentes*, e *A. lanipes* (F.H. Møller & Jul. Schäff.) Hlaváček como ramo externo ao clado correspondente a *Agaricus* seção *Amoeni* e *Agaricus* seção *Rarolentes* (Figura 6).

Os clados de *Agaricus* seção *Spissicaules* e *Agaricus* seção *Subrutillescentes* aparecem com sequências de um espécime brasileiro em cada, ambas coleções (MAN1110 e MPD135) estudadas por Drewinski (2017). Em *Agaricus* seção *Rarolentes*, sequências de 11 espécimes brasileiros estão agrupados em dois subclados distintos. Um deles contendo sete sequências (DKSG14, MAN1182, MAN1184, MPD113, MPD114, MPD127 e MPD133) geradas por Drewinski (2017) e juntamente com dois materiais adicionais provenientes da região metropolitana de São Paulo (**LASR147** e **LASR182**), e o outro subclado representado por MPD55 (Drewinski, 2017) e **LASR 129**, sendo o último material proveniente deste estudo.

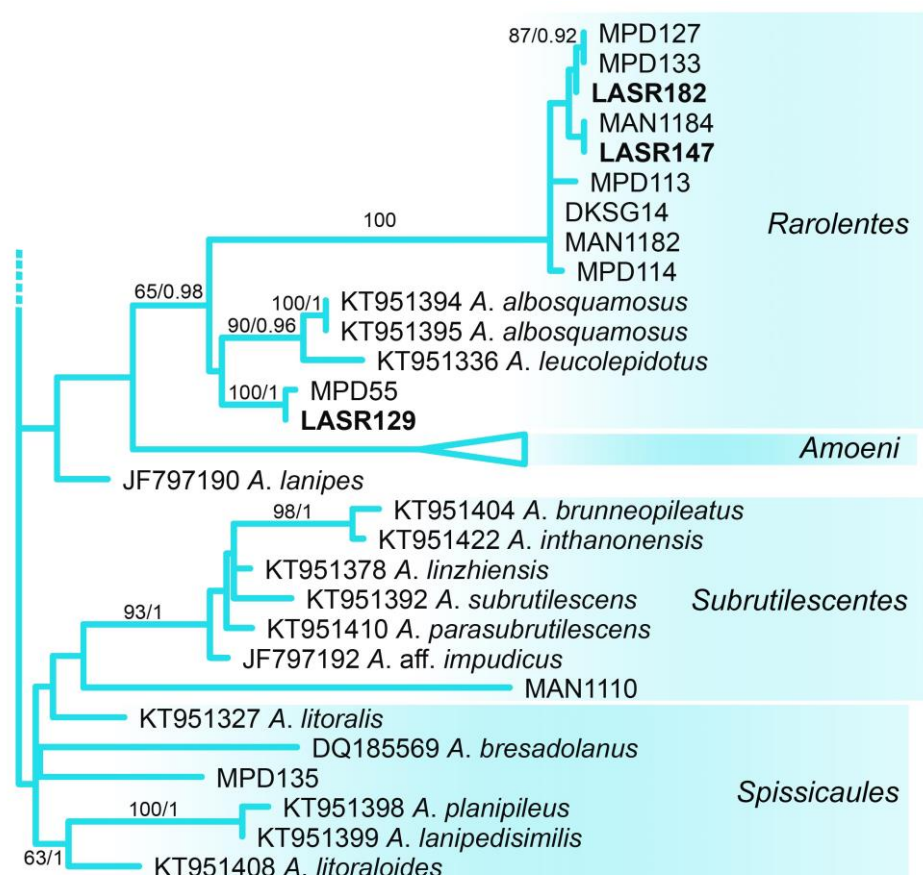


Figura 6. Detalhe do clado relacionado a *Agaricus* subg. *Spissicaules* a partir do filograma de Máxima Verossimilhança (Figura 1A), onde ambos os clados aparecem colapsados a partir do ramo que os sustenta. Espécimes em **negrito** foram gerados durante este estudo. Valores de BS > 60 e PP > 0.7 estão representados próximos aos ramos.

Em Zhao *et al.* (2011), análises de ML e BI da região ITS de representante hoje classificados em *Agaricus* subg. *Spissicaules* formaram clado com baixo suporte subdividido em três subclados principais. Zhao *et al.* (2011) identificaram *Agaricus* seção *Spissicaules* como parafilético e com representantes distribuídos nos três subclados apresentados. Parte de um dos três subclados apresentados por Zhao *et al.* (2011) foi nomeado pelos autores de TRIII (100/1 BS/PP) e apareceu constituído apenas com espécies de regiões tropicais. TRIII de Zhao *et al.* (2011) foi posteriormente associado a *Agaricus* seção *Amoeni* (Zhao *et al.*, 2016).

Zhao *et al.* (2016), utilizando análises multigênicas (ITS, LSU, *tef-1α* e *rpb2*) apresentaram um cladograma constituído de cinco clados principais correspondentes aos subgêneros de *Agaricus*, sendo que o clado denominado C foi atribuído à *Agaricus* subg. *Spissicaules*. No clado correspondente a *Agaricus* subg. *Spissicaules*, as análises multigênicas de Zhao *et al.* (2016) evidenciaram o clado formado por *Agaricus* seção *Rarolentes* e *Agaricus*

seção *Spissicaules* (nomeados subclados C3 e C4, respectivamente) como grupo irmão do clado contendo representantes de *Agaricus* seção *Subrutilescentes* e *Agaricus* seção *Amoeni* (nomeados subclados C1 e C2, respectivamente). Porém, Zhao *et al.* (2016), realizando análises de ITS restritas aos representantes de *Agaricus* subgênero *Spissicaules*, obtiveram como resultado uma relação filogenética distinta entre as seções desse subgênero. Nesse caso, o clado denominado C1 (*Agaricus* seção *Subrutilescentes*) aparece como grupo irmão de C4 (*Agaricus* seção *Spissicaules*), estando ambos como grupo irmão de C2 (*Agaricus* seção *Amoeni*) e C3 (*Agaricus* seção *Rarolentes*) como clado externo a C1, C2 e C3.

O clado com as espécies de *Agaricus* subg. *Agaricus* seção *Agaricus* é composto por oito espécimes brasileiros, sete deles (FTF193, JS75, MPD126, MAN1153, MPD11, MPD10 e MAN1151) previamente apresentados por Drewinski (2017) e **TYMP033** proveniente da região metropolitana de São Paulo e resultante deste estudo (Figura 2). **TYMP033** aparece próximo à sequências de espécimes identificados como *A. campestris* e provavelmente represente a mesma espécie que MAN1151 reportada por Drewinski (2017). O clado de *Agaricus* seção *Agaricus* aparece subdivido em dois subclados principais (Figura 7), cada um deles associado às sequências de *A. campestris* e *A. langei* (F.H. Møller) F.H. Møller, tal como em Geml *et al.* (2004) e Zhao *et al.* (2011). exibida na Figura 1-A (página 36).

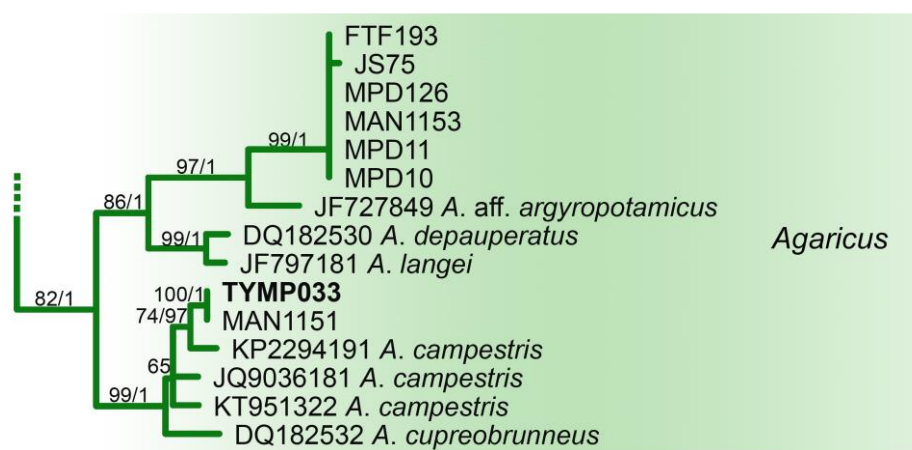


Figura 7. Topologia do clado relacionado a *Agaricus* subg. *Agaricus* e *Agaricus* subg. *Agaricus* seção *Agaricus*, do filograma de Máxima Verossimilhança (figura 1 A), representando o posicionamento dos espécimes brasileiros. Espécimes em **negrito** foram gerados durante este estudo, valores de BS > 60 e PP > 0.7 estão representados próximos aos ramos.

Nas análises de Geml *et al.* (2004), três espécies representaram *Agaricus* seção *Agaricus* em um clado com alto e médio suporte nas análises de Inferência Bayesiana e de Máxima Verossimilhança respectivamente (69/1 BS/PP): *A. campestris*, *A. cupreobrunneus* (Jul. Schäff. & Steer ex F.H. Møller) Pilát e *A. langei*. No estudo de Geml *et al.* (2004), em ambas as análises (ML e BI), o clado de *Agaricus* seção *Agaricus* apresentou uma dicotomia, com *A. campestris* e *A. cupreobrunneus* (Jul. Schäff. & Steer ex F.H. Møller) Pilát constituindo um clado, o qual foi denominado por Geml *et al.* (2004) de Clado II, e *A. langei* como grupo irmão. No entanto, nas análises de ML e BI com dados de nrITS e LSU concatenados, *Agaricus* seção *Agaricus* apareceu como grupo parafilético, com *A. langei* não sendo grupo irmão do Clado II, e este, por sua vez, apresentou baixo suporte em ambas as análises.

Zhao *et al.* (2011) apresentaram um cladograma cujo clado associado a *Agaricus* seção *Agaricus* recebeu alto suporte (98/0.99 BS/PP) em ambas as análises (ML e BI). As sequências de *A. campestris* e *A. cupreobrunneus* apareceram no mesmo subclado e conectado ao subclado contendo *A. langei* e sequências de outros três espécimes não identificados, dois deles provenientes de Martinique e um da Tailândia.

Liu *et al.* (2015), estudando coleções provenientes da Tailândia, propuseram uma nova espécie para *Agaricus* seção *Agaricus*, *A. flavicentrus* Karunarathna & K.D. Hyde. Os autores apresentaram também uma filogenia baseada em análises de ML e Máxima Parcimônia da região ITS e contendo os mesmo dois subclados apresentados por Geml *et al.* (2004) e Zhao *et al.* (2011), um com *A. campestris* e *A. cupreobrunneus*, e outro com *A. flavicentrus* e *A. langei*. Karunarathna *et al.* (2016), com base em análises de ML da região ITS de 29 espécies de *Agaricus* descritas ou referidas para regiões tropicais e subtropicais úmidas da Ásia, apresentam um filograma com um clado não suportado relacionado à *Agaricus* seção *Agaricus* e contendo três espécies constituindo uma tricotomia. Todavia, Karunarathna *et al.* (2016) não considerou *A. langei* em suas análises.

Agaricus subg. *Pseudochitonia* apareceu como grupo parafilético e com diversos clados mais basais em ambos os filogramas (Figura 1), diferente da topologia apresentada em Zhao *et al.* (2016), em que *Agaricus* subg. *Pseudochitonia* apareceu como monofilético e como clado irmão de *Agaricus* subg. *Agaricus*.

Em ambas as análises, os espécimes ACM473 e MAN686 (Drewinski 2017) aparecem externo ao clado principal representando o gênero *Agaricus*, diferente das análises multigênicas (ITS, LSU e *tef-1 α*) apresentadas em Drewinski (2017), onde os espécimes aparecem dentro de *Agaricus* subg. *Flavoagaricus*.

4.1.4 Incremento do Conhecimento de *Agaricus* no Brasil

A biodiversidade de *Agaricus* na região metropolitana de São Paulo correspondeu ao observado em Drewinski (2017), trabalhando com espécimes de diversas regiões do Brasil. Em ambos os estudos, verificou-se a presença de espécimes relacionados a *Agaricus* subgênero *Flavoagaricus*, *Agaricus* subgênero *Minores*, *Agaricus* subgênero *Minoriopsis*, e *Agaricus* subg. *Pseudochitonia* seção *Xanthodermatei*.

Estudos moleculares apontam duas possíveis espécies novas em *Agaricus* subgênero *Minores*, uma delas dentro de *Agaricus* subgênero *Minores* seção *Leucocarpi*. Caso essa hipótese seja confirmada por estudos morfológicos, esses espécimes brasileiros representarão a segunda espécie de *Agaricus* seção *Leucocarpi* (Chen *et al.* 2016), que atualmente contém apenas uma espécie. Consequentemente a descrição dos espécimes brasileiros colaborará para o incremento da descrição de *Agaricus* subgênero *Minores* seção *Leucocarpi*.

Em *Agaricus* subgênero *Minoriopsis* seção *minoriopsis*, o primeiro registro de *A. globocystidiatus* para o estado de São Paulo será proposto, aumentando o conhecimento sobre a área de ocorrência dessa espécie brasileira. Ainda, as análises moleculares realizadas neste estudo apontam indícios de quatro possíveis novas espécies brasileira dentro desta seção.

Em *Agaricus* subgênero *Spissicaules* seção *Rarolentes*, estudos moleculares corroboram a hipótese de duas possíveis espécies novas, baseado em coleções da região metropolitana de São Paulo e de outros estados do país. Tal como em *Agaricus* seção *Flavoagaricus*, onde duas possíveis espécies novas aparecem em evidência nas análises filogenéticas.

Em *Agaricus* seção *Campestris*, um espécime coletado na região metropolitana de São Paulo aparece intimamente relacionado com espécimes associados à *A. campestris*, sugerindo se tratar da mesma espécie. A ocorrência de *A. campestris* no Brasil já foi registrada por diversos autores (Tabela 2), todavia, em nenhum dos casos foi possível obter sequências de DNA para comparação molecular. Sendo assim, essa será a primeira vez em que um espécime associado à *A. campestris*, proveniente do Brasil, terá sequência de ITS disponível para estudos filogenéticos.

Em *Agaricus* subgênero *Pseudochitonia* seção *Xanthodermatei*, três novas espécies foram propostas, e o estudo mais aprofundado desta seção e das espécies novas propostas estão detalhados à seguir.

4.2 Three new species of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* from Brazil with an overview of the nrITS phylogeny

Esta seção apresenta um manuscrito submetido para publicação na revista Phytotaxa e que inclui a proposição de três espécies novas para o gênero *Agaricus* seção *Xanthodermatei* com base em estudos morfológicos e moleculares, além de uma revisão da filogenia molecular de *Agaricus* seção *Xanthodermatei* baseada em na região ITS do DNAr. O texto a seguir está organizado conforme as normas para publicação da referida revista.

LUIZ ANTONIO SILVA RAMOS^{1*}, MARIA ALICE NEVES^{2**} & NELSON MENOLLI JR.^{1,3***}

¹ Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Micologia. Av. Miguel Stefano, 3687, Água Funda, CEP: 04301-012, São Paulo, São Paulo, Brazil.

² PPG Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário Trindade, CEP: 88040-900, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP), Campus São Paulo, Departamento de Ciências da Natureza e Matemática (DCM), Subárea de Biologia. Rua Pedro Vicente, 625, Canindé, CEP:01109-010, São Paulo, São Paulo, Brazil.

Corresponding authors

* L.A.S. Ramos.: luars54@gmail.com

** M.A. Neves.: maliceneves@gmail.com

*** N. Menolli Jr.: menollijr@yahoo.com.br

Abstract

Agaricus comprises a genus of mushrooms-forming fungi including many edible, medicinal, and toxic species, with the latter belonging mainly to the *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*. *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* has been studied based on morphological and molecular data from specimens mainly from Asia, Europe, and North America. The genus is still poorly studied in Brazil, as well as the *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*, considering that only four species from this section have been cited from the country and the species cited have no molecular data. Based on new samples from São Paulo city and surrounding areas (São Paulo state, Brazil), we propose *A. sp. A*, *A. sp. B*, and *A. sp. C* as three new species of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* based on morphological and molecular data. Additionally, an overview of the ITS phylogeny for the section is presented.

Key words: *Agaricaceae*, *Basidiomycota*, neotropic, taxonomy, toxic mushroom

Introduction

Agaricus L. (Agaricaceae, Agaricales) is a genus proposed together with the binomial classification system to fit all mushroom-forming fungi (Linnaeus 1753:1171). Nowadays, in a contemporary concept (Parra 2008), the genus comprises around 440 species (Karunarathna *et al.* 2016) classified in six subgenera and twenty-three sections (Zhao *et al.* 2016; Chen *et al.* 2017; Parra *et al.* 2018).

Many species of *Agaricus* are edible, such as *A. bisporus* (J.E. Lange) Imbach (1946:15), a worldwide commercially cultivated mushroom (Royse 2014), and *A. subrufescens* Peck (1893:105), as well known due to its medicinal properties (Wisitrassameewong *et al.* 2012). Toxic species are also present in the genus and they are responsible mainly for causing gastrointestinal disorder, lethargy, and vomiting (Gill & Strauch 1984). Most toxic mushrooms belong to *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* Konrad & Maubl. sect. *Xanthodermatei* Singer (1948:36; Mahdizadeh *et al.* 2016).

Agaricus sect. *Xanthodermatei* was proposed based on *A. xanthodermus* Genev. (Genevier 1876:28) and characterized mainly for grouping mushrooms with negative Schaffer reaction, positive KOH reaction, yellow discoloration when bruised, and phenolic or iodine-like odor (Singer 1948, 1986; Parra 2008; Mahdizadeh *et al.* 2016). However, some species, such as *A. biannulatus* Murr., L.A. Parra, Cappelli & Callac (Parra *et al.* 2012:8) and *A. murinocephalus* R.L. Zhao, Desjardin & K.D. Hyde (Zhao *et al.* 2013:189), have neither yellow discoloration nor phenol-like odor (Thongklang *et al.* 2014). Furthermore, species belonging to *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*, such as *A. endoxanthus* Berk. & Broome (1871:548), *A. moelleri* Wasser (1976a:77), *A. pseudopratinensis* (Bohus) Wasser (1976b:250), and *A. rotalis* K.R. Peterson, Desjardin & Hemmes (1999:244) may present red discoloration as well (Pettersson *et al.* 1999; Kerrigan *et al.* 2005; Mahdizadeh *et al.* 2016; Zhao *et al.* 2016).

The phylogeny of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* was formerly reconstructed by Kerrigan *et al.* (2005) based on nrITS sequences of 19 species currently accepted in this section from Europe and North America. Callac & Guinberteau (2005) brought up two new species of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* collected in France, followed by a nrITS study involving five other species of the section known from Europe and North America. Comparing European temperate species and tropical specimens from Thailand, Zhao *et al.* (2011), based on nrITS, showed a monophyletic clade related to *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*. Thongklang *et al.* (2014), also based on nrITS data, analyzed sequences of 21 species and three unidentified specimens from temperate and tropical areas, at that time considered belonging to *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*, and recreated a phylogeny with three subclades named Xan I, Xan II, and

Xan III. Zhao *et al.* (2016) reconstructed the taxonomic system of *Agaricus* based on multi-loci analyses and showed *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* as paraphyletic. The clade comprising *A. hondensis* and allied species previously associated to *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* (Kerrigan *et al.* 2005; Zhao *et al.* 2011; Thongklang *et al.* 2014), and named by Thongklang *et al.* (2014) as ‘Xan I’, was raised as a new section in *Agaricus* subg. *Pseudochitonia*, viz. *Agaricus* sect. *Hondenses* R.L. Zhao & L. A. Parra (Zhao *et al.* 2016:34). Zhou *et al.* (2016) described eleven new species of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* and *Agaricus* sect. *Hondenses* and proposed the reconstruction of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* based on nrITS and combined analyses (nrITS, LSU, and *tef1 α*) with samples mainly from Europe, North America, and Asia. Considering only the nrITS analyses of 29 species, Zhou *et al.* (2016) showed *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* as monophyletic, although poorly-supported. In the combined analyses including 32 species, *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* received a weak support (0.96/56 PP/BS) and the authors mentioned that tropical species are not grouped in a specific subclade (Zhou *et al.* 2016).

Recently, Parra *et al.* (2018), working with Caribbean specimens, proposed three new species belonging to *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*. The authors carried out phylogenetic studies involving nrITS and combined analyses (nrITS, LSU, and *tef1 α*) to confirm the placement of the new species in *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*. Although the authors have also not recovered support for the monophyletic clade of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* in the nrITS analyses, the combined analyses showed the clade of the section as strongly supported.

The studies of *Agaricus* in the Neotropics region were carried out mainly based on morphology by several mycologists over the 19th and 20th centuries until now, and resulted in many new species and new records of species previously known mainly from Europe and temperate zones (Spegazzini 1899, 1926; Martinez 1949, 1957; Singer & Antonio 1952; Heinemann 1961, 1962a, 1962b, 1962c, 1980, 1986, 1987, 1990, 1993; Horak 1967, 1979; Dennis 1951, 1970; Raithelhuber 1977, 1988, 1991; Albertó & Wright 1994; Pegler 1983, 1997; Albertó 1996, 1998; Callac & Mata 2005; Meijer 2008; Alves *et al.* 2012; Niveiro & Albertó 2013; Medel *et al.* 2015; Drewinski *et al.* 2017; Putzke & Putzke 2017; Parra *et al.* 2018).

In *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* from Neotropics it is possible to list the records of *A. caribaeus* Pegler (1983:436), *A. cretacellus* G.F. Atk. (Atkinson 1902:110; Heinemann 1993), and *A. griseorimosus* Pegler from Martinique (Pegler 1983:435); *A. elfinensis* Heinem. from Jamaica (Heinemann 1962c:26) and *A. endoxanthus* from Trinidad, Venezuela (Heinemann 1961), and Brazil (Pegler 1997, Alves *et al.* 2012); *A. moelleri* (= *A. praeclaresquamosus*), *A. nebularum* Singer (1969:165), *A. phaeocyclus* Pat. (Patouillard 1913:217) (= *A. phaeocyclus* var. *pucatrihuensis* Heinem.), *A. phaeolepidotus* F.H. Møller (1952:204), *A. pilatianus* (Bohus) Bohus (1974:78), *A. placomyces* Peck (1878:40), *A. unguentolens* Heinem. (Heinemann

1990:360), and *A. xanthodermus* from Argentina (Heinemann 1990); *A. phaeocyclus* also from Chile (Heinemann 1986); *A. californicus* Peck (1895:203), *A. tollocanensis* Callac & Mata (2004:31), *A. moelleri*, *A. placomyces*, *A. volvatulus* Heinem. & Gooss.-Font. (Heinemann & Goossens-Fontana 1956:61), and *A. xanthodermus* from Mexico¹² (Callac & Mata 2005; Medel *et al.* 2015); and *A. volvatulus* also from Brazil (Heinemann 1993; Meijer 2008; Putzke & Putzke 2017), as well as *A. moelleri* (Neves *et al.* 2013) and *A. stijvei* de Meijer (2008:302) from Brazil (Meijer 2008).

The present work aimed to describe three new species of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* based on morphological and molecular data (nrITS) of specimens recently collected in a fragment of the Atlantic Rainforest in São Paulo and surrounding areas, Brazil. We also present an overview of the nrITS phylogeny of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* positioning the Brazilian specimens in a global phylogeny of the section.

Material and methods

Sampling and morphological study

Specimens were collected in the “Parque Estadual das Fontes do Ipiranga”, a fragment of the Atlantic Rainforest in São Paulo, Brazil and also surrounding places in the São Paulo metropolitan area during 2016 and 2017. The description of the organoleptic features was made in a laboratory, after returning from the field, according to Largent (1986), Vellinga (1988), and Parra (2008), and it was followed by chemical tests (Schäffer’s and KOH 5% reactions), according to Schäffer & Møller (1938). The color codes for description of the basidiomata were based on Kùeppers (1982). Specimens were dried in a drier chamber at 45–55°C. Microscopic features were studied from dried specimens following the anatomical nomenclature and procedures of Largent (1986) and Parra (2008). At least 20 basidiospores, basidia, cystidia, and pileipellis and stipitipellis cells were measured per basidiomata. For basidiospores, basidia and cystidia, extreme measurements are quoted in parentheses and represent less than 5% of total measurements. Basidiospore measurements are followed by the quotient of the basidiospore length and width (Q), the mean of Q-values (Q_m), and the mean of length/width (L_m/W_m). The notation [a/b/c] at the beginning of a set of basidiospore data represents: (a) total of basidiospores measured; (b) total of basidiomata studied; and (c) total of collections studied. Basidiospore shape was based on Q-value (Bas 1969). The exsiccates were deposited at the Herbarium SP from ‘Instituto de Botânica’ in São Paulo, Brazil.

¹² Although some species have been recorded for Mexico, some regions of Mexico are not considered as belonging to the Neotropic realm.

DNA extraction, amplification and sequencing

DNA extraction was performed according to the protocol developed by Doyle & Doyle (1987) and adapted by Góes-Neto *et al.* (2005). The Polymerase Chain Reaction (PCR) mix was prepared using 10 µl Mili-Q water, 12 µl JumpStart™ Taq ReadyMix™ (Merck a.k.a. Sigma–Aldrich), 1 µl each primer solution (10 pmol/L), and 1 µl genomic DNA (10–50 ng/µl). The primer pair used for the amplification of the nrITS region was ITS8-F and ITS6-R (Dentinger *et al.* 2010) and the cycling conditions followed Zhao *et al.* (2011): 5 min at 95 °C; 35 cycles (1 min. at 94 °C, 1.5 min. at 55 °C, 1.5 min. at 72 °C); and 5 min at 72 °C. The PCR product was purified as described: adding 1.5 volume of 100% ethanol; vortex and let sit for 1 minute; centrifuge 13 rpm for 5 min; vacuum out the ethanol; adding 500 µl of 75% ethanol; vortex shortly and centrifuge 13 rpm for 3 min; vacuum out the ethanol; heating block at 90°C for up to 5 min; resuspending in 20–30 µl sterile water. The purified PCR product was sequenced by Macrogen, Korea (www.macrogen.com/) using the same primer pair.

Phylogenetic analyses

The final dataset is composed of 167 nrITS sequences of 52 *Agaricus* species, with 48 species representing *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*, three representing *Agaricus* sect. *Hondenses* and one representing *Agaricus* sect. *Agaricus* (Table 1). A sequence of *Agaricus campestris* L. (Linnaeus 1753:1173) – *Agaricus* subg. *Agaricus* sect. *Agaricus* – was utilized as outgroup. Six sequences were provided in this study from newly collected *Agaricus* specimens from Brazil and were then deposited in GenBank (Table 1). Sequences were aligned using MAFFT online service v.7 (Kato & Standley 2013) with Q-INS-I strategy and were then manually corrected in AliView (Larsson 2014). Maximum Likelihood (ML) analysis was performed on RAxML-HPC v.8.2.9 (Stamatakis 2014) using the mixed/partitioned model GTRGAMMA with 1,000 bootstrap replicates and searching for best-scoring ML trees. Bayesian inference (BI) was performed in MrBayes 3.2.6 (Huelsenbeck & Ronquist 2001; Ronquist & Huelsenbeck 2003) with four chains, 20,000,000 generations and trees were sampled every 1,000 generations. Models were performed using jModelTest 2.1.6 (Darriba *et al.* 2012; Guindon & Gascuel 2003) and selected according to Akaike Information Criterion (AIC). The nrITS region was partitioned in ITS1, 5.8S, and ITS2. All phylogenetic tools were applied on XSEDE through CIPRES platform (Miller *et al.* 2010). The outputs were displayed with FigTree v1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

TABLE 1. Data for sequences used in molecular analyses, collections in **bold** were generated in this work.

Taxon	Collection ID	Genbank accession	Country	References
<i>Agaricus</i> sect. <i>Xanthodermatei</i>				
<i>A. arizonicus</i>	RMC_1255	NR144985	USA	Kerrigan (2016)
<i>A. atrodiscus</i>	LD2012185	KT284912	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. berryessae</i>	RWK_2106	NR144986	USA	Kerrigan (2016)
	ML 5	DQ182524	USA	Kerrigan (2016)
	RWK_2107	KJ609483	USA	Kerrigan (2016)
<i>A. bisporiticus</i>	MCR25	KJ575608	Pakistan	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
	CA910	KJ575609	Thailand	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
	CA929	KJ575610	Thailand	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
	LD2012111	KJ575611	Thailand	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. brunneogracilis</i>	ZRL258	KM657876	Thailand	Zhou <i>et al.</i> 2016
<i>A. buckmacadooi</i>	B49	KJ609484	USA	Kerrigan (2016)
<i>A. californicus</i>	RWK1914	DQ182509	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	E.C. V. 2319	AF482830	USA	Callac & Guinberteau (2005)
	CA155	AY899265	Mexico	Callac & Guinberteau (2005)
	RWK1936	DQ182510	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. candussoi</i>	JBSD126492	MF511146	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
	JBSD126490	MF511141	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
	JBSD126491	MF511142	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
<i>A. caribaeus</i>	F2530	JF727856	Martinique	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	JBSD123820	MF511118	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
	JBSD126485	MF511130	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
<i>A. daliensis</i>	SHY2011073114	KM657878	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	SHY2011071706	KM657877	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. deardorffensis</i>	ECV4226	KJ609493	USA	Kerrigan (2016)
	BM-09E	KJ609492	USA	Kerrigan (2016)
	ECV4230	KJ609494	USA	Kerrigan (2016)
	RWK2003	KJ609495	USA	Kerrigan (2016)
	RWK2004	KJ609496	USA	Kerrigan (2016)
	RWK2028	KJ609497	USA	Kerrigan (2016)
	ZRL2012474	KM657893	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ZRL2012582	KM657894	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. cf. endoxanthus</i>	LAPAG225	DQ182511	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	RWK1937	DQ182521	—	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	NTS7	JF514533	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	ZLR3095	JF691554	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	AJ466	KU058148	USA	Kerrigan (2016)
	LAPAG599	KU041649	Hungary	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>A. cf. endoxanthus</i>	ZRL3094	KU041650	Thailand	Chen <i>et al.</i> (2016)

	CA1194	KU041651	Thailand	Chen <i>et al.</i> (2016)
	AMA083	KU041652	Malaysia	Chen <i>et al.</i> (2016)
	LAPAG598	KU041653	Switzerland	Chen <i>et al.</i> (2016)
	MFLU121008	KU041654	Thailand	Chen <i>et al.</i> (2016)
	LAPAM47	KU041655	Dom. Rep.	Chen <i>et al.</i> (2016)
	PR6320	KU041661	Puerto Rico	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>A. exilissimus</i>	MFLU120894	KT284910	Thailand	Parra <i>et al.</i> (2018)
<i>A. flavidodiscus</i>	JBSD126489	MF511144	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
	JBSD126488	MF511116	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
	JBSD126487	MF511129	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
<i>A. fuscopunctatus</i>	MFLU20120952	NR151746	Thailand	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
	CA919	KJ575613	Thailand	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
	NTF61	JF514528	–	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. gregariomyces</i>	ZRL2012624	KM657880	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. iodosmus</i>	LAPAG203	DQ182516	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	LAPAG238	DQ182517	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	LAPAG 245	DQ182518	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	RWK1970	DQ182519	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	VM080	KT824784	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
<i>A. karstomyces</i>	ZRL2011048	KM657899	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. kriegeri</i>	RWK2079	KJ609500	USA	Kerrigan (2016)
<i>A. laskibarii</i>	LAPAG115	AY943975	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. leptocaulis</i>	TNF12802	KJ609503	USA	Kerrigan (2016)
<i>A. malangelus</i>	RWK1971	DQ182522	Mexico	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	ZRL2012628	KM657892	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. melanocapus</i>	ZRL2011037	KM657881	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. menieri</i>	CA199	DQ185568	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	LAPAG237	DQ182520	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA162	DQ185567	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA141	DQ185566	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. microvolvatulus</i>	Grinling70109	NR119952	Congo	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	LD201271	KJ575614	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	NTT084	KJ575616	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	NTT038	KJ575617	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	NTS117	KJ575618	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. moelleri</i>	VM029	KT824783	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
	CA209	DQ185561	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA210	DQ185562	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA31	AY899263	France	Callac & Guinberteau (2005)
	CA156	AY899264	France	Callac & Guinberteau (2005)
	VM029	KT824783	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)

	VM099	KT824785	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
	VM112	KT824786	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
	IRAN12461	KT824787	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
<i>A. moelleroides</i>	CA215	DQ185559	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA216	DQ185560	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
A. sp. A	LASR133	MH934939	Brazil	This work
<i>A. murinocephalus</i>	ZRL3044	JF691555	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. nigrobrunnenscens</i>	DEH632	JX308267	USA	Unpublished
<i>A. parvitigrinus</i>	CA157	AY899266	France	Callac & Guinberteau (2005)
	CA158	AY899267	France	Callac & Guinberteau (2005)
	CA176	AY899268	France	Callac & Guinberteau (2005)
	CA212	AY899269	France	Callac & Guinberteau (2005)
A. sp. B	LASR192	MH934938	Brazil	This work
<i>A. phaeolepidotus</i>	CA213	DQ185550	—	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA214	DQ185551	—	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	IRAN14419	KT824790	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
<i>A. placomyces</i>	RWK 1959	DQ182525	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	RWK1918_2	AF432879	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. pocillator</i>	TENN61603	FJ596845	USA	Hughes <i>et al.</i> (2009)
	DUKEJ173	U85308	USA	Johnson (1999)
<i>A. pseudopratis</i>	LAPAG020	DQ182526	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	LAPAG259	DQ182527	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA139	AY899270	Greece	Callac & Guinberteau (2005)
	CA73	DQ185558	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. punjabensis</i>	A5	KT985908	Pakistan	Chen <i>et al.</i> (2016)
	A4	KT985909	Pakistan	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>A. rotalis</i>	DEH 1114	DQ182528	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
A. sp. C	LASR 181	MH934943	Brazil	This work
	LASR 164	MH934941	Brazil	This work
	LASR 170	MH934942	Brazil	This work
	LASR 195	MH934940	Brazil	This work
<i>A. sinoplacomyces</i>	ZRL2012008	KM657883	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ZRL2012027	KM657885	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ZRL2012028	KM657886	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. tephrolepidus</i>	JBSD123822	MF511117	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
	CB-2010	HQ322269	Mexico	Parra <i>et al.</i> (2018)
<i>A. tibetensis</i>	ZRL2012585	KM657895	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ZRL2012616	KM657896	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ZRL2012617	KM657897	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ZRL2012626	KM657898	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ZRL2012580	KR006604	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)

<i>A. tollocanensis</i>	MATA688	AY703913	Mexico	Callac & Mata (2005)
	CA229	AY703912	Mexico	Callac & Mata (2005)
<i>A. tyttocarpus</i>	ZRLWXH3077	KM657889	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. volvatulus</i>	LAPAF5	KU041657	Togo	Chen <i>et al.</i> (2016)
	ADK4266	KU041659	Togo	Chen <i>et al.</i> (2016)
	ADK2566	KU041660	Benin	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>A. xanthodermulus</i>	CA160	AY899273	France	Callac & Guinberteau (2005)
	CA174	AY899274	France	Callac & Guinberteau (2005)
	CA188	AY899275	France	Callac & Guinberteau (2005)
	CA204	AY899276	France	Callac & Guinberteau (2005)
<i>A. xanthodermus</i>	WC918	AY484689	USA	Geml <i>et al.</i> (2004)
	VM101	KT824788	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
	VM043	KT824789	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
	CA161	AY899272	France	Callac & Guinberteau (2005)
	CA6	DQ185563	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA236	DQ185564	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	LAPAG161	DQ185565	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	ML 1	DQ182529	–	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	W3I	DQ182534	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	LAPAG387	KM657923	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	LAPAG461	KM657925	–	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. xanthosarcus</i>	Goossens5415	JF514523	D.R. of Congo	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>Agaricus</i> sp.	NTF58	JF514527	Thailand	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	CT4462	KY462379	–	Truong <i>et al.</i> (2017)
	F2715	JF727847	Martinique	Zhao <i>et al.</i> (2011)
	ZRL2012629	KM657890	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ZRLWXH3092	KM657891	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	RP32	KT951340	Canada	Zhao <i>et al.</i> (2016)
	F2767	JF727848	Martinique	Zhou <i>et al.</i> (2016)
	ADK4396	KU041658	Togo	Parra <i>et al.</i> (2018)
	JBSD127405	MF511119	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
	JBSD127407	MF511145	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
	JBSD127406	MF511134	Dom. Rep.	Parra <i>et al.</i> (2018)
<i>Agaricus</i> sect. <i>Hondenses</i>				
<i>A. hondensis</i>	RWK1938	DQ182513	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	BM-112912	KJ609498	USA	Kerrigan (2016)
	RWK 1939	DQ182514	USA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	WC915	AY484685	USA	Geml <i>et al.</i> (2004)
<i>A. freirei</i>	CA186	DQ185553	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA187	DQ185554	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA202	DQ185555	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)

	CA271	DQ185557	Spain	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	LAPAG 189	DQ182512	Portugal	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. phaeolepidotus</i>	CA217	DQ185552	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	IRAN14419	KT824790	Iran	Mahdizadeh <i>et al.</i> (2016)
	CA213	DQ185550	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
	CA214	DQ185551	France	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>Agaricus</i> sect. <i>Agaricus</i>				
<i>A. campestris</i>	LAPAG370	KM657927	Spain	Zhou <i>et al.</i> (2016)

Species-specific ITS markers

Comparison for species-specific ITS markers was made between the 167 nrITS sequences used in this study, focusing on the species described here and the closest related taxa. The final alignment, after trimmed, was analyzed manually using MEGA7 (Kumar *et al.* 2016). The position of a unique nucleotide in the nrITS sequences of a species was verified, described and indicated as [xxxx(X)xxxx@position], where the peculiarity of sequence was indicated in uppercase, and the flanking bases were indicated in lowercase. The notation [-/x] means that it may be a nucleotide or a gap. The position of a nucleotide inner in our alignment was cited, and the nature of species-specific ITS marker peculiarity, as well as when it is an insertion or deletion, as previously conducted by Kerrigan *et al.* (2005) and Thongklang *et al.* (2014). The final alignment is deposited in Treebase (n° 23330).

Results and Discussion

Phylogeny

The final nrITS alignment had a total of 692 characters. The best model of nucleotide substitution estimated for each ITS partition in the dataset was TrN+I+G to ITS1, JC to 5.8S, and TVM+G to ITS2. Both ML and BI trees are identical regarding the topology and position of the main clades. However, the ML tree was chosen to illustrate the general phylogeny (Figure 1) because it has shown a better resolution in some species clades.

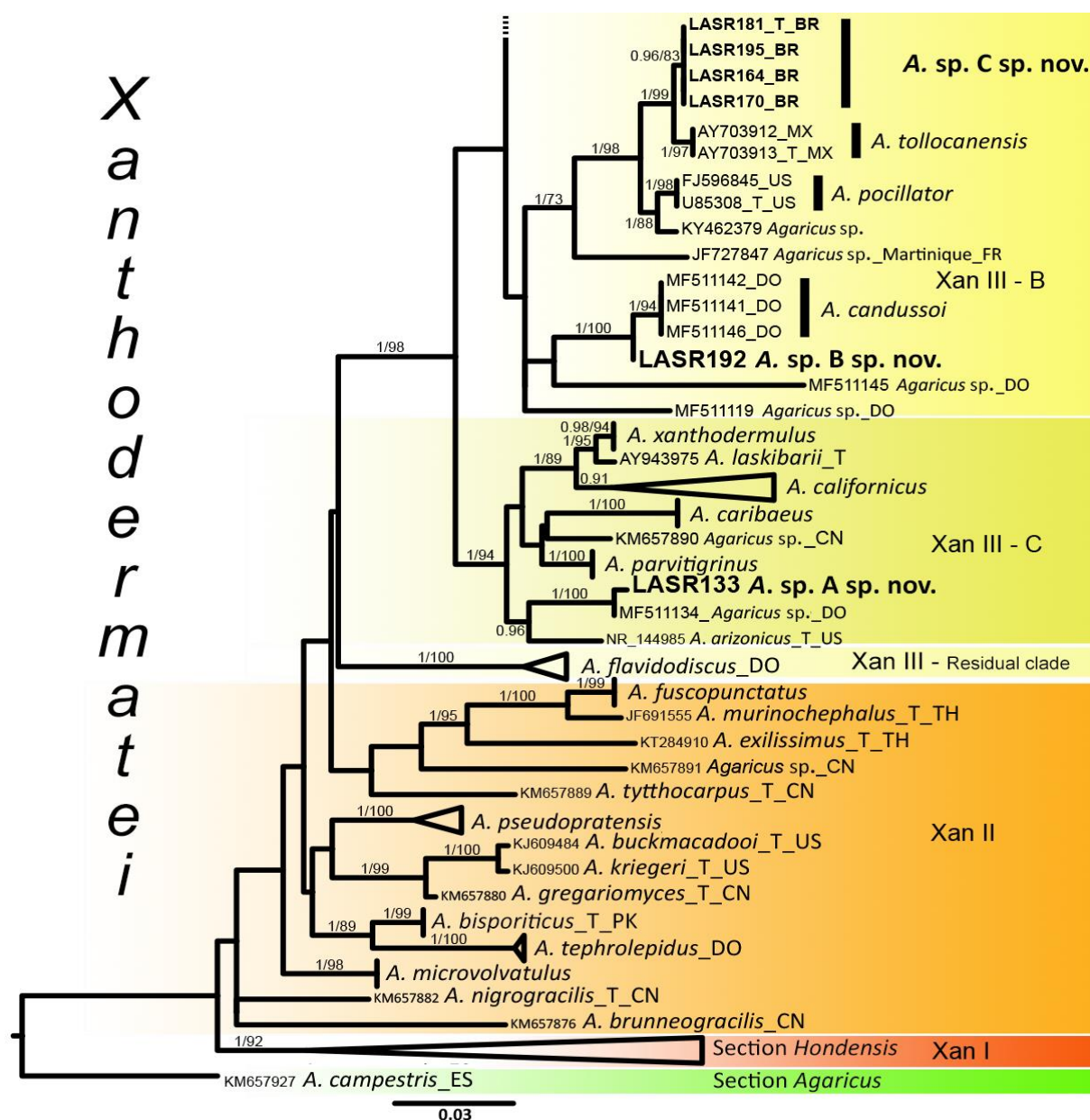


FIGURE 1. Maximum Likelihood tree based on nrITS sequences of *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* focused on *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*. *Agaricus campestris* (KM657927) was chosen as outgroup. Posterior Probability (PP > 0.90) and Bootstrap Support (BS > 70) values are given above the node branches (PP/BS). Names in **bold** represent sequences generated in this work. T = type collection. The last two letters in the name of each terminal represent the origin country of the specimen (abbreviation according to the International Organization of Standardization – ISO).

Xanthoderma

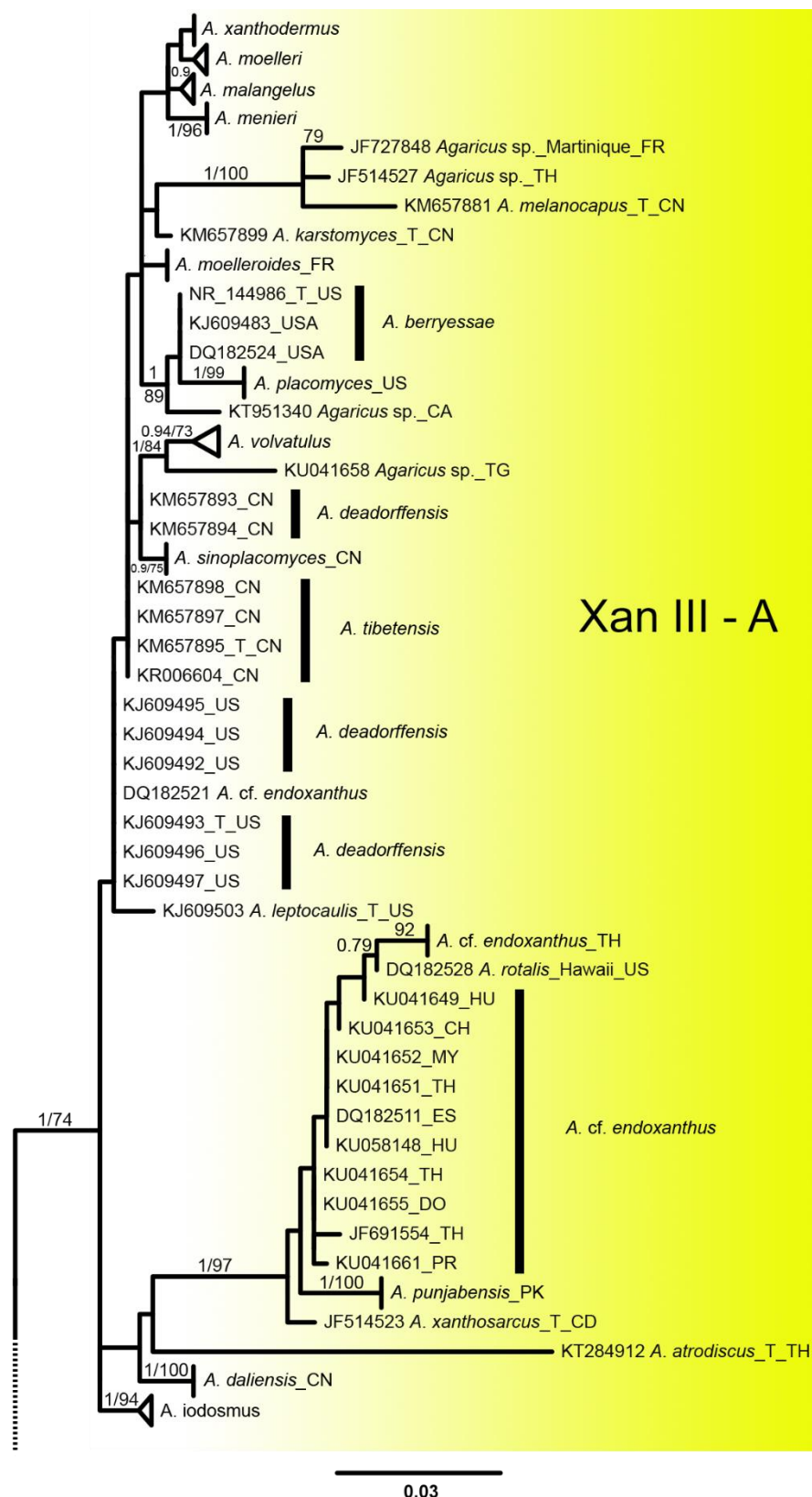


FIGURE 1. Continued.

In both ML and BI analyses, *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* appears as monophyletic but poor-supported (0.53/23 PP/BS) and linked to a well-supported clade (1/92 PP/BS) representing *Agaricus* sect. *Hondensis* (Zhao *et al.* 2016), which was formerly named as Xan I by Thongklang *et al.* (2014). In our analyses (Fig. 1), the taxa representing Xan II (Thongklang *et al.* 2014) appeared as a paraphyletic group. The similar topology was recovered in the nrITS-only analyses of Zhao *et al.* (2016), Zhou *et al.* (2016), and Parra *et al.* (2018). Different results were showed by Thongklang *et al.* (2014) that recovered Xan II as monophyletic even in the nrITS-only analyses, although without support, and also in the combined analyses of Zhao *et al.* (2016), Zhou *et al.* (2016), and Parra *et al.* (2018). The clade Xan III (Fig. 1) as proposed by Thongklang *et al.* (2014) appears monophyletic and well-supported (1/98 PP/BS). The recently described *A. flavidodiscus* L.A. Parra, Angelini & Callac (Parra *et al.* 2018:262) is included within Xan III as an external branch. Parra *et al.* (2018) have also showed the basal position of *A. flavidodiscus*. In their solely-nrITS phylogeny, the Xan III, including *A. flavidodiscus*, is not a well-supported clade, as shown in our analyses (Fig. 1). Except for the *A. flavidodiscus* clade, which here we named as Xan III-residual clade (Fig. 1), Xan III is subdivided into three subclades, named here as Xan III-A, Xan III-B, and Xan III-C (Fig. 1). These three main subclades within Xan III were also previously recovered in the analyses of Thongklang *et al.* (2014), Zhao *et al.* (2016), Zhou *et al.* (2016), and Parra *et al.* (2018). The internal relationship within Xan III that we recovered (Fig. 1) is similar to the recent nrITS analysis of Parra *et al.* (2018) with *A. flavidodiscus* as a basal clade, and Xan III-A linked to Xan III-B, with Xan III-C external to both former clades.

The Brazilian sequences of the new species proposed here are all positioned within Xan III, with *A. sp. A* and *A. sp. C* in Xan III-B, and *A. sp. B* in Xan III-C (Fig. 1). *Agaricus sp. A* is closest to *A. candussoi* L.A. Parra, Angelini & Callac (Parra *et al.* 2018:255) from the Dominican Republic; while *A. sp. C* is related to *A. tollocanensis* from Mexico and *A. pocillator* Murrill (1941:446) from the USA (Florida); and *A. sp. A* is related to *A. arizonicus* Kerrigan (2016:138) from the USA (Arizona) and an unidentified specimen from the Dominican Republic (Fig. 1).

Although our phylogeny is only based on nrITS data, we showed for the first time a complete phylogeny of the *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* with sequences of species not yet sampled in previous analyses, including 153 sequences of at least 48 species and highlighting the sequences from Brazilian specimens studied here.

Taxonomy

***Agaricus* sp. A** Ramos, L.A.S. & Menolli, *sp. nov.* (Fig. 2, 3)

MB 827956

Diagnosis:—Macroscopically similar to *Agaricus candussoi* by having a placomycetoid habit, beige to gray pileus surface, and scales organized at the center of the pileus as a disc. Differing in the yellow discoloration when bruised or with maturity, in the presence of the annulus with a distinct surface, and by possessing dimorphic basidiospores and basidia.

Holotype:—BRAZIL. São Paulo: Santo André, Vila Humaitá, Manoel Ferraz St 272, 24 March 2016, L.A.S. Ramos & T.Y.M. Prates LASR192 (Holotype, SP498386).

Description:—*Pileus* 50–100 mm diam., plane-convex, slightly depressed at center, surface squamose, with scales constituted by clustered fibrils, somewhat cracked, margin slightly eroded, surface beige (A₉₀M₄₀C₁₀), discoloring in yellow in some parts, brown center (A₉₀M₈₀C₆₀) due to the grouped scales. *Pileus context* 3–4 mm thick, white. *Lamellae* free, crowded, with lamellulae of different lengths, initially white (A₀₀M₀₀C₀₀), then brown-coffee (A₉₀M₉₀C₉₀). *Stipe* 70–110 × 10–13 mm, central, cylindrical, slightly sinuous, slightly bulbous at base, discoloring in yellow in the lower parts, smooth above annulus, fibrillose below annulus, fibrils brown (A₇₀M₈₀C₆₀). *Annulus* 7–16 mm broad, double, evanescent, loosely surrounding the stipe, supramedian, upper side smooth, lower side smooth but with a bracelet, white (A₀₀M₀₀C₀₀). *Basidiospores* dimorphic, (a) [43/2/1] 6.2–6.5(–7.5) × 3.7–5.0 μm [Q = 1.25–1.83, Q_m = 1.48; L_m = 6.3 μm; W_m = 4.3 μm], broadly ellipsoid to elongated, some asymmetric, brown-coffee in KOH, smooth, thick-walled, apiculus conspicuous, germ pore absent; (b) [41/2/1] 7.5–12.5 × 5.0–5.5(–6.5) μm, [Q = 1.40–2.5 μm, Q_m = 1.93; L_m = 10 μm; W_m = 5.2 μm], broadly ellipsoid to cylindric, some deformed, hyaline in KOH, most of them still attached to the monosporic basidia, smooth, thick-walled, apiculus conspicuous, germ pore absent, scarce. *Basidia* dimorphic, (a) 12.5–21 × 5.0–15.0(18.8) μm, cylindrical to clavate, hyaline or with light brown content, 4-spored; (b) 18.7–37 × 6.2–15.0 μm, clavate, hyaline or with light brown content, monosporic. *Pleurocystidia* absent. *Cheilocystidia* 13.7–27 × 8.8–20 μm, clavate to pyriform or turbinate, thick-walled, hyaline. *Lamellar edges* apparently sterile. *Lamellar trama* regular, composed of thin-walled hyphae, slightly constricted at the septa, hyaline to slightly cinnamon, 3.8–17.5 μm diam. *Subhymenium* cellular, composed of 3–4 layers of globose cells, hyaline, 4.0–7.0 μm diam. *Suprapellis* as an enterocutis of thin to thick-walled hyphae, constricted at the septa, hyaline or filled with amber-brown content, 5.0–11.5 μm diam. *Subpellis* composed of parallel, cylindrical to inflated hyphae, thin-walled,

constricted at the septa, crowded, hyaline, 6.5–18.8 μm diam. *Stipitipellis* composed of parallel, cylindrical hyphae, thin-walled, hyaline, 6.3–18.8 μm diam. *Odor* not recorded. *Macrochemical reactions* KOH positive, Schäffer's reaction negative.

Habit and habitat:—Scattered, terrestrial, growing near boundaries of compact soil area.

Material examined:—BRAZIL. São Paulo: Santo André, Vila Humaitá, Manoel Ferraz St 272, 24 March 2016, L.A.S. Ramos & T.Y.M. Prates LASR192 (Holotype, SP498386).

Remarks:—*Agaricus* sp. A is characterized by dimorphic basidia and basidiospores. The (a) type basidiospores are coffee-brown and associated to the 4-spored basidia. The (b) type basidiospores are usually hyaline and associated to the monosporic basidia. Monosporic basidia are a rare condition in *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* and there are few known species with this character in *Agaricus*. We would prefer to have additional collections of *A.* sp. A in order to access a broader variation within the morphological characters; however, considering that the presence of monosporic basidia and dimorphic basidiospores are an unusual condition in *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*, we prefer to propose a new species based on the sole collection to support further systematics and phylogenetic studies in *Agaricus*.

Parra *et al.* (2018) recently described *A. candussoi*, a new species of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* that is phylogenetically related to *A.* sp. A and was proposed based on three specimens from the Dominican Republic. In our phylogeny, *A.* sp. A, *A. candussoi* and another sequence from an unidentified collection from the Dominican Republic (MF511145) clustered in the subclade Xan III-B (Fig. 1).

Macromorphologically, the basidiomata of *A.* sp. A are slightly bigger than those of *A. candussoi* (50–70 mm diam.), as described by Parra *et al.* (2018). The stipe of *A.* sp. A representatives are also slightly bigger than *A. candussoi*, 60–80(–90) $\times$ 5–8 mm (Parra *et al.* 2018). Different from *A.* sp. A, the pileus surface of *A. candussoi* is composed of minute punctate scales, which are scarcely distributed (Parra *et al.* 2018). The stipe surface and the annulus are also different. *Agaricus* sp. A has a stipe with scales above the annulus region, and the annulus is smooth in both sides, while *A. candussoi* has a stipe that is smooth above and below the annulus region, and the annulus is slightly striate and fibrillose above and cottonose below (Parra *et al.* 2018). Finally, the evident and characteristic discoloring yellow in the pileus and stipe of *A.* sp. A differs from *A. candussoi*. Parra *et al.* (2018) described that in *A. candussoi* the discoloring yellow is absent or eventually slightly reactive and restricted to the stipe base. The authors emphasized that the absence or the subtle yellow discoloration in *A. candussoi* could be considered a characteristic of the species. Also, Parra *et al.* (2018) reported *A.*

candusoi growing on moist lowland broadleaf forests of Puerto Plata, in the Dominican Republic, while *A. sp. A* grows on bare soil, in an open area.

Microscopically, the basidia of *A. candusoi* are not dimorphic and they are more similar in size to the 4-spored basidia of *A. sp. A* (Table 2). Regarding the basidiospores size, the measurements of *A. candusoi* are minor than both basidiospores types of *A. sp. A* (Table 2).

TABLE 2. Comparison of basidia and basidiospores size between *A. sp. A* and *A. candusoi*.

	<i>A. sp. A</i>	<i>A. candusoi</i> (Parra <i>et al.</i> 2008)
4-spored basidia	12.5–21 × 5.0–15.0(–18.8) µm	15–20 × 5–8 µm
Basidiospores	6.2–7.5 × 3.7–5.0 µm	4.12–4.63–5.17 × 2.80–3.07–3.40 µm
Q(Q _m)	1.25–1.83(1.48)	1.37–1.72(1.51)
1-spored basidia	18.7–37 × 6.2–15.0 µm	
Basidiospores	7.5–12.5 × 5.0–6.5 µm	
Q(Q _m)	1.40–2.5(1.93)	

Sequences (nrITS) of *A. sp. A* and *A. candusoi* are 99.4% similar, which represents three different base pairs. The nucleotide differences between both species are represented by a Cytosine in *A. sp. A* and a Thymine in *A. candusoi* at the position 44; a Cytosine in *A. sp. A* and a Thymine in *A. candusoi* at the position 247; and a Thymine in *A. sp. A* and a Cytosine in *A. candusoi*. The position 247 is also a species-specific ITS marker in both species and the sequences of all other species have a gap in the final alignment at this position: *A. sp. A* [tata(C)cyta@247] and *A. candusoi* [tata(T)cyta@247].

Few species of monosporic *Agaricus* could be compared to *A. sp. A*, including *A. junquitensis* Heinem. (Heinemann 1962a:157), *A. singeri* Heinem. (Heinemann 1962b:2), *A. oligocystis* Heinem. (Heinemann 1974:364), and *A. bisporus*. *Agaricus junquitensis* from Venezuela was described with monosporic basidia, although 2- and 3-spored basidia are as numerous as the monosporic (Heinemann 1962a). Heinemann (1962a) also supposed that the monosporic basidia could be pleurocystidia. In our case, we found basidiospores attached to the monosporic basidia (Fig. 2). Additionally, *A. junquitensis* has smaller pileus (5–45 mm diam.) and stipe (60–80 × 4–6 mm), different pileus color (pinkish), larger cheilocystidia [23–43 × 11–17(–22) µm], and non-dimorphic and shorter basidiospores 5.7–6.3 × 3.3–3.9 µm (Heinemann 1962a) than *A. sp. A*. *Agaricus junquitensis* was classified in *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* sect. *Sanguinolenti* Jul. Schäff & F.H. Möller ex L.A. Parra (Parra 2008:378) by Heinemann (1962b).

Although *A. singeri* Heinem. has not been described with monosporic basidia in the protologue, Heinemann (1962b) illustrated monosporic basidia under the figures of *A. singeri*. However, *A. singeri* has much smaller pileus (23–27 mm diam.) and stipe (23–38 × 3–6 mm)

than *A. sp. A*, and has also a different pileus color (brownish to purplish red) and absence of cheilocystidia (Heinemann 1962b). According to Heinemann (1962b), it should probably be placed in *Agaricus* subg. *Minores* sect. *Minores* (Fr.) Heinem. (Fries 1898:238), or most likely in *Agaricus* subg. *Minoriopsis* Linda J. Chen, L.A. Parra, Callac, Angelini & Raspé (Chen *et al.* 2017:180), considering the current infrageneric classification.

Agaricus oligocystis from New Zealand was described with monosporic basidia, even though the 2-3-4-spored basidia are also present (Heinemann 1974). We did not find 2-3-spored basidia in *A. sp. A*. Furthermore, *A. oligocystis* differs from *A. sp. A* because the first has a brownish red, ocher or brownish pink pileus that is smaller (15–40 mm diam.), shorter stipe (50–60 × 3–4 mm), shorter basidiospores 4.7–5.2 × 3.1–3.4 µm, and absence of cheilocystidia (Heinemann 1974). *Agaricus olygocystis singer* was classified in *Agaricus* subg. *Minores* sect. *Laeticolores* Heinem. (Heinemann 1974:366), and in the current classification, it belongs most likely to *Agaricus* subg. *Minoriopsis*.

Finally, *A. bisporus* described from Denmark is also known by the presence of monosporic basidia (Galli 2004, Parra 2008). However, molecular studies (Challen, 2003; Didukh, 2005; Kerrigan, 2008; Zhao *et al.* 2016) have emphasized its position in *Agaricus* subg. *Pseudochitonina* sect. *Bivelaes* (Kauffman) L.A. Parra (2008:157).

Agaricus sp. B Ramos, L.A.S. & Menolli, *sp. nov.* (Fig. 2, 4)

MB 827958

Diagnosis:—Similar to *Agaricus arizonicus* by the dark fibrils forming a disc at the center of the pileus and that gradually forms squamulose to granulose clusters, spreading out towards the margin. Differing by the radially cracked pattern over the pileus surface, in the pale reddish pileus surface, and in the presence of basidiospores usually bigger than most of the other *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* species.

Holotype:—BRAZIL. São Paulo: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, on the grass in front of the parking, beside the ‘Núcleo de Pesquisa em Micologia’ building, 07 December 2015, L.A.S. Ramos LASR133 (Holotype, SP498387).

Description:—*Pileus* 50–130 mm diam., circular in top view, at first globose in side view, then expanding to convex with slightly plane center and forming a wide flat bump, or plane with a depressed center, finally plane, surface radially cracked, covered by clustered fibrils forming squamules with a granulose aspect, fibrils concentrate at center, spreading out towards the margin, margin appendiculate, eroded, pileus surface pale reddish brown (A₃₀M₄₀C₁₀), squamules dark grayish brown (A₉₉M₉₉C₉₀). *Pileus context* 3–10 mm thick, white. *Lamellae* free, crowded, unequal, with lamellulae with different sizes, margin even, initially white

(A₀₀M₀₀C₀₀), then pinkish (N₁₀A₂₀M₃₀), after grayish pink (A₂₀M₂₀C₂₀), and finally reddish brown (A₉₀M₉₉C₉₀) when mature. *Stipe* 50–110 × 6–16 mm, central, sometimes slightly eccentric, cylindrical, sometimes sinuous or tapering below the annulus, abruptly bulbous at base, surface smooth, initially white at the apex (A₀₀M₀₀C₀₀), then watery whitish pink (N₀₀M₁₀C₀₀) to brownish purple (A₄₀M₆₀C₆₀), usually reddish beige (N₃₀A₂₀M₅₀) or watery reddish brown (N₇₀A₈₀M₉₀), fistulous. *Annulus* 3–16 mm broad, double, subperonate, loosely surrounding the stipe with the age, evanescent, supramedian, superous, upper side smooth, lower side with a cogwheel-like structure composing a second layer, white upper side (A₀₀M₀₀C₀₀), yellowish beige lower side (N₀₀A₁₀M₀₀). *Basidiospores* [160/8/3] (6.0–)8.0 × (4.0–)6.0 µm [*Q* = 1.30–1.55, *Q_m* = 1.40; *L_m* = 7.8 µm; *W_m* = 5.2 µm], ovoid or ellipsoid, coffee-brown with greenish to reddish shine shades in KOH, smooth, thick-walled, apiculus conspicuous, germ pore absent. *Basidia* (12.0–)14.0–19.0(–30) × 8.0(–10.0) µm, clavate, with slightly amber content in Congo red, abundant, 4-spored. *Cystidia* not seen. *Lamellar edges* fertile. *Lamellar trama* regular to subregular, composed of thin-walled hyphae, inflated, constricted in septa, hyaline, 6.0–14.0(–24) µm diam., oleiferous hyphae are present, sinuous, quite deformed, 3.8–7.5 µm diam. *Subhymenium* cellular, composed of 1–3 layers of globose, hyaline cells. *Suprapellis* as a cutis, composed of 7–9 layers of parallel hyphae, hyphae horizontally appressed, thick-walled, constricted in septa, sometimes bifurcating, hyaline, 8–20 µm diam., some slender, filled with coffee-brown content, 6.0–8.0 µm diam. *Subpellis* close to suprapellis composed of parallel, cylindrical hyphae, constricted in septa; otherwise becoming gradually interwoven towards the hymenium, cylindrical to doliform, loosely disposed and forming a spongy context; close to hymenium composed of slightly subglobose hyphae, crowded, thin-walled, hyaline, 8.0–24(–36) µm diam., oleiferous hyphae, deformed, sinuous, scarce, 4.0–8.0 µm diam. *Stipitipellis* composed of parallel hyphae, cylindrical, thin to thick-walled, hyaline, 6.0–18 µm diam., oleiferous hyphae scarce. *Odor* not recorded. *Macrochemical reactions* KOH positive, Schäffer's reaction negative.

Habit and habitat:—Scattered, on soil uncovered by vegetation, in an open area.

Materials examined:—BRAZIL. São Paulo: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, on grass in front of parking, beside the building of the 'Núcleo de Pesquisa em Micologia', 07 December 2015, L.A.S. Ramos LASR133 (Holotype, SP498387); LASR134 (SP498388); Santo André, Vila Humaitá, Manoel Ferraz St. 272, close to hen house, 25 January 2017, T.Y.M. Prates TYMP40 (SP498389).

Remarks:—*Agaricus* sp. B is characterized by pileus surface radially cracked, covered by fibrils forming squamulose to granulose clusters, and larger basidiospores, which are bigger

than those usually described for most of other species of *Agaricus* sect. *Xanthodermatei* (Kerrigan 2016).

Macroscopically, *A. sp. B* is close to *A. arizonicus*, *A. californicus*, *A. parvitigrinus* Guinb. & Callac (Callac & Guinberteau 2005:419), *A. phaeocyclus* and *Agaricus phaeocyclus* var. *pucatrihuensis* Heinem. (1986:440) described by Heinemann (1986) from Chile. Heinemann (1986) proposed a new variety based in the bigger stature of the basidiomata comparing to the type variety. The pileus surface of *A. sp. B* is very similar to that observed in *Agaricus phaeocyclus* var. *pucatrihuensis* which is brownish, darker in the center, and with finely radial squamules from center to the half pileus and just fibrillose until the margin (Heinemann 1986). The stipe surface was described in *A. phaeocyclus* var. *pucatrihuensis* as very finely fibrillated (Heinemann 1986), which differs from *A. sp. B* that is glabrous, and the basidiospores of *A. phaeocyclus* var. *pucatrihuensis* are also shorter than those of *A. sp. B* (Table 3). The pileus surface of *A. parvitigrinus* from France is very similar to that described in *A. sp. B* regarding its fibrillose squamules (Callac & Guinberteau 2005). The stipe shape, color, and surface described in *A. parvitigrinus* also resemble *A. sp. B*, although the stipe of *A. parvitigrinus* is slightly thinner, $40\text{--}60\text{--}(100) \times 3\text{--}5$ mm (Callac & Guinberteau 2005). Differently from *A. sp. B*, Callac & Guinberteau (2005) described *A. parvitigrinus* with cheilocystidia ($11\text{--}21 \times 5\text{--}10$ μm) and slightly shorter basidiospores, which are also different in shape (Table 3).

Agaricus arizonicus and *A. californicus*, both from the Western USA (Kerrigan 2016), are also similar to *A. sp. B* with regard to the pileus surface. In both species, a dark center is well delimited as a disc, formed by dark squamules close together with a white to beige background. However, the pileus of *A. californicus* was described as commonly whitish, darkening to silvery gray in sunny sites, often becoming lustrous (Kerrigan 2016), and it differs from *A. sp. B* by the pale reddish brown shades in the latter. The pileus center in both *A. californicus* and *A. sp. B* present squamules usually dark brown, but in *A. californicus* those gray, whitish, or rarely buff were mentioned too (Kerrigan 2016), as well as, glabrous or with appressed-fibrillose (Kerrigan 2016). The author also describes *A. californicus* as glabrous, with appressed-fibrillose, or rimose to lacinate pileus surface, with white background (Kerrigan 2016). Microscopically, the basidiospores in *A. sp. B* are similar to the extreme values of *A. californicus*, but bigger in the average and Q-value (Table 3), and differently, *A. californicus* is described with cheilocystidia, $12\text{--}18 \times 6\text{--}12$ μm (Kerrigan 2016).

The pileus surface in *A. arizonicus* was described predominantly pale beige, off-white, otherwise brown due to appressed-squamulose (Kerrigan 2016), that is similar in *A. sp. B*, as well as the presence of a disc semi-entire, with background off-white (Kerrigan 2016).

According to Kerrigan (2016), the stipe of *A. arizonicus* is shorter (60 mm long) than *A. sp. B*, and the basidiospores shorter and slender (Table 3).

TABLE 3. Comparison of the basidiospore size and shape between *A. sp. B* and related taxa based on Kerrigan (2016) for *A. arizonicus* and *A. californicus*, Callac & Guinberteau (2005) for *A. parvitigrinus*, and Heinemann (1986) for *A. phaeocyclus* var. *pucatrihuensis**.

Species	Length (µm)	Width (µm)	Average (µm)	Q _m	Shape
<i>A. arizonicus</i>	(4.8–)5.4–5.6(–6.0)	(3.4–)3.7–3.9(–4.3)	5.5 × 3.8	1.45	ellipsoid
<i>A. californicus</i>	(4.5–4.9)5.4–6.0(–6.4–9.0)	(3.8–)4.1–4.6(–4.9–6.0)	5.8 × 4.3	1.35	ellipsoid
<i>A. parvitigrinus</i>	(4.6–)5.5–6.7(–7.4)	3.4–4.4(–5.2)	6.0 × 3.8	1.61	oblong
<i>A. sp. B</i>	(6.0–)8.0	(4.0–)6.0	7.8 × 5.2	1.50	ellipsoid
<i>A. phaeocyclus</i> *	4.2–5.1(–5.3)	3.1–3.6	4.6 × 3.3	1.40	ellipsoid

In our ITS analyses, *A. sp. B* and a specimen from Dominican Republic (MF511134) were grouped into a basal branch within the Xan III-C subclade (Fig. 1) and forming a sister clade to *A. arizonicus*. The sequences of *A. californicus* and *A. parvitigrinus* are also positioned in the Xan III-C subclade, although *A. arizonicus* is phylogenetically closer to *A. sp. B* than the former two species. Unfortunately, there is no ITS sequence available for *A. phaeocyclus* and we have only one sequence for *A. sp. B* and *A. arizonicus*. Sequences of *A. arizonicus* and *A. sp. B* present 2.4% of sequence divergence, which represents ten base pairs different. Comparing the ITS sequences of *A. sp. B*, *A. arizonicus* and the other all sequences sampled here, we identified that *A. sp. B* and *Agaricus* sp. (MF511134) are 99.4% equal, differing in four base pairs. However, in all these four base pairs present in *Agaricus* sp. (MF511134) there is an ambiguous character which can be the same base pair than in *A. sp. B* or not. Furthermore, *A. sp. B* and *Agaricus* sp. (MF511134) shares one species-specific ITS markers as peculiarity: a Thymine at the position 203 [tgrc(T)rygg@203]. We believe that *A. sp. B* and *Agaricus* sp. (MF511134) are the same species. We did not identify any species-specific ITS marker for *A. arizonicus* in this alignment.

***Agaricus* sp. C** Ramos, L.A.S. & Menolli, *sp. nov.* (Figs 2, 5)

MB 827957

Diagnosis:—Similar to *Agaricus tollocanensis* by possessing white to pale-whitish pileus background, and medium-size basidiomata, differing in the placomycetoid habit with usually slender stipe, in a discoloring red color when wet or with age, and by the presence of fibrils in the pileus that never form squammules.

Holotype:—BRAZIL. São Paulo: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, close to the auditorium of the “Instituto de Botânica”, 28 November 2016, L.A.S. Ramos LASR181 (Holotype, SP498391).

Description:—*Pileus* 23–79 mm diam., at first globose, expanding to parabolic, usually truncate-convex, sometimes convex, then plane, frequently the center remains slightly plane or forming a wide protuberance, finally uplifted; in dry weather conditions: surface sometimes radially cracked and revealing the white flesh, covered with delicate appressed fibrils forming clusters or spreading out towards margin, margin forming small lobes when the pileus is still closed, then regular to slightly uplifted, initially white ($A_{00}M_{00}C_{00}$), slightly pearly-bright ($A_{10}M_{00}C_{00}$), sometimes opaque, then with shades of yellowish beige ($N_{00}A_{10}M_{00}$), with or without redness shades, fibrils grayish brown ($N_{90}A_{00}M_{00}$) or dark-brown ($A_{99}M_{00}C_{99}$); in wet conditions: surface striate, margin frequently eroded, initially light rose ($N_{00}A_{00}M_{20}$) to light salmon ($N_{00}A_{30}M_{30}$), then reddish brown ($A_{40}M_{80}C_{20}$) at margin or overall, fibrils frequently missed when senescent and discoloring in dark-brown mainly at margin. *Pileus context* 2–8 mm thick, white-reddish. *Lamellae* free, initially white ($A_{00}M_{00}C_{00}$), then pinkish ($N_{10}A_{10}M_{50}$), after yellowish-brown ($N_{40}A_{40}M_{40}$) and finally cinnamon-brown ($A_{80}M_{80}C_{60}$) when mature, crowded, unequal, with lamellulae with different lengths, margin even. *Stipe* 40–96 × 5–10 mm, central, cylindrical, sometimes sinuous, abruptly bulbous at base, smooth to slightly fibrillose, white ($A_{00}M_{00}C_{00}$) to yellowish beige ($A_{40}M_{10}C_{00}$), discoloring in yellow, or red to brown in age or when touched, fistulous, with rhizomorph and white mycelia at base. *Annulus* 2–12 mm broad., double, evanescent, initially pendant and membranous, soon subperonate, loosely surrounding the stipe, supramedian, upper side smooth, lower side with a narrow ring-like structure composed of a second layer, white ($A_{00}M_{00}C_{00}$) to yellowish beige ($N_{00}A_{10}M_{00}$). *Basidiospores* [300/15/8] 5.0–6.3(–8.0) × 4.0–5.0(–6.3) μm [$Q = 1.0\text{--}1.5$, $Q_m = 1.43$; $L_m = 6 \mu\text{m}$; $W_m = 4.2 \mu\text{m}$], globose to ellipsoid, some are bigger, elongated, deformed, coffee-brown in KOH, smooth, thick-walled, apiculus conspicuous, germ pore absent. *Basidia* 12.3–20(–30) × 6.0–8.0 μm , clavate, sometimes bulb-like or cylindrical and prominent with a dilation in the median region, content slightly amber in Congo red, scarce to abundant, 4-spored. *Pleurocystidia* absent. *Cheilocystidia* 14–30(–41) × 8.0–10.0(–16.0) μm , clavate to pyriform, thin-walled, hyaline. *Lamellar edges* fertile. *Lamellar trama* regular to subregular, composed of thin-walled hyphae, 4.0–14.0(–20) μm diam., inflated and constricted at the septa, hyaline, interspersed with oleiferous, branched, sinuous to quite deformed hyphae, 4.0–10.0 μm diam. *Subhymenium* cellular, composed of 1–3 layers of globose, hyaline cells, 4.0–6.0 μm diam. *Suprapellis* as a cutis, composed of parallel and horizontally appressed thin to thick-walled hyphae, 4.0–10.0 μm diam., constricted at the septa, sometimes bifurcated, hyaline or filled with an amber-brown to coffee-brown content. *Subpellis* close to suprapellis composed of parallel, cylindrical and thin to thick-walled hyphae, constricted at the septa, frequently bifurcated, some with a small branch; otherwise with a bulb near the septa and towards the

hymenium, gradually becoming interwoven, loosely and forming a spongy context; close to hymenium, composed of doliform to subglobose hyphae, thin-walled, hyaline, 6.0–19.5(–24) μm diam., oleiferous hyphae cylindrical to deformed, branched, sinuous, interwoven, 4.0–7.8(–10.0) μm . *Stipitipellis* composed of parallel, cylindrical, hyaline and thin to thick-walled hyphae, 4.0–16.0 μm diam., interspersed with oleiferous hyphae that are cylindrical to deformed, rarely branched and regular to quite sinuous, otherwise diagonally disposed between the main hyphae, 5.6–16.0 μm diam. *Odor* strongly phenolic, resembling ink pen or chlorine. *Macrochemical reactions* KOH positive, Schäffer's reaction negative.

Habit and habitat:—Solitary, scattered or gregarious, terrestrial, growing on flowerbed protected from rain or direct water, or among grass directly exposed to the sun or covered by trees, otherwise surrounding roots of *Philodendrum* sp., among coniferous decaying leaves.

Materials examined:—BRAZIL. São Paulo: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, flowerbed near accommodation building, 28 November 2016, L.A.S. Ramos & M.P. Drewinski LASR164 (SP467360); close to the auditorium, 28 November 2016, L.A.S. Ramos LASR165 (SP467361); on the garden, near accommodation building, 28 November 2016, L.A.S. Ramos & M.P. Drewinski LASR168 (SP467359); 12 December 2016, L.A.S. Ramos & M.P. Drewinski LASR170 (SP498390); 27 January 2017, L.A.S. Ramos LASR180 (SP467363); L.A.S. Ramos LASR181 (Holotype, SP498391); 29 January 2017, L.A.S. Ramos LASR183 (SP467362); Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia, 19 April 2017, L.A.S. Ramos LASR195 (SP498392).

Remarks: *Agaricus* sp. C is characterized macroscopically by the stature usually placomycetoid, with small basidiomata and stipe usually slender. The presence of red tones on the surface of the pileus and stipe, mainly when wet, is also characteristic for the species. The strong phenolic or chlorine odor, the light yellow discoloration when bruising, and the KOH positive reaction are important chemical and organoleptic features present *A.* sp. C that support its placement in *Agaricus* sect. *Xanthodermatei*.

Agaricus tollocanensis, described from Mexico (Callac & Mata 2005), is morphologically and phylogenetically (Fig. 1) close to *A.* sp. C, despite the robustness and the campestroid habit. According to descriptions of Callac & Mata (2005) and Kerrigan (2016), *A. tollocanensis* differs from *A.* sp. C because the first has slightly shorter, thicker (40–80 $\times$ 10–15 mm), and glabrous stipe; a persistent instead of an evanescent annulus; and slightly shorter basidiospores [(4.8–)5.1–6.5(–7.0) $\times$ 3.2–4.9 μm]. The pileus color of *A. tollocanensis* was described as white with shades of yellow, covered by grayish fibrils, becoming sepia to brown (Callac & Mata 2005, Kerrigan 2016), which fits *A.* sp. C color. However, it is evident the

reddish tones in the pileus surface of *A. sp. C*, which are intensified with the age, when injured, or mainly when the pileus is moist. Finally, *A. tollocanensis* was described with pileus covered by appressed-fibrillose squamules, such as we also observed in *A. sp. C*, but in the latter, the squamules never became pronounced, even in the maturity, as described to *A. tollocanensis* (Calla & Mata 2005, Kerrigan 2016).

Agaricus sp. C also resembles *A. placomyces*, described from the USA (Peck, 1878), mainly by the pileus color and the semi-rimose surface in dry conditions (Peck 1878, Freeman 1979, Heinemann 1986, 1990, Kerrigan 2016). *Agaricus placomyces* (Kerrigan 2016) has larger pileus (50–130 mm), longer stipe (80–150 × 4–15 mm), slightly shorter basidiospores [(4.5–)5.1–5.8(–6.6) × (3.0–)3.4–3.8(–4.0)], and shorter cheilocystidia (11–19 × 8.5–12 µm) than *A. sp. C*. In our ML/BI analyses, and also in the previously conducted by Thongklang *et al.* (2014) and Zhou *et al.* (2016), *A. placomyces* is not phylogenetically close to *A. sp. C* because it is positioned next *A. xanthodermus* in subclade Xan III-A (figure 1), where we do not have any sequences sampled from Brazil.

Historically, several species have been confused with *A. placomyces* (Kerrigan 2016). Heinemann (1990) cited that *A. placomyces* is largely known by North American mycologists and that many different varieties of *A. placomyces* were proposed, although most of these varieties actually should be new species. According to Kerrigan (2016), it is difficult to distinguish *A. approximans* Peck (Peck 1909:33), *A. kriegei* Kerrigan (Kerrigan 2016:170), *A. leptocaulis* Kerrigan (Kerrigan 2016:156), *A. placomyces*, and *A. pocillator*. Among these species, *A. pocillator* is morphologically close to *A. sp. C*. However, *A. pocillator*, described from the USA, Florida (Murrill 1941), differs by the larger pileus (70–100 mm diam.) and slightly shorter basidiospores, 4.0–5.0 × 3.0 µm (Murrill 1941, Freeman 1979, Kerrigan 2016). The main similar characters shared by *A. pocillator* and *A. sp. C* are regarding the cracked and rimose-striate pileus surface in dry conditions, and the white background frequently covered by fibrils, which usually form a dark upper layer (Murrill 1941, Freeman 1979, Kerrigan 2016). Although *A. sp. C* has abundant dark fibrils on the pileus surface, Murrill (1941) described the presence of minute floccose scales on the protologue of *A. pocillator*, which we did not observe in *A. sp. C*. The pileus and stipe color and surface of *A. pocillator*, described as having a white and slightly fibrillose to almost glabrous stipe (Murrill 1941, Freeman 1979, Kerrigan 2016), also relate macroscopically *A. pocillator* to *A. sp. C*. In our phylogeny (Fig. 1), *A. pocillator* is positioned in the subclade Xan III-B, sister to an unidentified collection (KY462379) and linked to the clade including *A. sp. C* and *A. tollocanensis*.

The clade formed by *A. sp. C* and *A. tollocanensis* is well-supported (1/99 PP/BS) and includes four sequences of *A. sp. C* (0.96/83 PP/BS) and two sequences of *A. tollocanensis*

(1/97 PP/BS). The current analyses increment the previous phylogenies carried out by Thongklang *et al.* (2014) and Zhou *et al.* (2016), which *A. pocillator* and *A. tollocanensis* appeared always as sister taxa. Sequences of *A. sp. C* and *A. tollocanensis* are 99.2–99.4% identical that represent four base pairs different. Two Thymines in *A. sp. C* at the positions 20 [yrrr(T)gggt@20], and 629 [ggat(T)gctc@629], and a Guanine at position 219 [tcct(G)nyc/-r@219]. Besides that, there is a gap at position 124 [arry(-)rgyy] in *A. sp. C* sequences. The Thymine present at the position 20 in *A. sp. C* is shared with all other sequences used in our analyses, except those of *A. tollocanensis*, *A. leptocaulis* and a sequence from an unidentified collection from the Dominican Republic (MF511145), both of them has a Cytosine at the position 20. The Thymine present at the position 629 in *A. sp. C* is not present in *A. tollocanensis* either and is replaced by a Cytosine. The Guanine present at the position 219 in *A. sp. C*, is replaced for a gap in *A. tollocanensis* sequences. There is a deletion at the position 124 in *A. sp. C* [arry(-)rgyy@124] that is shared with most of the sequences here analyzed, except with the sequences of *A. parvitigrinus* which has an Adenine, and *A. tollocanensis*, which has a Guanine at this position. Comparing the four ITS sequences of *A. sp. C* with the two sequences of *A. tollocanensis* and all other sequences sampled in this work, it was possible to identify a Guanine at position 219 [tcct(G)nyc/-r@219] as a species-specific ITS marker in *A. sp. C*, and a Guanine at position 124 [arry(G)rgyy@124] as a species-specific ITS marker in *A. tollocanensis*.

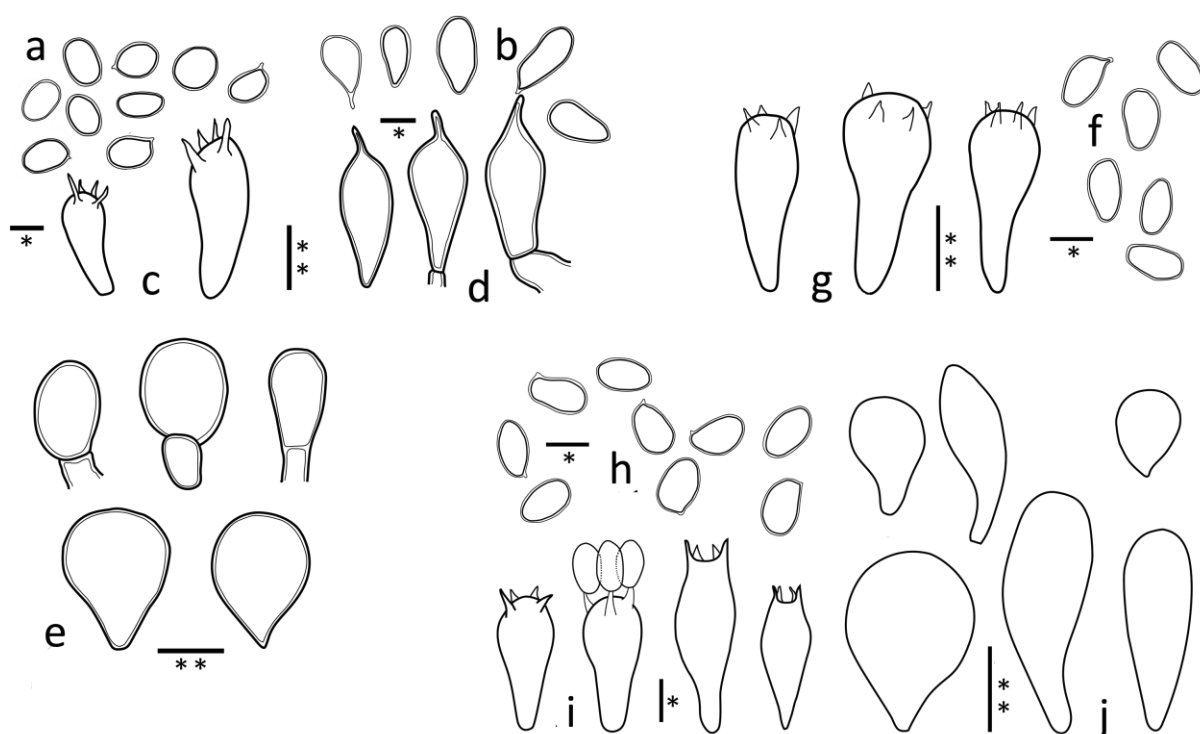


FIGURE 2. a–e. *A. sp. A* [holotype LASR192]. f–g. *A. sp. B* [holotype LASR133]. h–j. *A. sp. C* [holotype LASR181]. a, b, f, h. Basidiospores. c, d, g, i. Basidia. e, j. Cheilocystidia. Scales: * = 5 µm; ** = 10 µm. Line drawings by L.A.S. Ramos

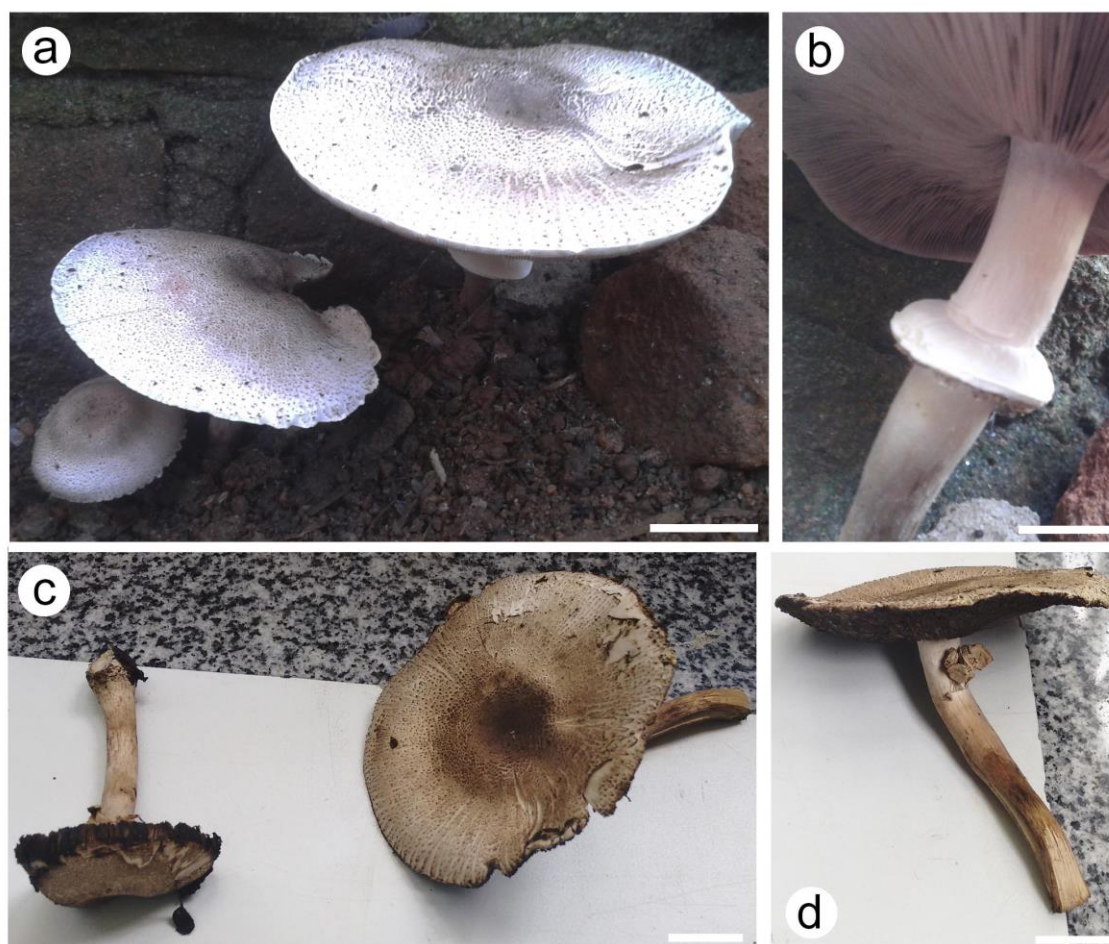


FIGURE 3. a–d: *Agaricus* sp. A [holotype, *LASR* 192]. a. Basidiomata growing on dry soil. b Detail of the annulus. c–d. Basidiomata collected three days later. Scale bars: a = 3 cm; b = 1 cm; c–d = 2 cm. Photos: a–b: Thiago Yan Machado Prates; c–d: L.A.S. Ramos.

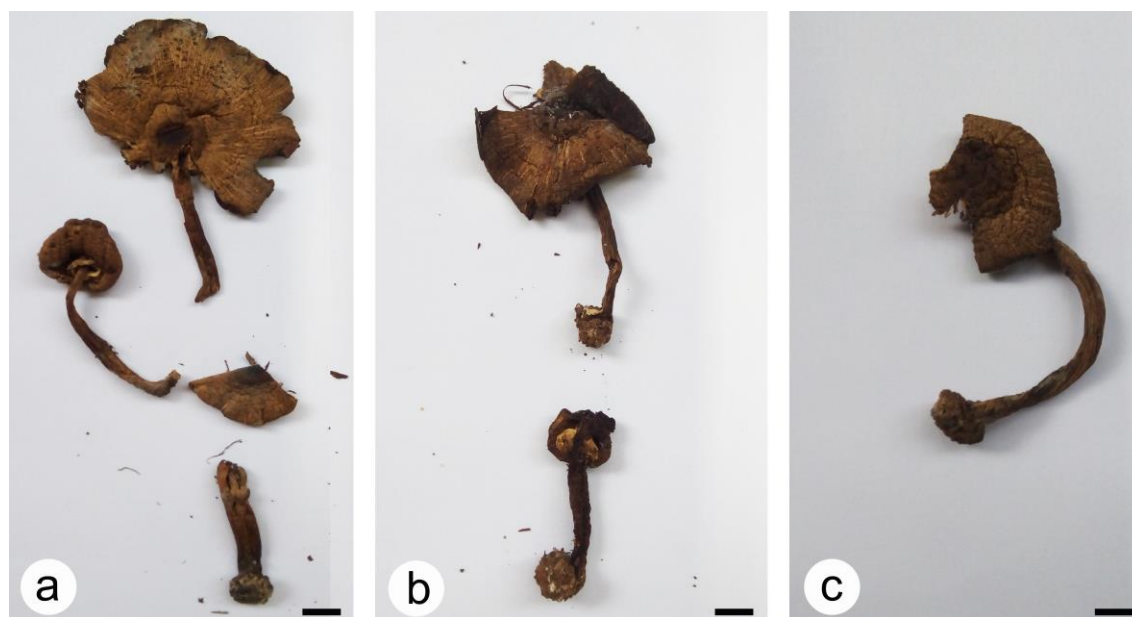


FIGURE 4. a–c: *Agaricus* sp. B. a. [holotype, *LASR*133] b. *LASR*134 c. TYMP40. Scale bars: a–c = 1 cm. Photos: L.A.S. Ramos.



FIGURE 5. Basidiomata of *Agaricus* sp. C. a. Holotype (*LASR181*). b, d, g. *LASR170* in wet condition with details to the pilear and stipe surface discoloring in red. c. *LASR180* with detail to the yellowish shades on stipe. e, f. Young globose basidiomata (*LASR180*). h, i. Detail of the double ring, with a bracelet structure loosely surrounding the stipe. Scale bars: a, b, d = 2 cm; e, f, h, i = 1 cm. Photos: a, c, e–i: L.A.S. Ramos; b, d: Mariana de Paula Drewinski.

Acknowledgments

We would like to thank the Plant Biodiversity and Environment Postgraduate Program of the ‘Instituto de Botânica’ (São Paulo, Brazil) for the financial and infrastructure support; the ‘Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior’ (CAPES) for the fellowship for the first author; the Linnean Society of London and the Systematics Association for financial support; the MICOLAB team from ‘Universidade Federal de Santa Catarina’ (Florianópolis, Brazil) for assistance and infrastructure support; Júlia Molina for the language review; Mariana de Paula Drewinski for assistance with the phylogenetic analyses; and Dr. Mauro Carpes Westphalen and Viviana Motato-Vázquez for the assistance on the molecular methods.

References

- Albertó E. (1996). *El género Agaricus en la provincia de Buenos Aires (Argentina). Secciones Agaricus y Sanguinolenti*. Boll. Soc. Mic. Madrid, 21, 127–144.
- Albertó E. (1998). *Agaricus santacatalinensis a new species from Argentina*. Mycotaxon, 66, 205–213.
- Albertó E. & Wright J.E. (1994). *Agaricus pseudoargentinus n sp. from Argentina*. Mycotaxon, 50, 271–278.
- Alves, G.C., de Carvalho Victoria, F., de Albuquerque, M.P., & Pereira, A.B. (2012). *Primeiro relato de fungos Agaricales no município de São Gabriel, RS, Brasil*. Caderno de Pesquisa, 24(2), 7–20.
- Atkinson, G.F. (1902). *Preliminary notes on some new species of fungi*. Journal of Mycology 8(3):110–119.
- Bas, C. (1969). *Morphology and subdivision of Amanita and a monograph of its section Lepidella*. Persoonia, 5(3), 285–579.
- Berkeley, M.J., Broome, C.E. (1871). *The fungi of Ceylon. (Hymenomycetes, from Agaricus to Cantharellus)*. Botanical Journal of the Linnean Society. 11:494–567.
- Bohus, G. (1974). *Agaricus studies IV. Annales Historico-Natureles Musei Nationalis Hungarici*. 66:77–5.
- Callac P, Guinberteau J. (2005) – *Morphological and molecular characterization of two novel species of Agaricus section Xanthodermatei*. Mycologia 97, 416–424.
- Callac, P., & Mata, G. (2005). *Agaricus tollocanensis, une nouvelle espèce de la section Xanthodermatei trouvée au Mexique*. Documents Mycologiques, 33(132), 31–35.

- 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 ersooniaed clades reveals a new American sub*, 38, 170–196.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D. (2012). *jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing*. *Nat Methods*, 9, 772–772.
- Dennis, R. W. G. (1951). *Some Agaricaceae of Trinidad and Venezuela. Leucosporae: Part I. Transactions of the British Mycological Society*, 34(4), 411–482.
- Dennis, R. W. G. (1970). *Fungus flora of Venezuela and adjacent countries*. *Kew bulletin*, 584 pp.
- Dentinger, B.T.M., Margaritescu, S. & Moncalvo, J.-M. (2010). *Rapid and reliable high-throughput methods of DNA extraction for use in barcoding and molecular systematics of mushrooms*. *Molecular Ecology Resources*, 10, 628–633.
- Drewinski, M.P., Menolli Jr., N., Neves, M.A. (2017) *Agaricus globocystidiatus*: a new neotropical species with pleurocystidia in *Agaricus* subg. *Minoriopsis*. *Phytotaxa* 314 (1), 64–72.
- Doyle J.J., & Doyle J.L. (1987). *A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue*. *Phytochem Bull.*, 19, 11–15.
- Freeman, A.E. (1979). *Agaricus in North America: Type studies*. *Mycotaxon*, 8(1), 1–49.
- Fries, E.M. (1898). *Engl. & Prantl, Nat. Pflanzenfam.* 1: 238 pp.
- Galli, R. (2004) *Gli Agaricus*. 1, dalla Natura sas, Italy. 216 pp.
- Geml, J., Geiser, D.M. and Royse, D.J., (2004). *Molecular evolution of Agaricus species based on ITS and LSU rDNA sequences*. *Mycological Progress*, 3(2), 157–176.
- Genevier, L.G. (1876). *Étude sur les champignons consommés à Nantes sous le nom de champignon rose ou de couche (Agaricus campestris L.)*. *Bulletin de la Société Botanique de France*. 23: 28–35
- Gill, M., & Strauch, R. J. (1984). *Constituents of Agaricus xanthodermus Genevier: the first naturally endogenous azo compound and toxic phenolic metabolites*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 39(11–12), 1027–1029.
- Góes-Neto, A., Loguercio-Leite, C. & Guerrero, R.T. (2005). *DNA extraction from frozen field collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB based methods*. *Biotemas*, 18(2), 19–32.
- Guindon, S., & Gascuel, O. (2003). *A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood*. *Systematic biology*, 52(5), 696–704.
- Heinemann, P. (1956). *Champignons récoltés au Congo Belge par Mme M Goossens-Fontana, II Agaricus Fr. ss. Bull Jard Bot État*, 26, 1–127.

- Heinemann, P. (1961). *Agarici Austro-Americani: I: Agaricus of Trinidad*. *Kew Bulletin*, 15(2), 231–248.
- Heinemann, P. (1962a). *Agarici austro-americi: IV. Quatre Agaricus du Venezuela*. *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles*, 32(2), 155–161.
- Heinemann, P. (1962b). *Agarici Austro–Americani: II: Agaricus de Bolivie*. *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles*, 32(Fasc. 1), 21 pp.
- Heinemann, P. (1962c). *Agarici austro-americi: III. Trois Agaricus de la Jamaïque*. *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles/Bulletin van den Rijksplantentuin, Brussel*, 23–28.
- Heinemann, P. (1974). *Quelques Agaricus de Nouvelle-Zélande*. *Bulletin du Jardin botanique national de Belgique/Bulletin van de Nationale Plantentuin van België*, 355–366.
- Heinemann, P. (1978). *Essai d'une clé de détermination des genres Agaricus et Micropsalliota*. *Sydowia*, 30, 6–37.
- Heinemann, P. (1980). *Les genres Agaricus et Micropsalliota en Malaisie et en Indonésie*. *Bulletin Du Jardin Botanique National de Belgique*, 50, 3–68.
- Heinemann, P. (1986). *Agarici austroamerici VI. Aperçu sur les Agaricus de Patagonie et de la terre de Feu*. *Bulletin Du Jardin Botanique National de Belgique/Bulletin van de Nationale Plantentuin van België*, 417–446.
- Heinemann, P. (1987). *Clave para la determinación de las especies de Agaricus (Agaricales) de la Patagonia y Tierra del Fuego*. *Darwiniana*, 283–291.
- Heinemann, P. (1990). *Agarici Austroamerici VII. Agariceae des zones tempérées de l'Argentine et du Chili*. *Bulletin du Jardin botanique national de Belgique/Bulletin van de Nationale Plantentuin van België*, 331–370.
- Heinemann, P. (1993). *Agarici Austroamerici VIII. Agariceae des régions intertropicales d'Amérique du Sud*. *Bulletin Du Jardin Botanique National de Belgique*, 62 (1–4), 355–384.
- Horak E. (1967). *Fungi austroamerici IV. Revisión de los hongos superiores de Tierra del Fuego o Patagonia en el Herbario de C. Spegazzini en La Plata*. *Darwiniana*, 14 (2–3), 355–385.
- Horak E. (1980) [1979]. *Fungi Basidiomycetes. Agaricales y Gasteromycetes secotioides*. *Flora Criptogámica de Tierra del Fuego*, 11(6), 1–528.
- Hughes, K. W., Petersen, R. H., & Lickey, E. B. (2009). *Using heterozygosity to estimate a percentage DNA sequence similarity for environmental species' delimitation across basidiomycete fungi*. *New Phytologist*, 182(4), 795–798.
- Huelsenbeck, J. P., & Ronquist, F. (2001). *MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees*. *Bioinformatics*, 17(8), 754–755.
- Imbach, E.J. (1946). *Pilzflora des Kantons Luzern und der angrenzenden Innerschweiz*. *Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft Luzern*. 15:5–85.

- Johnson, J. (1999). *Phylogenetic relationships within Lepiota sensu lato based on morphological and molecular data*. *Mycologia*, 443–458.
- Karunarathna, S.C., Chen, J., Mortimer, P.E., Xu, J.C., Zhao, R.L., Callac, P. & Hyde, K.D. (2016). *Mycosphere Essay 8: A review of genus Agaricus in tropical and humid subtropical regions of Asia*. *Mycosphere* 7 (4): 417–439.
- Kerrigan, R. W., Callac, P., Guinberteau, J., Challen, M. P., & Parra, L. A. (2005). *Agaricus section Xanthodermatei: a phylogenetic reconstruction with commentary on taxa*. *Mycologia*, 97(6), 1292–1315.
- Kerrigan, R. W. (2016). *Agaricus of North America*. *Memoirs of The New York Botanical Garden*, NYBG press, New York, U.S.A., 592 pp.
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). *MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability*. *Molecular biology and evolution*, 30(4), 772–780.
- Kueppers, H. (1982). *Color Atlas: A Practical Guide for Color Mixing*. Barrons Educational Series Incorporated, 170 pp.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016). *MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets*. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870–1874.
- Lange, J.E. (1926). *Studies in the agarics of Denmark. Part VI. Psalliota, Russula*. *Dansk botanisk Arkiv.*, 4(12), 1-52.
- Largent, D. (1986) *How to identify mushrooms to genus III: macroscopic features*. Mad River Press, Eureka. California, U.S.A., 166 pp.
- Larsson, A. (2014). *AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets*. *Bioinformatics*, 30(22), 3276–3278.
- Linnaeus, C.V. (1753). *Species plantarum*. Stockholm: Laurentii Salvii. 536 pp.
- Mahdizadeh, V., Safaie, N., Goltapeh, E. M., Asef, M. R., Hosseini, S. M. N., & Callac, P. (2016). *Agaricus section Xanthodermatei in Iran*. *Phytotaxa*, 247(3), 181–196.
- Martínez A. (1949). *Agaricáceas nuevas para la Argentina*. *Lilloa* 21: 43–52.
- Martínez A. (1957). *Nueva sp. del género Agaricus*. *Rev. Inv. Agri. Bs. As.* 11(3): 238–330.
- Medel, R., Palestina Villa, E.N., & Mata, G., (2015). *El género Agaricus (Agaricales, Agaricaceae) en Veracruz: nuevos registros*. *Revista mexicana de micología*, 42, 53–63.
- Meijer, A.A.R., (2008) *Macrofungos notáveis das Florestas de Pinheiro do Paraná*. Colombo, PR Embrapa Florestas, Brazil, 431 pp.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). *Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees*. In *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 2010, 1–8. Ieee.
- Murrill, W.A. (1941). *More Florida novelties*. *Mycologia*, 33, 434–448.

- Neves M.A., Baseia I.G., Drechsler-Santos E.R., Góes-Neto A. (2013). *Guide to the Common Fungi of the Semiarid Region of Brazil*. TECC Editora, Florianópolis, Brazil, 142 pp.
- Niveiro, N., & Albertó, E. (2013). *Checklist of the Argentine Agaricales 5. Agaricaceae*. *Mycotaxon*, 122(491), 1–25.
- Parra, L.A. (2008) *Agaricus* L *Allopsalliota* Nauta & Bas. Pars 1. Edizioni Candusso Alassio, Italy, 824 pp.
- Parra, L.A., Mua, A., Cappelli, A., Callac, P. (2012) [2011]. *Agaricus biannulatus* sp. nov., una nuova specie della sezione Xanthodermatei raccolta in Sardegna e Sicilia. *Micologia e Vegetazione Mediterranea*, 26(1): 3–20.
- Parra, L.A., Angelini, C., Ortiz-Santana, B., Mata, G., Billette, C., Rojo, C., Chen, J. and 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.
- Patouillard, N.T. (1913). *Quelques champignons du Tonkin*. *Bulletin de la Société Mycologique de France*. 29:206–228.
- Peck, C.H. (1878). *Report of the Botanist (1875). Annual Report on the New York State Museum of Natural History*, 29, 29–82.
- Peck, C.H. (1893). *Annual report of the Regents of New York State Museum* 46:105.
- Peck, C.H. (1895). *New species of fungi*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 22: 198–211.
- Peck, C.H. (1909). *Report of the State Botanist*. *Bulletin of the New York State Museum*. 1–202.
- Pegler, D. N. (1983). *Agaric flora of the Lesser Antilles*. *Kew Bulletin Add. Series*, 1–668.
- Pegler, D.N. (1990). *Agaricales of Brazil described by J.P.F.C. Montagne*. *Kew Bulletin*, 45 (1), 161–177.
- Pegler, D. N. (1997). *The agarics of São Paulo*. Kew Royal Botanic Gardens, United Kingdom, 68 pp.
- Peterson, K. R., Desjardin, D. E., & Hemmes, D.E. (1999). *Agaricales of the Hawaiian Islands*. 6. *Agaricaceae I. Agariceae: Agaricus and Melanophyllum*. *Sydowia*, 52(2), 204–257.
- Putzke, J., & Putzke, M. T. L. (2017). *The Genus Agaricus L. ex. Fr. (Agricales, Basidiomycota) in Brazil*. *Neotropical Biology and Conservation*, 12(2), 109–130.
- Raithelhuber J. (1977). *Hongos argentinos II*. Compañía Impresora Argentina, Buenos Aires, Argentina, 157 pp.
- Raithelhuber J. (1988). *Flora mycologica Argentina. Hongos II*. Stuttgart, Mycosur, 257 pp.
- Raithelhuber J. (1991). *Flora mycologica Argentina. Hongos III*. Stuttgart. Mycosur, 500 pp.
- Royse, D.J. (2014). A global perspective on the high five: *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia* & *Flammulina*. In *Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8)*, 1, 1-6.

- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). *MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models*. *Bioinformatics*, 19(12), 1572–1574.
- Schäffer, J., & F. Møller. (1938). *Beitrag zur Psalliota – Forschung*. *Ann. Mycol.* 36, 64–82.
- Stamatakis, A., Hoover, P. & Rougemont, J. (2008). *A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers*. *Systematic Biology*, 57, 758–771.
- Singer, R. (1948). *Diagnoses Fungorum Novorum Agaricalium*. *Sydowia*, 2, 26–42.
- Singer, R. & Antonio, P.L.D., (1952). *Prodromo de la flora agaricina Argentina*. *Lilloa*, 25, 5–462.
- Singer, R. (1969). *Mycoflora australis. Beihefte zur Nova Hedwigia*. 29:165.
- Singer, R. (1986). *The Agaricales in modern taxonomy*, 4th ed. Koeltz, Königstein, Germany. 981 pp., [88] p.
- Spegazzini, C. (1889). *Fungi Puiggariani. Pugillus 1. Boletín de la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba*. 11(4): 381–622.
- Spegazzini, C. (1926). *Ramillete patagónico*. *Revista Argent. Bot.*, 1. 111–117.
- Thongklang, N., Nawaz, R., Khalid, A. N., Chen, J., Hyde, K. D., Zhao, R.L., Parra, L.A., Hanif, M., Moinard, M., & Callac, P. (2014). *Morphological and molecular characterization of three Agaricus species from tropical Asia (Pakistan, Thailand) reveals a new group in section Xanthodermatei*. *Mycologia*, 106(6), 1220–1232.
- Truong, C., Mujic, A.B., Healy, R., Kuhar, F., Furci, G., Torres, D., Niskanen, T., Sandoval-Leiva, P.A., Fernández, N., Escobar, J.M. and Moretto, A. (2017). *How to know the fungi: combining field inventories and DNA-barcoding to document fungal diversity*. *New Phytologist*, 214(3), 913–919.
- Turland, N. J., Wiersema, J. H., Barrie, F. R., Greuter, W., Hawksworth, D. L., Herendeen, P. S., Knapp, S., Kusber, W.-H., Li, D.-Z., Marhold, K., May, T. W., McNeill, J., Monro, A. M., Prado, J., Price, M. J. & Smith, G. F. (eds.) 2018: *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017*. *Regnum Vegetabile* 159. Glashütten: Koeltz Botanical Books. DOI <https://doi.org/10.12705/Code.2018>
- Vellinga, E.C. (1988) Glossary In: Bas, C., Kuyper, T.W., Noodelos, M.E. & Vellinga, E.C. (Eds.) *Flora Agaricina Neerlandica*, 1. Amsterdam/Brookfield: A.A. Balkema Publishers, 54–64.
- Wasser, S.P. (1976a). *Species nova e genere Agaricus L. ex Fr. emnd. Karst. Novosti Sistematiki Nizshikh Rastenii*. 13:77–79
- Wasser, S.P. (1976b). *Ukraïns'kii Botanichnii Zhurnal*: 33(3):250.
- Wisitrassameewong, K., Karunarathna, S. C., Thongklang, N., Zhao, R., Callac, P., Moukha, S., Ferandon, C., Chukeatirote, E. & Hyde, K. D. (2012). *Agaricus subrufescens: a review*. *Saudi journal of biological sciences*, 19(2), 131–146.

Zhao, R.-L., Karunarathna, S., Raspé, O., Parra, L.A., Guinberteau, J., Moinard, M., De Kesel, A., Barroso, G., Courtecuisse, R., Hyde, K.D. and Guelly, A.K. (2011). *Major clades in tropical Agaricus*. *Fungal Diversity*, 51(1), 279–296.

Zhao, R.-L., Desjardin, D.E., Callac, P., Parra, L.A., Guinberteau, J., Soyong, K., Karunarathna, S., Zhang, Y., Hyde, K.D. (2013) [2012]. *Two species of Agaricus section Xanthodermatei from Thailand*. *Mycotaxon*, 122, 187–195.

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

Zhou, J-L, Su, S.-Y, Su, H.-Y, Wang, B., Callac, P., Guinberteau, J., Hyde, K.D. & Zhao, R.-L. (2016). *A description of eleven new species of Agaricus sections Xanthodermatei and Hondenses collected from Tibet and the surrounding areas*. *Phytotaxa*, 257(2), 99–121.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A taxonomia de *Agaricus* no Brasil ainda necessita de muitos estudos e da busca de novos caracteres morfológicos que sustentem as classificações infragenéricas atuais, propostas com base preponderantemente em resultados de análises moleculares. Durante este estudo, dois caracteres morfológicos chamaram a atenção devido às suas potencialidades em diagnosticar seções e espécies: o tamanho, formato e característica do conteúdo dos basídios, que apresentaram diferenças em relação ao seu conteúdo, quando comparando espécimes brasileiros de *Agaricus* seção *Xanthodermatei* e de *Agaricus* seção *Minoriopsis*; e a análise da superfície pilear, que quando subdividida entre *suprapellis* e *subpellis* (Largent, 1986), apresenta mesma relação entre a medida das hifas destas duas regiões dentro de uma mesma espécie. Heinemann (1956) foi o primeiro micólogo a trazer as características da superfície pilear à luz da taxonomia de *Agaricus*, contudo, seus estudos ficaram restritos à forma da camada mais externa dessa região, que Largent (1986) denominou *suprapellis*. Drewinski (2017), descrevendo espécimes pertencentes a um clado que a autora chama de “Clado novo”, apontou estruturas pigmentadas semelhantes à cistídios ou basídios vestigiais, que ocorrem com certa frequência entre esses espécimes. Porém, mais estudos taxonômicos são necessários para melhor interpretação desses caracteres de eventual importância taxonômica.

Muitos caracteres morfológicos considerados como diagnósticos de táxons específicos são vistos atualmente como caracteres homoplásicos entre os diversos táxons dentro do gênero (Parra, 2008; Zhao *et al.*, 2016). À medida em que espécimes de regiões tropicais são coletados e estudados, novas linhagens evolutivas têm surgido na filogenia do grupo (Zhao *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2017; Parra *et al.*, 2018), além de novas combinações de características morfológicas previamente atribuídas à táxons específicos (Karunarathna *et al.* 2016). Contudo, alguns caracteres previamente definidos como sendo diagnósticos de seções, como por exemplo o odor fenólico em *Agaricus* seção *Xanthodermatei*, persistem como importantes indicadores

de grupos filogeneticamente relacionados (Singer, 1948; Heinemann, 1956, 1977; Singer, 1986; Capelli, 1986; Kerrigan *et al.*, 2005; Kerrigan 2016; Parra, 2008; Zhao *et al.*, 2011, 2016; Karunarathna *et al.*, 2016; Parra *et al.*, 2018).

Muitas vezes variações morfológica sutis representam variações moleculares significantes (Callac & Mata, 2005; Kerrigan, 2016), de forma que as análises morfológicas isoladamente não são as únicas alternativas para se definir um táxon dentro de *Agaricus*. Todavia, em alguns casos, a mesma espécie pode possuir uma alta variabilidade genética, mantendo a sua identidade morfológica preservada (Chen *et al.*, 2016). Além disso, muitos caracteres taxonômicos macro e micromorfológicos são perdidos após um tempo do material herborizado (Heinemann, 1977; Singer, 1986; Parra, 2008), o que pode dificultar bastante a identificação de espécimes herborizadas.

A proposição de novas espécies com o suporte de caracteres moleculares pode ser uma ferramenta pertinente para auxiliar na interpretação da diversidade do grupo, e para o desenvolvimento da taxonomia de *Agaricus*, concomitantemente com o enriquecimento das descrições de novas espécies e à luz da história taxonômica do gênero. Hawksworth & Lücking (2017) citam a dificuldade de se estabelecer um conceito de espécie no reino Fungi, tal como, o impasse filosófico que este tema gera entre os micólogos. Os autores propõem um conceito que basicamente define espécies como entidades que possam ser útil para a interpretação evolutiva de um grupo (Hawksworth & Lücking, 2017).

Um outro grande problema na taxonomia de *Agaricus* principalmente de regiões neotropicais é a grande quantidade de espécies propostas há muito tempo e baseadas em poucas coleções (muitas vezes uma única coleção), que possuem descrições com poucas informações e nenhum amparo molecular (Heinemann 1956, 1977, 1993). Essas espécies, muitas vezes acabam se tornando espécies não funcionais devido à dificuldade de se assegurar uma determinação correta de novos espécimes. Sendo assim, a tentativa de se obter sequências de

marcadores moleculares dos holótipos, quando ainda existentes, e a busca por neótipos em alguns casos, é muito importante para a prosperidade da taxonomia do grupo, tal como a obtenção de sequências de espécimes herborizados previamente identificados para confirmação da sua identidade.

O marcador molecular ITS é um bom *barcode* para o gênero *Agaricus* e possibilita, na grande maioria dos casos, a distinção entre linhagens (Kerrigan *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2011; Thongklang *et al.*, 2014). À medida que mais sequências de ITS são consideradas em análises filogenéticas, mais robustas as análises se tornam e melhor são as definições dos clados resultantes (Kerrigan *et al.*, 2005; Kerrigan, 2016). Maior abundância dos dados da região ITS na literatura e a sua eficácia em elucidar relações filogenéticas, fazem com que a obtenção e estudo dessa região genômica seja essencial, e ao mesmo tempo bastante satisfatória para a elucidação de diversos impasses taxonômicos. Contudo, com o incremento das análises filogenéticas multigênicas (LSU, *rpb2*, *tef1- α* , entre outros) torna-se possível uma melhor definição das relações filogenéticas de grupos específicos (Geml *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2017; Parra *et al.*, 2018).

A abundância da diversidade de *Agaricus* no Brasil é ainda inestimável (Blackwell 2011; Hawksworth & Lücking 2017), no entanto vale ressaltar que três novas espécies de *Agaricus* seção *Xanthodermatei* foram propostas neste estudo baseadas em coletas provenientes de uma pequena área de uso público, de um parque cuja área total é de 586 ha, em um país que possui 851.6 milhões de ha em sua magnitude, e que é reconhecido por possuir uma fitofisionomia que representa um dos maiores *hotspots* de biodiversidade do mundo, a Mata Atlântica (Myers *et al.* 2008; Mittermeier *et al.* 2004).

É interessante notar também que espécimes de *Agaricus* encontrados no Brasil até o momento pertencem à apenas 10 das 23 seções atualmente reconhecidas em *Agaricus*. Todavia, dados moleculares indicam que novas seções são passíveis de proposições (Drewinski, 2017).

Os resultados aqui exibidos sugerem que o número de espécies de *Agaricus* citadas para o Brasil pode passar de 46 para 59 com a eventual inclusão de duas espécies em *Agaricus* subg. *Minores*, ampliando de cinco para 7 o número de espécies deste subgênero citadas para o Brasil, a eventual inclusão de duas espécies de *Agaricus* subg. *Spissicaules* seção *Rarolentes*, sendo estas os primeiros registros de espécies de *Agaricus* desta seção no Brasil, e ampliando de quatro para seis o número de espécies de *Agaricus* subg. *Spissicaules* citadas para o Brasil, a eventual inclusão de duas espécies de *Agaricus* subg. *Flavoagaricus*, ampliando de nove para onze o número de espécies deste subgênero citadas para o Brasil, e a inclusão de três novas espécies em *Agaricus* subg. *Pseudochitonia* seção *Xanthodermatei*, ampliando de quatro para sete o número de espécies citadas para o Brasil pertencentes à esta seção.

Através deste estudo foi possível entender que a taxonomia e a filogenia de *Agaricus* no Brasil é um campo amplo, desafiador, estimulante e muito promissor, e que mais estudos são necessários, com plenas possibilidades de contribuições ao conhecimento do gênero em âmbito mundial.

6 BIBLIOGRAFIA¹³

Agaricales in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB94978>>. (Acesso em: 12 Jul. 2017).

Alexopoulos, C.J., 1962. Introductory mycology. Introductory mycology. John Wiley & Sons, New York.

Alves, G.C., de Carvalho Victoria, F., de Albuquerque, M.P., & Pereira, A.B. 2012. Primeiro relato de fungos Agaricales no município de São Gabriel, RS, Brasil. Caderno de Pesquisa, 24(2), pp. 7–20.

Baker, R.E.D. & Dale, W.T. 1951. Fungi of Trinidad and Tobago. Mycological Papers 33: pp. 1–123.

Blackwell, M., 2011. The Fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species? American journal of botany, 98(3), pp. 426–438.

Bon, M. 1985. Clé monographique du genre *Agaricus* L.: Fr. (Sous-genre *Agaricus*). Documents Mycologiques. 15(60): pp. 1–37.

Bononi, V.L.R., Mucci, E.S.F., Yokomizu, N.K.S., Guzmán, G. 1984. Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual de Campos do Jordão. Rickia 11: pp. 85–89.

Bononi, V.L.R. & Grandi, R.A.P. 1999. Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, pp. 1–184.

Callac, P. & Guinberteau, J. 2005. Morphological and molecular characterization of two novel species of *Agaricus* section *Xanthodermatei*. Mycologia 97: pp. 416–424.

Calvo-Bado, L., Noble, R., Challen, M., Dobrovin-Pennington, A., Elliott, T. 2000. Sexuality and genetic identity in the *Agaricus* section *Arvenses*. Applied and Environmental Microbiology 66: pp. 728–734.

Capelari, M. 2007. O gênero *Crepidotus* no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. São Paulo, S.P. Brasil e descrição de duas novas espécies. Hoehnea 34: pp. 75–85.

Capelari, M. & Gimenes, L. J. 2004. *Leucocoprinus brunneoluteus*, uma nova espécie de Agaricaceae. Hoehnea 31: pp. 331–335.

Capelari, M. & Gugliotta, A. M. 2005. *Dactylosporina* e *Oudemansiella* (Tricholomataceae, Demansiellinae) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP. Hoehnea 32: pp. 381–387.

¹³ A bibliografia citada na seção 6 refere-se ao conteúdo deste estudo como um todo, a seção 4.2 possui suas próprias referências bibliográficas.

Capelari, M. & Maziero, R. 1988. Fungos macroscópicos do estado de Rondônia, região dos rios Jaru e Ji-Paraná. *Hoehnea* 15: pp. 28–36.

Capelari, M., Rosa, L. H., Lachance, M. A. 2006. Description and affinities of *Agaricus martineziensis*, a rare species. *Fungal Diversity* 21: pp. 11–18.

Cappelli, A. 1984. *Agaricus* L.: Fr. (*Psalliota* Fr.). Libreria Editrice, Biella Giovanna, Saronno.

Challen, M.P., Kerrigan, R.W., Callac, P. 2003. A phylogenetic reconstruction and emendation of the genus *Agaricus* section *Duploannulatae*. *Mycologia* 95: pp. 61–73.

Chen, J., Zhao, R-L., Parra, L. A., Guelly, A. K., Kesel, A., Rapior, S., Hyde, K. D., Chukeatirote, E., Callac, P. 2015. *Agaricus* section *Brunneopicti*: a phylogenetic reconstruction with descriptions of four new taxa. *Phytotaxa* 192(3): pp. 145–168.

Chen, J., Parra, L.A., De Kesel, A., Khalid, A.N., Qasim, T., Ashraf, A., Bahkali, A.H., Hyde, K.D., Zhao, R. and Callac, P., 2016. Inter-and intra-specific diversity in *Agaricus endoxanthus* and allied species reveals a new taxon, *A. punjabensis*. *Phytotaxa*, 252(1), pp.1-16.

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: pp. 170–196.

Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods*, 9, pp. 772–772.

Dentinger, B.T.M., Margaritescu, S. & Moncalvo, J.-M. 2010. Rapid and reliable high-throughput methods of DNA extraction for use in barcoding and molecular systematics of mushrooms. *Molecular Ecology Resources*, 10, pp. 628–633.

Didukh, M., Vilgalys, R., Wasser, S.P., Isikhuemhen, O.S., Nevo, E. 2005. Notes on *Agaricus* section *Duploannulati* using molecular and morphological data. *Mycological Research* 109: pp. 729–740.

Donk, M.A. 1964. A conspectus of the families of Aphyllophorales. *Persoonia* 3(2): pp. 199–324.

Doyle J.J., & Doyle J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull.*, 19, pp. 11–15.

Drewinski, M.P., 2017. *Agaricus* no Brasil: Contribuições à Sistemática do Gênero. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina.

Drewinski, M.P., Menolli Junior, N., Neves, M.A. 2017. *Agaricus globocystidiatus*: a new neotropical species with pleurocystidia in *Agaricus* subg. *Minoriopsis*. *Phytotaxa* 314: pp.

64–72.

Ellertsen, L.K. and Hetland, G., 2009. An extract of the medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murill can protect against allergy. *Clinical and Molecular Allergy*, 7(1), 1–6.

Ferreira, M. E. & Grattapaglia, D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3.ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, pp. 1–220.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> (acesso em 07-III-2018).

Fries, E.M. 1821. *Systema mycologicum* 1. Lund.

Fries, E.M. 1838. *Epicrisis Systematis Mycologici*: Typographia Academica, Uppsala, Berlin.

Fries, E.M. 1874. *Hymenomycetes Europaei*. Uppsala, Berlin.

Genevier, M.G., 1876. Étude sur les Champignons consommés à Nantes sous le nom de Champignon rose ou de couche (*Agaricus campestris* L.). *Bulletin de la Société Botanique de France*, 23(1), pp. 28–35.

Galli, R. 2004. *Gli Agaricus: atlante pratico-monografico per la determinazione del genere Agaricus L.: Fr.*, Milano. Dalla Natura.

Geml, J., Geiser, D.M. and Royse, D.J., 2004. Molecular evolution of *Agaricus* species based on ITS and LSU rDNA sequences. *Mycological Progress*, 3(2), pp.157–176.

Gill, M. and Strauch, R.J., 1984. Constituents of *Agaricus xanthodermus* Genevier: the first naturally endogenous azo compound and toxic phenolic metabolites. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 39(11-12), pp. 1027–1029.

Grandi, R.A.P., Guzmán, G., Bononi, V.L. 1984. Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Rickia* 11: pp. 27–33.

Gray, S.F. 1821. A natural arrangement of British plants. Baldwin, Cradock and Joy, London 1: pp. 18–24.

Guerrero, R.T. & Homrich, M.H. 1983. Fungos macroscópicos comuns no Rio Grande do Sul: guia para identificação. UFRGS, Porto Alegre.

Gui, Y., Zhu, G.S., Callac, P., Hyde, K.D., Parra, L.A., Chen, J., Yang, T.J., Huang, W.B., Gong, G.L., Liu, Z.Y. 2015. *Agaricus* section *Arvenses*: three new species in highland subtropical Southwest China. *Fungal Biology* 119: pp. 79–94.

Guindon, S., & Gascuel, O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic biology*, 52(5), pp. 696–704.

Góes-Neto, A., Loguerio-Leite, C. & Guerrero, R.T. 2005. DNA extraction from frozen field collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and

CTAB based methods. Biotemas, 18(2), pp. 19–32.

Hawksworth, D.L. & Lücking, R., 2017. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. Microbiology spectrum, 5(4): pp. 1–17.

Heinemann, P. 1953. Champignons recoltés au Congo belge par Madame M. Goossens-Fontana I. Boletineae, Note complémentaire. Bulletin du Jardin Botanique de l'État à Bruxelles 23(1–2): pp. 73–76.

Heinemann, P. 1956. Champignons recoltés au Congo Beige par Mme M. Goossens-Fontana, II. - *Agaricus* FB. S. S. Bulletin du Jardin Botanique de l'État à Bruxelles 26: pp. 1–127.

Heiemann, P. 1961. *Agaricus* of Trinidad. Kew Bulletin 15: pp. 231–248.

Heinemann, P. 1977. Essai d'une clé de détermination des genres *Agaricus* et *Micropsalliota*. Sydowia 30: pp. 6–37.

Heinemann, P. 1993. Agarici Austroamerici VIII. Agariceae dès régions intertropicales d'Amérique du Sud. Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique 62: pp. 355–384.

Hyde, K.D., Bahkali, A.H. and Moslem, M.A., 2010. Fungi—an unusual source for cosmetics. Fungal diversity, 43(1), pp.1–9.

Huelsenbeck, J. P., & Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics, 17(8), pp. 754–755.

Karstedt, F. & Capelari, M. 2010. New species and new combinations of Calliderma (Entolomataceae, Agaricales). Mycologia 102: pp. 163–173.

Karstedt, F. & Capelari, M. 2013. Inocephalus (Entolomataceae, Agaricales) from São Paulo State, Brazil. Nova Hedwigia 96: pp. 279–308.

Karstedt, F. & Stürmer, S.L. 2008. Agaricales em áreas de Floresta Ombrófila Densa e plantações de Pinus no Estado de Santa Catarina, Brasil. Acta Botanica Brasilica 22: pp. 1036–1043.

Karsten, P.A. 1879. Rysslands, Finlands och den Skandinaviska halföns Hattsvampar. Första Delen: Skifsvampar. Bidrag till Kännedom av Finlands Natur och Folk. 32: pp. 1–571.

Karunarathna, S.C., Chen, J., Mortimer, P., Xu, J.C., Zhao, R.L., Callac, P. and Hyde, K.D., 2016. Mycosphere essay 8: A review of genus *Agaricus* in tropical and humid subtropical regions of Asia. Mycosphere, 7(4), pp. 417–439.

Katoh, K., & Standley, D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. Molecular biology and evolution, 30(4), pp. 772–780.

Kauffman, C.H. 1919. The Agaricaceae of Michigan. Lansing MI, Wynkoop Hallenbeck

Crawford Co. State Printers.

Kerrigan, R.W., 2005. *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom, and its synonyms. *Mycologia*, 97(1), pp. 12–24.

Kerrigan, R., Callac, P., Guinberteau, J., Challen, P.M., Parra, L.A. 2005. *Agaricus* section *Xanthodermatei*: a phylogenetic reconstruction with commentary on taxa. *Mycologia* 97(6): pp. 1292–1315.

Kerrigan, R., Callac, P., Parra, L.A. 2008. New and rare taxa in *Agaricus* section *Bivelaes* (*Duploannulati*). *Mycologia* 100: pp. 876–892.

Kerrigan, R.W. 2016. *Agaricus* of North America. New York Botanical Garden Press, Bronx.

Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., and Stalpers, J. A. 2008. Dictionary of the Fungi, 10th ed. CABI, Wallingford, UK, pp. 1–784.

Konrad, P., Maublanc, A. 1927. *Icones Selectae Fungorum*. Fasc. 3: pp. 101–150.

Konrad, P., Maublanc, A. 1948. Les Agaricales. *Encyclopédie Mycologique* 14: pp. 14–64.

Kummer, P. 1871. *Der Führer in die Pilzkunde*: pp. 1–146.

Largent, D. L., Johnson, D. & Watling, R. 1986. How to Identify Mushrooms to Genus. III. Microscopic Features. California: Eureka Publ., pp. 1–186.

Larsson, A. 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30(22), pp. 3276–3278.

Linnaeus, C.V. 1752. *Genera plantarum* 4. Carol. Christ. Kùmmel. Halae magdeburgicae, pp. 441.

Linnaeus, C.V. 1753. *Species plantarum*. Laurentii Salvii, Stockholm.

Meijer, A.A.R. 2008. *Macrofungos notáveis das Florestas de Pinheiro-do-Paraná*. Embrapa Florestas, Colombo.

Mehrotra, R. S., and Aneja, K. R. An introduction to mycology. New Age International, 1990, pp. 1–766.

Menolli Jr., N., Asai, T. & Capelari, M. 2009. *Amanita coacta* (Amanitaceae, Agaricales) with a key to *Amanita* species occurring in Brazil. *Mycotaxon* 107: pp. 419–430.

Menolli Jr., N., Asai, T. & Capelari, M. 2010. Records and new species of *Pluteus* from Brazil based on morphological and molecular data. *Mycology* 1: pp. 130–153.

Menolli Jr., N., Breternitz, B. S. & Capelari, M. 2014. The genus *Pleurotus* in Brazil: a molecular and taxonomic overview. *Mycoscience* 55: 378–389.

Menolli Jr., N. & Capelari, M. 2008. Records and two new species of *Volvariella* (Pluteaceae, Agaricales) from Brazil. *Mycotaxon* 106: pp. 385–398.

Menolli Jr., N. & Capelari, M. 2010. Notes on *Pluteus* (Pluteaceae, Agaricales) from Brazil including two new species and a new record. *Mycologia* 102: pp. 697–707.

Menolli Jr., N., Justo, A., Arrillaga, P., Pradeep, C. K., Minnis, A. M. & Capelari, M. 2014. Taxonomy and phylogeny of *Pluteus glaucotinctus sensu lato* (Agaricales, Basidiomycota), a multicontinental species complex. *Phytotaxa* 188: pp. 78–90.

Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 2010, pp. 1–8. Ieee.

Mitchell, A.D., Bresinsky, A. 1999. Phylogenetic relationships of *Agaricus* species based on ITS-2 and 28S ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 91(5): pp. 811–819.

Mittermeier, R.A., Robles Gil, P., Hoffmann, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C. G., Lamoreux, J. & da Fonseca, G. A. B. 2004. Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. Mexico City: CEMEX/Agrupación Sierra Madre, pp. 1-392.

Møller, F.H. 1950. Danish *Psalliota* species. Preliminary Studies for a Monograph on the Danish Psalliotae. Part 1. *Friesia* 4(1-2): pp. 1–60.

Møller, F.H. 1952. Danish Psalliota Species. Preliminary Studies for a Monograph on the Danish *Psalliota*. Part 2. *Friesia*. 4(3): pp. 135–242.

Murrill, W.A. 1918. The Agaricaceae of Tropical North America: 8. Purple-brown to black-spored genera (cont.). *Mycologia* 10: pp. 62–85.

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C. G., Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. *Nature* 403: 853-858.

Nascimento, C.C. & Alves, M.H. 2014. New records of *Agaricaceae* (Basidiomycota, Agaricales) from Araripe Nacional Forest, Ceará State, Brazil. *Mycosphere* 5: pp. 319–332.

NCBI Resource Coordinators. “Database Resources of the National Center for Biotechnology Information.” *Nucleic Acids Research* 44. Database issue (2016): D7–D19. PMC. Web. 25 Sept. 2018.

Oliveira, J. J. S. & Capelari, M. 2012. Two new species of *Marasmius* section *Neosessiles* (Marasmiaceae) from an Atlantic rain forest area of São Paulo State, Brazil. *Nova Hedwigia* 95: pp. 202–210.

Oliveira, J. J. S.; Sanchez-Ramirez, S. & Capelari, M. 2014. Some new species and new varieties of *Marasmius* (Marasmiaceae, Basidiomycota) from Atlantic Rainforest areas of São Paulo State, Brazil. *Mycological Progress* 10: 453–479.

Parra, L.A. 1997. El género *Agaricus* L.:Fr. en España III. Delimitación y estudio de la sección Bitorques. Bol. Soc. Micol. Madrid 22: pp. 113–135.

Parra, L.A. 2005. Nomenclatural study of the genus *Agaricus* L. (Agaricales, Basidiomycotina) of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. Cuadernos de Trabajo Flora Micológica Ibérica 21: pp. 3–101.

Parra, L.A. 2008. *Agaricus* L. *Allopsalliota* Nauta & Bas. I. Fungi Europaei Vol. 1. Edizione Candusso, Alassio.

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

Pegler, D.N. 1993. Agarici Flora of Lesser Antilles. Kew Bulletin Additional Series 9: pp. 1–668.

Pegler, D.N. 1997. The agarics of São Paulo. Kew: Royal Botanic Gardens.

Persoon, C.H. 1794. Neuer Versuch einer systematischen Eintheilung der Schwämme. Neues Magazin für die Botanik. 1: pp. 63–80.

Persoon, C.H. 1796. Observationes mycologicae. descriptiones tam novorum, quam notabilium fungorum exhibitae. Lipsiae.

Peterson, K.R., 2000. Agaricales of Hawaiian Islands. 6. Agaricaceae L. Agaricaceae: *Agaricus* and *Melanophyllum*. Sydowia, 52(2), pp. 204–257.

Pirozynski, K.A. & Malloch, D.W., 1975. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. Biosystems, 6(3), pp. 153–164.

Puccinelli, C. & Capelari, M. 2006. Two new species of *Marasmius* (Basidiomycota, Marasmiaceae) from Brazil. Mycotaxon 95: pp. 295–300.

Puccinelli, C. & Capelari, M. 2007. A new species of *Marasmius* (Basidiomycota, Marasmiaceae) and the first record of *M. foliiphilus* from Brazil. Cryptogamie Mycologie 28: pp. 263–268.

Puccinelli, C. & Capelari, M., 2009a. *Marasmius* (Basidiomycota - Marasmiaceae) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga: seção Sicci. Hoehnea 36: pp. 637–655.

Puccinelli, C. & Capelari, M. 2009b. *Marasmius* do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. São Paulo. Brasil: seções *Globulares*, *Hygrometrici*, *Marasmius* e *Neosessiles*. Hoehnea 36: pp. 249–258.

Putzke, J. 1994. Lista dos fungos Agaricales (Hymenomycetes, Basidiomycotina) referidos para o Brasil. Caderno de Pesquisa, Série Botânica 6: pp. 1–189.

Putzke, J., Putzke, M.T.L., Köhler, A. 2014. Notas sobre os fungos Agaricales (Hymenomycetes, Basidiomycotina) referidos para o Brasil. Caderno de Pesquisa, Série Botânica 6: pp. 44–53.

- Putzke, J.; Putzke, M.T.L.** 2017. The genus *Agaricus* L. ex. Fr. (Agaricales, Basidiomycota) in Brazil. *Neotropical Biology and Conservation* 12(2): pp. 109–130.
- Quélet, L.** 1872. Les Champignons du Jura et des Vosges. *Mémoires de la Société d'Émulation de Montbéliard* 5: pp. 43–332.
- Quélet, L.** 1878. *Clavis syn. Hymen. Europ.* London.
- Quélet, L.** 1879. Quelques especes nouvelles de Champignons. *Bulletin de la Société Botanique de France*. 25(4): pp. 287–292
- Quélet, L.** 1884. Quelques especes critiques ou nouvelles de la Flore Mycologique de France. *Comptes Rendus de l'Association Française pour l'Avancement des Sciences*. 12: pp. 498–512.
- Quélet, L.** 1888. Flore mycologique de la France et des pays limitrophes. : pp. 1–492
- Rick, J.** 1920. Contributio ad Monographiam Agaricacearum Brasiliensium. *Brotéria Série Botânica* 18: pp. 48–63.
- Rick, J.** 1930. Contributio ad monographiam Agaricacearum et Polyporaceum Brasiliensium. IV. Broteria, *Série Botânica* 24: pp. 27–114.
- Rick, J.** 1939. Agarici Riograndensis III. *Lilloa* 4: pp. 75–104.
- Rick, J.** 1961. Basidiomycetes Eubasidii in Rio Grande do Sul – Brasília 5. Agaricaceae. *Iheringia Série Botânica* 8: pp. 296–450.
- Romagnesi, H.** 1986. Sur le genre *Chitonia* (Fr.) Karst. *Bulletin de la Société Mycologique de France* 102: pp. 115–120.
- Rosa, L.H. & Capelari, M.** 2009. Agaricales fungi from atlantic rain forest fragments in Minas Gerais, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 40: 846-851.
- Royse, D.J.** 2014. A global perspective on the high five: *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia* & *Flammulina*. In *Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8)*, 1, pp. 1–6.
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P.** 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), pp. 1572–1574.
- Rother, M.S. & Silveira, R.M.B.** 2008. Família Agaricaceae (Agaricales, Basidiomycota) no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 6: pp. 259–268.
- Roussel, H.F.A.** 1806. Flore du Calvados et terrains adjacents, composée suivant la méthode de Jussieu: pp. 1–372
- Schäffer, J., Møller, F.H.** 1938. Beitrag zur Psalliota Forschung. *Annales Mycologici* 36(1): pp. 64–82.
- Singer, R.** 1948. *Diagnoses Fungorum Novorum Agaricalium*. *Sydowia*, 2, pp. 26–42.

- Singer, R.** 1951. The Agaricales in Modern Taxonomy. Lilloa 22: pp. 1–830.
- Singer, R.** 1953. Type Studies on Basidiomycetes VI. Lilloa 26: pp. 57–159.
- Singer, R.** 1986. The Agaricales in Modern Taxonomy. 4 ed. Koenigstein: Koeltz.
- Spegazzini, C.** 1889. Fungi Argentini novi vel critici. Anales del Museo Nacional de Historia Natural Buenos Aires 6: pp. 81–288.
- Stamatakis, A., Hoover, P. & Rougemont, J.** 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. Systematic Biology, 57, pp. 758–771.
- Staude, F.** 1857. Die Schwämme Mitteldeutschlands. Besondere des Herzogthums: 67 pp. 1–150.
- Thongklang, N., Nawaz, R., Khalid, A. N., Chen, J., Hyde, K. D., Zhao, R., Parra, L. A., Hanif, M., Moinard, M., Callac, P.** 2014. Morphological and molecular characterization of three *Agaricus* species from tropical Asia (Pakistan, Thailand) reveals a new group in section *Xanthodermatei*. Mycologia 106 (6): pp. 1220–32.
- Valverde, M.E., Hernández-Pérez, T. and Paredes-López, O.,** 2015. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. International journal of microbiology, pp. 1–15.
- Vellinga E.C.,** 1988. Glossary. In: Bas C, Kuyper ThW, Noordeloos ME, Vellinga EC (eds), Flora Agaricina Neerlandica, vol. 1. A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 54–64.
- Vellinga, E.C., de Kok, R.P. and Bruns, T.D.,** 2003. Phylogeny and taxonomy of Macrolepiota (Agaricaceae). Mycologia, 95(3), pp. 442–456.
- Wasser, S.P.** 1976. Familia Agaricaceae Cohn species pro mycoflora URSS novae vel rariae necnon una pro scientia nova. Novosti Sist. Nizsh. Rast.3: pp. 217–228.
- Wasser, S.P.** 1977. *Agaricus moelleri*. Nov. sist. Niz. Rast. 13: pp. 1–77.
- Wasser, S.P.** 1980. Agaricaceae Cohn. Flora Fungorum RSS Ucrainicae. Naukova Dumka. Kiev.
- Whittaker, R.H.,** 1969. New concepts of kingdoms of organisms. Science, 163(3863), 150–160.
- Wünsche, O.** 1877. Die Pilze. Eine Anleitung zur Kenntniss derselben: pp. 1–324.
- Zhao, R., Karunarathna, S., Raspé O., Parra, L. A., Guinberteau, J., Moinard M., De Kesel, A., Barroso, G., Courtecuisse, R., Hyde, K.D., Gueilly, A.K., Desjardin, D. E., Callac, P.** 2011. Major clades in tropical *Agaricus*. Fungal Diversity 51: pp. 279–296.
- Zhao, R., Hyde, K.D., Desjardin, D.E., Raspé, O., Soyong, K., Guinberteau, J., Karunarathna, S.C., Callac, P.** 2012. *Agaricus flocculosipes* sp. nov., a new potentially cultivatable species from the palaeotropics. Mycoscience 53: pp. 300–311.
- Zhao, R., Zhou, J., Chen, J., Margaretsu, S., Sánchez-Ramírez, S., Hyde, K.D.,**

Callac, P., Parra, L.A., Li, G., Moncalvo, J. 2016. Towards standardizing taxonomic ranks using divergence times – a case study for reconstruction of the *Agaricus* taxonomic system. *Fungal Diversity* 78: pp. 239–292.

7 APÊNDICE

Apêndice A. Lista de todas as sequências usadas nas análises moleculares deste estudo, 31 sequências (em **negrito**) foram geradas durante este estudo.

Táxon	Acesso Genbank	Coleção	País	Referência
Subgen. <i>Agaricus</i>				
Seção <i>Agaricus</i>				
<i>A. campestris</i>	KP229419	HMAS 272461	Etiópia	Sitotaw <i>et al.</i> (2015)
<i>A. campestris</i>	JQ903618	MA-Fungi 80998	Espanha	Kerrigan (2016)
<i>A. campestris</i>	KT951322	CA637	—	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. langei</i>	JF797181	LAPAG141	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>Agaricus</i> sp.	DQ182532	CA87	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>Agaricus</i> sp.	DQ182530	RWK1198	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1151	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		FTF193	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD126	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		JS75	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1153	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD11	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		TYMP033	Brasil	Não publicado
Subgen. <i>Flavoagaricus</i>				
Seção <i>Arvenses</i>				
<i>A. abruptibulbus</i>	KT951356	ZRL2012005	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. aff. tenuivolvatus</i>	KJ548134	LAPAG714	Espanha	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. albolutescens</i>	AY484675	WC907		Zhao <i>et al.</i> (2012)
<i>A. arvensis</i>	JF797194	CA640	França	Zhao <i>et al.</i> (2012)
<i>A. arvensis</i>	KF114474	MA-Fungi 80999	Espanha	Parra (2013)
<i>A. augustus</i>	KT951373	ZRL2012598	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. crocodillinus</i>	AF432878	RWK1925	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. eburneocanus</i>	JF495062	H7528	Austrália	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. essettei</i>	KJ548131	LAPAG676	Itália	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. fissuratus</i>	JQ824135	LAPAG488	Espanha	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. flocculosipes</i>	JN664954	ZRL3028	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2012)
<i>A. gemmelatus</i>	KT951380	ZJL-2016i	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. greuteri</i>	KF114473	PALGR57140	Itália	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. guizhouensis</i>	KJ755658	GY127800	China	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. indistinctus</i>	KF114475	LAPAG478	Espanha	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. longistipes</i>	KJ755643	GY124427	China	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. macrocarpus</i>	AY484686	WC778	—	Zhao <i>et al.</i> (2012)
<i>A. macrolepis</i>	KJ548128	LAPAG409	Espanha	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. nivescens</i>	AY484670	WC779	—	Geml <i>et al.</i> (2004)
<i>A. subantarticus</i>	DQ232642	GAL9419	EUA	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. subrufescens</i>	AY818646	DEH513	EUA	Gui <i>et al.</i> (2015)
<i>A. subrufescens</i>	KJ755636	XHW1614	China	Gui <i>et al.</i> (2015)

Táxon	Acesso Genbank	Coleção	País	Referência
Seção Arvenses				
<i>A. subrufescens</i>	KT951317	CA276		Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. sylvicola</i>	KJ548130	LAPAG 242	Espanha	Parra (2013)
Clado A				
<i>Agaricus</i> sp.	JF797196	DeMeijer1904	Brasil	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1152	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN651	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD131	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		JDunque131	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1150	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		AGP08	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		ACM376	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MK01	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		CL02	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR179	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASRag01	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR150	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR160	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR163	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		MC4632	Brasil	Não publicado
Subgen. Minores				
<i>Incertae Sedis</i>				
<i>A. candidolutescens</i>	KT951335	LD2012129	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1183	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		ACM250	Brasil	Drewinski (2017)
Seção Leucocarpi				
<i>A. leucocarpus</i>	KU975101	LD201215	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		LASR169	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR190	Brasil	Não publicado
Seção Minores				
<i>A. aff. argyropotamicus</i>	JF727849	F2047	França	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. aff. rufoaurantiacus</i>	JF797183	LAPAM1	Venezuela	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. aridicola</i>	JF797195	CA101	França	Zhao <i>et al.</i> (2012)
<i>A. arrillagarum</i>	KF447908	AH-44508	França	Parra (2013)
<i>A. arrillagarum</i>	KF447900	LAPAG810	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. badioniveus</i>	KU975117	LD2012131	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. brunneolus</i>	JN204435	CA377	Portugal	Zhao <i>et al.</i> (2012)
<i>A. brunneolutosus</i>	KU975111	MS514	China	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. callacii</i>	KF447899	AH-42929	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. campbellensis</i>	DQ232644	GAL9420	Nova Zelândia	Zhao <i>et al.</i> (2011)

Táxon	Acesso Genbank	Coleção	País	Referência
<i>A. campestroides</i>	JF727842	LAPAF2	Togo	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. cf. endoxanthus</i>	JF691554	ZRL3095	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. cf. goossensiae</i>	JF514517	ADK2171	Benin	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. cf. trisulphuratus</i>	JF727843	LAPAF4	Togo	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. cf. volvatulus</i>	JF727848	F2767	França	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. chartaceus</i>	JF495048	H6271	Austrália	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. coccyginus</i>	KU245979	ZRL2012485	China	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. colpetei</i>	JX984565	TL2424	Austrália	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. columellatus</i>	KJ912899	MIN 938394	EUA	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. comtulus</i>	AJ884624	HAI0386	EUA	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. comtulus</i>	KT951332	LAPAG724	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. deserticola</i>	JF896228	RWK2019	EUA	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. dulcidulus</i>	KF447894	PRM-909627	República Checa	Parra (2013)
<i>A. dulcidulus</i>	KF447903	TRgmb01309	Itália	Parra (2013)
<i>A. edmondoi</i>	KT951326	LAPAG412	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. fiardii</i>	JF797201	F2285	França	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. fimbrimarginatus</i>	KU975119	LD201250	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. flammicolor</i>	KU975114	LD201502	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. flavopileatus</i>	KU975121	MS596	China	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. friesianus</i>	KT951316	LAPAG592	França	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. fulvoaurantiacus</i>	KU975107	MFLU16-0980	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. heinemannianus</i>	JF797182	LAPAG111	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. heterocystis</i>	JF514522	Goossens5066	Congo	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. huijsmanii</i>	KF447889	LAPAG639	França	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. jacobi</i>	KF447895	AH44505	Espanha	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. johnstonii</i>	JF727853	F1779	França	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. kivuensis</i>	JF514541	Rammeloo5756	República do Burundi	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. laeticulus</i>	KX671704	Goossens5371	Congo	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. lamelliperditus</i>	JX984559	MDBF61/96	Austrália	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. luteofibrillosus</i>	KU245972	ZRL2013484	China	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. luteopallidus</i>	JF691543	ZRL3088	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. magnivelaris</i>	JF727851	F2389	França	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. martinezianus</i>	JF896227	SP307818	Brasil	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. martinicensis</i>	JF727855	F2815	França	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. matrum</i>	KF447896	AH-44506	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. megalosporus</i>	JF514521	LD030	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. pallens</i>	KT951315	LAPAG926	Suécia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. parvibicolor</i>	KP715162	MFLU12-0953	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. patris</i>	KU975118	LD201224	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. pseudolutosus</i>	JF727868	LAPAG77	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. purpureofibrillosus</i>	JF691542	ZRL3080	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. robustulus</i>	KU975086	MFLU16-0973	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. viridopurpurascens</i>	JF514525	Horak68/79	Nova Zelândia	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>Agaricus</i> sp.	JF727870	MATA816	México	Zhao <i>et al.</i> (2011)

Táxon	Acesso Genbank	Coleção	País	Referência
<i>Agaricus</i> sp.	JF691558	ZRL2132	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD30	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD107	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD110	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD108	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD109	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAR1274	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		FTF194	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		JDunque78	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		ACM473	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN686	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1178	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD134	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD115	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD13	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		LASR167	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR172	Brasil	Não publicado
Subgen. <i>Minoriopsis</i>				
<i>A. globocystidiatus</i>		MPD128	Brasil	Drewinski (2017)
<i>A. globocystidiatus</i>		MPD02	Brasil	Drewinski (2017)
<i>A. globocystidiatus</i>		MPD03	Brasil	Drewinski (2017)
<i>A. globocystidiatus</i>		MPD04	Brasil	Drewinski (2017)
<i>A. globocystidiatus</i>		MPD29	Brasil	Drewinski (2017)
<i>A. globocystidiatus</i>		MPD19	Brasil	Drewinski (2017)
<i>A. globocystidiatus</i>		EC31	Brasil	Drewinski (2017)
<i>A. globocystidiatus</i>		MPD71	Brasil	Drewinski (2017)
<i>A. martinicensis</i>	KX671699	LAPAM16	Rep. Dominicana	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. rufoaurantiacus</i>	KT951313	LAPAM15	Rep. Dominicana	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. aff. Rufoaurantiacus</i>	JF727857	CL/GNAD05090	França	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>A. subsaharianus</i>	JF440300	ADK4732	Burquina	Chen <i>et al.</i> (2015)
<i>A. toluenolens</i>	KJ540948	CA926	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2015)
<i>Agaricus</i> sp.	KX671700	LAPAM28	Rep. Dominicana	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>Agaricus</i> sp.	KX671703	LAPAM34	Rep. Dominicana	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>Agaricus</i> sp.	KX671702	LAPAM66	Brasil	Chen <i>et al.</i> (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		ACM513	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD16	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD15	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN545	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		JDunque130	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD111	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD105	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		ACM260	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1060	Brasil	Drewinski (2017)

Táxon	Acesso Genbank	Coleção	País	Referência
<i>Agaricus</i> sp.		JDuque70	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		CHC172	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD17	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD118	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		ACM204	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD10	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		LASR066	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR118	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR130	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR188	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		MC4152	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		MCsn	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		21	Brasil	Não publicado
Subgen. <i>Pseudochitonina</i>				
Seção <i>Chitonioides</i>				
<i>A. gennadii</i>	JF797188	CA387	França	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. gennadii</i>	KT951318	CA339		Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. nevoi</i>	KM657922	LAPAG257	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. pearsonii</i>	JF797186	PEAR83340	França	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. pilosporus</i>	KT951425	LAPAG227	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. bernardii</i>	AF432880	ARP173	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. gennadii</i>	AF432881	GN17	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
Seção <i>Crassipori</i>				
<i>A. lamellidistans</i>	JF691556	ZRL3099		Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. variicystis</i>	KT951339	LD201234	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
Seção <i>Flocculenti</i>				
<i>A. erectosquamosus</i>	KT951338	LD2012165	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. pallidobrunneus</i>	KT951370	ZRL2012358	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
Seção <i>Hondenses</i>				
<i>A. biannulatus</i>	JF896229	LAPAG611	Itália	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. freirei</i>	DQ185553	CA186		Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. grandiomycetes</i>	KM657879	ZRL2012611		Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. pusillobulbosus</i>	KM657888	ZRL2012627	Canadá	Zhou <i>et al.</i> (2016)
Seção <i>Nigrobrunnescentes</i>				
<i>A. biberi</i>	KM657919	LAPAG687	Hungria	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. caballeroi</i>	KJ575605	AH-44503	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. desjardinii</i>	KM657901	WZR2012907		Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. nigrobrunnescentis</i>	JX308267	DEH632		Geml <i>et al.</i> (2004)
<i>A. padanus</i>	KM657903	WZR2012903	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)

Táxon	Acesso Genbank	Coleção	País	Referência
Seção Rubricosi				
<i>A. dolichopus</i>	KT951433	ZRL2014120		Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. variabilicolor</i>	KT951439	ZRL4007	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. kunmingensis</i>	KT951427	ZRL2012007	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
Seção Sanguinolenti				
<i>A. benesii</i>	JF797179	LAPAG283	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. boisseletii</i>	DQ182531	CA123	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. dilutibrunneus</i>	KT951358	ZRL2012010	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. fuscovelatus</i>	AY484677	WC914		Zhao <i>et al.</i> (2012)
<i>A. liliceps</i>	AY484676	WC916		Zhao <i>et al.</i> (2012)
<i>A. pattersonae</i>	AY943974	RWK1415	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. sylvaticus</i>	KM657929	LAPAG382	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
Seção Trisulphurati				
<i>A. cf. trisulphuratus</i>	JN664955	ZRL 2128	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. cf. trisulphuratus</i>	KT951428	ZRL2014023	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. trisulphuratus</i>	KM657924	LAPAF7	Togo	Zhou <i>et al.</i> (2016)
Seção Xanthodermatei				
<i>A. arizonicus</i>	NR 144985	RMC 1255	EUA	Kerrigan (2016)
<i>A. atrodiscus</i>	KT284912	MFLU121010	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>A. bisporiticus</i>	KJ575611	LD2012111	Tailândia	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. bisporiticus</i>	KJ575610	CA929	Tailândia	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. caribaeus</i>	JF727856	F2530	Martinica (FR)	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. exilissimus</i>	KT284910	MFLU120894	Tailândia	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>A. fuscopunctatus</i>	NR151746	MFLU20120952	Tailândia	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. microvolvatulus</i>	JF514524	Grinling70109		Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. microvolvatulus</i>	KJ575618	MFLU20100672	Tailândia	Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. murinocephalus</i>	JF691555	ZRL3044	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. nigrogracilis</i>	KM657882	ZRL2012014	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. tollocanensis</i>	AY703913	CA235	México	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. xanthosarcus</i>	JF514523	Goossens5415		Thongklang <i>et al.</i> (2014)
<i>A. aff. iodosmus</i>	DQ185559	CA215	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. brunneogracilis</i>	KM657876	ZRL258	Tailândia	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. californicus</i>	DQ182509	RWK 1914	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. daliensis</i>	KM657877	SHY2011071706	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. endoxanthus</i>	DQ182511	LAPAG225	Espanha	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. freirei</i>	DQ182512	LAPAG189	Portugal	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. gregariomyces</i>	KM657880	ZRL2012624	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. hondensis</i>	DQ182513	RWK1938	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. hondensis</i>	DQ182515	ML3	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. iodosmus</i>	DQ182516	LAGAG203	Espanha	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. iodosmus</i>	DQ182519	RWK1970	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)

Táxon	Acesso Genbank	Coleção	País	Referência
<i>A. karstomyces</i>	KM657899	ZRL2011048	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. laskibarii</i>	AY943975	LAPAG115	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. malangelus</i>	KM657892	ZRL2012628	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. melanocapus</i>	KM657881	ZRL2011037	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. menieri</i>	DQ185566	CA141	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. moelleri</i>	AY899264	CA156	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. parvitigrinus</i>	AY899266	CA157	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. phaeolepidotus</i>	DQ185550	CA213	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. placomyces</i>	DQ182525	RWK1959	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. pocillator</i>	FJ596845	TENN61603	EUA	Hughes <i>et al.</i> (2009)
<i>A. pseudopratisensis</i>	DQ185558	CA73	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. pseudopratisensis</i>	DQ182527	LAPAG259	Espanha	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. punjabensis</i>	KT985908	A4	Paquistão	Chen <i>et al.</i> (2016)
<i>A. rotalis</i>	DQ182528	DEH 1114	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. sinoplacomyces</i>	KM657883	ZRL2012008	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. tibetensis</i>	KM657895	ZRL2012585		Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. tythocarpus</i>	KM657889	ZRLWXH3077	China	Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>A. xanthodermulus</i>	AY899273	CA160	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. xanthodermulus</i>	AY899276	CA204	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. xanthodermus</i>	DQ185564	CA236	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. xanthodermus</i>	DQ182529	ML1	EUA	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. xanthodermus</i>	KM657923	LAPAG387		Zhou <i>et al.</i> (2016)
<i>Agaricus</i> sp.		ACM429	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MVL21	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1109	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		ACM328	Brasil	Drewinski (2017)
Agaricus sp.	MH934939	LASR133	Brasil	Não publicado
Agaricus sp.	MH934941	LASR164	Brasil	Não publicado
Agaricus sp.	MH934942	LASR170	Brasil	Não publicado
Agaricus sp.	MH934943	LASR181	Brasil	Não publicado
Agaricus sp.	MH934938	LASR192	Brasil	Não publicado
Agaricus sp.	MH934940	LASR195	Brasil	Não publicado
Agaricus sp.		MC4611	Brasil	Não publicado
Subgen. <i>Spissicaules</i>				
Seção <i>Amoeni</i>				
<i>A. amoenus</i>	KT951348	ZRL2010072	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. gratolens</i>	JF691548	ZRL3093	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. kivuensis</i>	JF514541	Rammeloo5756	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. suthepensis</i>	KT951409	LD2012100	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
Seção <i>Rarolentes</i>				
<i>A. albosquamosus</i>	KT951394	LD2012192	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. albosquamosus</i>	KT951395	LD201235	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)

Táxon	Acesso Genbank	Coleção	País	Referência
<i>A. hantanaensis</i>	KT951424	SK2012		Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. leucolepidotus</i>	KT951336	LD201214	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD55	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		DKSG14	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1184	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1182	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD113	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD127	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD133	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD114	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		LASR129	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR147	Brasil	Não publicado
<i>Agaricus</i> sp.		LASR182	Brasil	Não publicado
Seção <i>Spissicaules</i>				
<i>A. aff. impudicus</i>	JF797192	CA583	França	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. bresadolanus</i>	DQ185569	CA10	França	Kerrigan <i>et al.</i> (2005)
<i>A. lanipedisimilis</i>	KT951399	ZRL2012193	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. lanipes</i>	JF797190	CA406	França	Zhao <i>et al.</i> (2011)
<i>A. litoralis</i>	KT951327	LAPAG420	Espanha	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. litoraloides</i>	KT951408	SHY2011073026	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. planipileus</i>	KT951398	ZRL2011250	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
Seção <i>Subrutilescentes</i>				
<i>A. brunneopileatus</i>	KT951404	ZRL2012115	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. inthanonensis</i>	KT951422	ZRLD014	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. linzhiensis</i>	KT951378	ZRL2012618	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. parasubrutilescens</i>	KT951410	ZRL2014076	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>A. subrutilescens</i>	KT951392	ZRLWXH3276	China	Zhao <i>et al.</i> (2016)
<i>Agaricus</i> sp.		MPD135	Brasil	Drewinski (2017)
<i>Agaricus</i> sp.		MAN1110	Brasil	Drewinski (2017)
Grupo externo				
<i>Heinemanomyces</i> sp.	KT951346	ZRL185	Tailândia	Zhao <i>et al.</i> (2016)